

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Option : Biotechnologie des Mycètes, fermentation et production de substances fongiques

Thème

Etude de la production de certains métabolites par des microorganismes isolés du sol du parc botanique de Bamako sur milieu à base de composants de *Tamarindus indica*.

Présenté par : DOUCOURÉ Balla

Soutenu le 24 Juin 2014,

Devant le jury :

Présidente : Pr. MIHOUBI I.

Pr. Univ. Constantine 1

Rapporteur : Pr. KACEM CHAOUCHE N.

Pr. Univ. Constantine 1

Examinatrice : Mlle. BELMESIKH A.

M.A. Univ. Constantine 1

Tutrice : Mlle. BATAICHE I.

Doctorante. Univ. Constantine 1

Remerciements



Si je dois remercier quelqu'un, ça sera sans doute toute les personnes qui ont contribué de manière directe et indirecte à ce travail, tant sur le plan physique que sur le plan moral.

Mais étant donné qu'il y a toujours de spécificité, ici je tiens à agréer quelques noms sans offenser ceux qui figureront pas, car d'une manière à l'autre, ce travail est initié au bien être de l'humanité.

Donc :

- ♥ Je remercie de tout mon cœur et avec ma dernière énergie le **Pr. KACEM CHAOUCHÉ**, dont il n'y a rien à dire car ça dépasse toutes les attentes ;
- ♥ Je remercie ma tutrice **Mlle. BATAICHE Insaf** d'avoir partagé son expérience ;
- ♥ Je remercie **Mlle. BENHASSINE Sarah** pour sa disponibilité, restructuration et la correction de ce travail ;
- ♥ Je remercie **Mr. MAIGA Samba** et **Mr. ABBEY Andreas. Flanigan** pour leurs disponibilités et la correction de ce travail ;
- ♥ Je remercie les étudiants de ma promotion de la spécialité Biotechnologie des mycètes ;
- ♥ Je remercie les doctorantes de **Pr. KACEM CHAOUCHÉ**, pour leurs disponibilités ;
- ♥ Je remercie sans défaut ni égare tous les professeurs, les responsables administratifs et les techniciens des laboratoires de l'Université Constantine 1 ;
- ♥ Je tiens à montrer toutes mes gratitudes envers mon gouvernement et de celui de l'Etat Algérien.

Je ne peux terminer sans insignes les noms suivants :

- **Mr. BAMBA Salia**
- **Mr. DIAKITE Amadou**
- **Mr. DOLO Saye**
- **Mr. SOUMAORE Idrissa**
- ♥ Qui ont été les éléments clefs pour l'échantillonnage et l'achat du substrat. Merci à eux.

Je tenais à souffler quelques mots à l'égard de ma mère qui m'a poussé avec toute son énergie pour que je sois ce que je suis aujourd'hui (**je t'aime maman**).

Je ne saurais oublier ma belle et bien-aimée **Mlle. SOW Talata** qui a été un soutien moral important au cours du dernier chemin de ce travail.



*Je dédie ce présent
travail à la mémoire
de mon père, que son
âme se repose en paix.*

TABLE DES MATIERES

1- Introduction	1
2- Revue bibliographique	2
2.1- Parc biologique de Bamako.....	2
2.1.1- Généralités sur Bamako.....	2
2.1.2- Parc botanique de Bamako.....	2
2.2- Arbre de <i>Tamarindus indica</i>	3
2.2.1- Information historique.....	3
2.2.2- Généralités sur tamarin.....	3
2.2.3- Composition chimique du fruit de tamarin.....	4
2.2.3.1- Substances volatiles.....	6
2.2.3.2- Pigments.....	6
2.2.3.3- Acides aminés.....	7
2.2.3.4- Autres constituants.....	7
2.2.4- La graine de tamarin.....	7
2.3- Tanin.....	8
2.3.1- Généralités.....	8
2.3.2- Définition.....	9
2.3.3- Classification.....	9
2.3.3.1- Tanins hydrolysables.....	9
2.3.3.2- Tanins condensés.....	10
2.3.4- Hydrolyse.....	11
2.4- Tannase.....	11
2.4.1- Généralités sur tannase.....	11
2.4.2- Mode d'action de tannase.....	11
2.4.3- Application de tannase.....	12
2.5- Microorganismes producteurs de tannases.....	12
2.5.1- Généralités.....	12
2.5.2- Mycètes.....	13
2.5.2.1- Généralités sur les mycètes.....	13
2.5.2.2- Le genre <i>Aspergillus</i>	13
2.5.2.3- Le genre <i>Acremonium</i>	14

3- Matériel et méthodes	16
3.1- Echantillonnage du sol.....	16
3.2- Isolement et purification des microorganismes producteurs de tannases.....	17
3.2.1- Isolement des microorganismes.....	17
3.2.2- Purification de souches isolées.....	17
3.2.3- Conservation des souches.....	17
3.3- Test qualitatif de la production de tannase.....	17
3.4- Identification morphologique des isolats.....	18
3.4.1- Identification de la bactérie.....	18
3.4.2- Identification des moisissures.....	18
3.5- Production de tannase.....	18
3.5.1- Fermentation en milieu submergé.....	18
3.5.2- Fermentation en milieu solide.....	19
3.5.2.1- Préparation du substrat.....	19
3.5.2.2- La conduite de la fermentation.....	20
3.6- Méthodes d'analyse.....	20
3.6.1- Extraction de l'enzyme.....	20
3.6.2- Dosage de l'activité enzymatique de la tannase.....	21
3.6.3- Détermination du taux de la biomasse	21
3.6.4- Mesure du pH	21
4- Résultats	22
4.1- Isolement et purification des isolats producteurs de tannase.....	22
4.2- Test qualitatif de la production de tannase.....	22
4.3- Identification morphologique des isolats.....	24
4.3.1- Identification de la bactérie.....	24
4.3.2- Identifications des moisissures.....	25
4.4- Production de tannase.....	29
4.4.1- Fermentation en milieu submergé.....	29
4.4.1.1- Activité enzymatique de la tannase.....	29
4.4.1.2- Evaluation de la biomasse.....	30

4.4.1.3- Mesure du pH.....	30
4.4.2- Fermentation en milieu solide.....	31
4.4.2.1- Préparation du substrat.....	31
4.4.2.2- Activité enzymatique de la tannase.....	32
4.4.2.3- Mesure du pH.....	32
5- Discussions.....	34
6- Conclusion et perspectives.....	37
Références bibliographiques.....	38
Annexes.....	47
Résumé.....	51

Liste des abréviations et des acronymes

\$: Dollar.

°C: Degré Celsius.

A: *Aspergillus*.

Ae : Activité enzymatique.

av : avant.

C-4 : Carbone 4.

C-6 : Carbone 6.

C-8 : Carbone 8.

CEDEAO. Communauté Economique des Etats de l'Afrique de l'Ouest.

CFA : Communauté Financière Africaine.

cm: centimètre.

CYA: Czapek Yeast Extract agar.

d : dilution.

E.C. Enzyme Commission.

equi : équivalent.

F: *Fusarium*.

FML : Fermentation Milieu Liquide.

FMS : Fermentation Milieu Solide.

g : Gramme.

GAT : Gélose Acide Tannique.

GN: Gélose Nutritif.

h: heure.

ha: hectare.

I.U.B. International Union of Biochemistry.

J-C: Jesus-Christ.

Kcal: Kilocalorie.

KDa: Kilo Dalton.

Kg : kilogramme.

Kj : Kilojoule.

L-Dopa: 3,4-dihydroxyphenylalanine.

m_{cg} = μg : microgramme.

mg : Mille gramme.

ml : Millilitre.

mn : Minute.

MS : suspension mère.

MSLC : Membrane-Surface Liquid Culture.

NaCl : Chlorure de sodium.

Nb: Nombre.

P: Penicillium.

PDA: Potato Dextrose Agar.

pH: Potentiel Hydrogène.

R: Rhizopus.

SmF: Submerged Fermentation.

SSF: Solid-State Fermentation.

TP : phénoliques totaux.

trm : tour par minute.

U : Unité.

UE : unité enzymatique.

US: United States.

V: Volume.

Vit : Vitamine.

X : Biomasse.

Liste des figures

Figure 1. Image satellitaire du Mali et sa géolocalisation sur la carte.....	2
Figure 2. Le tamarinier et la zone (ombrée présentant la gamme) indigène approximative de tamarin en Afrique (Siddig et <i>al.</i> , 2006).....	4
Figure 3. Unités de base de tanins hydrolysables.....	9
Figure 4. Flavan-3-ol.....	10
Figure 5. Structure des tanins condensés	10
Figure 6. Structure de l'acide tannique et ses produits d'hydrolyse.....	11
Figure 7. Echantillon du sol de tamarinier du parc botanique de Bamako.....	16
Figure 8. Le fruit de tamarinier dépourvus de son tégument.....	19
Figure 9. Le jus de fruit de tamarinier.....	19
Figure 10. La poudre de déchets du fruit de tamarinier obtenu après broyages.....	20
Figure 11. La zone d'utilisation de tannate par les microorganismes avec la colonie au centre.....	22
Figure 12. La bactérie isolée au grossissement x 100.....	24
Figure 13. L'activité enzymatique du milieu de fermentation liquide au cours du temps.....	29
Figure 14. L'étude comparative des biomasses après développements sur milieu de fermentation liquide au cours du temps	30
Figure 15. Evolutions du pH de milieu de fermentation liquide au cours du temps.....	31
Figure 16. Les quatre éléments principaux constituant le déchet du fruit de <i>Tamarindus indica</i>	31
Figure 17. Activité enzymatique de la tannase du milieu de fermentation solide au cours du temps.....	32
Figure 18. Evolutions du pH de milieu de fermentation solide au cours du temps.....	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Vitamines présentes dans le fruit de tamarin	4
Tableau 2 : Minéraux de fruit de tamarin.....	5
Tableau 3 : Autres éléments chimiques de fruit de tamarin.....	5
Tableau 4 : Composition moyenne de fruit de tamarinier.....	5
Tableau 5 : Composition globale et aliments à valeur énergétique de la pâte de tamarin mûrs (%) de cinq régions différentes.....	6
Tableau 6 : Composition globale de la pulpe séchée du fruit de <i>Tamarindus indica</i> pour 100 g de son poids sec.....	7
Tableau 7 : Les antinutritionnels de Tamarin (%)......	8
Tableau 8 : L'activité de tannase produite par les différents isolats sur milieu GAT à 1%.....	23
Tableau 9 : Caractéristiques morphologiques des isolats fongiques.....	25

1- Introduction

La croissance démographique mondiale implique une augmentation, de plus en plus, importante de la consommation des produits agricoles. Cette explosion démocratique s'accompagnerait avec des sources abondantes des résidus agricoles. Parmi les nombreux substrats pouvant être utilisés par les microorganismes, les substrats glucidiques agricoles présentent l'avantage d'être, à la fois, abondants et théoriquement inépuisables puisqu'ils sont régénérés en permanence grâce à la photosynthèse. L'utilisation des résidus agricoles disponibles en quantités importantes et parfois gênante, pourrait conduire à leur valorisation tout en supprimant les sources de pollution (Branger *et al.*, 2007). Pour ce dernier essai, la recherche des nouvelles enzymes performantes, des nouvelles sources des sous-produits agroalimentaires et ainsi que des nouveaux microorganismes sont dans le collimateur des scientifiques. Le déchet du fruit de tamarin est un sous-produit agroalimentaire à bon marché utilisé en abondance par la population africaine, en particulier, et la population mondiale en générale, son utilisation est limitée dans le domaine de la recherche. Des recherches bibliographiques nous ont montré que le *Tamarindus indica* est un arbre, qui produit le fruit le plus acide et le plus doux en même temps, il est beaucoup admiré et consommé en excès par les populations des pays abritant cet arbre. Son déchet est lâché dans la nature en Afrique sans une préoccupation particulière, ni de la part de l'Etat, ni de la part des consommateurs, alors qu'il contient de tanins dont la présence dans l'environnement est nuisible. Bien que le tanin puisse causer des dégâts d'hygiène, il a été utilisé dans ce travail comme une source de carbone induisant la biosynthèse de tannase. La tannase étant aussi une enzyme extrêmement importante et chère, utilisée dans divers domaines grâce à son rôle d'hydrolyse.

De ce fait, l'objectif de ce travail est étude de la production de tannase par des microorganismes isolés du sol de la rhizosphère d'un tamarinier (*Tamarindus indica*) du parc botanique de Bamako. Ce travail s'articulera sur :

- Isolement et purification des microorganismes producteurs de tannase ;
- Identification morphologique de ces microorganismes ;
- Préparation de milieu de fermentation solide à partir du déchet de fruits de *Tamarindus indica* ;
- Comparaison de la biosynthèse de la tannase sur le milieu de fermentation liquide et le milieu de fermentation solide à base de composants de *Tamarindus indica* ;
- Evaluation de l'activité enzymatique.

Revue

Bibliographique

2- Revue bibliographique

2.1- Parc biologique de Bamako

2.1.1- Généralités sur Bamako

Bamako est situé de part et d'autre sur le fleuve Niger, dans le sud-ouest du pays. Il est le centre administratif du pays. Il est la capitale du Mali (figure 1) officiellement République du Mali qui est un pays d'Afrique de l'Ouest, frontalier de la Mauritanie et de l'Algérie au nord, du Niger à l'Est, du Burkina Faso et de la Côte d'Ivoire au Sud, de la Guinée au Sud-Ouest et du Sénégal à l'Ouest. Son sol est composé de quatre grands types qui se répartissent en fonction des zones climatiques, qui conditionnent plus ou moins grossièrement celle de la végétation : les sols ferrallitiques, les sols ferrugineux tropicaux lessivés, les sols hydromorphes, et les sols sableux désertiques.



Figure 1. Image satellitaire du Mali et sa géolocalisation sur la carte (Wikipédia).

2.1.2- Parc botanique de Bamako

Le jardin botanique de Bamako se situe dans le parc biologique de Bamako, il occupe une superficie de 20 ha et contient des spécimens de la plupart des espèces de la savane soudanienne (exemple : tamarinier, karité...). Le parc biologique de Bamako contient aussi un parc zoologique de 17 ha où sont rassemblés en semi-libres un échantillon de la faune

Malienne. Il est situé dans la route de Koulouba c'est-à-dire entre le centre-ville de Bamako et le palais présidentiel.

2.2- Arbre de *Tamarindus indica*

2.2.1- Information historique

Le mouvement de tamarin à l'Asie doit avoir eu lieu au cours du premier millénaire avant notre ère. La culture de tamarin en Egypte depuis 400 avant J-C. a été documentée et a été mentionné dans les écritures Brahmasamhita indiennes entre 1200 à 200 av. J-C. A propos, de 370-287 Théophraste écrites sur les plantes et deux descriptions se réfèrent à tamarin, même s'il n'est pas nommé comme tel (Hort, 1916) ; ses sources étaient probablement de l'Afrique de l'Est. Le commerce entre la Méditerranée et l'Orient était courant pendant des siècles, vers la fin du premier millénaire avant J-C lorsque les épices ont été importées. Ces routes commerciales vers le sud sont également liées à l'Afrique de l'Est. En l'an 1000 les arabes dominant ce commerce et Marco Polo a enregistré que les commerçants arabes fait de tamarin un élément commercial important dans l'Europe médiévale (Siddig *et al.*, 2006).

2.2.2- Généralités sur tamarin

Tamarindus indica (figure 2) est un arbre à usage multiple, de fruits tropicaux principalement utilisé pour ses fruits, qui sont consommés frais ou transformés, il est utilisé comme assaisonnement ou épices ou les fruits et les graines sont traitées pour des utilisations non alimentaires. L'espèce a une large répartition géographique dans les régions subtropicales et tropicales semi-arides (figure 2), et cultivée dans de nombreuses régions. Tamarin appartient à la famille des dicotylédones légumineuses qui est la troisième plus grande famille de plantes à fleurs avec un total de 727 genres reconnus et le nombre d'espèces est estimé à 19 327 (Lewis *et al.*, 2005). C'est un arbre de dix à vingt mètres de haut à tronc plutôt court. A croissance lente, il a une longue durée de vie. Son feuillage est persistant à feuilles alternes, paripennées (jusqu'à douze paires de folioles). Ses fleurs jaunâtres en racèmes terminaux retombants apparaissent en Mai et donnent en Octobre des fruits constitués de grosses gousses contenant plusieurs graines entourées de pulpe fibreuse (Écormier, 2001).



Figure 2. Le tamarinier et la zone (ombrée présentant la gamme) indigène approximative de tamarin en Afrique (Siddig et *al.*, 2006).

2.2.3- Composition chimique du fruit de tamarin

La caractéristique la plus remarquable de Tamarin est son goût acide doux, l'acide en raison surtout de l'acide tartrique (acide 2,3-dihydroxybutanedioïque, $C_4H_6O_6$, un acide dihydroxydicarboxylique), allant de 12,2 à 23,8 %, et rare dans d'autres tissus de la plante (Ulrich, 1970). Cependant, les sucres réducteurs augmentent de 30-40 % donnant le fruit un goût plus sucré (Lewis et Neelakantan, 1964a ; Coronel, 1991).

A partir d'une étude menée par une équipe de la CEDEAO (Communauté Economique des Etats de l'Afrique de l'Ouest) au mois de Mars à Août 2010 au sein de sept pays à savoir : Bénin, Burkina Faso, Ghana, Guinée, Niger, Nigéria et Sénégal ; pour évaluer la composition chimique des aliments traditionnels d'Afrique de l'Ouest. Il a été relevé chez *Tamarindus indica* la présence de quelque composition chimique (tableau 1, 2 et 3), et cela à partir de 100 g de la partie comestible (Thiam, 2010).

Tableau 1 : Vitamines présentes dans le fruit de tamarin.

Vitamines	Vit A	β -carotène	Thiamine	Riboflavine	Niacine	Vit B ₆	Vit C
Tamarin	(mcg)	equi(mcg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
Fruit, pulpe	2	10	0,24	0,07	0,5		10
Fruit	10	60	0,95	0,28	0,9	0,07	38

Tableau 2 : Minéraux de fruit de tamarin.

Minéraux	Ash	Ca	Fe	Mg	P	K	Na	Zn	Cu
Tamarin	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
Fruit, pulpe	1,0	50	0,7	19	61	308	3		
Fruit	2,4	151	2,5	68	119	725		3,9	0,37

Tableau 3 : Autres éléments chimiques de fruit de tamarin.

Autres	Energie	Humidité	Protéine	Gras	Hydrate de carbone	Fibre
Tamarin	(kcal) kJ	(g)	(g)	(g)	Disponible (g)	(g)
Fruit, pulpe	(60) 250	80,1	2,2	0,2	8,2	[8,4]
Fruit	(271) 1143	24,4	4,8	0,6	52,6	18,3

La composition de fruits (figure 4) de tamarinier dépend aussi de la localité (tableau 5) ; au Pakistan, Hasan et Ijaz (1972), ont constaté que dans le fruit de tamarin, la teneur en acide tartrique varie de 8,4 à 12,4 % et le sucre de 21,4 à 30,9 % ; mais en Thaïlande, cette teneur en acide tartrique varie entre 2,5 à 11,3 % et le sucre de 5,0 à 40,0 %. Il a une faible teneur en eau et un niveau élevé de protéines, de glucides (60-72 %) et des minéraux (El-Siddig et *al*, 2006).

Tableau 4 : Composition moyenne de fruit de tamarinier (Coronel, 1991 ; Feungchan et *al.*, 1996e).

Constituants	Quantité/100 g	Constituants	Quantité/100 g
Eau	17,8-35,8 g	Phosphate	34-78 mg
Protéine	2-3 g	Fer	0,2-0,9 mg
Graisse	0,6 g	Thiamine	0,33 mg
Hydrates de carbone	41,1-61,4 g	Riboflavine	0,1 mg
Fibres	2,9 g	Niacine	1 g
Ash	2,6-3,9 g	Vitamine C	44 mg
Calcium	34-78 mg		

Tableau 5 : Composition globale et aliments à valeur énergétique de la pâte de tamarin mûrs (%) de cinq régions différentes (a, Purseglove, 1987 ; b, de la FAO, 1988 ; c, Leung et Flores, 1961 ; d, Wenkam et Miller, 1965 ; e, Hasan et Ijaz, 1972).

Compositions	a	b	c	d	e
Eau	20,60	15-47	22,2	33,89	62,5-69,2
Protéines	3,1	14-3,4	3,1	3,28	1,4-3,3
Lipides			0,4	0,5	0,71-0,81
Graisse	0,4	0,9-1	0,4	0,5	0,71-0,81
Hydrates de carbone (30-40% de sucres réducteurs)	70,8	62,5	71,8	59,76	
Sucres total					21,40-30,85
Fibres	3	5,1	3	1,79	
Celluloses					1,8-3,20
Pentoses					4,2-4,8
Acidité total					17,1-18,4
Acide tartrate libre					8,4-12,4
Ash	2,1	1,5-4,2	2,1	2,57	1,16-1,72
Energie (Kcal/100g)		272	230		
Calcium		0,07			
Phosphate		0,11			

2.2.3.1- Substances volatiles

Les principaux constituants volatils de pâte de tamarin comprennent les dérivés du furanne (44,4 %) et des acides carboxyliques (38,2 %), dont les composants sont : furfural (38,2 %), l'acide palmitique (14,8 %), de l'acide oléique (8,1%) et phénylacétaldéhyde (7,5 %) (Wong et *al.*, 1998). Selon Lee et *al.* (1975), le constituant volatil le plus abondant de tamarin est le 2-acétyl-furanne, couplé avec des traces de furfural et le 5-méthylfurfural, qui forment l'arôme total de tamarin. La teneur totale en composés volatils dans les pulpes de fruits peut être d'environ 3 mg / kg. Outre, les principaux composants volatils énumérés ci-dessus, il peut y avoir jusqu'à 81 différentes substances volatiles (Pino et *al.*, 2004).

2.2.3.2- Pigments

Le fruit contient une variété de pigments. La couleur rouge est due à anthocyane rouge-rose qui est un pigment soluble dans l'eau, tandis que les types les plus présent de la pâte est

leucocyanidine (Lewis et Neelakantan, 1964b ; Bhattacharyya, 1974). Triterpénoïde est également un constituant (Neetu et Bohra, 2003).

2.2.3.3- Acides aminés

Les acides aminés libres suivants ont été identifiés dans la pâte de tamarin : la proline, la sérine, la β -alanine, la phénylalanine et la leucine. Ces acides aminés sont présents en plus grande quantité dans les fruits mûrs que dans les fruits immatures (El-Siddig et *al.*, 2006).

2.2.3.4- Autres constituants

Le tableau 6 montre que la pulpe sèche de fruit est très riche en tanin (600 mg/100g), alors que ce dernier est un antinutritionnel (El-Siddig et *al.*, 2006). Cependant, cette substance (tanin) sera le substrat utilisé dans ce travail, induisant la biosynthèse de tannase et si possible celui d'acide gallique.

Tableau 6 : Composition globale de la pulpe séchée du fruit de *Tamarindus indica* pour 100 g de son poids sec (Meillon, 1974 ; Anon, 1976 ; Duke, 1981 ; Ishola et *al.*, 1990 ; Parvez et *al.*, 2003).

Constituent	Percentage
Moisture	15.00-30.00
Proteins	2.00-9.10
Fat/oil/lipid, crude	0.50-3.10
Carbohydrates, total	56.70-82.60
Fibre, crude	2.20-18.30
Tartaric acid, total	8.00-18.00
Reducing sugars	25.00-45.00
Total ash	2.10-3.30
Pectin	2.00-4.00
Cellulosic residue	19.40
Albuminoids	3.00-4.00
Total available carbohydrates	41.77
Alcohol insoluble sugars	22.70
Water insoluble sugars	20.50
Non-reducing sugars	16.52
Total sugars	41.20-58.7
Starch	5.70
Tannin, (mg)	600.00
Ascorbic acid, (mg)	3.00-9.00
β -carotene equivalent (μ g)	10.00-60.00
Thiamine (mg)	0.18-0.22
Roboflavin (mg)	0.07-0.09
Niacin (mg)	0.60

2.2.4- La graine de tamarin

La graine comprend l'enveloppe de la graine, ou testa (20-30%) et le noyau ou l'albumen (70-75 %) (Coronel, 1991; Shankaracharya, 1998). Elle est la matière première utilisée dans la fabrication de poudre de tamarin, polysaccharide, adhésif et de tanin. Elle a suscité un

intérêt considérable parmi les chimistes, technologues alimentaires et les nutritionnistes. Panigrahi et *al.* (1989), ont signalé que les graines de tamarin en général, contiennent des protéines brutes de 131,3 g / kg, 67.1 g/kg de cellulose brute, 48,2 g / kg de matières grasses brutes, tanins 56,2 g / kg et la trypsine 10,8, avec la plupart des hydrates de carbone sous la forme de sucres. Elles continent aussi 14-18 % de tanins albuminoïdes situés dans le tégument. Selon Purseglove, (1987), les graines contiennent 63 % d'amidon.

○ Antinutritionnel de tamarin

Les éléments qui rendent la graine impropre à la consommation sont des composés phénoliques totaux libres (TP), les tanins et la L-Dopa (Pugalenthi et *al.*, 2004), (Tableau 7).

Tableau 7 : Les antinutritionnels de Tamarin (%).

<i>Tamarindus indica</i>	
TP	2,71
Tanins	7,1
L-Dopa	2,64

2.3- Tanin

2.3.1- Généralités

Les tanins constituent un mécanisme de défense des plantes contre les pathogènes, les herbivores et des conditions environnementales hostiles et peuvent donc se retrouver dans les déchets verts. Deux groupes de tanins peuvent être distingués : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Albrecht, 2007). Ils peuvent se produire dans le bois, l'écorce, les feuilles, les fruits et les noix de galle (Mueller-Harvey, 2001). Les tanins sont présents dans une variété de plantes qui sont utilisés comme aliments, y compris les céréales vivrières comme les haricots secs, les fèves, les pois et les fruits tels que les pommes, les bananes, mûres, pêches et prunes (Sariözlü et Kivanç, 2009).

2.3.2- Définition

Le mot tanin fait référence à un large groupe de composés (poly) phénoliques naturellement produits par les plantes. Ces composés, solubles dans l'eau, se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (cité par Moufida, 2006).

2.3.3- Classification

Ils représentent le quatrième groupe le plus abondant de métabolites secondaires des plantes après la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (Chowdhury et *al.*, 2004) et la seconde après la lignine dans les composés phénoliques des végétaux (Aguilar et Gutierrez-Sanchez, 2001).

2.3.3.1- Tanins hydrolysable

Les tanins hydrolysables (figure 3) se composent de deux types d'unités de base, à savoir un glucide (la plupart du temps le D-glucose) et des acides phénoliques. Ils sont un groupe hétérogène de macromolécules, partagées entre les gallotanins pour lesquels le glucide est estérifié par l'acide gallique et les ellagitanins où le glucide est estérifié par l'acide ellagique (Kogel-Knabner, 2002).

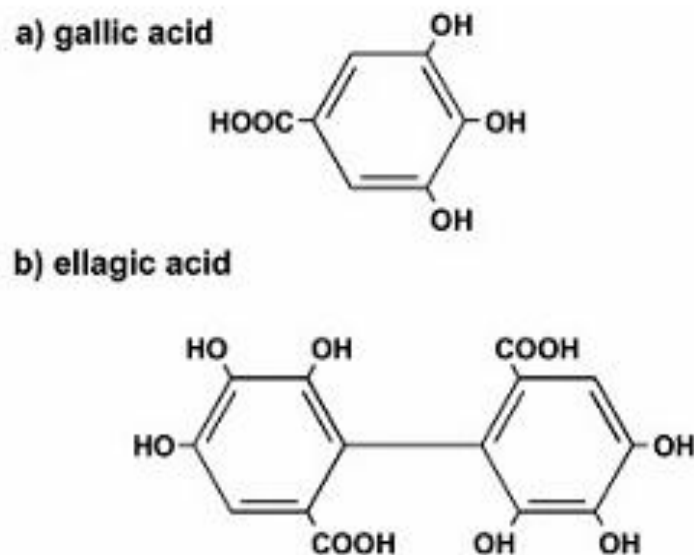


Figure 3. Unités de base de tanins hydrolysables : (a) acide gallique (b) acide ellagique (Kogel-Knaber, 2002).

2.3.3.2- Tanins condensés

Les tanins condensés (figure 5) sont des polymères de polyhydroxy-flavan-3-ol, liés la plupart du temps par des liaisons entre C-4 et C-8 et sporadiquement entre C-4 et C-6. Les tanins condensés ne dépassent couramment pas les 10 unités. Ils sont caractérisés par une immense hétérogénéité due à la présence de divers groupes fonctionnels (Albrecht, 2007). Ils résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavane ol-3, flavane ol-4, flavane diol-3,4). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins « catéchiques ». Ils ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux (Sereme et *al.*, 2008). Ce sont des polymères flavaniques constitués d'unité flavan-3-ols (figure 4), également appelée épicatechine.

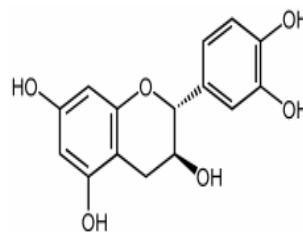


Figure 4. Flavan-3-ol (Albrecht, 2007).

Ces unités sont liées entre elles par des liaisons carbone-carbone ou des liaisons carbone-oxygène. Une seule unité de flavan-3-ol ne constitue pas à elle-seule la définition de tanin. Les dimères les plus simples sont les procyanidols dimères (procyanidol B3) et c'est à partir de ce type de structure constituée au minimum de deux sous-unités flavan-3-ol qu'on a affaire à des tanins (Pharmacognosie, 2013-2014).

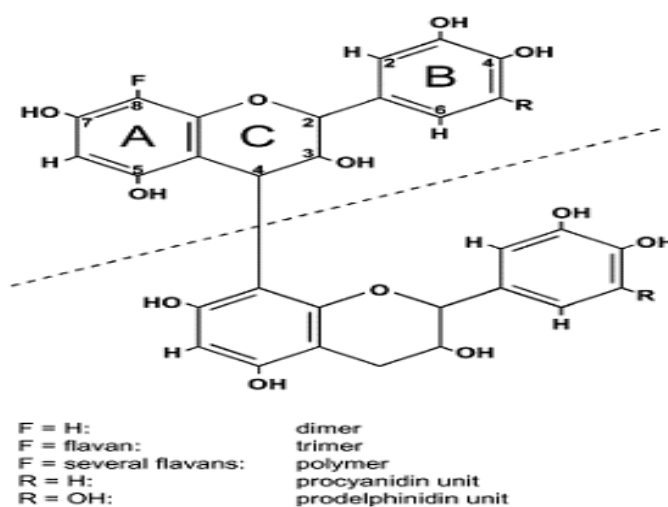


Figure 5. Structure des tanins condensés (Kogel-Knaber, 2002).

2.3.4- Hydrolyse

L'hydrolyse des tanins est dédiée à deux types d'activités enzymatiques, une action sur les liaisons esters entre le noyau aromatique et le reste du glucose, et l'autre sur la liaison depsidique entre les deux cycles aromatiques (Abdulrazak et *al.*, 2000). Selon Adeniyi et Odufowora (2000), les deux activités estérase et depsidase peuvent être attribuées à tannase.

2.4- Tannase

2.4.1- Généralités sur tannase

Tannase (tanin-acyl-hydrolase EC 3.1.1.20) est une enzyme importante avec diverses applications industrielles. Il s'agit d'une enzyme hydrolase extracellulaire qui est induite en présence de l'acide tannique, ou son produit final est l'acide gallique (Lu et Chen, 2008).

2.4.2- Mode d'action de tannase

Tanin-acyl-hydrolase communément appelé tannase catalyse l'hydrolyse de l'ester et des liaisons depside en tanins hydrolysables tels que acide tannique en glucose et en acide gallique (Mondal et *al.*, 2001), (figure 6).

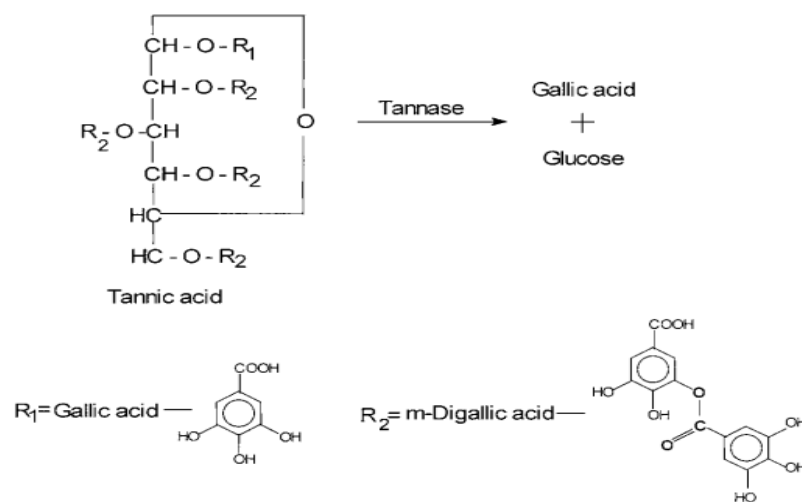


Figure 6. Structure de l'acide tannique et ses produits d'hydrolyse (Mondal et *al.*, 2001).

➤ Acide gallique

L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est un composé organique aromatique, l'un des six isomères d'acide trihydroxybenzoïque, largement répandu dans les plantes, soit sous forme libre, soit comme composant des gallotanins. Il est classé dans les acides-phénols (ou acides phénoliques) puisqu'il comporte à la fois une fonction carboxylique et des

hydroxyles phénoliques. Comme il est dérivé d'acide benzoïque, on le classe aussi dans les acides hydroxybenzoïques. Il est très peu soluble dans l'eau froide mais sa solubilité croît avec la température. Avec le chlorure de fer (III), il produit du gallate de fer de couleur bleu-noir. Chauffé à 220°C, il perd son groupement -COOH pour donner du pyrogallol (Abrahami et *al.*, 2004).

L'acide gallique est largement utilisé comme ingrédient de développeur dans la photographie et les encres d'impression. Il sert aussi de précurseur pour la production commerciale d'un triméthopime, un médicament antimicrobien, un conservateur d'aliment du gallate de propyle et des colorants. En outre, l'acide gallique possède un large éventail d'activités biologiques, tels que les antioxydants, antibactériens, antiviraux, analgésiques (Bajpai et Patil, 2008).

2.4.3- Applications de tannase

La tannase dispose d'une large gamme d'applications dans différents domaines, à savoir : biotechnologiques, environnementaux, pharmaceutiques et d'autres industriels (Hamdy et Fawzy, 2012). Il y a une recherche constante de nouvelles sources de tannase avec des propriétés plus souhaitables pour application commerciale (Sharma et *al.*, 200).

2.5- Microorganismes producteurs de tannases

2.5.1- Généralités

On sait depuis longtemps que plusieurs espèces de champignons comme *Aspergillus sp.* (Banerjee et Mondal, 2001) et *Penicillium sp.* (Rajakumar et Nandy, 1983) sont capables de produire une grande quantité de tannase. Pour usage industriel, l'enzyme est toujours d'origine fongique (Lekha et Lonsane, 1997). Au cours de cette dernière décennie, de nombreuses espèces bactériennes ont également été signalées comme productrices de tannase. Il s'agit notamment de *Streptococcus gallolyticus* (Osawa et *al.*, 1995a), *Lonepinella koalarum* (Osawa et *al.*, 1995b), *Bacillus licheniformis* (Mondal et Pati, 2000) et plusieurs espèces de lactobacilles (Osawa et *al.*, 2000). Quelques espèces d'*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Rhizopus* signalés par Belur et Mugeraya ; et Gonzalez comme producteurs de tannase : *Aspergillus aculeatus*, *A. aureus*, *A. flavus*, *A. foetidus*, *A. japonica*, *A. niger*, *A. oryzae*, *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium solani*, *F. subglutinans*, *Paeci variotii*, *Penicillium atramentosum*; *P. chrysogenum*, *P. variable* et *R. oryzae*.

Acacia nilotica, *A. auriculiformis*, *Casuarina equisetifolia*, *Cassia fistula*, *Ficus benghalensis*. et *Governadora*, ont été associés à la production microbienne de tannase sur

SSF (Hamdy et Fawzy, 2012). Un nouveau producteur de tannase, *Aspergillus tamarii*, capable de produire des tannases dans des cultures submergées par acide tannique, gallate de méthyle et d'acide gallique comme substrats a été récemment décrits (Costa et *al.*, 2008, 2012).

2.5.2- Mycètes

2.5.2.1- Généralités sur les mycètes

On compte actuellement plusieurs dizaines de milliers d'espèces connues de moisissures et de levures, les deux groupes appartiennent au règne des champignons. Omniprésents dans l'environnement, les champignons sont des saprophytes primaires, c'est-à-dire qu'ils utilisent la matière organique morte comme source nutritive pour leur croissance et leur reproduction. Plusieurs vivent dans les sols et prennent une part active dans la décomposition de la matière organique. Les moisissures sont des organismes pluricellulaires qui se propagent par leurs spores. Ces éléments se développent en filaments appelés hyphes, lesquels, en s'agglomérant, forment le mycélium. Celui-ci donne naissance à des structures plus spécialisées, les appareils sporifères, responsables de la formation des spores. Les spores diffèrent en formes, en dimensions et en couleurs. Elles peuvent survivre de quelques jours à quelques années. Les moisissures peuvent donc se trouver partout où il y a une température adéquate, de l'humidité, de l'oxygène, une source de carbone, d'azote et les minéraux dont elles ont besoin. Leurs activités de biodégradation ou de biodétérioration dépendent de leurs activités enzymatiques propres, des conditions environnementales, du phénomène de la concurrence et de la nature du substrat (Goyer et *al.*, 2001).

2.5.2.2- Le genre *Aspergillus*

C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule. Il comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (Raper et Fennell, 1965 ; Botton et *al.*, 1990).

Aspergillus niger

a. Caractères cultureux

Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques (géloses au malt et Sabouraud). Ils sont granuleuses, blanches au début, puis jaunes et, à maturité, elles deviennent noires. Le revers des colonies est incolore ou jaune pâle (Tabuc, 2007).

b. Morphologie microscopique

Les têtes conidiennes, bisériées, radiées, sont disposées en plusieurs colonnes brunâtres ou noires. Les conidiophores sont longs, lisses, hyalins ou brunâtres dans leur moitié supérieure. Les vésicules sont globuleuses et entièrement fertiles. Les phialides sont portées par des métules brunâtres, de dimensions variables. Les conidies sont habituellement globuleuses, parfois légèrement aplaties (Tabuc, 2007).

c. Classification

Selon Carlile et Watkinson (1994), la classification d'*Aspergillus niger* est :

- Règne : Fungi
- Division : Ascomycota
- Classe : Eurotiomycètes
- Sous-classe : Eurotiomycetidae
- Ordre : Eurotiales
- Famille : Trichocomaceae
- Genre : *Aspergillus*
- Espèce : *Aspergillus niger*.

d. Importances

Aspergillus niger est utilisé dans les processus biotechnologiques pour la synthèse de différents acides comme l'acide citrique et l'acide gluconique ainsi que pour la production d'enzymes : alpha-amylase, beta-glucanase, catalase, glucose oxydase, lipase, pectinase, polygalacturonase, tannase... (Tabuc, 2007).

2.5.2.3- Le genre *Acremonium*

a. Caractères culturaux

Ils poussent sur tous les milieux de mycologie en l'absence de cycloheximide. Les colonies sont parfois finement poudreuses, ou le plus souvent humides, muqueuses. La couleur varie du blanc au rose orangé. La température optimale de croissance varie de 25°C à 37°C, et sa croissance est restreinte (Chabasse et al., 2002).

b. Morphologie microscopique

Le thalle végétatif est constitué de filaments septés, isolés ou disposés parallèlement les uns aux autres. Les phialides naissent directement sur des filaments végétatifs. Elles sont fines et cylindriques, plus étroites à l'extrémité apicale qu'à la base (phialides aciculaires). Elles sont solitaires, plus rarement groupées par 2 ou 3. Les conidies cylindriques ou elliptiques sont regroupées en amas à l'extrémité des phialides. Elles sont généralement unicellulaires (parfois bicellulaires) et hyalines. Pas de reproduction sexuée connue (Chabasse et *al.*, 2002).

c. Commentaires

La plupart des *Acremonium* isolés au laboratoire sont des contaminants des cultures. Très rarement, ils peuvent causer des mycétomes à grains blancs, des kératites, des gommes cervico-faciales, ou des atteintes profondes chez l'immunodéprimé (méningites, endocardites, pneumopathies, ...). Parfois, ils peuvent être responsables d'onxyxis du gros orteil. Sur le plan morphologique, ils produisent des colonies volontiers glabres, humides, à croissance restreinte dont le diamètre ne dépasse guère 2 cm en une semaine. La confusion se produit habituellement avec certains isolats de *Fusarium* dépourvus de macroconidies, mais ce dernier à une croissance plus rapide et une texture laineuse. Les souches appartenant au genre *Acremonium* ont une phialide longue et effilée, tandis que celle des souches appartenant au genre *Fusarium* est plus courte et trapue (Chabasse et *al.*, 2002).

d. Classification

Selon Carlile et Watkinson (1994), la classification d'*Acremonium sp.* est :

- Règne : Fungi
- Division : Ascomycota
- Ordre : Hypocreales
- Famille : Hypocreaceae
- Genre : *Acremonium*

Matériel
&
Méthodes

3- Matériel et méthodes

Ce travail a pour objectif, la révélation et la production des tannases à partir de souches isolées de la rhizosphère de tamarinier du parc botanique de Bamako ; sur milieu à base de composants de déchets du fruit de *Tamarindus indica*. Pour ce faire, plusieurs étapes ont été réalisées, à savoir : échantillonnage, mise en évidence des souches productrices de tannases, étude mycologique des isolats sélectionnés et production de l'enzyme en fermentation liquide et solide.

La partie expérimentale est réalisée au sein du Laboratoire de Mycologie, Biotechnologies et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM), Université Constantine 1.

3.1- Echantillonnage du sol

L'échantillonnage a été effectué à partir de la rhizosphère de tamarinier qui, selon les informations recueillies, existe depuis plus de 50 ans au parc botanique de Bamako. Ce parc est situé dans l'extrémité Sud-Ouest du pays, au périphérique Nord de Bamako et à moins de 3 km du palais présidentiel.

Après avoir éliminé la couche superficielle de la terre (plus ou moins 5 cm), une quantité du sol qui se trouve juste à côté du tronc de l'arbre a été prélevée à l'aide d'une spatule stérile, puis transférée avec précaution, dans une bouteille stérile afin de la conserver (figure 7). Une fois au laboratoire, l'échantillon est conservé à 4°C au réfrigérateur et ce jusqu'à son utilisation (Prescott et *al.*, 2010).



Figure 7. Echantillon du sol de tamarinier du parc botanique de Bamako.

3.2- Isolement et purification des microorganismes producteurs de tannases

3.2.1- Isolement des microorganismes

L'isolement des microorganismes est réalisé selon la méthode de dilution décimale. D'ailleurs, il s'agit à préparer la solution mère du sol en ajoutant 1g du sol à 9 ml d'eau physiologique stérile suivie d'une agitation pendant 10 min. Cette solution a servi à préparer des dilutions décimales par l'ajout successif de 1 ml de la solution à 9 ml d'eau physiologique stérile jusqu'à l'obtention de la dilution de 10^{-6} . L'ensemencement est effectué en déposant une quantité de 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales préparées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Gélose Acide Tannique (GAT) à 1% (Annexe 1). Un étalement est réalisé à l'aide d'un râteau stérile sur l'ensemble de la surface de la gélose. L'incubation est effectuée à 28°C jusqu'à apparition de colonies et de boutures mycéliennes (Prescott et *al.*, 2010).

3.2.2- Purification des souches isolées

Les isolats bactériens sont ensemencés par des stries sèches sur milieu GN (Annexe 2), puis incubée à 28°C pendant 24h. Tandis que, les isolats fongiques sont repiqués dans des boîtes de pétri contenant le milieu PDA (Annexe 3), puis incubés à 28°C pendant 7 jours (Prescott et *al.*, 2010).

3.2.4- Conservation des souches

La conservation est réalisée selon la méthode de stockage dans l'eau physiologique. Les colonies bactériennes isolées sont prélevées avec une Anse de platine stérile, puis transférée dans le tube contenant 9 ml de l'eau physiologique. Des petits disques d'agar d'une jeune colonie fongique sont prélevés et placés dans un tube stérile contenant 9 ml de l'eau physiologique (3 disques par tube et par souche). Les tubes sont ensuite stockés à 4°C dans le réfrigérateur (Nakasone et *al.*, 2004 ; Pitt et Hoking, 1997).

3.3- Test qualitatif de la production de tannase

Il s'est effectué sur milieu GAT à 1%. Ce milieu est ensemencé par dépôts d'un disque gélosé de chaque isolat au centre de la boîte de Pétri. Ce disque a été prélevé à l'aide d'un perforateur préalablement stérile d'un diamètre de 0.5 cm. L'incubation des boîtes est effectuée pendant 96 h, à une température de 28°C. Une lecture sur boîtes est effectuée

chaque 24 h, et ce, afin de comparer les halos formés au tour de chaque disque, indiquant la production de la tannase (Bradoo et *al.*, 1996).

3.4- Identification morphologique des isolats

3.4.1- Identification de la bactérie

L'identification de la bactérie isolée est basée sur l'aspect cultural, la couleur et la forme des colonies avant observation à l'état frais. Une coloration de Gram a été aussi réalisée, afin de la statufier (Prescott et *al.*, 2010). La technique de la coloration de Gram est détaillée dans l'annexe 4.

3.4.2- Identification des moisissures

Elle a été réalisée par l'observation macroscopique et microscopique des isolats fongiques. Ces derniers sont ensemencés sur des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, incubés à 28°C pendant 96 h. l'aspect cultural des colonies est observé, ainsi que, le diamètre est mesuré après chaque 24h d'incubation.

L'observation microscopique est réalisée par la technique de Scotch. Cette technique consiste à appliquer un morceau de Scotch sur la périphérie de la colonie et puis le faire coller sur une lame afin de l'observer sous microscope (Chabasse et *al.*, 2002).

3.5- Production de tannase

3.5.1- Fermentation en milieu submergé

Ce test est effectué selon la méthode de Batra et Saxena, (2005). Deux souches fongiques ont été sélectionnées. La fermentation a été réalisée dans un flacon de 250 ml contenant 100 ml du milieu Czapek-Dox minimum additionné de 1% d'acide tannique (Annexe 5). Ces flacons ont été inoculés par 1 ml de la suspension sporale (10^7 spores/ml) de deux souches fongiques choisies préalablement (une souche/milieu). Ce milieu avait un pH initial 7,3. La solution d'acide tannique a été stérilisée par filtration avant de l'introduire dans le milieu de fermentation stérile. Toutes les flacons ont été incubés dans un bain marie agitateur à la température de 28°C avec un système d'agitation. La biomasse, l'activité de tannase et le pH ont été mesurés, à chaque 24 h, pendant 96 h.

3.5.2- Fermentation en milieu solide

3.5.2.1- Préparation du substrat

Le substrat utilisé dans ce travail est le déchet du fruit de *Tamarindus indica* (Figure 8). En effet, 6 kg de ce fruit ont été achetés à partir de marchés de Bamako. Les fruits avaient une durée de conservation comprise entre 2 et 3 ans au moment de leur achat. Il a été conservé au réfrigérateur à 4°C.



Figure 8. Le fruit de tamarinier dépourvus de son tégument.

5 kg de fruits ont été utilisés dans ce travail afin de récupérer leurs déchets après préparation du jus (Figure 9). Ce déchet est mis en séchage pendant 12 jours à la température ambiante. Son broyage est rendu possible grâce à un broyage mécanique par un broyeur, afin d'obtenir une poudre (Figure 10).



Figure 9. Le jus de fruit de tamarinier.



Figure 10. La poudre de déchets du fruit de tamarinier obtenu après broyages.

3.5.2.2- La conduite de la fermentation

La fermentation en milieu solide a été réalisée suivant la méthode de Peter et *al.* (2009). Elle a été effectuée dans des bouteilles contenant 5 g de substrat qui ont été humidifiés avec 5 ml d'eau distillée préalablement stériles et un pH 3.8. L'inoculation est réalisée par les mêmes souches et de la même façon que celle du milieu de fermentation liquide. Ensuite, les flacons ont été incubés à 28°C. L'activité enzymatique de tannases et le pH sont estimés chaque 24h pendant 96 h.

Le pH a été mesuré après la dissolution de 5 g du substrat dans 50 ml d'eau distillée avec 0,01% de Tween 80. Cela, sous effet d'un agitateur pendant 10 mn et suivie d'une filtration (filtre Whatman n°1).

3.6- Méthodes d'analyse

3.6.1- Extraction de l'enzyme

L'enzyme du milieu de fermentation liquide n'a pas nécessité une extraction particulière, elle était séparée de la biomasse par une simple filtration, par le papier Wattman n°1.

Les échantillons de sous substrats fermentés, *Tamarindus indica*, ont été soigneusement mélangés en ajoutant 50 ml d'eau distillée avec 0,01% de Tween 80, en gardant le flacon sur une plaque d'agitation pendant 10 minutes. L'enzyme brute a été filtrée avec un papier Whatman n°1 et centrifugée à 6000 tpm pendant 10 mn. Le filtrat est considéré comme source de l'enzyme Peter et *al.* (2009).

3.6.2- Dosage de l'activité enzymatique de tannase

Le dosage quantitatif de la tannase brute produite est effectué par la méthode décrite par Iibuchi et *al.* (1967). Le degré d'hydrolyse de la liaison ester d'acide tannique est estimé par mesure de la disparition de ce dernier à la longueur d'onde de 310 nm. Le protocole détaillé de cette technique est décrit dans l'annexe 6. Une unité enzymatique (UE) est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour hydrolyser la liaison ester d'une μmol d'acide tannique par minute. Les résultats sont exprimés en $\text{UE} \cdot \text{ml}^{-1}$.

3.6.3- Détermination du taux de la biomasse

Elle est déterminée par le poids sec de la biomasse. Ce poids sec est obtenu par séchage du culot de chaque souche issue de la fermentation en milieu submergé à 105°C jusqu'à stabilisation du poids (Branger et *al.*, 2007).

3.6.4- Mesure du pH

Le pH a été mesuré par un pH-mètre après chaque 24 h de fermentation pendant 96 h (Prescott et *al.*, 2010).

Résultats

4- Résultats

Ce travail porte sur la biosynthèse des tannases fongiques isolées à partir du sol du parc botanique de Bamako situé dans le sud-Ouest du Mali, sur un milieu liquide à base d'acide tannique et solide à base de composants de *Tamarindus indica*.

4.1- Isolement et purification des isolats producteurs de tannase

➤ Isolément des microorganismes

L'isolement s'est réalisé sur milieu GAT à 1%, qui est un milieu sélectif des microorganismes ayant la capacité de produire de la tannase (figure 11). Ce milieu a permis de sélectionner 13 isolats fongiques et un isolat bactérien en fonction de la zone de lyse et de l'aspect cultural des colonies, après une incubation à 28°C pendant 72 h.

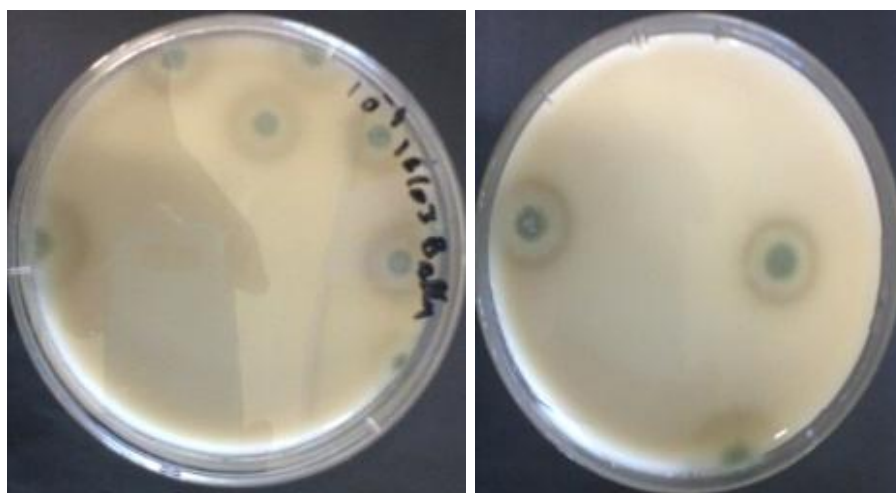


Figure 11. La zone d'utilisation de tannate par les microorganismes avec la colonie au centre.

4.2- Test qualitatif de la production de tannase

Le tableau 8 représente les données du test de la production qualitative de la tannase par les isolats fongiques du sol du parc botanique de Bamako, sur milieu GAT à 1% après incubation à 28°C. Les données sont recueillies par la mesure directe des halos en revers de boîte d'après la procédure de Bradoo et *al.* (1996).

Les résultats montrent que pour la plupart des isolats, l'optimum de la production de la tannase est obtenu après 72 h. Ainsi, il est remarquable que la souche M_{2,8} a donné la meilleure zone d'utilisation de tannate, avec un diamètre de 27 mm ; suivi par la souche M₁

(25 mm après 96 h). La souche A₁ se montre être la moins efficace, avec un diamètre de 12 mm à 72 h (25 mm après 96 h).

Tableau 8 : L'activité de tannase produite par les différents isolats sur milieu GAT à 1%.

N°	Souches	Temps (h)			
		24	48	72	96
1	M ₄	8 mm	15 mm	16 mm	16 mm
2	M ₁	12 mm	22 mm	23 mm	25 mm
3	M _{2,8}	13 mm	23 mm	27 mm	27 mm
4	M	12 mm	14 mm	16 mm	16 mm
5	B ₂	7 mm	13 mm	12 mm	16 mm
6	M'	1 mm	17 mm	19 mm	19 mm
7	M _{4,1}	–	11 mm	14 mm	14 mm
8	M ₃	13 mm	18 mm	23 mm	23 mm
9	M _{2,5}	8 mm	13 mm	16 mm	16 mm
10	A ₁	8 mm	11 mm	12 mm	12 mm
11	I ₁	–	10 mm	14 mm	14 mm
12	I ₂	–	10 mm	13 mm	14 mm
13	B ₃	–	12 mm	14 mm	14 mm
14	B _{1,1}	9 mm	12 mm	13 mm	13 mm

4.3- Identification morphologique des isolats

4.3.1- Identification de la bactérie

Les essais réalisés au sein du laboratoire n'ont pas permis la mise en évidence du genre bactérien. Néanmoins, le test Gram a montré que c'est une bactérie (Gram -) et de forme bacille (figure 12). L'observation à l'état frais a révélé sa mobilité.

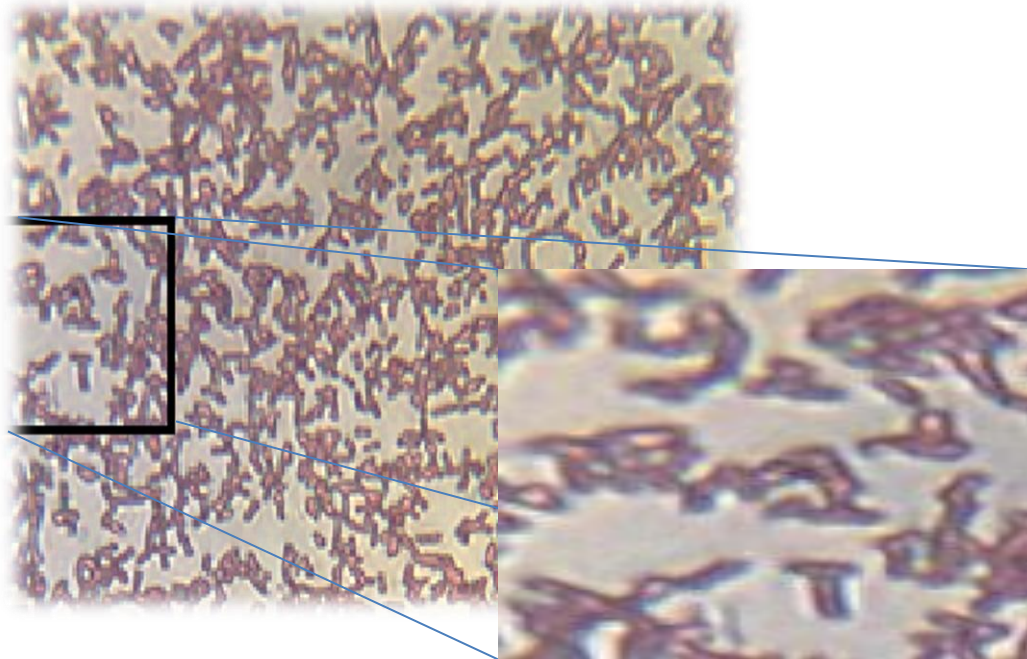




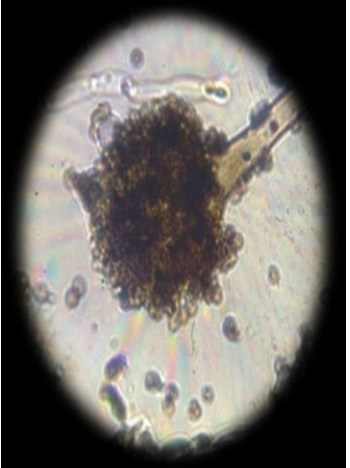
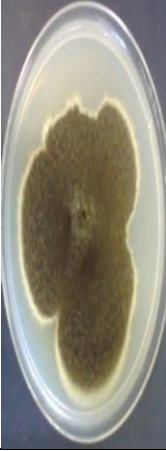


Figure 12. La bactérie isolée au grossissement x 100.








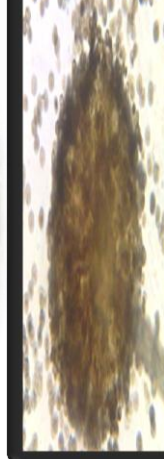






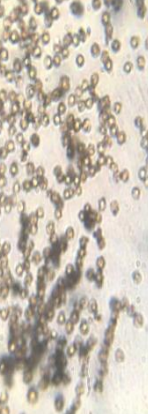

4.3.2- Identification des moisissures



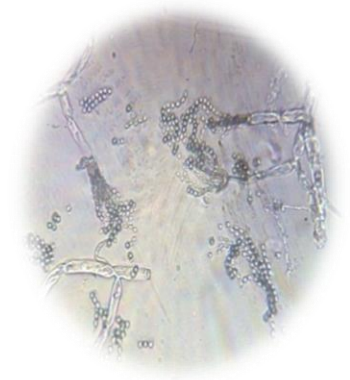



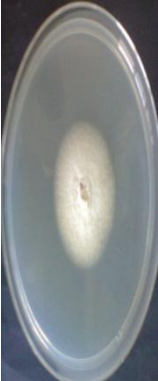

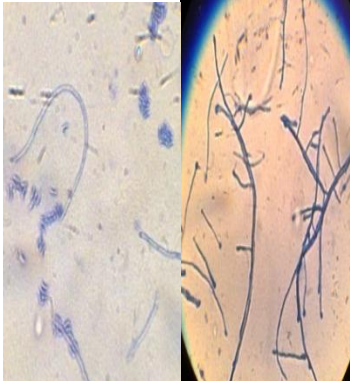
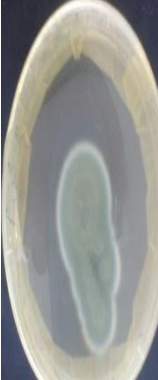


Aspects macroscopiques, microscopiques et ainsi que la vitesse de croissance des moisissures isolées ont été étudiés (tableau 10).

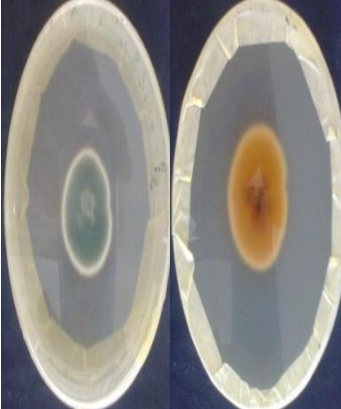

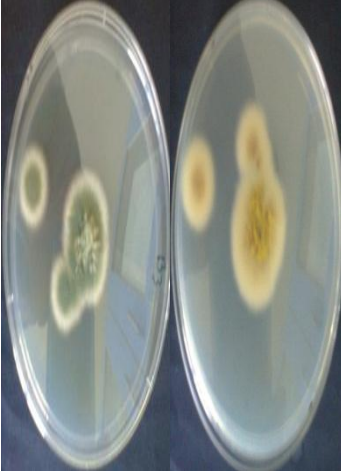
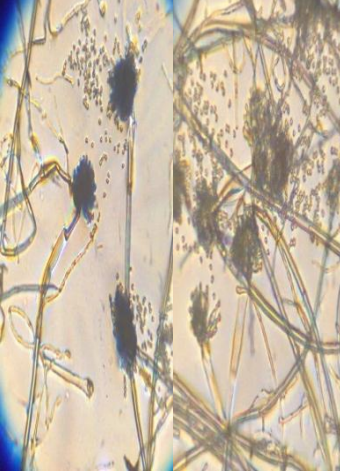
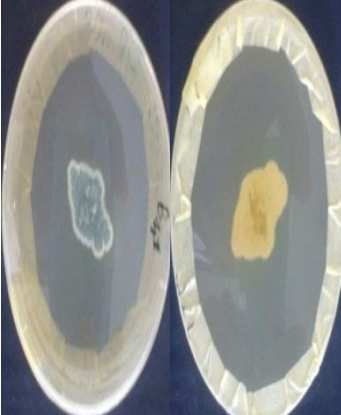
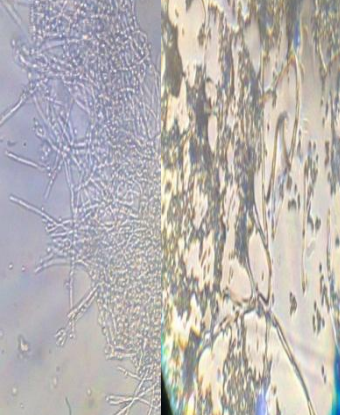
En récapitulant, la souche performante productrice de tannase sur milieu GAT (M_{2,8}) est donc identifiée comme *Aspergillus sp.*, tandis qu'une souche importante A₁ est identifiée comme *Acremonium sp.*, n'est pas connus dans la littérature comme souche productrice de tannase. Ces deux souches fongiques sont utilisées dans la poursuite du travail.

Tableau 9 : Caractéristiques morphologiques des isolats fongiques.

Isolats	Identification	Aspects macroscopiques		Aspects microscopiques		Genres
		Critères et diamètre de la colonie.	Faces	Revers	Critères	
M ₁	<p>Texture : Poudreux et contour (blanc) régulier.</p> <p>Topographie : Plane.</p> <p>Couleur : Noire.</p> <p>Revers : Jaune vers noirâtre.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : Toute la boîte.</p>			<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Simples.</p> <p>Conidies : Pluricellulaires et rondes.</p> <p>Présence d'une tête aspergillaire</p>		<i>Aspergillus sp.</i>
M _{2,8}	<p>Texture : Poudreux et contour (blanc) régulier.</p> <p>Topographie : Plane.</p> <p>Couleur : Noire.</p> <p>Revers : Jaune clair avec de stries radiales.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 6,2 cm.</p>			<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Simples.</p> <p>Conidies : Pluricellulaires et rondes.</p> <p>Présence d'une tête aspergillaire.</p>		<i>Aspergillus sp.</i>

<p>M_{2,5}</p>	<p>Texture : Duveteux et contour (blanc) et régulier. Topographie : Surélevée. Couleur : Noire. Revers : Jaune. Taille de la colonie après 96 h : Toute la boîte.</p>			<p>Hyphe : Septés. Conidiophores : Simples. Conidies : Pluricellulaires et rondes. <i>Présence d'une tête aspergillaire</i></p>	 	<p><i>Aspergillus sp.</i></p>
<p>M'</p>	<p>Texture : Duveteux et contour (blanc) régulier. Topographie : Surélevée. Couleur : Noire. Revers : Jaune avec de stries radiales. Taille de la colonie après 96 h : Toute la boîte.</p>			<p>Hyphe : Septés. Conidiophores : Simples. Conidies : Pluricellulaires et rondes. <i>Présence d'une tête aspergillaire</i></p>	 	<p><i>Aspergillus sp.</i></p>
<p>M₃</p>	<p>Texture : Poudreux et contour (blanc) régulier. Topographie : Plane. Couleur : Noire. Revers : Jaune avec de stries radiales. Taille de la colonie après 96 h : Toute la boîte.</p>			<p>Hyphe : Septés. Conidiophores : Simples. Conidies : Pluricellulaires et rondes. <i>Présence d'une tête aspergillaire</i></p>	 	<p><i>Aspergillus sp.</i></p>
<p>M</p>	<p>Texture : Poudreux. Topographie : Plane. Couleur : Noire. Revers : Jaune vers le noirâtre foncé. Taille de la colonie après 96 h : Toute la boîte.</p>			<p>Hyphe : Septés. Conidiophores : Simples. Conidies : Pluricellulaires et rondes. <i>Présence d'une tête aspergillaire</i></p>	 	<p><i>Aspergillus sp.</i></p>

M ₄	<p>Texture : Duveteux et contour (blanc) régulier.</p> <p>Topographie : Cérébriforme.</p> <p>Couleur : Verte.</p> <p>Revers : Jaune.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 1,1 cm.</p>			<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Simples et septés.</p> <p>Conidies : En chaîne et rondes.</p> <p>Présence de pénicille.</p>		<i>Penicillium sp.</i>
M _{4,1}	<p>Texture : Duveteux et contour (blanc) régulier.</p> <p>Topographie : Cérébriforme.</p> <p>Couleur : Verte.</p> <p>Revers : Jaune.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 1,1 cm.</p>			<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Simples et septés.</p> <p>Conidies : En chaîne et rondes.</p> <p>Présence de pénicille.</p>		<i>Penicillium sp.</i>
A ₁	<p>Texture : Humide puis poudreux.</p> <p>Topographie : Plane.</p> <p>Couleur : Blanche.</p> <p>Revers : Brune.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 1,3 cm.</p>			<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Phialide : Directement inséré sur filament végétal et très allongé.</p> <p>Conidies : Groupé en amas et la forme elliptique.</p>		<i>Acremonium sp.</i>
I ₁	<p>Texture : Duveteux et contour (blanc) régulier.</p> <p>Topographie : Plane.</p> <p>Couleur : Verte peu claire.</p> <p>Revers : Jaune.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 3,4 cm.</p>			<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Ramifiés et septés.</p> <p>Conidies : En chaîne et rondes.</p> <p>Présence de pénicille.</p>		<i>Penicillium sp.</i>

I ₂	<p>Texture : Laineuse et contour (blanc) régulier.</p> <p>Topographie : Plane.</p> <p>Couleur : Verte foncé.</p> <p>Revers : Marron.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 2,9 cm.</p>		<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Simples.</p> <p>Conidies : Pluricellulaires et rondes.</p> <p>Présence d'une tête aspergillaire.</p>		<i>Aspergillus sp.</i>
B ₃	<p>Texture : Duveteux et contour (blanc) régulier.</p> <p>Topographie : Plane.</p> <p>Couleur : Vert grisâtre.</p> <p>Revers : Jaune verdâtre avec le jaune au centre.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 3,5 cm.</p>		<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Simples et septés.</p> <p>Conidies : Pluricellulaires et rondes.</p> <p>Présence de pénicille.</p>		<i>Penicillium sp.</i>
B _{1,1}	<p>Texture : Avec un aspect sec et contour (blanc) irrégulier.</p> <p>Topographie : Surélevée.</p> <p>Couleur : Bleu-vert.</p> <p>Revers : Jaune.</p> <p>Taille de la colonie après 96 h : 1,7 cm.</p>		<p>Hyphe : Septés.</p> <p>Conidiophores : Simples et septés.</p> <p>Conidies : Pluricellulaires et rondes.</p> <p>Présence de pénicille.</p>		<i>Penicillium sp.</i>

4.4- Production de tannase

Elle est réalisée par le dosage de l'activité enzymatique de la tannase produite par les isolats fongiques « *Aspergillus sp.* et *Acremonium sp.* » isolés du sol du parc botanique de Bamako, à partir des fermentations réalisées sur milieux liquide et sur milieu solide. Le dosage de la tannase ainsi que d'autres paramètres illustrés au cours de cette étape ont été mesurés après chaque 24 h pendant 4 jours.

4.4.1- Fermentation en milieu submergé

4.4.1.1- Activité enzymatique de la tannase

Le dosage quantitatif de la tannase produite est effectué selon la méthode d'Iibuchi et *al.* (1967). Les résultats sont montrés dans la figure (15).

En effet, une augmentation progressive de l'activité enzymatique de la tannase des deux souches a été constatée après 48 h d'incubation. Elle atteint sa valeur maximale à 72 h de fermentation et elle commence à diminuer au-delà de cette période. Il est remarquable que la quantité de tannase produite à cette heure est plus importante chez la souche *Acremonium sp.* ($2,02 \text{ UE.ml}^{-1}$) en comparant à celle de la souche *Aspergillus sp.* ($1,48 \text{ UE.ml}^{-1}$).

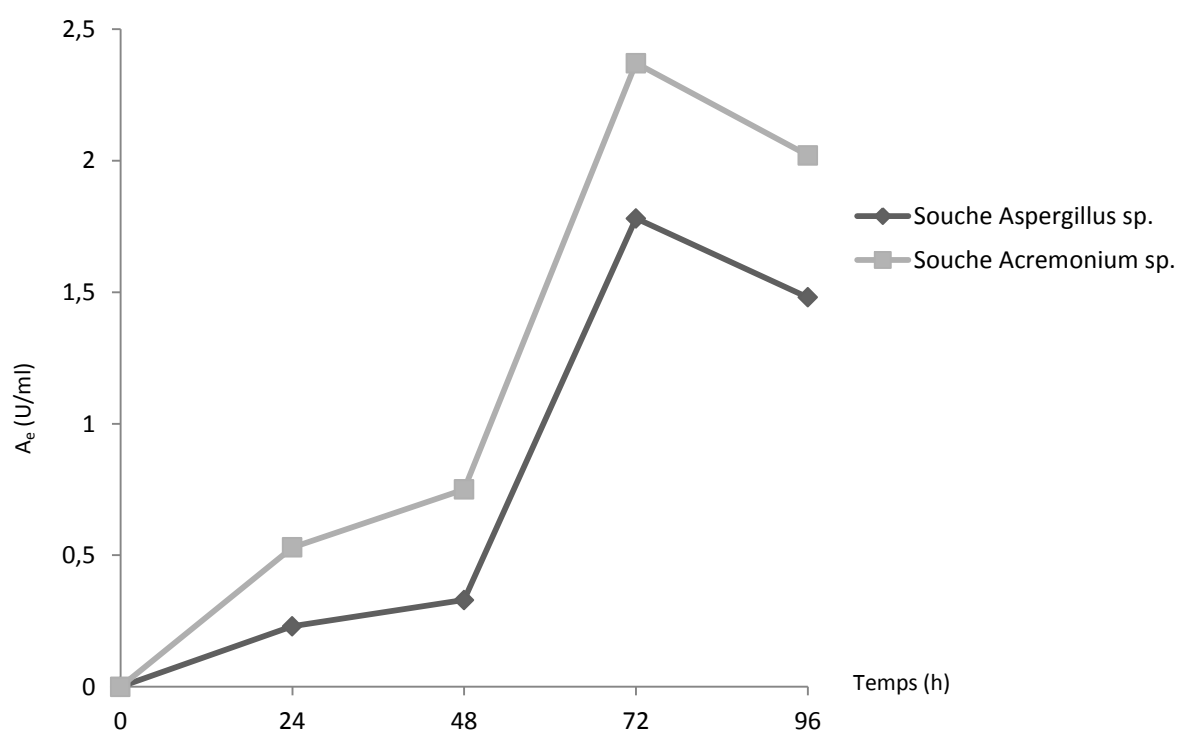


Figure 13. L'activité enzymatique du milieu de fermentation liquide au cours du temps.

4.4.1.2- Evaluation de la biomasse

Une étude comparative de biomasses après développement sur milieu de fermentation liquide au cours du temps a été réalisée et montrée dans la figure 17. Les résultats révèlent que l'optimum de la biomasse est obtenu après 96 h de fermentation pour *Aspergillus sp.* (0,57 g) et de 72 h pour *Acremonium sp.* (0,43 g).

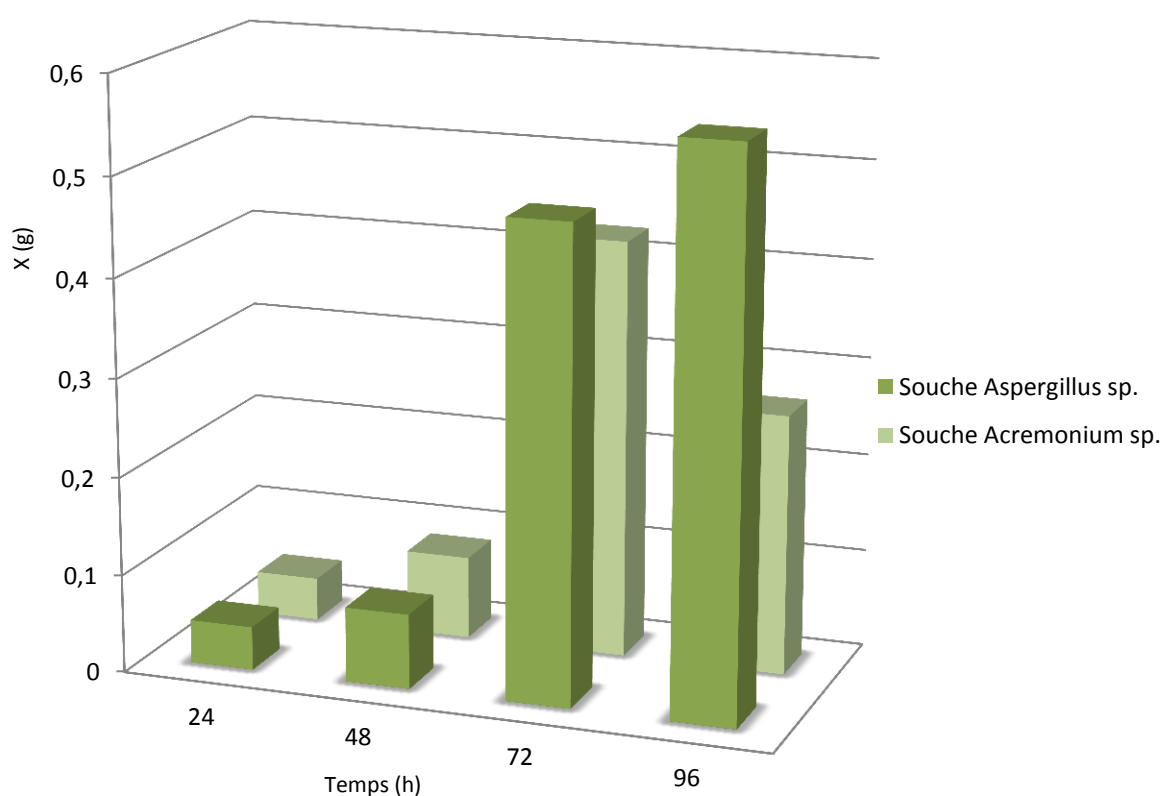


Figure 14. L'étude comparative des biomasses après développements sur milieu de fermentation liquide au cours du temps.

4.4.1.3- Mesure du pH

Les résultats présentés dans la figure 16 révèlent qu'après 48 h d'incubation, une diminution du pH du milieu de fermentation des deux souches est observée. En effet, le pH du milieu de culture d'*Aspergillus sp.* commence à augmenter progressivement au fil du temps jusqu'à ce qu'il atteigne presque sa valeur initiale à la fin du temps d'incubation (pH 7). Les valeurs minimales de pH de deux souches sont observées après 48h de fermentation et elles sont pratiquement identiques.

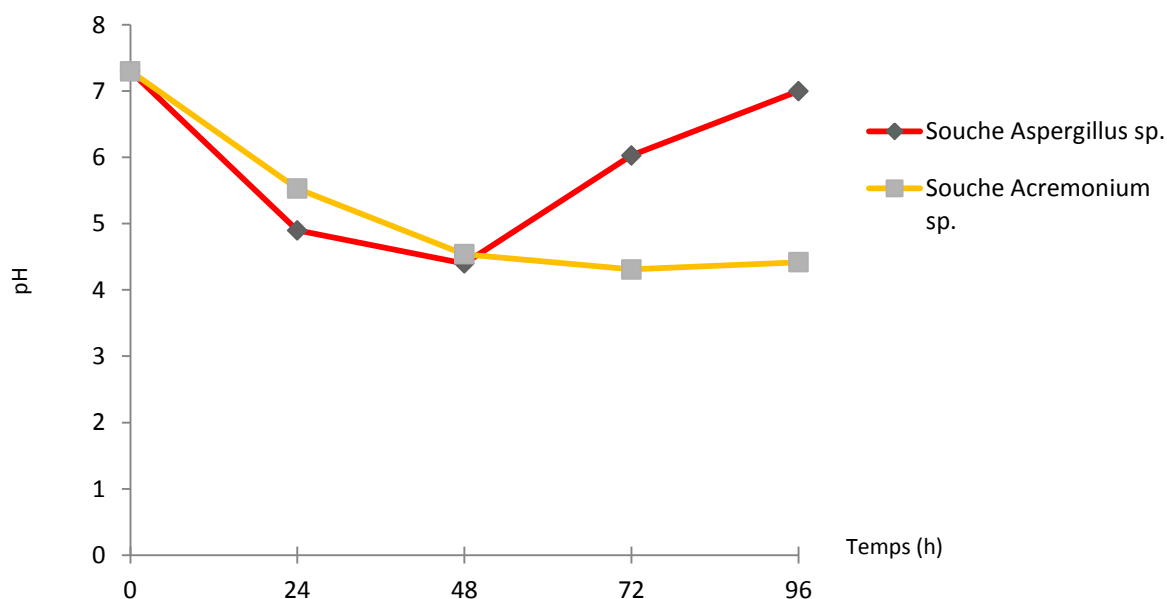


Figure 15 Evolutions du pH de milieu de fermentation liquide au cours du temps.

4.4.2- Fermentation en milieu solide

4.4.2.1- Préparation du substrat

Le substrat utilisé dans ce travail est le déchet du fruit de tamarinier. 5 kg de tamarin ont été utilisés afin de préparer un jus. Après la déshydratation de ce dernier, 3 kg de déchet, présentant le substrat, ont été récupérés. Ce déchet est composé de quatre éléments essentiellement différents du point de vue composition chimique et apparence à l'œil nu, à savoir : Le tégument, la pulpe, la fibre et la graine (Figure 16).



Figure 16. Les quatre éléments principaux constituant le déchet du fruit de *Tamarindus indica*.

a : Le tégument ; b : La pulpe ; c : La fibre, c : La graine.

4.4.2.2- Activité enzymatique de la tannase

Le dosage quantitatif de tannase produite est effectué selon la méthode de Libuchi et al. (1967). Les résultats sont illustrés dans la figure 18.

Il a été démontré que l'activité enzymatique maximale de la tannase est obtenue après 72 h de fermentation par la souche *Aspergillus sp.* ($7,8 \text{ UE.ml}^{-1}$) et elle est obtenue après 48 h de fermentation par la souche *Acremonium sp.* ($1,21 \text{ UE.ml}^{-1}$). Il est remarquable que la quantité de tannase produite par *Aspergillus sp.* est beaucoup plus importante que celle produite par *Acremonium sp.*.

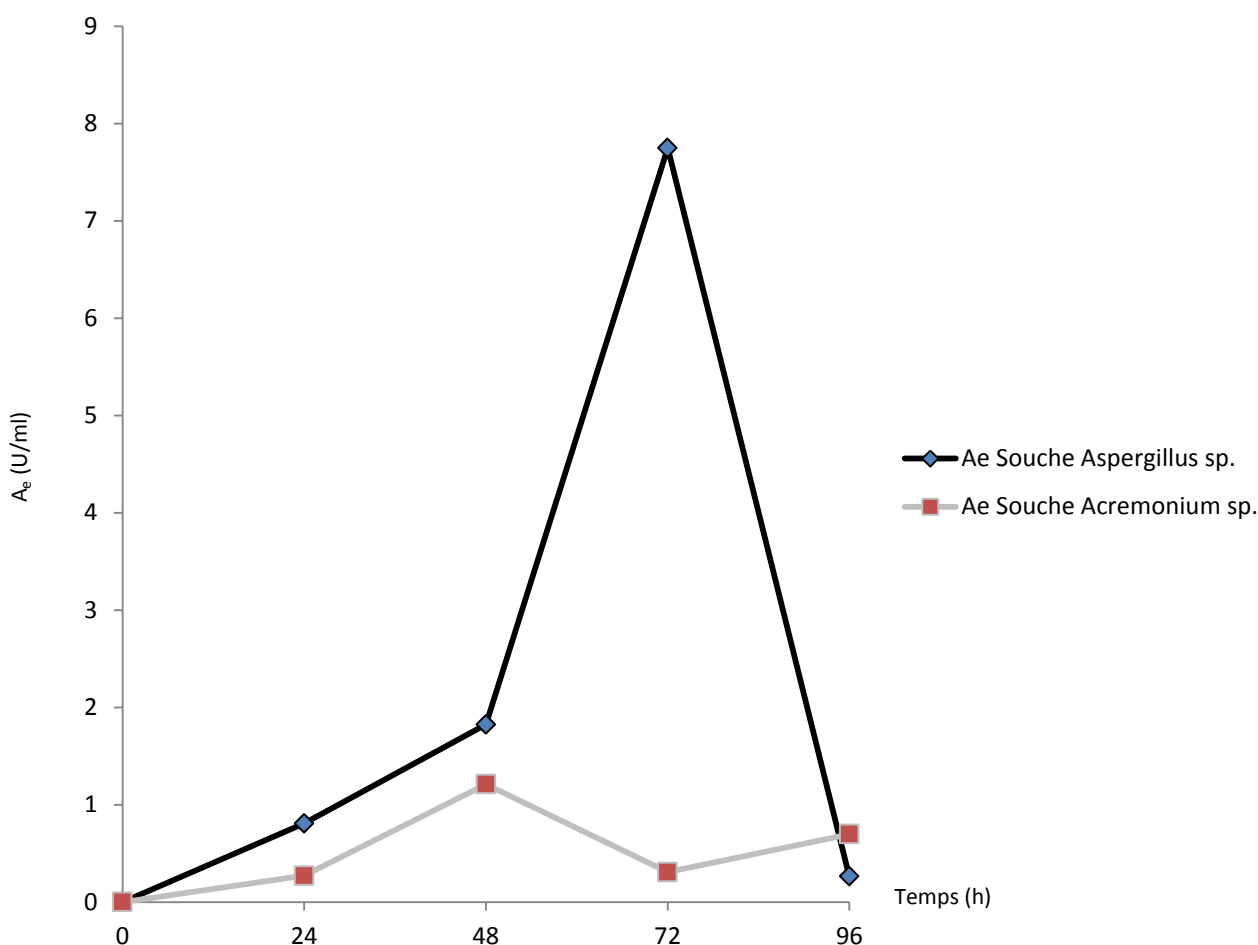


Figure 17. Activité enzymatique de la tannase du milieu de fermentation solide au cours du temps.

4.4.2.3- Mesure du pH

La figure 19 montre l'évolution du pH de milieu de fermentation solide des souches *Aspergillus sp.* et *Acremonium sp.* au cours du temps. Une diminution légère du pH de deux souches fongiques par rapport au pH initial est observée au fil du temps. Cette diminution est plus importante chez la souche *Aspergillus sp.* par rapport à celle d'*Acremonium sp.*.

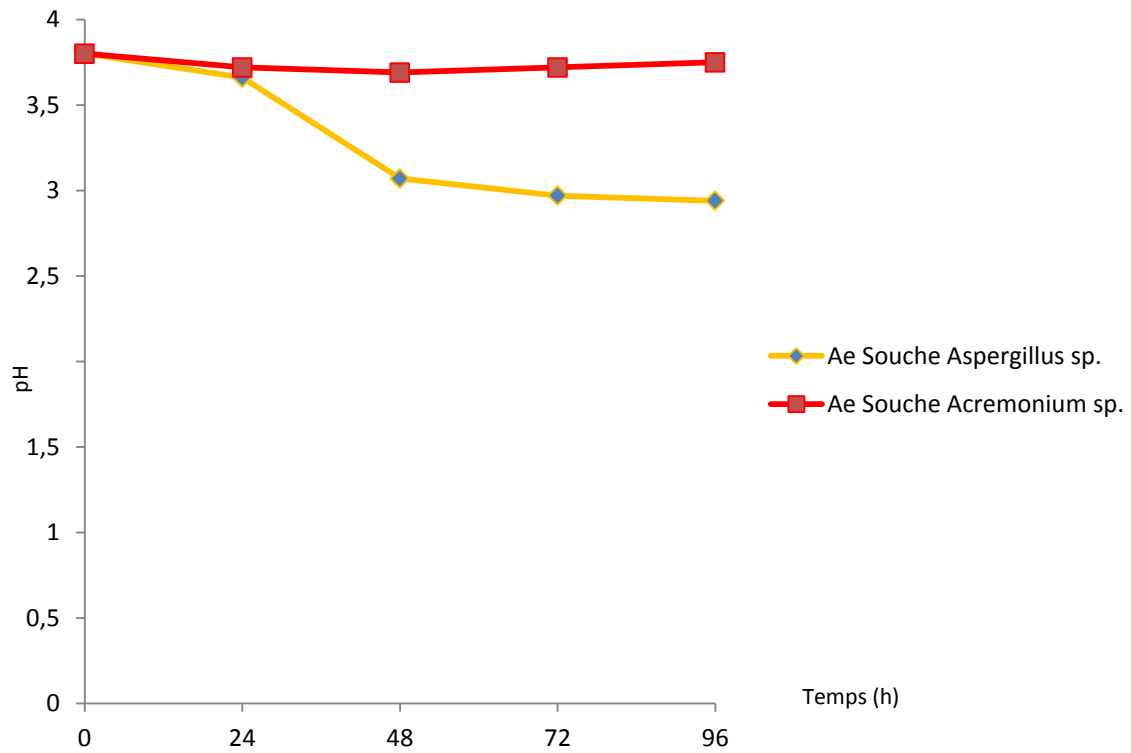


Figure 18. Evolutions du pH de milieu de fermentation solide au cours du temps.

Discussions

5- Discussions

La culture sur milieu liquide est la voie de fermentation la plus utilisée pour la production des enzymes. Bien que son rendement soit réduit par rapport à celui de son homologue solide, ce dernier est le moyen le plus adéquat pour la valorisation des sous-produits agroalimentaires.

De ce fait, le présent travail porte sur la production de la tannase par des microorganismes isolés à partir du sol du parc botanique de Bamako, sur ces deux types de fermentation ; liquide et solide (à base de composants de *Tamarindus indica*). La production de tannase, de la biomasse, ainsi que, le pH ont été suivis en fonction du temps.

La sélection des microorganismes isolés à partir du sol du parc botanique de Bamako, a été effectuée en fonction de l'aspect, de la forme et de la couleur des différentes colonies, mais aussi, du diamètre de la zone de lyse de tannate, qui a été pris en considération. L'isolement a été réalisé d'une façon sélective, sur milieu GAT à 1%, ce qui a permis de sélectionner que 13 isolats fongiques et une seule bactérie.

Le test de la production qualitatif de tannase a permis d'affirmer la capacité des isolats à dégrader le tannate. Cependant, des isolats ont été plus performants que d'autres. La souche M_{2,8} est la plus efficace, donnant un diamètre de zone de lyse de tannate égale à 27 mm, sur milieu GAT à 1% après 72 h d'incubation. L'identification morphologique a montré que l'isolat appartient au genre *Aspergillus*. Une étude menée sur ce même milieu et dans les mêmes conditions, donnant des résultats proches à ceux obtenus, elle a montré qu'après 72 h d'incubation, l'espèce *A. niger* forme une zone d'utilisation de tannate de 21 mm et 25 mm (Batra et Saxena, 2005). La même étude a révélé que l'espèce *A. niger* est plus productrice de tannase par rapport à quelques espèces appartenant au genre *Penicillium*, ce qui consolide d'avantage les résultats de ce travail.

Une identification à base des critères cultureux et morphologiques des isolats fongiques a été réalisée. Les données de Botton et *al.* (1990), ont permis de partager les isolats en trois genres des moisissures, à savoir : *Aspergillus*, *Penicillium* et *Acremonium*.

Pour ce dernier, sa croissance est restreinte dont le diamètre de la colonie ne dépasse pas 2 cm en une semaine sur milieu Sabouraud (Chabasse, 2002). Cette remarque a joué un rôle important pour la vérification de son identité. L'isolat M_{2,8} seraient probablement *Aspergillus niger* en se référant à Chabasse (2002).

La souche *Acremonium sp.* a montré la plus petite zone d'utilisation de tannate par rapport à tous les isolats au moment du test de la production qualitative de tannase. Mais pour la

réalisation de la fermentation, elle est choisie pour accompagner la souche *Aspergillus sp.*, car il est supposé que ce travail est le premier à l'avoir exploité dans ce contexte.

L'évolution des biomasses des deux souches fongiques choisies est pratiquement corrélée avec celle de l'activité enzymatique. Ces résultats corroborent ceux trouvés par Jin et al. (2013). En outre, les résultats de l'activité enzymatique de la souche *Aspergillus sp.*, après 24 h de fermentation sur le milieu liquide est inférieur à celui obtenu par Batra et Saxena (2005), en utilisant *Aspergillus niger* dans le même milieu de culture, mais dans des conditions différentes de température et d'agitation. Cette différence de conditions serait probablement la cause de la légère dissimilitude des deux résultats.

L'augmentation du pH en fin de la fermentation d'*Aspergillus sp.* est probablement due à l'utilisation de gallate libéré dans le milieu après hydrolyse enzymatique d'acide tannique, car l'évolution du pH du milieu dépend de la quantité de cet élément dans le milieu de culture. Selon Seth et Chand (2000), la présence de gallate peut aussi être responsable de l'inhibition de la biomasse à cause de son dépôt sur la surface cellulaire, d'où une diminution de l'activité enzymatique, peut être constatée.

Les déchets issus du fruit de *Tamarindus indica*, ont été utilisés comme substrat pour une fermentation solide. Etant donné que la composition de ce fruit change selon les localités (El-Siddig et al, 2006). Ainsi que, la production du jus réduit considérablement sa teneur en éléments comme : glucide, sels minéraux, acides aminés, etc., mais aussi l'action de la stérilisation détériore les protéines.

Dans cette partie du travail, l'activité enzymatique de la souche *Aspergillus sp.* en milieu solide a été plus importante qu'en milieu liquide. Contrairement à la souche *Acromonium sp.* Ce qui signifie que la première souche est mieux rentable sur les déchets de *Tamarindus indica*. Récemment, certaines études ont rapporté divers avantages de la production de tannase sur FMS par rapport la FML (Lekha et Lonsane, 1997 ; Van de Lagenmaat et Pyle, 2001). Parmi ces avantages son niveau de production élevé (jusqu'à 5,5 fois plus qu'en FML), la nature de l'enzyme extracellulaire et sa stabilité dans une large gamme de pH et de température (Cruz-Hernández et al., 2006). L'activité de l'eau (A_w) joue également, un rôle primordial dans le cas de FMS, car les macromolécules doivent être à l'état hydraté pour être active (Branger et al., 2007). Il est à signaler, que le taux d'humidité utilisé dans ce travail n'a pas été bien défini pour chaque souche.

D'autre part, le pH du milieu n'a pas enregistré une augmentation significative et sa diminution est légère chez les deux isolats fongiques (même souches utilisées dans la précédente expérience). Malgré que le pH de la souche *Aspergillus sp.* ait enregistré une régression importante, mais, est expliqué par la plus grande activité enzymatique produite en milieu solide. Ce résultat est en cohérence à celui de Van de Lagenmaat et Pyle (2001).

6- Conclusion et perspectives

Vue la quantité des déchets régénérés par le fruit de tamarin et la présence de tanins dans ce dernier, ces déchets sont une source importante de pollution et une source de sous-produit agroalimentaire valorisable pour la production de tannase.

L'activité d'hydrolyse de tanins nous a permis d'isoler trois genres de moisissures et une bactérie bacille à Gram (-) et ce, à partir d'un échantillon du sol provenant du parc botanique de Bamako. L'identification des isolats fongiques a révélé la présence des genres : *Aspergillus*, *Penicillium* et *Acremonium*. Par ailleurs, Le genre *Aspergillus* et *Acremonium* ont été sélectionnés dans ce travail par rapport à leurs activités enzymatique. Les résultats montrent qu'*Acremonium sp.* a une meilleure production de tannase sur milieu de fermentation liquide, contrairement à l'*Aspergillus sp.* qui donne des meilleurs résultats en milieu de fermentation solide (presque 7 fois supérieure qu'en milieu liquide). De plus, il a été montré que la production maximale de tannase s'initie à la phase de croissance exponentielle de la biomasse, c'est-à-dire après 72 h de culture dans la plupart des cas testés.

Ces résultats se considèrent comme une initiation à la recherche des mycètes développant une activité de tannase dans différents types de fermentations. D'autres études doivent être menées pour compléter ces résultats.

De ce fait, et au terme de cette recherche, nous pouvons nous fixer les points suivants comme perspectives :

- Identification moléculaire des souches sélectionnées;
- Optimisation de la production de tannase par l'*Acremonium sp.*;
- Etudier la nature de la protéine synthétisée par l'*Acremonium sp.*;
- Modélisation de la production de tannase en culture solide à base de déchet de fruits de tamarinier par les isolats sélectionnés.

Références bibliographiques

- **Abdulrazak S. A., Fujihara T., Ondiek J. K. and Ørskov, E. R., 2000.** Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. *Animal Feed Science and Technology*. **85**: 89-98.
- **Abrahami, Aruspice, Bertol, Elisemarión, Epop, Fm790, Hdlib, K!roman, Lucio fr, Nicolas Ray, Padawane, Pancrat, Pautard, Rhadamante, Sebleouf, Selvejp, Sensonet, Snipre, Vigneron, Vlaam, 2014.** Acide gallique. *Wikipédia*.
- **Adeniyi B. A. and Odufowora R. O., 2000.** In vitro antimicrobial properties of *Aspillia africana* (Compositae). *African Journal of Biomedical Research*, **2**(3): 167-170.
- **Aguilar C. N. and Gutierrez-Sanchez G., 2001.** Review sources, properties, applications and potential uses of tannin acyl hydrolase. *Food Sci Technol Int*. **7**: 373-82.
- **Aguilar C. N., Augur C., Favela-Torres E., and Viniegra-González G., 2001.** Production of tannase by *Aspergillus niger* Aa-20 in submerged and solid state fermentations: Influence of glucose and tannic acid. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*. **26**: 296–302.
- **Albrecht R., 2007.** Co-Compostage de Boues de Station d'Épuration et de Déchets Verts : Nouvelle Methodologie du Suivi des Transformations de la Matière Organique. Thèse : Doctorat. *Université Paul CEZANNE*. Faculté des Sciences et Techniques. Marseille. 46-47.
- **Anon, 1976.** *Tamarindus indica* L. In *The Wealth of India* (Raw Materials series). Council of Scientific and Industrial Research. New Delhi. 144-122.
- **Assamoi A. A., Destain J., Thonart P., 2009.** Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- β -1,4-xylanases de moisissures : le cas de *Penicillium canescens*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **13**(2): 281–294.
- **Babanal A. H., Samaké F. and Maïga K., 2011.** Characterization of Some Agricultural Soils: Presence and Activity of Tilemsi Rock Phosphate-Solubilizing Thiobacilli. *British Microbiology Resarch Journal*. **1**(1): 1-9.
- **Bajpai B., and Patil S., 2008.** A New Approach To Microbial Production Of Gallic Acid. *Brazilian Journal of Microbiology*. **39**:708-711. ISSN: 1517-8382.

- **Banerjee D. and Mondal K. C., 2001.** Production and characterization of extracellular and intracellular tannase from newly isolated *Aspergillus auleatus* DBF 9. *J. Basic Microbiol.* **41**: 313– 318.
- **Bathily H., Babana A. H. and Samaké F., 2010.** *Bacillus pumilus*, a new pathogen on potato tubers in storage in Mali. *African Journal of Microbiology Research.* **4**(20): 2067-2071.
- **Bationo A., Ayuk E., Ballo D. and Koné M., 1997.** Agronomic and economic evaluation of Tilemsi phosphate rock in different agroecological zones of Mali. *Nutr. Cycling Agrosyst.*, **48**: 179-189.
- **Batra A., and Saxena R. K., 2005.** Potential tannase producers from the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. *Process Biochemistry.* **40**: 1553–1557.
- **Belmares R., Contreras-Esquivel J. C., Rodriguez-Herrera R., Coronel A. R., and Aguilar C. N., 2004.** Microbial production of tannase: an enzyme with potential use in Food industry. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **37**: 857–864.
- **Bergmeyer H.U., Gawekn K., et al., 1979.** Principes de l’analyse enzymatique. Tech. et Doc. Lavoisier. Paris. 17.
- **Bhattacharya P. K., 1974.** A note on the presence of anthocyanin pigment in the stem of red fruited variety of tamarind. *Indian Forester.* **100**(4): 255-258.
- **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J. P., Reymond P., Sanglier J. J., Vayssier Y., and Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle, 2ème ed. Masson ed, Paris.
- **Bradoo S., Gupta R., and Saxena R. K., 1996.** Screening of extracellular tannase producing fungi: development of a rapid and simple plate assay. *J Gen Appl Microbiol.* **42**: 325–9.
- **Branger A., Richer M-M., and Rouster S., 2007.** Microbiochimie et alimentation. *Laurence Audenet-Verrier.* Dijon. 1-280. ISBN: 978-2-84444-558-2. Code : Mic/038. SBi/9723.
- **Carlile J. M., and Watkinson C. S., (1994).** The fungi. *Harcourt Brace et Company.* London Boston San Diego New York Sydney Tokyo. 50 p. ISBN: 0-12-159959-0 bb et 0-12-159960-4 pb.
- **Chabasse D., Bouchara J-P., Gentile L., Brun S., Cimon B., and Penn A., 2002.** Cahier de Formation N°25, Biologie médicale. Les Moisissures d’Interet Medical. *BIOFORMA.* 69-70.

- **Chowdhury S. P., Khanna S., Verma S. C. and Tripathi A. K., 2004.** Molecular diversity of tannic acid degrading bacteria isolated from tannery soil. *J Appl Microbiol.* **97**:1210–9.
- **Coronel R. E., 1991.** *Tamarindus indica* L. In *Plant Resources of South East Asia*. Wageningen. Pudoc. N°2. Edible Fruits and nuts. (Eds.) Verheij, E. W. M., Coronel, R. E.. PROSEA Foundation. Bogor. Indonesia: 298-301.
- **Costa A. M., Kadowaki M. K., Minozzo M. C., Souza C. G. M., Boer C. G., Bracht A., Peralta R. M., 2012.** Production, purification and characterization of tannase from *Aspergillus tamarii*. *Afr. J. Biotechnol.* **11**: 391-398.
- **Costa A. M., Ribeiro W. X., Kato E., Monteiro A. R. G., Peralta R. M., 2008.** Production of tannase by *Aspergillus tamarii* in submerged cultures. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **51**: 399-404.
- **Cruz-Hernández M., Augur C., Rodríguez R., Contreras-Esquivel J. C., and Aguilar C. N., 2006.** Evaluation of Culture Conditions for Tannase Production by *Aspergillus niger* GH1. *Food Technol. Biotechnol.* **44**(4): 541–544.
- **Dicko A. H., Babana A. H., Maïga K., Kassogué A., Traoré D. and Faradji F. A., 2013.** Isolation and characterization of crop rhizospheric actinomycetes with antimicrobial activity in Mali. *African Journal of Applied.* **2**(1): 1-8. ISSN: 2315-6260.
- **Drouin M., 2005.** Etude de production de protéases alcalines par *Bacillus licheniformis* en utilisant des boues d'épuration municipales comme substrat. Mémoire de Maître ès sciences (M.Sc.). Canada.
- **Dufresne P., and St-Germain G., 2013.** Identification des champignons d'importance médicale. Partie 1 : Introduction à la Mycologie et Identification des Champignons Filamenteux. *Institut national de santé publique*. Québec. 6-7.
- **Duke J. A., 1981.** Handbook of Legumes of World economic Importance. Plenum Press. New York. 228-230.
- **El-Siddig K., Gunasena H. P. M., Prasad B. A., Pushpakumara D. K. N. G., Ramana K. V. R., Vijayanand P. and Williams J. T., 2006.** Tamarind *Tamarindus indica* L. Chapitre 1. Introduction, Taxonomy, Description and Distribution. *British Library Cataloguing in Publication Data.* 1-12. ISBN: 0854328599.
- **Écormier J., 2001.** Le Grand Tamarinier. *Azalées Éditions*. Sainte-Marie. ISBN: 2-913158-20-X.

- **FAO, 1988.** Fruit Bearing Trees. Technical notes. FAO-SIDA Forestry Paper. **34**: 165-167.
- **Feungchan S., Yimsawat T., Chindaprasert S. and Kitpowsong P., 1996e.** Evaluation of tamarind cultivars on the chemical composition of pulp. *Thai Journal of Agricultural Science*. Special Issue. **1**: 28-33.
- **Field J. A., and Lettinga G., 1992.** Biodegradation of tannins. In: Sigel, H., Sigel, A. (Eds.), Metal ions in biological systems. Degradation of environmental pollutants by microorganisms and their metalloenzymes. *Marcel Dekker Inc.*. New York. 61-97.
- **Gervais P., and Molin P., 2003.** The role of water in solid-state fermentation. *Biochem. Eng. J.* **13**: 85-101.
- **Goyer N., Lavoie J., Lazure L., and Marchand G., 2001.** Les bioaérosols en milieu de travail : guide d'évaluation, de contrôle et de prévention. *Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail*. ISSN: 0820-8395.
- **Hamdy H. S. and Fawzy E. M., 2012.** Economic Production of Tannase by *Aspergillus niger* van Tiegh Adopting Different Fermentation Protocols and Possible Applications. *Romanian Biotechnological Letters*. **17**(4).
- **Hasan S. K. and Ijaz S., 1972.** Tamarind-A review. *Science Industry*. Karachi. **9**(3-4): 131-137.
- **Hölker U., Höfer M., and Lenz J., 2004.** Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **64**: 175–186.
- **Hort A., 1916.** *Theophrastus; Enquiry into plants*. Heinemann, London.
- **Iibuchi S., Minoda Y., Yamada K., 1967.** Studies on tannin acyl hydrolase of microorganisms. Part II. A new method determining the enzyme activity using the change of ultra violet absorption. *Agric. Biol. Chem.* **31**: 513-518.
- **Ishola M. M., Agbaji E. B. and Agbaji A. S., 1990.** A chemical study of *Tamarindus indica* (Tsamiya) fruits grown in Nigeria. *Journal of Science, Food and Agriculture*. **51**: 141-143.
- **Jin W., Nie G., Liu H., Xiaoran Y., Gong G., Wang L., and Zheng Z., 2013.** Improving *Aspergillus niger* Tannase Yield by N⁺ Ion Beam Implantation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. **56**(1): 35-142. ISSN: 1516-8913.
- **Kogel-Knabner I., 2002.** The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*. **34**: 139-162.

- **Kumar D., Savitri., Thakur N., Verma R., Bhalla T.C., 2008b.** Microbial proteases and application as laundry detergent additive. *Res. J. Microbiol.*, **3**(12): 661–672.
- **Lee P. L., Swords G. and Hunter G. L. K., 1975.** Volatile constituents of tamarind. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **23**: 1195.
- **Lekha P. K, and Lonsane B. K., 1997.** Production and application of tannin acyl hydrolase: State of the art, *Adv. Appl. Microbiol.* **44**: 215–260.
- **Leug W. T. and Flores M., 1961.** Food Composition. Tables for Use in Latin America. *National Institute of Health*. Bethesda. Md.
- **Lewis G., Schrire B., Mackinder B. and Lock M., 2005.** Legume of the world. *Royal Botanic Gardens, Kew*.
- **Lewis Y. S. and Neelakantan S., 1964b.** The real nature of tamarind anthoxanthins. *Curent Science*. **15**: 460.
- **Lu M. and Chen C., 2008.** Enzymatic modification by tannase increases the antioxidant activity of green tea. *Food Research International*. **41**: 130–137.
- **Marathe R. M., Annapure U. S., Singhal R. S., and Kulkarni, P. R., 2002.** Gelling behaviour of polyose from tamarind kernel polysaccharide. *Food Hydrocolloid*. **16**(5): 423–426.
- **Meillon S., 1974.** Process for marking drinks, syrups, juice and liquor and solid extracts based on tamarind products thus obtained. French Patent N° 2231322 (English Summary).
- **Mondal K. C. and Pati, B. R., 2000.** Studies on the extracellular tannase from newly isolated *Bacillus licheniformis* KBR 6. *J. Basic Microbiol.* **40**: 223–232.
- **Mondal K. C., Banerjee D., Jana M., and B. Pati B. R., 2001.** Colorimetric Assay Method for Determination of the Tannin Acyl Hydrolase (EC 3.1.1.20) Activity. *Analytical Biochemistry*. **295**: 168–171.
- **Moufida R., 2006.** Effet des polyphénols et des tanins sur l’activité métabolique du microbiote ruminal d’ovins. Mémoire : Magister. *Université Mentouri Constantine*. Faculté des Sciences. Constantine (Algérie). 14-15. N° d’ordre : 116/MAG/2006. N° de série : 008/SN/2006.
- **Mueller-Harvey I., 2001.** Analysis of hydrolysable tannins. *Anim. Feed Sci. Tech.* **91**: 3-20.
- **Nakasone K.K., Peterson S.W., and Jong S-C., 2004.** Preservation and distribution of fungal cultures. Dans “Biodiversity of fungi - Inventory and Monitoring Methods”

- de Gregory M. Mueller et al.. Elsevier Press. New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. 37-47.
- **Neetu T. and Bohra A., 2003.** *In vitro* study of antifungal activity of *Tamarindus indica* against *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporum*. In: Henry, A., Kumar, D., Singh, N. B., (Eds.) *Advances in Arid Legume Research*. Jodhpur. India. Scientific Puublishers (India). 442-444.
 - **Ogawa A., Yasuhara A., Tanaka T., Sakiyama T., and Nakanishi K., 1995.** Production of neutral protease by membrane-surface liquid culture of *Aspergillus oryzae* IAM 2704. *J. Ferment. Bioeng.* **80**: 35–40.
 - **Osawa R., Fujisawa T. and Sly L. I., 1995a.** *Streptococcus gallolyticus* sp. nov.; gallate degrading organisms formerly assigned to *Streptococcus bovis*. *Syst. Appl. Microbiol.* **18**: 74–78.
 - **Osawa R., Kuroiso K., Goto S. and Shimizu A., 2000.** Isolation of tannin-degrading lactobacilli from humans and fermented foods. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 3093–3097.
 - **Osawa R., Rainey F., Fujisawa T., Lang E., Busse H. J., Walsh T. P. and Stackebrandt E., 1995b.** *Lonepinella koalarum* gen. nov., sp. nov., a new tannin–protein complex degrading bacterium. *Syst. Appl. Microbiol.* **18**: 368–373.
 - **Pandey A., 2003.** Solid-state fermentation. *Biochem. Eng. J.* **13**: 81–84.
 - **Panigrahi S., Bland B. and Carlaw P. M., 1989.** Nutritive value of tamarind for broiler chicks. *Journal of Animal Feed Science and Technology.* **22**(4): 285-293.
 - **Paranthaman R., Vidyalakshmi R. R., Muruges S., and Singaravadiv K., 2008.** Optimization of fermentation conditions for production of tannase enzyme by *Aspergillus oryzae* using sugarcane bagasse and rice straw. *Global J. Biotechnol. Biochemist.* **3**: 105-110.
 - **Paranthaman R., Vidyalakshmi R., Muruges S., and Singaravadive K., 2009.** Effects of fungal co-culture for the biosynthesis of tannase and gallic acid from grape wastes under solid state fermentation. *Glob. J Biotechnol. Biochem.* **4**(1): 29-36.
 - **Parvez S. S., Parvez M. M., Nishihara E., Gemma H. and Fujii Y., 2003.** *Tamarindus indica* L. Leaf is a source of allelopathic substance. *Plant Growth Regulation.* **40**(2): 107-115.
 - **Pelmont J., 1995.** Enzymes : catalyseurs du monde vivant. Presse Universitaire de Grenoble. pp. 7; 621; 652–654.

- **Peter A. W., John R. P., Kumar P., Thomas S. 2009.** Tannin Acyl Hydrolase Production by *Citrobacter* sp. isolated from Tannin rich Environment, using *Tamarindus indica* seed powder. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* **13**(4) 95 – 97. ISSN: 1119-8362.
- **Pharmacognosie, 2013 – 2014.** LES TANINS. Chapitre 8. *Faculté de Pharmacie de Monastir - DCEP 1.*
- **Pino J. A., Marbot R. and Vazquez C., 2004.** Volatile components of tamarind (*Tamarindus indica* L.) grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research.* **16**(4): 318-320.
- **Pitt J.I., and Hoking A.D., 1997.** Fungi and Food Spoilage. *Blackie Academic & Profesional.* London- Weinheim- NewYork- Tokyo-Melbourne-Madras.
- **Prescott, Harley, Klein, Willey, Sherwood and Woolverton, 2010.** Microbiologie. Troisième édition. *Edition de Boeck Université.* ISBN : 978-2-8041-6012-8. Code : Mic/003.
- **Pugalenthi M., Vadivel V., Gurumoorthi P. and Janardhanan K., 2004.** Comparative nutritional evaluation of little known legumes, *Tamarindus indica*, *Erythrina indica* and *Sesbania bispinosa*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* **4**(3): 107-123. ISSN: 1870-0462.
- **Purseglove J. W., 1987.** Tropical Crops. Dicotyledons. *Longman Science and Technology.* 204-206.
- **Rahardjo Y.S.P., Tramper J., and Rinzema A., 2006.** Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: a review and perspectives. *Biotechnol. Adv.* **24**(2): 161-179.
- **Rajakumar G. S. and Nandy S. C., 1983.** Isolation, purification and some properties of *Penicillium chrysogenum* tannase. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**: 525– 527.
- **Rao M. B., Tanksale A. M., Ghatge M. S., Deshpande V. V., 1998.** Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62**: 597– 635.
- **Rapper K.B., and Fennell D.I., 1965.** The genus *Aspergillus*. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- **Sabu A., Kiran G. S., and Pandey A., 2005.** Purification and characterization of tannin acyl hydrolase from *A. niger* ATCC 16620. *Food Technology and Biotechnology.* **43**: 133-138.

- **Sandhya C., Sumantha A., Szakacs G., and Pandey A., 2005b.** Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Proc. Biochem.* **40**: 2689–2694.
- **Sarıözlü N., Y. and Kıvanç M., 2009.** Isolation of gallic acid-producing microorganisms and their use in the production of gallic acid from gall nuts and sumac. *African Journal of Biotechnology*. **8**(6): 1110-1115. ISSN: 1684–5315.
- **Sereme A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S. and Nacro M., 2008.** Propriétés Therapeutiques des Plantes à Tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*. **15**: 41 – 49.
- **Seth M., and Chand S., 2000.** Biosynthesis of tannase and hydrolysis of tannins to gallic acid by *Aspergillus awamori* - optimisation of process parameters. *Process Biochemistry*. **36**: 39–44.
- **Shankaracharya N. B., 1998.** Tamarind-Chemistry. Technology and Uses-a critical appraisal. *Journal of food Technology*. **35**(3): 193-208.
- **Sharma S., Bhat T. K., and Dawra R. K., 2000.** A Spectrophotometric Method for Assay of Tannase Using Rhodanine. *Analytical Biochemistry*. **279** : 85–89.
- **Sumantha A., Larroche C., and Pandey A., 2006.** Microbiology and industrial biotechnology of food-grade proteases: a perspective. *Food Technol. Biotechnol.* **244**: 211–220.
- **TABUC C., 2007.** Flore Fongique de Différents Substrats et Conditions Optimales de Production des Mycotoxines. Thèse de doctorat. Université de Bucarest. *Institut national Polytechnique de Toulouse*. Pathologie, Mycologie, génétique et Nutrition. 26-33.
- **Thiam I., 2010.** Composition of Selected Foods from West Africa. *Food and Agriculture*. Rome. ISBN: 978-92-5-106652-2.
- **Ulrich R., 1970.** Organic acids. In *The biochemistry of Fruits and Their Products*. Vol. 1, Hulme, A. C., (Ed). *Academic press*. New York.
- **Van de Lagenmaat J., and Pyle D. L., 2001.** Solid-state fermentation and bioremediation: Development of a continuous process for the production of fungal tannase. *Chem. Eng. J.* **84**: 115–123.
- **Wenkam N. S. and Miller C. D., 1965.** Composition of Hawaii Fruits. Hawaii Agriculture Experimental Station. *University of Hawaii*. 135.

- **Wong K. C., Tan C. P., Chow C. H. and Chee S. G., 1998.** Volatile constituents of the fruits of tamarind. *Journal of essential Oil Research*. **10**(2): 219-221.
- **Yusuf A. A., Mofio B. M., and Ahmed A. B., 2007.** Proximate and Mineral Composition of *Tamarindus indica* Linn 1753 Seeds. *Science World Journal*. **2**(N°1).

Compositions *concentration (g/l d'eau physiologique)*

Annexe 1

✓ *GAT à 1%*

- | | |
|------------------|----|
| • Acide tannique | 10 |
| • Agar | 20 |

Annexe 2

✓ *GN :*

- | | |
|----------------------|----|
| • Peptone | 6 |
| • Extrait de bœuf | 1 |
| • Extrait de levure | 2 |
| • Chlorure de sodium | 5 |
| • Agar | 15 |

pH final : $7,3 \pm 0,2$.

Annexe 3

✓ *PDA :*

- | | |
|------------------|-----|
| • Dextrose | 20 |
| • Agar | 20 |
| • Pomme de terre | 200 |

pH final : $7,3 \pm 0,2$.

Annexe 4

✓ Coloration de Gram :

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Coloration : **violet de gentiane phéniqué durant une minute**. Toutes les bactéries prennent ce colorant et sont donc colorées en violet.
- rincer à l'eau du robinet
- Mordantage : recouvrir la lame de **réactif de Lugol 1 minute** (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration).
- Rincer à l'eau
- Epreuve (alcoolo résistance) : **Plonger 3 ou 4 fois une demi-seconde dans un pot d'alcool** puis rincer à l'eau du robinet immédiatement. Pendant cette étape, les lipides de la paroi des Gram moins sont dissous et l'alcool peut donc pénétrer dans le corps bactérien et expulser le violet de gentiane. Les bactéries Gram moins sont alcoolo-sensibles et sont donc décolorées. La paroi des Gram plus ne laisse pas passer l'alcool et sont dites alcoolo-résistantes et restent colorées en violet.
- Contre coloration : **Fuschine diluée au 1/20^{ème} pendant une minute**. Toutes les bactéries prennent le colorant mais le violet masque la fuschine. Les « Gram positives » apparaissent donc violettes, les « Gram négatives », recolorées par la fuschine, apparaissent roses.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher entre deux feuilles de papier absorbant.
- Observer à l'objectif 100 à immersion, à pleine lumière.

*Remarque : la coloration de Gram est parfois appelée **coloration V.L.A.F** afin de se rappeler les colorants et dans quel ordre ils doivent être utilisés (Violet, Lugol, Alcool, Fuschine).*

Compositions concentration (g/l d'eau physiologique)

Annexe 5

✓ Czapeck-Dox minimum modifié :

○ NaNO ₃	2
○ K ₂ HPO ₄	1
○ MgSO ₄ 7H ₂ O	0,5
○ KCl	0,5
○ FeSO ₄ 7H ₂ O	0,01
○ Acide tannique	1%

pH 7,3±0,2.

Annexe 6

Dosage enzymatique

➤ *Réactifs*

- A. Tampon citrate, 50 mM ; pH 5,5 : dissoudre 10,5 g d'acide citrique dans 800 ml d'eau distillée, ajuster le pH à 5,5 avec NaOH (1 N) et compléter avec de l'eau distillée à 1000 ml.
- B. Solution d'acide tannique (substrat) 0,35% : 175 mg d'acide tannique/50 ml du tampon citrate (Réactif A). (A préparer juste avant le dosage).
- C. Solution d'éthanol, 90% : 900 ml d'éthanol (99,5%) et 95 ml de l'eau distillée.

➤ *Procédure*

1. Prélever 1 ml de la solution d'acide tannique (réactif B) dans le tube à essai.
2. Equilibrer à 30°C pendant 5 min.
3. Ajouter 0,25 ml de l'échantillon.
4. Incuber à 30°C pendant 15 min.
5. Ajouter 5 ml de la solution éthanol (réactif C) et bien mélanger pour stopper la réaction.
6. Prélever 0,25 ml de l'échantillon et du témoin.
7. Ajouter 5 ml de la solution d'éthanol (réactif C) et bien mélanger.

8. Lire la densité optique à 310 nm dans une cuve en quartz (Echantillon : A_s ,
Témoin : A_0).

Le témoin est un prélèvement idem à l'échantillon préparé parallèlement et de la même façon sans passer l'étape 4.

➤ *Calcul*

L'activité peut être calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Activité (U/ml)} = \frac{(A_0 - A_s) \times 20,3 \times 1 \text{ (ml)} \times 1,04 \times df}{0,71 \times 0,25 \text{ (ml)} \times 15 \text{ (min)}} = \Delta A \times 7,93 \times df$$

- 20,3 : Micromoles d'acide tannique dans 1 ml de la solution substrat (réactif B).
- 0,71 : Changement de l'absorbance après hydrolyse complète de 20,3 μmol d'acide tannique sous les conditions d'essais.
- 1,04 : Facteur de correction entre la méthode d'Iibuchi et *al.* et la présente méthode.
- df : Facteur de dilution.

Summary

Tannase production by microorganisms from soil the Bamako Botanical Park was carried on a basic medium composed of *Tamarindus indica*. This waste represents about 60% of the total quantity of raw fruit, which is a considerable as source of pollution.

As a result, an isolation of strains tannasiques activity was carried out from the soil on a basic of 1% tannic acid medium. It helped to identify 14 microbial isolates (bacteria and 13 fungal isolates). The fungal strains product better results, in a selective medium, expressed by a lyse zone some discs. The macroscopic and microscopic identification revealed or showed that the isolates belong to the genus; *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Acremonium*. The isolate of *Aspergillus sp.* is the most efficient producer of the tannase strain, while *Acremonium sp.* is a revelation, as it has never been used in the production of this enzyme.

In liquid fermentation of tannic acid at 1%, *Acremonium sp.* produces more enzymes compared to the *Aspergillus sp.* strain. However, in a solid fermentation medium, worth *Tamarindus indica*, the *Aspergillus sp.* produces more enzyme compared to *Acremonium sp.*. In conclusion, waste from *Tamarindus indica* are probably a source of food, cheap, recoverable for the production of tannases.

Keyword: *Tamarindus indica*, *Aspergillus sp.*, *Acremonium sp.*, liquide fermentation, solid fermentation, tannase.

ملخص

يتم إنتاج تناز بواسطة الكائنات الدقيقة المعزولة من التربة النباتية (بارك بامكو) على مكونات المتوسطة القائمة على التمر الهندي إنديا. تمثل هذه النفايات ما يقرب من 47.87% من المبلغ الإجمالي من الفاكهة النيئة، والتي هي مصدر هام من مصادر التلوث.

تم تحديد العزلات من الأرض ذات النشاط الإنزيمي مع حمض التانيك 1%. 14 عزلة جرثومية (بكتيريا واحدة و 13 من الفطريات المعزولة). السلالات فطرية تعطي نتائج أفضل، على المتوسط الإنتقائي، كما وضح عن منطقة تحلل حول الأقراص كشف هوية العيانية والمجهرية التي العزلات تنتمي إلى *Aspergillus, Penicillium, Acromonium*.

Aspergillus sp. تنتج أكثر تناز أما *Acromonium sp.* تعتبر الأولى من نوعها من حيث إنتاج تناز.

باستخدام التخمر السائل حمض التانيك في 1% *Acromonium sp.* تنتج أكثر تناز من سلالة *Aspergillus sp.* ومع ذلك في المتوسط تحتوي على تخمير التمر الهندي إنديا الصلبة *Aspergillus sp.* يعطي مزيدا من الإنزيم مقارنة *Acromonium sp.*

في الختام، قد يكون نفايات التمر الهندي إنديا مصدر الغذاء رخيص و ذات قيمة لإنتاج تناز .

التخمير السائل، *Acromonium sp.*، *Aspergillus sp.* الكلمات الرئيسية: كلمات البحث: التمر الهندي إنديا، التخمر الصلبة، تن

Nom : DOUCOURÉ Prénom : Balla	Date de soutenance : 24 Juin 2014								
<p align="center">Thème : Etude de la production de certains métabolites par des microorganismes isolés du sol du parc botanique de Bamako sur milieu à base de composants de <i>Tamarindus indica</i>.</p>									
<p>Résumé :</p> <p>La production de tannase par des microorganismes isolés du sol du parc botanique de Bamako est réalisée sur milieu à base de composants de <i>Tamarindus indica</i>. Ce déchet représente environ 60 % de la quantité totale du fruit brute, ce qui est considérable comme source de pollution.</p> <p>De ce fait, un isolement des souches à activité tannasiques est effectué à partir du sol sur milieu à base d'acide tannique à 1%. Il a permis de répertorier 14 isolats microbiens (une bactérie et 13 isolats fongiques). les souches fongiques donnent de meilleurs résultats, sur le milieu sélectif, exprimés par une zone de lyse autour des disques. L'identification macroscopique et microscopique révèle que les isolats appartiennent aux genres ; <i>Aspergillus</i>, <i>Penicillium</i> et <i>Acremonium</i>. L'isolat d'<i>Aspergillus sp.</i> est la souche productrice de tannase la plus performante, tandis que, <i>Acremonium sp.</i> est une révélation, car il n'a jamais été utilisé dans la production de cette enzyme.</p> <p>En milieu de fermentation liquide à 1% d'acide tannique, <i>Acremonium sp.</i> produit plus d'enzyme par rapport à la souche <i>Aspergillus sp.</i> en revanche, en milieu de fermentation solide à base de composants de <i>Tamarindus indica</i>, l'<i>Aspergillus sp.</i> donne plus d'enzyme en comparaison avec <i>Acremonium sp.</i> En conclusion, les déchets de <i>Tamarindus indica</i> sont peut être une source agroalimentaire, bon marché, valorisable, pour la production des tannases.</p>									
<p>Mots clés : <i>Tamarindus indica</i>, <i>Aspergillus sp.</i>, <i>Acremonium sp.</i>, fermentation liquide, fermentation solide, tannase.</p>									
<p>Laboratoire de recherche : Laboratoire de mycologie, de biotechnologie et de l'activité microbienne, Département de Microbiologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Constantine 1.</p>									
<p>Membres de jury :</p> <table border="0"> <tr> <td>Présidente : Pr. MIHOUBI I.</td> <td>Pr. Univ. Constantine 1.</td> </tr> <tr> <td>Rapporteur : Pr. KACEM CHAOUCHE N.</td> <td>Pr. Univ. Constantine 1.</td> </tr> <tr> <td>Examinatrice : Mlle. BELMESIKH A.</td> <td>M.A. Univ. Constantine 1.</td> </tr> <tr> <td>Tutrice : Mlle. BATAICHE I.</td> <td>Doctorante. Univ. Constantine 1.</td> </tr> </table>		Présidente : Pr. MIHOUBI I.	Pr. Univ. Constantine 1.	Rapporteur : Pr. KACEM CHAOUCHE N.	Pr. Univ. Constantine 1.	Examinatrice : Mlle. BELMESIKH A.	M.A. Univ. Constantine 1.	Tutrice : Mlle. BATAICHE I.	Doctorante. Univ. Constantine 1.
Présidente : Pr. MIHOUBI I.	Pr. Univ. Constantine 1.								
Rapporteur : Pr. KACEM CHAOUCHE N.	Pr. Univ. Constantine 1.								
Examinatrice : Mlle. BELMESIKH A.	M.A. Univ. Constantine 1.								
Tutrice : Mlle. BATAICHE I.	Doctorante. Univ. Constantine 1.								