

AMELIORATION DU ROUISSAGE DU MANIOC PAR UTILISATION D'UN STARTER MICROBIEN DE TROIS SOUCHES

[AMELIORATION OF CASSAVA RETTING BY A STATER CULTURE OF THREE STRAINS]

Roger DJOULDE DARMAN¹, Jean Justin ESSIA NGANG², and Francois-Xavier ETOA²

¹Institut Supérieur du Sahel, Université de Maroua, B.P46 Maroua, Cameroun

²Département de microbiologie, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Cameroun

Copyright © 2015 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Cassava retting is one of the main step for cassava processing. This step involve some microorganisms which activity impact on the quality of cassava derived products. With the aims of ensuring a good quality of cassava products, tree strains of microorganism namely *Lactobacillus sp.*, *Saccharomyces sp.*, and *Rhizopus sp.*, were tested as starter culture on cassava variety TMS 3001, fermentation. The use of this starter made of 10^9 cells/ml of *Lactobacillus sp.*, 10^6 cells/ml of yeast, and 10^4 cells/ml of mould spores, permitted to reduce the retting time from five days to two days, to reduce cassava cyanogen by 95% and to ameliorate the hygienic quality of by products by eliminating pathogens development. This new approach may encourage industrial production of stabilized quality cassava derived product.

KEYWORDS: Cassava Retting, Stater Culture of Three Strains.

RÉSUMÉ: Le rouissage du manioc est l'une des principales étapes des procédées de transformation du manioc. Celle-ci fait intervenir une succession de divers micro-organismes dont l'activité a un impact sur la qualité des produits finis. Afin de permettre un meilleur contrôle du rouissage naturel, et d'assurer une meilleure qualité des produits de transformation du manioc, trois souches microbiennes dont *Lactobacillus sp.*, *Saccharomyces sp.*, et *Rhizopus sp.*, ont été testées comme starter sur du manioc amers de variété TMS 3001. L'utilisation de ce starter composé de 10^9 cellules/ml de *Lactobacillus sp.*, 10^6 cellules/ml de levures, et 10^4 cellules/ml de spores fongique, a permis de réduire la durée du rouissage de cinq jours à 40 heures, de réduire le taux de glucosides cyanogénétiques de 95%, et d'améliorer la qualité microbiologique du manioc rouis en éliminant le développement des germes pathogènes. Cette nouvelle approche permet d'augurer une production à l'échelle industrielle des produits fermentés dérivés du manioc de qualité standardisé.

MOTS-CLEFS: Manioc, rouissage, ferment.

1 INTRODUCTION

Les processus de transformation du manioc pour l'alimentation traditionnelle son très variés. Comme cette plante se cultive dans toute la zone tropicale depuis très longtemps, des techniques se sont développées et ont donné lieu à des produits très différents selon la zone considérée [1, 2, 3, 4]. Ces nombreux produits mis au point par l'expérience accumulée par les populations, qui tiennent compte des objectifs alimentaires, sociaux, économiques et culturel, ont souvent pour préoccupations essentielles, la conservation d'une denrée très périssable et l'élimination de la toxicité liée à la présence de glucosides cyanogénétiques [5, 6]. Pour atteindre ces deux principaux objectifs, les pratiques traditionnelles ont abouti à plusieurs procédés dont la fermentation conduisant à l'acidification par action des bactéries lactiques est une composante

que l'on retrouve quasiment dans tous les procédés de transformation traditionnelle du manioc [7,8;9]. Malheureusement, ce processus fermentaire qui s'effectue spontanément grâce au développement de la microflore épiphyte [10, 11], peut conduire à des produits d'une qualité organoleptique, microbiologique ou toxicologique indésirable [12, 13]). L'inoculation du manioc avec un starter de microorganismes à multiples potentialités, permettrait d'assurer la maîtrise de l'étape de fermentation et ainsi réduire voir éliminer les contraintes associés à la production des dérivés du manioc de qualité [14]. L'objectif de ce travail est donc l'utilisation d'un starter composé de trois microorganismes sélectionnés de la nature, dans le but d'améliorer les qualités toxicologiques, nutritionnelles, et microbiologiques du manioc pendant le rouissage.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 ORIGINE DES SOUCHES

Les souches ayant des potentialités multiples notamment : Etres amylolytiques, produire la β -glucosidase (linamarase), enzyme qui dégrade la linamarase, produire les pectinases, ont été isolés de la nature suivant les méthodes décrites par Olukoya [15].

2.2 PRÉPARATION ET UTILISATION DU STARTER

Les microorganismes utilisées pour la préparation de notre starter sont des souches de *Lactobacillus sp.*, *Saccharomyces sp.* *Rhizopus sp.*; toutes à activité amylolytique, linamarase et, pectinase importantes [16]. Le rouissage est effectué par ensemencement des tubercules de manioc par: Une culture mixte de *Lactobacillus sp.* contenant 10^9 cellules/ millilitre, de *Saccharomyces sp.* contenant 10^{12} cellules/ millilitre, et de *Rhizopus sp.* contenant 10^7 spores / millilitre.

2.3 MÉTHODOLOGIE

Après prélèvements aux champs, les racines de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) de variétés amer fournies par le centre I.R.A.D de Ngaoundéré, non altérées sont lavées, épluchées, puis découpées. Des lots de 500 g sont réalisés. Un premier lot est immergé dans de l'eau de pluie ou de puits, dans un erlen de 1 L, et sert de témoins de rouissage naturel au laboratoire. Un second lot est immergé dans de l'eau puis inoculée par le starter avant d'être incubé avec le premier lot, à température du laboratoire, et sert de témoins de rouissage avec le Starter. Parallèlement des prélèvements sont effectués chez une ménagère qui réalise une fermentation en puits dans un trou creusé à même le sol, remplis d'eau, par immersion des tubercules. Ceci constitue le témoin de fermentation naturel traditionnel. Des portions de tubercules et d'eau de rouissage sont alors prélevées toutes les 24 heures pour analyses biochimiques et microbiologiques.

2.4 MÉTHODES ANALYTIQUES

2.4.1 LE PH

La détermination du pH est effectuée sur de racines prélevées toutes les 24 heures de manière aléatoire dans les échantillons témoins (pH mètre p 307 consort)

2.4.2 INDICE DE PÉNÉTROMÉTRIE

Le protocole utilisé pour suivre le ramollissement des racines est l'indice de penetrometrie tel que decrit par Ampe [17].

2.4.3 PROTÉINES TOTALES

Les Protéines totales sont évaluées par la méthode modifiée de Hantzsch [18] sur des échantillons de tubercules prélevés de manière aléatoire en fin de rouissage.

2.4.4 DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION EN CYANURES TOTAUX RÉSIDUELS

Les cyanures totaux seront déterminés suivant la méthode enzymatique d'Ikediobi [19], sur des échantillons de tubercules prélevés de manière aléatoire en fin de rouissage.

2.4.5 NUMÉRATION DE LA MICROFLORE

Le suivi de l'évolution de la microflore au cours des différents rouissages se fait sur des échantillons prélevés toutes les 24 heures, par les méthodes classiques de dénombrement en boîtes de pétries d'après les méthodes de Buttiaux *et al.* [20]. En utilisant le milieu EMB (éosine méthylène bleu) pour les coliformes totaux, du Sabouraud au chloramphénicol pour la flore fongique totale, et du TSN (Trypcase-Sulfite-Néomycine) pour les Sulfito réducteurs.

3 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.

3.1 CARACTERISTIQUES DES SOUCHES DU STARTER

L'isolement, fait par screening avec pour base la production des enzymes α -amylases, β -glucosidases, polygalacturonase, et la résistance aux fortes teneurs en composés cyanés, nous a permis de retenir les souches dont les caractéristiques sont indiquées dans le tableau1, pour notre Starter.

Tableau 1 : Caractéristiques des souches du starter

Origine	Pulpe de manioc en fermentation	Pulpe en fermentation et pelures jetées	Pelures jetées et nature
Milieu d'isolement	M.R.S*	SABOURAUD*	PDA*
Morphologie	Bacilles gram +	Hyphes et Ascospores	Filaments, et Blastospores
Catalase	-	nd	nd
α -amylase	+	+	-
β -glucosidase	+	-	+
Pectine méthylesterase	-	+	+
Bactériocine	+	nd	nd
Orientation	<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Saccharomyces sp.</i>	<i>Rhizopus sp.</i>

*= Modifiés par ajout de 10g d'amidon, du K.C.N à 0,25% et, 2g du citrate de fer ammoniacal plus 1g d'esculine pour un litre du milieu.

nd= non déterminé

Le bagage enzymatique de ces souches sera mis à contribution pour l'amélioration des qualités toxicologique et nutritive du manioc [12]. En effet, la linamarase (β -glucosidase) contribuera à dégrader la linamarine, principal responsable de la toxicité du manioc [21]; l' α -amylase servira à dégrader l'amidon du manioc en sucres fermentescibles et, fournir le substrat de fermentation à la microflore toute entière [22]. La pectinéméthylesterase, contribuera au ramollissement en attaquant la pectine principale squelette rigide des cellules du manioc [23].

3.2 pH

On note une baisse plus accentuée du pH lors du rouissage avec le starter comparativement aux rouissages naturels (Fig 1). Ceci pourrait être dû à une introduction massive des lactobacilles du starter dont l'activité de synthèse des acides organiques contribue à accentuer le pH [24]. Ceci pourrait être bénéfique dans le sens de l'amélioration de la qualité hygiénique des dérivés du manioc, et même augmenter leur durée de conservation [25]. En fait les bactéries lactiques introduites ici en grande quantité, produiraient de l'acide lactique, et peut être dans certains cas de l'acide acétique [10, 26], ceci limiterait considérablement le développement des microorganismes indésirables ou pathogènes par leurs propriétés antiseptiques reconnues [27]. Pour que l'action stabilisatrice soit efficace, il faut que l'acidification soit rapide et qu'en moins de 24 heures, le pH s'abaisse en dessous de 4, ce qui est le cas ici dans le cas d'une fermentation avec notre Starter (fig 1).

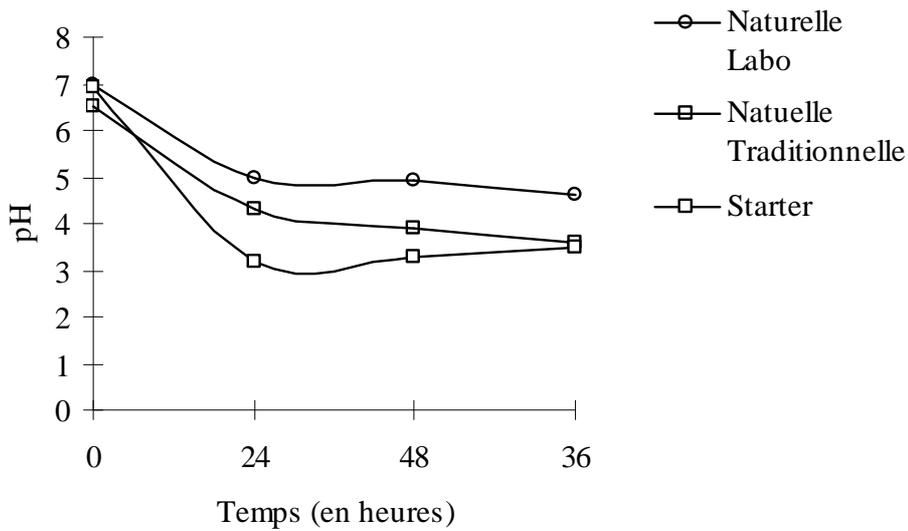


Fig 1: Evolution du pH au cours des différents types de rouissage.

On constate par contre une diminution du pH limitée dans le cas de la fermentation naturelle par la ménagère, ceci pourrait s'expliquer par les conditions dans lesquelles se déroulent la fermentation (température, accessibilité du substrat, effet tampon du milieu) non contrôlée.

3.3 RAMOLISSEMENT

Le ramollissement ici est plus rapide dans le cas du rouissage avec le starter (fig2) comparativement aux rouissages naturels.

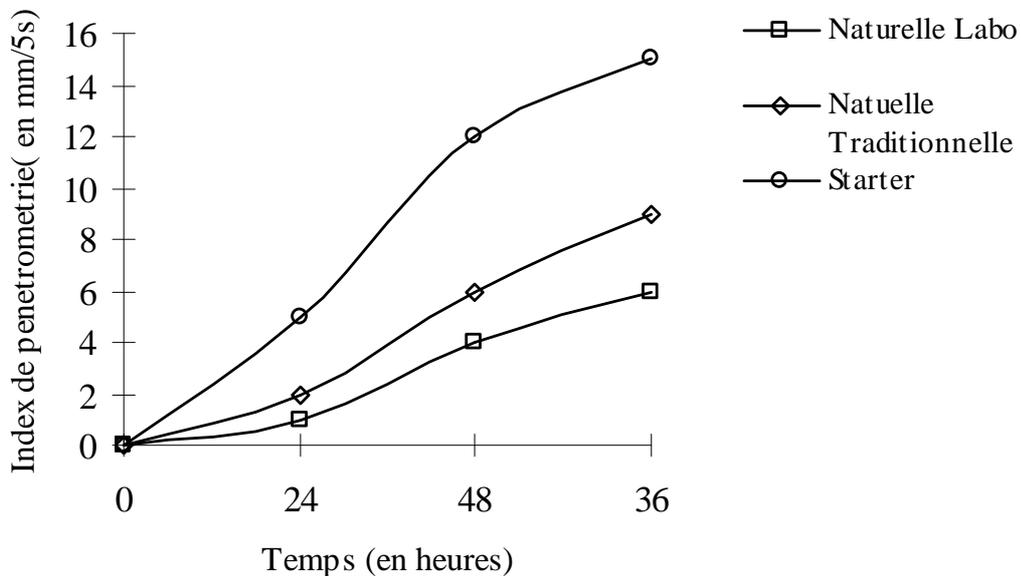


Fig 2 Ramollissement du manioc au cours des différents types de rouissages

Cette accélération du ramollissement pourrait être due à la présence dans le starter des microorganismes capables de produire la pectinéméthylésterase (tableau 1), qui est une enzyme qui contribue à la dégradation des pectines [28], par

ailleurs, constituants majeurs de la paroi cellulaire, et responsables de la rigidité de la pulpe du manioc [29]. Ampe et Brauman., [23] ont indiqué que le ramollissement du manioc ne serait pas seulement le fait du stress physique, mais surtout de l'activité des enzymes pectolytiques, dont la pectinéméthyl esterase et les polygalacturonases.

3.4 LES CYANURES ET LES PROTEINES TOTAUX

Les dosages effectués en fin de fermentation, après 48 heures, nous ont permis de constater que:

Au cours de la fermentation par le starter les glucosides totaux sont réduits de près de 95±4%, comparativement aux rouissages naturels où on observe des taux d'élimination de moins de 50% (fig 3).

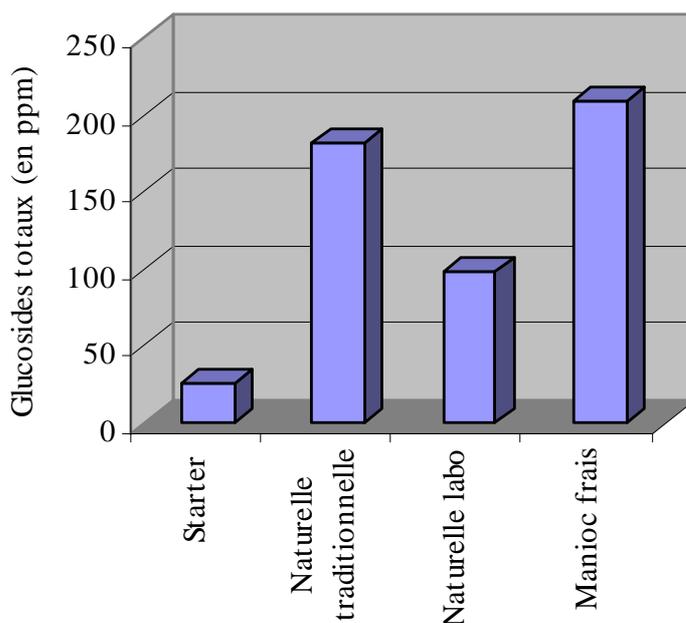


Fig 3: Distribution des Glucosides résiduels totaux après 48 heures de rouissage

Des auteurs ont fait remarquer que la linamarase endogène présente dans les racines de manioc semble suffisante pour assurer l'élimination de la linamarine [23]. Mais certains ont montrés que l'addition de la linamarase exogène pendant la phase de fermentation permet de réduire la quantité de cyanures résiduels [30, 31] et Oxtoby a isolé plusieurs bactéries capables de dégrader la linamarine [32]. La microflore exogène pourrait donc contribuer à améliorer l'élimination des cyanures présents dans le manioc [33]. La forte diminution observée au cours du rouissage avec notre starter, pourrait donc être liée à une activité linamarase exogène (des microorganismes du starter) intense. Giraud *et al.*, [21] comparant l'effet de l'inoculation de la pulpe de manioc par *Lactobacillus plantarum* A6 (amylolytique) et *Lactobacillus plantarum* lacto labo (non amylolytique), ont indiqués que la linamarine disparaissait complètement dans tous les cas, en moins de 5 heures.

3.5 LES PROTÉINES TOTALES

Les protéines totales par contre, sont augmentées de 10±2 % avec le starter alors que l'on n'observe pas de différence entre les taux de protéines dans le manioc frais, comparativement au manioc roui de manière naturelle (fig4). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que nous avons introduit massivement les levures et les moisissures par le biais du Starter, ces champignons étant tous amylolytiques (tableau 1) se seraient immédiatement multipliés et induisant une biomasse importante en fin de fermentation, ceci aurait eu pour corollaire l'augmentation de la valeur protéique du manioc après fermentation avec le Starter, les levures et les champignons par leurs corps protéiques étant une source de protéines de qualité [34, 35, 36]. Cette incrimination de l'augmentation des protéines totales aux Champignons est d'autant plus confortée que l'on observe une biomasse assez importante au cours de la fermentation par le starter avec des taux de $7,5 \cdot 10^7$ cellules /gMS après 48 heures de rouissage seulement (Fig 5).

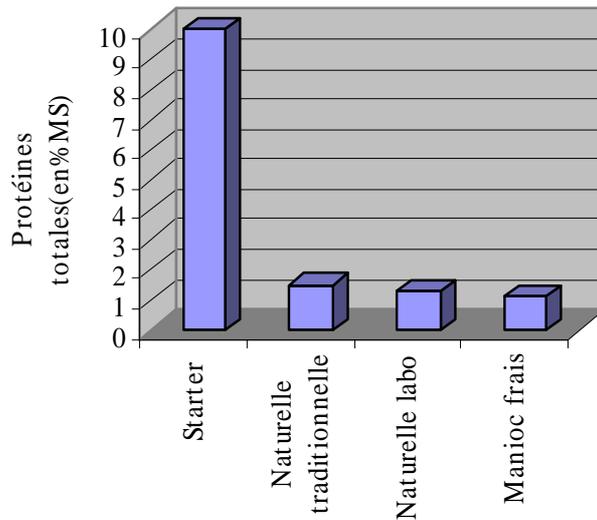


Fig 4: Distribution des protéines totales après 48 heures de rouissage

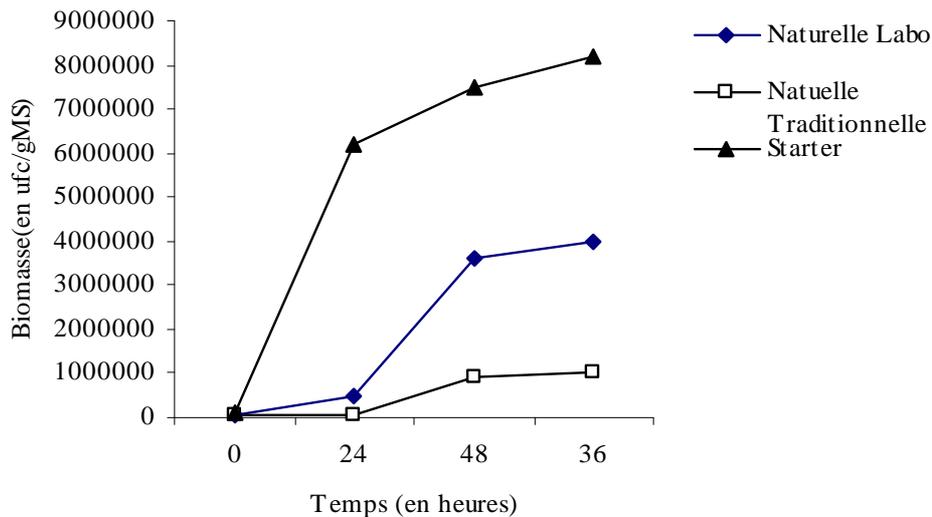


Fig 5: Evolution de la flore fongique totale au cours des différents types de fermentations

3.6 LES PATHOGÈNES

On remarque une nette diminution des coliformes et des clostridiens au cours du rouissage avec le starter comparativement aux rouissages naturels (Fig 6 et 7). Ceci pourrait s'expliquer par l'activité des bactéries lactiques que nous avons massivement introduit dans le milieu [37, 38]. En effet, ces bactéries en produisant des acides organiques pourraient jouer un rôle déterminant dans l'amélioration de la qualité hygiénique du manioc. L'effet antiseptique de l'acide lactique et acétique liée à leurs formes dissociées, nous devons le souligner, leur permet d'entrer dans les cellules bactériennes où ils s'ionisent et s'accumulent, provoquant un abaissement interne du pH et le blocage de mécanismes de transport [39].

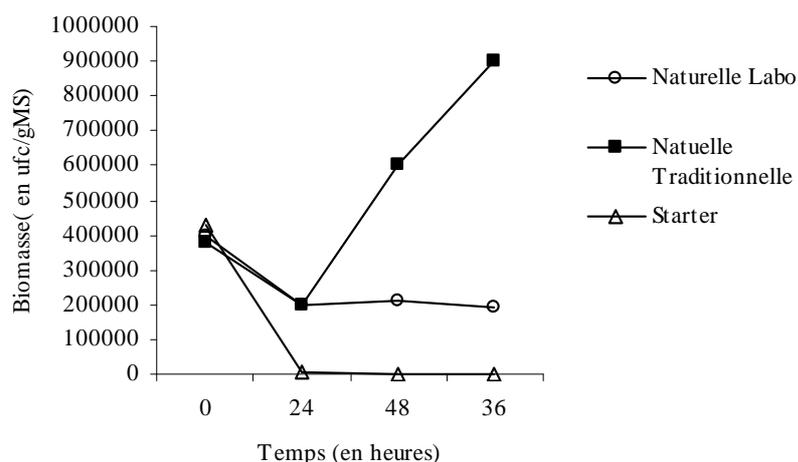


Fig 6: Evolution des entérobactéries totales au cours de différents types de fermentations

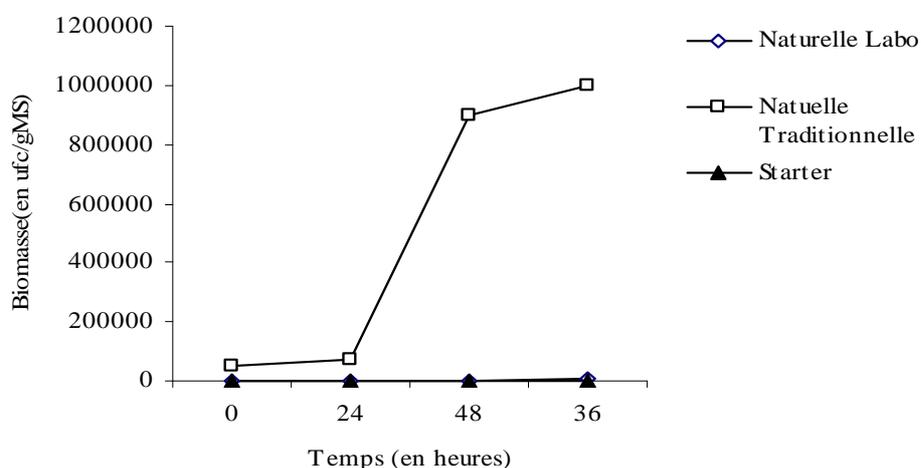


Fig 7 Evolution des Sulfite réducteurs totaux au cours des différents types de fermentations

L'action des bactéries lactiques ici dans l'inhibition des pathogènes est confortée par le fait que la bactérie lactique qui fait partie de notre Starter, comme toutes les bactéries lactiques, ne possède pas de catalase (tableau 1). En présence de l'air, leur métabolisme conduit à une accumulation de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), autre antiseptique puissant contre les germes pathogènes intestinaux [40, 41]. Svangbert *et al.* [42, 43,44] ont réalisés des études spécifiques concernant l'effet de la fermentation lactique sur la diminution de *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Shigella dysenteriae*, et les implications sur l'état des populations d'enfants alimentés avec des produits amylacés après fermentation lactique. Ils ont conclu à des effets très positifs de la fermentation lactique sur la diminution des risques de diarrhées chez ces populations infantiles. Enfin, des études ont montré que la bactérie lactique de notre starter est capable de synthétiser des bactériocines (tableau 1). Ces bactériocines, notamment la nisine, seraient actives contre certaines bactéries Gram négatives, parmi lesquelles on rencontre des entérobactéries et germes pathogènes [45, 46, 47, 48].

4 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ces résultats indiquent que l'on obtient un ramollissement plus rapide, un meilleur rendement de détoxification, un gain en protéines non négligeable, une qualité hygiénique meilleure. Malgré ces premiers essais encourageants, il faudrait penser à réaliser une étude sur la stabilité génétique de la microflore du starter, et l'utiliser sur un mélange de racines de manioc de variétés différentes, comme au cours d'un rouissage traditionnel. Nous pensons aussi rechercher le moyen d'utiliser ce

starter au cours d'une fermentation traditionnelle de manière à ce que la microflore du starter puisse supplanter la microflore naturelle et ainsi s'imposer pendant le rouissage naturel du manioc.

REFERENCES

- [1] J. C., Favier, J.Ireland-Ripert, C. Toque, & M Feinberg. *Répertoire général des aliments: table de composition= Composition tables*, 1995.
- [2] G Henry. Etudes de marchés et débouchés pour les nouveaux produits dérivés du manioc. *Griffon, Dany; Zakhia, Nadine. Valorisation des produits, sous-produits et déchets de la petite et moyenne industrie de transformation du manioc en Amérique Latine: Rapport scientifique final, Novembre 92-Décembre 95.*, 1996.
- [3] R. D Darman, J. J. E Ngang,., & F. X Etoa,., Qualité nutritive, toxicologique et hygiénique de certains produits dérivés du manioc consommés au Cameroun. *Actes du, 1*, pp. 223-227, 2007.
- [4] B. G Soulé., S.Gansari, M.& Gibigaye, Étude sur la commercialisation des produits dérivés du manioc vers les marchés des pays limitrophes (Niger, Nigeria, Togo et Burkina Faso). *Cotonou: PDRT/LARES Bénin pp 74*, 2008
- [5] C. U. Nwajiuba. Socioeconomic impact of cassava postharvest technologies on smallholders in southeastern Nigeria. 1995
- [6] N.Morante, T.Sánchez, Ceballos, H., F.Calle , J. C.Pérez , C.Egesi, & M.Fregene. Tolerance to postharvest physiological deterioration in cassava roots. *Crop Science, 50 (4)*, pp. 1333-1338, 2010
- [7] O.B. Oyewole, Cassava Processig In Africa ». In: *Application of Biotechnology to traditionnal fermented foods*. Report of an Ad-Hoc Panel of the Board on Science and Technology for international Development, USA, National Research Council : pp 89-92, 1992
- [8] J. E. Wenham . *Post-harvest deterioration of cassava: A biotechnology perspective* (Vol. 130). Food & Agriculture Org. 1995
- [9] Lacerda, I. C., Miranda, R. L., Borelli, B. M., Nunes, Á. C., Nardi, R., Lachance, M. A., & Rosa, C. A. (2005). Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. *International journal of food microbiology, 105(2)*, 213-219.
- [10] Giraud, E., Brauman, A., Keleke, S., Lelong, B., & Raimbault, M. (1991). Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Applied microbiology and biotechnology, 36(3)*, 379-383.
- [11] Anihouvi, V. B., Sakyi-Dawson, E., Ayernor, G. S., & Hounhouigan, J. D. (2007). Microbiological changes in naturally fermented cassava fish (< i> *Pseudolithus*</i> sp.) for< i> lanhouin</i> production. *International journal of food microbiology, 116(2)*, 287-291.
- [12] Trèche,S., Lagro, O., Tchibinda F., (1995) Vitafor: un atelier pilote de fabrication de farine de sevrage à base de manioc au Congo. In *Transforamtion alimentaire du Maanioc*. Ed Agbor E., Brauman A., Griffon D., Trèche S., Orstom.Paris.
- [13] Roger, D. D., Jean-Justin, E. N., & François-xavier, E. (2007). Nutritive Value, Toxicological and Hygienic Quality of. *Pakistan Journal of Nutrition, 6(4)*, 404-408.
- [14] Diallo, Y., Gueye, M. T., Sakho, M., Darboux, P. G., Kane, A., Barthelemy, J. P., & Lognay, G. (2013). Importance nutritionnelle du manioc et perspectives pour l'alimentation de base au Sénégal (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement= Biotechnology, Agronomy, Society and Environment [= BASE], 17(4)*.
- [15] Olukoya D.K. (1995) Screening of local isolate of *Lactoiba cillus* for character useful in African Food fermentations. In *Transforamtion alimentaire du Maanioc*. Ed Agbor E., Brauman A., Griffon D., Trèche S., Orstom.Paris
- [16] Darman, R. D., Etoa, F. X., Ngang, J. J. E., & Mbofung, C. M. F. (2005). Screening des microorganismes à potentialités fermentaires pour le manioc. *Tropicultura 23(1)*, 11-18.
- [17] Ampe, F, Brauman, A., Trèche S., Agossou, A.,.1994- The fermentation of cassava : optimisation by the experimental research methodology. *J. of the science of Food and Agriculture, 65* : 355-361.
- [18] Devani, M.B., Shishoo, Shah,S.A. Suhagia B.N., (1989) Spectrophotometric for the microdetermination of nitrogen in Kjeldhal digest. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem. Vol 72 (6)* 953-956.
- [19] Ikediobi,C.O., Ogundu E., Ukoa,A., 1985-Production of linamarase by *Aspergillus sydowi* and *Fusarium equiseti*. *Process Biochem., 20*: 99-102
- [20] Buttiiaux ,R., Beerens,H., Taquet,A.,(1974) Manuel de techniques bacteriologiques, 4^{ème} ed. Flamarion, Paris, 70p
- [21] Cereda, M. P., & Mattos, M. C. Y. (1996). Linamarin: the toxic compound of cassava. *Journal of Venomous Animals and Toxins, 2(1)*, 06-12.
- [21] Giraud, E., Brauman, A., Kéléké,S., Gosselin L., Raimbault M.,(1995). Contrôle de la fermentation du manioc pour un meilleur gari : Utilisation d'un starter de *Lactobacillus plantarum* à activité linamarase et amylase, In *Transforamtion alimentaire du Maanioc*. Ed Agbor E., Brauman A., Griffon D., Trèche S., Orstom.Paris.

- [22] Kostinek, M., Specht, I., Edward, V. A., Pinto, C., Egounlety, M., Sossa, C., ... & Holzapfel, W. H. (2007). Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 114(3), 342-351.
- [23] Ampe, F., & Brauman, A. (1995). Origin of enzymes involved in detoxification and root softening during cassava retting. *World Journal of Microbiology and biotechnology*, 11(2), 178-182.
- [24] Amoa-Awua, W. K. A., Appoh, F. E., & Jakobsen, M. (1996). Lactic acid fermentation of cassava dough into agbelima. *International Journal of Food Microbiology*, 31(1), 87-98..
- [25] Desiye, A., & Abegaz, K. (2013). Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria and yeast involved in fermentation of teff (*Eragrostis tef*) batter. *Adv. Res. Biol. Sci*, 1, 36-44.
- [26] Coulin, P., Farah, Z., Assanvo, J., Spillmann, H., & Puhon, Z. (2006). Characterisation of the microflora of attieke, a fermented cassava product, during traditional small-scale preparation. *International journal of food microbiology*, 106(2), 131-136.
- [27] Raimbault, M. (1995). La culture néolithique des «villages à enceinte» dans la région de Tessalit, au nord-est du Sahara malien.
- [28] Obilie, E. M., Tano-Debrah, K., & Amoa-Awua, W. K. (2003). Microbial modification of the texture of grated cassava during fermentation into akyeke. *International journal of food microbiology*, 89(2), 275-280.
- [29] Keleke, S. (1996). *Le rouissage du manioc: contribution à l'étude du phénomène de ramollissement des racines de manioc* (Doctoral dissertation Paris 12 France).
- [30] Ikédiobi, C.O., Onyia, G.O.C., Eluwa C.E., (1980) A rapid and inexpensive assay for total Cyanid in Cassava (*Mnihat esculenta* Crantz) and cassava Products, *Agr.biol.chem.*, 44, 2803-2809
- [31] Kobawila, S. C., Louembe, D., Keleke, S., Hounhouigan, J., & Gamba, C. (2005). Reduction of the cyanide content during fermentation of cassava roots and leaves to produce bikedi and ntoba mbodi, two food products from Congo. *African Journal of Biotechnology*, 4(7), 689-696.
- [32] Oxtoby, E., Dunn, M. A., Pancoro, A., & Hughes, M. A. (1991). Nucleotide and derived amino acid sequence of the cyanogenic β -glucosidase (linamarase) from white clover (*Trifolium repens* L.). *Plant molecular biology*, 17(2), 209-219.
- [33] Humblot, E. M. C. (2011). *Vers une évaluation des potentialités probiotique et nutritionnelle des bactéries lactiques constitutives du microbiote d'un aliment fermenté traditionnel à base de mil par une approche moléculaire* (Doctoral dissertation, Université Paris Descartes).
- [34] Yandju, D.L., (1989), L'importance des moisissures dans le ramollissement du manioc en fermentation sèche. Mémoire de D.E.S. Fac.Sc. UNIKIS, Kisangani, Zaïre.
- [35] Tandrianto, J., Mintoko, D. K., & Gunawan, S. (2014). Pengaruh Fermentasi pada Pembuatan Mocaf (Modified Cassava Flour) dengan menggunakan *Lactobacillus Plantarum* terhadap Kandungan Protein. *Jurnal Teknik ITS*, 3(2), F143-F145.
- [36] Kouhondé, S. H., Adéoti, K., Delvigne, F., Savadogo, A., Traore, A. S., & Thonart, P. (2014). The use of microorganisms of cassava retting for the production of pectinolytic enzymes. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 4(3), 277-281.
- [37] Coman, M. M., Verdenelli, M. C., Cecchini, C., Silvi, S., Orpianesi, C., Boyko, N., & Cresci, A. (2014). In vitro evaluation of antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501[®], *Lactobacillus paracasei* IMC 502[®] and SYN BIO[®] against pathogens. *Journal of applied microbiology*.
- [38] Jiang, Q., Stamatova, I., Kari, K., & Meurman, J. H. (2014). Inhibitory activity in vitro of probiotic lactobacilli against oral *Candida* under different fermentation conditions. *Beneficial microbes*, 1-8.
- [39] Khan, N. H., Kang, T. S., Grahame, D. A., Haakensen, M. C., Ratanapariyanuch, K., Reaney, M. J., ... & Tanaka, T. (2013). Isolation and characterization of novel 1, 3-propanediol-producing *Lactobacillus panis* PM1 from bioethanol thin stillage. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(1), 417-428.
- [40] Daeschel, M. A. (1989). Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food technology (USA)*.
- [41] Beliard, E., & Thuault, D. (1989). Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques. *Lavoisier, Paris*, 2, 283-297.
- [42] Svangbert U (1991a)-lactic fermentation of cereal-based weaning gruels and improved nutritional quality, *In traditional African Foods Quality and Nutrition*. IFS ed. 53-60.
- [43] Svangbert U (1991b) the potential role of fermented cereal gruels in reduction of diarrhoea among young children, *In traditional African Foods Quality and Nutrition*. IFS ed. 33-38
- [44] Svangbert U., Svanberg A. (1989) Improved iron availability in weaning foods using germination and fermentation. In *Nutrien availability: chemical and biological aspect*. Eds. Southgate (D.), Johnson, D., Fenwick, G., Royal society of Cheml., Spetial Pub. N° 72: 179-181
- [45] Nout (M.), Rombout (F.), Hautvast (G.), 1989- Accelerated natural lactic fermentation of infant food formulations. *Food Nutr. Bul.*, 11: 65-73.

- [46] Shaack, M., Marth, E., (1988)-Interaction between lactic acid bacteria and some food pathogens: a review. *Cultured Dairy Products Journal*, 23 :14-20
- [47] Spelhaug, S., Harlander, S. (1989) Inhibition of food borne bacterial pathogens by bacteriocins from *Lactococcus lactis* and *pediococcus pentosaceus*. *J. Food Protection*, 52:856-862
- [48] Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B., & Morelli, L. (2005). Should yoghurt cultures be considered probiotic?. *British Journal of Nutrition*, 93(06), 783-786.