

# Annexe 1

## 1- Milieux de cultures

### 1.1- Sabouraud

La composition chimique de ce milieu en g/L d'eau distillée est :

Glucose .....20g  
Peptone .....10g  
Agar.....15- 20 g  
Eau distillée .....1000mL

Le pH est de 6.4. Le pH acide du milieu favorise la croissance des levures et des moisissures (Guiraud et Rosec, 2004).

### 1.2- YPG (Yeast-extract-Peptone-Glucose-Agar)

Extrait de levure.....10g/L  
Glucose .....20g  
Peptone .....10g  
Agar.....15- 20 g

Le pH du milieu est ajusté à 5 (Guiraud, 1998)

### 1.3- PDA (Potato Dextrose Agar)

Extrait de pomme de terre  
Glucose 20g  
Agar 20g

### Préparation du milieu

L'agar et le Glucose sont dissous à chaud dans l'extrait puis le volume est complété à un litre d'eau distillée. Le pH est ajusté à 5.

### 1.4- MA (Malt Agar)

Extrait de Malt .....30g  
Peptone .....5g

Glucose .....15g  
Agar .....15- 20 g  
Eau distillée..... 1000mL  
Le pH est ajusté à 5 (Guiraud, 1998)

### **1.5- Milieu à base d'inuline**

Inuline.....40g,  
Extrait de levure.....4g  
Peptone.....4g  
Eau distillée.....1litre.

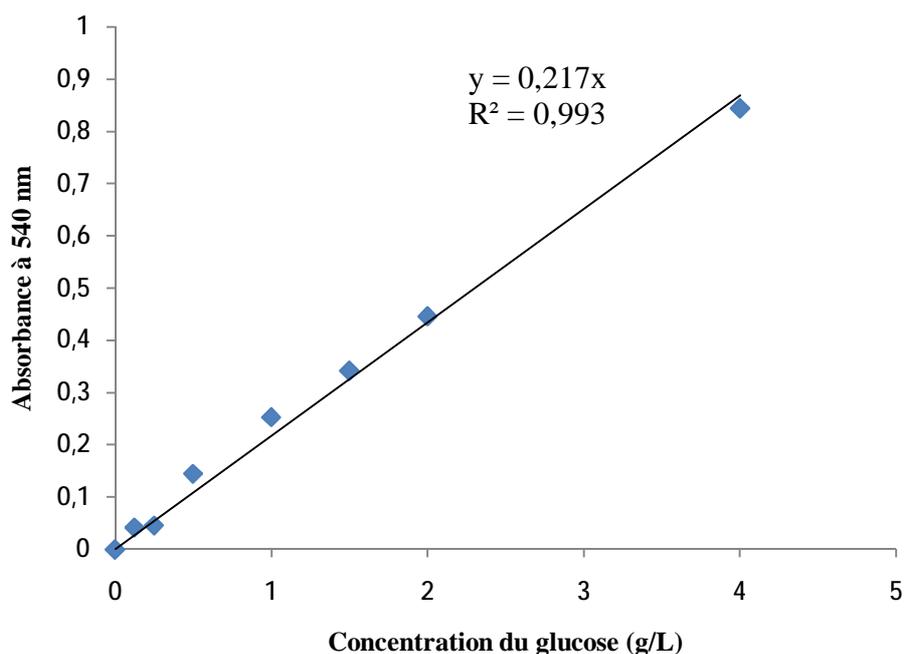
## Annexe 2

### 2- Les courbes d'étalonnages

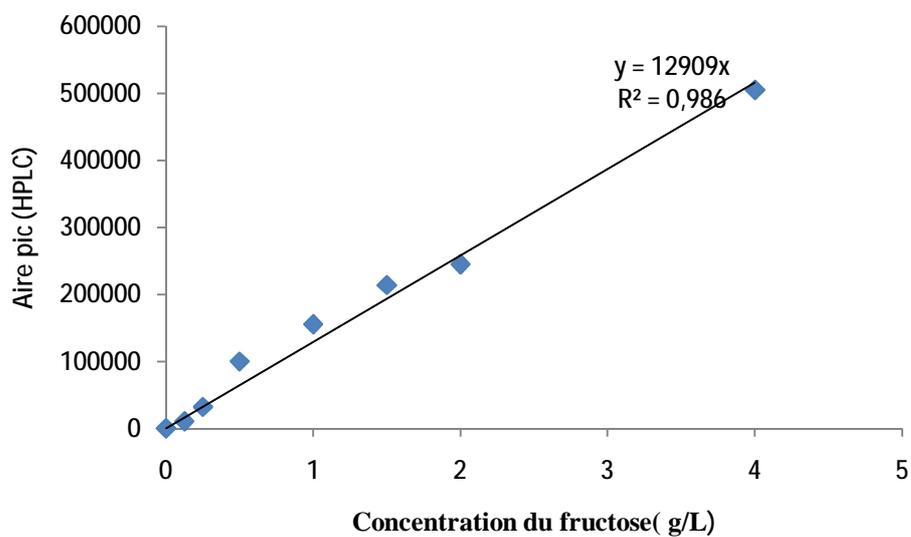
#### 2.1- Courbe étalon du Fructose pour l'activité inulinase

Pour l'établissement de la droite d'étalonnage, les 0,5mL d'échantillon sont remplacés par 0,5 mL de solution fructose à différentes concentrations (0.125, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4 g/l). L'absorbance de ces concentrations est mesurée à 550nm avec le spectrophotomètre, la relation linéaire entre l'absorbance et la quantité de sucres des solutions étalons permet d'établir une relation mathématique liant ces deux valeurs.

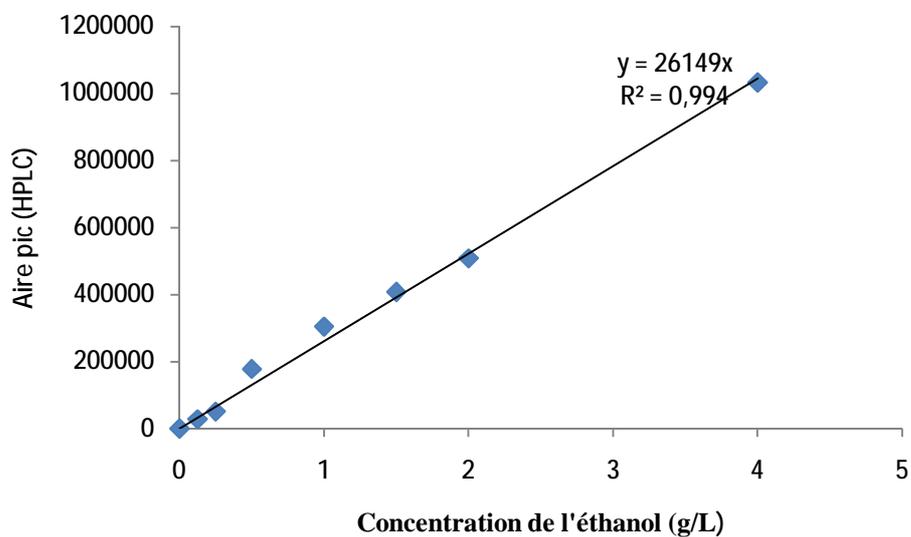
Cette méthode permet de déterminer la concentration en sucre réducteur présente dans les échantillons.



## 2.2- Courbe étalon du fructose pour le dosage HPLC



## 2.3- Courbe étalon de l'éthanol pour le dosage HPLC



## Annexe 3

### 3- Réactif

#### 3.1- Préparation de l'acide dinitrosalicylic (DNS)

Dissoudre 1g d'acide dinitrosalicylic à 60°C dans 20mL de NaOH 2N et 50 mL d'eau distillée, après la solubilisation complète du DNS on ajoute 30g de tartrate double sodium potassium. Le volume final est ramené à 100mL par de l'eau distillée, la solution est conservée à l'abri de la lumière.

#### 3.2- Les solutions tampons

##### 1- Tampon acétate de sodium (0,05M, pH= 5)

###### Solution A

Introduire 4,10 g d'acétate de sodium dans 1 litre de l'eau distillée

###### Solution B

Introduire 2,8 ml d'acétique acide dans 1litre de l'eau distillée

###### Préparation de Tampon acétate de sodium

Mélanger 39,2% de solution A avec 60,8 de solution B. Le pH obtenu est égale 5, la conservation de la solution est faite à 4°C

##### 2- Tampon citrate (0,05M, pH 5)

Préparer 10g/L d'acide citrique ( $C_6H_8O_7$ ,  $H_2O$ ) 0,05M et 14,71 g/L citrate de sodium dans l'eau distillée. Le pH du mélange obtenu est égale 5.