

Évaluation des propriétés biotechnologiques des souches sauvages de *Saccharomyces cerevisiae* isolées des boissons traditionnelles fermentées produites en Côte d'Ivoire pour une potentielle utilisation dans la production de bioéthanol

Youan charles TRA BI^{1,2*}, Ange Christine DJOHORE¹,
Wahauwouélé Hermann COULIBALY², Kouadio Florent N'GUESSAN² et Boko AKA¹

¹ Université NANGUI ABROGOUA, Institut de Recherche sur les Energies Nouvelles (IREN),
02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

² Université NANGUI ABROGOUA, Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Technologie des Aliments (UFR-STA), Laboratoire de Biotechnologie et Microbiologie des Aliments, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

(Reçu le 26 Août 2023 ; Accepté le 05 Octobre 2023)

* Correspondance, courriel : charlestrabiyouan@yahoo.fr

Résumé

Les aliments traditionnels fermentés ivoiriens constituent une importante réserve génétique de souches sauvages de *Saccharomyces cerevisiae*. Cependant leur exploitation dans la production de bioéthanol au niveau industriel est limitée. L'objectif de cette étude est de montrer que les souches sauvages de *Saccharomyces cerevisiae* isolées des boissons traditionnelles produites en Côte d'Ivoire peuvent être utilisées pour la production de bioéthanol. Pour ce faire, 30 souches sauvages de *S. cerevisiae* ont d'abord été isolées de trois boissons traditionnelles, produites en Côte d'Ivoire (la bière de shorgo et les vins de rafia et de palmier à huile). Ensuite elles ont été soumises à des analyses de potentialités biotechnologiques à travers l'étude des propriétés physiologiques notamment la croissance à haute température, la résistance à l'éthanol, la fermentation des sucres d'intérêt biotechnologique et la production d'éthanol à partir d'un substrat. Les résultats ont montré que les souches testées peuvent se développer à des températures relativement élevées allant de 30 à 44°C. En outre la plus forte teneur en éthanol de $3,25 \pm 0,11$ % a été produite par la souche thermotolérante YOP I / 1-1 après 24 H de fermentation à 30°C. Ainsi les souches de *Saccharomyces cerevisiae* de cette étude possèdent des propriétés biotechnologiques prometteuses pour être utilisées dans la production de bioéthanol. Leurs activités fermentaires, leur tolérance à l'alcool, leur capacité à fermenter les différents types de sucre, ainsi que leur viabilité et leur stabilité génétique, en font de bons candidats pour des applications industrielles.

Mots-clés : *boissons traditionnelles fermentées, Saccharomyces cerevisiae, propriétés biotechnologiques, bioéthanol.*

Abstract

Evaluation of the biotechnological properties of wild strains of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from traditional fermented beverages produced in Côte d'Ivoire for potential use in bioethanol production

Traditional Ivorian fermented foods constitute an important genetic reserve of wild strains of *Saccharomyces cerevisiae*. However, their exploitation in the production of bioethanol at the industrial level is limited. The objective of this study is to show that wild strains of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from traditional fermented drinks produced in Côte d'Ivoire can be used for the production of bioethanol. 30 wild strains of *S. cerevisiae* were first isolated from three traditional drinks produced in Côte d'Ivoire (shorgo beer and raffia and oil palm wines). Then they were subjected to analyzes of biotechnological potentialities through the study of physiological properties in particular growth at high temperature, resistance to ethanol, fermentation of sugars of biotechnological interest and the production of ethanol from a substrate. The results showed that the strains tested can grow at relatively high temperatures ranging from 30 to 44°C. In addition, the highest ethanol content of 3.25 ± 0.11 % was produced by the thermotolerant strain YOP I/1-1 after 24 hours of fermentation at 30°C. Thus, the *Saccharomyces cerevisiae* strains in this study have promising biotechnological properties for use in the production of bioethanol. Their fermentation activities, their tolerance to alcohol, their ability to ferment different types of sugar, as well as their viability and genetic stability, make them good candidates for industrial applications.

Keywords : *traditional fermented beverages; Saccharomyces cerevisiae; biotechnological properties, bioethanol.*

1. Introduction

Le bioéthanol est un biocarburant attrayant ayant un potentiel de sécurité énergétique et de sécurité environnementale par rapport aux combustibles fossiles. Il est obtenu par un processus se déroulant en plusieurs étapes et mettant en œuvre un procédé de biologie industrielle appelé la fermentation. En général la fermentation est effectuée par une variété de microorganismes tels que les champignons, les bactéries et les levures pour transformer le sucre tiré des végétaux (betterave, blé, maïs, sorgho) en alcool. Cet alcool brut (éthanol) est ensuite distillé puis déshydraté pour obtenir du bioéthanol, c'est à dire de l'alcool pur à plus de 99 %. Parmi ces microorganismes, *Saccharomyces cerevisiae* est la levure la plus utilisée pour la production de bioéthanol au niveau industriel. Cette levure s'est avérée plus efficace que les bactéries en raison de sa bonne capacité de fermentation et de sa capacité à tolérer des concentrations élevées d'éthanol, et des sous-produits formés lors du prétraitement et de la fermentation. En effet, *S. cerevisiae* est capable de fermenter différents types de sucres (le glucose, le fructose et le saccharose) en éthanol via la voie de la glycolyse dans des conditions anaérobies et à des températures optimales de croissance de 25 à 35 C [1, 2]. Malgré ces atouts biotechnologiques, le stress thermique ainsi que d'autres stress tels que l'éthanol qui sont générés pendant la fermentation, affectent considérablement la production d'éthanol et diminuent le taux de croissance des souches de *S. cerevisiae* [3, 4]. De plus, *S. cerevisiae* ne peut que fermenter les hexoses mais pas les pentoses [5]. Or, dans la production de bioéthanol, les défauts biotechnologiques tels que la concentration élevée en éthanol, la température élevée et l'incapacité à fermenter les sucres pentoses, doivent être surmonter pour augmenter la capacité productive des souches de *S. cerevisiae* afin de parvenir à une production plus efficace de bioéthanol, produit respectueux de l'environnement. Aussi, différentes approches ont-elles été utilisées pour surmonter ces barrières biotechnologiques pendant le processus de production du bioéthanol. Par exemple, pour surmonter les contraintes liées à l'éthanol, différentes stratégies comme les paramètres de fonctionnement et le niveau d'oxygène ont été développées afin d'améliorer la

production et la viabilité de *S. cerevisiae* à l'éthanol [6]. D'autres études se sont intéressées à une alimentation exponentielle en vitamines [7] et en acides aminés comme l'isoleucine, la méthionine, la phénylalanine et la proline qui ont un effet protecteur [8 - 10]. Le magnésium et l'ammonium qui ont un rôle dans la protection des cellules ont également fait l'objet de plusieurs utilisations pour contrer l'effet inhibiteur de l'éthanol [11, 12]. La technologie de brassage du génome a été aussi utilisée pour générer des populations sexuées et asexuées de *S. cerevisiae* résistantes aux fermentations à très haute gravité, à des températures élevées et à des concentrations élevées de glucose [13]. Ensuite, pour résoudre les problèmes de la fermentation des pentoses, des hybrides, génétiquement modifiés ou co-culture de deux souches de levure ont été utilisées. Une souche hybride a été développée en fusionnant des protoplastes de *S. cerevisiae* et des levures fermentant le xylose comme *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae* et *Pichia stipitis* et ces souches de levure hybrides ont été utilisées simultanément pour fermenter les sucres pentose et hexose en éthanol [14]. Devant le coût extrêmement élevé de ces techniques d'optimisation des souches de levure pour la production d'éthanol, l'isolement de nouvelles souches environnementales de *S. cerevisiae* des niches naturelles présentant des caractéristiques telles que la tolérance à l'éthanol, la thermotolérance et autres caractéristiques, est nécessaire afin d'augmenter leur rendement dans l'industrie de l'éthanol [15]. Par ailleurs, parmi les niches naturelles, les aliments traditionnels fermentés ivoiriens constituent une importante réserve génétique de souches sauvages de *S. cerevisiae* qui pourrait d'être explorée. L'exploration des boissons traditionnelles fermentées ivoiriennes, à la recherche des souches de *S. cerevisiae* avec un bon rendement de production en éthanol dans des milieux de fermentation stressés est donc nécessaire.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel biologique

Les souches de *Saccharomyces cerevisiae* utilisées dans cette étude sont énumérées dans le **Tableau 1**. Elles ont été isolées à partir de trois niches naturelles : la bière de sorgho, les vins de palmier à huile et de raphia. Ces souches appartiennent à la collection de souches du Laboratoire de Biotechnologie et de Microbiologie des Aliments de l'Université NANGUI ABROGOUA (Abidjan, Côte d'Ivoire). Elles ont été identifiées par la PCR-RFLP NTS2 et le séquençage de la région D1/D2 [16] et leurs groupes génotypiques ont été déterminés sur la base de l'analyse des microsatellites [17]. Les souches de levure ont été maintenues à 20 °C dans 20 % de glycérol. Les souches CLIB 154 et 2576 S (CIRM- levure, France) ont été utilisées comme souches de références.

Tableau 1 : Souches de *Saccharomyces cerevisiae* utilisées dans cette étude

Code des souches	Niches écologiques	Zones d'échantillonnage	Groupes génotypiques
AR1-7	Vin de raphia	Alépé	IV
AR2-10	Vin de raphia	Alépé	II
AR3-1	Vin de raphia	Alépé	II
AR3-7	Vin de raphia	Alépé	III
AR3-14	Vin de raphia	Alépé	III
GR1-4	Vin de raphia	Grand-Lahou	III
GR2-3	Vin de raphia	Grand-Lahou	I
AdzR/B2	Vin de raphia	Grand-Lahou	I
AbengR/PI-3	Vin de raphia	Grand-Lahou	I
AbengR/PII-5	Vin de raphia	Grand-Lahou	I
AbengR/PIV-10	Vin de raphia	Grand-Lahou	V
PG1-1	Vin de palmier à huile	Grand-Lahou	I

PG1-4	Vin de palmier à huile	Grand-Lahou	I
PG1-10	Vin de palmier à huile	Grand-Lahou	I
PA2-4	Vin de palmier à huile	Alépé	II
PA2-7	Vin de palmier à huile	Alépé	IV
Attgé PIII/Vp8	Vin de palmier à huile	Attinguie	III
Attgé PIII/Vp9	Vin de palmier à huile	Attinguie	IV
Attgé PIV/Vp2	Vin de palmier à huile	Attinguie	II
Binger PI/Vp9	Vin de palmier à huile	Bingerville	II
Bon Vp/A4	Vin de palmier à huile	Bonoua	III
Bon Vp/A8	Vin de palmier à huile	Bonoua	III
Bon Vp/B7	Vin de palmier à huile	Bonoua	IV
AbII/2-2	Bière de sorgho	Abidjan (Abobo)	V
AbI /2-6	Bière de sorgho	Abidjan (Abobo)	V
TPA/2-8	Bière de sorgho	Abidjan (Adjamé)	V
TLM/1-10	Bière de sorgho	Abidjan (Adjamé)	V
TLM/2 - 1	Bière de sorgho	Abidjan (Adjamé)	V
YOPI/1-1	Bière de sorgho	Abidjan (Yopougon)	V
YOPI/2-2	Bière de sorgho	Abidjan (Yopougon)	V
CLIB 154	CIRM-Levure	Souche de référence	ND
2576 S	CIRM-Levure	Souche de référence	ND

2-2. Méthodes

2-2-1. Test de croissance à différentes températures

Afin de mettre en évidence l'effet du stress thermique, les tests de croissance des souches à différentes températures (30, 35, 37, 40 et 45 °C) ont été réalisés sur de la gélose YPD coulée en pente dans des tubes à vis. L'ensemencement a été réalisé par stries sur la pente de ladite gélose. Les tubes ont été mis à l'incubation dans un bain-marie de type bioblock scientifique polystat 86602. La croissance des colonies sur la pente de la gélose a été observée et analysée après 72 h d'incubation à la température testée. Toutes les expériences ont été répétées deux fois.

2-2-2. Tests de résistance à l'éthanol

Les tests de résistance des souches à l'éthanol ont été adaptés à la méthode de [18]. Les souches ont d'abord été ensemencées dans 10 mL de bouillon YPD (10 g/L d'extrait de levure, 20 g/L de bactopeptone et 20 g/L de D-glucose) pour une pré-culture. Après 24 h d'incubation à 30 °C, 1 mL de cette pré-culture de densité 1,5 DO₆₀₀ nm, a été utilisé pour ensemencer les tubes contenant les bouillons YPD préalablement supplémentés d'éthanol à des taux respectifs de 0 %, 5 %, 10 % ou 15 % (v/v). Après incubation à 30 °C pendant 24 h, les cellules survivantes ont été dénombrées par ensemencement sur gélose YPD (dilutions 10⁻³ à 10⁻⁷) pendant 48-72 h à 30 °C. Les expériences ont été répétées deux fois. Le taux de viabilité exprimé en pourcentage a été calculé selon la **Formule** suivante :

$$\text{Taux de viabilité} = \frac{N1}{N2} \times 10 \quad (1)$$

N1 : nombre de colonies obtenues sur la gélose YPD à partir du bouillon YPD additionné d'éthanol (5 %, 10 % ou 15 %); *N2* : nombre de colonies obtenues sur la gélose YPD à partir du bouillon YPD exempt d'éthanol (0 %).

2-2-3. Test de fermentation des hydrates de carbone

Les tests de fermentation des sucres ont été réalisés selon la méthode décrite par [19]. Les tests ont été réalisés avec 11 sucres (Sigma-Aldrich, France) dont trois hexoses (D-glucose, D-galactose et D-fructose), sept disaccharides (maltose, saccharose, lactose, tréhalose, mélibiose, cellobiose et mélézitose) et un trisaccharide (raffinose). Les tests ont été réalisés avec 6 ml de bouillon d'extrait de levure (5 g/L) additionné de 1,5 ml de chaque hydrate de carbone. Tous les hydrates de carbone ont été préparés à une concentration de 10 g/L (sauf le raffinose qui était à 20 g/L) et stérilisés à travers un filtre de 0,22 μm . Les tubes de Durham ont également été placés dans le milieu pour piéger le dioxyde de carbone dégagé après fermentation du sucre. Les milieux ont été inoculés avec 90 μL de suspension de levure à 2 McFarland (environ 5×10^7 cellules par mL) et laissés à température ambiante pendant 4 semaines. Des lectures ont été effectuées chaque semaine pour déterminer le degré de fermentation des sucres par la quantification du niveau de gaz (CO_2) dégagé dans la cloche de Durham.

2-2-4. Fermentations au laboratoire et analyses chimiques

Un moût sucré de sorgho obtenu auprès d'une brasserie de bière de sorgho à Williamsville-Macaci (Abidjan, sud de la Côte d'Ivoire) a été utilisé pour évaluer la capacité de production d'éthanol par les souches. Pour ce faire, sur les 30 souches de *Saccharomyces cerevisiae* précédemment analysées, dix (10 par groupe phylogénétique) ont été choisies pour inoculer le moût sucré de sorgho. Pour la conduite de la fermentation, douze erlenmeyers de 200 mL contenant 90 mL de moût de sorgho sucré et stérilisé à 100 °C pendant 20 minutes, ont été préparés (dix pour les souches à tester, un pour la souche témoin et un pour le moût non fermenté, c'est-à-dire le blanc). Chaque échantillon a été inoculé à 10 % (v/v) avec une pré-culture cultivée pendant 24 h à 30 °C dans du bouillon YPD (densité optique à 600 nm = 1,5). Les fermentations se sont déroulées pendant 10 h à 35 °C, dans une étuve à agitateur magnétique de type Shaking incubatorv (BIOBASE Biodustry, Chine). Les erlenmeyers ont été bouchés avec du coton cadré afin d'éviter les contaminations. À la fin de l'incubation, les échantillons ont été prélevés pour l'analyse du pH, de l'acidité titrable, de la teneur en sucre total soluble, de la charge en levures et de l'éthanol, comme indiqué par [20]. L'expérience a été répétée deux fois de façon indépendante.

2-2-5. Analyse statistique

Les tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R 3.1.3. Les analyses de variance à un facteur (ANOVA) et les tests de Tukey HSD (Honestly Significant Difference) ont permis de comparer les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des moûts de sorgho fermentés obtenus avec les souches sélectionnées. Les différences ont été considérées comme significatives pour des valeurs de $P < 0,05$. Une Analyse en Composantes Principales (ACP) suivie d'une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH), ont été effectuées pour classifier les moûts fermentés produits avec les souches sélectionnées. Pour la Classification Ascendante Hiérarchique, le critère de Ward a été retenu avec 80 % d'homologie.

3. Résultats

3-1. Propriétés biotechnologiques des souches de *Saccharomyces cerevisiae*

3-1-1. Profils thermiques

La croissance des souches de *S. cerevisiae* à des températures de 30, 35, 37, 40 et 44 °C et les profils thermiques déduits sont consignés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Profils thermiques de souches de *Saccharomyces cerevisiae* isolées des boissons

Profils thermiques	30°C	35°C	37°C	40°C	44°C	Groupes génotypiques	Souches	
PTi	+	+	+	+/-	-	I	AbengR/PII-5 ; PG1-4 ; PG1-10 ; Adz/R B2	13
						II	AR3-1 ; AR2-10 ; Binger PI/Vp9; Attgié PIV/Vp2	
						III	GR1-4 ; AR3-7 ; AR3-14	
						IV	BonVP/B7	
						V	Abeng R PIV/Vp10	
PTii	+	+	+	+	-	I	GR2-3 ; AbengR/PI-3; PG1-1;	14
						II	PA2-4	
						III	Attgié PIII/Vp8 ; Bon Vp/A8 ; Bon Vp/A4	
						IV	AR1-7 ; PA2-7	
						V	Abl/2-6 ; TPA2/2-8 ; TLM/2-1 ; AblI/2-2 ; TLM/1-10	
PTiii	+	+	+	+	+/-	V	YOPI/2-2	1
PTiv	+	+	+	+	+	IV	Attgié PIII/Vp9	2
						V	YOPI/1-1	

Selon leur croissance ou non aux températures indiquées, quatre profils thermiques (PTi à PTiv) ont été déduits. La différence entre les souches sélectionnées réside au niveau de leur croissance aux températures de 40°C et 44°C. Ainsi, 13 souches, soit 43,3 % des souches sélectionnées ont poussé faiblement à la température de 40°C mais pas à 44°C. À ces souches, a été attribué le profil thermique PTi. Les souches de profil PTii ont été celles qui ont poussé normalement à la température de 40°C, mais pas à 44°C. Pour ce profil thermique, 14 souches représentant 46,6 % des souches sélectionnées ont été détectées. Les souches de ces deux profils thermiques ont été observées dans chaque groupe phylogénétique. Parmi les souches de *S. cerevisiae* sélectionnées, trois ont poussé aux températures de 40°C et 44°C. Ces souches ont été réparties entre deux profils thermiques : PTiii et PTiv. Le profil PTiii est représenté par la souche YOPI/2-2 qui a poussé normalement à la température de 40°C et faiblement à 44°C. Cette souche est du groupe phylogénétique V et provenait de la bière de sorgho. Le profil PTiv est représenté par les souches Attgié PIII/Vp9 du groupe phylogénétique IV et YOPI/1-1 du groupe phylogénétique V. Ce profil est de type thermophile et les souches poussaient normalement à 40°C et à 44°C.

3-1-2. Profils fermentaires

Les résultats de la capacité de fermentaire des souches de *S. cerevisiae* sélectionnées sont présentés dans le tableau 3. L'analyse du tableau a révélé l'existence de 13 profils fermentaires dont un typique (PFI) et 12 atypiques. Aucune des souches analysées n'a fermenté le mélibiose, le lactose, le cellobiose et le mélézitose. Les souches de profil typique comprenant deux souches du groupe III (AR3-14 et Attgié PIII/Vp8) et deux du groupe V (AblI/2-2 et TLM1/1-10) ont fermenté le glucose, le galactose, le fructose, le saccharose, le maltose, le Tréhalose et le raffinose.

Tableau 3 : *Profils fermentaires des souches de Saccharomyces cerevisiae isolées des boissons*

Profils fermentaires	Souches et groupes génotypiques	Glu	Gal	Fru	Mal	Sac	Tré	Raf	Profile frequency (%)
PF i	AR3-14 (III) ; Attgé PIII/Vp8(III) ; AbII/2-2 (V) ; TLM/1-10 (V) ; CLIB 154	+	+	+	+	+	+	+	16.13
PF ii	GR2-3(I); AR3-1(II) ; PA2-7(IV)	+	+	+	+	+	+	-	09.68
PF iii	Binger P1/Vp9 (II) ; Attgé PIV/Vp2 (II) ; BonVp/A4 (III) ; BonVp /A8 (III) ; YOPI/1-1(V)	+	+	+	+	+	-	+	16.13
PF iv	AbengR/PI-3 (I), PG1-4 (I); Attgé PIII/Vp9 (IV); PG1-1 (I)	+	+	+	+	+	-	-	12.90
PF v	YOPI/2-2 (V)	+	+	+	+	-	+	-	03.23
PF vi	AR2-10 (II)	+	+	+	+	-	-	-	03.23
PF vii	AR1-7 (IV)	+	+	-	+	+	-	-	03.23
PF viii	BonVP/B7 (IV)	+	+	+	-	+	+	-	03.23
PF ix	PA2-4 (II) ; AbengR/PIV-10 (V)	+	-	+	-	+	-	-	06.45
PF x	AbengR/PII-5 (I) PG1-10 (I), AR3-7 (III)	+	-	+	-	+	+	+	09.68
PF xi	GR1-4 (III) ; TLM2-1(V) ; TPA/2-8 (V)	+	-	+	+	+	+	-	09.68
PF xii	AbI /2-6 (V)	+	-	+	+	+	-	-	03.23
PF xiii	Adz/R-B2 (I)	+	-	-	+	+	-	+	03.23
Fréquence de la fermentation du sucre (%)		100	66,66	93,33	80	93,33	30	43,33	

Le spectre de sucres fermentescibles par les souches de profil atypique variait de six (profil PFii et PFiii) à trois (profil PFix). Les souches de profil atypique PFii ont présenté un profil fermentaire semblable à celui des souches de profil I typique, excepté le raffinose qu'elles n'ont pas fermenté.

Trois des souches sélectionnées ont présenté ce profil fermentaire. Il s'agissait : des souches GR2-3 du groupe phylogénétique I; AR3-1 du groupe phylogénétique II et PA2-7 du groupe phylogénétique IV. De même, les souches de profil atypique PFiii (cinq souches, soit 16,66 % des souches sélectionnées) ont présenté un profil fermentaire semblable à celui des souches de profil typique, excepté le tréhalose qu'elles n'ont pas fermenté. Les souches GR1-9 du groupe phylogénétique I, PA2-4 du groupe phylogénétique II et AbengR/PIV-10 du groupe phylogénétique V ont été de profil PFix. Elles ont présenté le plus faible spectre de sucres fermentescibles. Ces souches de *S. cerevisiae* n'ont fermenté que le glucose, le fructose et le saccharose. Le fructose, le maltose et le saccharose, principaux sucres d'intérêt biotechnologique (œnologie, panification, brasserie et production industrielle d'alcool) ont été fermentés respectivement par 93,33 %, 80 % et 93,33 % des souches de *S. cerevisiae* sélectionnées.

3-1-3. Tolerance à l'éthanol

L'évolution de la viabilité des souches de *Saccharomyces cerevisiae* soumises à trois niveaux d'éthanol (5 %, 10 % et 15 %) pendant 24 heures de culture a permis d'observer leur comportement vis-à-vis de l'inhibiteur qu'est l'éthanol (**Figure 1**).

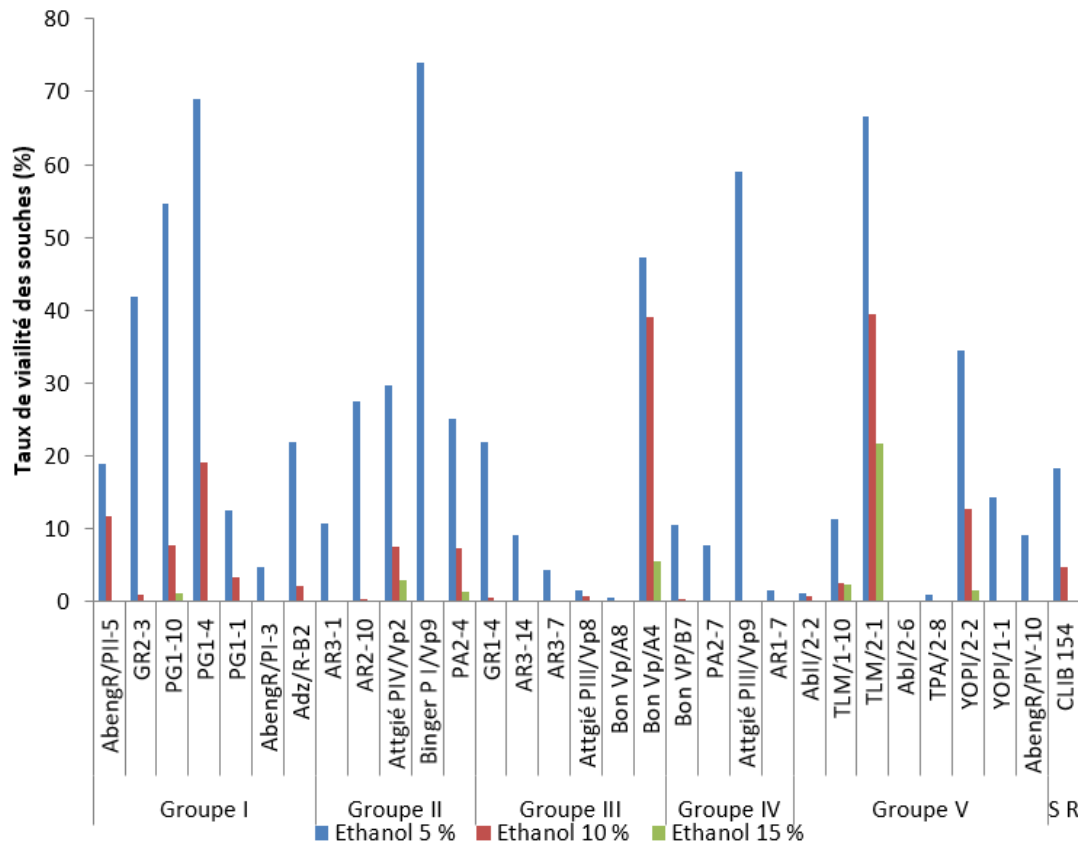


Figure 1 : Viabilité des souches de *Saccharomyces cerevisiae* isolées à différents taux d'éthanol (5 %, 10 % et 15 %)

L'effet inhibiteur de l'éthanol a été plus drastique à 15 % qu'à 10 et 5 %. A 5 % d'éthanol, la viabilité des souches de *S. cerevisiae* sélectionnées variait de 0 % (Abl/2-6) à 73,91 % (BingerPI/Vp9). À cette concentration d'éthanol, le taux de viabilité cellulaire était supérieur à 20 % pour 14 des 30 souches sélectionnées. Les meilleurs taux de viabilité ont été observés pour les souches PG1-4, PG1-10 et GR2-3 du groupe phylogénétique I ; pour les souches BingerPI/Vp9 du groupe phylogénétique II ; BonVp/A4 du groupe phylogénétique III ; AttgéPIII/Vp9 du groupe phylogénétique IV et TLM/-2-1 du groupe phylogénétique V. En présence de 10 % d'éthanol, seules deux souches, TLM/-2-1 du groupe phylogénétique V et BonVp/A4 du groupe phylogénétique III, ont montré un taux supérieur à 20 %. Ces mêmes souches ont montré les meilleurs taux de viabilité en présence de 15 % d'éthanol.

3-2. Capacité de production de l'éthanol à partir du moût de sorgho sucré par les souches de *Saccharomyces cerevisiae* sélectionnées

3-2-1. Capacité de croissance des souches de *Saccharomyces cerevisiae*

Les charges en levures des moûts fermentés avec les souches de *S. cerevisiae* sélectionnées (dix (10) / deux (2) par groupe phylogénétique) sont indiquées dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Composition chimique et microbienne du moût de sorgho fermenté avec les souches de *Saccharomyces cerevisiae* testées

	Groupes génotypiques	Souches	pH	Acidité titrable (%)	Sucres totaux solubles (°Brix)	Charges en levures (UFC/mL)
Moût non fermenté			3,53 ± 0,32 ^a	0,72 ± 0,04 ^a	12,5 ± 0 ^a	0 ^a
Moût fermenté	I	PG1-10	3,25 ± 0,03 ^a	0,95 ± 0 ^c	10 ± 0,25 ^b	8,3 ± 0,23x10 ^{8d}
		GR2-3	3,27 ± 0,17 ^a	1,05 ± 0,03 ^d	9,75 ± 0,29 ^b	1,2 ± 0,03x10 ^{8c}
	II	Attgié PIV/Vp2	3,65 ± 0,03 ^a	0,84 ± 0,04 ^b	10 ± 0,11 ^b	3,2 ± 0,05x10 ^{8c}
		Binger PI/Vp9	3,25 ± 0,03 ^a	0,86 ± 0,04 ^b	10 ± 0,13 ^b	4,2 ± 0,05x10 ^{8c}
	III	BonVp/A4	3,56 ± 0,39 ^a	0,87 ± 0,02 ^b	10 ± 0,03 ^b	1,1 ± 0,04x10 ^{9e}
		AR3-14	3,19 ± 0,2 ^a	0,74 ± 0,02 ^a	10 ± 0,02 ^b	4,9 ± 0,02x10 ^{7b}
	IV	Attgié PIII/Vp9	3,55 ± 0,41 ^a	0,81 ± 0,1 ^b	10 ± 0,05 ^b	1,19 ± 0,01x10 ^{9e}
		BonVp/B7	3,37 ± 0,17 ^a	0,95 ± 0,03 ^c	9,95 ± 0,29 ^b	2,2 ± 0,03x10 ^{8c}
	V	YOPI /1-1	3,68 ± 0,05 ^a	0,95 ± 0 ^c	7,25 ± 0,24 ^c	1,9 ± 0,24x10 ^{9e}
		TLM/2-1	3,19 ± 0,03 ^a	0,92 ± 0,02 ^c	7,6 ± 0,2 ^c	1,2 ± 0,1x10 ^{9e}
SR	CLIB 154	3,72 ± 0,58 ^a	0,84 ± 0,03 ^b	10 ± 0 ^b	4,9 ± 0,08x10 ^{8c}	

Les charges en levures différentes d'un moût fermenté à l'autre ($P < 0,05$) montrent que les différentes souches de *S. cerevisiae* utilisées n'ont pas montré la même capacité de croissance dans le moût de sorgho. Les meilleures croissances de levures ont été observées dans les moûts fermentés avec *S. cerevisiae* TLM/2-1 et YOPI /1-1 tolérantes à la plage de température de 30°C à 40°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 % (groupe phylogénétique V) et *S. cerevisiae* BonVp/A4 isolée du vin de palme tolérantes à la plage de température de 30°C à 40°C et résistants aux taux d'éthanol de 15% (groupe phylogénétique III), indépendamment des profils fermentaires. Les charges en levures de ces moûts fermentés étaient respectivement de $1,29 \pm 0,1 \times 10^9$ CFU/mL, $7,90 \pm 0,24 \times 10^8$ CFU/mL et $6,10 \pm 0,04 \times 10^8$ CFU/mL. La charge en levures du moût fermenté avec *S. cerevisiae* YOPI /1-1 isolée du chapalo ne diffère pas significativement de celle du moût fermenté avec *S. cerevisiae* BonVp/A4 isolée du vin de palme. Ces deux souches d'origine écologique et de groupe phylogénétique différents ont donc la même capacité de croissance dans le moût de sorgho. La croissance la plus faible a été observée avec la souche AR3-14 tolérantes à la plage de température de 30°C à 40°C et résistants au taux d'éthanol de 15%. La charge en levures dans ce moût est de $4,96 \pm 0,2 \times 10^7$ UFC/mL.

3-2-2. Composition chimique du moût de sorgho fermenté

3-2-2-1. Potentiel hydrogène et acidité titrable

Le moût de sorgho non fermenté avait un pH de 3,53. Les produits de la fermentation du moût avec les différentes souches avaient un pH relativement similaire, mais avec des teneurs en acidité titrable variables (**Tableau 4**). Le pH était de 3,72 pour le moût fermenté avec CLIB 154 et variait de 3,19 à 3,68 pour ceux fermentés avec les souches sélectionnées de *Saccharomyces cerevisiae*. Les légères variations de pH observées entre les moûts fermentés et le moût sucré ne sont pas significatives au seuil de 5 %. Par contre, les niveaux moyens d'acidité titrable sont différents entre les moûts fermentés. Ces différences sont significatives au seuil de 5 %. Les moûts fermentés avec les souches GR2-3 et Bon Vp/B7 ont l'acidité titrable la plus élevée ($1,05 \pm 0,03$ % et $0,95 \pm 0,03$ %) et celui produit avec la souche AR2-14 la plus faible ($0,74 \pm 0,02$ %). Ces résultats montrent clairement que chacune des souches de *S. cerevisiae* testées augmente l'acidité titrable du moût sucré dans les 24 heures suivant la fermentation indépendamment de leurs propriétés biotechnologiques testées. Cette augmentation de l'acidité titrable n'a pas eu d'effet significatif sur la variation du pH du moût de sorgho.

3-2-2-2. Teneur en sucres

La teneur en sucres solubles du moût sucré était de 12,5° Brix et de 10° Brix pour le moût fermenté avec la souche CLIB 154 (tableau 4). Cette teneur varie entre 10 et 7,25° Brix dans les moûts fermentés après 24 h par les différentes souches de *S. cerevisiae*. Les moûts fermentés avec les souches tolérantes la plage de température de 30°C à 40°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 %, avaient les teneurs en sucre les plus élevées (entre 9,5 et 10° Brix) par rapport aux moûts fermentés avec les deux souches tolérantes la plage de température de 30°C à 45°C et résistants aux taux d'éthanol de 5% et 15% (7,25° Brix pour YOPI/1-1 et 7,6° Brix pour TLM/2-1). L'analyse statistique a montré que la teneur en sucre du moût fermenté par chacune des souches tolérantes la plage de température de 30°C à 40°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 %, ne diffère pas significativement au seuil de 5 % de celle du moût non fermenté. En 24 heures de fermentation, ces levures ont donc consommé de petites quantités équivalentes de sucre, correspondant à une diminution de la valeur Brix de 2,5 à 2,75. Par contre, les quantités de sucre résiduel de 7,25° Brix du moût fermenté par la souche de *S. cerevisiae* YOPI/1-1 et de 7,6° Brix de celui fermenté par la souche de *S. cerevisiae* TLM/2-1 tolérantes la plage de température de 30°C à 45°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 % et 15 % sont significativement différentes et inférieures à celles du moût non fermenté.

3-2-2-3. Teneur en alcool

Une vue d'ensemble de la production d'éthanol par les différents groupes phylogénétiques de *S. cerevisiae* a montré que le processus de fermentation alcoolique a été plus efficace dans les moûts fermentés avec les souches du groupe phylogénétique V tolérantes à la plage de température de 30°C à 45°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 % et 15 %, que dans les moûts fermentés avec les autres souches testées (**Figure 2**).

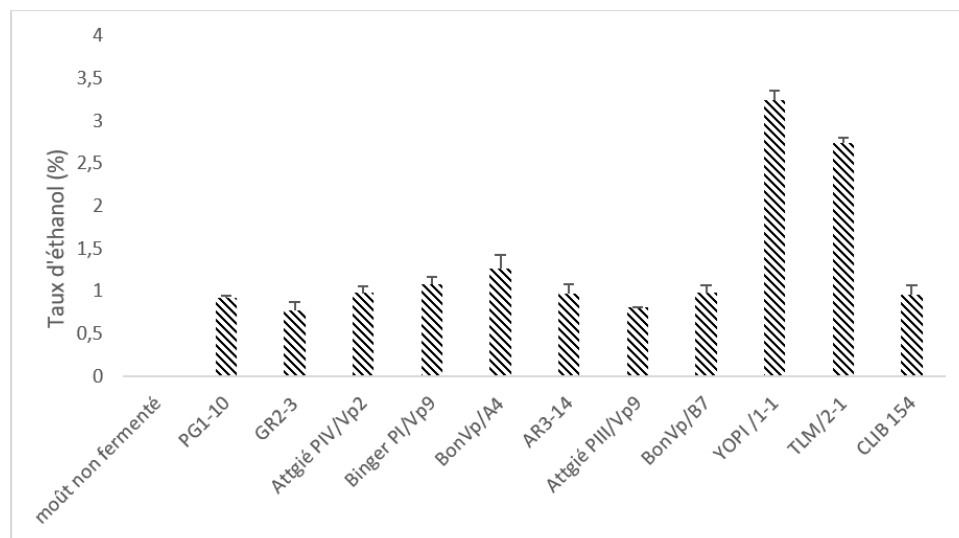


Figure 2 : Teneur en éthanol des boissons produites par différentes souches sélectionnées de *Saccharomyces cerevisis*

En effet, la teneur en éthanol observée dans les moûts fermentés avec les souches des groupes phylogénétiques I, II, III et IV tolérantes à la plage de température de 30°C à 40°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 %, a varié entre 0,78 % (moût fermenté avec GR2-3) et 1,27 % (moût fermenté avec BonVP/A4). Ces valeurs sont inférieures à celles observées dans les moûts fermentés avec YOPI/1-1 (3,25 %) et TLM/2-1 (2,75 %), tolérantes à la plage de température de 30°C à 45°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 % et 15 %, indépendamment des profils fermentaires.

3-2-2-4. Analyse en composantes principales de la teneur en alcool des boissons produites

L'analyse en composante principale (ACP) et la classification hiérarchique ascendante (CHA) des moûts fermentés produits selon leurs caractéristiques a permis de les classer en trois groupes : les moûts fermentés de type 1, de type 2 et de type 3 (Figure 3). Les moûts fermentés de type 1 produits avec les souches tolérantes à la plage de température de 30°C à 45°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 % et 15 %, ont présenté un taux élevé d'acidité titrable, une teneur en éthanol relativement plus forte avec une teneur en sucres solubles plus faible. Par contre, les moûts fermentés de types 2 produits avec les souches de vin de palmier à huile et résistants aux taux d'éthanol de 5 % et 10 %, et la souche témoin CLIB154 ont été caractérisés par un pH relativement élevé, une teneur en sucres solubles plus forte et une plus faible teneur en éthanol. Quant aux moûts fermentés de types 3, ils ont été produits avec les souches des vins de palmier à huile et raphia tolérantes à la plage de température de 30°C à 40°C et résistants aux taux d'éthanol de 5 % et 10 %, et aussi indépendamment des profils fermentaires. Ces moûts fermentés ont été caractérisés par un pH et une teneur en éthanol relativement plus faibles. Les différents types de moûts fermentés produits attestent la diversité génotypique et phénotypique des souches utilisées pour la fermentation des moûts.

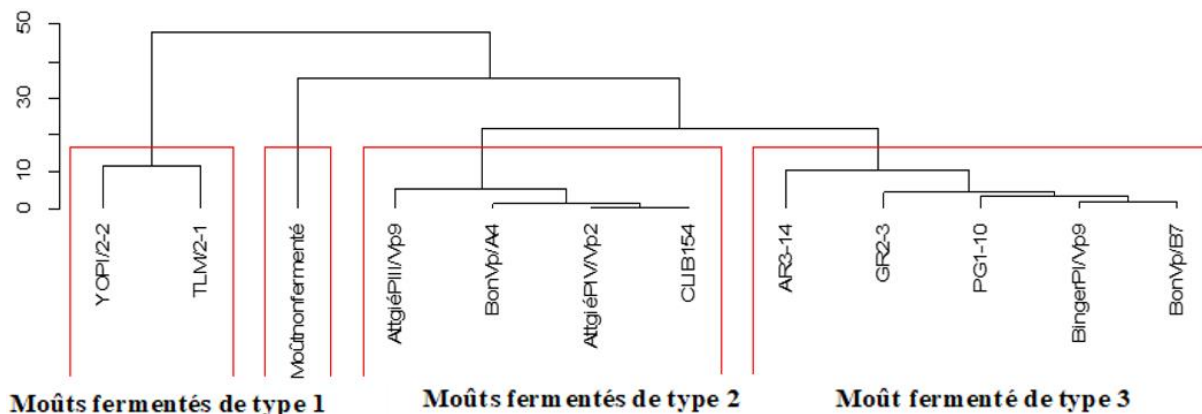


Figure 3 : Dendrogramme des moûts fermentés produits

4. Discussion

L'éthanol destiné aux boissons et aux carburants contribue de manière significative à la durabilité économique et énergétique de nombreux pays. Au cours des processus de fermentation industrielle, les cellules de levure utilisées dans leur production, sont soumises à plusieurs facteurs de stress physiques, chimiques et biologiques qui peuvent nuire au rendement en éthanol et à l'efficacité globale de la production. La recherche et la sélection des souches naturelles disposant de moyens pour faire face à ces stress s'avèrent importantes pour optimiser la viabilité des cellules, la productivité et le rendement en éthanol. La présente étude s'inscrit dans cette optique avec la recherche de souches naturelles de *Saccharomyces cerevisiae* issues du patrimoine Ivoirien capables de survivre à des températures élevées, de tolérer des teneurs élevées d'éthanol, de fermenter plusieurs hydrates de carbone pour une éventuelle utilisation dans la production de biocarburant. La température est l'un des facteurs environnementaux qui a la plus grande influence sur la physiologie et l'activité des microorganismes [21]. Elle agit à la fois sur le taux de croissance, la vitesse de production d'éthanol, la viabilité cellulaire, la composition et l'intégrité de la membrane plasmique [22, 23]. Par conséquent, la prédétermination et la connaissance des températures de croissance de ces microorganismes est alors nécessaire pour une éventuelle utilisation dans la production de bioéthanol.

Dans la présente étude, les tests de croissance à différentes températures des souches de *S. cerevisiae* sélectionnées ont révélé le niveau de sensibilité ou de tolérance de ces souches aux températures testées. Les souches *S. cerevisiae* Attgié PIII/Vp9 isolée du vin de palmier à huile et YOPI/1-1 de la bière de sorgho ont présenté une croissance normale à 44°C. Ces souches de *S. cerevisiae* tolérant cette température, peuvent être utilisées dans les processus de fermentations nécessitant une température élevée. En effet, la fermentation à haute température est non seulement applicable à la production de bioéthanol [23] et aussi pour la fermentation de produits alimentaires et d'autres métabolites utiles [24]. Diverses levures thermotolérantes ont déjà été isolées de différentes sources pour la production d'éthanol afin de réduire le coût global. C'est ainsi que, [25] ont isolé des souches de *S. cerevisiae* thermotolérantes à partir d'échantillons d'eaux usées avec des températures de croissance optimales allant de 35 à 40 °C, avec un rendement en éthanol de 75 % de sa valeur théorique par rapport au glucose. [26] ont isolé des levures thermotolérantes à partir d'échantillons de sol prélevés dans des plantations de canne à sucre, de manioc et d'ananas dans cinq provinces différentes de Thaïlande. Les levures ont été utilisées pour la production d'éthanol à partir d'hydrolysats d'amidon de manioc à 45°C, avec la concentration maximale d'éthanol de 42,4 g^l⁻¹ en 48 h, à une productivité de 0,88 g^l⁻¹h⁻¹ et un rendement de 46 % par rapport au rendement théorique vis-à-vis de la glycémie. De même, [27] ont isolé *Pichia kudriavzevii* DMKU 3-ET15 de la saucisse de porc fermentée traditionnelle, qui a produit une concentration d'éthanol de 4 % (p/v) avec une productivité de 1,27 g^l⁻¹h⁻¹ et avec un rendement de 42 % par rapport au rendement théorique dans un milieu d'hydrolysats d'amidon de manioc à pH 5,0 et à 45°C. Ces résultats suggèrent que les souches thermotolérantes comme Attgié PIII/Vp9 et YOPI/1-1 isolées des boissons traditionnelles fermentées ivoiriennes peuvent être utilisées pour produire de l'éthanol à haute température. L'utilisation avec succès de ces souches thermotolérantes adaptées aux zones climatiques chaudes de l'Afrique serait souhaitable et des réductions de coûts énergétiques significatives liées à ces procédés de refroidissement pourront être réalisées.

Parmi les nombreuses contraintes environnementales rencontrées par *S. cerevisiae* dans les applications industrielles notamment dans la production de bioéthanol, l'exposition à l'accumulation de concentration en éthanol a probablement le plus d'impact négatif. Lorsque l'éthanol atteint des concentrations toxiques, il a de multiples effets néfastes sur la cellule, entraînant une diminution du taux de croissance et de la viabilité. Ces impacts conduisent à une baisse de productivité à des taux sous-optimaux de fermentation, à une production d'éthanol inférieure et finalement à une baisse de profits pour les industries concernées [28, 29]. La compréhension des mécanismes de toxicité à l'éthanol est donc un enjeu majeur pour les industries de bioéthanol mettant en œuvre des levures fermentaires. Ainsi, la recherche des souches tolérantes à l'éthanol parmi les 30 sélectionnées a montré que les levures dans leur ensemble ont été sensibles à 5, 10 et 15 % d'éthanol. Cela s'est traduit par une diminution relative des taux de viabilité à ces concentrations d'éthanol allant jusqu'à une viabilité nulle pour certaines souches, c'est-à-dire une inhibition de la croissance de toutes les cellules mises en contact avec l'éthanol. L'effet de l'éthanol a été plus létal aux taux de 10 et 15 %. Toutefois, deux souches TLM/1-1 et BonVp/4 ont pu acquérir la résistance à l'éthanol 15 % à un taux cellulaire (viabilité) respectivement de 22% et 5,5 %. Des résultats similaires ont été rapportés par [30] chez les souches de *S. cerevisiae* isolées d'ikigage, une bière traditionnelle rwandaise à base de sorgho. Cette étude a montré que les souches résistaient à l'éthanol 5 % mais étaient sensibles aux concentrations de 10 et 15 %. Contrairement à la présente étude, certaines souches isolées du toddy, vin extrait du cocotier résistaient à des taux d'éthanol de 15 % avec une très forte viabilité [5]. La sensibilité des souches de *S. cerevisiae* à 5 % d'éthanol dans la présente étude peut être liée à leur adaptation aux taux d'éthanol dans les niches écologiques (vin de palmier raphia, vin de palmier à huile et bière de sorgho) d'où elles ont été isolées qui fluctue généralement autour de 3 à 4 %. Les souches de *S. cerevisiae* Bon Vp /A4 et TLM/2-1 qui ont acquis une résistance aux taux de 15 % d'éthanol peuvent susciter un intérêt biotechnologique particulière

dans la production de bioéthanol. Cependant, l'intérêt biotechnologique de ces souches dans la production de bioéthanol dépendra non seulement de leur résistance à l'éthanol mais aussi et surtout de leur capacité à consommer les sucres utilisés pour produire le bioéthanol et à résister aux différents stress technologiques. En somme, l'étude et la maîtrise de la tolérance à l'éthanol ont non seulement des intérêts fondamentaux pour le monde scientifique mais également une importance économique. C'est un caractère de grande valeur économique en particulier pour les brasseries et l'industrie des biocarburants [31], raison pour laquelle au cours de ces dernières années, les connaissances sur la tolérance de la levure à ce stress ont été très bien développée [6]. Une autre propriété technologique des souches évaluée pendant cette étude a été leur capacité à fermenter les sucres retrouvés pour la plupart dans les cultures telles que la canne à sucre, la betterave, le sorgho et certains fruits utilisées pour la production de bioéthanol. Les jus fermentescibles directs obtenus à partir de ces cultures contiennent des sucres libres, en particulier du saccharose, du glucose et du fructose, qui en font des matières premières plus rentables dans l'industrie de l'éthanol-carburant que les matières féculentes ou lignocellulosiques [32, 33]. Comme expliqué ci-dessus, la capacité fermentaire des 30 souches sélectionnées a été effectuée avec ces sucres retrouvés pour la plupart dans ces cultures utilisées pour la production de bioéthanol. Des 30 souches de *S. cerevisiae* sélectionnées, d'une part, 28 soit 93,33 % ont fermenté le fructose. Cette propriété fermentaire peut trouver son application dans la biotransformation des fruits riches en fructose comme la datte (32 % de fructose), la figue (23 % de fructose) en bioéthanol. Toutefois, l'intérêt de ces souches dans les industries de bioéthanol dépendra non seulement de leur capacité de consommation du fructose mais aussi et surtout de leur résistance à l'éthanol. D'autre part, 24 souches, soit 80 % ont fermenté le maltose. Ce sont donc de potentielles levures de brasserie. En effet, la capacité fermentaire du maltose est l'une des propriétés biotechnologiques indispensables des levures de brasserie. En brasserie, le maltose représente 60 à 65 % des sucres fermentescibles du moût obtenu à partir du malt d'orge [34]. La fermentation rapide et complète d'une concentration aussi élevée de maltose est souhaitée et constitue un problème technologique majeur en brasserie.

Pour résoudre ce problème, des levures qui expriment le gène de la perméase du maltose sont ciblées [34, 35]. Ces levures de telle potentialité peuvent être détectées dans la nature et éventuellement dans les boissons traditionnelles fermentées du patrimoine ivoirien contenant une diversité génotypique de souches naturelles de *S. cerevisiae*. Parmi les souches testées, PA2-4, AbengR/PII-5, PG1-10, AR3-7 et Bon VP/B7 qui n'ont pas fermenté le maltose donc non applicable en brasserie ont fermenté le fructose et le saccharose. Ce sont donc de potentielles levures œnologiques ou de production d'alcool. En effet, le saccharose est la principale source de carbone utilisée par les levures pour la production de carburant éthanolique et la plupart des boissons alcooliques distillées. Plus de la moitié de la production mondiale d'éthanol repose sur la fermentation efficace de bouillons riches en saccharose tels que le jus de canne à sucre et la mélasse. Ces matières premières sont également utilisées pour la production de levure de boulanger et pour la production de plusieurs boissons alcoolisées distillées [36, 37]. Il est généralement admis que *S. cerevisiae* abritent une invertase extracellulaire (β -D-fructosidase), qui hydrolyse le saccharose en glucose et en fructose, qui sont transportés dans la cellule par des transporteurs d'hexose et métabolisés par glycolyse. Cette enzyme a été un paradigme pour l'étude de la synthèse des protéines et de la régulation de l'expression des gènes. L'invertase est codée par un ou plusieurs gènes SUC (SUC1 à SUC5 et SUC7), SUC2 étant le loci le plus courant trouvé dans presque toutes les souches de *S. cerevisiae*, y compris dans d'autres espèces de levures étroitement apparentées [38, 39]. Il est possible de trouver dans les boissons traditionnelles fermentées de la Côte d'Ivoire de telles souches capables de révolutionner l'industrie de fermentation du saccharose. À l'exception de YOPI/2-2 et AR2-10, toutes les souches de *S. cerevisiae* sélectionnées pour l'analyse du profil fermentaire ont assimilé le saccharose. Une analyse approfondie de la capacité d'assimilation du saccharose par les levures isolées des trois boissons traditionnelles est indispensable pour une possible application industrielle. Des tests de fermentations pilotes du moût sucré de sorgho ont été effectués au laboratoire dans

le but d'examiner la capacité de production d'éthanol à partir d'un substrat local par les souches de *S. cerevisiae* sélectionnées dans un système batch sans recyclage cellulaire. Cette étude a révélé que la densité cellulaire des souches de *S. cerevisiae* sélectionnées dans le moût fermenté se situait dans la gamme de $4,9 \pm 0,02 \times 10$ (AR3-14) à $1,9 \pm 0,24 \times 10^9$ (YOPI /1-1) UFC/mL, après 24 h de fermentation à 30°C. La souche YOPI /1-1 ($1,9 \pm 0,24 \times 10^9$) UFC/ML, tolérantes à la plage de température de 30°C à 44°C et résistants au taux d'éthanol de 5%, a également produit la plus forte teneur en éthanol ($3,25 \pm 0,11$ %) dans les boissons. Il ressort de cette étude que l'augmentation de la densité cellulaire entraîne une augmentation de la production d'éthanol. Ceci confirme l'importance de la détermination de la densité cellulaire de la levure pour surveiller la production d'éthanol pendant les processus de fermentation comme l'ont signifié [40]. Des études antérieures ont démontré que des concentrations cellulaires initiales plus élevées amélioreraient la vitesse et l'efficacité de la fermentation pour la production d'éthanol à partir du jus de sorgho sucré à l'aide de *S. cerevisiae* KKU-VN8 [41]. La consommation des sucres représentée par la différence entre l'ESR avant et après la fermentation, a été plus importante chez les souches YOPI /1-1 et TLM/2- tolérantes à la plage de température de 30°C à 44°C et résistants au taux d'éthanol de 5 % et 15 %. La forte consommation de sucres chez ces souches a été corrélée à une forte densité cellulaire et à une production élevée d'éthanol dans les moûts fermentés. En effet, les sucres sont utilisés par les levures comme sources de carbone et d'énergie pour produire principalement de l'éthanol et du CO₂ [42]. Cette observation selon laquelle la forte consommation de sucres augmente, également la densité cellulaire et la production d'éthanol, ne corrobore pas avec les faibles taux d'éthanol enregistrés dans les moûts fermentés par *S. cerevisiae* GR2-3 et BonVp/B7. La forte consommation de sucre corrélée à une forte densité cellulaire et à une production élevée d'éthanol dans les moûts fermentés par les souches YOPI /1-1 et TLM/2- tolérantes à la plage de température de 30°C à 44°C et résistants au taux d'éthanol de 5 % et 15 %, serait liée à l'équipement enzymatique, notamment les glucosidases qui contribueraient à l'efficacité de consommation du maltose qui constitue la principale source de sucres fermentescibles dans le moût de sorgho. La productivité moyenne obtenue par chaque souche lors du test de fermentation du moût sucré de sorgho à 35°C, pendant de 24 h renseigne que la plage de productivité de l'éthanol par les souches thermotolérantes (≥ 40 °C), était de $0,78 \pm 0,09$ (GR2-3) à $3,25 \pm 0,11$ % (YOP I / 1-1) tandis que celle des souches mésophiles (30 à 37°C) était de $0,92 \pm 0,03$ (PG1-10) à $1,27 \pm 0,16$ % (BonVp/A4), montrant ainsi une supériorité globale de la productivité de l'éthanol. La plus forte teneur en éthanol $3,25 \pm 0,11$ % a été produite par la souche thermotolérante YOP I / 1-1 après 24 h de fermentation à 30°C. Contrairement aux souches thermotolérantes, les souches tolérantes aux stress éthanolique n'ont pas eu d'effet sur la production d'éthanol dans cette étude.

4. Conclusion

Cette étude a montré que les souches de *Saccharomyces cerevisiae* isolées des boissons traditionnelles fermentées produites en Côte d'Ivoire possèdent des propriétés biotechnologiques prometteuses pour être utilisées dans la production de bioéthanol. Leurs activités fermentaires, leur tolérance à l'alcool, leur capacité à fermenter les différents types de sucre, ainsi que leur viabilité et leur stabilité génétique, en font de bons candidats pour des applications industrielles. Cependant, des études plus approfondies sont nécessaires pour résoudre les limitations observées et optimiser ces souches afin d'augmenter leur productivité et leur efficacité dans la production de bioéthanol.

Références

- [1] - M. ROEHR, "The Biotechnology of Ethanol : Classical and Future Applications", Wiley-VCH, *Chichester*, (2001) 232 p.
- [2] - Y. LIN et S. TANAKA, "Fermentation d'éthanol à partir des ressources biomasse : état des lieux et perspectives », *Applied Microbiology and Biotechnology*", 69 (6) (2006) 627 - 642
- [3] - NK. SREE, M. SRIDHAR , K. SURESH, IM. BANAT et R. L. VENKATESWAR, "Isolement de *Saccharomyces cerevisiae* thermotolérant, osmotolérant et flocculant pour la production d'éthanol", *Bioresour Technol*, 72 (1) (2000) 43 - 46
- [4] - E. PATRASCU, G. RAPEANU et T. HOPULELE, "Approches actuelles pour une production biotechnologique efficace d'éthanol Biotechnologie alimentaire", *Roumaine innovante*, 4 (2009) 1 - 11
- [5] - A. KUMAR, L. K. SINGH et S. GHOSH, "Bioconversion de la fraction lignocellulosique de l'hydrolysate acide d'hémicellulose de jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*) en éthanol par *Pichia stipitis*", *Bioresource Technology*, 100 (2009) 3293 - 3297
- [6] - X. Q. ZHAO et F. W. BAI, "Mechanisms of yeast stress tolerance and its manipulation for efficient fuel ethanol production)", *Journal of Biotechnology*, 144 (2009) 23 - 30
- [7] - S. ALFENORE, C. MOLINA-JOUVE, S. E. GUILLOUET, J. L. URIBELARREA, G. GOMA et L. BENBADIS, "Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60 (2002) 67 - 72
- [8] - Y. MORITA, S. NAKAMORI et H. TAKAGI, "L-proline accumulation and freeze tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* are caused by a mutation in the PRO1 gene encoding gamma glutamyl kinase", *Applied and Environmental Microbiolog*, 69 (1) (2003) 212 - 219
- [9] - T. HIRASAWA, K. YOSHIKAWA, Y. NAKAKURA, K. NAGAHISA, C. FURUSAWA, Y. KATAKURA, H. SHIMIZU et S. SHIOYA, "Identification of target genes conferring ethanol stress tolerance to *Saccharomyces cerevisiae* based on DNA microarray data analysis", *Journal of Biotechnology*, 131 (1) (2007) 34 - 44
- [10] - J. DING, X. HUANG, L. ZHANG, N. ZHAO, D. YANG et K. ZHANG, "Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*", *Applied Microb Biotechnol*, 85 (2) (2009) 253 - 263
- [11] - R. M. BIRCH et G. M. WALKER, "Influence of magnesium ions on heat shock and ethanol stress responses of *Saccharomyces cerevisiae*", *Enzyme and Microb Technol*, 26 (9 - 10) (2000) 678 - 687
- [12] - T. L. NISSEN, M. C. KIELLAND-BRANDT, J. NIELSEN et J. VILLADSEN, "Optimization of ethanol production in *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic engineering of the ammonium assimilation", *Metabolic Engineering*, 2 (1) (2000) 69 - 77
- [13] - L. HOU, "Production améliorée d'éthanol grâce à un nouveau brassage du génome chez *Saccharomyces cerevisiae*", *Applied Biochimie and Biotechnologie*, 160 (2010) 1084 - 1093
- [14] - R. KUMARI et K. PRAMANIK, "Bioethanol production from *Ipomea Carnea* biomass using a potential hybrid yeast strain", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171 (2013) 1771 - 1785
- [15] - S. H. MOHD AZHAR, R. ABDULLA, S. A. JAMBO, H. MARBAWI, J. A. GANSAU, A. A. MOHD FAIK et K. F. RODRIGUES, "Les levures dans la production durable de bioéthanol : un bilan", *Rapports de biochimie et de biophysique*, (2017)
- [16] - Y. C. TRA BI, L. S. T. AMOIKON, A. C. KOUAKOU, J. NOEMIE, M. LUCAS, C. GRONDIN, J-L. LEGRAS, K. F. N'GUESSAN, NT. DJENI, K. M. DJÈ et S., "Casaregola Genetic diversity and population structure of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from traditional alcoholic beverages of Côte d'Ivoire", *International Journal of Food Microbiology*, 297 (2019) 1 - 10

- [17] - Y. C. TRA BI, "Diversité génotypique et potentialités biotechnologiques des souches de *Saccharomyces cerevisiae* isolées de trois boissons traditionnelles fermentées (vin de palmier à huile, vin de palmier raphia et bière de sorgho) produites en Côte d'Ivoire", Thèse unique de Doctorat, Université NANGUI ABROGOUA, Abidjan, (2017) 190 p.
- [18] - M. J. AYOUB, "Diversités moléculaire et phénotypique de souches autochtones œnologiques de *Saccharomyces cerevisiae* isolées au Liban", Thèse, Institut National Agronomique Paris Grignon (INAPG), France, (2006) 175 p.
- [19] - N. J. W. KREGER-VAN RIJ, "The yeasts : a taxonomic study", *Elsevier Science Publishers B.V.*, (1984) 1082 p.
- [20] - K. F. N'GUESSAN, NT. DJENI, K. M. DJÈ et S. CASAREGOLA, "Genetic diversity and population structure of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from traditional alcoholic beverages of Côte d'Ivoire", *International Journal of Food Microbiology*, 297 (2019) 1 - 10
- [21] - K. WATSON, "Temperature relations, in *The Yeast, Yeasts and the Environment*", Academic Press Inc; 2nd Revised edition, *A. H. Rose and J. S. Harrison*, Vol. 2, (1987)
- [22] - L. BENEY et P. GERVAIS, "Influence of the fluidity of the membrane on the response of microorganisms to environmental stresses", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57 (1) (2001) 34 - 42
- [23] - A. S. ALDIGUIER, S. ALFENORE, X. CAMELEYRE, G. GOMA, J. L. URIBELARREA, S. E. GUILLOUET et C. MOLINA JOUVE, "Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol biofuel production", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, Vol. 26, (2004) 217 - 222
- [24] - B. ABDEL-BANAT, H. HOSHIDA, A. ANO, S. NONKLANG et R. AKADA, "High-temperature fermentation: how can processes for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast?" *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85 (4) (2009) 861 p.
- [25] - A. TOFIGHI, M. M. ASSADI, M. H. A. ASADIRAD et S. Z. KARIZI, "Bio-ethanol production by a novel autochthonous thermo-tolerant yeast isolated from wastewater", *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, Vol. 12, (2014) 1 - 6
- [26] - C. KAEWKRAJAY, T. DETHOUP et S. LIMTONG, "Ethanol production from cassava using a newly isolated thermotolerant yeast strain", *Science Asia*, Vol. 40, (2014) 268 - 277
- [27] - N. YUANGSAARD, W. YONGMANITCHAI, M. YAMADA et S., "Limtong Selection and characterization of a newly isolated thermotolerant *Pichia kudriavzevii* strain for ethanol production a high temperature from cassava starch hydrolysate", *Antonie Van Leeuwenhoek*, Vol. 103, (2013) 577 - 588
- [28] - F. F. BAUER et I. S. PRETORUIS, "Yeast stress reponse and fermentation efficiency : how to survive the making of wine", *Review, South Africa journal Enol. Vitic*, Vol. 21, (2000) 27 - 51
- [29] - D. STANLEY, A. BANDARA, S. FRASER, P. J. CHAMBERS et G. A. STANLEY, "The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*". *Journal of Applied Microbiology*, 109 (2010) 13 - 24
- [30] - F. LYUMUGABE, G. KAMALIZA, E. BAJYANA et P. H. THONART, "Microbiological and physico chemical characteristic of Rwandese traditional beer "Ikigage"", *Africa Journal of Biotechnology*, 9 (27) (2010) 4241 - 4246
- [31] - X. H. HU, M. H. WANG, T. TAN, J. R. LI, H. YANG, L. LEACH, R. M. ZHANG et Z. W. LUO, "Genetic Dissection of Ethanol Tolerance in the Budding Yeast *Saccharomyces cerevisiae*", *Genetics*, Vol. 175, (2007) 1479 - 1487
- [32] - W. L. BRYAN, "Solid-state fermentation of sugars in sweet sorghum", *Enzyme and Microbial Technology*, 12 (6) (1990) 437 - 442
- [33] - A. V. ENSINAS, M. MODESTO, S. A. NEBRA et L. SERRA, "Reduction of irreversibility generation in sugar and ethanol production from sugarcane", *Energy*, 34 (5) (2009) 680 - 688
- [34] - V. VIDGREN, A. HUUSKONEN, H. VITARNEN, L. RUOHONEN et J. LONDESBOROUGH, "Improved Fermentation Performance of a Lager Yeast after Repair of Its AGT1 Maltose and Maltotriose Transporter Genes", *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (8) (2009) 2333 - 2345

- [35] - J. HOUGHTON-LARSEN et A. BRANDT, "Fermentation of High Concentrations of Maltose by *Saccharomyces cerevisiae* is Limited by the COMPASS Methylation Complex", *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (11) (2006) 7176 - 7182
- [36] - C. BERG, "World fuel ethanol - analysis and outlook", (2004), <http://www.distill.com/World-Fuel-Ethanol-A&O-2004.html>. Mois de consultation Mai 2023
- [37] - D. PETERS, "Carbohydrates for fermentation", *Biotechnology Journal*, Vol. 1, (2006) 806 - 814
- [38] - G. I. NAUMOV, E. S. NAUMOVA, E. D. SANCHO et M. P. KORHOLA, "Polymeric SUC genes in natural populations of *Saccharomyces cerevisiae*", *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 135, 10 (1996) 31 - 35
- [39] - IV. KORSHUNOVA, ES. NAUMOVA et GI. NAUMOV, "Comparative molecular genetic analysis of β -fructosidases of yeasts *Saccharomyces*", *Molecular Biology*, Vol. 39, (2005) 413 - 419
- [40] - CL. RAMOS, W. F. DUARTE, A. L. FREIRE, D. R. DIAS, E. C. ELEUTHERIO et R. F. SCHWAN, "Évaluation de la tolérance au stress et du comportement fermentaire des *Saccharomyces cerevisiae* indigènes", *Brazilian Journal of Microbiology*, 44 (3) (2013) 935 - 44
- [41] - A. TECHAPARIN, P. THANONKEO et P. KLANRIT, "High-temperature ethanol production using thermotolerant yeast newly isolated from Greater Mekong Subregion", *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol. 48, (2017) 461 - 475
- [42] - S. MAICAS, "The Role of Yeasts in Fermentation Processes", *Microorganisms*, 8 (8) (2020) 1142, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7466055/>. Mois de consultation Mai 2023