

# Isolement et caractérisation des souches locales de bactéries de fermentation des graines de *Parkia biglobosa* "nééré" pour l'amélioration de la qualité du "soubala" au Mali

COULIBALY Mouctar\*, SIDIBE Satigui, Silvère, NGaïssona-Touadoka,

Laboratoire de Biotechnologie et de culture in-vitro, Institut Polytechnique Rural de Formation et de Recherche Appliquée (IPR/IFRA) de Katibougou, Laboratoire Central vétérinaire, Bamako, Mali

\*Adresse email de l'auteur pour la correspondance : mocaly2000@yahoo.fr/hamirouban@gmail.com

**RESUME :** Au Mali comme dans presque toute l'Afrique Occidentale, les graines de nééré fermentées, dénommées « le soubala » est une denrée alimentaire couramment utilisée par les populations d'Afrique au Sud du Sahara. Appelée "*Dawadawa*" au Nigeria, ou "*nététou*" au Sénégal, il est utilisé au Mali en tant que complément nutritionnel, très prisé par les populations, et sa fabrication par les femmes rurales demeure une des principales activités génératrices de revenus. La qualité du soubala demeure limitée par plusieurs facteurs tels que la cuisson des graines, les conditions de fermentation, et surtout le séchage des boulettes. La mauvaise maîtrise de ces facteurs influe négativement sur la qualité de ce produit.

La fermentation permet non seulement d'améliorer sa valeur nutritionnelle, mais elle permet également de détruire les composés anti-nutritionnels comme l'acide phytique et l'acide cyanhydrique contenus dans les graines de nééré<sup>1</sup>. Pour obtenir un soubala de qualité meilleure et constante dans un temps court, le recours aux souches pures de bactéries de fermentation pourrait être une alternative très intéressante. A ce titre, la sélection de souches locales de bactéries de fermentation des graines de nééré permettrait non seulement d'améliorer la valeur nutritionnelle du soubala, mais d'en réduire le temps de fermentation et de produire un soubala sain.

Cette étude a été conduite pour contribuer à l'amélioration de la qualité du soubala dans la zone de Koulikoro, à l'Institut Polytechnique Rural/Institut de Formation et de Recherche Appliquée (IPR/IFRA). Elle a permis d'obtenir des souches pures de bactéries de fermentation des graines de nééré et de les utiliser dans la production du soubala. Ainsi, l'itinéraire traditionnel et les contraintes technologiques de préparation du produit ont d'abord été identifiées de façon participative avec les actrices impliquées de l'association des femmes productrices pilotes de soubala dans la zone de l'IPR/IFRA de Katibougou. Puis, les phases de pré-culture liquide et solide des souches ont été réalisées pour identifier, isoler, caractériser les souches bactériennes et déterminer les conditions optimales de leur développement en milieu liquide et solide.

La culture des souches sur milieux solides a permis, de procéder à la production, au comptage cellulaire, et à leur identification biochimique avant la réalisation des tests de fermentation des graines de nééré. Les bactéries présentes dans les milieux de fermentations naturelles réalisées par les femmes du site, notamment *Bacillus subtilis* et *B. licheniformis* ont été identifiées.

Il a été établi que la production et le conditionnement des souches bactériennes sous forme sèche, liquide ou congelée permet de les utiliser pour effectuer des fermentations qui se sont avérées plus rapides que celles traditionnellement réalisées avec la cendre.

**Mots clés:** *Parkia biglobosa*, " Soubala ", *Bacillus*, Fermentation, Mali

---

<sup>1</sup> WANG Y. C. et FUNG, 1996; STEINKRAUS, 1994; Marklinder, I. et al, 1997

## I. INTRODUCTION

Le soubala est une denrée alimentaire couramment utilisée par les populations d'Afrique au Sud du Sahara. Dénommé « *Dawadawa* » au Nigeria et « *nététou* » au Sénégal, il constitue au Mali, un complément nutritionnel très intéressant. C'est un "fromage" végétal au goût relevé, issu de la fermentation en milieu alcalin des grains de néré (*Parkia biglobosa*), arbre condimentaire de la famille des Mimosacées, de l'ordre des légumineuses. Il est très répandu dans le Sahel. Il est riche en protéines (31,2 - 47,4%), en lipides (31,2 - 42,9%); renferme des hydrates de carbone (3,6 - 23%), les cendres représentent 3,3 - 6,8%<sup>2</sup>. Une revue scientifique de la FAO citée par Ouédraogo (1986)<sup>3</sup> indique que 100g de soubala apporte à l'organisme en plus de protéines et lipides, 432 calories, 378 mg de Fe, la vitamine B<sub>2</sub>, la vitamine PP et d'autres éléments indispensables.

De nos jours, le soubala fait l'objet de beaucoup d'intérêt pour son introduction dans les industries agroalimentaires<sup>4</sup>.

Au Mali comme dans presque toute l'Afrique Occidentale, sa fabrication par les femmes rurales demeure une des principales activités génératrice de revenus. Cependant, la qualité du soubala demeure limitée par plusieurs facteurs tels que : la cuisson des graines, les conditions de fermentation, et surtout le séchage des boulettes. La mauvaise maîtrise de ces facteurs influe négativement sur la qualité de ce produit.

La fermentation permet non seulement d'améliorer la valeur nutritionnelle du soubala, mais elle permet également de détruire les composés anti-nutritionnels comme l'acide phytique et l'acide cyanhydrique contenus dans les graines de néré<sup>5</sup>.

L'utilisation des bactéries pour la transformation des denrées d'origine agricole et la production de métabolites nécessite, à priori, la sélection des souches bactériologiques efficaces et résistantes pouvant se conserver longtemps jusqu'aux conditions d'utilisation.

En effet, les normes d'hygiène et la qualité conduisent les producteurs à examiner la nature et la quantité des flores microbiennes, sources potentielles d'altérations des produits aussi bien en amont et aval du traitement, qu'au cours du stockage.

La production de microorganismes pour la promotion des petites industries alimentaires permettra de trouver des solutions aux problèmes d'hygiène alimentaire et de malnutrition. Elle passe par la sélection des souches bactériologiques efficaces et résistantes au séchage déterminant ainsi la conservation des starters microbiens dont les conséquences économiques sont très importantes<sup>6</sup>.

Pour obtenir un soubala de qualité meilleure et constante dans un temps court, le recours aux souches pures de bactéries de fermentation des graines de néré pourraient être une alternative très intéressante. C'est à ce titre que la sélection de souches locales de bactéries pour la fermentation des graines de néré permettrait non seulement d'améliorer la valeur nutritionnelle du soubala, mais d'en réduire le temps de fermentation et de produire un soubala sain. Ce qui par conséquent permettrait de protéger le consommateur et d'augmenter la valeur marchande de cette denrée. A cet effet, la présente étude s'est proposée de sélectionner les bactéries responsables de la fermentation des graines de néré à Koulikoro sur le site de l'IPR/IFRA, de déterminer les caractéristiques optimums de la production des souches identifiées, et de les utiliser dans la production du soubala dans la zone cible.

## II. MATERIELS ET METHODES

### 2.1. Matériels

#### 2.1.1. Matériel végétal

Les graines de Néré (*Parkia biglobosa*), cuites avant fermentation ont été utilisées comme substrat de fermentation réalisée par l'association des femmes productrices pilotes de l'IPR/IFRA, Katibougou.

#### 2.1.2 Matériels de laboratoire :

Ils portent sur les matériels et les réactifs. Il s'agit de matériels comme le microscope binoculaire de type Olympus pour observation microscopique des souches, l'agitateur magnétique "Nahita stirrer" pour la préparation des milieux, l'agitateur orbital "stuart mini orbital Shaker" pour accélérer la multiplication des bactéries en pré culture liquide, une hotte aspirante Telstar BH- 100 pour faire la culture et la préparation des différents milieux de façon saine, un moulinex (machine pour la mouture des graines cuites et soubala déjà préparé, un réfrigérateur pour la conservation des milieux de culture et les cultures de type "L.G. Express cool", les boîtes de pétri (jetable et ordinaire) pour la préparation des milieux solides, une balance précision chimique Nahita model

<sup>2</sup> SOPADE & al. 1996

<sup>3</sup>

[http://www.cnrst.edu.ml/downloads/revues/download\\_1.pdf](http://www.cnrst.edu.ml/downloads/revues/download_1.pdf)

<sup>4</sup> Cissé et al. 1997 ; FIESS. 1994

<sup>5</sup> WANG Y. C. et FUNG, 1996; STEINKRAUS, 1994; Marklinder, I. et al, 1997

<sup>6</sup> M. Coulibaly, 1999

5052/600. 600g/0,01g; des fioles Erlen Meyer Pyrex de 100 ml à 1000 ml pour la préparation des milieux liquides; et Erlen Meyer col étroit NALGENE de 200ml à 500 ml pour faire la pré culture liquide des souches, une étuve Memmert (labovert) pour la culture sur des milieux solide; une centrifugeuse, une autoclave All American – "Sterilizer Safely model no 25X", des pipettes, thermomètres, et des compresses et du coton pour la fermeture des fioles.

### 2.1.3. Autres matériels

Les matériels utilisés ont porté sur les réactifs utilisés, notamment, l'agar, les extraits de levure et de viande, la peptone de caséine, NaCl ; MnSO<sub>4</sub> ; le Saccharose ; l'eau distillée.

### 2.2. Méthode

L'approche méthodologique a comporté plusieurs étapes:

- Prise de contact avec l'association des femmes pilotes productrices de soubala à l'IPR/IFRA de Katibougou
- Phase de pré culture
- Sélection du milieu optimal à partir de milieux tests de pré-culture
- Observation microscopique des souches
- Phase de culture sur les milieux solides :
- Observation à la loupe des souches
- Isolement, production, identification et comptage des colonies sur milieu solide
- Test d'utilisation des deux souches de bactéries de fermentation sur les graines de Néré.
- Tests au laboratoire

## III. RESULTATS

### 3.1. Production des starters microbiens

L'utilisation des bactéries pour la transformation des denrées d'origine agricole et la production de métabolites nécessite, à priori, la sélection des souches bactériologiques efficaces et résistantes pouvant se conserver longtemps jusqu'aux conditions d'utilisation.

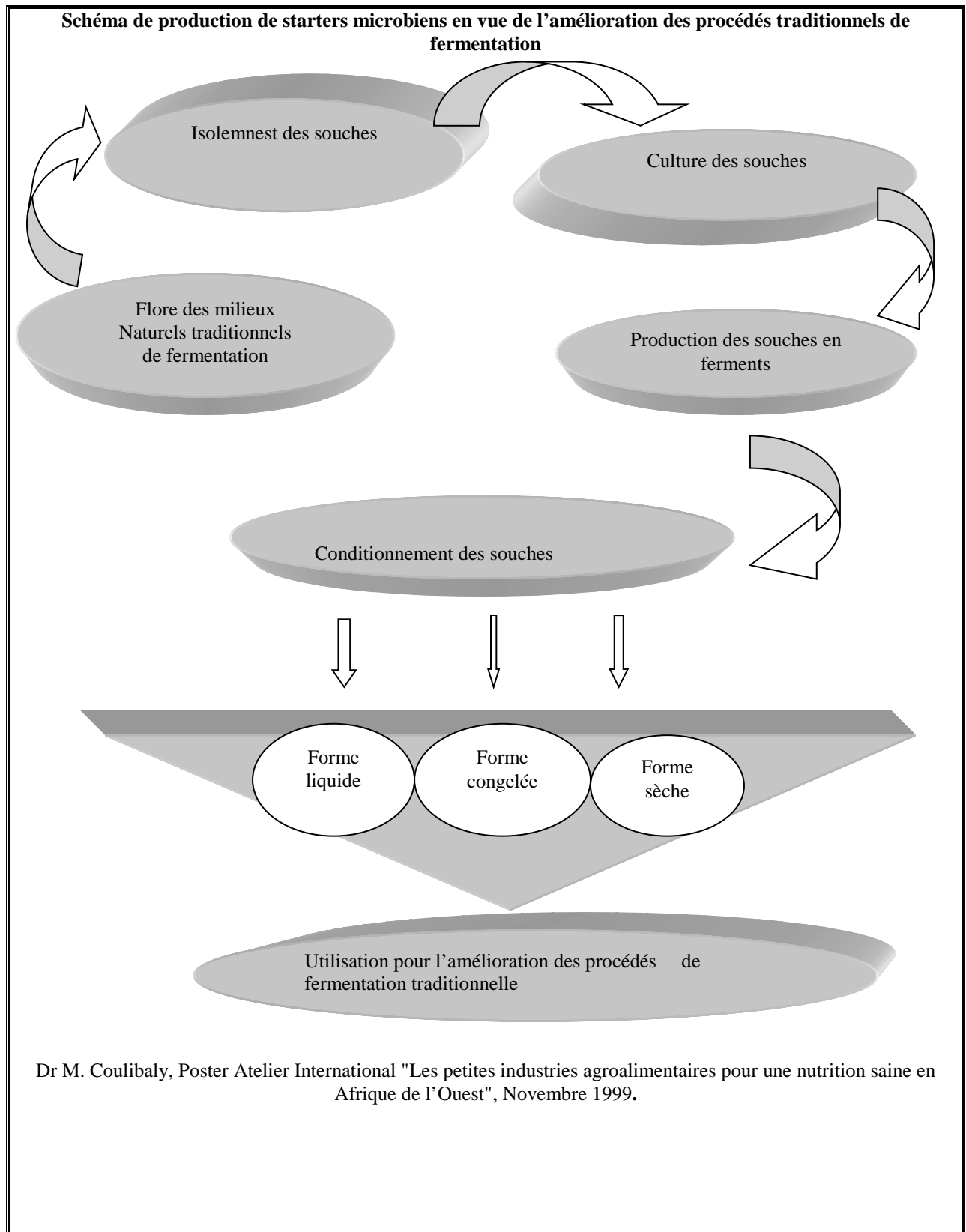
En effet, les normes d'hygiène et la qualité conduisent les producteurs à examiner la nature et la quantité des flores microbiennes, sources potentielles d'altérations des produits aussi bien en amont et aval du traitement, qu'au cours du stockage.

La production de microorganismes pour la promotion des petites industries alimentaires permettra de trouver des solutions aux problèmes d'hygiènes alimentaires et de malnutrition. Elle passe par la sélection des souches bactériologiques efficaces et résistantes au séchage déterminant ainsi la

conservation des starters microbiens dont les conséquences économiques sont très importantes<sup>7</sup>. Les starters microbiens ont été préparés suivant les étapes ci-dessous présentées sur le schéma.

---

<sup>7</sup> M. Coulibaly, 1999



### 3.2. Bactéries retrouvées dans les milieux naturels des fermentations des graines de néré

De toutes les bactéries présentes dans les milieux de fermentations naturelles préparés par les femmes de l'association pilote productrices du soubala de l'IPR/IFRA, *B. subtilis* et *B. licheniformis* ont été isolées et identifiées. Cependant en plus de celles-ci les *B. macerans* et *B. megaterium* existaient également selon l'étude menée par Dr Mouctar Coulibaly et al. en 2002.

Une telle différence dans la qualité et dans la représentativité des souches bactériennes pourrait s'expliquer par le fait que le milieu utilisé est sûrement plus sélectif que les milieux utilisés par Dr M. Coulibaly et al en 2002. De l'analyse des deux procédures méthodologiques, il ressort que la présente étude est faite dans des conditions méthodologiques plus spécifiques du point de vue matériel (agitateur orbital, fioles à col étroit NALGENE de 200 ml à 500 ml, température d'incubation entre 25 et 37°C) pour une bonne culture des souches bactériennes. Les conditions de culture et le matériel spécifique ont donc permis, dans ce cadre, de garantir les facteurs d'une culture plus spécifique et sélective pour les deux souches bactériennes qui sont *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis*. Les autres comme *B. macerans* et *mégatérium* isolés précédemment n'ont pu proliférer eu égard aux maximum de température allant jusqu'à 50°C ou ont du être isolés car les échantillons de soubala étaient de provenance différente (localité de Diakitébougou) de ceux collectés au niveau de l'association des femmes pilotes productrices de soubala à la cité des professeurs de l'IPR/IFRA.

Les différents milieux utilisés pour parvenir à isoler les souches bactériennes sont les milieux liquides en pré-culture liquide qui ont des éléments nutritifs nécessaires pour la prolifération et qui ont donné des sporulations normales. C'est surtout le cas du milieu de sporulation optimum des bactéries de fermentation des graines de néré. Les milieux solides de pré-culture solide ont donné plus de colonies des Bacilles que les autres milieux spécifiques.

### 3.3. Résultats récapitulatifs de comptages cellulaires des souches sur le milieu solides GCN et TSA:

le tableau ci-dessous montrent les résultats du comptage cellulaire dans les milieux solides des "graines cuites de néré" (GCN) et "Trypticase de Soja Agar" (TSA) :

**Tableau 1:** Récapitulatif de résultats des comptages cellulaires sur le milieu solides GCN et TSA

| Souche bactériennes           | Milieu solide GCN        |                   |                  |               |           |
|-------------------------------|--------------------------|-------------------|------------------|---------------|-----------|
|                               |                          | B 2               | 10 <sup>-3</sup> | 4,18E+05      | 418000,0* |
| <i>Bacillus</i> sp.           | B 3                      | 10 <sup>-5</sup>  | 2,31E+06         | 23100000,0    | per ml OS |
|                               | B 4                      | 10 <sup>-6</sup>  | 1,42E+07         | 142000000,0   | per ml OS |
| Milieu solide TSA             |                          |                   |                  |               |           |
| <i>Bacillus licheniformis</i> | B 2                      | 10 <sup>-3</sup>  | 3,02E+05         | 302000,0      | per ml OS |
|                               | B 3                      | 10 <sup>-5</sup>  | 4,20E+06         | 4200000,0     | per ml OS |
|                               | B 4                      | 10 <sup>-6</sup>  | 2,30E+07         | 23000000,0    | per ml OS |
|                               | B 5                      | 10 <sup>-8</sup>  | 1,40E+09         | 1400000000,0  | per ml OS |
|                               | B 6                      | 10 <sup>-10</sup> | 2,00E+11         | 20000000000,0 | per ml OS |
|                               | <i>Bacillus subtilis</i> | B 2               | 10 <sup>-3</sup> | 4,37E+05      | 437000,0  |
| B 3                           |                          | 10 <sup>-5</sup>  | 5,60E+06         | 5600000,0     | per ml OS |
| B 4                           |                          | 10 <sup>-6</sup>  | 2,10E+07         | 21000000,0    | per ml OS |
| B 5                           |                          | 10 <sup>-8</sup>  | 7,00E+09         | 700000000,0   | per ml OS |
| B 6                           |                          | 10 <sup>-10</sup> | 4,00E+11         | 40000000000,0 | per ml OS |

\*par ml d'échantillon Original, NB: les résultats des dilutions illisibles (B1) ne sont pas mentionnés ici

Il ressort des données du tableau ci-dessus, que sous les mêmes dilutions et sur les mêmes milieux TSA, les résultats de comptage cellulaire montrent des nombre relativement plus élevés de colonies bactériennes chez *Bacillus subtilis* que chez *B. licheniformis*. Sur milieu GCN, la bonne production des colonies n'est propice qu'entre les dilutions 10<sup>-3</sup> et 10<sup>-6</sup>. La production de biomasse et de bactéries de fermentation devrait donc être envisagée avec surtout *B. subtilis* et sur milieu TSA.

Les différents tests de souches bactériennes dans les milieux de la fabrication artisanale du soubala ont montré que la fermentation des graines de néré cuites avec les *Bacillus subtilis* a eu lieu avant 3 jours (48heures) dans la condition traditionnelle et aussi les *Bacillus licheniformis*. Mais la réaction de souches de *Bacillus subtilis* est plus rapide que les souches de *Bacillus licheniformis*.

Par contre la fermentation avec la cendre (potasse) a eu lieu au 3ème jour d'incubation.

La fermentation avec les souches bactériennes est plus rapide que la fermentation avec la cendre

### 3.4. Identification des souches pures par la galerie biochimique.

Après la coloration de gram, les deux souches bactériennes positives par la coloration de gram ont été ensemencées sur le milieu de culture solide de TSA pendant 24 heures dans l'étuve à une température de 37°C.

Et les résultats de chaque observation sont consignés dans le tableau suivant :

**Tableau 2 :** Identification biochimique des souches

| Les réactifs       | 3+ grosses colonies                   | Colonie sèche et blanchâtre     |
|--------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| Gram               | +                                     | +                               |
| Test à la catalase | +                                     | +                               |
| Urée               | -                                     | +                               |
| B. nitrate         | +                                     | -                               |
| O/F                | <b>O+ F+</b>                          | <b>O+ F+</b>                    |
| Mobilité           | +                                     | +                               |
| Citrate            | -                                     | +                               |
| Mannitol           | +                                     | +                               |
| Arginine           | -                                     | -                               |
| Glucose            | +                                     | +                               |
| Lactose            | -                                     | +                               |
| Maltose            | +                                     | +                               |
| Salicine           | +                                     | +                               |
| Sucrose            | +                                     | +                               |
| Xylose             | +                                     | +                               |
| Amidon             | +                                     | +                               |
| Arabinose          | +                                     | +                               |
| Gélatine           | -                                     | -                               |
| Salicine           | +                                     | +                               |
| TSI                | <b>K/A</b>                            | <b>A/A</b>                      |
| Résultats          | <b><i>Bacillus. licheniformis</i></b> | <b><i>Bacillus subtilis</i></b> |

(+) : Résultat positif et (-) : Résultat négatif

3.5. Utilisation des souches dans les tests de fermentation.

#### Dans les conditions traditionnelles

Les différents tests de souches bactériennes dans les milieux de la fabrication artisanale du soumbala ont montré que la fermentation des graines de néré cuites avec les *Bacillus subtilis* a eu lieu avant 3 jours (48

heures) dans la condition traditionnelle et aussi les *Bacillus licheniformis*. Mais la réaction de souches de *Bacillus subtilis* s'est avérée plus rapide qu'avec celles de *Bacillus licheniformis*.

Par contre la fermentation avec la cendre (potasse) a eu lieu au 3ème jour d'incubation.

La fermentation avec les souches bactériennes est plus rapide que la fermentation avec la cendre

Tests des souches bactériennes au laboratoire.

Test 1:

A 24 heures les graines de néré cuites inoculées avec 2,5 ml de pré-culture liquide des souches de *Bacillus subtilis* plus 0,2 g de potasse se sont presque fermentées, mais à 48 heures les graines cuites de néré sont bien fermentées.

Par contre, les graines cuites de néré inoculées avec 2,5 ml de pré-culture liquide des souches de *Bacillus licheniformis* plus 0,2 g de potasse sont aussi fermentées à 48 heures.

Les souches de *Bacillus subtilis* plus la potasse fermentent les graines cuites de néré plus vite que les souches de *Bacillus licheniformis* plus la potasse.

Test 2 :

A 24 heures les graines de néré cuites inoculées avec 5 ml de pré-culture liquide des souches de *Bacillus subtilis* sont presque fermentées mais à 48 heures les graines cuites sont bien fermentées.

Les graines cuites de néré inoculées avec 5 ml de pré-culture liquide des souches de *Bacillus licheniformis* plus sont aussi fermentées à 48 heures.

Les souches des *Bacillus subtilis* fermentent rapidement les graines de néré que les souches des *Bacillus licheniformis*.

## IV. DISCUSSION

La différence observée dans la qualité et la représentativité des souches bactériennes présentes dans les milieux de fermentation étudiées pourrait s'expliquer par le fait que notre milieu est sûrement plus sélectif que les milieux utilisés par Dr Mouctar Coulibaly et al en 2002. De l'analyse des deux procédures méthodologiques, il ressort que la présente étude est faite dans des conditions méthodologiques plus spécifiques du point de vue matériel (agitateur orbital, fioles à col étroit NALGENE de 200 ml à 500 ml, température d'incubation entre 25 et 37°C) pour une bonne culture des souches bactériennes.

Les conditions de culture et le matériel spécifique nous ont donc permis de garantir les facteurs d'une

culture plus spécifique et sélective pour les deux souches bactériennes que sont *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis*. Les autres comme *B. macérans* et *mégatérium* isolés par M. Coulibaly et al. n'ont pu proliférer eu égard aux maximum de température allant jusqu'à 50°C ou ont du être isolés car les échantillons de soubala étaient de provenance différente (localité de Diakitébougou) de ceux de l'association des femmes pilotes productrices de soubala à la cité des professeurs de l'IPR/IFRA. Les différents milieux utilisés pour parvenir à isoler les souches bactériennes sont les milieux liquides en pré-culture liquide qui ont des éléments nutritifs nécessaires pour la prolifération et qui ont donné des sporulations normales. C'est surtout le cas du milieu optimum, plus homogène avec une forte sporulation et une division cellulaire plus intense entraînant une meilleure fermentation des graines de néré; les milieux solides de pré-culture solide ont donné plus de colonies de *Bacillus* que les autres milieux spécifiques.

Les résultats de la galerie biochimique nous ont permis d'établir la correspondance entre les deux types des colonies. Par rapport à la coloration de gram positive, le test à la catalase est positif, la mobilité positive est le caractère commun au genre des *Bacillus*, les réactions des sucres sont positives en majorités par le virage de coloration du rose à l'apparition de la coloration jaune. Le lactose négatif est propre au *B. licheniformis*. La gélatine s'hydrolyse et congèle en présence de toutes les deux souches. Une des différences s'affiche au niveau du TSI qui enregistre une réaction acide (A/A) de *B. subtilis* contre celle alcaline (K/A) de *B. licheniformis*. Enfin, le citrate enregistre une réaction négative chez *B. licheniformis* et positive chez *B. subtilis*.

Ces résultats, telles que consignés dans le tableau ci-dessus ont permis, d'une part, d'identifier et de confirmer nos souches de cultures pures des bactéries de fermentation, et de montrer la présence de *B. subtilis* comme souche locale plus spécifique des milieux de fermentation alcaline des graines de néré dans la préparation du soubala, d'autre part.

Les différents tests de souches bactériennes dans les milieux de la fabrication artisanale du soubala ont montré que la fermentation des graines de néré cuites aussi bien avec les *Bacillus subtilis* que les *Bacillus licheniformis* ont eu lieu avant 3 jours (48 heures) dans la condition traditionnelle. L'action des souches de *Bacillus subtilis* a été plus rapide que celle des souches de *Bacillus licheniformis*. Par contre la fermentation avec la cendre (potasse) a eu lieu au 3ème jour d'incubation. La fermentation avec les

souches bactériennes est plus rapide que la fermentation avec la cendre.

Les tests effectués dans les conditions du laboratoire ont permis des fermentations presque après 24 heures des graines de néré cuites inoculées avec 2,5 ml de pré-culture liquide des souches de *Bacillus subtilis* plus 0,2 g de potasse, à 48 heures ce processus de fermentation des graines cuites de néré était bien effectif. Par contre, les graines cuites de néré inoculées avec 2,5 ml de pré-culture liquide des souches de *Bacillus licheniformis* plus 0,2 g de potasse n'ont été fermentées qu'après 48 heures révolues. D'où, les souches de *Bacillus subtilis* en présence de potasse fermentent les graines cuites de néré plus vite que les souches de *Bacillus licheniformis*. Les mêmes phénomènes sont observés lors des tests au laboratoire, en absence de potasse, mais avec une légère augmentation de la quantité de pré-culture liquide. Ces constats ne sont pas en contradiction avec les caractéristiques liées aux genres *Bacillus* qui se développent généralement en 24 heures sur le milieu usuel à pH neutre ou légèrement basique et à une température moyenne de 37°C. L'ajout de cendre ou de potasse devrait cependant être mesuré en terme de pH des milieux pour mieux les apprécier en vue d'une meilleure analyse des caractéristiques de production de chaque souche identifiée.

Il faut donc retenir que les graines fermentées au laboratoire avec les souches *Bacillus (subtilis et licheniformis)* ont une durée de fermentation plus rapide que les graines fermentées avec les souches *Bacillus (subtilis et licheniformis)* au milieu traditionnel.

## V. CONCLUSION

Cette étude nous a permis de mieux cerner les étapes de la production du soubala dans les conditions du laboratoire et domestique traditionnelle.

L'isolement et caractérisation des souches maliennes de bactéries de fermentation pour l'amélioration de la qualité du soubala, est une condition sine qua non du développement des activités de transformations de certaines de nos graines et légumineuses locales (graines de néré, soja, dah et gombo...). Ils permettent non seulement d'assurer les conditions de fabrications saines du soubala, mais de réduire les temps de production, d'élever leur valeur nutritionnelle et marchande, en assurant ainsi des revenus pour les acteurs et les actrices de cette filière de transformation.

La caractérisation de nos souches locales par leur identification biochimique et leur utilisation est une étape très importante de la transformation, de la fermentation et de la conservation.

Le résultat de l'étude permettent de noter que les milieux traditionnels de fermentation du soubala contiennent certaine quantité de bactéries intervenant toutes de façon concurrentielle dans la fermentation du soubala; les bactéries isolées exigent des conditions très spécifiques de culture (aération, la température, le pH, milieux appropriés liquides et solides). L'identification morphologique et biochimique du genre *Bacillus* présentent des caractères communs par rapport à leur sporulation, leur coloration Gram+, leur mobilité et leur action sur la catalase, mais diffère de leur taille et leur couleur. Les échantillons des souches bactériennes du soubala provenant de Katibougou et identifiés biochimiquement nous donnent deux souches de bactéries du genre *Bacillus Licheniformis* et *Bacillus subtilis*. Le comptage cellulaire nous permet d'avoir une idée nette de production et conditionnement des souches de forme sèche, liquide ou congelée en ferment. L'utilisation de ses souches s'est avérée très favorable dans la fermentation des graines de néré cuites avec les bactéries, et ce processus de fermentation s'est avéré plus rapide que celui traditionnel avec l'utilisation de la cendre. Ces résultats méritent d'être testés dans les autres foyers de production du soubala au Mali dans le cadre d'une étude plus approfondie des souches identifiées par zone. Cela permettra de passer à une étape plus renseignée et maîtrisée de production de biomasse des starters des souches bactériennes en fermenter pour une mise à l'échelle des différentes approches d'amélioration de la qualité nutritionnelle et commerciale du soubala au Mali.

#### REFERENCES :

- [1] ABDOUL K D, M, COULIBALY, 2002, Isolement et identification des souches maliennes de bactéries de fermentation des graines de Néré.
- [2] BOYAVAL P., SCHUCK P. « Le séchage des micro-organismes par atomisation », 1994, IAA111 : 807-818 ;
- [3] C. Aubert 1985 ; "les aliments fermentés traditionnels ", Ed. Terre vivante, Paris 1985 ;
- [4] CH. PILET, J.L.BOURDON, « Bactériologie médicale et vétérinaire, systématique bactérienne » p. 259 – 267 ;
- [5] CIQUAL, CNEVA 1993, Répertoire general des aliments, Tome 3, Ed.INRA, p.154-155
- [6] CISSE & al, 1997 et 1998 : Recherche des qualités organoleptiques des épices et aromates en vue de leur utilisation dans les industries Agroalimentaires.
- [7] Dr M. Coulibaly, Poster Atelier International " Les petites industries agroalimentaires pour une nutrition saine en Afrique de l'Ouest" 22-24 novembre 1999, 2 pages ;
- [8] EVRARD & DESMOND S, « Les starters microbiens, optimisation de leur production et séchage ». Unité des Bio-industries, Pr. THONART Ph., 1998, Gembloux, Belgique ;
- [9] LECLERE, 1999, « Identification et caractérisation des arômes du Soubala » ENESAD, 1999
- [10] LECLERC Arnaud, 2000, « Qualité aromatique du soubala : influence des paramètres de fermentation » ENESAD, juin 2000,
- [11] Marklinder, I. & al, « Préparations microbiennes contribuant à l'élaboration de produits alimentaires par bio-transformation (Boyaval,P& Shuck, P., 1994) »,
- [12] N'DIR & al, 1997, « Caractéristiques microbiologiques et organoleptiques du nétéu du commerce » cahiers Agricultures, 229-304, 1997
- [13] PAHUD, 1998 : Science alimentaire 2, Revue Malienne de science et de technologie n° 10 décembre 2008 ;
- [14] SOPADE & al 1996 « Moisture sorption isotherms of dawadawa, a fermented African locust bean (*Parkia biglobosa* Jacq. Benth);
- [15] STEINKRAUS, 1994, (Nutritional significance of fermented Foods », Food Research International, n°27p. 259-267;
- [16] SISSOKO A.M, 1987, « Effet de l'acide gibbérellique sur la germination et la croissance du *Parkia biglobosa* (*Parkia biglobosa* Jacq. Benth).
- [17] SYFIA, 1996, « le néré-cube, version africaine du bouillon cube ».
- [18] WANG Y.C. et FUNG, 1996, « Alkaline Fermented Foods: A review emphasis on Pidan Fermentation », Critical reviews in Microbiology, 22 (2), p. 101-138.
- [19] WEBER, 1979, « *Parkia biglobosa* (jacq. Benth) » Arbres et arbustes du Sahel : leurs caractéristiques et leurs utilisations, p ; 312-315 ;
- [20] WAITRO, 1990, « Système de qualité pour la production du soubala : le système HACCP.
- [21] Sites Web: [www.devenet.org](http://www.devenet.org)  
[http://1100f.free.fr/les\\_fermentations.htm](http://1100f.free.fr/les_fermentations.htm).  
<http://www.sicac.org> , <http://www.indianspices.com>  
[www.santé.gov.ma/Départements/DELM/cd%20Zakia/Aliment/PNMISO166491.pdf](http://www.santé.gov.ma/Départements/DELM/cd%20Zakia/Aliment/PNMISO166491.pdf)  
[http://www.cnrst.edu.ml/downloads/revues/download\\_1.pdf](http://www.cnrst.edu.ml/downloads/revues/download_1.pdf)