

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA de Boumerdès

جامعة امحمد بوقرة بومرداس



Faculté des Sciences
Département de Biologie
Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

Formulation de milieux de culture microbiologiques à base
de poudre de pelures de banane et lactosérum doux
supplémenté ou non de poudre de coquilles d'œufs

Réalisé par :

- Bouabdellah Asma
- Boukerma Lynda
- Bouyagoub Lamia

Soutenu le : 30septembre 2021 devant le jury composé de :

M ^{me} Mohand Kaci H.	MCA (UMBB)	Président
M ^{me} Benzina F.	MCA (UMBB)	Examinatrice
M ^{me} Halladj F.	MCB(UMBB)	Promotrice
M ^{me} BarkiBoumendil I.	Médecin biologiste	Co- Promoteur

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier le Dieu tout puissant qui nous a accordé santé et courage pour mener ce travail jusqu'au bout.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de biotechnologie microbienne (UMBB) ainsi qu'au niveau du laboratoire d'analyses médicales- Chabet El Aneur - sous la direction de **Madame Halladj F.** et le médecin de laboratoire **Madame Barki-Boumendil I.**, nous tenons à les remercier pour leurs conseils et leur suivi ainsi que patience durant toute la période de réalisation de ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier particulièrement, notre promotrice Mme HalladjF. qui a accepté de nous encadrer et qui nous a guidé dans la réalisation de ce travail.

Nous exprimons également nos remerciements à **Mme Mohand Kaci H.** et **Mme Benzina F.** d'avoir accepté de faire partie de notre jury de soutenance.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à toute l'équipe du laboratoire d'analyses médicales – Barki Boumendil. Ainsi qu'aux ingénieurs du Laboratoire de Microbiologie.

Que tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, à mener à bout ce travail, trouvent ici l'expression de notre reconnaissance et notre profonde gratitude.

Merci

DEDICACES

Je dédie ce travail

A Mon père et ma mère source de ma réussite pour leurs conseils et soutien inébranlables.

A Mon ami qui continu à m'encourager et aider pour continuer mes études.

A toutes mes sœurs et tous mes frères, qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements pour leurs encouragements.

A Mon frère Mourad, paix à son âme, celui qui m'a donné du courage dans la vie afin de réaliser mon rêve et de ne pas me retourner en arrière. J'aurais souhaité qu'il puisse assister à mon succès.

A tous les membres de ma famille qui avec leurs modestes moyens ont privilégié mes études, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

A toutes mes amies en général, que je remercie pour leurs conseils.

A mon trinôme.

ASMA

DEDICACES

J'ai le grand plaisir de dédier ce travail :

A la lumière de ma vie, mes très chers parents

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, ma mère, la perle la plus chère, la source de tous mes espoirs pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa patience.

A mon père, la base de toute ma carrière, le plus cher qui existe sur terre, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à m'aider et à me protéger.

Que Dieu les garde et les protège.

A mes très chers frères :Mohamed,Mourad,Nassim et mon bébé Amine

A mes sœurs : Amel et Nawel pour leur soutien moral et leurs sacrifices.

A toutes mes amies :

Kenza, Wassila, Hamida, Ouarda, Imane, Wahiba et Sonia

A mon trinôme et amies Asma, Lamia et à toute leur famille

A ma chère grand-mère,

A la mémoire de mon grand père

A ma tante Razika que j'adore,

A toute l'équipe du laboratoire de polyclinique de Chabet-El-Ameur

Et à toute ma famille de près ou de loin.

LYNDA

DEDICACES

A mon père,

Je dédie cet événement marquant de ma vie, à la mémoire de mon père disparu trop tôt, Que Dieu miséricordieux t'accueille en son vaste paradis et ait pitié de ta belle âme.

A ma mère

Courageuse et infatigable, tu es pour moi la mère idéale. Reçoit ce travail comme une des récompenses de tes multiples sacrifices. J'espère qu'il fera d'avantage jaillir en toi la force de l'avenir. Puisse Dieu le tout puissant te permettre de vivre longtemps près de nous.

A mon très cher frère, Youcef et mes chères sœurs : Nawel, Amina, Naima, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu vous protège

A Mes amies Maroua, Yousra, Meriem, vous êtes pour moi des sœurs et amies sur qui je peux compter, entémoignage de l'amitié qui nous unie.

A mon trinôme : Asma et Lynda, Que Dieu vous protège et j'espère que tous vos souhaits se réaliseront.

LAMIA

Sommaire

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
ChapitreI : Pelures de banane	
I.1.Généralités sur le bananier	4
I.2. Variétés de bananiers.....	4
I.3. La banane, fruit du bananier.....	5
I.4. Production et marché de la banane.....	6
I.5. Pelure de banane (Péricarpe).....	8
I.6.Composition physicochimique et nutritionnelle du péricarpe.....	8
I.7. Valorisation de la pelure de banane.....	10
ChapitreII : Lactosérum	
II.1. Généralités sur le lactosérum.....	13
II.2. Types de lactosérum.....	14
II.3.Composition des lactosérums	15
II.4. Valeur nutritionnelle du lactosérum et ses bienfaits sur la santé.....	15
II.5. Impact environnemental du lactosérum.....	17
II.6.Valorisation du lactosérum.....	17
Chapitre III : Coquilles d’œufs	
III.1.Définition.....	22
III.2.Composition.....	22
III.3. Structure.....	23
III.4. Valorisation des coquilles d’œufs	24
ChapitreIV : Milieux de culture.	
IV.1.Définition et composition d’un milieu de culture.....	27
IV.2. Classification des milieux de culture	27
ChapitreV : Matériel et méthodes	
V.1.Matériel	32
V.1.1. Matériel Biologique.....	32
V.1.2. Matériel non biologique	34
V.2. Méthodes d’analyses.....	34
V.2.1. Déprotéinisation du lactosérum doux.....	34
V.2.2.1.Détermination du pH	34

V.2.2.2.Détermination des cendres totales	34
V.2.2.3.Taux d'humidité	35
V.2.2.4.Dosage des protéines	35
V.2.2.5. Dosage des sucres totaux	36
V.3.Formulation des milieux de culture	37
V.3.1.Préparation de l'inoculum des bactéries et levures test.....	38
V.3.2.Suivi de la croissance microbienne des souches test.....	38
V.3.3. Etude de la performance des milieux de culture formulés dans le test de l'ECBU.....	39
V.3.3.1. Examen cytologique : examen microscopique de l'urine non centrifugée	39
V.3.3.2. Mise en culture	39

Chapitre VI: Résultats et discussion

VI.1. Caractérisation physico-chimique de la poudre de pelures de banane.....	42
VI.2. Caractérisation physico-chimique du lactosérum doux et déprotéiné	44
VI.3. Suivi de la croissance microbienne des souches test sur milieu solide.....	46
Conclusion.....	55

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

N°des tableaux		Page
I	Top 10 des pays producteurs de bananes dans le monde	6
II	Composition (g/l) du lactosérum doux et acide	17
III	Concentration (g/l) des protéines majeures et mineures du lactosérum dans le lait de vache, brebis et chèvre	18
IV	Etude comparative du contenu des poudres d'œufs bruns et blancs	28
V	Exemple de type de milieu de culture et son utilisation	35
VI	Composition des différents milieux de culture formulés	42
VII	Résultats des paramètres physico-chimiques de la poudre de pelures de la banane	47
VIII	Résultats des paramètres physico-chimiques du lactosérum doux et déprotéinée	49
IX	Liste des solvants, produits chimiques, réactifs et milieux de culture, matériels et solutions	Annexe1
X	Liste des appareillages	Annexe2

Liste des figures

N° des figures		Page
1	Evolution des principaux groupes génomiques de la série Eumusa	5
2	Les exportations mondiales de bananes par région 2016-2020	8
3	Indice de couleur selon l'échelle commerciale des couleurs de la peau de banane	9
4	Image du lactosérum	15
5	Voies technologiques permettant l'obtention des principaux lactosérums issus de la première transformation du lait.	16
6	Propriétés du lactosérum sur la santé	18
7	Structure d'une coquille d'œuf	29
8	Les différentes étapes effectuées pour l'obtention de la poudre de pelures de bananes.	37
9	Lactosérum doux	38
10	Les différentes étapes effectuées pour l'obtention de la poudre de coquilles d'œufs bruns.	38
11	Photos originales de certains des milieux de cultures formulés	43
12	Les différentes étapes d'un examen cyto bactériologique des urines (ECBU)	45
13	Résultats de la culture des bactéries et de la levure test sur le milieu de culture microbiologique (10/90 : v/v)	53
14	Résultats de la culture des bactéries et de levure test sur le milieu de culture microbiologique formulé dans le rapport (25/75 : v/v)	55
15	Résultats de la culture des bactéries et de la levure test sur le milieu de culture microbiologique formulé dans le rapport (50/50 : v/v)	56
16	Résultats de l'analyse microbiologique de l'échantillon d'urine testée	58
17	Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres à 0,1% (BSA)	Annexe 3
18	Différentes souchesensemencées dans le milieu CHROMagar	Annexe 4

Liste des abréviations

Abréviation	
A	Extrait de PPB + Eau distillée(10/90 v:v)
A'	Extrait PPB + Eau distillée (10/90v:v) + (0,25%) poudre de coquilles d'œufs
B	Extrait PPB + Eau distillée (25/75 v:v)
B'	Extrait PPB + Eau distillée (25/75 v:v) + (0,25%) poudre de coquilles d'œufs
C	Extrait PPB + Eau distillée (50/50 v:v)
C'	Extrait PPB + Eau distillée (50/50 v:v) + (0,25%) poudre de coquilles d'œufs
1	Extrait PPB + Lactosérum doux (10/90 v:v)
1'	Extrait PPB + Lactosérum doux (10/90 v:v) + (0,25%) poudre de coquilles d'œufs
2	Extrait PPB + Lactosérum doux (25/75 v:v)
2'	Extrait PPB + Lactosérum doux (25/75 v:v) + (0,25%) poudre de coquilles d'œufs
3	Extrait PPB + Lactosérum doux (50/50 v:v)
3'	Extrait PPB + Lactosérum doux (50/50 v:v) + (0,25%) poudre de coquilles d'œufs
T	Gélose nutritive
T'	Gélose CHROMagar Orientation

Introduction Générale

Introduction Générale

Introduction

La croissance démographique, le développement industriel conduisent de nos jours, à la production de grandes quantités de déchets générés à partir du traitement industriel des matières premières agro-industriels et des habitations individuelles. Les moyens de réutiliser ces déchets alimentaires sont constamment développés et améliorés, car le gaspillage alimentaire atteint aujourd'hui des niveaux alarmants (Ramírez *et al.*, 2020). Ainsi, le développement de méthodologies pour l'utilisation de différents types de déchets alimentaires, qu'ils soient d'origine animale ou végétale, a suscité l'intérêt de la communauté scientifique, afin d'obtenir de nouveaux produits ou composés d'intérêt, ou d'optimiser les processus (Leira *et al.*, 2019 ; Costa *et al.*, 2020 ; Navarro-Peraza *et al.*, 2020).

En effet, les déchets agro-industriels et ménagers présentent une grande diversité et il a été démontré qu'ils avaient un potentiel d'application dans différents domaines, tels que l'utilisation comme une source de fibres, de polyphénols et de composés bioactifs en général (Tagliani *et al.*, 2019 ; Costa *et al.*, 2020), et la gestion des résidus de fruits et légumes pour la consommation humaine et animale (Ramírez *et al.*, 2020).

Actuellement, le monde entier inclut notre pays traverse une crise sans précédent liée au coronavirus (Covid-19) qui a eu un impact important sur notre vie socio-économique. Pour remédier à cette situation, il faudrait appliquer une stratégie pro-active comme mesure drastique et efficace aux ambitions d'un développement durable (Malick, 2020). En outre, suite à son adhésion à différents accords et protocoles internationaux dans le domaine de l'environnement et du développement durable, l'Algérie a adopté, depuis le début des années 2000, une nouvelle politique sur la protection de l'environnement à travers la mise en œuvre d'une Stratégie Nationale de l'Environnement (SNE) qui place la gestion saine et intégrée des déchets comme une des priorités du gouvernement algérien (Tolba *et al.*, 2020).

Les milieux de culture fournissent aux micro-organismes les nutriments nécessaires à leur croissance. Il existe de nombreuses matières premières pour la préparation de ces milieux qui peuvent être utilisés pour la croissance microbienne ou à d'autres fins, comme les milieux sélectifs ou différentiels, et les milieux pour stimuler la production de composés microbiens (Rouf *et al.*, 2017). Ainsi, certaines études ont noté que les formulations à base de sous-produits végétaux ou animaux pouvaient être avantageuses comme milieux de culture alternatifs, puisque ces substrats fournissent plusieurs nutriments, notamment des hydrates de

Introduction Générale

carbone, des protéines, des vitamines et minéraux, etc. essentiels à la croissance des micro-organismes (Ravimannan et Pathmanathan, 2016 ; Cruz *et al.*, 2020).

En Algérie, l'Institut Pasteur est l'organisme principal responsable de la préparation de milieux de culture microbiologiques commercialisés prêts à l'emploi ou sur demande d'institutions ou universités pour leurs activités scientifiques. La majorité des milieux de culture sont élaborés à base de composés synthétiques déshydratés importés ce qui augmente leur coût. L'intégration des déchets ménagers d'origine végétale (épluchures, graines, cosses, pulpe, etc.) ou animale (os, viscères, sang, etc.) sous forme diverses (extraits, infusion, poudre, etc.) pourrait constituer une solution pour réduire la pollution environnementale d'une part, et la production de produits à valeur ajoutée destinés à la culture de microorganismes (bactéries, levures, moisissures, etc.) et susceptibles d'être utilisés dans les institutions et universités locales aux difficultés financières. Ces derniers peuvent également être exportés aux pays sous-développés avoisinant à faible revenu (Niger, Cameroun, Angola, etc.) et contribuer au développement économique du pays.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail basé sur la valorisation des pelures de banane collectées de l'activité ménagère domestique, du lactosérum doux (de l'industrie laitière)supplémenté ou non avec la poudre de coquilles d'œufs dans la formulation de milieux de culture microbiologiques alternatifs aux milieux commercialisés.

Les différentes étapes adoptées dans ce travail sont comme suit :

- 1- Préparation d'une poudre à partir des pelures de bananes séchées ;
- 2- Déprotéinisation du lactosérum doux ;
- 3- Caractérisation physico-chimique (pH, matière sèche, humidité, cendres, teneur en sucres totaux et protéines totales) de la poudre de pelures de bananes et du lactosérum doux brut et déprotéiné ;
- 4- Formulation de milieux de culture solides à base de l'extrait de mélange de la poudre de pelures de banane diluée dans de l'eau distillée ou lactosérum doux en présence ou absence de la poudre de coquilles d'œufs ;
- 5- Etude de l'aptitude des milieux de culture élaborés à travers la culture de souches microbiennes test (bactéries et levures) par comparaison à un milieu témoin (gélose nutritive) ;
- 6- Etude comparative entre les milieux de culture formulés et les milieux de routine utilisés dans les laboratoires d'analyses microbiologiques dans le test de l'examen cytbactériologique des urines (ECBU).

Chapitre I

Chapitre I : Pelure de banane**I.1. Généralités sur le bananier**

La banane-dessert est l'une des principales cultures fruitières comme source d'énergie dans le monde, principalement pour les personnes vivant dans les régions tropicales et subtropicales. Considérée comme première production mondiale fruitière, devant les raisins et l'orange, près de 130 pays produisent la banane et plus de 1200 espèces existent. La production et le commerce des bananes constituent, dans les pays de production des enjeux socio-économique et politique importants (Bonnet-Bruno, 2012). Originaires d'Asie du Sud-est, les premières traces de bananiers datent de 7 000 av. J.-C en Inde. Ces derniers se sont répandus de l'Inde à la Polynésie et cultivés depuis près de 10 000 ans. Transportés par les commerçants, ils se sont propagés vers l'Afrique de l'ouest, il y a au moins 2500 ans. En 1502, les Portugais amènent les premiers bananiers des îles Canaries vers les Caraïbes, l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud. C'est au 18^{ème} siècle que la banane prend véritablement son essor aux Antilles. Plus de cinq millions de bananiers sont recensés à cette époque. Ce n'est cependant qu'au début du 20^{ème} siècle que la culture de la banane prend toute sa dimension en Guadeloupe et Martinique. Après la crise de la canne à sucre dans les années 60, qui occasionne notamment la fermeture de nombreuses distilleries, la banane devient alors la première richesse agricole des îles. Ainsi, les migrations humaines et les échanges de matériel végétal ont introduit le bananier dans des situations écologiques très différentes sur tous les continents (Bonnet-Bruno, 2012).

I.2. Variétés de bananiers

La majorité des variétés de bananiers sont issues des deux espèces à graines *Musa acuminata* (génome A) et *Musa balbisiana* (génome B) ou de leur croisement qui a donné naissance à différentes variétés. D'un point de vue botanique, on distingue les bananiers séminifères ou bananiers sauvages à fruits non comestibles des bananiers à fruits parthénocarpiques et comestibles avec 1200 variétés et représentent une diversité génétique non négligeable. Généralement, les bananiers sauvages sont tous diploïdes tandis que les variétés cultivées actuellement sont généralement des clones triploïdes stériles et aspermes (AAB et ABB), issus soit de croisements interspécifiques entre les deux espèces séminifères sauvages diploïdes principales *Musa acuminata* et *Musa balbisiana*, soit de la seule espèce *M. acuminata* (AAA) (Figure 1)(Jones, 2000).

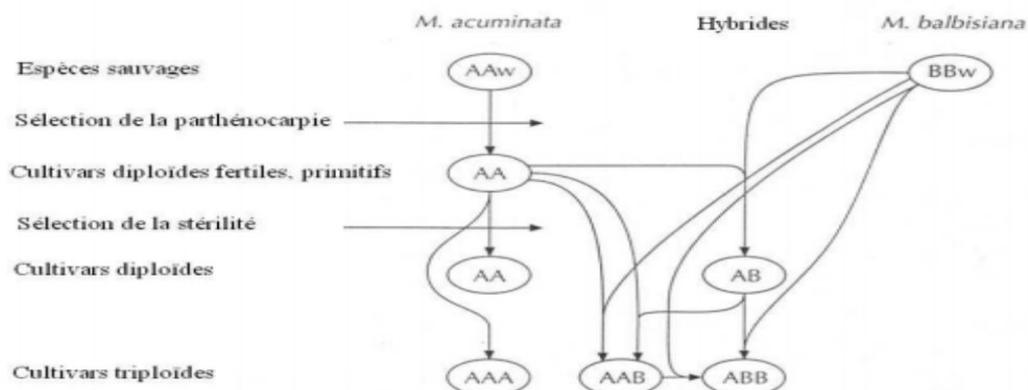


Figure 1: Evolution des principaux groupes génomiques de la série Eumusa (Jones, 2000)

Trois espèces communes de *Musa* (*M. cavendishi*, *M. paradisiaca* et *M. sapientum*) sont largement cultivées à travers le monde. *M. cavendishi* est le triploïde pur (AAA) également connu comme la banane « dessert ». Elle se consomme à l'état frais et est douce et moins amidonnée que *M. paradisiaca*. L'espèce *M. sapientum*, connue sous le nom de vraie banane, peut être consommée crue à maturité. *paradisiaca* et *M. sapientum* appartiennent toutes deux au groupe AAB caractérisées par une teneur élevée en amidon comparé à *M. cavendishi* (Siddiqet *al.*, 2020).

Malgré la grande diversité existant au niveau des variétés de bananier, presque tous les génotypes utilisés commercialement dans les échanges internationaux sont issus de mutations de *Musa* AAA (sous-groupe "Cavendish") sélectionnées sur le terrain. Il s'agit de Grand Naine", "Lacatan", "Poyo", "Robusta", "Valery" et "Williams", qui se distinguent largement les uns des autres par la hauteur du pseudo-tige (Thompson *et al.*, 2019).

I.3. La banane, fruit du bananier

Chaque fruit est une baie et est appelé "doigt". La peau, ou pelure, est une fusion de l'hypanthium (réceptacle floral) et de la couche externe (exo-carpe) du péricarpe (paroi du fruit dérivée de la paroi de l'ovaire) et se détache facilement de la pulpe charnue qui provient principalement de l'endocarpe (couche la plus interne du fruit). Au cours du développement du fruit à partir de l'ovaire, les tépales, le style et les staminodes s'abscondent, laissant une cicatrice calleuse caractéristique à l'extrémité du fruit. L'apex du fruit peut être effilé, arrondi ou émoussé et peut être utilisé pour distinguer les variétés. La couleur, la taille, la forme, la

texture et la saveur des bananes *Musa* communes dépendent du cultivar. Elles sont généralement allongées-cylindriques (3-40 cm de long et 2-8 cm de diamètre), droites à courbées. La peau, dont l'épaisseur varie, est fibreuse et peut être verte, jaune ou rouge. La chair, blanche à crème, jaune ou jaune-orange à orange, est amidonnée à sucrée (Lobo et Roja, 2020).

I.4. Production et marché de la banane

La banane est une culture de premier plan dans la production et le commerce agricoles à l'échelle mondiale. En raison de l'accroissement démographique rapide des pays producteurs et de la hausse de la demande mondiale à l'importation, les volumes de production et d'échanges ont rapidement augmenté au cours des dernières décennies. La banane étant essentiellement cultivée de manière informelle par des petits agriculteurs, il est difficile d'obtenir des chiffres précis sur sa production à l'échelle mondiale. En tant que fruit de base, la banane représente la huitième source de féculents dans le monde et sa consommation par habitant est estimée à environ 0,5 kg/jour en Amérique latine et plus de 1 kg/jour en Afrique de l'Est. En plus d'être une source de glucides pour plus de 500 millions d'habitants des pays tropicaux, la banane revêt également une importance économique majeure, car ce fruit représente une part considérable du revenu annuel des petits exploitants agricoles (Bello-Pérez *et al.*, 2012).

Dans le monde, 116 781 658 tonnes de bananes sont produites par an. L'Inde est le premier producteur avec 30 460 000 tonnes de production par an, soit 26,02% de la production mondiale. Le top 10 des principaux producteurs de bananes en 2019 est rapporté dans le Tableau I (FAO, 2020).

Tableau I: Top 10 des pays producteurs de bananes dans le monde (FAO, 2020)

Pays	Production (tonnes)	Superficie (hectares)
Inde	30 460 000	866 000
République Populaire de chine	11 998 329	358 924
Indonésie	7 280 659	132 214
Brésil	6 812 708	461 751
Equateur	6 583 477	183 347
Philippines	6 049 601	185 894
Guatemala	4 341 564	90 240
Angola	4 036 959	162 156
Tanzanie	3 406 936	302 758
Colombie	2 914 419	105 609

En outre, depuis le début de la pandémie de COVID-19 au début de l'année 2020, le bon déroulement de l'approvisionnement mondial en bananes a été compromis par l'impact de la maladie sur la main-d'œuvre ainsi que par les mesures d'atténuation qui ont été mises en œuvre, telles que les restrictions des mouvements de personnes et la fermeture temporaire des frontières et des plateformes logistiques. S'il est difficile de tirer des conclusions claires en raison des nombreux facteurs en jeu, ces deux problèmes semblent avoir affecté la production, le transport, la distribution, la commercialisation et la consommation de bananes fraîches en 2020, avec des perturbations et des contractions temporaires ou plus durables, qui ont particulièrement entravé les exportations (FAO, 2021).

À ce titre, les exportations de l'Amérique latine et des Caraïbes (ALC), première région exportatrice au monde, ont connu une croissance estimée à 6,6 % en 2020, pour atteindre un total de 17,1 millions de tonnes - soit près d'un million de tonnes de plus que le niveau de 2019. L'Équateur, premier exportateur mondial de bananes, a enregistré une croissance estimée à 5,6 % de ses expéditions, pour atteindre un niveau sans précédent de 6,9 millions de tonnes. Les exportations du Costa Rica ont augmenté de 21% en 2020, pour atteindre 2,6 millions de tonnes, permettant au pays de retrouver sa position de deuxième exportateur de la région. De même, les exportations de la Colombie, quatrième fournisseur de bananes de la région ALC, ont atteint une quantité estimée à 2 millions de tonnes après une expansion de 7,3 % en 2020. En revanche, les exportations du Guatemala, troisième exportateur de la région ALC, ont enregistré une contraction de 0,2 pour cent en 2020, pour un total de 2,4 millions de tonnes. Outre les difficultés liées au COVID-19, les exportations du pays ont été entravées par des pénuries de production causées par deux ouragans qui ont traversé l'Amérique centrale en novembre 2020. Les exportations des Caraïbes auraient augmenté à un rythme rapide en 2020, atteignant une quantité estimée à 690 000 tonnes, soit une hausse de 69 % par rapport aux quantités exportées en 2019. Selon les données et informations provisoires, les exportations de bananes d'Asie ont subi une baisse de 12,4 % en 2020, à 4,4 millions de tonnes, induite par les impacts négatifs de la pandémie de COVID-19 sur la production de bananes dans la région. Les exportations de l'Afrique ont enregistré une contraction estimée à 8,2 pour cent en termes de quantité en 2020, face aux difficultés de production, de récolte et de transport des bananes induites par le COVID-19. Le principal exportateur de la région, la Côte d'Ivoire, a enregistré une contraction des exportations de 5,5 pour cent en 2020, à 390 000 tonnes interrompues par l'impact de la pandémie (FAO, 2021).

La figure 2 montre l'évolution des exportations de banane par région sur la période 2016-2020 (FAO, 2021).

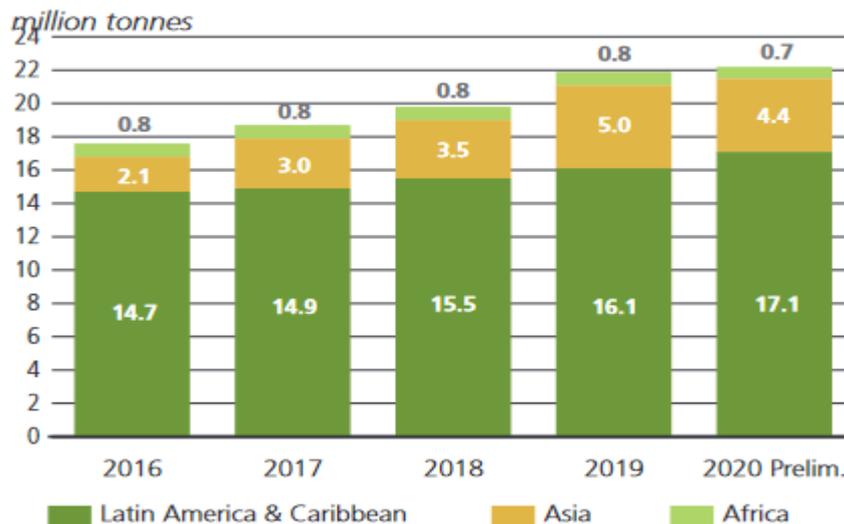


Figure 2: Les exportations mondiales de bananes par région 2016-2020 (FAO, 2021)

L’Algérie compte parmi les pays consommateurs et destinataires des expéditions de bananes exportées. Ainsi, le taux d’importation de bananes a connu une forte hausse durant l’année 2020 (301 000 tonnes) comparativement à l’année 2019 (241 000 tonnes), soit une augmentation de 25% (FAO, 2021).

I.5. Pelure de banane (Péricarpe)

La pelure de banane représente 30 à 40 % du poids total de la banane, générant chaque année environ 50 millions de tonnes des déchets. Ces déchets de peaux de bananes (pelures) sont produits dans les marchés aux fruits, les ménages, la restauration collective et l’industrie agroalimentaire. La dégradation de cette biomasse produit des gaz qui dégagent des odeurs (FAO, 2018).

I.6. Composition physicochimique et nutritionnelle du péricarpe

I.6.1. Structure cellulaire

La peau se compose de plusieurs assises cellulaires dont l’épiderme qui est constitué de cellules très serrées assurant une bonne protection contre les insectes, les champignons, le parenchyme qui est constitué de plusieurs couches cellulaires d’autant plus lâches que l’on se rapproche de la pulpe. Ceci explique d’ailleurs le clivage facile peau- pulpe. Ce sont les cellules du parenchyme qui contiennent la chlorophylle dont la couleur change lors du mûrissement, et les faisceaux cribro-vasculaires qui servent au transport de l’eau et des

nutriments (ils sont plus ou moins accolés à la pulpe lors de l'épluchage (Bonnet-Bruno,2012).

I.6.2.Couleur

Une banane verte contient deux classes de pigments vert (chlorophylle) et jaune (carotène). Pendant la maturation, la chlorophylle est dégradée progressivement par l'action des chlorophyllases révélant ainsi, le carotène et la banane non mûre présente une haute concentration en chlorophylle dans la peau alors que dans la banane mûre, cette teneur est pratiquement nulle. Ces stades de maturité sont définis en fonction des teneurs en amidon et en sucres totaux pour chacun d'eux. Ces différents stades de maturation sont également décrits en fonction de la couleur de la peau (Bonnet-Bruno, 2012).

Généralement, il existe huit stades de maturité chez les bananes comestibles et dans le commerce, sept stades de maturation sont déterminés visuellement comme indiquée par la figure 3 (Aurore *et al.*, 2009).

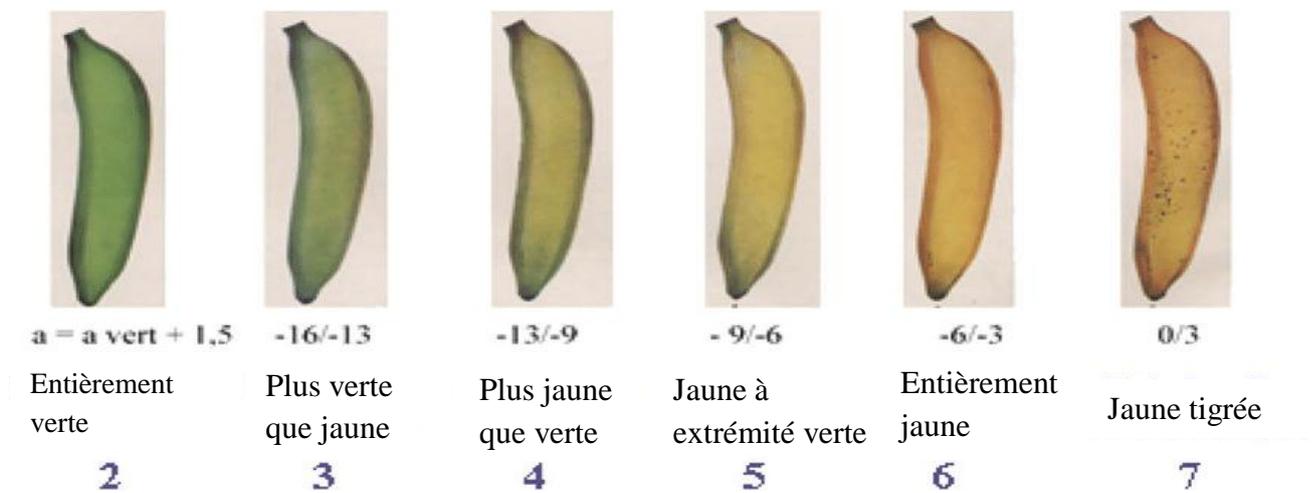


Figure3: Indice de couleur selon l'échelle commerciale des couleurs de la peau de banane (Aurore *et al.*, 2009).

I.6.3.Composition nutritionnelle de la pelure de banane

Les constituants de la peau en pourcentage du poids frais sont comme suit: l'eau (89,45), les glucides totaux (2,29), les sucres totaux (2,06), le saccharose (1,55), les pectines (0,58), les sucres réducteurs (0,51), les lipides (0,50), et l'amidon (0,23) (Bonnet-Bruno, 2012).

I.6.3.1. Les protéines et autres composés aminés de la peau de banane

L'indice chimique comparé à la protéine référence de la FAO varie de 20,8 à 63,3 selon les variétés de bananes. La leucine, la valine, la thréonine, la phénylalanine sont les principaux acides aminés essentiels présents dans la peau des différentes variétés de bananes. La lysine est l'acide aminé limitant, avec des concentrations faibles et inférieures à celles de la protéine référent, pour toutes les variétés de bananes. Cet indice chimique diminue du stade 1 au stade 7 de maturité pour les bananes et plantains, ce qui indique que les peaux de bananes ont une bonne qualité protéinique au stade 1 de maturité (Bonnet-Bruno, 2012).

Les teneurs en acides aminés essentiels des peaux de bananes varient de 1,7% à 2,6% avec une valeur moyenne autour de 2,1%, alors que pour les acides aminés non essentiels, les quantités vont de 2,6 % à 5,5%, avec une valeur moyenne autour de 4,0%. Le ratio en acides aminés non essentiels (environ 70%) est supérieur à celui en acides aminés essentiels (30%) (Bonnet-Bruno, 2012).

I.7. Valorisation de la pelure de banane

Compte tenu de l'importance de réduction de la pollution environnementale causée par ce type de déchets agro-industriels (pelures), de nombreuses études se sont concentrées sur la possibilité de leur valorisation et utilisation soit directement comme aliment ou engrais ou comme matière première dans l'élaboration de produits à valeur ajoutée (Palacio-Ponce *et al.*, 2017).

I.7.1. Aliment pour animaux

De nombreuses études ont montré le potentiel d'utilisation de pelures de bananes comme additif alimentaire pour le bétail (Nambi-Kasoziet *al.*, 2014), la volaille (Abel *et al.*, 2015), les lapins (Nuriyasaet *al.*, 2019), les animaux aquatiques, en particulier, la crevette géante d'eau douce (Rattनाविचाैiet *al.*, 2015), le poisson Rohu (Giriet *al.*, 2016), le tilapia rouge (Mones *et al.*, 2017).

I.7.2. Biofertilisant

Plus récemment, du nano-engrais extrait des peaux de bananes a été appliqué dans l'agriculture pour améliorer la culture des plantes comme la tomate et le fenugrec. Les données ont ainsi, révélées que le pourcentage de germination augmentait avec la dose croissante d'extrait de peau de banane pour la culture de la tomate avec un pourcentage de germination qui est passé de 14% (contrôle sans nano) à 97% après 7 jours de plantation. La même tendance a été observée pour la culture du fenugrec, le pourcentage de germination a augmenté de 25% (contrôle sans nano) à 93,14% (Hussein *et al.*, 2019). Plusieurs études ont

également, démontré que le co-compostage des pelures de bananes avec d'autres déchets est une pratique appropriée. (Kalemelawaet *al.*, 2012), par exemple, ont réalisé le compostage des pelures avec du fumier animal, de la litière de volaille ou des vers de terre facilitait grandement la minéralisation et les composts finaux étaient riches en teneur en potassium (K) et en azote (N) élevée (>100 g/kg et >2%), respectivement.

I.7.3. Bio-adsorbant

Du charbon actif préparé à partir de peaux de bananes a été évalué pour l'adsorption des émissions de gaz d'échappement de motos (Vienaet *al.*, 2019). Alaa El-Din *et al.* (2018) ont noté la capacité d'adsorption de pelures de bananes pour l'élimination des déversements d'hydrocarbures. Ces derniers ont conclu que l'utilisation de peaux de bananes comme bio-adsorbant pour le traitement des environnements contaminés, en particulier les eaux usées, est encourageante, grâce à l'avantage d'être une biomasse naturelle, peu coûteuse et à forte capacité de bio-adsorption.

I.7.4. Production de l'énergie

✓ **Bioéthanol**

Ces dernières années, des efforts croissants ont été déployés pour développer des biocarburants afin de minimiser la dépendance aux combustibles fossiles, qui ont un impact négatif sur l'environnement (Molinoet *al.*, 2018). Le bioéthanol est ainsi, reconnu comme un carburant alternatif à côté de l'utilisation du pétrole brut (Singh et Singh, 2010). Il présente plus d'avantages en termes d'efficacité énergétique que sa matière première (Wangporet *al.*, 2017). Les études de Guo *et al.* (2019) et Nwabane et Aghadi (2018) ont démontré la production avec succès de l'éthanol à partir des déchets de peaux de bananes prétraitées (hydrolyse enzymatique ou acide) comme matière première.

✓ **Biogaz**

Selon Rashwan. (2015), le fumier de bovins et la peau de banane comme co-substrat offrent une matière première attrayante pour la production de biogaz. Dans leur étude, un rendement intéressant en biogaz est obtenu en utilisant un mélange de 40 % de peaux de bananes avec du fumier de bovins comparé aux mélanges à base de 0, 20 et 60% de pelures de bananes (en poids). Plus récemment, des peaux de bananesensemencées avec de la bouse de vache ont produit plus de biogaz que lorsqu'elles étaient utilisées indépendamment. De plus, le rendement en biogaz obtenu était supérieur à celui des peaux de plantains fraîches ou sèches (Tambuwal *et al.*, 2019).

Chapitre II

Chapitre II : Lactosérum

II.1. Généralités sur le lactosérum

Le lactosérum ou sérum ou encore petit lait (Figure 4), est un sous-produit laitier liquide de couleur jaune verdâtre obtenu pendant la production du fromage, de la caséine ou de produits similaires, par séparation du caillé après coagulation du lait (de Wit, 2011). L'utilisation du lactosérum et de ses produits remonte aux années 1970. A cette époque, le lactosérum était utilisé dans les bains en raison de ses principes actifs bénéfiques, qui non seulement ont des qualités anti-inflammatoires, mais qui nourrissent également la peau (Walzemet *al.*, 2002). Toutefois, la bonne réputation de ce dernier a commencé à s'estomper lorsque celui-ci fut considéré comme un déchet encombrant, car à la fois très polluant, et produit en grandes quantités par l'industrie fromagère ; environ 9 litres de lactosérums sont produits pour chaque kilo de fromage fabriqué (Chatzipaschali et Stamatis, 2012 ; Castelli et Du Vale, 2013).



Figure 4 : Image du lactosérum (De Wit,2011)

L'Europe est le leader mondial de la production de fromage et, par conséquent, le plus grand producteur de lactosérum. On estime à 10 millions de tonnes la quantité de fromage consommée chaque année dans l'Union européenne annuellement ; les Européens ont consommé 14,2 kg de fromage en 2017. D'après les projections de la consommation de fromage par habitant, les Européens consommeront 16 kg de fromage d'ici 2025, alors que des différences de consommation distinctes sont présentes entre les pays (Papademas et Kotsaki, 2019).

Traditionnellement, le petit-lait était éliminé, mais les dommages environnementaux causés par l'élimination du lactosérum non traité est désormais reconnu (Smithers, 2015).

II.2.Types de lactosérum

Selon le procédé d'obtention, différents types de lactosérums peuvent ainsi être obtenus comme illustré sur la figure 5. Ces lactosérums peuvent être classés en deux principales catégories selon l'acidité du liquide obtenu (Alais, 1984) :

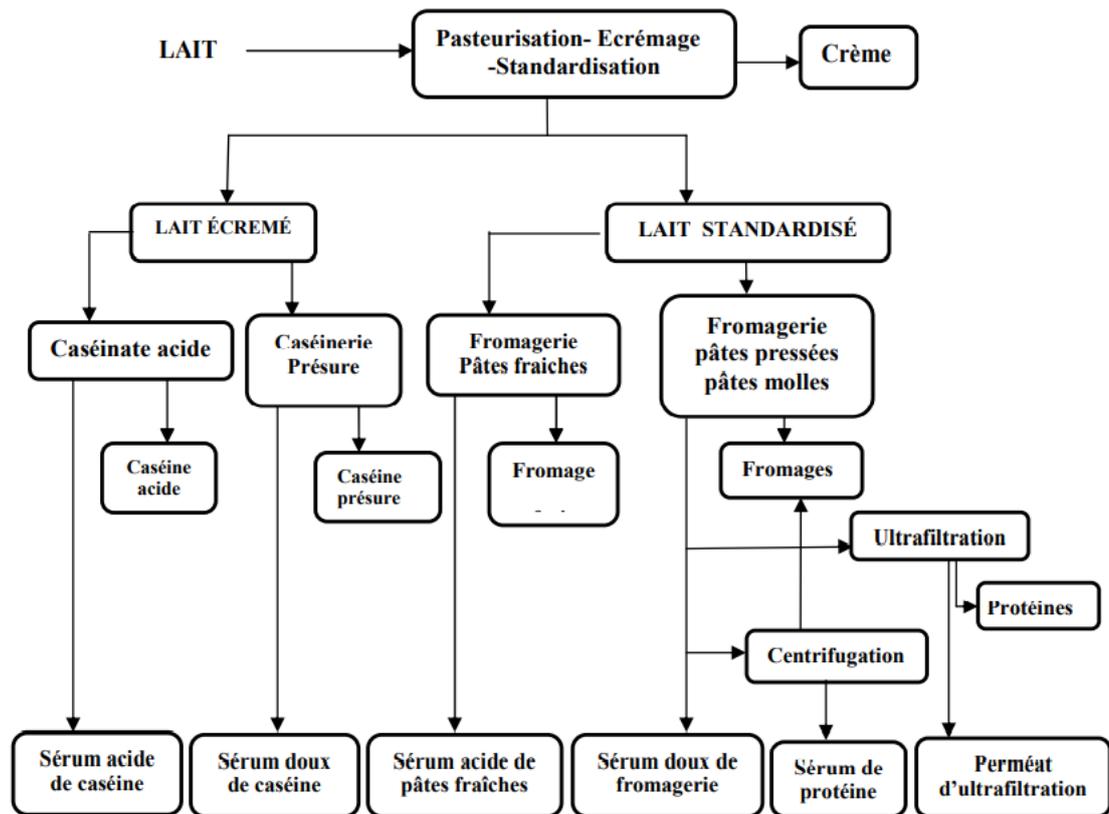


Figure 5:Voies technologiques permettant l'obtention des principaux lactosérums issus de la première transformation du lait (Alais, 1984).

II.2.1.Lactosérum doux

Le lactosérum doux, sous-produit de la production de la plupart des fromages a généralement un pH d'environ 6 à 7, et des teneurs en cendres plus faibles et en protéines plus élevées par rapport au lactosérum acide (González Siso, 1996 ; Argenta et Scheer, 2020). Il est recueilli après la coagulation de la caséine lors de la production de fromage à pâte dure (affiné) via la présure ou la coagulation enzymatique à l'aide d'un mélange de chymosine et de pepsine (Rama *et al.*, 2019 ; Wherry *et al.*, 2019).

II.2.2. Lactosérum acide

Le lactosérum acide est le sous-produit de la coagulation acide. Sa transformation implique soit l'activité de lactobacilles par fermentation, soit l'ajout d'acides organiques tels que les acides citrique, acétique ou lactique, ou d'acides minéraux tels que l'acide chlorhydrique ou sulfurique (Ryan et Walsh, 2016). Contrairement au lactosérum doux, son pH est acide (pH <5,0) (Lievoreet *al.*, 2015).

II.3. Composition des lactosérums

Selon le procédé de coagulation et la composition initiale du lait (donc la saison, la race des animaux, le type d'alimentation, etc.), la composition chimique du lactosérum peut varier sensiblement (Lucas *et al.*, 2006).

Tableau II: Composition (g/l) du lactosérum doux et acide (Papademas et Kotsaki, 2019)

Composant	Lactosérum doux	Lactosérum acide
Solides totaux	63 - 70	63 - 70
Protéines totales	6,50 - 6,60	6,10 - 6,20
Lactose	46 - 52	44 - 47
Matière grasse	0,20 - 0,50	0,30
Minéraux (cendres)	5 - 5,20	7,50 - 7,90
Acide lactique	2	6,40
Ph	5,90 - 6,40	4,60 - 4,70
Calcium	0,4 - 0,6	6 - 8
Phosphates	1 - 3	2 - 4,50
Lactate	2	6,4
Chlorures	1,1	1,1
Acides aminés libres (totaux)	0,133	0,45
Acides aminés libres (essentiels)	0,051	0,356

II.4. Valeur nutritionnelle du lactosérum et ses bienfaits sur la santé

Conscients des avantages des aliments pour la santé, les consommateurs sont aujourd'hui à la recherche d'aliments fonctionnels. Le concept de produits alimentaires fonctionnels n'est évidemment pas nouveau. Il a été lancé il y a 2 400 ans, lorsqu'Hippocrate, le père de la médecine, a écrit : "Que la nourriture soit ton médicament et que la médecine soit ta nourriture" (Ogles et Cagindi, 2012). Aujourd'hui, il est bien établi que le lactosérum est plus qu'une simple source de protéines de haute qualité en raison des avantages pour la santé qu'il offre (Figure 6).

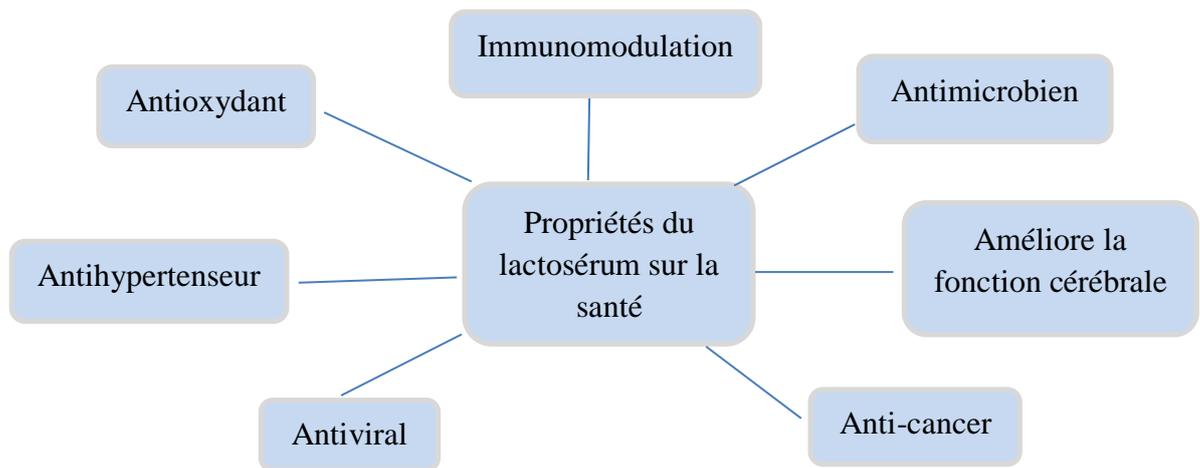


Figure 6: Propriétés du lactosérum sur la santé (Papademas et Kotsaki, 2019)

Les protéines du lactosérum sont divisées en deux sous-catégories : les protéines majeures et les protéines mineures. Les protéines majeures sont représentées par la bêta-lactoglobuline (β -Lg), l'alpha-lactalbumine (α -La), les immunoglobulines (Ig), l'albumine de sérum bovin (BSA) et les peptones protéiques. Les protéines mineures du lactosérum sont la lactoferrine, le lysosome, le glyco-macro-peptide (GMP), les phospho-lipoprotéines et la lacto-peroxidase (Tableau III). Les protéines de lactosérum ont un taux d'efficacité protéique élevé, une utilisation nette des protéines, et une valeur biologique élevée, ce qui les place juste à côté des protéines d'œuf et au-dessus des protéines de soja, de la caséine, du gluten de blé ou du bœuf. La protéine de lactosérum contient tous les 20 acides aminés et chacun des neuf acides aminés essentiels comme l'iso-leucine, la lysine, la phénylalanine, la méthionine, thréonine, leucine, histidine, tryptophane et valine. Les acides aminés contenant du soufre, c'est-à-dire la méthionine et la cystéine, sont présents en quantité significative (Macwan *et al.*, 2016).

Tableau III: Concentration (g/l) des protéines majeures et mineures du lactosérum dans le lait de vache, brebis et chèvre (Papademas et Kotsaki, 2019)

Composant	Vache	Brebis	Chèvre
Protéines totales du lactosérum	5,0 - 9,0	8,8 - 10,4	3,7 - 7
β -lactoglobuline (β -Lg)	3,2 - 4	2,7 - 5	1,8 - 2, 8
α -lactalbumine (α -La)	1,2 - 1, 5	1,2 - 2, 6	0,6 - 1,1
Immunoglobulines			
IgA	0,14	n/a	0,03 - 0,08
IgM	0,5	n/a	0,01 - 0,04
IgG	0,59	0,25	0,1 - 0,4
Lactoferrine (Lf)	0,1	0,07	0,02 - 0,2
Lysozyme	0,001	0,001-0,004	0,00025

II.5. Impact environnemental du lactosérum

Il y a un besoin mondial d'être respectueux de l'environnement et la pression communautaire oblige l'industrie laitière à reconsidérer leur gestion du lactosérum qui est considéré comme un co-produit polluant majeur en raison de sa demande biologique en oxygène (DBO) (40 à 60 g/L) et de sa demande chimique en oxygène (DCO) élevées (50 et 80 g/L) (Chatzipaschali et Stamatis, 2012). Le principal composant à l'origine des valeurs élevées de DBO et de DCO est le lactose, qui est le principal constituant du lactosérum, ce dernier engendre une pollution organique importante soit : 1 litre correspond à environ 85% de la pollution journalière générée par un habitant : soit 70-72% des solides totaux (Patel et Murthy, 2011). On estime que 4000L de lactosérum pourraient causer des dommages environnementaux équivalents à ceux causés par les déchets fécaux produits par 1 900 personnes (Tunick, 2008).

Les lois statutaires ont commencé à être mises en œuvre au milieu du 20^{ème} siècle, lorsque de nombreux gouvernements dans le monde ont interdit l'élimination du lactosérum sur les terres agricoles ou le rejet dans les rivières et la mer. La législation environnementale stricte dans la plupart des pays producteurs de lait est due aux effets très nocifs du lactosérum sur la vie aquatique. L'élimination du lactosérum a un effet négatif non seulement sur la vie aquatique, mais aussi sur la vie végétale. Des pertes de récoltes ont été constatées en raison de la consommation rapide d'oxygène dans le sol à cause de la dégradation des sucres et des protéines du lait présents dans le lactosérum. L'épandage des terres pour l'élimination du lactosérum peut entraîner une réduction du potentiel d'oxydoréduction du sol, avec pour conséquence une salinité élevée du sol et une réduction du rendement des cultures (Ghaly *et al.*, 2007).

La dernière autorisation de la direction naturelle stricte contraint de réévaluer la gestion des déchets, les organismes de réglementation et la sensibilisation de la santé de la population forcent/motivent les industries à éliminer correctement leurs déchets. Le World Resource Institute et le Programme des Nations unies pour l'environnement ont lancé le protocole mondial sur les pertes et gaspillages de nourriture en 2013, dont l'objectif est de développer une norme pour la quantification, le suivi, la comptabilisation et la communication des déchets alimentaires tout au long de la chaîne alimentaire (Tostivint *et al.*, 2017).

II.6. Valorisation du lactosérum

L'élimination du lactosérum représente une perte importante de nutriments et d'énergie potentiels. En vue d'utiliser la valeur nutritionnelle du lactosérum tout en atténuant les effets

néfastes de son élimination dans l'environnement, il est important d'orienter la gestion du lactosérum vers un mode d'utilisation rentable et durable et de l'orienter vers la production de nouveaux produits de valeur (Zandona *et al.*, 2021). Lors du sommet des Nations unies sur le développement durable qui s'est tenu à New York en septembre 2015, "Transformer notre monde", l'Agenda 2030 pour le développement durable des Nations unies (Assembly, 2015) a été adopté comme une plateforme politique mondiale essentielle pour relever de nombreux défis actuels dans leurs dimensions interconnectées que sont l'économie, la société, l'environnement et la sécurité politique.

Dans ce sens, l'attitude envers le lactosérum a changé, passant d'un déchet à un sous-produit laitier précieux, et une série d'études ont été menées pour trouver des alternatives d'utilisation du lactosérum réalisables et respectueuses de l'environnement, au lieu de simplement l'éliminer dans les champs (Valta *et al.*, 2017). La haute valeur nutritionnelle du lactosérum et ses avantages pour la santé ont fait que près de 50 % du lactosérum résiduel est recyclé pour la production de produits à valeur ajoutée dans l'industrie alimentaire et chimique (Pangha *et al.*, 2018).

II.6.1. Alimentation animale

Les nutritionnistes ont proposé plusieurs méthodes pour nourrir le bétail avec du lactosérum. Selon El-shewy (2016), le lactosérum, qu'il soit acide ou doux, pourrait être utilisé comme moyen de réhydratation des fourrages séchés lors de l'ensilage. Par ailleurs, du lactosérum doux fourni comme eau aux vaches en lactation à raison de 12-20 L par tête et par jour, le rendement laitier a augmenté de manière significative. Les résultats d'une étude menée par El-Tanboly et Khorshid (2017) dans des fermes d'agriculteurs Egyptiens ont révélé que le lactosérum pourrait remplacer l'eau, 00 % de la consommation d'eau à la ferme ; il offre une alternative peu coûteuse aux aliments liquides. Le lactosérum peut améliorer l'appétence, la texture et le contrôle de la poussière des rations des parcs d'engraissement. Dans le même sens, une étude plus récente (Tsiouris *et al.*, 2020) a démontré que l'ajout de faibles quantités de lactosérum jusqu'à 2 % favorise les performances et la santé intestinale des poulets de chair.

II.6.2. Aliments fonctionnels et boissons

➤ Boissons alcoolisées à base de lactosérum

Le lactosérum peut être utilisé pour la production de boissons alcoolisées, car le principal constituant du contenu solide est le lactose (~70%). Ces boissons alcoolisées à base de

lactosérum sont classées comme boissons à faible teneur en alcool ($\leq 1,5\%$), la bière de lactosérum et le vin de lactosérum. Le lactosérum utilisé pour la production de bière peut être combiné au moût dans des proportions variables ou être fermenté seul (Chavan *et al.*, 2015).

➤ **Boissons lactées fermentées au lactosérum**

Des boissons fermentées fabriquées à partir de lactosérum acide en présence de cultures probiotiques (*Lactobacillus acidophilus* LA-5 ou *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12) ont montré de bonnes propriétés qualitatives et sensorielles (Skryploneket *et al.*, 2019). Une boisson au kéfir nutritive et peu coûteuse, fabriquée avec du perméat de lactosérum, du lactosérum de fromage et du sirop de dattes présentant des propriétés organoleptiques acceptables a été développée par M'hiret *et al.* (2019).

➤ **Boissons lactées non fermentées au lactosérum**

Les mélanges de jus de fruits et de lactosérum brut ou traité représentent les types de boissons lactées les plus courants à être fabriquées. Ces produits remplissent généralement un rôle similaire à celui des jus de fruits typiques, y compris les boissons de type petit-déjeuner, les jus de fruits sains boisson de type snack, ou boissons à l'image saine en tant que source de vitamines (Bais *et al.*, 2017). Selon Chatterjee *et al.* (2015), la boisson orange-concentré de lactosérum est un produit intéressant et innovant sur le marché en développement des aliments fonctionnels qui peut être utilisé comme un outil par les transformateurs alimentaires pour produire une boisson de haute qualité.

➤ **Boissons pour sportifs**

Les boissons pour sportifs, qui ne contiennent généralement pas de caféine et peuvent être consommées avant ou pendant une activité physique, constituent une excellente alternative à l'eau plate pour les athlètes, car elles préviennent la déshydratation (Higgins *et al.*, 2010 ; Heckman *et al.*, 2010). Abella *et al.* (2016) ont procédé à l'optimisation de la formulation d'une boisson sportive en utilisant du lactosérum fermenté complété par différents niveaux de stabilisant. Une analyse physico-chimique, une analyse microbienne, une analyse proximale et une évaluation sensorielle ont été menées pour déterminer la qualité, l'acceptabilité et la stabilité au stockage de la boisson sportive formulée.

II.6.3. Milieu de culture pour micro-organismes

Certains auteurs ont rapporté que l'utilisation du lactosérum acide pour la culture de micro-organismes constitue une alternative intéressante, car elle permet non seulement de réduire la demande biologique en oxygène du lactosérum acide de 90 à 95 %, mais également de produire des bio-ingrédients à valeur ajoutée pour les industries alimentaires. Certains auteurs suggèrent que le lactosérum contient du lactose, des vitamines et des minéraux qui peuvent améliorer l'activité physiologique des cellules cultivées. De ce fait, du lactosérum doux déprotéiné et filtré complété avec MgSO₄, MnSO₄, et diverses concentrations d'extrait de levure et de jus de tomate a été employé pour cultiver des bactéries lactiques (Benaïssa *et al.*, 2018).

II.6.4. Production de poudre de lactosérum

C'est l'une des méthodes les plus populaires d'utilisation du lactosérum liquide. En raison de leur haute valeur nutritionnelle, les produits en poudre de lactosérum sont utilisés dans des domaines très différents de l'industrie alimentaire ; l'utilisation la plus répandue est celle d'additif dans la production d'une large gamme d'aliments et de boissons (par ex. les préparations pour nourrissons, les produits carnés, les boissons, les soupes, les sauces, les nappages, les crémiers, les enrobages de noix, les noix pressées, les sauces à base de fromage, les chips, les sauces salées, etc. sauces à base de fromage, chips, arômes salés et pâtisseries salées, les produits de boulangerie spéciaux tels que les pizzas, les biscuits et les macaronis, et la fabrication de soufflés et de gâteaux) (Božanić *et al.*, 2014).

II.6.5. Production de biogaz

La digestion est une alternative intéressante dans le traitement des déchets générés par l'industrie agricole, car elle traite les déchets et produit également du biogaz qui peut être utilisé pour la production d'énergie, ce qui entraîne des avantages environnementaux et économiques (De Vrieze *et al.*, 2020 ; Pavlas *et al.*, 2020).

Chapitre III

Chapitre III: Coquilles d'œufs

III.1.Définition

La coquille d'œuf de poule est un déchet provenant de sources domestiques telles que les couvoirs, les usines d'ovo-produits, les foyers et les restaurants (Ray *et al.*,2017).Il s'agit de la couche externe dure de l'œuf de poule et peut être de couleur brune ou blanche (Owuamanam *et al.*,2020).Un œuf de poule est composé à 60% d'albumen (substance liquide de couleur blanche), à 30% de jaune d'œuf (substance liquide de couleur jaune) et à 10-11% de coquille (coquille solide et membrane organique).Le poids total d'un œuf moyen se situe entre 60,0 et 60,2 g tandis que le poids de la coquille vide varie entre 6,6 et 7,3 g (Owuamanam *et al.*,2020).La coquille d'œuf et les membranes de la coquille sont des sous-produits non comestibles ayant peu de valeur marchande, mais pouvant contenir des composés biologiquement actifs (Ray *et al.*,2017).

III.2.Composition

La coquille d'œuf est composée d'eau (2%) et de matière sèche (98%); la matière sèche est constituée de 5% de protéines brutes et de 93% de cendres (Ray *et al.*,2017).La coquille minéralisée représente environ 96% de carbonate de calcium, les autres composants étant la matrice organique (2%), du magnésium, du phosphore et une variété d'oligo-éléments. La membrane est constituée de près de 60% de protéines, dont 35% de collagène,10% de glucosamine,9% de chondroïtine et 5% d'acide hyaluronique, ainsi que d'autres composants inorganiques comme du Ca, Mg, Si, Zn, etc., en quantités mineures. La densité de l'enveloppe est d'environ 2,53g/cm³, ce qui est nettement supérieur à celle de la membrane qui est de 1,358g/cm³ (Gandhi *et al.*, 2021).Les caractéristiques différentielles de la poudre de coquille d'œufs bruns et blancs est illustrée dans le tableau IV ci-dessous.

Tableau IV: Etude comparative du contenu des poudres d'œufs bruns et blancs (Liu *et al.*, 2021)

Paramètre	Poudre de coquille d'œuf blanc	Poudre de coquille d'œuf brun
Humidité (%)	0,46	0,20
Protéines (%)	3,92	5,04
Cendres (%)	94,61	94,28
Matière grasse	0,35	0,08
Calcium (%)	34,12	33,13
Magnésium (%)	0,29	0,36
Phosphore (%)	0,04	0,07
Potassium (%)	0,03	0,04
Sodium (%)	0,05	0,04
Cuivre (ppm)	<1 ppm	<1 ppm
Fer (ppm)	22ppm	< 1 ppm
Manganèse (ppm)	< 1ppm	< 1 ppm
Zinc (ppm)	< 1ppm	<1pmm

III.3. Structure

La structure de la coquille d'œuf de poule illustrée à la figure 7 est composée de trois couches principales : la couche extérieure entourant la coquille, appelée cuticule, la couche inférieure, appelée testa (la coquille) et la couche intérieure, appelée couche mamillaire (Owuamanam *et al.*, 2020. Il existe deux membranes situées directement sous la coquille, la membrane interne et la membrane externe. La membrane externe reste collée à la couche mamillaire de la coquille, tandis que la membrane interne entoure le liquide de l'œuf (Gandhi *et al.*, 2021).

La couche cuticule (mucus séché) est un film fin d'environ 10 μm qui protège l'embryon des infections bactériennes et de la perte d'humidité. Dans la littérature, le terme testa a également été désigné sous le nom de couche palissade, car tous deux contiennent des cristaux de calcite. La couche palissadique (spongieuse) est disposée en colonnes et constitue la couche la plus épaisse (environ 100 μm) de la coquille d'œuf. Entre les colonnes de palissade, se trouvent de petits pores. On estime que la coquille contient entre 7000 et 17000 ouvertures de pores circulaires réparties de manière inégale, qui permettent l'échange gazeux de l'oxygène de l'atmosphère et la libération du dioxyde de carbone produit par le poussin (Owuamanam *et al.*,2020).

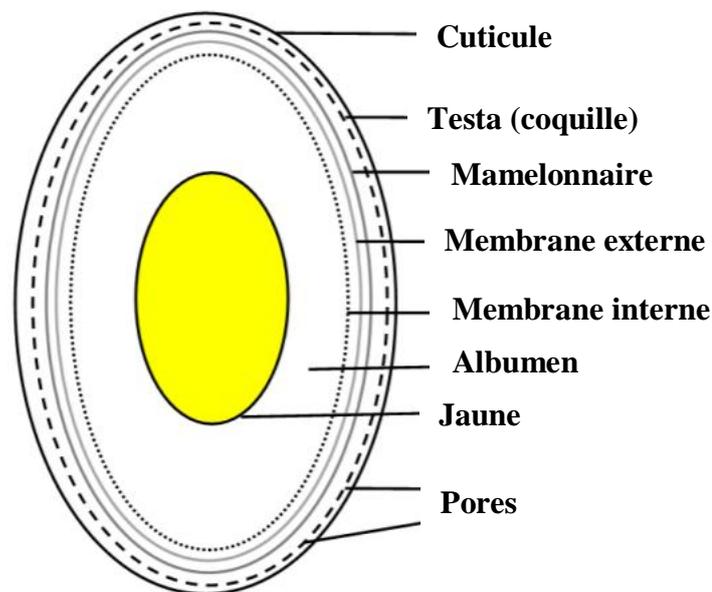


Figure 7:Structure d'une coquille d'œuf (Owuamanam *et al.*,2020)

III.4. Valorisation des coquilles d'œufs

La réutilisation des déchets de coquille d'œuf dans de nombreuses applications présentent des avantages à la fois environnementaux et économiques (Mignardi *et al.*,2020). Les options pour la valorisation de ces déchets comprennent l'utilisation de la coquille d'œuf comme modèle biologique pour la catalyse et les applications antibactériennes(Zhang *et al.*,2019), la production d'additifs alimentaires (Quina *et al.*, 2017), de conditionneurs de sol(Saldanha *et al.*,2021), de matériau de base pour les cosmétiques(Ovuoayeetal., 2021), de carbonate de calcium pur(Render *et al.*, 2016)et biomatériaux (Kinayturk *et al.*,2021).En particulier, la coquille d'œuf pourrait être le matériau de départ pour préparer l'hydroxyapatite pour la durabilité traitement des eaux polluées par les métaux toxiques(De Angelis *et al.*,2017). De

plus, la conversion des déchets de coquille d'œuf en adsorbant, le matériau pour la décontamination des métaux toxiques peut réduire l'impact de l'exploitation minière sur les réserves naturelles de phosphate naturel qui fait partie de la liste des matières premières critiques de la Commission européenne (Commission, 2018).

Chapitre IV

Chapitre IV : Milieux de culture

IV.1. Définition et composition d'un milieu de culture

Selon Vasanthumari (2016), un milieu nutritif préparé au laboratoire pour la croissance des microorganismes est appelé milieu de culture et présente les constituants suivants :

- Peptone : un mélange protéique partiellement digéré contenant des acides aminés, des polypeptides, des phosphates et enfin des minéraux comme le potassium et magnésium ;
- Extrait de viande : il contient des produits de dégradation protéique, des sels inorganiques, des hydrates de carbone et des facteurs de croissance. Il est commercialement disponible sous forme de Lab Lemco ;
- Des électrolytes : NaCl ;
- L'eau : source d'hydrogène et d'oxygène ;
- Agar : produit naturel dérivant des algues. Il ne présente aucune valeur nutritive, il est employé seulement comme agent solidifiant. Sa température de fusion est à 95°C et se solidifie à 40°C.

IV.2. Classification des milieux de culture

Les milieux de culture peuvent être classés en plusieurs catégories selon différents critères (Aneja, 2007 ; Vasanthakumari, 2016).

IV.2.1. Selon leur composition

IV.2.1.1. Milieu synthétique ou défini

Un milieu de culture dont la composition chimique est connue est appelé milieu (synthétique) défini. Ce sont des milieux de culture élaborés à partir d'une formulation de substances chimiques pures, leur composition est connue qualitativement et quantitativement.

IV.2.1.2. Milieu empirique ou naturel

C'est un milieu dont la composition chimique exacte est inconnue. Ce type de milieu de culture est à base de substances naturelles comme le sang, le lait, urine, extraits de levure, infusions et extraits de viande, pomme de terre, etc.

IV.2.1.3. Milieu semi-synthétique

C'est un milieu de culture renfermant à la fois des substances naturelles de composition mal définie et des substances chimiques pures connues qualitativement et quantitativement.

IV.2.2. Selon leur consistance

IV.2.2.1. Milieu solide ou gélosé

Le milieu solide est un milieu liquide solidifié par addition d'agar à des concentrations de 2-3%. Il permet aux bactéries de se développer sous forme de colonies distinctes et renseigne sur d'autres propriétés utiles à l'identification du germe isolé (pigmentation, relief, texture, opacité, etc.).

IV.2.2.2. Milieu liquide

Ce milieu contient des quantités de nutriments, mais sans trace de gélification des agents tels que la gélatine ou l'agar.

IV.2.2.3. Milieu semi-liquide ou semi-solide

La concentration en agar est plus faible que celle du milieu gélosé, elle est comprise entre 0,02-0,3 %.

IV.2.3. Selon leur utilisation

IV.2.3.1. Milieux de base ou d'isolement

Milieux de composition et préparation simple, ils conviennent à un grand nombre de germes. Parmi ces milieux, on cite : eau peptonée, bouillon nutritif et gélose nutritive considérés comme milieux de base. Ces milieux sont généralement utilisés pour l'isolement primaire de micro-organismes.

IV.2.3.2. Milieux enrichis

Ce vocabulaire est d'un usage très fréquent en microbiologie médicale et/ou vétérinaire et/ou agro-alimentaire. On l'utilise pour qualifier des milieux de culture contenant des nutriments spécifiques pour encourager la croissance d'un organisme particulier. Exemple de gélose nutritive peptonée standard enrichie au sang de mouton. Le sang par sa richesse complexe en différents facteurs de croissance permet la culture de bactéries d'intérêt médical aux besoins très complexes dites à besoins fastidieux (Engelkirk et Duben-Engelkirk, 2008).

IV.2.3.3. Milieux sélectifs

Ce sont des milieux qui permettent la croissance de certains groupes ou types d'organismes spécifiques tout en empêchant, retardant ou inhibant la croissance d'autres. Cette action sélective du milieu est provoquée par l'ajout de substances chimiques qui a) inhibent ou empêchent la croissance de certains types ou espèces de bactéries et /ou b) favorisent la croissance d'espèces recherchées. Par exemple, le cristal violet est sélectivement bactériostatique pour les bactéries Gram-positif et est ajouté dans un milieu sélectif pour l'examen des agents pathogènes entériques qui sont principalement Gram-négatif.

IV.2.3.4. Milieux différentiels

Un milieu différentiel est celui qui va amener certaines colonies à se développer différemment des autres organismes présents en produisant un changement dans la croissance bactérienne et/ou le milieu entourant les colonies. Ces milieux sont utilisés pour distinguer les groupes d'organismes morphologiquement et biochimiquement apparentés. La gélose Mac Conkey est un exemple de milieu différentiel fréquemment utilisée pour différencier entre diverses bactéries Gram négatif isolées de prélèvements fécaux. Ce milieu est utilisé pour différencier entre les bactéries qui fermentent ou pas le lactose.

IV.2.3.5. Milieux de transport

Milieux destinés à préserver et maintenir la viabilité des micro-organismes sans permettre une multiplication significative entre le temps de prélèvement des échantillons et l'analyse au laboratoire des échantillons. Les milieux de transport contiennent généralement des substances qui ne permettent pas la multiplication des microorganismes mais assurer leur maintenance, par exemple celle de Stuart ou d'Amies (da Salva *et al.*, 2012).

IV.2.3.6. Milieux de conservation

Milieux conçus pour maintenir la viabilité des micro-organismes sur une période prolongée, pour les protéger contre les influences négatives qui peuvent se produire pendant le stockage à long terme et pour permettre la récupération après cette période (da Salva *et al.*, 2018).

Le Tableau V illustre quelques exemples de type de milieu de culture ainsi que son utilisation (Venkatajothi, 2021).

Tableau V:Exemple de type de milieu de culture et son utilisation(Venkatajothi, 2021)

Type de milieu de culture	Exemple	Utilisation
Simple/milieu de base (liquide/bouillon)	Eau peptonée	Culture de bactéries
Simple/milieu de base (semi-solide)	Milieu de test de mobilité	Démonstration de la mobilité
Simple /milieu de base (solide)	Milieu gélose nutritive	Culture de bactéries, démonstration de la production de pigments
Milieu enrichi	Milieu gélose sanguine	Culture de bactéries exigeantes, démonstration de l'hémolyse
Milieu d'enrichissement	Bouillon autétrathionate	Enrichissement sélectif des salmonella et des shigella à partir d'un échantillon de selles
Milieu sélectif	Milieu gélose au désoxycholate citrate	Enrichissement sélectif des salmonella et des shigella à partir d'un échantillon de selles
Milieu différentiel	Milieu gélose Mac Conkey	La fermentation du lactose différencie les bactéries
Milieu de transport	Stuarts moyen	Maintien la viabilité des bactéries délicates pendant le transport
Milieu de fermentation de sucre	Bouillon de glucose au rouge de phénol	Identification de la fermentation du sucre et de la production de gaz par les bactéries
Milieu anaérobie	Milieu de viande cuite Robertson	Croissance des anaérobies
Milieu défini	Milieu gélosé Mueller Hinton	Effectuer des tests de sensibilité aux antibiotiques par la méthode Kirby- Bauer

Chapitre V

Chapitre V :Matériel et méthodes

Ce travail a été effectué au niveau du Laboratoire de Biotechnologie microbienne (BTM) du département de Biologie à l'Université M'Hamed Bougara-Boumerdès ainsi qu'au niveau du Laboratoire d'Analyses Médicales du Dr Barki à Chabet El Aneur. Le dosage des sucres totaux et des protéines totales du lactosérum et pelures de bananes ont été effectués dans un laboratoire privé de contrôle de qualité à Si-Mustapha. La période de stage a duré 4 mois, soit du mois de Mars Jusqu'au mois de Juin.

L'objectif de l'étude consiste en une formulation de milieux de culture microbiologiques solides par valorisation de certains déchets ménagers (pelures de bananes, coquilles d'œufs bruns) et déchets d'industries laitières, en particulier le lactosérum doux.

V.1. Matériel

V.1.1. Matériel Biologique

- **Pelure de banane**

La pelure utilisée dans notre étude provient de la banane importée d'Equateur par une firme nommée EXCELBAN. La pelure récoltée après consommation de bananes est d'abord lavée à l'eau de robinet, puis séchée à température ambiante, à l'abri de la lumière. Une fois séchée, celle-ci est finement broyée à l'aide d'un broyeur type « KRUPS » suivi d'un tamisage pour obtenir une poudre fine conservée dans des flacons en verre hermétiquement



Figure 8: Les différentes étapes effectuées pour l'obtention de la poudre de pelures de bananes.

- **Lactosérum doux**

Le lactosérum doux au pH de 6,26 a été fourni par la Laiterie Fromagerie de Boudouaou. Les échantillons ont été prélevés dans des bouteilles en verre, puis conservés par congélation (Figure 9).



Figure 9: Lactosérum doux

- **Coquilles d'œufs bruns**

Il s'agit de la coquille d'œuf brun de la poule. Cette coquille a été lavée à l'eau de robinet, séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière. Une fois séchée, elle a été finement broyée à l'aide d'un broyeur type « KRUPS suivi d'un tamisage pour obtenir une poudre de coquilles d'œufs (PCO) fine conservée dans des flacons en verre (Figure 10).

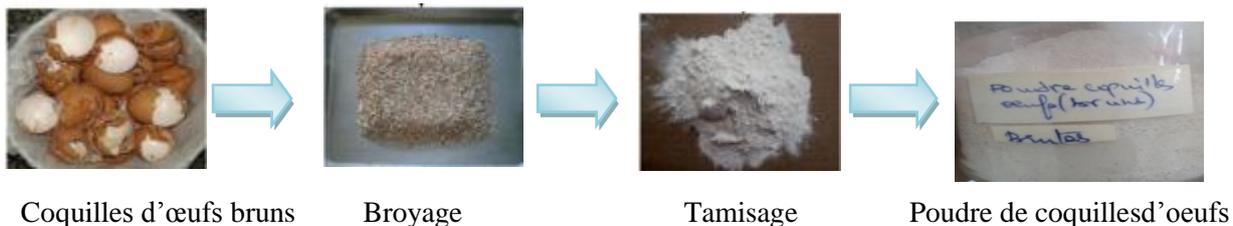


Figure 10: Les différentes étapes effectuées pour l'obtention de la poudre de coquilles d'œufs bruns

- **Souches microbiennes test**

Cinq bactéries dont *E. coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Salmonella enterica* (ATCC CIP 813), SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la métiline SARM (ATCC 43300) et la levure *Candida albicans* (ATCC 10231) ont été utilisées dans cette étude. Toutes les souches conservées dans des tubes gélosés inclinés sont fournies par le laboratoire de Microbiologie de l'Institut Pasteur D'Algérie.

V.1.2. Matériel non biologique

Les appareillages, milieux de culture, réactifs, produits chimiques utilisés dans ce travail sont mentionnés en (Annexe 1) et (Annexe2).

V.2. Méthodes d'analyses

V.2.1. Déprotéinisation du lactosérum doux

Le lactosérum doux a fait l'objet d'une déprotéinisation selon la méthode citée par Boudjema *et al.*(2009). Le lactosérum est d'abord chauffé au Bain-marie pendant 30 min et est ensuite soumis à une centrifugation réfrigérée à 5000 tr/min pendant 15 min. Le surnageant filtré et ajusté à un pH de 7 est conservé et congelé dans des flacons en verre jusqu'à utilisation.

V.2.2. Caractérisation physico-chimique du lactosérum doux déprotéiné et de la poudre de pelures de banane

V.2.2.1. Détermination du pH (AFNOR, NF 04-205, 1986)

Le principe est basé sur la détermination en unité de pH de la différence de potentiel isoélectrique existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse.

➤ Mode opératoire

- La solution de poudre de pelures de banane est préparée par dissolution d'une prise d'essai de 1 g dans 50 ml d'eau distillée.

- Verser l'échantillon à analyser (solution de la poudre de pelures de banane ou lactosérum) dans un bécher et plonger les électrodes combinées et procéder de suite à la lecture de la valeur de pH enregistrée sur le pH mètre.

V.2.2.2. Détermination des cendres totales (AFNOR, 1982).

Le principe réside dans l'incinération de la matière sèche de l'échantillon à $530\text{ °C} \pm 20\text{ °C}$. Dans une capsule calcinée et tarée, on introduit 5 ml de l'échantillon puis on procède à une incinération dans le four à moufle réglé à 530 °C pendant 2 à 4 h. Le poids du creuset et résidu est pesé après refroidissement dans un dessiccateur.

La teneur en cendres exprimée en pourcentage massique de l'échantillon est donnée par les formules suivantes :

$$C\% = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

Avec: **M₀**: masse de la capsule vide.

M₁ : masse de la capsule avec l'échantillon.

M₂ : masse de la capsule avec les cendres.

V.2.2.3. Taux d'humidité (AFNOR, NF 04-207, 1980).

La teneur en eau est la perte de masse d'un produit qui est soumis à la température de 105 ± 2 °C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ Mode opératoire

Dans une capsule lavée, séchée et tarée sont placées 10 ml de lactosérum ou 1 g d'un échantillon solide à analyser. La capsule est introduite dans une étuve réglée à 105 ± 2 °C jusqu'à obtention d'un poids constant.

La teneur en eau est exprimée en pourcentage de masse de produit donnée par la formule suivante :

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100$$

H% : Humidité ou la teneur en eau.

M₁ : masse de la capsule + la matière fraîche avant séchage en (g).

M₂ : masse de la capsule + la matière après séchage (g).

P : masse de la prise d'essai en g.

La teneur en matière sèche est donnée par la formule suivante : **MS% = 100 - H%**

Avec : **MS%** : matière sèche en pourcentage.

H% : Humidité ou la teneur en eau.

V.2.2.4. Dosage des protéines par la méthode de Lowry *et al.*, (1951).

➤ Principe

La méthode repose sur le principe suivant : une coloration bleue-violette est obtenue lorsque le réactif de Folin Ciocalteu est en présence de protéines. Cette coloration est due à deux réactions :

- 1- Réaction entre les liaisons peptidiques et les ions de cuivre
- 2- Réaction entre les sels de phospho-molybdate et de phospho-tungstate et les résidus tryptophane, cystéine et histidine.
- 3- La densité optique des échantillons est ensuite mesurée à 750 nm.
- 4- Les concentrations en protéines sont déduites en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement réalisée avec du BSA (Annexe 3).

➤ **Mode opératoire**

L'échantillon de poudre de pelures de bananes est préparé par dissolution d'une prise d'essai de 1 g dans 100 ml d'eau distillée.

Une série de dilutions (10^{-1} jusqu'à 10^{-4}) de la solution de lactosérum et solution de la poudre de pelures de bananes à analyser est préparée. A partir de chaque dilution, on prélève 0,5ml de la solution à laquelle sont ajoutées 2,5ml de la solution C et on mélange. On laisser reposer 5 à 10min à température ambiante puis on ajoute 250 μ l du réactif Folin-Ciocalteu. Les tubes sont homogénéisés rapidement et incubés 30min à l'obscurité. Après la durée d'incubation, on procède à la lecture de la densité optique au spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda=750$ nm contre un blanc.

V.2.2.5. Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont dosés selon la méthode de Dubois *et al.* (1956).

➤ **Principe**

Le principe repose sur la réaction à chaud de l'acide sulfurique concentré qui provoque la déshydratation des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la formation d'un hydroxyméthyl furfural dans le cas d'hexoses et de furfurals dans le cas des pentoses. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune-orange) dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses.

➤ **Mode opératoire**

La solution de pelures de banane qui servira au dosage est obtenue par la dissolution de 1g de poudre de pelures de bananes dans 10 ml d'eau distillée. Une série de dilutions est effectuée (10^{-1} jusqu'à 10^{-4}) pour chaque échantillon à doser (lactosérum et solution de poudre de pelures de bananes).

Le dosage consiste à ajouter à 1 ml de chaque dilution préparée, 1 ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique concentré. Le mélange est laissé 10 min à la température ambiante

puis incubé au Bain-Marie à 30°C pendant 20 min et on procède à la lecture de la DO à 485 nm.

Les concentrations en sucres sont déduites en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement réalisée avec une solution de glucose (voir annexe 3).

N.B. Trois répétitions sont effectuées pour toutes les analyses physico-chimiques.

V.3. Formulation des milieux de culture

1- Préparation de l'extrait de poudre de pelures de banane

Une prise d'essai de 10 g de poudre de pelures de banane est mélangée dans un volume de 300 ml d'eau distillée. Après 1 h de macération sous agitation à température ambiante, le mélange est filtré l'aide d'un tissu en mousseline et papier filtre pour obtenir un extrait de poudre de pelures de banane (EPPB) qui servira dans la préparation des milieux de culture microbiologiques.

2- Formulation des milieux de culture microbiologiques

Un total de 12 milieux de culture à l'état solide sont préparés. Leur composition est donnée dans le Tableau VI ci-dessous :

Tableau VI: Composition des différents milieux de culture formulés

Formulation	EPPB	Diluant		0,25% PCO
		Lactosérum	Eau distillée	
A	10	-	90	-
A'	10	-	90	+
B	25	-	75	+
B'	25	-	75	+
C	50	-	50	-
C'	50	-	50	+
1	10	90	-	-
1'	10	90	-	+
2	25	75	-	-
2'	25	75	-	+
3	50	50	-	-
3'	50	50	-	+

EPPB: Extrait de poudre de pelures de banane ; **PCO :** Poudre de coquilles d'œufs ; (-) absence ; (+) présence.

Le pH des milieux de culture a été ajusté à $7 \pm 0,5$ pour les bactéries et à $5 \pm 0,5$ pour les champignons à l'aide de solutions concentrées de NaOH ou HCL. La forme solide des milieux a été obtenue par addition de l'agent gélifiant, agar-agar (2%). Tous les milieux ont été stérilisés à 121 °C pendant 15 minutes.



Figure 11:Photos originales de certains des milieux de cultures formulés

V.3.1. Préparation de l'inoculum pour les bactéries et levures test

L'inoculum des bactéries à tester est préparé par culture des différentes souches dans le bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24 h pour obtenir une culture pure. La suspension homogène a été ensuite ajustée par spectrophotométrie ($\lambda=600\text{nm}$) à une densité optique comprise entre 0,08-0,1 correspondant à une concentration cellulaire de $1-2 \times 10^8$ UFC/ml (Alexander *et al.*, 2016 ; Jenkins et Maddocks, 2019).

En ce qui concerne la préparation de l'inoculum de levure, la souche fongique est cultivée sur gélose Sabouraud et incubée pendant 24-48 heures à 35°C pour obtenir une culture pure. La suspension homogène a été ajustée par spectrophotométrie ($\lambda=530\text{nm}$) à une densité optique comprise entre 0,12-0,15 correspondant à une concentration cellulaire de $1 - 5 \times 10^6$ cellules/ml (Rodríguez-tudela *et al.*, 2001 ; ESCMID, 2008).

V.3.2. Suivi de la croissance microbienne des souches test

➤ Sur milieu solide

Un échantillon aliquote (50 μl) de chaque culture microbienne (bactérie ou levure) à tester a été étalé sur la surface du milieu de culture à tester et incubés pendant 24h pour les bactéries à 37°C et pour la levure à 35°C. Des milieux standards sont utilisés comme témoin, de la gélose nutritive pour les bactéries et de la gélose Sabouraud pour la levure.

N.B. Trois répétitions sont effectuées pour chaque expérience. Chaque boîte de Pétri est divisée en deux pour la réalisation de deux cultures séparément.

V.3.3. Etude de la performance des milieux de culture formulés dans le test de l'ECBU

L'examen cytbactériologique des urines, est un examen de biologie médicale. Les échantillons d'urine apportés au laboratoire de microbiologie doivent être examinés immédiatement, ou placés dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à ce qu'ils puissent être examinés. La procédure d'examen comprend les étapes suivantes SFM (société française de microbiologie).

V.3.3.1. Examen cytologique : examen microscopique de l'urine non centrifugée

Il est réalisé directement à l'état frais entre lame et lamelle. L'observation se fait au microscope optique au faible grossissement(X40).

❖ Aspect quantitatif

A l'aide d'un dispositif de numération (de type cellule Malassez), on dénombre les leucocytes contenus dans l'urine totale.

- A l'état physiologique, l'urine contient moins de 10^3 leucocytes par ml.
- En cas d'infection urinaire, le processus inflammatoire se traduit par la présence d'au moins 10^4 leucocytes/ml d'urine ou $10/mm^3$.

❖ Aspect qualitatif

Il permet de visualiser : les hématies, les cristaux (oxalate, urate, phosphate), les cylindres, les bactéries, les levures, les parasites.

V.3.3.2. Mise en culture

La méthode utilisée est la méthode de dilution de Kass : l'urine totale homogénéisée est diluée au 1/10 dans de l'eau physiologique stérile. On ensemence ensuite aseptiquement à l'aide d'un écouvillon un aliquote de cette dilution sur une boîte de gélose nutritive. La boîte est incubée à 37°C pendant 24 heures. En parallèle, des boîtes de CHROMagar Orientation, des milieux gélosés employés pour une différenciation directe et rapide entre des colonies bactériennes (Farfourat *al.*, 2019), sont également ensemencés et incubés dans les mêmes conditions. Par ailleurs, la performance des différents milieux de culture microbiologiques gélosés formulés dans cette étude a été évaluée par comparaison au milieu témoin (GN) dans l'isolement des germes de l'infection urinaire (ECBU).

Lecture des résultats :

- Sur GN, un test positif se manifeste par le développement de colonies bactériennes. Le test négatif implique l'absence de germes microbiens.
- Sur CHROMagar, un test positif se manifeste par le développement de colonies bactériennes reconnues par leur coloration caractéristique (Samraet *al.*, 1998).

*Rose ou rose foncé pour les colonies d'*Escherichia coli*

*Bleu pour les colonies de *Klebsiella sp*

La figure 12 résume les différentes étapes d'un examen cyto bactériologique des urines.

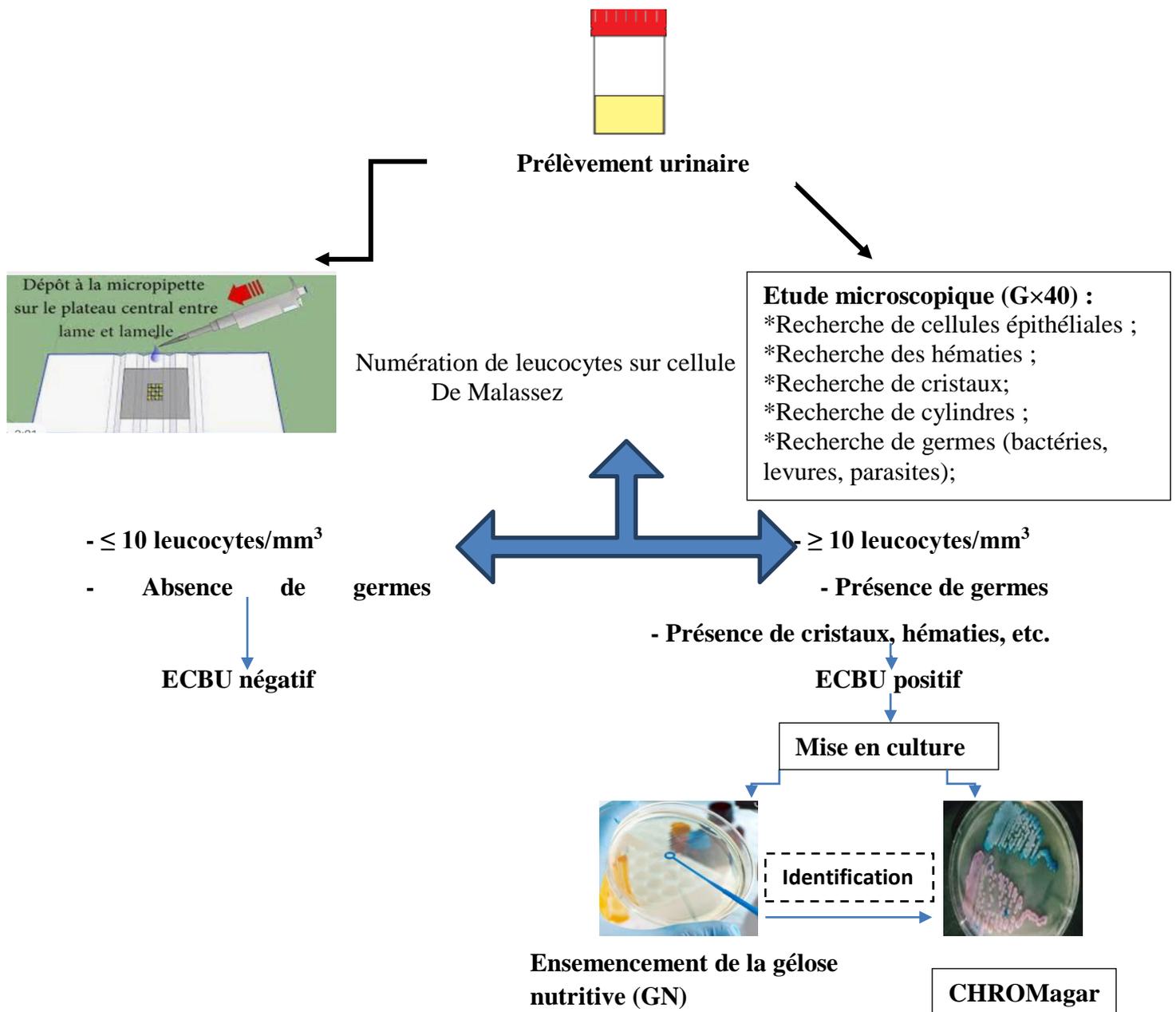


Figure 12 : Les différentes étapes d'un examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

Chapitre VI

Chapitre VI: Résultats et discussion**VI.1. Caractérisation physico-chimique de la poudre de pelures de banane**

Les résultats de la caractérisation des paramètres physico-chimiques de la poudre de pelures de banane sont résumés dans le Tableau VII ci-dessous :

Tableau VII: Résultats des paramètres physico-chimiques de la poudre de pelures de la banane.

Paramètre s physico-chimiques	Poudre de pelure de banane
pH	5,9±0,17
Humidité %	11±0,72
Matière sèche %	89±0,72
Protéines %	12,09±0
Sucres totaux (g/100g)	28,8±0
Cendres %	12,02±0,05

D'après les résultats du Tableau VII, le taux d'humidité de la poudre de la pelure de banane est de 11%±0,72, valeur supérieure à celles indiquées par Syed Abu Bakar *et al.*(2018) pour différentes farines de pelures de banane dessert (Berangan et Rastali) et plantain (Tanduk et Nangka) et par Dom *et al.*(2021) pour la poudre de pelures de la banane variété Saba au stade de maturité 2 (vert clair) ou stade de maturité 5 (jaune avec des pointes vertes). Toutefois, nos résultats sont confortés par ceux de Zaini *et al.* (2020) ayant trouvé une valeur identique à la nôtre (11,1%) pour la poudre de pelures de banane *Musa balbisiana* étudiée. Selon Keran *et al.*(2009), une farine à faible taux d'humidité est plus stable, tandis qu'une farine dont le taux d'humidité est supérieur à 14,5% peut se détériorer facilement pendant le stockage, car une humidité élevée peut attirer les insectes, les moisissures et les bactéries. L'analyse chimique de la poudre de pelures de bananes préparée dans cette étude fait ressortir un taux de matière sèche estimé à 89±0,72%. Une récente étude effectuée par Jambhale et Gohatre (2019) a démontré des taux de matière sèche légèrement supérieurs de l'ordre de 92,38% et 95,66% pour des échantillons de poudre de pelures de bananes presque mûres et mûres séchées au soleil respectivement. Comparée aux résultats d'études antérieures, notre valeur est supérieure à celle (11,06±0,08%) trouvée dans l'étude de Yangilar (2015).

Nos résultats par ailleurs, indiquent une valeur de pH de l'ordre de 5,9%±0,17 pour la poudre de pelures de banane étudiée. Cette valeur est similaire à celle obtenue par l'étude de

Syed Abu Bakar *et al.* (2018) pour la farine de pelures de la banane plantain (variété Tanduk) estimée à $5,92 \pm 0,02$, mais elle est inférieure à celles des farines de pelures de banane des variétés Nangka ($6,18 \pm 0,02$) et Berangan ($6,05 \pm 0,01$) est supérieure à celle de la farine de la variété Rastali ($5,79 \pm 0,03$). Elle est en outre proche des valeurs obtenues par Virulchatapan et Luangsakul (2020) estimées à $5,19 \pm 0,09$ et $5,30 \pm 0,09$ pour les farines de pelures de bananes à 70 et 80 jours après floraison respectivement.

Le taux de protéines enregistré dans notre étude est de 12,09%, une valeur presque 3 fois supérieure aux valeurs soulignées par Zaini *et al.* (2020) et Dom *et al.* (2021) respectivement pour la poudre de pelures de bananes Saba (4,8% au stade 2 et 3,8% au stade 5) et la poudre de pelures de la banane (4,85%) de la variété *Musa balbisiana*. Des taux de protéines également inférieures à notre valeur sont rapportés par Syed Abu Bakar *et al.* (2018) pour des farines de pelures de quatre types de bananes (Nangka, Tanduk, Berangan and Rastali). Ces valeurs varient dans l'intervalle $8,49 \pm 0,05 - 8,69 \pm 0,05$.

Par ailleurs, la teneur en cendres obtenue dans notre étude est de l'ordre de $12,02\% \pm 0,05$, valeur légèrement supérieure aux valeurs mentionnées par Syed Abu Bakar *et al.* (2018) pour les farines de pelures de banane des variétés Tanduk (11,52 %) et Berangan (11,51 %). Elle est par ailleurs, supérieure à celle indiquée par Zaini *et al.* (2020) pour la poudre de pelures de la banane *Musa balbisiana* avec une valeur de 9%. Khawas et Deka (2016) suggèrent que la teneur en cendres, qui est généralement une matière inorganique, est directement ou indirectement associée à la capacité d'absorption des sels minéraux à différents stades de développement.

Le taux des sucres de notre poudre de pelures de banane analysée est de 28,8%, valeur inférieure à celle rapportée par Bandal *et al.* (2014) pour de la poudre de banane (43,06%) utilisée dans la fortification de pain. En outre, les valeurs des sucres totaux indiqués par Yaniet *al.* (2013) pour quatre types de bananes mûres vertes (Janten, Kepok Manado, Muli et Raja Nangka) varient de 3,732 à 7,794%. Ces valeurs sont largement inférieures à celle trouvée dans notre étude. Selon ces auteurs, la teneur en sucres totaux de la poudre de banane est déterminée par le type, le niveau de maturité et les méthodes de traitement. Islam *et al.* (2001) ajoutent qu'une augmentation des sucres totaux dans les fruits est causée par des changements dans les glucides / amidon en sucre dans le fruit.

VI.2. Caractérisation physico-chimique du lactosérum doux et déprotéiné

Les résultats de la caractérisation de certains paramètres physico-chimiques du lactosérum doux et déprotéiné sont résumés dans le Tableau VIII suivant :

Tableau VIII: Résultats de paramètres physico-chimiques du lactosérum doux et déprotéiné

Paramètres physico-chimique	Lactosérum doux brut	Lactosérum déprotéiné
pH	6,26±0,40	6,56±0,40
Humidité %	95,96±0,93	96,28±0,45
Matière sèche %	4,04±0,89	3,71±0,45
Protéines %	13,33±0,00	9,97±0,00
Sucres totaux(g/l)	45,84±0,00	38,33±0,00
Cendres %	0,26±0,01	0,24±0,01

D'après le Tableau VIII, le pH du lactosérum doux brut ou déprotéiné utilisé dans cette étude est proche de la neutralité avec des valeurs respectives de 6,26±0,40 et 6,56±0,40. Ces valeurs sont en accord avec celles trouvées par Benaissa (2018) pour le lactosérum brut (6,3) et lactosérum déprotéiné (6,1). Une étude préalable menée par Souza *et al.* (2016) sur l'effet du stockage du lactosérum sur les propriétés physicochimiques, la microstructure et le profil de texture du fromage ricotta a indiqué des valeurs de pH proche de la neutralité pour du lactosérum doux à différents intervalles de temps de conservation, soit 6,18±0,06 (0h), 6,18±0,06 (24h), 6,59±0,04 (48h) et 6,60±0,04 (72h). En outre, nos valeurs sont conformes aux normes établis par la législation brésilienne, soit un pH de 6,0 à 6,8 (Brésil, 2013). El-Dardiry (2017) pour sa part, a mentionné une valeur moyenne de pH de 5,7 pour l'échantillon de lactosérum doux objet de son étude expérimentale.

Le taux d'humidité du lactosérum doux brut et déprotéiné employés dans cette étude est de 95,96±0,93% et 96,28±0,45 respectivement. On remarque que la différence entre les deux valeurs est très faible. Cependant, ces valeurs sont supérieures à celles mentionnées par Souza *et al.* (2016) pour le lactosérum doux comprises dans la gamme 72,62±0,1-75,75±1, quel que soit la durée de stockage. De même, El-Tanboly et Khorshid (2017) ont rapporté pour le lactosérum doux, une valeur du taux d'humidité inférieure à la nôtre

(91,95%). Concernant les résultats du taux de matière sèche, on a noté pour les différents échantillons de lactosérum brut ou déprotéiné des valeurs de $4,04 \pm 0,89\%$ et $3,71 \pm 0,45\%$ respectivement, valeurs inférieures à celles soulignées par Benaissa (2018) de l'ordre de 8,82% et 8,26% respectivement. El-Tanboly et Khorshid (2017) ont pour leur part, indiqué un taux de matière sèche de 8,05% pour le lactosérum doux ; celle-ci est supérieure à celles qu'on a obtenu pour les différents échantillons de lactosérum doux brut ou déprotéiné utilisée dans cette étude. Néanmoins, d'après la littérature, la teneur en matière sèche des lactosérums doux varie généralement entre 5% et 6,7% (Alais, 1984 ; Sottiez, 1990) confortant nos résultats.

Les taux de cendres déterminés dans notre étude sont de $0,26 \pm 0,01\%$ pour le lactosérum brut et de $0,24 \pm 0,01\%$ pour la forme déprotéinée. Ces valeurs sont inférieures à celles trouvées par Souza *et al.* (2016) qui varient dans l'intervalle de $1,36 \pm 0,18$ - $1,54 \pm 0,24$ pour le lactosérum doux à différents intervalles de temps de stockage réfrigéré. Dans le même sens, le taux des cendres enregistré par EL-Dardiry (2017) et El-Tanboly et Khorshid, 2017) est supérieur à notre valeur. Les valeurs mentionnées par Benaissa (2018) pour le lactosérum brut (0,84%) et lactosérum déprotéiné (0,63%) sont également, supérieures à nos valeurs.

La teneur en protéines de notre lactosérum doux brut ($13,33 \pm 0,00\%$) est légèrement supérieure aux valeurs indiquées pour le lactosérum brut étudié par Souza *et al.* (2016) à des temps de stockage différents, soit $12,47 \pm 0,99$ (T= 0h) ; $11,84 \pm 0,90$ à (T= 24h), $12,42 \pm 1,28$ à (T = 48h) et $12,47 \pm 0,99$ à (T = 72h). Contrairement à notre valeur, le lactosérum étudié par EL-Dardiry (2017) se caractérise par une teneur en protéines très faible (0,92%). Une étude ultérieure réalisée par Boudjema *et al.* (2008) a montré que le lactosérum brut utilisé pour la production d'acide lactique se caractérise par un taux de protéines de 10,06%, valeur inférieure à la nôtre. Cet auteur a par ailleurs, montré une valeur en protéines de 7% pour la forme déprotéinée contrairement à notre échantillon qui se révèle plus riche (9,97%). Concernant la teneur en sucres, on note une richesse du lactosérum brut doux ($45,84 \pm 0,00$ g/l) comparé au lactosérum déprotéiné ($38,33 \pm 0,00$ g/l). Cette différence peut être attribuée en partie aux pertes lors du processus de déprotéinisation du produit. Toutefois, la valeur enregistrée pour le lactosérum doux brut est proche de celles rapportées par Jiménez *et al.* (2012) ainsi que Yonis *et al.* (2014) et qui sont respectivement de ($48,43 \pm 0,3$ g/l) et 46,2g/l.

Ces divergences dans les résultats peuvent s'expliquer par l'origine du lactosérum qui influence sa composition. En outre, la composition du lactosérum est une variable des changements de processus dans la fabrication du produit principal, soit la caséine ou le fromage. Toute variation dans les processus de fabrication des produits primaires pourrait

potentiellement modifier les constituants qui se retrouvent dans le lactosérum (Johansen *et al.*, 2002 ; Lievore *et al.*, 2015).

VI.3. Suivi de la croissance microbienne des souches test sur milieu solide

Les résultats de la figure 13, montrent que les milieux de culture élaborés et reconstitués dans de l'eau distillée stérile (A,A') permettent un développement des différentes souches test employées. En outre, l'addition de poudre de coquilles d'œufs à ces milieux n'entraîne aucune différence dans le taux de croissance des souches microbiennes. De plus, la biomasse microbienne formé sur ces milieux formulés est faible comparé au milieu standard (Fig. 13).

Néanmoins, nos résultats suggèrent que la poudre de pelures de bananes contient une quantité suffisante d'éléments nutritifs favorables au développement à la fois des bactéries et de la levure. Les données ainsi obtenues sont confortées en partie par ceux de Pyar et Peh (2018) ayant conclu que les déchets agricoles, en particulier la peau de banane, a le potentiel d'être utilisé comme substrat de croissance pour la production de bactéries, en particulier les souches d'*E. coli* et de *S. aureus*. Ces auteurs ainsi que Romel *et al.* (2016) ajoutent que les peaux de bananes sont des sources de nutriments (lipides, protéines, minéraux, etc.). Kindo *et al.* (2016) ont également démontré l'efficacité de la peau de banane comme milieu indigène pour l'isolement et identification facile de pathogènes fongiques humains à sporulation tardive.

Par ailleurs, la figure 13 montrent que les milieux de culture formulés à base de l'extrait de poudre de pelures de banane reconstitué dans le lactosérum avec ou sans addition de poudre de coquilles d'œufs au pH neutre de 6,5 se sont révélés aussi efficaces que le milieu témoin (gélose nutritive). Un développement important des souches microbiennes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) et de la souche de levure *Candida albicans* testées est noté.

Cette étude fait ressortir en outre, la performance supérieure des milieux de culture reconstitués dans le lactosérum comparé aux milieux préparés dans de l'eau distillée (Figure 13). En effet, le lactosérum doux utilisé dans cette étude pour la préparation des milieux de culture, bien que déprotéiné est une source non négligeable en lactose (46,0-52,0 g/l), minéraux (5,00-5,20 g/l), calcium (0,4-0,6 g/l), phosphates (1,0-3,0 g/l) et acides aminés libres totaux (0,133 g/l) (Papademas et Kotsaki, 2019). Il est bien établi, qu'un milieu de culture doit fournir du carbone, des sources d'azote, du phosphate inorganique et soufre, des

traces de métaux, de l'eau et des vitamines et si nécessaire, des facteurs de croissance indispensables au développement des microorganismes (Zimbro, 2003 ; Manoharachary *et al.*, 2016).



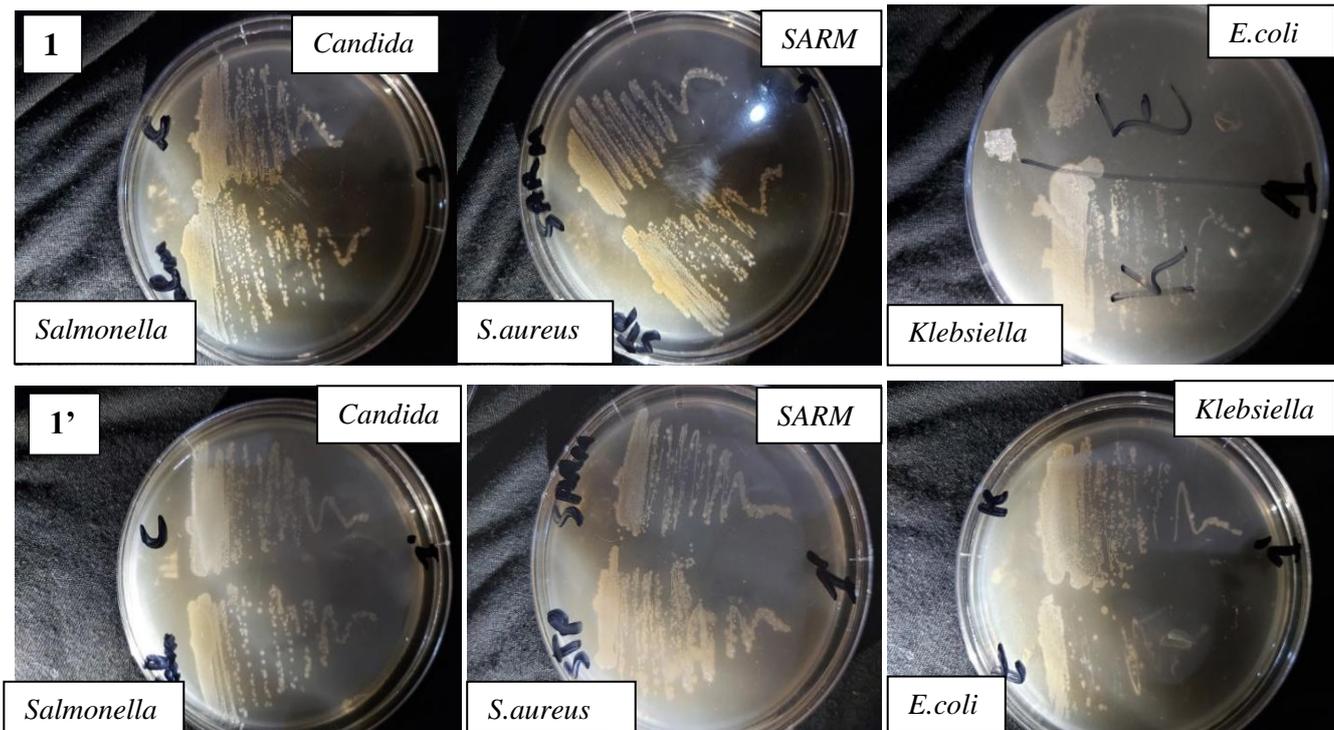


Figure 13: Résultats de la culture des bactéries et de la levure test sur le milieu de culture microbiologique formulé dans le rapport (10/90 : V/V) à base de l'extrait de poudre de pelures de banane + eau distillée stérile (A,A') ou + lactosérum (1,1') comparé au milieu témoin standard (GN). (A, 1) : sans supplément de poudre de coquilles d'œufs ;(A',1') : en présence de poudre de coquilles d'œufs.

D'autre part, les résultats obtenus dans les figures 14 et 15 montrent que, les différents milieux de culture formulés à base d'un mélange de 25/75 (V/V) ou 50/50 (V/V) d'extrait de pelures de banane et d'eau distillée respectivement ont fourni de meilleurs résultats comparés à la formulation 10/90 (V/V). Ainsi, une augmentation de la quantité de l'extrait de pelures de bananes dans la préparation de milieu de culture avec de l'eau distillée permet un apport de nutriments en quantité suffisante pour soutenir une meilleure croissance des bactéries et de la levure test. De plus, les différentes souches test forment plus de colonies (biomasse importante) sur les milieux de culture dilués dans du lactosérum déprotéiné avec ou sans supplément de poudre de coquilles d'œufs.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'une étude récente menée par Corpuz (2019) qui a démontré la possibilité d'utilisation d'extraits de pelures de bananes aqueux et éthanolique à différentes concentrations (100%, 75%, 50% et 25%) dans la préparation de milieux de culture gélosés ajustés à différents pH (6 ; 6,50 ; 7 et 7,50). Les résultats de leur

expérience ont révélé d'une part, que les organismes cultivés sur la gélose à base d'extrait d'alcool ont produit une meilleure croissance que les organismes cultivés sur gélose à base d'extrait aqueux de poudre de pelures de banane de la variété *Musaparadisiaca*. D'autre part, la croissance des bactéries test (*Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*) est plus prononcée dans le milieu de culture contenant 75% d'extrait de *Musa paradisiaca* à pH 7,50 et 6. Aussi, le même milieu à pH 6,0 peut être utilisé également dans la culture de champignons, en particulier *Candida albicans* corroborant les résultats de notre étude.

Dans le même sens que nos résultats, Mohane *et al.* (2020) ont démontré l'efficacité d'un milieu de culture gélosé à base de pelures de banane dans la culture de souches de *Klebsiella spp.* Ces derniers ont contrairement à notre étude, observé aucune croissance des souches d'*E. coli* et *S. aureus*.

En général, les micro-organismes se développent naturellement dans presque tous les types d'habitats. En outre, chaque type de microorganismes (bactéries, levures ou moisissure) ne peut être cultivé avec succès dans un milieu de culture donné que, si ce dernier lui assure un équilibre entre ces besoins nutritifs et les conditions de croissance appropriées (température, pH, activité de l'eau, niveau de l'oxygène et le niveau d'oxygène) (Jenkins et Maddocks, 2019).

Globalement, tous les milieux de culture microbiologiques formulés dans cette étude favorisent un développement des souches de bactéries et levures testées. Ces résultats suggèrent que les pelures de bananes ainsi que le lactosérum constituent une source nutritive intéressante (sucres, minéraux, vitamines, acides aminés, etc.) pour le développement de divers microorganismes.

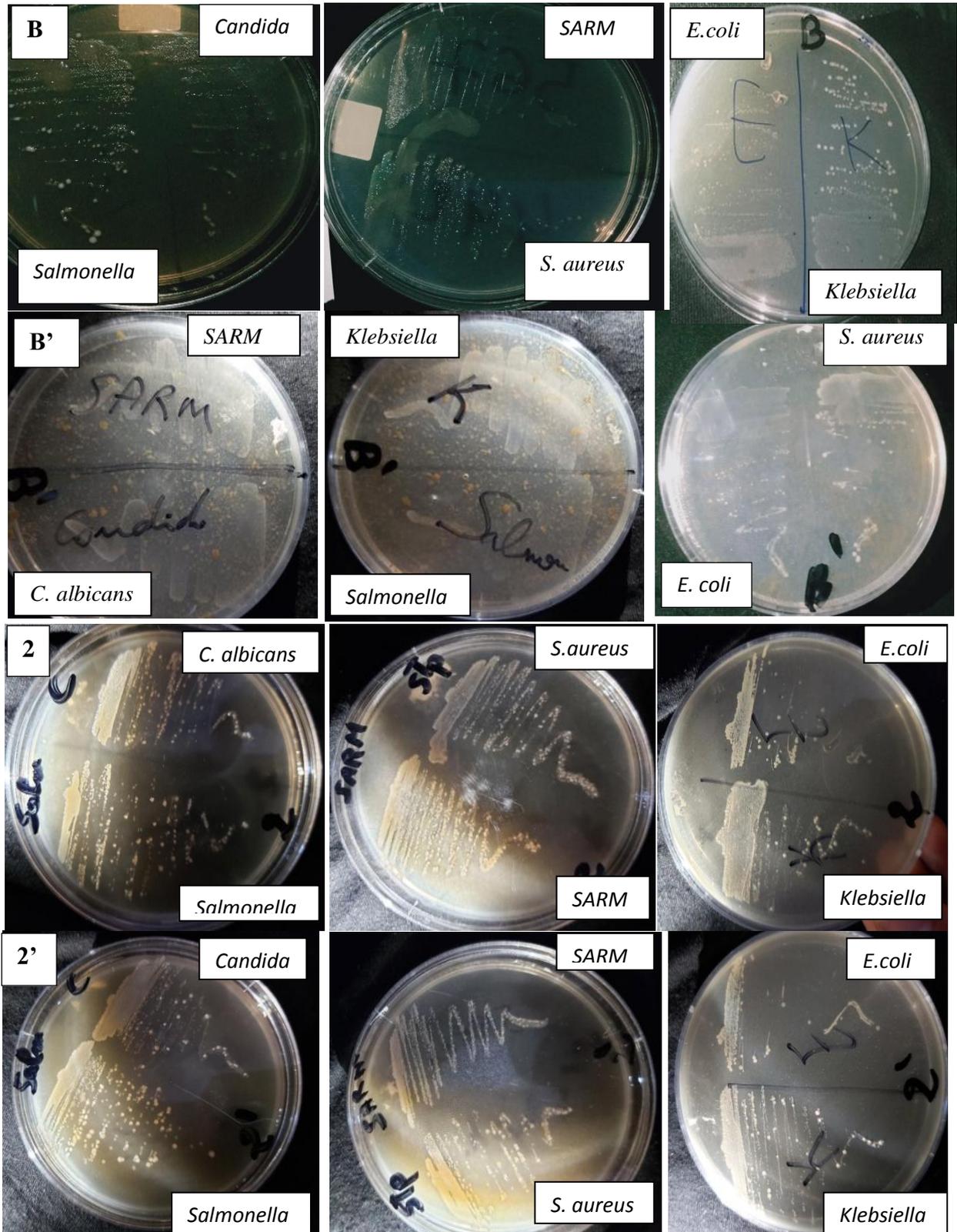


Figure 14: Résultats de la culture des bactéries et levure test sur le milieu de culture microbiologique formulé dans le rapport (25/75 : V/V) à base de l'extrait de poudre de pelures de banane + eau distillée stérile (B, B') ou + lactosérum (2,2'). (B, 2) : sans supplément de poudre de coquilles d'œufs ; (B',2') : en présence de poudre de coquilles d'œufs.

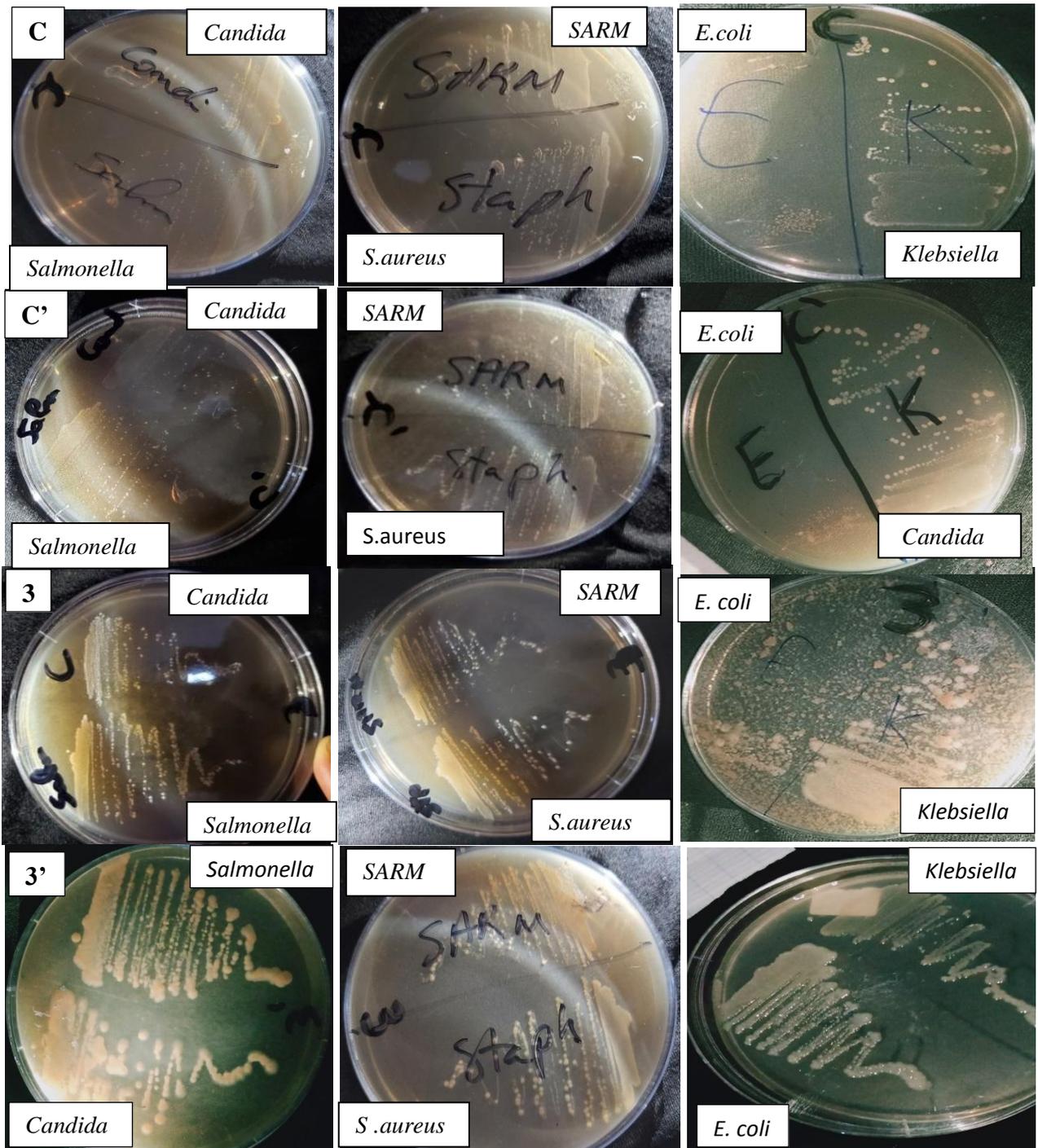


Figure 15: Résultats de la culture des bactéries et de la levure test sur le milieu de culture microbiologique formulé dans le rapport (50/50 : V/V) à base de l'extrait de poudre de pelures de banane + eau distillée stérile (C,C') ou + lactosérum (3,3'). (C,3) : sans supplément de poudre de coquilles d'œufs ; (C',3') : en présence de poudre de coquilles d'œufs.

➤ **Performance des milieux de culture formulés dans le test ECBU**

En microbiologie clinique, l'identification appropriée des agents infectieux est la condition préalable à la réussite du traitement de toute infection. Cette identification microbienne est réalisée soit par une batterie de réactions biochimiques, soit par l'utilisation du milieu sélectif et/ou chromogène. Le milieu sélectif chromogène est préféré en raison de sa facilité et de sa confirmation phénotypique directe sous forme de production de couleur (Gupta *et al.*, 2020).

Dans cette étude, les milieux de culture formulés ont également fait l'objet d'une comparaison par rapport aux milieux de culture de routine employés dans un laboratoire d'analyses microbiologiques pour l'identification des pathogènes de l'infection urinaire, les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 16.

La figure 16 fait ressortir l'aptitude des différents milieux de culture dans l'isolement de germes à partir de l'échantillon d'urineensemencé de façon similaire au milieu standard (gélose nutritive). Cependant, ces milieux ne permettent pas d'identifier avec certitude le type de souche microbienne isolée par comparaison à la gélose CHROMagar (Fig. 16). Contrairement à nos résultats, Gupta *et al.* (2020) ont développé un milieu gélosé aux extraits de peaux de banane hachées, pour la culture sélective de levures en particulier l'espèce *Cryptococcus neoformans* isolées à partir du liquide céphalo-rachidien de patients infectés par le virus du Sida (VIH). Sur ce milieu, la croissance a entraîné le développement de colonies de couleur brun clair à brun foncé, indiquant le potentiel chromogène de ce milieu élaboré.

Il est bien établi que la gélose CHROMagar est un milieu solide commercial chromogénique qui permet l'identification directe et rapide de différentes souches microbiennes (entérobactéries et non entérobactéries) (Annexe 4). Cette différenciation se fait grâce à l'utilisation de substrats chromogènes qui sont clivés par des enzymes spécifiques. La couleur de la souche microbienne qui se développe sur le milieu de culture est interprétée suivant une fiche guide fournie par les compagnies productrices de ces types de milieux (par exemple rose pour *E. coli* ou bleu pour *Klebsiella ssp* ou blanche pour *S. aureus*, etc.) (Atlas et Snyder, 2013 ; Cavalcanti *et al.*, 2017 ; Jenkins et Maddocks, 2019).

Selon la littérature, le milieu CHROMagar Orientation (Becton Dickinson) a été développé et validé pour la culture d'échantillons urinaires. Il permet une identification directe des colonies d'*E. coli* sans tests supplémentaires. Comme le milieu CHROMagar Orientation est supérieur aux milieux non chromogènes pour la distinction des colonies d'entérobactéries,

il est utilisé pour l'inoculation d'une grande variété d'échantillons dans les laboratoires cliniques (Farfouret *al.*, 2019)

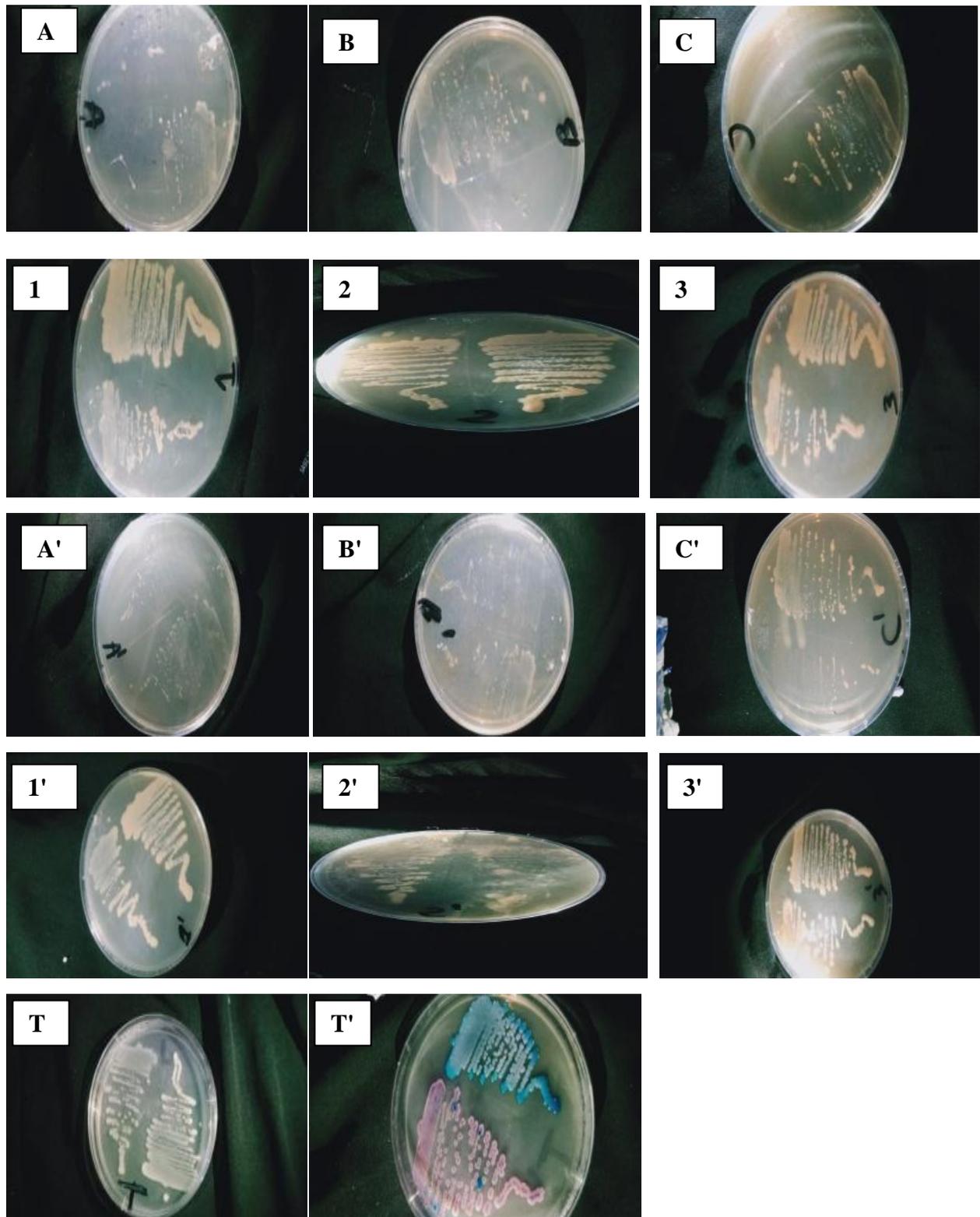


Figure 16: Résultats de l'analyse microbiologique de l'échantillon d'urine testée sur milieu de la culture formulée

Conclusion générale

Conclusion

Conclusion

Ces dernières décennies, l'augmentation de production de déchets et son impact sur l'environnement a été la préoccupation de nombreux gouvernements à travers le monde y compris l'Algérie. Actuellement, la politique gouvernementale vise une meilleure gestion de ces déchets. L'objectif de cette étude porte sur l'étude de la possibilité de valorisation de certains déchets (pelures de banane, lactosérum et coquilles d'œufs) dans la formulation de milieux de culture à usage microbiologique.

La caractérisation physicochimique de la poudre de pelures de banane, du lactosérum doux brut et déprotéiné a révélé leur richesse en sucres estimée à 28,8 gM100gMS, 45,84g/l et 38,33g/l respectivement. Ces matières premières dont le pH est proche de la neutralité, se caractérisent également par une teneur en protéines non négligeable de l'ordre de 12,09%, 13,33% et 9,97%. Le taux d'humidité déterminé pour le lactosérum brut ($95,96 \pm 0,93\%$) ou déprotéiné ($96,28 \pm 0,45\%$) est supérieur à celui de la poudre de pelures de bananes ($11 \pm 0,72\%$). En outre, les milieux de culture microbiologiques élaborés à base de l'extrait de pelures de banane avec le lactosérum ou l'eau distillée avec ou sans addition de poudre de coquilles d'œufs se sont montrés aussi efficaces que la gélose nutritive dans la culture des souches test utilisées (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. enterica*, SARM : *S. aureus* résistant à la méticilline) et de la souche de levure *C.albicans*). De plus, les milieux avec le lactosérum ont permis la formation d'une biomasse importante comparée à ceux préparés avec de l'eau distillée. Enfin, le test d'évaluation de la performance des milieux de culture microbiologiques élaborés dans cette étude a démontré leur aptitude dans l'isolement des germes de l'infection urinaire par comparaison au milieu standard utilisé en microbiologie clinique.

Nos résultats ainsi démontrés suggèrent que la pelure de banane, le lactosérum et la coquille d'œufs représentent des substrats nutritifs intéressants pour la préparation de milieux de culture microbiologiques alternatifs aux milieux synthétiques commercialisés à coût élevé.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abel F., Adeyemi O.A., Oluwole O.B., Oladunmoye O.O., Ayo-Ajasa O.Y., Anuoluwatelemini J.O. (2015). Effects of Treated Banana Peel Meal on the Feed Efficiency, Digestibility and Cost Effectiveness of Broiler Chickens Diet. *Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry*, 1(6): 1- 6.
- Abella M., Leano M.L., Malig J., Martin G., Cruz C.D., De Leon A. (2016). Formulation of a Sports Drink from Fermented Whey. *CLSU International Journal of Science & Technology*, 1(1): 1-10.
- AFNOR (1980). Recueil des Normes Françaises : Lait et les Produits Laitiers. Edition Afnor, Paris-France, 286 pages.
- AFNOR (1982). Recueil de Normes Françaises des Produits Dérivés des Fruits et Légumes, Jus de Fruits. Edition Afnor, 325 pages.
- AFNOR (1986). Méthodes d'analyses du Lait et des Produits Laitiers. Recueil des Normes Françaises. 2^{ème} édition, Paris-France, 580 pages.
- Alaa El-Din G., Amer A.A., Malsh G., Hussein M. (2018). Study on the Use of Banana Peels for oil Spill Removal. *Alexandria Engineering Journal*, 57(3): 2061- 2068.
- Alais C. (1984). Sciences du Lait: Principes des Techniques Laitières. Sepaic, 814 pages.
- Alexander B.D., Procop G.W., Cullen S.K., Dufresne P., Fuller J., Ghannoum M.A., Hanson K.E., Lockhart S.R., Ostrosky-Zeichner L., Perlin D.S., Shortridge D., Wiederhold N.P., Wengenack N.L. (2016). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Clinical & Laboratory Standards Institute, 33 pages.
- Aneja K.R. (2007). Experiments in Microbiology, Plant Pathology And Biotechnology. Fourth Edition, New Age International, 632 pages.
- Argenta A.B., Scheer A.D.P. (2020). Membrane Separation Processes Applied to Whey: A review. *Food Reviews International*, 36(5): 499 - 528.
- Assembly U.N.G. (2015). Transforming our World: the 2030 Agenda for Sustainable Development. United Nations: New York, Ny, USA, 1- 9.
- Atlas R.M., Snyder J.W. (2013). Handbook of Media for Clinical and Public Health Microbiology. CRC Press, Taylor & Francis Group, 535 pages.
- Aurore G., Parfait B., Fährasmane L. (2009). Bananas, Raw Materials for Making Processed Food Products. *Trends in Food Science & Technology*, 20(2): 78 - 91.
- Bais B., Gorachiya P.R., Take L., Singh S., Devi D. (2017). Efficient Way to use Whey as Ready to Serve (RTS) Beverage. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 1(5): 1259 -1260.
- BandalS., Talib M., Parate V. (2014). Utilization of Banana and Pomogranate Peel Flour in Fortification of Bread. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 3(7): 1100-1105.
- Bello-Pérez L.A., Agama-Acevedo E., Gibert O., Dufour D. (2012). Banana. In: *Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest Physiology, Processing and Packaging* (ed. Siddiq M., Ahmed J., Labo M.G., Ozadali F), pp. 137- 157. Ames, IA: John Wiley & Sons.
- Benaissa M. (2018). Valorisation du Lactosérum par les Bactéries Lactiques. Thèse de doctorat en sciences, Spécialité: Biotechnologie, Option: Ecosystèmes microbiens complexes. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, 144 pages.
- Bonnet-Bruno C. (2012). Valorisation de la Banane Cavendish FWI, à Différents Stades Physiologiques de Récolte pour L'obtention par Procédés de Chimie verte de Molécules D'intérêt Biologique Impliquées dans des Activités Anti-ulcères et

Références Bibliographiques

Cardiovasculaires. Thèse de doctorat en sciences de la vie. École doctorale pluridisciplinaire: Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques. Université des Antilles et de la Guyane, 175 pages.

- Boudjema K.A., Fazouane-Naimi F., Hellal A., Mechakra A. (2009). Optimisation et Modèle de Production d'acide Lactique par *Streptococcus thermophilus* sur Lactosérum. Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, 29: 80 - 90.
- Božanić R., Barukčić I., Lisak K. (2014). Possibilities of Whey Utilisation. Austin Journal of nutrition & food sciences, 2(7): 7.
- Castelli H., Du Vale L. (2013). Handbook on Cheese: Production, Chemistry and Sensory Properties. Nova Science Publishers, Incorporated, 613 pages.
- Cavalcanti M.D.P., Pereira V.R.A., Dessein A.J. (2017). Tropical Diseases: An Overview of Major Diseases Occurring in the Americas. 1st Edition, Bentham Science Publishers, 531 pages.
- Chatterjee G., De Neve J., Dutta A., Das S. (2015). Formulation and Statistical Evaluation of a Ready-to-drink Whey Based Orange Beverage and its Storage Stability. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 14(2): 253- 264.
- Chatzipaschali A.A., Stamatis A.G. (2012). Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects. Energies, 5(9): 3492 - 3525.
- Chavan R., Shraddha R., Kumar A., Nalawade T. (2015). Whey Based Beverage: its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. Journal of Food Processing & Technology, 6(10): 2- 8.
- Commission E. (2018). Report on Critical Raw Materials and the Circular Economy. Commission Staff Working Document, 76 pages.
- Corpuz A.V. (2019). Potential of Banana Fruit Peel Extract-Based Agar as Isolation Medium for Microorganisms. International Journal of Scientific & Engineering Research, 10(10): 1717-1721.
- Costa R. S., Santos O. V., Lannes S. C. S., Casazza A. A., Aliakbarian B., Perego P., Ribeiro-Costa R. M., Converti A., Silva J. O. C. Jr. (2020). Bioactive compounds and value-added applications of cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Schum.) agroindustrial by-product. Food Science and Technology, 40(2): 401-407
- Da Silva N., Taniwaki M.H., Junqueira V.C.A., Silveira N.F.A., do Nascimento M.S., Gomes R.A.R. (2018). Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual. CRC Press, 484 pages.
- De Angelis G.D., Medeghini L., Conte A.M., Mignardi S. (2017). Recycling of Eggshell Waste into Low-cost Adsorbent for Ni Removal from Wastewater. Journal of Cleaner Production, 164: 1497-1506.
- De Vrieze J., De Mulder T., Matassa S., Zhou J., Angenent L.T., Boon N., Verstraete W. (2020). Stochasticity in Microbiology: Managing Unpredictability to Reach the Sustainable Development Goals. Microbial Biotechnology, 13(4): 829 - 843.
- De wit J.N. (2011). Lecturer's Handbook on Whey and Products. First edition, Chapter 7: Application of Whey products. European Whey Products Association, 91 pages.

Références Bibliographiques

- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugar and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350 - 356.
- El- Dardiry A.I. (2017). Effect of Using Orange on the Physico-chemical Properties of Ricotta Cheese. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 95 (1): 299-319.
- El-Shewy A.A. (2016). Whey as a Feed Ingredient for Lactating Cattle. *Science International*, 4(3): 80 - 85.
- El-Tanboly E.S., Khorshid M.E.H. (2017). Recovery of Cheese Whey, a by-product from the Dairy Industry for use as an Animal Feed. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 6(5):148 -154.
- Engelkirk P.G., Duben-Engelkirk L. (2008). *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology*. Editions Lippincott Williams & Wilkins, 754 pages.
- ESCMID (2008). Eucast Definitive Document EDef 7.1: Method for the Determination of Broth Dilution MICs of Antifungal Agents for Fermentative Yeasts. *Clinical Microbiology Infection*, 14(4): 398- 405.
- FAO (2021). *Banana Market Review – Preliminary results 2020*. Rome, 9 pages.
- FAO. (2018). *Banana Market Review: Preliminary Results for 2018*. Rome, 12 pages.
- FAO. (2020). *Examen du Marché de la Banane 2019: Organisation des Nations Unies pour L'alimentation et L'agriculture*. Rome, 13 pages.
- Farfour E., Henry A., Razillard A., Cardot E., Limousin L, Cahen P., Jolly E., Vasse M., Mathonnet D. (2019). Rapid Identification of *Escherichia coli* colonies from Clinical Sample Inoculated on CHROMagar Orientation media (Becton Dickinson). *Annals of Clinical biology*, 77(3): 350-352.
- Gandhi V., Shah K. (2021). *Advances in Wastewater Treatment I. Volume 91, Materials Research From LLC*, 262 pages.
- Ghaly A.E., Mahmoud N., Rushton D., Arab F. (2007). Potential Environmental and Health Impacts of High land Application of Cheese Whey. *American Journal of Agricultural & Biological Science*, 2(2): 106 - 117.
- Giri S.S., Jun J.W., Sukumaran V., Park S.C. (2016). Dietary Administration of Banana (*Musa acuminata*) Peel Flour Affects the Growth, Antioxidant Status, Cytokine Responses, and Disease Susceptibility of Rohu, Labeorohita. *Journal of Immunology Research*, 1-11. doi.org/10.1155/2016/4086591.
- González siso M.I. (1996). The Biotechnological Utilization of Cheese Whey: A review. *Bioresource Technology*, 57(1): 1-11.
- Guo M., Wang G. (2019). History of Whey Production and Whey Protein Manufacturing. In: *Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications* (ed. Guo M), pp. 1-12. John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA.
- Gupta M.k., Mallick P., Pandey N., Shankar V., Chakravarty J., Tilak R. (2020). The utility of Banana Peel extract Agar in the Presumptive Identification of *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Microbiological Methods*, 177: 1-3.
- Heckman M.A., Sherry K., De Mejia E.G. (2010). Energy drinks: An assessment of their Market Size, Consumer Demographics, Ingredient Profile, Functionality, and Regulations in the United States. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, 9(3): 303- 317.

Références Bibliographiques

- Higgins J.P., Tuttle T.D., Higgins C.L. (2010). Energy Beverages: Content and Safety. *Mayo Clinic Proceedings*, 85(11): 1033-1041.
- Hussein H.S., Shaarawy H.H., Hussien N.B., Hawash S.I. (2019). Preparation of Nano-Fertilizer Blend from Banana Peels. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1): 1-9.
- Islam S., Khan S.S. (2001). Seasonal Fluctuations of Carbohydrate Accumulation and Metabolism of Three Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) Cultivars Grown at Seven Sowing Times. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 76(6): 764-770.
- Jambhale K., Gohatre C. (2019). To Study Sun Drying Banana Peel Powder Nutritional Value Used As Beneficial Nutritional Juice. *International Journal of Innovative Research in Science. Engineering & Technology*, 8(2): 1144 -1148.
- Jenkins R., Maddocks S. (2019). *Bacteriology Methods for the Study of Infectious Diseases*. Elsevier Academic Press, 222 pages.
- Jenkins R., Maddocks S. (2019). *Bacteriology Methods for the Study of Infectious Diseases*. Elsevier, Academic Press, 222 pages.
- Jiménez X.T., Cuenca A.A., Jurado A.T., Corona A.A., Urista C.R.M. (2012). Traditional Methods for Whey Protein Isolation and Concentration: Effects on Nutritional Properties and Biological Activity. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 56(4): 369- 377.
- Johansen A.G., Vegarud G.E., Skeie S. (2002). Seasonal and Regional Variation in the Composition of Whey from Norwegian Cheddar-type and Dutch-type cheeses. *International Dairy Journal*, 12: 621-629.
- Jones D.R. (2000). *Diseases of Banana, Abaca and Enset*. WalingfordReino Unido: CABI Publishing, 495 pages.
- Kalemelawa F., Nishihara E., Endo T., Ahmad Z., Yeasmin R., Tenywa M.M., Yamamoto S. (2012). An Evaluation of Aerobic and Anaerobic Composting of Banana Peels Treated with Different Inoculums for Soil Nutrient Replenishment. *Bioresour Technology*, 126: 375 - 382.
- Keran H., Salkić M., Odošić A., Jašić M., Ahmetović N., Šestan I. (2009). The Importance of Determination of some Physical-Chemical Properties of Wheat and Flour. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74(3): 197 - 200.
- Khawas P., Deka S.C. (2016). Comparative Nutritional, Functional, Morphological, and Diffraction Study on Culinary Banana (*Musa ABB*) Peel at Various Stages of Development. *International Journal of Food Properties*, 19: 2832 - 2853.
- Kinayturk N.K., Tunali B., Altug D.T. (2021). Eggshell as a Biomaterial can have a Sorption Capability on its Surface: A Spectroscopic Research. *Royal Society Open Science*, 8(6): 1-14.
- Kindro A., Tupaki-Sreepurna A., Yuvaraj M. (2017). Banana Peel Culture as an Indigenous Medium for easy Identification of Late-sporulation Human Fungal Pathogens. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 34(4): 457-461.
- Leira M.H., Nascimento A.F., Alves F.R., Orfao L., Lacerda Y.G., Botelho H.A., Reghim L., Lago A.A. (2019). Characterization of different techniques for obtaining minced fish from tilapia waste. *Food Science and Technology*, 39: 63-67.
- Lievore P., Simoes D.R.S., Silva K.M., Drunkler N.L., Barana A.C., Nogueira A., Demiate I.M. (2015). Chemical Characterisation and Application of Acid Whey in Fermented Milk. *Journal of Food Science & Technology*, 52(4): 2083 - 2092.

Références Bibliographiques

- Liu Y., Wang k., Blanchard M., Li C., Metzger G. (2021). Eggshell Powder Compositions and Methods of Producing Eggshell Powder Compositions. United States Patent, 1-12.
- Lobo M.G., Roja F.J.F. (2020). Biology and Postharvest Physiology of Banana. In: Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition (ed. Siddiq M., Ahmed J., Lobo M.G), First Edition, pp. 19 - 44. John Wiley & Sons Ltd. Ltd.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Lewis Farr A., Randall R.J. (1951). Protein Measurement with the folin Phenol Reagent. Journal of Biological Chemistry, 193(1): 256-275.
- Lucas A., Rock E., Chamba J., Verdier-Metz I., Brachet P., Coulon J. (2006). Respective Effects of Milk Composition and the Cheese-making Process on Cheese Compositional Variability in Components of Nutritional Interest. Le lait, 86(1): 21- 41.
- M'hir S., Rtibi K., Mejri A., Ziadi M., AlouiH.,Hamdi M., Aye L . (2019). Development of a Novel Whey Date Beverage Fermented with Kefir Grains Using Response Surface Methodology.Hindawi Journal of Chemistry, 13 pages. doi.org/10.1155/2019/1218058.
- Macwan S.R., Dabhi B.K., Parmar S., Aparnathi K. (2016). Whey and its Utilization. International Journal of Current Microbiology &Applied Sciences, 5(8): 134 -155.
- Malick M. (2020). Le dilemme Entre le Sanitaire et L'économique Face à La Pandémie: La Stratégie Sénégalaise du Vivre Avec La Covid-19 en Question. Enseignant-chercheur à Supdeco, 5 pages.
- Manoharachary C., Tilak K.V.B.R., Mallaiah K.V., Kunwar I.K. (2016). Mycology and Microbiology (A Textbook for UG and PG Courses). Scientific Publishers (INDIA), 607 pages.
- Mazumdar A., Maumdar H. (2018). Bio-Processing of Banana Peel for Alpha Amylase Production by *Aspergillus oryzae* employing Solid-State Fermentation. The Clarion- International Multidisciplinary Journal, 7(1): 36-42.
- Mignardi S., Archilletti L., Medeghini L., Vito C.D. (2020). Valorization of Eggshell Biowaste for Sustainable Environmental Remediation. Scientific Reports, 10 (1): 1-10.
- Mohane N.R., Tumane P.M., Wasnik D.D. (2020). Formulation of Cost Effective Alternative Microbial Culture Media Using Fruits and Vegetables Waste: a novel Approach. Journal of Advanced Scientific Research, 11: 181-189.
- Molino A., Larocca V., Chianese S., Musmarra D. (2018). Biofuels Production by Biomass Gasification: A review. Energies, 1(4): 2- 31.
- Mones G.H., Angeles I.P. (2017). Performance of Red Tilapia (*Oreochromis sp.*) Fed Diet with Fermented Banana (*Musa Acuminata*×*Balbisiana*) Peel at Different Stages of Ripeness Following Aeromonas Hydrophila Infection. International Journal of Agricultural Technology, 13(7.1): 1041- 1064.
- Nambi-Kasozi J., Sabiiti E.N., Bareeb F.B., Sporndly E.N. (2014). Effect of Feeding Varying Levels of Banana Peelings Supplemented with Maize Bran, Cotton Seed Cake and GliricidiaSepium on the Performance of Lactating Dairy Cows. African Journal of Agricultural Research, 9(8): 720 -727.
- Navarro-Peraza R.S., Osuna-Ruiz I., Lugo-Sánchez M.E., Pacheco-Aguilar R., Ramírez-Suárez J.C., Burgos-Hernández A., Martínez-Montaña E., Salazar-Leyva J.A.

Références Bibliographiques

- (2020). Structural and Biological Properties of Protein Hydrolysates from Seafood by-products: a review focused on Fishery Effluents. *Food Science and Technology*, 40: 1-5.
- Nuriyasa I.M., Puspani E., Bidura I.G.N.G. (2019). Feed Digestion and Carcass Characteristics of Rabbits Fed with Banana Peel (*Acuminata balbisiana*) Supplementation. *Pakistan Journal Nutritional*, 19: 19 – 24
 - Nwabane J.T., Aghadi C.B. (2018). Statistical Modelling of Enzymatic Hydrolysis of Banana Peels for Bioethanol Production. *CurrentJournal of Applied Science and Technology*, 28(4): 1-14.
 - Otles S., Cagindi O. (2012). Safety Considerations of Nutraceuticals and Functional Foods. In: *Novel technologies in food science: Thier Impact on Products, Consumer Trends and the Environment* (ed. Mcelhatton A., SobralP.J.D.A, 2011), Volume 7, pp. 121-136. Springer Science & Business Media.
 - Ovuoye P.E., Ugonabo V.I., Okpala L.C., Nwokocha G.F. (2021). Efficacy Study of Eggshell (ESC) and Alum Base Coagulant (ABC) for the Removal of Total Suspended Solids (TSS) from Cosmetics Wastewater by Coag-flocculation. *Research Square*, 1-29. doi.org/10.21203/rs.3.rs-206327/v1.
 - Owuamanam S., Cree D. (2020). Progress of Bio-Calcium Carbonate Waste Eggshell and Seashell Fillers in Polymer Composites: A Review. *Journal of Composites Science*, 4 (2): 70 - 92.
 - Pachapur V.L., Das R.K., Brar S.K., Le Bihan Y., BuelnaG.(2017). Valorization of crude glycerol and eggshell biowaste as media components for hydrogen production:A scale-up study using co-culture system.*Bioresource Technology*, 225 :p 386-394.
 - Palacios-Ponce S., Ilyina A., Ramos-González R., Ruiz H.A., Martínez-Hernández J.L., Segura-Ceniceros E.P., Aguilar M.A., Sánchez O., Aguilar C.N. (2017). Bioproducts Obtained from the Bioprocessing of the Banana Peel Waste: An overview. In: *Applied Chemistry and Chemical Engineering: Research Methodologies in Modern Chemistry and Applied Science* (ed. Haghiet A., Balkose D., Pogliani L., Ribeiro A.C.F., Mukbaniani O.V., Torrens F, 2018), Volume 5, Chapter 10, pp. 223-245.Apple Academic Press.
 - Panghal A., Patidar R., Jaglan S., Chhikara N., Khatkar S.K., Gat Y., Sindhu N. (2018). Whey Valorization: Current Options and Future Scenario- A critical Review. *Nutrition &Food Science*, 48(3): 520 - 535.
 - Papademas P., Kotsaki P. (2019). Technological Utilization of Whey towards Sustainable Exploitation. *Advances in Dairy Research*, 7(4): 231- 240.
 - Patel S.R., Murthy Z.P. (2011). Waste Valorization: Recovery of Lactose from Partially Deproteinized Whey by Using Acetone as Anti-solvent. *Dairy Science &Technology*, 91(1): 53-63.
 - Pavlas M., Dvořáček J., Pitschke T., Peche R. (2020). Biowaste Treatment and Waste-To-Energy Environmental Benefits. *Energies*, 13(8): 2 -17.
 - Pyar H., Peh K. (2018). Chemical Compositions of Banana Peels (*Musa sapientum*) Fruits Cultivated in Malaysia using Proximate Analysis. *Research Journal of Chemistry & Environment*, 22(2): 108-111.
 - Quina M.J., Soares M.A., Quinta-Ferreira R. (2017). Applications of Industrial Eggshell as a Valuable Anthropogenic Resource. *Resources Conservation &Recycling*, 123: 176-186.
 - Rama G.R., Kuhn D., Beux S., Maciel M.J., Volken de Souza C.F. (2019). Potential Applications of Dairy Whey for the Production of Lactic Acid Bacteria Cultures. *International Dairy Journal*, 98: 25 - 37.

Références Bibliographiques

- Ramírez J.A., Castañón-Rodríguez J.F., Uresti-Marín R.M. (2020). An exploratory Study of Possible Food Waste Risks in Supermarket Fruit and Vegetable Sections. Food Science and Technology. In press.[dx.doi.org/10.1590/fst.27320](https://doi.org/10.1590/fst.27320).
- Rashwan M.A. (2015). Effect of Mixing Banana Peels with Frish Cattle Manure on Biogas Production. *Misr Journal of Agricultural Engineering*, 32(4): 1641 -1654.
- Rattanavichai W., Cheng W. (2015). Dietary Supplement of Banana (*Musa acuminata*) Peels Hot-water Extract to enhance the growth, Anti-hypothermal Stress, Immunity and Disease Resistance of the Giant Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 43(2): 415 - 426.
- Ray S., Barman A.K., Roy P.K., Singh B.K. (2017). Chicken Eggshell Powder as Dietary Calcium Source in Chocolate Cakes. *The Pharma Innovation*, 6 (9): 01- 04.
- Render D., Samuel T., King H., Vig M., Jeelani S., Babu R.J., Rangari V. (2016). Biomaterial-derived Calcium Carbonate Nanoparticles for Enteric Drug de Livery. *Journal of nanomaterials*, 1-8. doi.org/10.1155/2016/3170248.
- Rodríguez-tudela J.L., Cuenca-Estrella M., Díaz-Guerra T.M., Mellado E. (2001). Standardization of Antifungal Susceptibility Variables for a Semiautomated Methodology. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(7): 2513- 2517.
- Rouf A., Kanojia V., Naik H. R., Naseer B., Qadri T. (2017). An overview of microbial cell culture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6): 1923-1928.
- Saldanha R.B., Rocha C.G.D., Caicedo A.M.L., Consoli N.C. (2021). Technical and Environmental Performance of Eggshell Lime for Soil Stabilization. *Construction & Building Materials*, 1-12 doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.123648.
- Samra Z., Heifetz M., Talmor J., Bain E.,BaharJ. (1998). Evaluation of Use of a New Chromogenic Agar in Detection of Urinary Tract Pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4): 990 - 994.
- Siddiq M., Ahmed J., Labo G. (2020). Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition. John Wiley & Sons, 278 pages.
- Singh S.P., Singh D. (2010). Biodiesel Production Through the Use of Different Sources and Characterization of oils and Their Esters as the Substitute of Diesel: A review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 14(1): 200 - 216.
- Skryplonek K., Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A. (2019). Probiotic Fermented Beverages Based on Acid Whey. *Journal of Dairy Science*, 102(9): 7773 -7780.
- Smithers G.W. (2015). Whey-ing up the Options-Yesterday, Today and Tomorrow. *International Dairy Journal*, 48: 2 -14.
- Sottiez P. (1990). Produits Dérivés des Fabrications Fromagères. In: Lait et Produits Laitiers, Vache, Brebis, Chèvre. Edition Lavoisier, Paris, 633 pages.
- Souza J.L.F., da Silva M.A.P., da Silva R.C.F., do Carmo R.M., de Souza R.G., Célia J.A., deOliveira K.B., Plácido G.R., Lage M.E., Nicolau E.S. (2016). Effect of Whey Storage on Physicochemical Properties, Microstructure and Texture Profile of Ricotta Cheese. *African Journal of Biotechnology*, 15(47): 2649 -2658.
- Syed Abu Bakar S.K., Ahmad N., Jailani F. (2018). Chemical and Functional Properties of Local Banana Peel Flour. *Journal of Food & Nutrition Research*, 6(8): 492- 496.
- Tagliani C., Perez C., Curutchet A., Arcia P., Cozzano S. (2019). Blueberry pomace, valorization of an industry by-product source of fibre with antioxidant capacity. *Food Science and Technology*, 39(3), 644-651.

Références Bibliographiques

- Tambuwal A.D., Okoh E.V.C., Ogbiko C. (2019). Biogas Production from Banana and Plantain Peels Blended With Cow Dung in An in vitro Biodigester System. *Lajans*, 4(1): 160-164.
- Thompson A.K., Supapvanish S., Sirison J. (2019). *Banana Ripening: Science and Technology*. Springer Briefs in Food Health & Nutrition, 143 pages.
- Tolba T., Moroncini A., Kehila Y. (2020). Le recouvrement des coûts : un défi pour une gestion durable des déchets ménagers en Algérie. Cas de la Commune d'Annaba. CIRIEC (Centre Internationale de recherches et d'Information sur l'Economie Publique Sociale et Coopérative), 34 pages. doi.org/102518/ciriec.wp.202003.
- Tostivint C., de Veron S., Jan O., Lanctuit H., Hutton Z.V., Loubière M. (2017). Measuring food Waste in a Dairy Supply Chain in Pakistan. *Journal of Cleaner Production*, 145: 221- 231.
- Tsiouris V., Kontominas M.G., Filioussis G., Chalvatzi S, Giannenas I., Papadopoulos G., Koutoulis K., Fortomaris P., Georgopoulou I. (2020). The Effect of Whey on Performance, Gut Health and Bone Morphology Parameters in Broiler Chicks. *Foods*, 9(5): 588 - 601.
- Tunick M.H. (2008). Whey Protein Production and Utilization: a Brief History. In: *Whey Processing, Functionality and Health Benefits* (ed. Onwulata C., Huth P, 2009), Volume 82, pp. 1-13. John Wiley & Sons.
- Vasanthakumari R. (2016). *Textbook of Microbiology*. Wolters kluwerindia Pvt Ltd, 3rd Edition, 469 pages.
- Vatal K., Damala P., Angeli E., Antonopoulou G., Malamis D., Haralambous K. (2017). Current Treatment Technologies of Cheese Whey and Wastewater by Greek Cheese Manufacturing units and Potential Valorisation Opportunities. *Waste & Biomass Valorization*, 8(5): 1649 -1663.
- Venkatajothi R. (2021). *Practical Textbook of Medical Microbiology for Medical and Dental Students*. Darshan Publishers, 120 Pages.
- Viena V., Nizar M. (2019). Characterization of Activated Carbon Prepared From Banana Peels: Effect of Chemical Activators on the Adsorption of Gas Emissions. *Journal of Physics: Conference Series*, 1232(1): 1-8.
- Virulchatapan P., Luangsakul N. (2020). Effect of Harvesting Period on Physicochemical Properties and in Vitro Digestibility of Banana Flour. *International Journal of Agricultural Technology*, 16(2): 517-528.
- Walzem R.L., Dillard C.J., German J.B. (2002). Whey Components: Millennia of Evolution Create Functionalities for Mammalian Nutrition: What we Know and what we May be Overlooking. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 42(4): 353 - 375.
- Wangpor J., Prayoonyong P., Sakdaronnarong C., Sungpet A., Jonglertjanya W. (2017). Bioethanol Production from Cassava Starch by Enzymatic Hydrolysis, Fermentation and Ex-situ Nanofiltration. *Energy Procedia*, 138: 883- 888.
- Wherry B., Barbano D.M., Drake M.A. (2019). Use of Acid Whey Protein Concentrate as an Ingredient in Nonfat cup Set-style Yogurt. *Journal of Dairy Science*, 102(10): 8768 - 8784.
- Yangilar F. (2015). Properties of Ice Cream with Green Banana Flour. *Food Technology Biotechnology*, 53(3): 315-323.
- Yani A., Arief R.W., Mulyanti N. (2013). Processing of Banana Flour Using a Local Banana as Raw Materials in Lampung. *International Journal of Advanced Science Engineering and Information Technology*, 3(4): 26 -30.

Références Bibliographiques

- Zaini H.B.M., Sintang M.D.B., Pindi W. (2020). The roles of Banana Peel Powders to alter Technological Functionality, Sensory and Nutritional Quality of Chicken Sausage. *Food Science and Nutrition*, 8: 5497-5507
- Zandona E., Blazic M., Jamberk A.R. (2021). Whey Utilization: Sustainable uses and Environmental Approach. *Food Technology & Biotechnology*, 59(2): 147-161
- Zhang X., He X., Kang Z., Cui M., Yang D., Luque R. (2019). Waste Eggshell-derived dual-functional CuO/ZnO/Eggshell Nanocomposites: (Photo) Catalytic Reduction and Bacterial Inactivation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 7(18): 15762- 15771.
- Zimbro A.A.P.M.J. (2003). *Manual of Microbiological Culture media- BD Diagnostic systems*. 11th Edition, Difco Laboratories, Division of Becton Dickinson & Company Sparks, Maryland, 862 pages.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Tableau IX : Liste des solvants, produits chimiques, réactifs et milieux de culture, matériels et solutions

Solvants, produits chimiques et réactifs	Milieux de culture	Matériel	Solutions
<ul style="list-style-type: none"> -Phénolphtaléine -Hydroxyde de sodium -Ethanol -Carbonate de sodium - Phénol -Acide sulfurique - HCl - Ferrocyanure de K - Acétate de zinc - Tartrate double Na/K - Sulfate de cuivre - Sulfate ferrique - Permanganate de K -Sulfate de cuivre pentahydraté (II) -Folin-Ciocalteu 	<ul style="list-style-type: none"> -Gélose nutritive -Gélose CHROMagar orientation -Gélose Sabouraud + chloramphénicol 	<ul style="list-style-type: none"> - Fiole conique - Fiole jaugée -Papier filtre standard - Bécher -Capsule -Entonnoir -Spatule -Pissette d'eau distillée -Eprouvette graduée -Bec Bunsen -Poire pro-pipette -Flacons -Thermomètre -Pipettes graduées -Portoir -Tubes coniques -Tubes en verre +bouchon - Ballon à col rodé -Creusets -Dessiccateur -Boites de Petri -Ecouillons -PipettesPasteur -Anse de platine -Lame et lamelles -Cellule deMalassez 	<ul style="list-style-type: none"> -Eau distillée -Eau de javel -Solution aqueuse -Eau physiologique stérile

Annexes

Annexe 2

Tableau X: Liste des appareillages

Appareillages	Type
Bain-Marie	MEMMERT, Allemagne
Agitateur	HEIDOLPH MR 3001 K; IKA RH BASIC 2, WITOMIXOR VTX, RC Heating plate,
Spectrophotomètre	OPTIZEN 2120UV, BIOCHROM Libra S6 BIOSYSTEME BTS 350, Espagne
Balance	OHAUS (SCOUT SE), Ming Heng Digital SCAL-777, Allemagne
pH mètre	OHAUS (STARTER 2100), Allemagne
Étuve	NAHITA (Model 431/13) MEMMERT 28 Litres, Allemagne
Four à Moufle	Fours naberthem L9 /12 /B410 ,France
Centrifugeuse	UNIVERSAL 320R,
Broyeur	KRUPS, France
Autoclave	RAYPA (TRADE), Espagne
Réfrigérateur	Condor / Starlight 350 litres, Algeria
Microscope Optique	Olympus X23, Japon

Annexes

Annexe 3

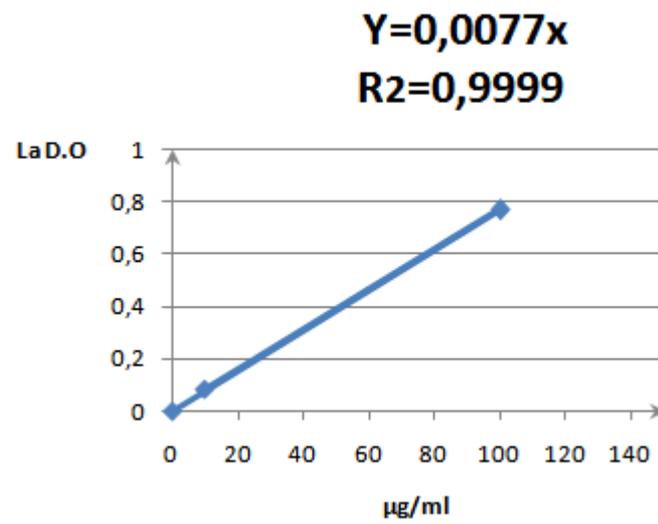
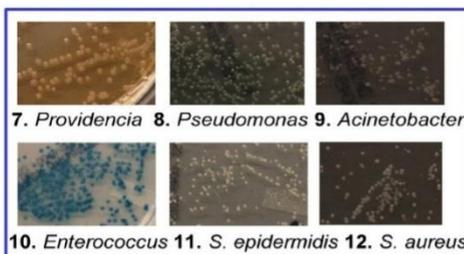
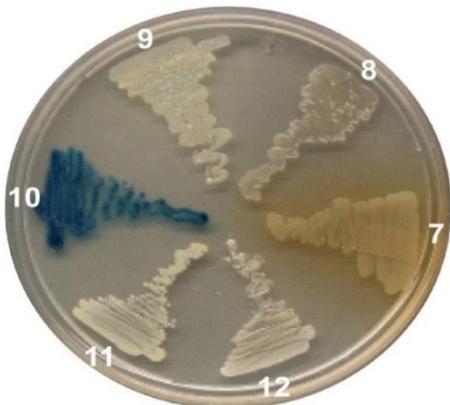
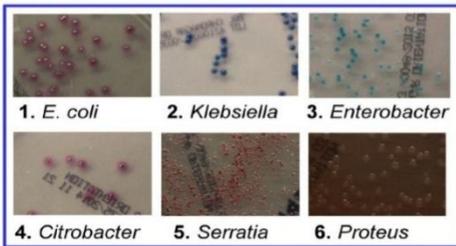
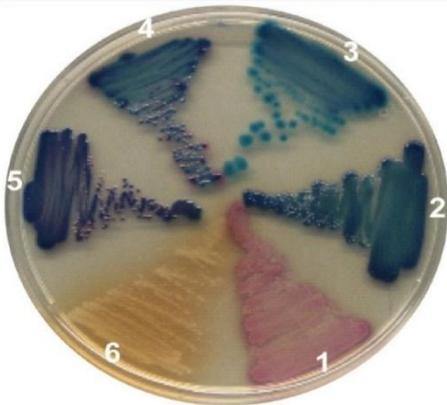


Figure 17: Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres à 0,1% (BSA)

Annexes

Annexe 4 : Profil de différentes souches ensemencées sur milieu CHROMagar

Chromogenic attributes, colony profile, and scatter pattern of *Enterobacteriaceae* and non-*Enterobacteriaceae* species on BBL® CHROMagar™ Medium



1. <i>E. coli</i> ATCC 51739	ATCC25922	EDL933
2. <i>K. pneumoniae</i> B41958	NRRL B51036	B41962
3. <i>Enterobacter</i> sp. SPB1	ATCC 13048	ATCC 51697
4. <i>C. freundii</i> B2643	ATCC 8090	ATCC 43864
5. <i>S. marcescens</i> BLCC 11	ATCC 8100	ATCC 43862
6. <i>P. mirabilis</i> PRI366	ATCC 7002	ATCC 35659
7. <i>P. rettgeri</i> B14063	ATCC BAA2525	
8. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	ATCC 27853	ATCC 9721
9. <i>A. baumannii</i> ATCC 19606	B 41237	<i>A. johnsonii</i> B14920
10. <i>E. faecium</i> PRI 524B	ATCC 700221	<i>E. faecalis</i> PRI 522A
11. <i>S. aureus</i> ATCC 43300	ATCC 10832	B313
12. <i>S. epidermidis</i> ATCC 14990	ATCC 49134	ATCC 12228

Résumé

Abstract

Nowadays, large amounts of waste are generated from the agro-industrial and household industries. These wastes are very diversified in nutrients (sugars, lipids, vitamins, minerals, etc.) and can be used in various fields. This study deals with the valorization of banana peels, sweet whey and eggshells through the development of microbiological culture media. Results of the characterization of banana peel powder and deproteinized whey revealed their interesting composition in sugars and proteins respectively ($28.8 \pm 0.0 \text{g}/100 \text{g}$ and 12.09%) and ($45.84 \text{g}/\text{l}$ and 13.33%). Moreover, these two raw materials are characterized by the neutrality of their pH of about 6. Overall, the different formulations of culture media with or without the addition of eggshell powder proved to be effective in the cultivation of the tested microbial strains (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. enterica*, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* as well as the yeast strain *Candida albicans*) compared to the standard medium (nutrient agar). In addition, culture media based on banana peel powder extract reconstituted in whey perform better than media prepared in distilled water in the culture of bacteria and yeast. In media diluted in water, a best grown of microorganisms was observed from a concentration of 25% of banana peel powder extract. Finally, the formulated culture media can be used to isolate the urinary infection germs.

Key words: Banana peel powder, sweet whey; eggshells powder, valorization, culture media

Résumé

De nos jours, de grandes quantités de déchets sont générés à partir de l'industrie agro-industrielle et ménagère. Ces derniers très diversifiés en nutriments (sucres, lipides, vitamines, minéraux etc.) peuvent être valorisés dans divers domaines. C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude portant sur la valorisation des pelures de bananes, lactosérum doux et coquilles d'œufs à travers l'élaboration de milieux de culture microbiologiques. Les résultats de la caractérisation de la poudre de pelures de bananes et du lactosérum déprotéiné ont révélé leur composition intéressante en sucres et protéines respectivement de ($28,8 \pm 0,0 \text{g}/100 \text{g}$ et $12,09\%$) et ($45,84 \text{g}/\text{l}$ et $13,33\%$). Par ailleurs, ces deux matières premières se caractérisent par la neutralité de leur pH de l'ordre de 6. Globalement, les différentes formulations de milieux de culture avec ou sans addition de la poudre de coquilles d'œufs se sont révélées efficaces dans la culture des souches microbiennes testées (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. enterica*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ainsi que la souche de levure *Candida albicans*) comparé au milieu standard (gélose nutritive). En outre, les milieux de culture à base de l'extrait de la poudre de pelures de banane reconstituée dans du lactosérum se sont montrés plus performant que les milieux préparés dans de l'eau distillée dans la culture des bactéries et de la levure. Dans les milieux dilués dans de l'eau distillée, une meilleure croissance microbienne est obtenue à partir d'une concentration de 25% de l'extrait de poudre de pelures de banane. Les milieux de culture formulés ont montré leur performance par comparaison aux milieux utilisés dans l'analyse de routine de l'ECBU dans l'isolement des germes de l'infection urinaire.

Mots clés : poudre de pelures de banane, lactosérum doux, poudre de coquilles d'œufs, valorisation, milieux de culture.

الملخص

في الوقت الحاضر ، يتم إنتاج كميات كبيرة من النفايات من الصناعات الزراعية والصناعات المنزلية. يمكن تقييم هذه العناصر الغذائية المتنوعة جدًا (الدهون ، والفيتامينات ، والمعادن ، وما إلى ذلك) في مختلف المجالات. من هذا المنظور ، تدرج دراستنا حول تقييم قشور الموز ومصل اللبن الحلو وقشور البيض في نطاق تطوير وسائط الاستزراع الميكروبيولوجي. كشفت نتائج تحليل مسحوق قشر الموز ومصل اللبن منزوع البروتين عن تركيبة مثيرة للاهتمام في السكريات والبروتينات على التوالي ($28.8 \pm 0.0 \text{ جم} / 100 \text{ جم}$ و 12.09%) و ($45.84 \text{ جم} / \text{ لتر}$ و 13.33%). علاوة على ذلك ، تتميز هاتان المادتان الخامتان بحياضية الأس الهيدروجيني الخاص بهما بترتيب 6. بشكل عام ، أثبتت الصيغ المختلفة لوسائط الاستزراع مع أو بدون إضافة مسحوق قشر البيض فعاليتها في الاستزراع. تم اختبار السلالات الميكروبية (*E. coli* و *S. aureus* و *K. pneumoniae* و *S. enterica* المقاومة للميثيسيلين بالإضافة إلى سلالة الخميرة (*Candida albicans*) مقارنة بالوسط الطبيعي. بالإضافة إلى ذلك ، تبين أن وسائط النمو القائمة على مستخلص مسحوق قشر الموز المعاد تكوينه في مصل اللبن تعمل بشكل أفضل من الوسائط المحضرة في الماء المقطر في نمو البكتيريا والخميرة. في الوسائط المخففة بالماء المقطر ، يتم الحصول على نمو ميكروبي أفضل من تركيز 25٪ من مستخلص مسحوق قشر الموز. أظهرت وسائط النمو المصاغة أداؤها مقارنة بالوسائط المستخدمة في التحليل الروتيني لـ ECU في عزل عدوى المسالك البولية.

الكلمات المفتاحية: مسحوق قشر الموز، مصل اللبن الحلو، مسحوق قشر البيض، الانتعاش، وسائط النمو