



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

: المicrobiologie قسم

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Biotechnologie.

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique.

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

La production de bêta-glucane par *Saccharomyces cerevisiae*

Présenté par : TALBI Malak

Le : 21/06/2025

BENDAIKHA Maroua

Jury d'évaluation :

Président : Dr. BOULAHROUF Khaled (MCA - UConstantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. MEZIANI Meriem (MCA - UConstantine 1 Frères Mentouri).

Examinateur : Dr. DERABLIBesma(MCB - UConstantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire
2024 – 2025

Remerciements

Nous remercions Allah Tout-Puissant, qui nous a donné le courage, la volonté et nous a bénis pour la réalisation de ce travail.

Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude, en premier lieu, au médecin du service du laboratoire de parasitologie de l'hôpital de pédiatrie de Constantine, pour son aimable acceptation de la réalisation de ce travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice et directrice de mémoire, Mme Meziani Meriem, Maître de Conférences classe A, pour avoir accepté la charge d'être rapporteure de ce mémoire. Nous la remercions pour sa disponibilité, ses conseils pertinents et les efforts qu'elle a consentis durant la réalisation de ce travail.

Nous remercions Mr Boulahrof Khaled, Maître de Conférences Classe A à l'UFM1, qui nous fait l'honneur de présider le jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.

Nos sincères remerciements s'adressent également à Mlle Derabli Besma, Maître Assistante Classe B à l'UFM1, qui nous fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail.

Nous aimerions également exprimer notre profonde gratitude à nos enseignants de microbiologie ; que Dieu vous bénisse et vous accorde santé et longévité.

Nous remercions aussi Mme Sara, cheffe de laboratoire pédagogique de la Microbiologie (Lab 9) de la faculté des Sciences de la Nature et de la

*Vie , pour son accueil chaleureux et pour nous avoir permis d'effectuer
la dernière étape de ce travail.*

Dédicaces

Je dédie cet humble travail :

À ma chère mère Nadia,

Merci pour tout l'amour, la tendresse et le soutien que tu m'as donnés.

Tu es le bonheur incarné, le refuge de mon cœur et ma plus grande bénédiction. Je te souhaite une longue vie remplie de santé et de sérénité.

À mon cher père Djamel,

Merci pour tous les sacrifices que tu as faits pour nous. Tu es ma force dans les moments de faiblesse et ma plus grande fierté. Je te souhaite une vie longue et heureuse.

À mes frères Abderraouf et Abdelmounaim,

Merci pour votre soutien constant, votre inquiétude sincère et votre protection. Vous êtes mes piliers dans cette vie. Que Dieu vous protège.

À mes amies d'enfance et sœurs de cœur, Lina et Meryem,

Merci pour votre amitié sincère et votre présence précieuse. Vous avez été un véritable exemple de loyauté et d'amour fraternel. Que notre lien demeure éternel. Que Dieu vous bénisse et vous accompagne dans vos vies.

À ma collègue et compagne de parcours, Maroua,

Merci pour ton soutien, ta gentillesse et ta disponibilité. Ta présence m'a beaucoup aidée et apaisée. Que Dieu t'accorde bonheur et réussite.

À toute ma famille : mes tantes, oncles, cousines et cousins,

Je vous adresse mes salutations les plus affectueuses et vous souhaite bonheur et prospérité.

À mes amies Nahla, Khoulououd et Chahinez,

Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de ce parcours. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur.

À toutes mes camarades chères à mon cœur,

Merci pour les moments partagés, les souvenirs inoubliables et cette belle aventure universitaire. Je vous embrasse toutes avec affection.

Malak

Dédicaces

Louange à Dieu, par Sa grâce s'accomplissent bonnes œuvres. Je remercie dieu le tout puissant, de nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail, je dédie ce travail à ceux qui ont été, après Dieu, mes piliers de mon chemin :

À ma chère mère Djamilâ,

Source d'amour, de tendresse, de patience et de dévouement, qui n'a jamais cessé de veiller sur moi, de me soutenir et de croire en ma réussite.

À mon père bien-aimé Alî,

Fierté de ma vie et mon pilier après dieu, qui a tant sacrifié pour moi, celui qui m'a offert un soutien sans limites et un don sans attente en retour.

Mes frères et sœurs : Bîlal, Rîad, Nadîr, Samî, Houssem, Badîs, Nedjwa, Asma,

À ceux qui ont été lumière de ma vie, mon appui dans mes moments difficiles.

À mon fiancé Oussama,

Reconnaissante pour son soutien, sa patience et sa présence apaisante tout au long de ce parcours, Qu'Allah le préserve et nous accorde un avenir rempli de bonheur, uni dans sa satisfaction et sa bénédiction.

À toute ma famille, les épouses de mes frères, le mari de ma sœur, ainsi que tous leurs enfants, pour l'amour sincère et le soutien silencieux mais profond.

*A mon amie **Malak**,*

Compagne des bons comme des mauvais moments, ma collègue dans ce travail et tout au long de ce parcours universitaire.

*A mon amie **Hiba**,*

Compagne de route, je lui suis reconnaissante pour sa fidélité et sa présence constante, elle a toujours été une vraie bénédiction dans ma vie.

A tous mes amis fidèles, pour les moments de partage, d'entraide et de bonne humeur tout au long de ce parcours

Recevez tous mes vœux les plus chaleureux et ma profonde reconnaissance, Merci pour vos mots encourageants, votre présence et votre affection.

Maroua

Table des Matières

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste d'abréviations

Résumé

Abstract

الملخص

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : *Saccharomyces cerevisiae*

1	Généralités	3
1.1	Définition	3
1.2	Historique	4
1.2.1	Origine et sélection de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4
1.2.2	Diversité génétique et évolution.....	4
1.3	Composition de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5
1.3.1	La paroi cellulaire.....	5
1.3.2	Le Génome.....	6
1.3.3	La composition macromolécules.....	6
1.3.4	La membrane plasmique	6
1.3.4.1	Influence de la Température sur la Composition Lipidique.....	7
2	Classification de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8
3	Cycle de vie et reproduction de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8
3.1	Différenciation cellulaire et division du travail chez <i>S. cerevisiae</i>	10
4	Conditions optimales de croissance de <i>S. cerevisiae</i>	10
4.1	Température optimale.....	10
4.2	PH optimal	11
5	Besoins nutritionnels de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
5.1	Source de carbone	11
5.1.1	Préférence pour le glucose et effet Crabtree	11
5.1.2	Métabolisme en fonction de la disponibilité du glucose	11

5.2	Source d'azote.....	12
5.2.1	Types de sources d'azote utilisées.....	12
5.2.2	Régulation de l'absorption de l'azote.....	12
5.3	Sels minéraux et autres nutriments essentiels	12
5.3.1	Phosphates.....	12
5.3.2	Magnésium.....	12
5.3.3	Fer	12
5.4	Régulation de la croissance en fonction des nutriments.....	13
5.4.1	Rôle des kinases nutritionnelles	13
6	Modélisation du Métabolisme de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13
7	Importance de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
7.1	En Biotechnologie	14
7.2	En Croissance des Plantes	14
7.3	En Tant qu'Agent de Biocontrôle Efficace	14
7.4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Comme Modèle de Comparaison	15

Chapitre 2 : Le produit : bêta-glucane

1	Généralités	16
2	Extraction du bêta-glucane.....	18
2.1	Extraction à partir des céréales	18
2.2	Extraction à partir des levures.....	18
2.3	Extraction à partir des champignons	18
3	Propriétés fonctionnelles du β-glucane.....	19
3.1	Solubilité et rétention d'eau	19
3.2	Effet sur la viscosité et les propriétés rhéologiques	19
3.3	Formation de gels et interactions moléculaires.....	19
4	Effets physiologiques du bêta-glucane (impact sur la santé humaine).....	19
4.1	Renforcement du système immunitaire	19
4.2	Réduction du risque de maladies métaboliques	20
4.3	Prévention de l'obésité et régulation du poids	20
4.4	Amélioration de la santé intestinale	20
5	Mécanismes d'action du bêta-glucane (niveau moléculaire et cellulaire)	20
5.1	Modulation du système immunitaire	20
5.2	Effet antitumoral	21
5.3	Effet anti-inflammatoire	21
5.4	Régulation de la glycémie	21

5.5	Effet hypcholestérolémiant	21
6	Applications industrielles des β-glucanes.....	21
6.1	Applications dans l'industrie alimentaire	21
6.2	Applications en médecine	22
6.3	Applications en cosmétique	22
6.4	Autres applications dans les produits de santé.....	22
6.5	Applications dans l'alimentation animale	23
7	La production de bêta glucane	23
7.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23
7.2	<i>Aspergillus oryzae</i>	24
7.3	<i>Bacillus natto</i>	24
7.4	<i>Xanthomonas campestris</i>	24

Matériel et Méthode

1	Matériels utilisés.....	26
1.1	Appareils et équipements :.....	26
1.2	Matériel de verrerie et accessoires :	26
2	Méthodes expérimentales.....	27
2.1	Préparation du milieu PDA.....	27
2.2	Préparation des milieux de fermentation	27
2.3	Préparation de la solution d'extrait de levure (1%)	27
2.4	Préparation de la solution levurienne	27
2.5	Ensemencement sur milieu PDA	28
2.6	Préparation de la préculture	29
2.7	Inoculation des milieux de fermentation	29
2.8	Récolte de la biomasse	30
2.9	Extraction des bêta-glucanes	30
2.10	Dosage des bêta-glucanes (réactif anthrone-sulfurique)	31
2.11	Préparation de la courbe d'étalonnage au D-glucose	32

Résultats et Discussion

1	Résultats	32
1.1	Observation de la croissance de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sur milieu PDA	32
1.2	Observation des milieux après la fermentation.....	32
1.3	Extraction alcaline du bêta-glucane par NaOH	34
1.4	Réaction colorimétrique avec le réactif anthrone sulfurique	34

1.5	Courbe d'étalonnage du D-glucose et détermination des concentrations en bêta-glucane.....	35
1.6	Récapitulatif des résultats	36
2	Discussion	37
2.1	La croissance sur milieu PDA.....	37
2.2	Les milieux après fermentation.....	37
2.3	L'extraction alcaline du bêta-glucane	38
2.4	La Réaction colorimétrique avec le réactif anthrone	38
2.5	Les Résultats quantitatifs du bêta-glucane	38
	Conclusion.....	40
	Référencesbibliographiques	41

Liste des Figures

Figure 1 : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> au microscope électronique.....	4
Figure 2 : structure de la paroi cellulaire de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5
Figure 3 : Classes de protéines membranaires retrouvées dans la membrane plasmique de <i>S. Cerevisiae</i>	7
Figure 4 : Cycle de vie de <i>S. cerevisiae</i> : alternance entre reproduction asexuée et sexuée....	9
Figure 5 : Cycle mitotique de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : régulation et progression des phases cellulaires.....	9
Figure 6 : Structure chimique du bêta-glucane provenant de différentes sources.....	16
Figure 7 : Structures conformationnelles du bêta-glucane.....	17
Figure 8 : la solution levuriennne préparée	27
Figure 9 : L'étalement de la solution levuriennne par un râteau sur la surface de la boîte.....	28
Figure 10 : Transfère des disques dans les flacons de pré culture.....	29
Figure 11 : Inoculation de 10 ml de pré culture à chaque flacon correspondant.....	29
Figure 12 : L'ajout de NaOH dans chaque tube contient le culot.....	30
Figure 13 : Chauffés les tubes dans un bain marie à 90 C° pendant 10 min.....	31
Figure 14 : Croissance de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> à 30 C° pendant 48 h sur milieu PDA....	32
Figure 15 : Observation des milieux de fermentation après la fermentation.....	33
Figure 16 : Aspect des tubes après centrifugation.	33
Figure 17 : Tubes contenant la biomasse de <i>S. cerevisiae</i> en traitement alcalin par NaOH dans le bain-marie.....	34
Figure 18 : Résultat de la réaction colorimétrique entre les extraits et le réactif anthrone sulfurique après chauffage.....	35

Figure 19 :Courbe d'étalonnage obtenue à partir de différentes concentrations de D-glucose.....36

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Teneur en bêta-glucane de différentes sources.....	17
Tableau 2: Préparation de la série de dilution de D-glucose.....	31
Tableau 3: Absorbance mesurées à 620 nm pour différentes concentrations de D-glucose....	35
Tableau 4 : les résultats de la fermentation, centrifugation, la mesure de l'absorbance et les calculs de bêta-glucane de chaque milieu dans deux temps différents.....	36

Liste d'abréviation

S. cerevisiae : *Saccharomyces cerevisiae*.

MAP : Mitogen- Activated Protein.

SGD : Saccharomyces Genome Database.

ADN : Acide DésoxyriboNucléique.

mtDNA : mitochondrial DeoxyriboNucleic Acid.

ARN : Acide RiboNucléique.

nm : nanomètre.

ATPase : Adénosine TriPhosphate enzyme.

ATP : Adénosine TriPhosphate.

°C : degré Celsius.

(n) : nombre de chromosomes dans une cellule haploïde.

(2n) : nombre de chromosomes dans une cellule diploïde.

G1 : Gap 1 (ou intervalle 1).

S : phase de synthèse.

G2 : Gap 2.

M : phase de mitose.

MAT : locus de type de Mating.

HO : Homothallique.

pH : potential of Hydrogen.

< : inférieur.

> : supérieur.

NH4+ : ion ammonium.

Snf1 : Sucrose Non- Fermenting 1.

PKA : Protéine Kinase A.

Tor1/ Tor2 : Target Of Rapamycin1 / Target Of Rapamycin2.

Sch9 : Serine/ threonine kinase 9.

Pho85-Pho80 : cyclin-dependent kinase complex.

MFA : Metabolic Flux Analysis.

TSS : Teneur en Sucres Solubles.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

FT-IR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

IL-2 : Interleukin-2.

IL-6 : Interleukin-6.

LDL : Low-Density Lipoprotein.

Syk/CARD9 : Spleen tyrosine kinase/ Caspase recruitment domain-containing protein 9.

NF-kB : Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.

TNF-a : Tumor Necrosis Factor alpha.

CR3 : Complement Receptor 3.

TLR2 : Toll-Like Receptor 2.

TLR4 : Toll-Like Receptor 4.

NK : Natural Killer.

GLP-1 : Glucagon-Like Peptide-1.

DW : DuckWeed.

h : heure.

min : minute.

rpm : rotation par minute.

L : Litre.

µL : micro-Litre.

UV-Vis : UltraViolet-Visible spectrophotometry.

PDA : Potato Dextrose Agar.

g : gramme.

(M1) ; (M2) ; (M3) : milieu1 ; milieu2 ; milieu3.

µg/ mL : microgramme/ milli-Litre.

UDP-glucose : uridine diphosphate glucose.

Pma1p : plasma membrane proton ATPase.

Il-1β : interleukin 1 bêta

ml : milli-litre.

yy : deux hormone intestinales.

Vs : contre.

Résumé

Le bêta-glucane est un polysaccharide de glucose naturel reconnu pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine, notamment ses propriétés immunostimulantes, antioxydantes, hypcholestérolémiantes et antidiabétiques. Ce composé est principalement extrait de la paroi cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae*, une levure largement utilisée en biotechnologie. Dans ce travail, nous avons étudié la production de bêta-glucane à partir de cette levure en utilisant trois substrats agroalimentaires peu coûteux : l'avoine moulue, les épluchures de pommes de terre et les résidus de café. La fermentation a été réalisée en deux temps (48 h et 72 h) dans un milieu liquide en conditions discontinues. Le bêta-glucane a été extrait par extraction alcaline et dosé par la méthode au réactif d'anthrone. Les résultats ont montré que l'avoine moulue permettait la production la plus élevée à 72 h (707.4 µg/ml), suivie des épluchures de pommes de terre (479.4 µg/ml), alors que les résidus de café ont donné la plus faible concentration (151.4 µg/ml). Ce travail met en valeur l'intérêt d'utiliser des résidus agroalimentaires pour produire à faible coût des composés bioactifs comme le bêta-glucane. Des perspectives futures pourraient explorer l'optimisation des paramètres de culture ou l'amélioration des souches utilisées.

Mots-clés : *Saccharomyces cerevisiae*, bêta-glucane, fermentation, substrats agroalimentaires, extraction alcaline, anthrone.

Abstract

Beta-glucan is a natural glucose polysaccharide known for its beneficial effects on human health, including immunostimulant, antioxidant, cholesterol-lowering, and antidiabetic properties. It is mainly extracted from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*, a yeast widely used in biotechnology. In this study, we investigated the production of beta-glucan from this yeast using three low-cost agro-industrial substrates : ground oats, potato peels, and coffee residues. Fermentation was carried out under batch conditions in liquid medium at two time points (48 h and 72 h). Beta-glucan was extracted using alkaline extraction and quantified by the anthrone method. The results showed that ground oats yielded the highest production at 72 h (707.4 µg/ml), followed by potato peels (479.4 µg/ml), while coffee residues gave the lowest concentration (151.4 µg/ml). This study highlights the potential of agro-industrial waste valorization for low-cost production of bioactive compounds such as beta-glucan. Future perspectives may include optimizing culture conditions or improving the strains used.

Keywords :*Saccharomyces cerevisiae*, beta-glucan, fermentation, agro-industrial substrates, alkaline extraction, anthrone.

الملخص

البيتا-غلوكان هو عديد سكاريد الطبيعي المكون من الجلوكوز معروف بفوائده الصحية المتعددة، مثل تحفيز الجهاز المناعي، ومضادات الأكسدة، وخفض الكوليستيرونول، وتنظيم نسبة السكر في الدم. يتم استخلاص هذا المركب بشكل رئيسي من جدار الخلية لخميرة البيرة، وهي خميرة تُستخدم على نطاق واسع في التكنولوجيا الحيوية. في هذا العمل، قمنا بدراسة إنتاج البيتا-غلوكان من هذه الخميرة باستخدام ثلاثة أنواع من المخلفات الغذائية منخفضة التكلفة: الشوفان المطحون، قشور البطاطا، وبقايا القهوة. أُجري التخمير في وسط سائل في ظروف غير مستمرة، وعلى فترتين زمنيتين (48 ساعة و72 ساعة). تم استخلاص البيتا-غلوكان باستخدام استخلاص قلوي، وتم تقديره باستخدام كاشف الأنترنون. أظهرت النتائج أن الشوفان المطحون أعطى أعلى إنتاجية بعد 72 ساعة (707.4 ميكروغرام/مل)، تليه قشور البطاطا (479.4 ميكروغرام/مل)، بينما سجلت بقايا القهوة أدنى تركيز (151.4 ميكروغرام/مل). يبرز هذا العمل أهمية استغلال المخلفات الغذائية لإنتاج مركيبات نشطة بيولوجياً بتكلفة منخفضة مثل البيتا-غلوكان. ويمكن في المستقبل العمل على تحسين ظروف التخمير أو استخدام سلالات محسنة.

الكلمات المفتاحية: خميرة البيرة، بيتا-غلوكان، تخمير، مخلفات غذائية، استخلاص قلوي، كاشف الأنترنون.

Introduction

Introduction

Saccharomyces cerevisiae(*S. cerevisiae*) est une levure eucaryote unicellulaire appartenant au règne des Fungi et au phylum des *Ascomycota*. Cette levure est un microorganisme modèle en biologie cellulaire et moléculaire, largement utilisée dans les industries de la fermentation, notamment en boulangerie, brasserie et production de bioéthanol. Sa capacité à fermenter rapidement le glucose par voie anaérobie, même en présence d'oxygène, la rend particulièrement efficace pour la production industrielle de biomasse et métabolites (Beullens *et al.*, 1988; Dujon et Louis, 2017 ; Parapouli *et al.*, 2020).

La paroi cellulaire de *S. Cerevisiae* est majoritairement constituée de bêta-glucanes (β -1,3 et β -1,6), de chitine et de mannoprotéines, le β -glucane représente jusqu'à 30 % du poids sec de la cellule (Fleet, 1985 ; Klis *et al.*, 2002).

Les bêta-glucanes sont des polysaccharides naturels composés d'unités de glucose liées par des liaisons β -(1→3) avec des ramifications β -(1→6). Leur structure moléculaire et leur origine influencent leur solubilité et leurs effets biologiques. Ces composés sont reconnus pour leurs activités immunomodulatrices, hypocholestérolémiantes et anti-inflammatoires, ainsi que pour leur rôle dans la régulation de la glycémie et la santé intestinale (Wang *et al.*, 2016 ; Tamura *et al.*, 2017 ; Kaur *et al.*, 2019).

La production de bêta-glucane par *S. cerevisiae* est influencée par les conditions de fermentation et la composition du milieu, avec un pic souvent atteint en début de phase stationnaire. Par rapport à d'autres microorganismes comme *Aspergillus oryzae* ou *Bacillus natto*, *S. Cerevisiae* se distingue par la stabilité de sa production et la qualité structurale supérieure de ses β -glucanes, intégrés à la paroi cellulaire (Smith *et al.*, 2000 ; Utama *et al.*, 2021).

Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi d'évaluer l'impact de différents résidus agroalimentaires sur la biosynthèse de bêta-glucane par *S.cerevisiae*. L'objectif est de déterminer quel substrat permettrait d'optimiser la production de cette molécule d'intérêt, tout en contribuant à la valorisation des déchets organiques dans une perspective économique et écologique. Cette approche s'inscrit dans une logique de biotechnologie durable, cherchant à allier performance de production et réduction des coûts.

Pour atteindre l'objectif de notre recherche, ce mémoire est organisé en trois parties principales :

Le premier chapitre présente *Saccharomyces cerevisiae*, ses caractéristiques biologiques et son importance biotechnologique.

Le deuxième chapitre est consacré aux bêta-glucanes : définition, extraction, propriétés fonctionnelles et applications.

Le troisième chapitre décrit le protocole expérimental, les résultats obtenus dans différents milieux de fermentation et leur discussion à la lumière des données bibliographiques.

Synthèse Bibliographique



Chapitre 1

Saccharomyces
Cerevisiae

1 Généralités

1.1 Définition

Saccharomyces cerevisiae est une levure eucaryote unicellulaire appartenant au règne des Fungi et au phylum des *Ascomycota*(Figure 1). Elle appartient au genre *Saccharomyces*, qui a connu de nombreuses révisions taxonomiques en raison de l'évolution des méthodes d'analyse. Ce genre, initialement très hétérogène, comprenait des espèces qui ont ensuite été reclassées dans d'autres genres comme *Zygosaccharomyces* et *Kluyveromyces*. Aujourd'hui, il est divisé en trois groupes : *Saccharomyces sensu stricto* (*S. cerevisiae*, *S. bayanus*, *S. paradoxus*, *S. pastorianus*), *Saccharomyces sensu lato* (*S. dairensis*, *S. castellii*, *S. exigus*,*S. servazzii*, *S. unisporus*), et *S. kluyveri* (Vaughan et Martini, 1993 ; Dujon et Louis, 2017).

S. cerevisiae se reproduit par bourgeonnement et est largement utilisée dans les processus de fermentation, notamment en boulangerie, brassage et production de bioéthanol. Outre son importance industrielle, *S. cerevisiae* est un organisme modèle en biologie cellulaire et moléculaire. Elle est couramment utilisée pour étudier des processus fondamentaux tels que le cycle cellulaire, la régulation de l'expression génique, la transduction du signal, le métabolisme et l'apoptose.Son avantage compétitif repose sur sa capacité à produire et accumuler de l'éthanol, ce qui lui permet d'éliminer les microorganismes concurrents avant de consommer cet éthanol pour poursuivre sa croissance. Elle possède également une tolérance élevée aux fortes concentrations de sucre et produit divers composés aromatiques volatils, des caractéristiques essentielles en vinification (Karathia *et al.*, 2011 ; Parapouli *et al.*, 2020).

Sur le plan écologique, *S. cerevisiae*est présente dans divers environnements naturels, notamment sur les feuilles et les troncs d'arbres comme le chêne, et elle peut survivre dans des conditions parfois extrêmes (Parapouli *et al.*, 2020).

S. cerevisiae présente une grande diversité au sein de ses populations, révélée par des études de génomique comparative. Certaines lignées sont strictement sauvages, tandis que d'autres ont été domestiquées pour des usages industriels. Cette diversité est également influencée par des événements d'introgression et de transfert horizontal de gènes avec d'autres espèces du clade *Saccharomyces*, notamment dans les souches utilisées pour la fermentation du vin et de la bière (Dujon et Louis, 2017).

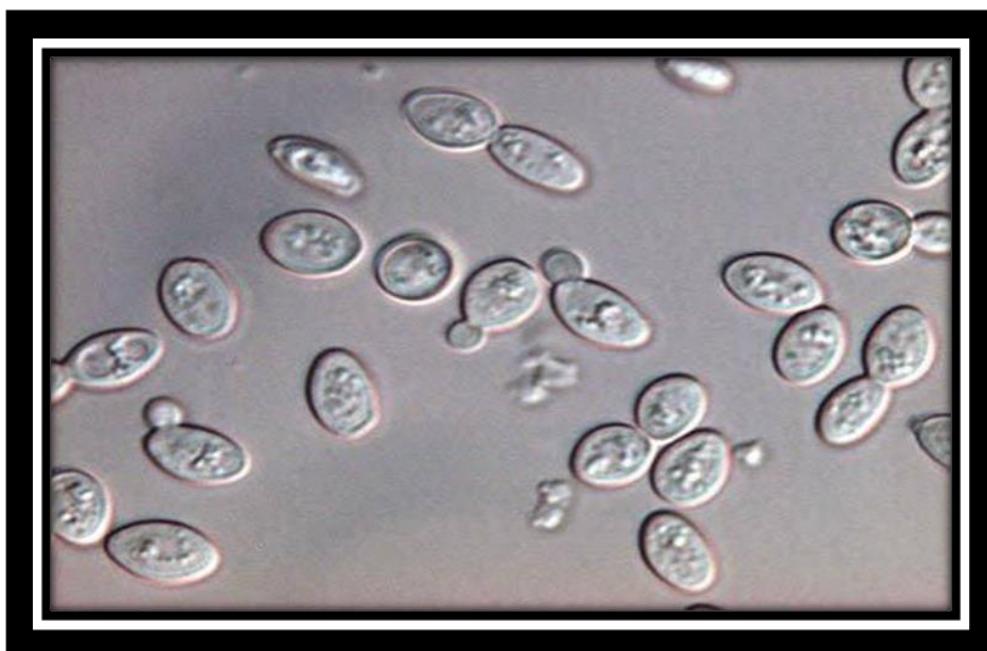


Figure 1: *Saccharomyces cerevisiae* au microscope électronique.<https://microphtique.com>

1.2 Historique

1.2.1 Origine et sélection de *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae est utilisé depuis des millénaires dans la fermentation des boissons et des aliments. Des traces de fermentation du vin découvertes en Iran et en Égypte suggèrent une domestication ancienne. Son expansion s'est faite avec la diffusion de la viticulture depuis la Mésopotamie vers d'autres régions du monde. L'analyse génétique révèle une faible diversité parmi les levures de vin, renforçant l'hypothèse d'une domestication relativement récente. De plus, les levures utilisées en panification semblent être issues d'une hybridation entre celles de la bière et du vin (Lepras *et al.*, 2007).

1.2.2 Diversité génétique et évolution

L'analyse génétique de *S. Cerevisiae* montre qu'elle a suivi les migrations humaines et la propagation des vignes, influençant sa diversité mondiale. Sa classification reposait autrefois sur des critères physiologiques et biochimiques, mais grâce aux avancées en biologie moléculaire et au séquençage du génome, une phylogénie plus précise a été établie, clarifiant

les relations évolutives entre les espèces du genre *Saccharomyces* (Legras *et al.*, 2007 ; Dujon et Louis, 2017).

1.3 Composition de *Saccharomyces cerevisiae*

1.3.1 La paroi cellulaire

La paroi cellulaire de *S. Cerevisiae* est une structure dynamique composée de bêta-1,3-glucane, chitine et mannoprotéines, assurant protection et adaptation aux stress. Elle est remodelée en fonction du cycle cellulaire et activée par la voie MAP kinase en cas d'agression (Klis *et al.*, 2002).

Le bêta-1,3-glucane forme un réseau tridimensionnel élastique qui confère à la cellule sa résistance mécanique. Il est faiblement cristallin, ce qui permet une certaine flexibilité. La chitine, bien que présente en faible quantité dans la paroi latérale, est localisée principalement dans l'anneau de bourgeonnement et les cicatrices de division Cellulaire (**Figure 2**). En réponse à un stress, la cellule peut augmenter sa production de chitine pour renforcer sa paroi. Le β -1,6-glucane, quant à lui, joue un rôle clé en reliant les protéines de la paroi au réseau de glucanes(Klis *et al.*, 2002).

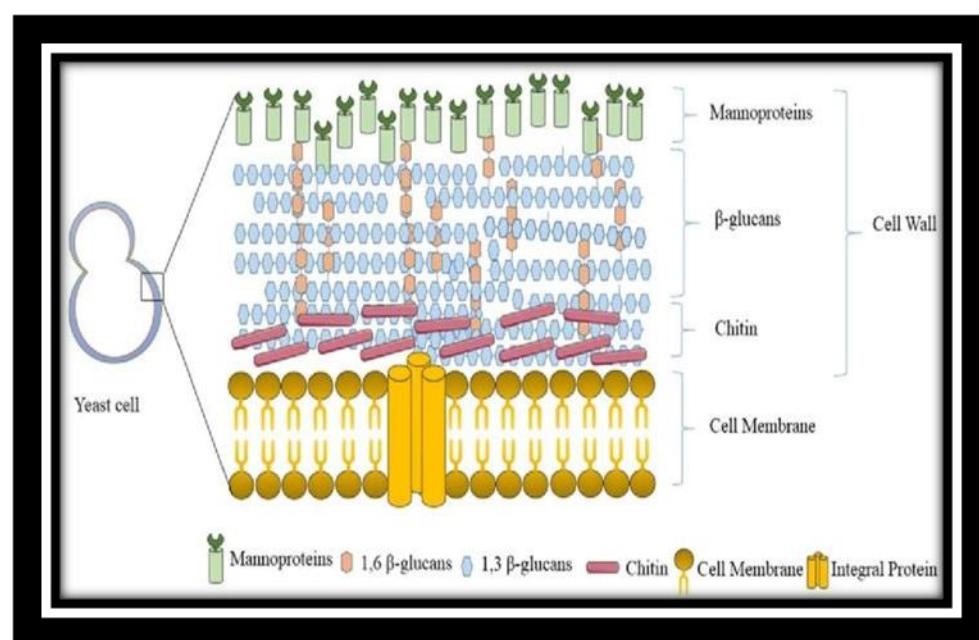


Figure 2 : structure de la paroi cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* (Anwar *et al.*, 2017).

1.3.2 Le Génome

Le génome de *S. Cerevisiae*, séquencé en 1996, contient des milliers de gènes essentiels. La base SGD permet d'analyser ses séquences et phénotypes, faisant de cette levure un modèle clé en biologie cellulaire et moléculaire. Concernant les éléments génomiques extrachromosomiques, toutes les souches de *S. Cerevisiae* contiennent de l'ADN mitochondrial (mtDNA), dont la taille varie d'une souche à l'autre, la plus grande version atteignant environ 85 780 paires de bases. De plus, la plupart des souches possèdent un élément génétique extracromosomique distinct dans leur noyau, appelé le cercle 2 μ m, une molécule d'ADN double brin d'environ 6318 paires de bases, présente en 60 copies par cellule. Considéré comme un ADN "égoïste", il n'a pas d'effet phénotypique notable sur l'hôte, à part une légère réduction du taux de croissance. Toutefois, il a été très utile dans diverses applications de manipulation génétique (Cherry *et al.*, 1998 ; Parapouli *et al.*, 2020)

1.3.3 La composition macromolécules

S. cerevisiae est une levure riche en macromolécules essentielles, incluant principalement les protéines (39,6 à 62,6 %), les acides nucléiques (9 à 10,4 %), les fibres (31,4 %), les lipides (0,5 à 8,5 %) et divers minéraux. Les protéines sont particulièrement riches en lysine et tryptophane, tandis que les acides nucléiques, majoritairement sous forme d'ARN, jouent un rôle clé dans le métabolisme cellulaire. La levure contient également une proportion significative de fibres solubles, principalement des bêta-glucanes et des mannoprotéines, qui influencent sa digestibilité et ses propriétés fonctionnelles. Les lipides et les protéines membranaires, bien que présents en faible quantité, sont essentiels à la structure et au fonctionnement de la membrane plasmique, où ils seront détaillés dans la section correspondante. Enfin, *S. cerevisiae* est une source précieuse de minéraux, notamment le fer, le zinc, le potassium et le phosphore, qui jouent un rôle important dans divers processus biologiques (Yamada et Sgarbieri, 2005).

1.3.4 La membrane plasmique

La membrane plasmique de *S. cerevisiae* est une structure essentielle qui délimite la cellule et assure une barrière sélective entre le cytoplasme et l'environnement extracellulaire. Elle est constituée d'une bicouche lipidique d'environ 7,5 nm d'épaisseur, intégrant diverses protéines membranaires qui remplissent des fonctions clés dans le transport des solutés, la signalisation et l'organisation structurale de la cellule. Les lipides de cette membrane sont asymétriquement répartis entre les deux feuillets. Le feuillet interne est principalement composé de

phosphatidyléthanolamine, de phosphatidylinositol et de phosphatidylsérine, tandis que le feuillet externe est enrichi en phosphatidylcholine et en sphingolipides. L'ergostérol, principal stérol de *S. Cerevisiae*, joue un rôle déterminant dans la stabilité et la fluidité membranaire, influençant ainsi l'activité des protéines membranaires. La membrane plasmique contient une variété de protéines impliquées dans plusieurs processus biologiques. Parmi elles, l'ATPase Pma1p est une enzyme majeure qui hydrolyse l'ATP pour générer un gradient de protons, essentiel à l'absorption des nutriments et au maintien du potentiel membranaire. En plus du transport actif, des protéines de diffusion facilitée et des canaux ioniques permettent l'échange sélectif de molécules et d'ions (Van Der Rest *et al.*, 1995) (**Figure 3**).

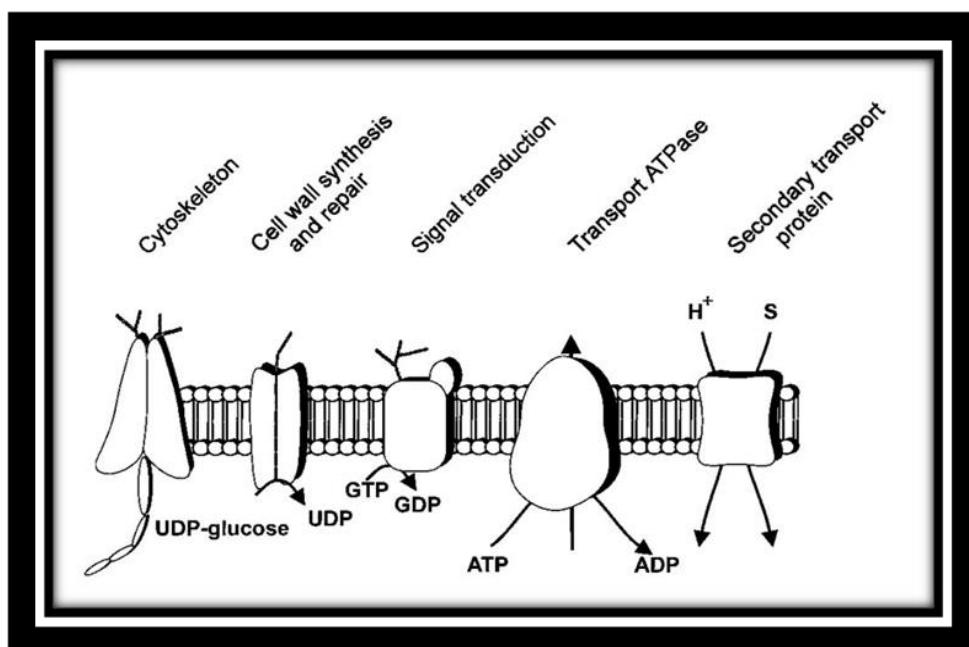


Figure 3 : Classes de protéines membranaires retrouvées dans la membrane plasmique de *S. Cerevisiae* (Van Der Rest *et al.*, 1995).

1.3.4.1 Influence de la température sur la Composition Lipidique

La composition lipidique de *S. cerevisiae* est influencée par la température de croissance. Les principaux lipides présents sont les phospholipides, les triacylglycérols, les diacylglycérols, les acides gras libres et les stérols. Lorsque la température passe de 30°C à 15°C, la quantité totale de lipides augmente, principalement en raison d'une synthèse plus importante de triacylglycérols et de phospholipides. La quantité des autres lipides reste relativement stable.

De plus, la proportion de certains acides gras insaturés augmente légèrement à 15°C. Concernant les stérols, la synthèse d'ergostérol augmente à basse température, tandis que d'autres types de stérols diminuent. Ces modifications permettent à la levure de s'adapter aux variations de température (Hunter et Rose, 1972).

2 Classification de *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae appartient au domaine *Eukaryota*, regroupant les Organismes à cellules nucléées. Il fait partie du règne des *Fungi*, caractérisé par des Organismes hétérotrophes possédant une paroi cellulaire riche en chitine et en Glucanes. Il appartient au phylum des *Ascomycota*, qui comprend des champignons Capables de produire des ascospores lors de leur reproduction sexuée. Au sein des *Ascomycota*, *S. Cerevisiae* est classé dans le sous-phylum *Saccharomycotina*, un groupe de levures bourgeonnantes ne formant pas de structures Filamenteuses complexes. Il appartient à l'ordre des *Saccharomycetales*, qui regroupe Des levures impliquées dans des processus fermentaires naturels et industriels. Il fait Partie de la famille des *Saccharomycetaceae*, qui se distingue par un génome compact, Des centromères ponctuels et l'absence de certains gènes mitochondriaux. Dans cette famille, *Saccharomyces* est un genre monophylétique, regroupant plusieurs Espèces génétiquement proches. Le clade *Saccharomyces* (anciennement *S. Sensu Stricto*) inclut notamment *S. Paradoxus*, *S. Bayanus*, *S. Pastorianus*, *S. Mikatae*, *S. Kudriavzevii*, *S. Eubayanus*, *S. Arboricola* et *S. Jurei*. Ces espèces partagent une forte Similarité génétique mais se distinguent par leur répartition géographique et leurs Adaptations écophysiologiques (Dujon et Louis, 2017).

3 Cycle de vie et reproduction de *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae se reproduit principalement par bourgeonnement en phase Mitotique, mais il est également capable de se reproduire par méiose lorsque les Conditions environnementales deviennent défavorables. Son cycle de vie alterne entre Des formes haploïdes (*n*) et diploïdes (*2n*). Les cellules haploïdes existent sous deux Types sexuels (*a*, *α*), qui peuvent s'accoupler pour former une cellule diploïde (*a/α*). En Cas de stress nutritionnel, la cellule diploïde entre en méiose et subit la sporulation, Produisant ainsi quatre spores haploïdes capables de reformer des cellules viables(Herskowitz, 1988) (**Figure 4**).

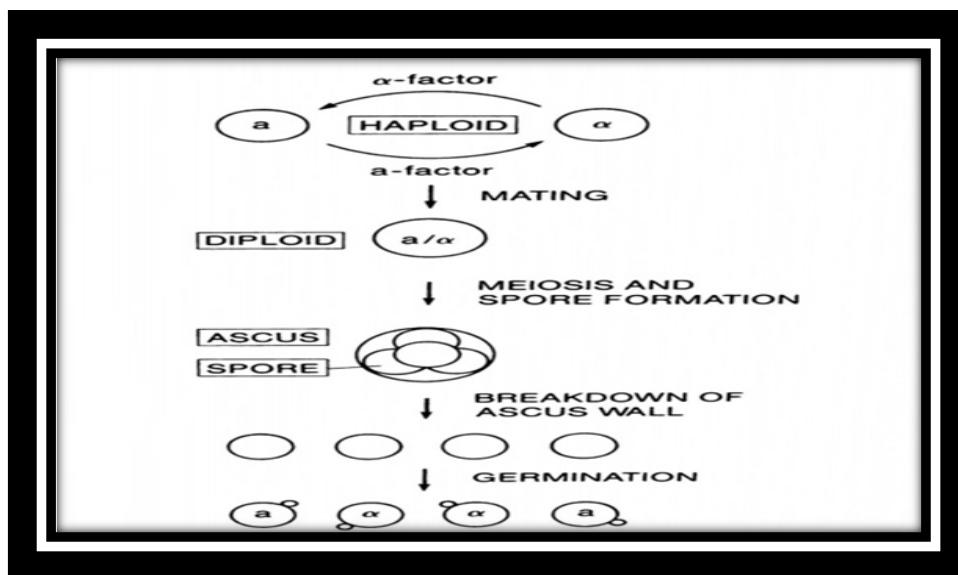


Figure 4 : Cycle de vie de *S. cerevisiae* : alternance entre reproduction asexuée et sexuée (Herskowitz, 1988).

Le cycle mitotique de *S. Cerevisiae* comprend quatre phases : G1, où la cellule croît et Peut être arrêtée par des facteurs d'accouplement ; S, où l'ADN est répliqué ; G2, où L'ADN est vérifié avant la division ; et M, qui correspond à la mitose, permettant la Formation de nouvelles cellules par bourgeonnement (**Figure 5**). Ce processus est régulé par le Locus MAT, qui contrôle l'expression des gènes spécifiques aux types sexuels et Orchestre la différenciation cellulaire (Hartwell, 1974).

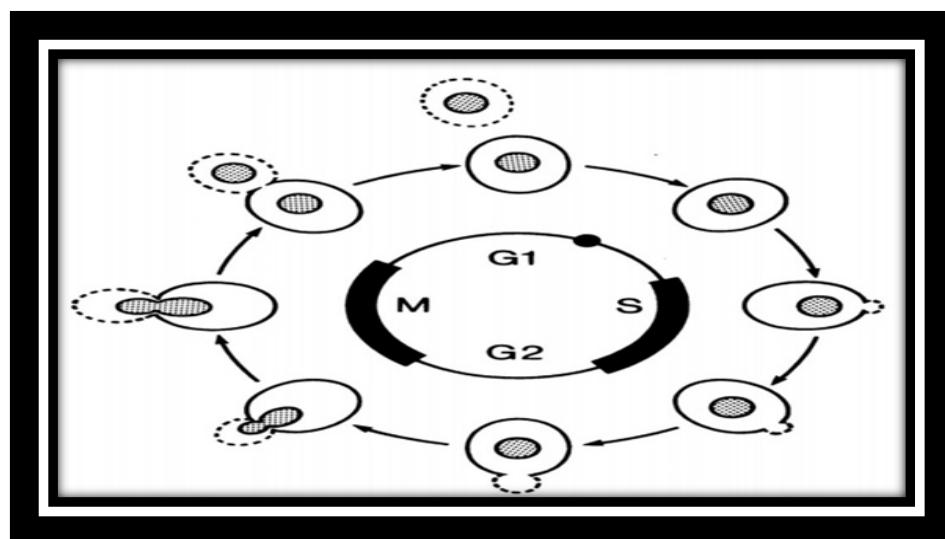


Figure 5 : Cycle mitotique de *S. cerevisiae* : régulation et progression des phases cellulaires (Hartwell, 1974).

De plus, *S. Cerevisiae* peut modifier son type sexuel grâce au gène HO, lui permettant Ainsi d'optimiser ses chances de reproduction. Ce mécanisme joue un rôle Fondamental en biotechnologie, notamment pour la fermentation et la production de Métabolites d'intérêt. (Hartwell, 1974)

3.1 Différenciation cellulaire et division du travail chez *S. cerevisiae*

S. cerevisiae, bien qu'unicellulaire, présente une division du travail conditionnelle selon trois formes principales : Formation de biofilms : Les cellules se différencient en Flo11⁺, qui expriment la protéine d'adhésion Flo11p et s'attachent aux surfaces et entre elles, assurant la stabilité du biofilm, et Flo11⁻, qui restent non adhésives. Cette organisation favorise la colonisation et l'accès aux nutriments dans les environnements semi-solides (Wloch-Salamon *et al.*, 2017).

4 Conditions optimales de croissance de *S. cerevisiae*

La croissance de *S. cerevisiae* est influencée par plusieurs facteurs environnementaux, notamment la température, le pH et la disponibilité des nutriments. L'optimisation de ces paramètres est essentielle pour maximiser la biomasse et l'activité métabolique de cette levure, utilisée dans diverses applications industrielles telles que la fermentation alcoolique et la production de bioéthanol.

4.1 Température optimale

La température joue un rôle clé dans la croissance de *S. Cerevisiae*, influençant à la fois la vitesse de division cellulaire et l'efficacité des processus métaboliques. Cette levure peut se développer dans une plage de température comprise entre 20°C et 38°C, avec une croissance optimale observée entre 28°C et 33,3°C.À des températures inférieures à 20°C, l'activité enzymatique diminue, ce qui ralentit la croissance et la fermentation.À des températures supérieures à 38°C, un stress thermique affecte la viabilité cellulaire, entraînant des altérations des membranes biologiques et une réduction du rendement en biomasse. Le maintien d'une température optimale est donc crucial pour garantir une production efficace, en particulier dans les industries de la fermentation où la température est un paramètre déterminant pour la productivité (Chibi et Djamel, 2020).

4.2 PH optimal

Le pH influence l'activité enzymatique et l'absorption des nutriments par *S. Cerevisiae*. Cette levure peut tolérer un pH compris entre 3 et 6, avec une croissance optimale observée entre 3,71 et 4,94. À pH < 3, l'acidité excessive perturbe la perméabilité membranaire et inhibe certaines enzymes essentielles à la croissance. À pH > 6, la disponibilité des nutriments est réduite, ce qui impacte négativement la vitesse de croissance et le métabolisme cellulaire. En milieu industriel, le contrôle du pH est fondamental pour assurer une fermentation stable et un rendement optimal en biomasse (Chibi et Djamel, 2020).

5 Besoins nutritionnels de *Saccharomyces cerevisiae*

S. Cerevisiae est une levure dont la croissance et la prolifération dépendent de divers nutriments essentiels, notamment une source de carbone, une source d'azote et plusieurs sels minéraux. La régulation de ces nutriments affecte directement son métabolisme et son adaptation à l'environnement.

5.1 Source de carbone

5.1.1 Préférence pour le glucose et effet Crabtree

En présence de glucose, *S. Cerevisiae* favorise la fermentation plutôt que la respiration, même en présence d'oxygène. Ce phénomène, connu sous le nom d'effet Crabtree, permet à la levure de produire de l'éthanol, qui inhibe la croissance d'autres micro-organismes concurrents, lui conférant ainsi un avantage compétitif (Beullens *et al.*, 1988).

5.1.2 Métabolisme en fonction de la disponibilité du glucose

Lorsque le glucose est abondant, la levure suit un métabolisme fermentatif qui permet une croissance rapide. Cependant, lorsque cette source s'épuise, *S. Cerevisiae* passe à une phase appelée diauxic shift, où elle bascule d'un métabolisme fermentatif à un métabolisme respiratoire. Durant cette transition, elle commence à utiliser l'éthanol et l'acétate accumulés comme sources de carbone (Boy-Marcotte *et al.*, 1998).

5.2 Source d'azote

5.2.1 Types de sources d'azote utilisées

S. Cerevisiae est capable d'utiliser divers composés azotés, notamment les acides aminés, l'ammonium (NH_4^+), l'urée et d'autres composés azotés organiques et inorganiques. Toutefois, certaines sources d'azote sont préférées et leur présence peut inhiber l'utilisation d'autres sources moins efficaces (Magasanik et Kaiser, 2002).

5.2.2 Régulation de l'absorption de l'azote

L'absorption de l'azote est finement régulée en fonction des besoins cellulaires et de la disponibilité des nutriments. Lorsque des sources d'azote riches, comme la glutamine, sont disponibles, la levure réprime l'expression des gènes impliqués dans l'assimilation des sources plus pauvres. En revanche, en cas de carence en azote, *S. Cerevisiae* active des voies alternatives pour maximiser l'utilisation des ressources disponibles (Godard *et al.*, 2007).

5.3 Sels minéraux et autres nutriments essentiels

5.3.1 Phosphates

Les phosphates sont indispensables à la levure, car ils jouent un rôle clé dans la synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), la production d'énergie (ATP) et de nombreux processus métaboliques. Leur disponibilité influence directement la régulation de nombreux gènes impliqués dans la croissance cellulaire (Auesukaree *et al.*, 2003).

5.3.2 Magnésium

Le magnésium est un cofacteur enzymatique essentiel qui intervient dans plusieurs réactions biochimiques. Il est notamment nécessaire à la stabilisation des ribosomes et à la catalyse de réactions métaboliques impliquées dans la production d'énergie (Forsberg et Ljungdahl, 2001).

5.3.3 Fer

Le fer est un oligo-élément crucial pour la respiration cellulaire et les réactions enzymatiques impliquant les cytochromes. Il est absorbé en fonction des besoins cellulaires et de sa disponibilité dans le milieu. Sa carence peut entraîner une baisse significative de l'efficacité énergétique de la cellule (Peeters *et al.*, 2006).

5.4 Régulation de la croissance en fonction des nutriments

5.4.1 Rôle des kinases nutritionnelles

L'activation et la répression de nombreuses voies métaboliques sont contrôlées par des protéines kinases spécifiques qui détectent et répondent aux variations de nutriments :

Snf1 : Régule l'utilisation des sources de carbone alternatives lorsque le glucose est limité(Hedbacker *et al.*, 2004).

PKA (Protéine Kinase A) : Joue un rôle central dans la régulation du métabolisme en fonction de la disponibilité en glucose(Budovskaya *et al.*, 2005).

Tor1/Tor2 : Ces kinases sont impliquées dans le contrôle de la croissance en réponse à la disponibilité en azote(Bertram *et al.*, 2002).

Sch9 et Pho85–Pho80 : Ces kinases influencent la prolifération cellulaire et la réponse aux stress nutritionnels(Pedruzzi *et al.*, 2003).

6 Modélisation du Métabolisme de *Saccharomyces cerevisiae*

La modélisation métabolique de *S. cerevisiae* repose sur une approche cybernétique visant à optimiser sa croissance et son homéostasie. Ce modèle considère le métabolisme comme un réseau dynamique, où les flux métaboliques s'adaptent aux besoins cellulaires et aux conditions environnementales. L'analyse des flux métaboliques (MFA) a permis d'identifier les principales voies impliquées dans la consommation du glucose, la production d'ATP et la biosynthèse des macromolécules. Le modèle utilise une fonction de coût équilibrant la croissance, la régulation métabolique et l'absorption des nutriments. Des simulations montrent que la levure ajuste ses flux métaboliques après des perturbations, assurant ainsi son équilibre interne. Cette modélisation est cruciale pour des applications industrielles et biotechnologiques (Giuseppin et Van Riel, 2000).

7 Importance de *Saccharomyces cerevisiae*

7.1 En Biotechnologie

S. cerevisiae est un modèle microbien en biologie moléculaire et génétique, le premier eucaryote séquencé, facilitant son utilisation en ingénierie génétique et biotechnologie. Il est essentiel dans :

- Industries fermentaires :
 - Production de boissons fermentées (bière, vin, whisky, gin) grâce à son pouvoir fermentaire.
 - Boulangerie : production de dioxyde de carbone pour la levée du pain.
 - Bioéthanol et biocarburants : fermentation de substrats lignocellulosiques pour la production de bioéthanol, contribuant à la transition énergétique et à la valorisation des déchets.
 - Biotechnologie industrielle : utilisé comme usine cellulaire (cell factory) pour la production d'enzymes industrielles, additifs alimentaires et composés bioactifs. Certaines souches génétiquement modifiées produisent des arômes et des substances pharmaceutiques.
 - Bioéconomie et valorisation des déchets : transforme les sous-produits agro-industriels en biocarburants et ingrédients alimentaires, favorisant la réduction des déchets industriels (Onyema *et al.*, 2023).

7.2 En Croissance des Plantes

L'application de *S. cerevisiae* améliore la germination (85,83 % contre 54 % pour les graines non traitées) et stimule la croissance végétative en augmentant la surface foliaire, la teneur en chlorophylle et la qualité du rendement. Il agit comme biofertilisant naturel, apportant aux plantes des minéraux, vitamines et hormones de croissance (cytokinines et auxines). Il améliore également la teneur en sucres solubles (TSS) et en saccharose, contribuant ainsi à une meilleure productivité des cultures (Shalaby et El-Nady, 2008).

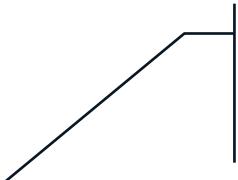
7.3 En Tant qu'Agent de Biocontrôle Efficace

S. cerevisiae est un antagoniste naturel contre *Fusarium oxysporum*, inhibant sa croissance de 57,77 %, réduisant ainsi les pertes agricoles. L'application de 5 g/L de levure diminue la fonte des semis (pré-émergence : de 40 % à 6,67 % ; post-émergence : de 50 % à 11,67 %),

augmentant ainsi le taux de survie des plantes à 83,33 %. Il représente une alternative aux fongicides chimiques, favorisant une agriculture durable et respectueuse de l'environnement (Shalaby et El-Nady, 2008).

7.4 *Saccharomyces cerevisiae* Comme Modèle de Comparaison

S. cerevisiae est un modèle expérimental utilisé pour comparer les processus biologiques entre différentes espèces. Son protéome a été analysé et comparé à 704 autres organismes, démontrant qu'il partage de nombreux processus cellulaires avec les eucaryotes, notamment les mammifères. Environ 30 % de ses gènes sont orthologues à ceux impliqués dans des maladies humaines, ce qui le rend utile pour l'étude du métabolisme, de la signalisation cellulaire et des pathologies humaines. Toutefois, certains processus, comme le cycle cellulaire, sont plus spécifiques aux champignons et nécessitent une interprétation prudente dans les comparaisons avec d'autres organismes (Karathia *et al.*, 2011).



Chapitre 2



Le produit :
Bêta-glucane

1 Généralités

Le bêta-glucane est un polysaccharide non amylose majoritaire composé de chaînes linéaires de β -D-glucose reliées par des liaisons β -(1→3), β -(1→4) et/ou β -(1→6). Il peut être constitué de plus de 25 000 unités de D-glucose et exister sous une forme ramifiée ou non ramifiée (**Figure 6**). Il peut exister sous différentes conformations moléculaires, notamment sous forme de bobines aléatoires, d'hélices simples, doubles ou triples, de structures en bâtonnets ou d'agrégats, en fonction de son origine et des méthodes d'extraction et de modification utilisées (Ahmad et Kaleem, 2018 ; Kaur *et al.*, 2019) (**Figure 7**).

Les bêta-glucanes se divisent en deux catégories principales : les bêta-glucanes solubles dans l'eau, comme le salécan, qui forment des solutions visqueuses lorsqu'ils sont hydratés, et les bêta-glucanes insolubles, tels que le curdlan, qui ne se dissolvent pas facilement. Leur solubilité est influencée par plusieurs facteurs, notamment la masse moléculaire, la composition chimique, l'état brut du polysaccharide et sa structure moléculaire (Xiu *et al.*, 2011).

Ce polysaccharide est un composant essentiel des parois cellulaires de nombreux champignons et de plusieurs plantes. Ses principales sources incluent les céréales (avoine, orge), les champignons (*Sparassis crispa*, *Ganoderma lucidum*), les levures (*Saccharomyces cerevisiae*), les algues (*Laminaria spp.*) et certaines bactéries. Leur concentration varie selon la source, atteignant jusqu'à 90 % chez *Euglena* et 43,6 % chez *Sparassis crispa* (Kaur *et al.*, 2019 ; Mejía *et al.*, 2020) (**Tableau 1**).

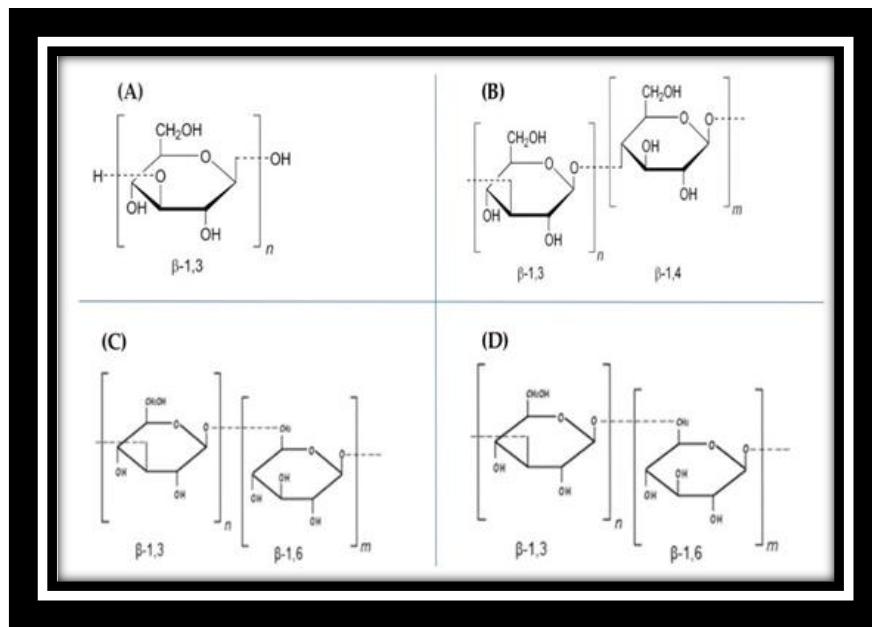


Figure 6 : Structure chimique du bêta-glucane provenant de différentes sources. (A) Bêta-glucane issu de bactéries : squelette linéaire en β -(1→3) sans ramifications. (B) Bêta-glucane issu des céréales ou des lichens : squelette linéaire en β -(1→3) ou β -(1→4) sans ramifications. (C) Bêta-glucane provenant de certaines algues marines : squelette en β -(1→3) avec des ramifications en β -(1→6). (D) Bêta-glucane issu des champignons ou des levures : squelette en β -(1→3) avec des ramifications en β -(1→6), courtes pour les champignons et longues pour les levures(Kaur *et al.*,2019).

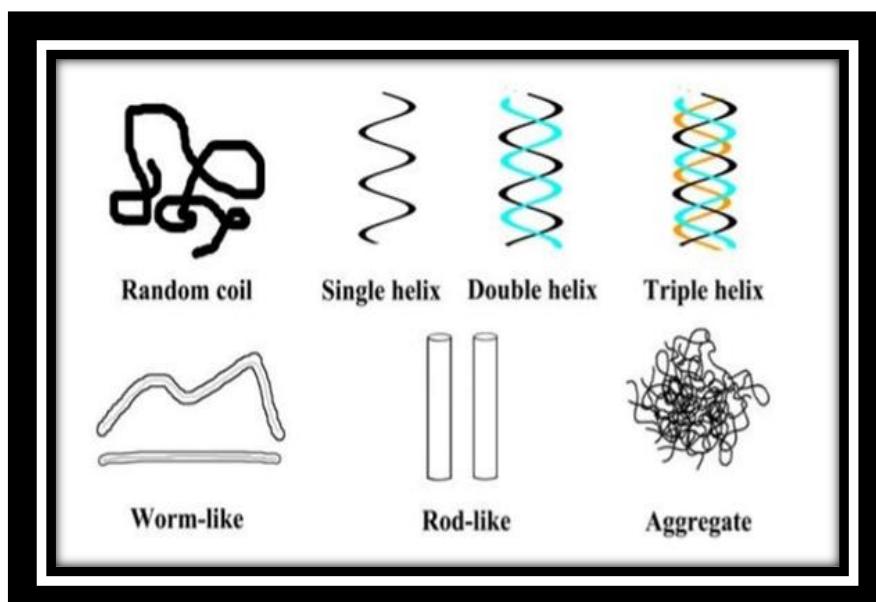


Figure 7 : Structures conformationnelles du bêta-glucane (Kaur *et al.*,2019)

Tableau 1 : Teneur en bêta-glucane de différentes sources (Kaur *et al.*, 2019).

Source alimentaire	Teneur
Avoine	4.5%-5.5%
Orge	4.5%
Farine complète de seigle	1.0%-2.5%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5%-7%
<i>Euglena</i>	90%
Stipes de <i>Durvillaea antarctica</i>	33%
Thalle de <i>Durvillaea antarctica</i>	<5%
<i>Sparassis crispa</i>	43.6%
<i>Inonotus obliquus</i>	3.1%
<i>Gyrophora esculenta</i>	22.7%
<i>Coriolus versicolor</i>	46.5%

2 Extraction du bêta-glucane

L'extraction du bêta-glucane varie selon sa source et nécessite des méthodes spécifiques pour optimiser son rendement et sa pureté.

2.1 Extraction à partir des céréales

Deux techniques sont utilisées : la séparation à sec, avec un faible rendement (<30 %), et la séparation humide, plus efficace (50-70 %). L'extraction implique une hydrolyse en solution acidifiée ou alcaline, suivie d'une centrifugation et d'une précipitation à l'éthanol. L'inactivation des enzymes bêta-glucanases est essentielle pour préserver la structure du polysaccharide (Song *et al.*, 2008 ; Zhang *et al.*, 2016).

2.2 Extraction à partir des levures

Le bêta-glucane (5-7 % des parois cellulaires) est extrait par hydrolyse alcaline avec du NaOH (1M). L'autolyse est une autre méthode utilisée, nécessitant un choc thermique préalable. La purification se fait par chromatographie ou précipitation (Suphantharika *et al.*, 2003).

2.3 Extraction à partir des champignons

L'ébullition dans de l'eau chaude pendant 3 à 4 heures est la méthode la plus courante. Après extraction, la purification s'effectue par chromatographie sur colonne (Kumari *et al.*, 2008; Pai-Feng *et al.*, 2012 ; Bhanja *et al.*, 2014).

Des techniques comme la spectroscopie FT-IR, la RMN et la spectroscopie Raman permettent d'analyser la structure du bêta-glucane et ses propriétés fonctionnelles (Salomonsen *et al.*, 2008 ; Mikkelsen *et al.*, 2010).

3 Propriétés fonctionnelles du β-glucane

Le β-glucane est un polysaccharide aux multiples propriétés fonctionnelles qui lui confèrent un intérêt particulier dans les formulations alimentaires :

3.1 Solubilité et rétention d'eau

Le β-glucane est reconnu pour sa bonne rétention d'eau, ce qui lui permet d'améliorer la stabilisation des textures dans divers produits alimentaires. Grâce à sa capacité à piéger une grande quantité d'eau, il joue un rôle clé dans la consistance des aliments et contribue à l'amélioration des caractéristiques rhéologiques des matrices alimentaires (Liu *et al.*, 2015).

3.2 Effet sur la viscosité et les propriétés rhéologiques

Sa solubilité dans l'eau et son poids moléculaire influencent directement la viscosité des formulations alimentaires. En agissant comme agent épaississant, le bêta-glucane modifie la texture des produits et stabilise leur structure. Ces propriétés sont particulièrement exploitées dans l'industrie agroalimentaire pour optimiser les qualités sensorielles et technologiques des aliments (Cleary *et al.*, 2013).

3.3 Formation de gels et interactions moléculaires

Certaines formes de bêta-glucane possèdent la capacité de former des gels visqueux, ce qui impacte la texture des matrices alimentaires. De plus, le bêta-glucane peut interagir avec d'autres composants alimentaires, influençant ainsi la biodisponibilité de certains nutriments et modifiant les caractéristiques physiques des produits alimentaires (Lee et Inglett, 2012).

4 Effets physiologiques du bêta-glucane (impact sur la santé humaine)

4.1 Renforcement du système immunitaire

L'activation des macrophages et la libération de cytokines par les voies moléculaires décrites précédemment se traduisent par un renforcement global de l'immunité :Les bêta-glucanes améliorent la réponse vaccinale, augmentant la production d'IL-2 et IL-6. Ils stimulent la

production d'anticorps et réduisent la susceptibilité aux infections bactériennes et virales (Wang *et al.*, 2016 ; Montoya *et al.*, 2017).

4.2 Réduction du risque de maladies métaboliques

L'effet des bêta-glucanes sur la glycémie et la sécrétion d'insuline contribue à la prévention du diabète de type 2 et à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline. En réduisant les niveaux de LDL-cholestérol et de triglycérides, ils diminuent le risque cardiovasculaire (Frost *et al.*, 2014 ; Gao *et al.*, 2015).

4.3 Prévention de l'obésité et régulation du poids

Grâce à leur effet de satiété, les bêta-glucanes réduisent l'apport calorique et facilitent la gestion du poids corporel. Leur fermentation par le microbiote intestinal produit des acides gras à chaîne courte, qui régulent le métabolisme énergétique et réduisent l'inflammation associée à l'obésité (Hu *et al.*, 2013 ; Tamura *et al.*, 2017).

4.4 Amélioration de la santé intestinale

En favorisant la croissance de bactéries bénéfiques comme *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, les bêta-glucanes jouent un rôle prébiotique essentiel pour l'équilibre du microbiote intestinal. Leur capacité à augmenter le volume des selles et à améliorer le transit intestinal leur confère un effet laxatif naturel, bénéfique pour la prévention de la constipation (Hu *et al.*, 2013 ; Tamura *et al.*, 2017).

5 Mécanismes d'action du bêta-glucane (niveau moléculaire et cellulaire)

5.1 Modulation du système immunitaire

Au niveau moléculaire et cellulaire, le bêta-glucane interagit avec des récepteurs spécifiques sur les cellules immunitaires, déclenchant une cascade de signalisation intracellulaire. Dectin-1, exprimé sur les macrophages et cellules dendritiques, reconnaît le bêta-glucane et active la signalisation Syk/CARD9, conduisant à l'activation du facteur de transcription NF-κB et à la production de cytokines inflammatoires telles que TNF-α, IL-1β et IL-6. CR3 (Complement Receptor 3) facilite la phagocytose des pathogènes en renforçant l'adhésion des cellules immunitaires aux particules opsonisées. TLR2 et TLR4 activent la voie NF-κB, ce qui amplifie la production de cytokines et stimule la réponse immunitaire innée (Drummond et Brown, 2011 ; Berven *et al.*, 2015 ; Zheng *et al.*, 2016).

5.2 Effet antitumoral

Les bêta-glucanes stimulent les cellules NK (Natural Killer) et augmentent l'expression de molécules pro-apoptotiques, favorisant ainsi la destruction des cellules cancéreuses. Ils inhibent l'activité de la legumaine, une enzyme impliquée dans la progression tumorale, réduisant ainsi la prolifération cellulaire (Berven *et al.*, 2015 ; Mo *et al.*, 2017).

5.3 Effet anti-inflammatoire

Les bêta-glucanes modulent les voies de signalisation intracellulaires en bloquant l'activation de NF-κB et en réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires. Ils augmentent l'expression des protéines des jonctions serrées dans l'intestin, renforçant ainsi la barrière épithéliale (Smeekens *et al.*, 2015 ; Han *et al.*, 2017).

5.4 Régulation de la glycémie

En augmentant la viscosité intestinale, les bêta-glucanes ralentissent l'absorption des glucides et diminuent la sécrétion d'enzymes digestives comme l'amylase pancréatique. Ils modulent la production de peptides intestinaux tels que YY et GLP-1, qui influencent la réponse insulinique et la sensation de satiété (Baldassano *et al.*, 2017 ; Ekström *et al.*, 2017).

5.5 Effet hypcholestérolémiant

Les bêta-glucanes piègent les acides biliaires dans l'intestin, réduisant ainsi leur réabsorption et forçant l'organisme à mobiliser davantage de cholestérol pour en produire de nouveaux. Ils modifient la composition des sels biliaires, ce qui influence le métabolisme des lipides et réduit la concentration de LDL-cholestérol dans le sang (Gunness *et al.*, 2016 ; Mackie *et al.*, 2016).

6 Applications industrielles des β-glucanes

Les bêta-glucanes sont des polysaccharides aux propriétés biologiques et technologiques variées, ce qui leur confère de nombreuses applications industrielles. Ils sont utilisés dans l'alimentation, la médecine, la cosmétique, les produits de santé et l'alimentation animale.

6.1 Applications dans l'industrie alimentaire

Les bêta-glucanes sont largement utilisés comme ingrédients fonctionnels dans l'industrie alimentaire. Ils sont incorporés dans divers produits tels que les saucisses prébiotiques, le pain sans gluten, les produits laitiers allégés et les yaourts. Leur présence améliore les propriétés

nutritionnelles des aliments, notamment en réduisant le cholestérol et en facilitant la digestion. En outre, ces polysaccharides jouent un rôle technologique important en tant qu'agents épaississants, stabilisateurs d'émulsions et agents de rétention d'eau. Ils sont utilisés dans la production de gâteaux, de snacks extrudés et de boissons enrichies en fibres, contribuant ainsi à la texture et à la valeur nutritionnelle des produits (Brennan *et al.*, 2013 ; Zhu *et al.*, 2015).

6.2 Applications en médecine

Grâce à leurs propriétés immunomodulatrices et cicatrisantes, les bêta-glucanes sont utilisés dans le domaine médical, notamment dans les pansements transparents et les membranes polymères destinés à la cicatrisation des plaies et des brûlures. Ces matériaux biomédicaux favorisent la régénération cellulaire et réduisent la douleur post-traumatique. Dans le domaine orthopédique, les bêta-glucanes sont employés comme substituts osseux, notamment sous forme de composites avec de l'hydroxyapatite, offrant une adaptation optimale aux défauts osseux. Par ailleurs, ils sont étudiés comme vecteurs pour des vaccins, où ils encapsulent des antigènes afin d'améliorer la réponse immunitaire (Berdal *et al.*, 2007 ; Vetvicka *et al.*, 2007 ; Belcarz *et al.*, 2013).

6.3 Applications en cosmétique

Dans l'industrie cosmétique, les bêta-glucanes sont intégrés dans diverses formulations pour leurs effets hydratants, anti-âge et réparateurs. Ils sont présents dans des crèmes, lotions et sérum, où ils renforcent la barrière cutanée, réduisent les rides et améliorent l'élasticité de la peau. Aussi ils sont utilisés dans des soins dermatologiques pour traiter des affections telles que l'eczéma, le psoriasis et l'acné. Ils favorisent la production de collagène, retardant ainsi les signes du vieillissement cutané (Pillai *et al.*, 2005 ; Ketkeaw *et al.*, 2012).

6.4 Autres applications dans les produits de santé

Les bêta-glucanes sont aussi employés dans des compléments alimentaires et produits nutraceutiques, où ils agissent comme prébiotiques favorisant la santé intestinale. Dans l'industrie pharmaceutique, ils entrent dans la composition de nanoparticules aux propriétés antifongiques, notamment contre *Pythium aphanidermatum*. Par ailleurs, ils sont utilisés dans des soins capillaires pour renforcer et hydrater les cheveux (Tungland et Meyer, 2002 ; Kanlayavattanakul et Lourith, 2008 ; Syntytsya et Novák, 2013).

6.5 Applications dans l'alimentation animale

Les bêta-glucanes sont aussi intégrés dans l'alimentation animale, où ils jouent un rôle immunostimulant et antitumoral. Ils sont notamment utilisés dans l'aquaculture pour améliorer la production d'anticorps spécifiques et renforcer les défenses immunitaires des poissons. Dans l'élevage, leur incorporation dans les régimes alimentaires contribue à la réduction de l'usage d'antibiotiques, tout en optimisant la santé et la croissance des animaux (Suphantharika *et al.*, 2003 ; Siwicki *et al.*, 2004).

7 La production de bêta glucane

7.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Le bêta-glucane est l'un des principaux constituants de la paroi cellulaire de *S. cerevisiae*, représentant jusqu'à 30 % du poids sec de la cellule. Il est principalement composé de bêta-1,3glucane (85 %) et de bêta-1,6-glucane (3 %). Cette molécule présente un grand intérêt en raison de ses propriétés immunostimulantes, antioxydantes, hypocholestérolémiantes et protectrices contre divers agents pathogènes et stress oxydatif (Manners *et al.*, 1973 ; Robbins et Seeley, 1977; Fleet, 1985 ; Bohn et BeMiller, 1995).

La production de bêta-glucane est influencée par plusieurs facteurs, notamment l'espèce de levure, la composition du milieu de culture et les conditions de croissance (McMurrough et rose, 1967 ; Catley, 1988; Nguyen *et al.*, 1998).

Lors de la culture discontinue (batch), la teneur en bêta-glucane est maximale au début de la phase stationnaire, moment où la paroi cellulaire présente également une résistance accrue à l'action des bêta-glucanases (Inouhe *et al.*, 1997; Shimoji *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2000).

En culture continue, un taux de dilution faible favorise une accumulation plus élevée de bêta-glucane, ce qui est cohérent avec une croissance plus lente et un renforcement de la paroi cellulaire (Inouhe *et al.*, 1997).

Sur la base de ces observations, la culture fed-batch a été sélectionnée comme méthode optimale pour la production de masse. L'utilisation d'un milieu Dw concentré 1,5 fois, combinée à un apport intermittent de glucose (15 g/50 ml), permet d'obtenir une teneur en bêta-glucane de 0,13 g/g de biomasse sèche et une productivité de 0,095 g/l/h (Kim et Yun, 2006).

Le procédé d'extraction repose sur la lyse cellulaire suivie d'un traitement alcalin (NaOH), une précipitation à l'éthanol, une dialyse, puis une purification par chromatographie échangeuse d'ions et chromatographie d'affinité (Kim et Yun, 2006).

La biosynthèse du bêta-glucane est assurée par la bêta-glucane synthétase qui polymérise l'UDP-glucose, tandis que sa dégradation est assurée par des bêta-glucanases dont l'activité est étroitement liée à la phase de croissance et à la disponibilité en glucose (Fleet, 1985; Inouhe *et al.*, 1997).

7.2 ***Aspergillus oryzae***

Aspergillus oryzae est une moisissure filamenteuse capable de produire des quantités élevées de bêta-glucane, particulièrement dans sa paroi cellulaire, qui contient à la fois du bêta-glucane (1→3) et β-(1→6)(Beauvais *et al.*, 2014).

Dans l'étude comparative de Utama *et al.* (2021), cette souche a produit 82,5 mg de bêta-glucane à partir de 590,65 mg de biomasse, soit un rendement de 13,97 %. Le processus de biosynthèse utilise l'UDP-glucose comme substrat via le glucane synthase membranaire. La taille des particules globulaires extraites atteint 1400 µm, indiquant une structure dense (Beauvais *et al.*, 2001 ; Utama *et al.*, 2021).

7.3 ***Bacillus natto***

Bacillus natto, une bactérie utilisée dans la production alimentaire du natto, est capable de produire du bêta-glucane en tant que métabolite secondaire sous forme de bêta-1,3-glucane. Ce microorganisme a montré un rendement élevé de 20,38 %, avec 1,345 mg de bêta-glucane produits à partir de 6,6 mg de biomasse. Il entre en phase logarithmique dès 24 h, ce qui favorise une production rapide. La taille moyenne des particules globulaires était de 600 µm, avec une texture spongieuse (Dhivya *et al.*, 2014 ; Utama *et al.*, 2021).

7.4 ***Xanthomonas campestris***

Xanthomonas campestris est une bactérie Gram-négative qui produit du bêta-glucane sous forme de polysaccharides cycliques, contenant 16 résidus glucuronosyl dont 15 liés en β-(1→2) et un en α-(1→6) (York, 1995). Toutefois, sa production reste faible, avec 0,785 mg de bêta-glucane pour 4,445 mg de biomasse, soit un rendement modeste. Sa production est souvent orientée vers la gomme xanthane. La taille des particules est la plus petite, avec 305 µm, indiquant une bonne solubilité mais une faible quantité extraite (Utama *et al.*, 2021).

Afin d'évaluer l'efficacité relative de la production de bêta-glucane, les résultats obtenus pour *Aspergillus oryzae*, *Bacillus natto* et *Xanthomonas campestris* ont été comparés à ceux de *S. cerevisiae*, qui constitue une référence classique en raison de sa capacité bien connue à produire des bêta-glucanes à partir de sa paroi cellulaire. Cette comparaison a permis de mettre en évidence les différences en termes de rendement, de nature structurale du bêta-glucane (paroi cellulaire vs métabolites secondaires), ainsi que de conditions de production optimales. Par exemple, bien que *Aspergilus Oryzae* ait montré une production absolue plus élevée, *Bacillus Natto* a présenté le meilleur rendement relatif, tandis que *S. Cerevisiae* reste intéressant pour sa stabilité et la qualité de ses bêta-glucanes structuraux (Utama *et al.*, 2021).

Matériel et Méthode

Notre travail porte sur la production de bêta-glucane par *Saccharomyces cerevisiae* en utilisant trois substrats agroalimentaires : les épluchures de pommes de terre, les résidus de café et l'avoine moulue.

Le travail pratique a été réalisé au laboratoire de parasitologie de l'hôpital de pédiatrie El Mansourah à Constantine, ainsi qu'au laboratoire pédagogique (**Lab 09**) relevant de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université des Frères Mentouri, Constantine 1, durant une période de 8 jours, du 10 au 17 avril.

1 Matériel utilisé

1.1 Appareils et équipements

Autoclave (110 °C, 20 min), étuve (30 °C), incubateur avec agitation (30 °C, 150 rpm), spectrophotomètre UV-Vis (620 nm), vortex, balance de précision, centrifugeuse, réfrigérateur (4 °C), bec Bunsen, plaque chauffante, bain-marie, micropipettes (50, 100, 200 µL), seringues stériles (10 ml), tubes stériles (14 ml, 12 ml), bêchers (100 ml, 1 L), éprouvette graduée, spatule, pinces stériles.

1.2 Matériel de verrerie et accessoires

Flacons (200 ml), boîtes de Pétri, pipettes de Pasteur, compresse de gaze, coton hydrophile, papier aluminium, entonnoir.

- Souche microbienne :

Saccharomyces cerevisiae (levure de boulangerie)

- Substrats utilisés :

Épluchures de pommes de terre, résidus de café, avoine moulue

- Réactifs et produits chimiques :

Eau distillée (ordinaire et stérile), extrait de levure, sulfate de magnésium, sulfate de potassium, D-glucose, acide sulfurique concentré, anthrone, soude (NaOH)

2 Méthodes expérimentales

2.1 Préparation du milieu PDA

200 g de pommes de terre coupées en petits morceaux sont bouillis dans 500 ml d'eau distillée pendant 20 minutes. Après refroidissement partiel, l'extrait est filtré à l'aide d'une compresse de gaze et d'un entonnoir dans un bécher de 1 L, puis complété à 1 L avec de l'eau distillée. On y ajoute 20 g d'agar agar et 20 g de D-glucose. Le mélange est réparti dans des flacons propres, fermés avec du coton, recouverts de compresses de gaze et de papier aluminium, puis stérilisés à 110 °C pendant 20 min.

2.2 Préparation des milieux de fermentation

Chaque milieu est préparé dans une éprouvette, puis on répartit dans trois flacons de 100 ml sont utilisés par milieu : deux pour la fermentation (48 h et 72 h) et un pour la préculture.

Milieu 1 (M1) : 3 g de D-glucose, 0,25 g de sulfate de magnésium, 0,25 g de sulfate de potassium, 3 g d'épluchures de pommes de terre, eau distillée jusqu'à 300 ml.

Milieu 2 (M2) : même composition que M1, avec 3 g de résidus de café à la place des épluchures.

Milieu 3 (M3) : même composition que M1, avec 3 g d'avoine moulue comme substrat.

Les milieux sont agités légèrement pour homogénéisation, versés dans des flacons étiquetés, fermés hermétiquement comme précédemment, puis stérilisés à 110 °C pendant 20 minutes.

2.3 Préparation de la solution d'extrait de levure (1%)

1 g d'extrait de levure en poudre sont dissous dans de l'eau distillée dans un bécher de 100 ml, puis complétés jusqu'au trait. Après agitation, la solution est transférée dans un flacon propre, fermé et stérilisé comme précédemment.

2.4 Préparation de la solution levurienne

Dans la zone de stérile, après désinfection du plan de travail, 0,5 g de levure de boulanger est dissoute dans un tube stérile de 14 ml contenant 10 ml d'eau distillée. Agitation jusqu'à dissolution complète (**Figure 8**).

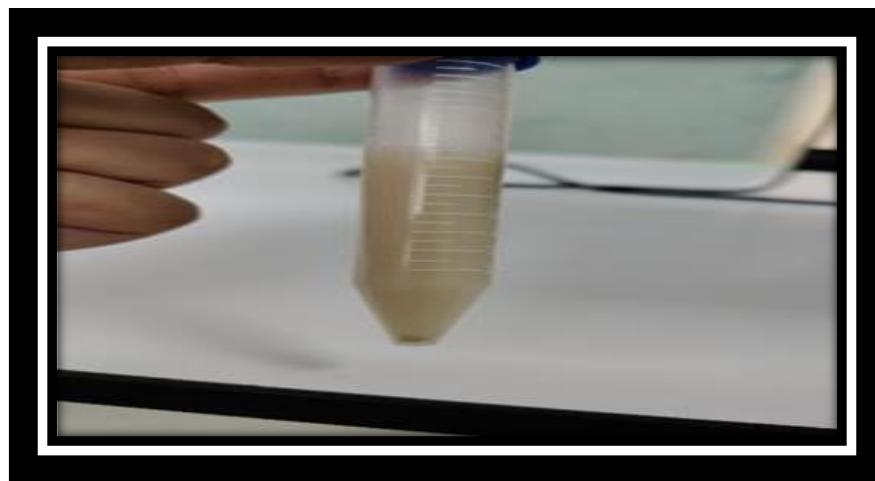


Figure 8 : la solution levurienne préparée.

2.5 Ensemencement sur milieu PDA

Le milieu PDA stérilisé est versé dans des boîtes de Pétri dans la zone stérile, puis laissé à solidifier. À l'aide d'une pipette de Pasteur stérilisée, une goutte de la solution levurienne est placée au centre de la boite et étalé en surface du milieu, en utilisant la méthode du râteau (**Figure 9**). Les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 48 h.

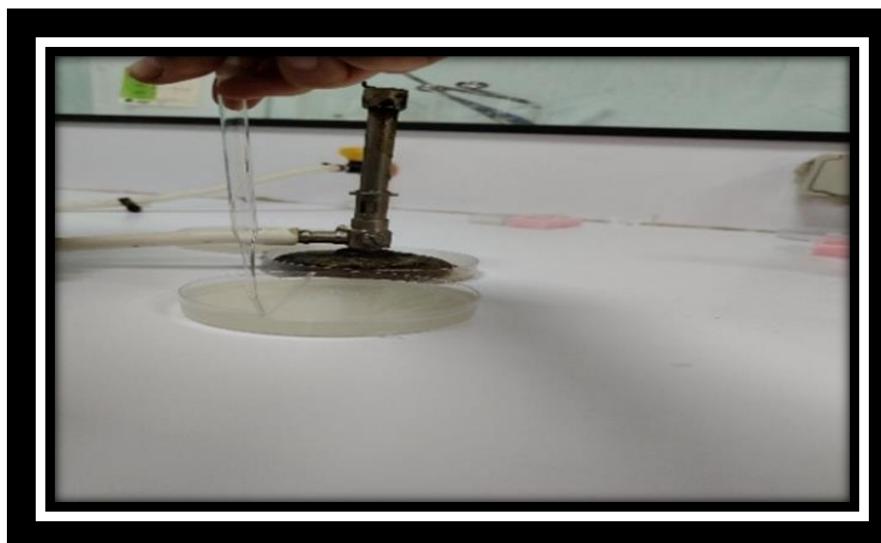


Figure 9 : L'étalement de la solution levurienne par un râteau sur la surface de la boîte.

2.6 Préparation de la préculture

Chaque flacon de pré culture reçoit 10 ml d'extrait de levure. Puis à l'aide d'une pipette de Pasteur chauffée par la flamme de bec bunsen, des disques sont découpés à partir des zones bien colonisées des boîtes de Pétri. Deux disques sont transférés dans chaque flacon de préculture contenant 100 ml du milieu correspondant, puis incubés à 30 °C pendant 24 h (**Figure 10**).



Figure 10 : Transfère des disques dans les flacons de pré culture.

2.7 Inoculation des milieux de fermentation

Après 24 h, chaque flacon de fermentation reçoit 10 ml d'extrait de levure et 10 ml de la pré-culture correspondante ce qui donne un volume réactionnel total de 120 ml (**Figure 11**). Les flacons sont incubés à 30 °C, 150 rpm, pour 48h et 72h.

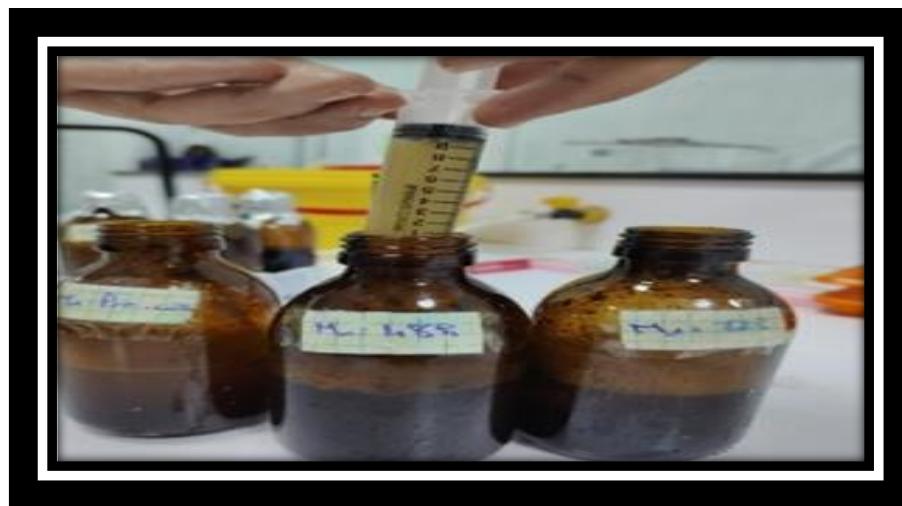


Figure 11 : Inoculation de 10 ml de pré culture à chaque flacon correspondant.

2.8 Récolte de la biomasse

Après l'étape de la fermentation les cultures sont transférées dans des tubes 10 ml et sont centrifugées (4000 rpm, 10 min) ; le surnageant est éliminé. Le culot (biomasse) est lavé avec 10 ml d'eau distillée, recentrifugé 2ème fois et le surnageant jeter.

2.9 Extraction des bêta-glucanes

Une solution de NaOH 2 M est préparée en dissolvant 8 g dans 100 ml d'eau distillée. 10 ml de cette solution sont ajoutés à chaque culot. Les tubes sont agités puis incubés au bain-marie à 90°C pendant 1h (**Figure 12**). Après refroidissement, les tubes sont centrifugés (4000 rpm, 10 min) et le surnageant contenant les bêta-glucanes est récupéré.

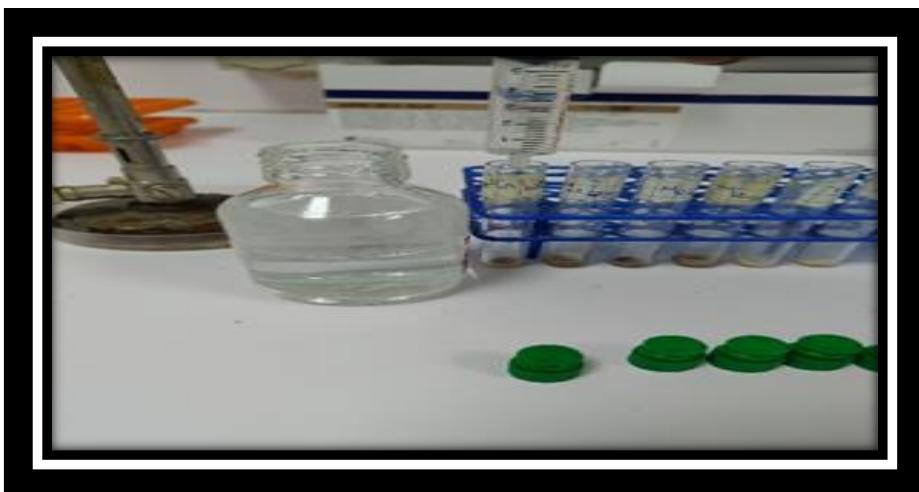


Figure 12 : L'ajout de NaOH dans chaque tube contient le culot.

2.10 Dosage des bêta-glucanes (réactif anthrone-sulfurique)

0,1 g d'anthrone est dissous dans 100 ml d'acide sulfurique concentré sous agitation lente. 2 ml de cette solution sont ajoutés au 2ml de surnageant de chaque échantillon, puis incubés au bain-marie à 90 C° pendant 10 min (**Figure 13**).

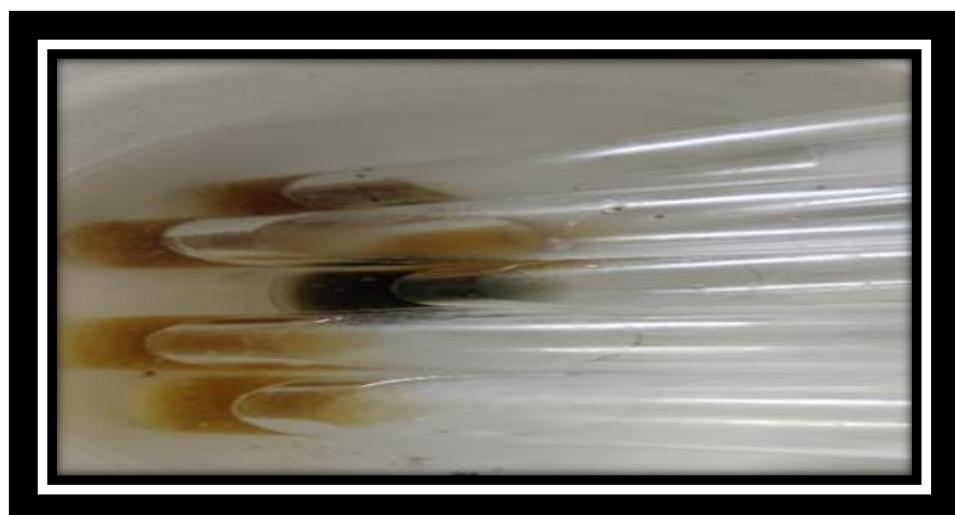


Figure 13 : Chauffés les tubes dans un bain marie à 90°C pendant 10 min.

2.11 Préparation de la courbe d'étalonnage au D-glucose

Une solution mère de glucose à 1000 μ g/ml est préparée en dissolvant 0.1 g de glucose dans 100 ml d'eau distillée donne une solution plus concentrée. Des dilutions de 1ml sont réalisées à partir de cette solution mère(**Tableau 2**). On ajoute à chaque tube 1 ml de réactif d'anthrone sulfurique et chauffés dans un bain marie à 90 °C pendant 10 min. Ce réactif réagit avec le beta-glucaneet induit une coloration caractéristique (Upadhyay *et al.*, 2022). Les absorbances des échantillons et des standards sont mesurées à 620 nm.

Remarque : On a utilisé le D-glucose pour la préparation les séries de dilution et la courbe au lieu de bêta-glucane.

Tableau 2 : Préparation de la série de dilution de D-glucose

Tube	1	2	3	4	5	6
Volume de solution mère (μ l)	100	250	400	550	700	850
Volume d'eau distillée (μ l)	900	750	600	450	300	150

Résultats et Discussion

1 Résultats

1.1 Observation de la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* sur milieu PDA

La souche de *S. cerevisiae* a été cultivée sur un milieu solide à base de PDA (Potato Dextrose Agar) afin d'évaluer sa capacité de croissance. Ce milieu est riche en nutriments essentiels, ce qui favorise la croissance des levures et des champignons (Westphal *et al.*, 2021).

La souche observée présente une morphologie typique : aspect crémeux, blanc, avec une surface lisse, et le verso de la boîte donne le même aspect coloré que le recto. Aucune contamination n'a été détectée (**Figure 14**).

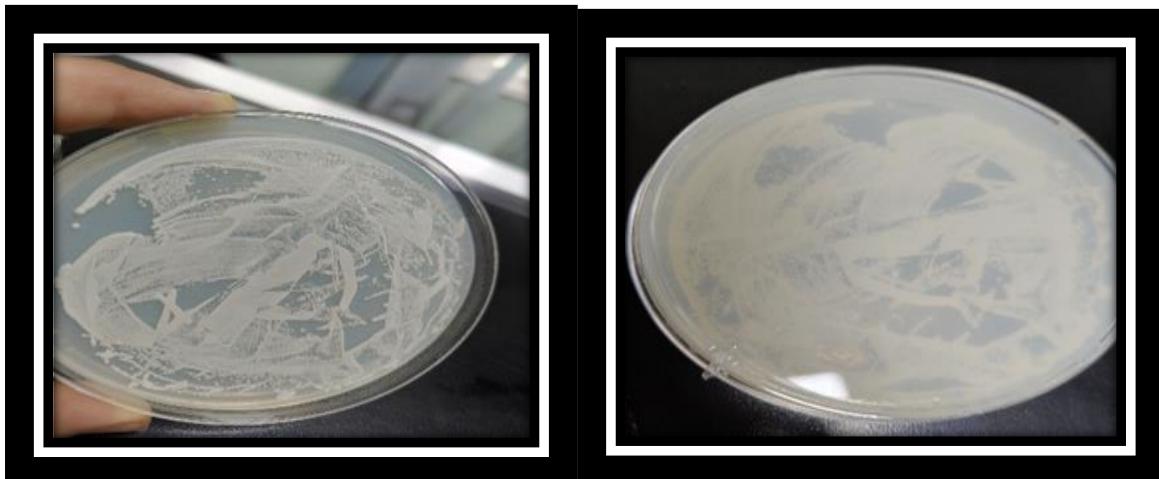


Figure 14 : Croissance de *Saccharomyces cerevisiae* à 30°C pendant 48 h sur milieu PDA – recto (à gauche) et verso (à droite) de la boîte de Pétri.

Le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) est reconnu pour favoriser efficacement la croissance de *S. cerevisiae*. Dans une étude comparative, le PDA commercial a été utilisé comme milieu de référence pour évaluer des variantes à base de cultures locales, et a démontré une bonne capacité à soutenir le développement de cette levure, confirmant ainsi son importance comme base de culture fongique (Wongjirathiti et Yottakot, 2017).

1.2 Observation des milieux après la fermentation

Après incubation de 48 et 72 h à 30 °C, les cultures fermentées ont été transférées dans des tubes pour observer les différences visuelles, puisque les flacons foncés ne permettaient pas

une observation claire. Les milieux présentent des troubles avec de coloration variée selon la nature du substrat utilisé (**Figure 15**).

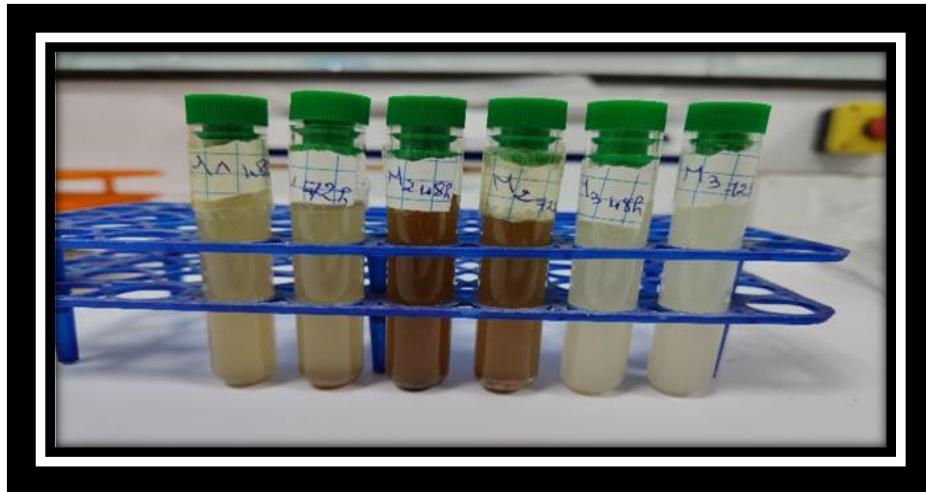


Figure 15 : Observation des milieux de fermentation après la fermentation.

Après centrifugation, une sédimentation claire est observée dans tous les tubes. Cette sédimentation représente la biomasse cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* accumulée au fond. La coloration du surnageant varie aussi selon le substrat utilisé dans chaque milieu (**Figure 16**).

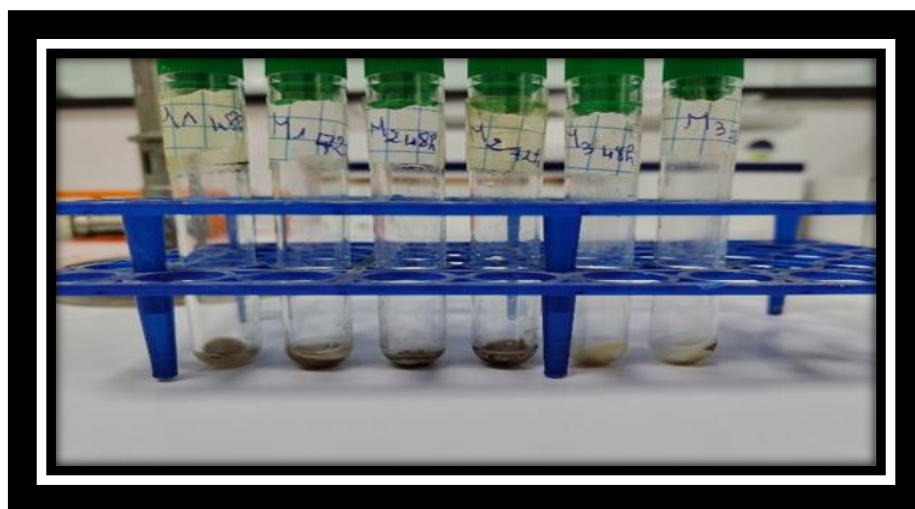


Figure 16 : Aspect des tubes après centrifugation.

1.3 Extraction alcaline du bêta-glucane par NaOH

L'extraction du bêta-glucane a été réalisée en traitant la biomasse récoltée avec une solution de NaOH 2M, selon une méthode d'extraction alcaline à chaud (Karslioglu *et al.*, 2021).

Cette étape permet la solubilisation des parois cellulaires de *Saccharomyces cerevisiae* et la libération des bêta-glucanes en dégradant les constituants non glucaniques (Chotigavin *et al.*, 2021).

Durant cette étape, un trouble blanchâtre et une légère décoloration du liquide ont été observés (**Figure 17**).

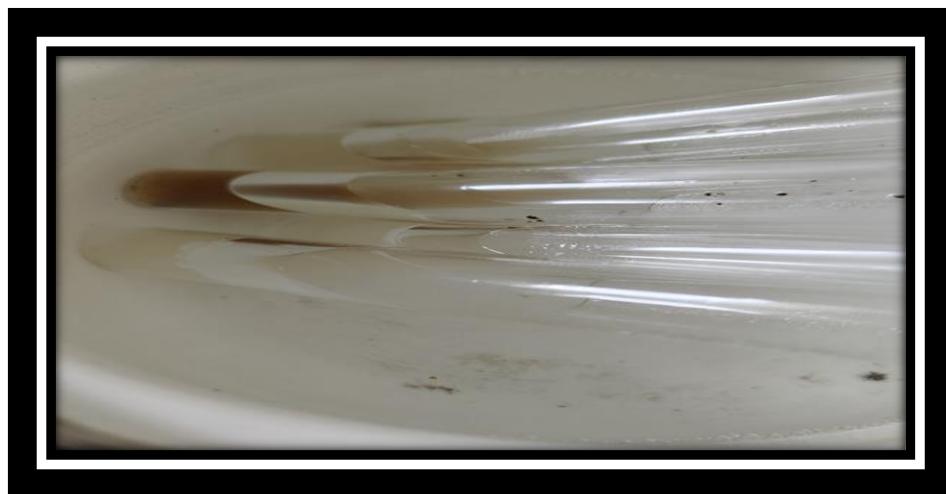


Figure 17 : Tubes contenant la biomasse de *S. cerevisiae* en traitement alcalin par NaOH dans le bain-marie.

1.4 Réaction colorimétrique avec le réactif anthrone sulfurique

Après centrifugation, une réaction colorimétrique a été réalisée en utilisant le réactif anthrone en milieu sulfurique. Ce réactif réagit avec les glucides présents pour produire un complexe coloré détectable par spectrophotométrie(Upadhyay *et al.*, 2022).

L'observation montre une coloration foncée tirant vers le vert foncé, caractéristique d'une réaction positive indiquant la présence de polysaccharides, notamment des bêta-glucanes (**Figure 18**).

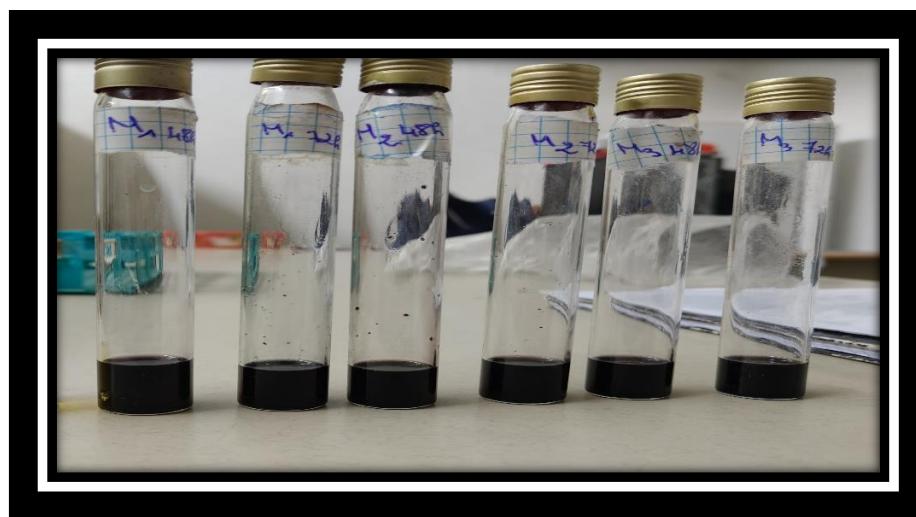


Figure 18 : Résultat de la réaction colorimétrique entre les extraits et le réactif anthrone sulfurique après chauffage.

1.5 Courbe d'étalonnage du D-glucose et détermination des concentrations en bêta-glucane

Pour mesurer les bêta-glucanes, l'absorbance de différentes concentrations de D-glucose a été mesurée à 620 nm, une longueur d'onde caractérisée par les polysaccharides (**Tableau 3**) (Lin *et al.*, 2014).

Ces mesures ont permis de tracer une courbe d'étalonnage (**Figure 19**). L'équation de cette droite a servi à déterminer les concentrations dans les extraits testés.

Tableau 3 : Absorbance mesurées à 620 nm pour différentes concentrations de D-glucose.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Concentration de D-glucose (µg)	100	250	400	550	700	850
Absorbance	0.310	0.395	0.454	0.522	0.580	0.670

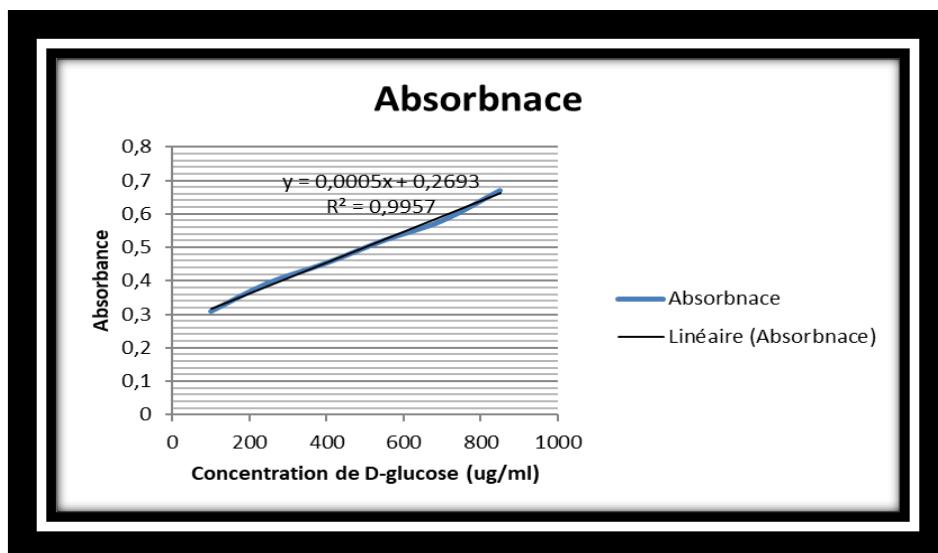


Figure 19 : Courbe d'étalonnage obtenue à partir de différentes concentrations de D-glucose.

1.6 Récapitulatif des résultats

Selon l'équation de droit [$y = 0.0005x + 0.2693$] on calcule les concentrations de bêta-glucane de chaque milieu dans deux temps différents : $y = 0.0005x + 0.2693 \rightarrow x_1(48h) = 0.479 - 0.2693/0.0005 = 419.4\mu\text{g}/\text{ml}$ (1)

On commence les calculs de toutes les concentrations de chaque milieu dans les deux temps 48h et 72h comme le premier calcul (1) (**Tableau 4**).

Tableau 4 : les résultats de la fermentation, centrifugation, la mesure de l'absorbance et les calculs de bêta-glucane de chaque milieu dans deux temps différents.

Milieu de culture	Temps	Aspect après fermentation	Aspect après centrifugation	Absorbance à 620nm	Concentration calculés ($\mu\text{g/ml}$)
M1 : Épluchures Pomme de terre	48h	Trouble brun clair	Sédiment beige	0.479	419.4
	72h			0.509	479.4
M2 : Résidus de café	48h	Trouble brun foncé	Sédiment dense	0.353	167.4
	72h			0.345	151.4
M3 : Avoine moulue	48h	Légèrement trouble	Sédiment faible	0.590	641.4
	72h			0.623	707.4

2 Discussion

2.1 La croissance sur milieu PDA

La culture de *S. cerevisiae* sur le milieu PDA a permis d'observer une croissance typique, sans contamination, avec une morphologie crèmeuse et blanche. Ce résultat confirme que la souche utilisée est bien viable et pure, ce qui constitue une étape essentielle avant son inoculation dans les milieux de fermentation.

Le PDA est reconnu comme un milieu riche qui favorise la croissance des levures, grâce à sa teneur en glucose et en extrait de pomme de terre. Ces observations mentionnent l'efficacité du PDA pour le développement de levures (Wongjirathiti et Yottakot, 2017).

2.2 Les milieux après fermentation

Après 72 h de fermentation à 30 °C, des différences de couleur et de trouble ont été observées selon les substrats. L'observation du trouble dans le milieu de culture indique une croissance levurienne active en suspension et la sédimentation nette après centrifugation confirme la formation de biomasse. Ces résultats sont conformité avec ceux de Castro *et al.*, 1995, qui ont

prouvé que la turbidité mesurée dans des fermenteurs liée à la concentration cellulaire, et que la sédimentation après centrifugation confirme l'accumulation de biomasse. Les résultats visuels sont importants pour interpréter l'activité fermentaire et permettent d'anticiper la quantité de bêta-glucane extraite.

2.3 L'extraction alcaline du bêta-glucane

Le traitement par NaOH 2M à chaud a permis la solubilisation des parois cellulaires de la levure, rendant les bêta-glucanes disponibles. L'observation d'un trouble blanchâtre indique une déstructuration des parois et la libération des polysaccharides. Cette méthode est conforme à celles utilisées dans d'autres travaux, et reste l'une des techniques les plus efficaces pour extraire les bêta-glucanes fongiques (Upadhyay *et al.*, 2022).

2.4 La Réaction colorimétrique avec le réactif anthrone

La réaction colorimétrique a donné une coloration vert foncé, ce qui indique la présence de polysaccharides, dont le bêta-glucane. Cette coloration est typique d'une réaction positive avec les glucides. Ce résultat confirme que l'extraction a été efficace et que les échantillons contiennent bien des composés glucidiques. L'anthrone est un réactif couramment utilisé pour ce type de dosage (Upadhyay *et al.*, 2020).

2.5 Les Résultats quantitatifs du bêta-glucane

- Interprétation par milieu
- Milieu 1 – Épluchures de pomme de terre : 419,4 µg/ml à 48 h, 479,4 µg/ml à 72 h.

Une augmentation modérée entre les deux temps plus élevés à 72h montre une production continue.

Les épluchures de pomme de terre apportent un bon soutien nutritif et valorisable pour la fermentation de *S. cerviseae* (Maxwell *et al.*, 2018).

Malgré l'efficacité des épluchures de pomme de terre mais leur résultat est moins efficace que l'avoine.

- Milieu 2 – Résidus de café : 167,4 µg/ml à 48 h, 151,4 µg/ml à 72 h.

Les résultats de milieu 2 sont bien inférieurs à ceux milieu 1 et aussi une diminution de la quantité à 72 h cela indique soit un épuisement de substrat ou altérer la croissance par un effet potentiellement inhibiteur de certains composés présents dans le café, tels que la caféine, qui peuvent ralentir ou altérer le métabolisme levurien d'après l'étude de Ruta et Farcasanu, 2020.

D'autre part le sédiment dense confirme la précipitation, mais pas nécessairement une bonne qualité de biomasse.

- Milieu 3 – Avoine moulue : 641,4 µg/ml à 48 h et 707,4 µg/ml à 72 h.

Les résultats expliquent que L'avoine donne une production élevée selon les autres substrats, une Légère augmentation à 72 h, mais la production est déjà élevée à 48 h. Ils sont confirmés que l'avoine est riche en bêta-glucane, en protéines, en lipides insaturés et en antioxydant ce qui stimule la croissance microbienne (Angelov *et al.*, 2018).

➤ Comparaison des résultats

La présente étude a permis d'obtenir une concentration élevée de bêta-glucane de 707,4 µg/ml après 72 h de fermentation de *S. cerevisiae* dans un flacon de 200 ml contenant 120 ml de milieu de culture. Le milieu utilisé était composé d'avoine moulue, l'extrait de levure à 1 % et de glucose. La fermentation a été conduite à une température de 30 °C, sous agitation à 150 rpm, sans aération forcée ni régulation du pH. L'extraction du bêta-glucane a été réalisée avec NaOH 2M à 90 °C pendant 1 heure. Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus par Thontowi *et al.*, 2023 qui ont étudié la production de bêta-glucane par la même souche dans un fermenteur air-lift d'un volume de 2 L contenant 1900 ml de milieu de culture. Leur milieu de culture contenait du glucose comme substrat principal (, et différentes sources d'azote ont été testées, notamment la peptone à 2 % et l'extrait de levure 1%. La fermentation s'est déroulée pendant 84 h, à 30 °C, avec une aération continue (1,5 vvm) et un pH maintenu à 7. Dans ces conditions optimisées, la concentration maximale en bêta-glucane a atteint 933,33 µg/m.

Malgré la concentration en glucose similaire (2%) utilisée dans notre travail et celui utilisée par Thontowi *et al.*, 2007, notre rendement est resté inférieur, ce qui peut s'expliquer par plusieurs différences expérimentales peuvent l'expliquer, notamment :

- La durée de fermentation plus courte dans notre travail, qui est réduit la production de notre produit. Aussi la durée d'extraction qui peut être limiter la quantité extraite.

- L'absence de contrôle du pH, le manque d'aération, qui peut influencer la croissance et la production de bêta-glucane.

Cependant, nos résultats de milieu 3 montrent une production de bêta-glucane proche de celle rapporté par Thontowi *et al.*, 2023, ce qui encourageant compte tenu des conditions simples et de l'utilisation des substrats agro-industriels peu coûteux comme l'avoine. Cela ouvre la voie à une production plus accessible et durable de ce polysaccharide d'intérêt.

Conclusion

Conclusion

Cette étude sur la production de bêta-glucane par *Saccharomyces cerevisiae* a mis en évidence l'importance croissante de cette molécule dans divers domaines, notamment les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Malgré l'intérêt croissant pour ses applications, la production de bêta-glucane demeure peu développée en Algérie. Compte tenu de la facilité d'utilisation de *S. Cerevisiae* et de sa capacité à produire des bêta-glucanes structuraux de qualité, notre objectif a été d'identifier un substrat agroalimentaire peu coûteux permettant une production efficace, accessible et réalisable à l'échelle nationale.

Les résultats obtenus ont montré que l'avoine moulue constitue le substrat le plus favorable selon leur quantité produite (707,4 µg/ml), en raison de sa richesse nutritionnelle et de son effet positif sur la production de bêta-glucane. Les épluchures de pommes de terre ont également présenté une production intéressante (479,4 µg/ml), confirmant leur potentiel comme alternative valorisable dans un contexte de fermentation.

Cependant, certaines limites expérimentales ont été observées, notamment l'absence de contrôle du pH et de l'aération, qui peuvent influencer significativement la croissance de la levure et la synthèse de bêta-glucane. De plus, la durée de fermentation joue un rôle déterminant, la production maximale étant généralement atteinte en début de phase stationnaire.

Les résultats obtenus soulignent le potentiel de valorisation des résidus agroalimentaires pour une production durable et économique de bêta-glucane. Pour la suite de ce travail, il serait pertinent d'explorer plusieurs pistes d'amélioration. L'optimisation des conditions de fermentation (température, pH, durée, agitation) pourrait permettre d'augmenter encore le rendement en bêta-glucane. Il serait également intéressant d'étudier l'utilisation d'enzymes ou de traitements mécaniques pour améliorer l'extraction. Enfin, l'emploi de souches sélectionnées ou génétiquement modifiées de *S. cerevisiae* pourrait représenter une voie prometteuse pour une production plus efficace et ciblée.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Ahmad, A., & Kaleem, M. (2018). B-Glucan as a food ingredient. In *Biopolymers for food design*, 351e381.
- Ahmad, A., & Kaleem, M. (2018). B-Glucan as a food ingredient. In *Biopolymers for food design*, 351-381.
- Angelov, A., Yaneva-Marinova, T., & Gotcheva, V. (2018). Oats as a matrix of choice for developing fermented functional beverages. *Journal of food science and technology*, 55, 2351-2360.
- Anwar, M. I., Muhammad, F., Awais, M. M., & Akhtar, M. (2017). A review of β -glucans as a growth promoter and antibiotic alternative against enteric pathogens in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 73(3), 651-661.
- Auesukaree, C., Homma, T., Kaneko, Y., & Harashima, S. (2003). Transcriptional regulation of phosphate-responsive genes in low-affinity phosphate-transporter-defective mutants in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemical and biophysical research communications*, 306(4), 843-850.
- Baldassano, S., Accardi, G., & Vasto, S. (2017). Beta-glucans and cancer : The influence of inflammation and gut peptide. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 142, 486-492.
- Beauvais, A., Bruneau, J. M., Mol, P. C., Buitrago, M. J., Legrand, R., & Latge, J. (2001). Glucan synthase complex of *Aspergillus fumigatus*. *Journal of bacteriology*, 183(7), 2273-2279.
- Beauvais, A., Fontaine, T., Aimanianda, V., & Latgé, J. P. (2014). Aspergillus cell wall and biofilm. *Mycopathologia*, 178, 371-377.
- Belcarz, A., Ginalska, G., Pycka, T., Zima, A., Ślósarczyk, A., Polkowska, I., ... & Piekarczyk, W. (2013). Application of β -1, 3-glucan in production of ceramics-based elastic composite for bone repair. *Open Life Sciences*, 8(6), 534-548.
- Berdal, M., Appelbom, H. I., Eikrem, J. H., Lund, Å., Zyкова, S., Busund, L. T., ... & Jenssen, T. (2007). Aminated β -1, 3-d-glucan improves wound healing in diabetic db/db mice. *Wound Repair and Regeneration*, 15(6), 825-832.

- Bertram, P. G., Choi, J. H., Carvalho, J., Chan, T. F., Ai, W., & Zheng, X. S. (2002). Convergence of TOR-nitrogen and Snf1-glucose signaling pathways onto Gln3. *Molecular and cellular biology*, 22(4), 1246-1252.
- Berven, L., Skjeldal, F. M., Prydz, K., Zubaidi, L. M. K., Ballance, S., Johansen, H. T., & Samuelsen, A. B. C. (2015). Particulate yeast β -glucan is internalized by RAW 264.7 macrophages and reduces the activity of the tumor-associated protease legumain. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 6(1), 15-23.
- Beullens, M., Mbonyi, K., GEERTS, L., Gladines, D., Detremerie, K., Jans, A. W., & Thevelein, J. M. (1988). Studies on the mechanism of the glucose-induced cAMP signal in glycolysis and glucose repression mutants of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *European Journal of Biochemistry*, 172(1), 227-231.
- Bhanja, S. K., Rout, D., Patra, P., Sen, I. K., Nandan, C. K., & Islam, S. S. (2014). Water-insoluble glucans from the edible fungus *Ramaria botrytis*. *Bioactive carbohydrates and dietary Fibre*, 3(2), 52-58.
- Bohn, J. A., & BeMiller, J. N. (1995). (1 \rightarrow 3) - β -d-Glucans as biological response modifiers : a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate polymers*, 28(1), 3-14.
- Boy-Marcotte, E., Perrot, M., Bussereau, F., Boucherie, H., & Jacquet, M. (1998). Msn2p and Msn4p control a large number of genes induced at the diauxic transition which are repressed by cyclic AMP in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of bacteriology*, 180(5), 1044-1052.
- Brennan, M. A., Derbyshire, E., Tiwari, B. K., & Brennan, C. S. (2013). Integration of β -glucan fibre rich fractions from barley and mushrooms to form healthy extruded snacks. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68, 78-82.
- Budovskaya, Y. V., Stephan, J. S., Deminoff, S. J., & Herman, P. K. (2005). An evolutionary proteomics approach identifies substrates of the cAMP-dependent protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(39), 13933-13938.
- Castro, G. R., Andribet, E. P., Ducrey, L. M., Garro, O. A., & Siñeriz, F. (1995). Modelling and operation of a turbidity-meter for on-line monitoring of microbial growth in fermenters. *Process Biochemistry*, 30(8), 767-772.
- Catley, B. J. (1988). Isolation and analysis of cell walls. *Yeast a practical approach.*, 163-183.

- Cherry, J. M., Adler, C., Ball, C., Chervitz, S. A., Dwight, S. S., Hester, E. T., ... & Botstein, D. (1998). SGD : Saccharomyces genome database. *Nucleic acids research*, 26(1), 73-79.
- CHIBI, S., & Djamel, E. H. (2020). OPTIMISATION ET MODELISATION DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX SUR LA CROISSANCE DE "Saccharomyces cerevisiae" ISOLE SUR REBUT DE DATTE. *P-ISSN*, 10, 59-69.
- Chotigavin, N., Sriphochanart, W., Yaiyen, S., & Kudan, S. (2021). Increasing the production of β -glucan from *Saccharomyces carlsbergensis* RU01 by using tannic acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193, 2591-2601.
- Cleary, L. J., Andersson, R., & Brennan, C. S. (2007). The behaviour and susceptibility to degradation of high and low molecular weight barley β -glucan in wheat bread during baking and in vitro digestion. *Food chemistry*, 102(3), 889-897.
- Dhivya, C., Benny, I. S., Gunasekar, V., & Ponnusami, V. (2014). A review on development of fermentative production of curdlan, 6(5), 2769-2773.
- Drummond, R. A., & Brown, G. D. (2011). The role of Dectin-1 in the host defence against fungal infections. *Current opinion in microbiology*, 14(4), 392-399.
- Dujon, B. A., & Louis, E. J. (2017). Genome diversity and evolution in the budding yeasts (Saccharomycotina). *Genetics*, 206(2), 717-750.
- Dujon, B. A., & Louis, E. J. (2017). Genome diversity and evolution in the budding yeasts (Saccharomycotina). *Genetics*, 206(2), 717-750.
- Ekström, L. M., Bok, E. A. H., Sjöö, M. E., & Östman, E. M. (2017). Oat β -glucan containing bread increases the glycaemic profile. *Journal of Functional Foods*, 32, 106-111.
- Fleet, G. H. (1985). Composition and structure of yeast cell walls. *Current topics in medical mycology*, 24-56.
- Forsberg, H., & Ljungdahl, P. O. (2001). Sensors of extracellular nutrients in *Saccharomyces cerevisiae*. *Current genetics*, 40, 91-109.
- Frost, G., Sleeth, M. L., Sahuri-Arisoylu, M., Lizarbe, B., Cerdan, S., Brody, L., ... & Bell, J. D. (2014). The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nature communications*, 5(1), 3611.
- Gao, C., King, M. L., Fitzpatrick, Z. L., Wei, W., King, J. F., Wang, M., ... & Zheng, J. (2015). Prowashonupana barley dietary fibre reduces body fat and increases insulin sensitivity in *Caenorhabditis elegans* model. *Journal of functional foods*, 18, 564-574.

- Giuseppin, M. L., & van Riel, N. A. (2000). Metabolic modeling of *Saccharomyces cerevisiae* using the optimal control of homeostasis : acybernetic model definition. *Metabolic Engineering*, 2(1), 14-33.
- Godard, P., Urrestarazu, A., Vissers, S., Kontos, K., Bontempi, G., Van Helden, J., & André, B. (2007). Effect of 21 different nitrogen sources on global gene expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and cellular biology*, 27(8), 3065-3086.
- Gunness, P., Flanagan, B. M., Mata, J. P., Gilbert, E. P., & Gidley, M. J. (2016). Molecular interactions of a model bile salt and porcine bile with (1, 3 : 1, 4) - β -glucans and arabinoxylans probed by ^{13}C NMR and SAXS. *Food chemistry*, 197, 676-685.
- Han, F., Fan, H., Yao, M., Yang, S., & Han, J. (2017). Oral administration of yeast β -glucan ameliorates inflammation and intestinal barrier in dextran sodium sulfate-induced acute colitis. *Journal of Functional Foods*, 35, 115-126.
- Hartwell, L. H. (1974). *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle. *Bacteriological reviews*, 38(2), 164-198.
- Hedbacker, K., Hong, S. P., & Carlson, M. (2004). Pak1 protein kinase regulates activation and nuclear localization of Snf1-Gal83 protein kinase. *Molecular and cellular biology*, 24(18), 8255-8263.
- Henderson, C. M., & Block, D. E. (2014). Examining the role of membrane lipid composition in determining the ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and environmental microbiology*, 80(10), 2966-2972.
- Herskowitz, I. (1988). Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological reviews*, 52(4), 536-553.
- Hu, X., Xing, X., & Zhen, H. (2013). Enzyme deactivation treatments did not decrease the beneficial role of oat food in intestinal microbiota and short-chain fatty acids: an in vivo study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3), 504-508.
- Hunter, K., & Rose, A. H. (1972). Lipid composition of *Saccharomyces cerevisiae* as influenced by growth temperature. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 260(4), 639-653.
- Inouhe, M., Sugo, E., Tohoyama, H., Joho, M., & Nevins, D. J. (1997). Cell wall metabolism and autolytic activities of the yeast *Saccharomyces exiguum*. *International journal of biological macromolecules*, 21(1-2), 11-14.
- Kanlayavattanakul, M., & Lourith, N. (2008). Carboxymethylglucan in cosmetics. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 3, 378-382.

- Kanlayavattanakul, M., & Lourith, N. (2008). Carboxymethylglucan in cosmetics. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 3, 378-382.
- Kanlayavattanakul, M., & Lourith, N. (2009). Carboxymethylglucan in cosmetics. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal- วารสารไทยเกสชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ*, 3(3).
- Kao, P. F., Wang, S. H., Hung, W. T., Liao, Y. H., Lin, C. M., & Yang, W. B. (2012). Structural Characterization and Antioxidative Activity of Low-Molecular-Weights Beta-1, 3-Glucan from the Residue of Extracted Ganoderma lucidum Fruiting Bodies. *BioMed Research International*, 2012(1), 673764.
- Karathia, H., Vilaprinyo, E., Sorribas, A., & Alves, R. (2011). *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism: a comparative study. *PloS one*, 6(2), e16015.
- Karslıoğlu, F., Ertunç, S., Hitit, Z. Y., & Akay, B. (2021). Investigation of extraction method effect on yeast beta glucan production. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4(2), 51-55.
- Kaur, R., Sharma, M., Ji, D., Xu, M., & Agyei, D. (2019). Structural features, modification, and functionalities of Beta-Glucan. *Fibers*, 8(1), 1e29.
- Kaur, R., Sharma, M., Ji, D., Xu, M., & Agyei, D. (2019). Structural features, modification, and functionalities of beta-glucan. *Fibers*, 8(1), 1.
- Ketkeaw, R., Oungbho, K., & Wititsuwannakul, R. (2012). The b-glucan from Hevea brasiliensis latex and its possible application in anti-aging cosmeceuticals. In *38th Congress on science and technology of Thailand*, 1, 23-25.
- Kim, K. S., & Yun, H. S. (2006). Production of soluble β -glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(3), 496-500.
- Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K., & Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS microbiology reviews*, 26(3), 239-256.
- Kumari, M., Survase, S. A., & Singhal, R. S. (2008). Production of schizophyllan using *Schizophyllum commune* NRCCM. *Bioresource technology*, 99(5), 1036-1043.
- Lee, S., & Inglett, G. E. (2006). Rheological and physical evaluation of jet-cooked oat bran in low calorie cookies. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(5), 553-559.
- LEGRAS, J. L., Merdinoglu, D., CORNUET, J. M., & Karst, F. (2007). Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history. *Molecular ecology*, 16(10), 2091-2102.

- Lin, L., Wang, Y., Wang, F. X., He, J. Y., & Zhang, H. L. (2014). Determination of polysaccharides content of Gentiana farreri from different producing areas based on anthrone-sulfuric acid method. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 39(14), 2774-2776.
- Liu, R., Wang, N., Li, Q., & Zhang, M. (2015). Comparative studies on physicochemical properties of raw and hydrolyzed oat β -glucan and their application in low-fat meatballs. *Food Hydrocolloids*, 51, 424-431.
- Mackie, A., Bajka, B., & Rigby, N. (2016). Roles for dietary fibre in the upper GI tract : The importance of viscosity. *Food Research International*, 88, 234-238.
- Magasanik, B., & Kaiser, C. A. (2002). Nitrogen regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 290(1-2), 1-18.
- Manners, D. J., Masson, A. J., & Patterson, J. C. (1973). The structure of a β -(1→ 3) -D-glucan from yeast cell walls. *Biochemical Journal*, 135(1), 19-30.
- Maxwell, O. I., Chinwuba, U. B., & Onyebuchukwu, M. G. (2018). Protein enrichment of potato peels using *Saccharomyces cerevisiae* via solid-state fermentation process. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 9(1), 99-108.
- McMurrough, I., & Rose, A. H. (1967). Effect of growth rate and substrate limitation on the composition and structure of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemical Journal*, 105(1), 189-203.
- Mejía, S. M. V., de Francisco, A., & Bohrer, B. (2020). A comprehensive review on cereal β -glucan: Extraction, characterization, causes of degradation, and food application. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(21), 3693-3704.
- MICROPTIQUE. Observation de levures au microscope [en ligne]. (page consultée le 14/06/2025).<https://microptique.com/blogs/articles-microscopes/observation-de-levures-au-microscope>

- Mikkelsen, M. S., Jespersen, B. M., Møller, B. L., Lærke, H. N., Larsen, F. H., & Engelsen, S. B. (2010). Comparative spectroscopic and rheological studies on crude and purified soluble barley and oat β -glucan preparations. *Food Research International*, 43(10), 2417-2424.
- Mo, L., Chen, Y., Li, W., Guo, S., Wang, X., An, H., & Zhan, Y. (2017). Anti-tumor effects of (1 \rightarrow 3) - β -d-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* in S180 tumor-bearing mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 385-392.
- Montoya, L. N. F., Martins, T. P., Gimbo, R. Y., Zanuzzo, F. S., & Urbinati, E. C. (2017). B-Glucan-induced cortisol levels improve the early immune response in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Fish & shellfish immunology*, 60, 197-204.
- Nguyen, T. H., Fleet, G. H., & Rogers, P. L. (1998). Composition of the cell walls of several yeast species. *Applied microbiology and biotechnology*, 50, 206-212.
- Onyema, V. O., Amadi, O. C., Moneke, A. N., & Agu, R. C. (2023). A Brief Review: *Saccharomyces cerevisiae* biodiversity potential and promising cell factories for exploitation in biotechnology and industry processes—West African Natural yeasts contribution. *Food Chemistry Advances*, 2, 100162.
- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A. S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS microbiology*, 6(1), 1.
- Pedruzzi, I., Dubouloz, F., Cameroni, E., Wanke, V., Roosen, J., Winderickx, J., & De Virgilio, C. (2003). TOR and PKA signaling pathways converge on the protein kinase Rim15 to control entry into G0. *Molecular cell*, 12(6), 1607-1613.
- Peeters, T., Louwet, W., Geladé, R., Nauwelaers, D., Thevelein, J. M., & Verstele, M. (2006). Kelch-repeat proteins interacting with the G α protein Gpa2 bypass adenylylate cyclase for direct regulation of protein kinase A in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(35), 13034-13039.
- Pertanika J. Trop. Agric. Sci, 40 (2) : 295 – 304.
- Pillai, R., Redmond, M., & Röding, J. (2005). Anti-wrinkle therapy : Significant new findings in the non-invasive cosmetic treatment of skin wrinkles with beta-glucan. *International journal of cosmetic science*, 27(5), 292-292.
- Robbins, E. A., & Seeley, R. D. (1977). Cholesterol lowering effect of dietary yeast and yeast fractions. *Journal of Food Science*, 42(3), 694-698.
- Ruta, L. L., & Farcasanu, I. C. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and caffeine implications on the eukaryotic cell. *Nutrients*, 12(8), 2440.

- Salomonsen, T., Jensen, H. M., Stenbæk, D., & Engelsen, S. B. (2008). Chemometric prediction of alginate monomer composition: A comparative spectroscopic study using IR, Raman, NIR and NMR. *Carbohydrate Polymers*, 72(4), 730-739.
- Shalaby, M. E. S., & El-Nady, M. F. (2008). Application of *Saccharomyces cerevisiae* as a biocontrol agent against *Fusarium* infection of sugar beet plants. *Acta Biologica Szegediensis*, 52(2), 271-275.
- Shimoi, H., Kitagaki, H., Ohmori, H., Iimura, Y., & Ito, K. (1998). Sed1p is a major cell wall protein of *Saccharomyces cerevisiae* in the stationary phase and is involved in lytic enzyme resistance. *Journal of bacteriology*, 180(13), 3381-3387.
- Siwicki, A. K., Kazuń, K., Głabski, E., Terech-Majewska, E., Baranowski, P., & Trapkowska, S. (2004). The effect of beta-1.3/1.6-glucan in diets on the effectiveness of anti-*Yersinia ruckeri* vaccine—an experimental study in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Polish Journal Of Food And Nutrition Science*, 59–61.
- Smekens, S. P., Gresnigt, M. S., Becker, K. L., Cheng, S. C., Netea, S. A., Jacobs, L., ... & Netea, M. G. (2015). An anti-inflammatory property of *Candida albicans* β -glucan: Induction of high levels of interleukin-1 receptor antagonist via a Dectin-1/CR3 independent mechanism. *Cytokine*, 71(2), 215-222.
- Smith, A. E., Zhang, Z., Thomas, C. R., Moxham, K. E., & Middelberg, A. P. (2000). The mechanical properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(18), 9871-9874.
- Song, P., Zhang, L. L., & Yu, J. (2008). Study on barley β -glucan nutrition function and its extraction technological. *Food Nutr. China*, 8, 28-30.
- Suphantharika, M., Khunrae, P., Thanardkit, P., & Verduyn, C. (2003). Preparation of spent brewer's yeast β -glucans with a potential application as an immunostimulant for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Bioresource Technology*, 88(1), 55-60.
- Suphantharika, M., Khunrae, P., Thanardkit, P., & Verduyn, C. (2003). Preparation of spent brewer's yeast β -glucans with a potential application as an immunostimulant for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Bioresource Technology*, 88(1), 55-60.
- Synotsya, A., & Novák, M. (2013). Structural diversity of fungal glucans. *Carbohydrate polymers*, 92(1), 792-809.
- Tamura, K., Hemsworth, G. R., Déjean, G., Rogers, T. E., Pudlo, N. A., Urs, K., ... & Brumer, H. (2017). Molecular mechanism by which prominent human gut bacteroidetes

- utilize mixed-linkage beta-glucans, major health-promoting cereal polysaccharides. *Cell reports*, 21(2), 417-430.
- THONTOWI, A., KUSMIATI, K., & NUSWANTARA, S. (2007). β -Glucan production of *Saccharomyces cerevisiae* in medium with different nitrogen sources in air-lift fermentor. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 8(4).
 - Tungland, B. C., & Meyer, D. (2002). Nondigestible oligo-and polysaccharides (Dietary Fiber) : their physiology and role in human health and food. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 1(3), 90-109.
 - Upadhyay, T. K., Trivedi, R., Khan, F., Al-Keridis, L. A., Pandey, P., Sharangi, A. B., ... & Saeed, M. (2022). In vitro elucidation of antioxidant, antiproliferative, and apoptotic potential of yeast-derived β -1, 3-glucan particles against cervical cancer cells. *Frontiers in Oncology*, 12, 942075.
 - Utama, G. L., Dio, C., Sulistiyo, J., Chye, F. Y., Lembong, E., Cahyana, Y., ... & Singh, S. (2021). Evaluating comparative β -glucan production aptitude of *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*, *Xanthomonas campestris*, and *Bacillus natto*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 6765-6773.
 - Van Der Rest, M. E., Kamminga, A. H., Nakano, A., Anraku, Y., Poolman, B., & Konings, W. N. (1995). The plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae* : structure, function, and biogenesis. *Microbiological reviews*, 59(2), 304-322.
 - Vaughan-Martini, A., & Martini, A. (1993). A taxonomic key for the genus *Saccharomyces*. *Systematic and Applied Microbiology*, 16(1), 113-119.
 - Vetvicka, V., Dvorak, B., Vetvickova, J., Richter, J., Krizan, J., Sima, P., & Yvin, J. C. (2007). Orally administered marine (1→ 3) - β -d-glucan Phycarine stimulates both humoral and cellular immunity. *International Journal of biological macromolecules*, 40(4), 291-298.
 - Wang, M., Zhang, L., Yang, R., Fei, C., Wang, X., Zhang, K., ... & Xue, F. (2016). Improvement of immune responses to influenza vaccine (H5N1) by sulfated yeast beta-glucan. *International journal of biological macromolecules*, 93, 203-207.
 - Westphal, K. R., Heidelbach, S., Zeuner, E. J., Riisgaard-Jensen, M., Nielsen, M. E., Vestergaard, S. Z., ... & Sondergaard, T. E. (2021). The effects of different potato dextrose agar media on secondary metabolite production in *Fusarium*. *International Journal of Food Microbiology*, 347, 109171.

- Wloch-Salamon, D. M., Fisher, R. M., & Regenberg, B. (2017). Division of labour in the yeast: *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 34(10), 399-406.
- Wongjirathiti, A., & Yottakot, S. (2017). Utilisation of local crops as alternative media for fungal growth, 40(2), 295-304.
- Xiu, A., Zhan, Y., Zhou, M., Zhu, B., Wang, S., Jia, A., ... & Zhang, J. (2011). Results of a 90-day safety assessment study in mice fed a glucan produced by Agrobacterium sp. ZX09. *Food and chemical toxicology*, 49(9), 2377-2384.
- Yamada, E. A., & Sgarbieri, V. C. (2005). Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition, and nutritional and functional properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 3931-3936.
- York, W. S. (1995). A conformational model for cyclic β -(1→ 2) -linked glucans based on NMR analysis of the β -glucans produced by *Xanthomonas campestris*. *Carbohydrate research*, 278(2), 205-225.
- Zheng, X., Zou, S., Xu, H., Liu, Q., Song, J., Xu, M., ... & Zhang, L. (2016). The linear structure of β -glucan from baker's yeast and its activation of macrophage-like RAW264. 7 cells. *Carbohydrate Polymers*, 148, 61-68.
- Zhu, F., Du, B., Bian, Z., & Xu, B. (2015). Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 165-173.

Année universitaire : 2024-2025

Présenté par : TALBI Malak
BENDAIKHA Maroua

*La production de bêta-glucane par *Saccharomyces cerevisiae**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Le bêta-glucane est un polysaccharide naturel reconnu pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine, notamment ses propriétés immunostimulantes, antioxydantes, hypcholestérolémiantes et antidiabétiques. Ce composé est principalement extrait de la paroi cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae*, une levure largement utilisée en biotechnologie. Dans ce travail, nous avons étudié la production de bêta-glucane à partir de cette levure en utilisant trois substrats agroalimentaires peu coûteux : l'avoine moulue, les épluchures de pommes de terre et les résidus de café. La fermentation a été réalisée en deux temps (48 h et 72 h) dans un milieu liquide en conditions discontinues. Le bêta-glucane a été extrait par extraction alcaline et dosé par la méthode au réactif d'anthrone. Les résultats ont montré que l'avoine moulue permettait la production la plus élevée à 72 h (707.4 µg/ml), suivie des épluchures de pommes de terre (479.4 µg/ml), alors que les résidus de café ont donné la plus faible concentration (151.4 µg/ml). Ce travail met en valeur l'intérêt d'utiliser des résidus agroalimentaires pour produire à faible coût des composés bioactifs comme le bêta-glucane. Des perspectives futures pourraient explorer l'optimisation des paramètres de culture ou l'amélioration des souches utilisées.

Mots-clefs : *Saccharomyces cerevisiae*, bêta-glucane, fermentation, substrats agroalimentaires, extraction alcaline, anthrone.

Laboratoires de recherche : Laboratoire pédagogique de la Microbiologie (Lab. 9) de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à U Constantine 1 Frères Mentouri et Laboratoire Parasitologie d'hôpital Pédiatrie El Mansoura.

Président du jury : Dr. BOULAHROF Khaled (MC(A) - U Constantine1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr MEZIANI Meriem (MC(A) - U Constantine1 Frères Mentouri).

Examinateur : Dr. DERABLI Besma (MA(B) - U Constantine1 Frères Mentouri).

