

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
People's Democratic Republic of Algeria  
Ministry of Higher Education and Scientific Research



Université M'hamed Bougara Boumerdès

Faculté des Sciences

Département de biologie

Mémoire

*MASTER ACADEMIQUE*

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science alimentaire et contrôle de qualité

Spécialité : Nutrition et science des aliments

*Isolement et caractéristiques des levures lactiques à partir des produits laitiers, et essai de production de biosurfactants*

*Etablit par: M<sup>me</sup> Sadoudi Youssra, M<sup>elle</sup> Toubal Ouassila et M<sup>elle</sup> Azoune Noussaiba*

*Devant le jury :*

M <sup>me</sup> Chibane Amellal Hayat	Professeur (UMBB)	Présidente
M <sup>me</sup> Kebbouche Gana Salima	Professeur (UMBB)	Promotrice
M <sup>me</sup> Benamrouche Samira	MCA (UMBB)	Examinatrice

*Année universitaire : 2019–2020*

## ***Remerciements :***

*On remercie Allah le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté pour réaliser ce travail*

*Nous tenons également à remercier notre Co-promotrice le Pr Kebbouche-Gana Salima qui nous a vraiment aidé, pour sa patience, sa générosité, son aide et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous les membres de jury Pr Chibane Amellal Hayet le Dr Benamrouche Samira qui ont voulu examiner ce travail.*

*Enfin, il nous serait difficile d'omettre de remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail. Qu'ils trouvent dans ces quelques lignes l'expression de notre sincère remerciement.*



## ***Dédicace***

*Je dédie ce travail*

***A mes très chers parents Fodhil et Messaouda.***

*Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte.*

*Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'études, votre soutien et votre encouragement m'ont toujours donné de la force pour persévérer et pour prospérer dans la vie.*

*Puisse Allah vous préserve et vous procure la santé et le bonheur*

*A mon très cher époux Mohammed*

*Merci pour la noblesse de tes pensées, la douceur de tes mots et pour ton amour.*

*A vous mes frère Tarak et Sami et mes sœur Chahrazed et Ryhab et ma belle-sœur Lina qui m'ont toujours soutenus et encouragés durant mes études.*

*Ainsi que tout le reste de ma famille et mes amis.*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

*Youssra*

## ***Dédicace***

### ***A mon très cher père :***

*Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin.*

*De tous les pères, tu es le meilleur. Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme*

*Que ton âme repose en paix mon amour, je t'aime.*

### ***A ma très chère mère :***

*Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée.*

### ***A ma meilleur amie Lydia :***

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous remercie pour votre aide, votre soutien émotionnel à travers ce travail.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite*

### ***A ma sœur Zineb :***

*En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime.*

*Une sœur comme on ne peut trouver nulle part ailleurs, Puisse Allah te protéger, garder et renforcer notre fraternité. Je te souhaite tout le bonheur du monde*

*Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

***A ma grand-mère maternelle hjila et ma grand-mère paternelle laldja :***

*Que Dieu le tout puissant vous comble de santé, de bonheur et vous prouve une longue vie pleine de joie.*

***A tous les membres de ma famille, petits et grands :***

*Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection*

***A ma Compagne du chemin :***

*YousraSaadoudi, sans toi ce serait beaucoup plus dur, beaucoup plus long. Tu as rendu le chemin facile et joyeux merci d'être à mes côtés, tu comptes énormément pour moi.*

*Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.*

***A mon oncle Soulimane, son épouse Wahiba et leurs enfants : Zineb, Nesrine, Bilal, Said et Bouchra***

*Je profite de la présente occasion pour vous remercier pour tout le soutien, la sympathie et l'amour que vous m'accordez.*

*Que Dieu le tout puissant vous comble de santé, de bonheur et vous prouve une longue vie pleine de joie.*

***A mes chères amies :***

*Amira, Randa, Lilia, Wassila, Nour el Houda, Yousra, Maroua*

*En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité.*

*Il me serait difficile de vous citer tous, vous êtes dans mon cœur, affectueusement.*

***Noussaiba***

## ***Dédicace***

*Je tiens tout d'abord à remercier le bon dieu de m'avoir aidé à réaliser ce mémoire .*

*Je dédie ce travail premièrement à mes chers parents qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur aide précieuse et leur soutien tout le long de mes études.*

*A :*

*Mon très cher frère et sœurs qui m'ont toujours Encouragé à aller de l'avant*

*Toute ma famille Grand et petit.*

*Tous mes amis (es) et camarades de la promotion 2019 – 2020*

***Ouassila***

## Liste des abréviations :

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique  
**ADNg** : ADN génomique  
**ADNr** : ADN ribosomal  
**ARN** : Acide ribonucléique  
**ARNr** : ARN ribosomal  
**ATCC** : American Type Culture Collection  
**AOP** : Appellation d'origine protégée  
**CCM** : Chromatographie sur couche mince.  
**CMC** : Concentration micellaire critique  
**CYA** : Czapek Yeast Agar  
**DMSO** : Diméthylsulfoxyde  
**dNTP** : DésoxyriboNucléotideTriPhosphate  
**DO** : Densité Optique  
**E24** : Indice d'émulsification  
**FS** : Souche fongique  
**GC/MS** : Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse  
**IR** : Infrarouge  
**IRTF** : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier  
**ITS (1)** : Internal Transcribed Spacer  
**L.F.B** : Laiterie et Fromagerie de Boudouaou  
**mN/m** : Millinewton par mètre  
**pb** : Paire de Base  
**PCR** : Polymerase Chain Reaction (réaction en chaîne de la polymérase)  
**PDA** : Potato Dextrose Agar  
**PDB** : Potato Dextrose Broth (Bouillon de pomme de terre et dextrose)  
**pH** : Potential Hydrogène  
**pmol** : picomole  
**q.s.p** : Quantité suffisante pour  
**rpm** : Rotation par minute  
**SDS** : Sodium Dodécyl Sulfate  
**TS** : Tension de Surface (Tension superficielle)  
**UV** : Lumière ultra-violette  
**UFC** : Unité Formant Colonie  
**Vvm** : Volume d'air par volume du milieu.  
**YPG** : (Yeast-extract-Peptone-Glucose) (Extrait de levure-Peptone-Glucose)  
**YPGA** : (Extrait de levure-Peptone-Glucose-Agar)

## *Liste des figures*

<b>Figure 01 :</b> Image représentant le yaourt nature additionné de fruits .....	<b>06</b>
<b>Figure 02 :</b> Image représentant le fromage .....	<b>07</b>
<b>Figure 03 :</b> Cellules bactériennes en forme de coques Et en forme de bâtonnets .....	<b>08</b>
<b>Figure 04 :</b> Filamentation des levures. (A) : Pseudomycélium. (B) : Vrai mycélium .....	<b>10</b>
<b>Figure 05 :</b> Tête conidienne d' <i>Aspergillus flavus</i> .....	<b>11</b>
<b>Figure 06 :</b> Trois formes du <i>Geotrichum</i> sur boîte de pétri et sur pâte lactique. ....	<b>12</b>
<b>Figure 07 :</b> Forme microscopique de <i>Debaryomyces hansenii</i> .....	<b>14</b>
<b>Figure 08 :</b> La levure de candida .....	<b>16</b>
<b>Figure 09 :</b> <i>Kluyveromyces marxianus</i> dans la fermentation du chocolat observée au microscope optique .....	<b>18</b>
<b>Figure 10 :</b> Représentations les plus utilisées pour illustrer les deux parties (hydrophile et hydrophobe) des molécules amphiphiles des agents de surfaces .....	<b>21</b>
<b>Figure 11 :</b> Structures chimiques de quelques biosurfactants commun .....	<b>25</b>
<b>Figure 12 :</b> Représentation schématique d'une micelle de biosurfactant .....	<b>26</b>
<b>Figure 13 :</b> Variations de la tension superficielle et la formation des micelles en fonction de la concentration en surfactant .....	<b>27</b>
<b>Figure 14 :</b> Mécanisme amélioré de récupération du pétrole par les biosurfactants.....	<b>28</b>
<b>Figure 15 :</b> Les fonctions des biosurfactants les plus demandées pour usage industriel .....	<b>30</b>
<b>Figure 16 :</b> Les étapes de fabrication du camembert AOP de Jort, à Bernières d'Ailly dans le Calvados .....	<b>33</b>
<b>Figure 17 :</b> Schéma du principe d'une culture en batch .....	<b>41</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01 :</b>	Principaux caractéristiques et fonctions des levures lactiques .....	<b>20</b>
<b>Tableau 02 :</b>	Différents domaines d'application des biosurfactants .....	<b>29</b>
<b>Tableau 03 :</b>	Répartition des souches de levures isolées à partir de différentes fabrications de fromages de Camembert .....	<b>45</b>
<b>Tableau 04 :</b>	Répartition des principales espèces de levures isolées des fromages de différentes fabrications.....	<b>46</b>
<b>Tableau 05 :</b>	Espèces de levures trouvées en faible nombre dans les fromages de trois fabrications .....	<b>47</b>

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
---------------------------	----------

## **Chapitre I : Généralités sur les produits laitiers**

I les produits laitiers .....	<b>3</b>
I.1.Généralités sur le lait.....	<b>3</b>
I.2.Dérivés du lait.....	<b>3</b>
I.3.Produits laitiers élaborés.....	<b>3</b>
I.4. Microflore de lait.....	<b>3</b>
II. Les levures lactiques.....	<b>4</b>
II .1.Définition des levures lactiques.....	<b>4</b>
II.2.Les espèces des levures lactiques.....	<b>5</b>
II.2.1. Le genre <i>Geotrichumcandidum</i> .....	<b>5</b>
II.2.2. Le genre <i>Debaryomycehansenii</i> .....	<b>5</b>
II.2.3. Le genre <i>Candidaalbicans</i> .....	<b>6</b>

## **Chapitre II : Généralités sur les biosurfactants**

I.1. Définition du biosurfactant.....	<b>21</b>
I.2. Propriétés.....	<b>22</b>
I.3. Classification.....	<b>22</b>
I.4.Propriétés physico-chimique des biosurfactants.....	<b>25</b>
I.5.Caractéristiques physiques des biosurfactants.....	<b>26</b>
I.5.1. Concentration micellaire critique (CMC).....	<b>26</b>
I.5.2. Diminution des tensions de surface.....	<b>26</b>
II. Intérêts des biosurfactants.....	<b>27</b>
III. Différents domaines d'application des biosurfactants.....	<b>28</b>

## **Chapitre III : Partie pratique prévisionnelle**

I. Matériel biologiques.....	<b>31</b>
I.1 Isolement et identification des levures lactique.....	<b>31</b>

I.1.1 les phases de production du fromage.....	31
I.1.2.Dénombrément et isolements des souches à partir du camembert .....	32
I.1.3.Identification des levures isolées .....	34
1).Caractères culturaux et morphologie.....	34
2).Formation d'ascospores.....	34
3).Aptitude à le formation de filaments mycéliens .....	34
4).Fermentation des sucre.....	34
5).Assimilation des sucres.....	35
6).Assimilation des nitrates.....	35
II. Production et caractérisation de biosurfactants par les levures lactiques.....	38
II.1.Test du "drop-collapsing".....	38
II.2.Test d'émulsification E24.....	39
II.3.Production de biosurfactants par fermentation .....	39
II.3.1.Milieux de culture .....	39
II.3.2.Préculture .....	39
II.3.3.Culture en fermenteur .....	40
III.4.Les méthodes analytiques .....	40
III. Extraction et caractérisation des biosurfactants .....	40
III.1.Caracterisation des biosurfactants extraits .....	42
III.1.1.Chromatographie sur couche mince .....	42
III.1.2.Purification des biosurfactants extraits .....	42

## **Chapitre IV :Discussion générale**

I. Résultats Attendus selon des études antécédentes.....	43
II. Résultats et Discussion .....	46
Conclusion .....	48
Références Bibliographiques.....	49

# *Introduction*

Aujourd'hui les biosurfactants ont fait l'objet d'une révolution dans divers domaines (industrie pétrolière, agronomie et la cosmétique)(**Daas et al., 2018**). Ce sont des molécules tensioactives et amphiphiles, leur potentiel et leur sécurité ont permis qu'ils trouvent facilement leur place dans d'autres nouveaux secteurs d'application, tels que les industries agroalimentaire, pharmaceutique et médicale. Ses molécules produites par des organismes vivants à savoir les bactéries, les champignons et les levures ont des caractéristiques physico-chimiques dépendant généralement de ces derniers(**Derguine et al., 2017**).

Ce large spectre d'application se traduit par un marché mondial en expansion, qui était estimé à 30,64 milliards de dollars américains en 2016 ; et qui devrait générer des revenus de plus de 42 milliards de dollars en 2020, avec un taux de croissance de 5.5 % par an (**Bahia et al.,2018**).

Les études sur les biosurfactants ont commencé dans les années 1960 et l'utilisation de ces composés a augmenté au cours des dernières décennies et leur production est considérée comme l'une des technologies clés pour le développement au 21<sup>ème</sup> siècle (**Santos et al.,2016**).

Les biosurfactants sont plus efficaces et plus bénéfiques que les surfactants synthétiques. Ils sont très spécifiques, biocompatibles, biodégradables, moins sensibles aux pH, salinité extrêmes et biotopes de températures(**Banat et al., 2018**). Ils sont moins dangereux et peuvent être biosynthétisés en grandes quantités. Leurs activités antibactériennes, antifongiques et antivirales en font des molécules pertinentes pour des applications dans la lutte contre de nombreuses maladies et en tant qu'agents thérapeutiques.

Avec ce nombre infini d'avantages, les biosurfactants sont considérés comme un véritable trésor, une révolution pour tous les secteurs, s'ils sont bien appréciés et valorisés comme sous-produits agricoles. Néanmoins l'utilisation des biosurfactants reste limitée à cause de leurs coûts de production élevés et leurs faibles rendements ce qui freine leur succès commercial et économique (**Banat et al., 2018**).

Par ailleurs, la première et principale étape, pour la production de ses métabolites microbiens consiste à sélectionner un microorganisme adéquat possédant les caractéristiques souhaitées, en effet, les levures constituent un groupe important des microorganismes car ils occupent une place essentielle dans l'industrie alimentaire (**Banat et al 2018**). Parmi ces levures, on met en évidence les levures lactiques qui

sont des champignons le plus souvent unicellulaires qui sont présents dans les produits laitiers ou dans d'autres sources comme les produits alimentaires de nature végétale (**Moucheron ,2017**).

Notre travail se base sur l'étude détaillée de diverses techniques utilisées pour l'obtention des biosurfactants à partir de différentes espèces de levures. Nous avons détaillé la production et la caractérisation de ces biosurfactants par des levures lactiques isolées à partir de différents échantillons comprenant les produits laitiers. Jusqu'à l'heure actuelle peu de recherches et de travaux concernant les biosurfactants ont été publiés.

Notre mémoire se divise en trois principaux chapitres avec bien-sûre une introduction et une conclusion.

- ✓ Le premier chapitre dresse une revue bibliographique sur les produit laitier ; définition, diffèrent type et leurs microflore.
- ✓ Le deuxième chapitre parle principalement des biosurfactants, leurs classifications, leurs caractéristiques et leurs domaines
- ✓ Le troisième chapitre est consacré à une revue sur les différentes techniques d'extraction et d'isolement des biosurfactants produits par les levures lactiques comme principal objectif de ce mémoire.

# *Chapitre I*

## *Généralités sur les produits laitiers*

### **I. Les produits laitiers**

Les produits laitiers sont au cœur de notre alimentation, sous des formes variées et riches en goût. Lait, fromage, yaourt, beurre, crème et desserts lactés font ainsi partie de notre quotidien. **(Menard, 1980).**

### **I.1.Généralités sur le lait**

Le lait est le produit de la sécrétion des glandes mammaires des mammifères, comme la vache, la chèvre et la brebis, il est destiné à l'alimentation du jeune animal naissant.

Du point de vue physicochimique, le lait est un produit très complexe **(Carole ,2002)**. C'est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né, comme il s'avère très bénéfique pour l'adulte.

### **I.2.Dérivés du lait**

Les produits laitiers sont généralement divisés en deux grands groupes : les laits de consommation (entiers, demi-écrémés, écrémés, aromatisés) et les produits laitiers élaborés (beurres, fromages, yaourts, crèmes glacées, ...)**(Alais, 1984 ; Moucheron,2017)**.

#### **I.2.1. Laits de consommation**

Selon le traitement thermique subi, on distingue :

- ✓ lait cru,
- ✓ laits pasteurisés,
- ✓ laits stérilisés.

Par d'autres traitements, on peut obtenir des laits aromatisés, concentrés et des laits en poudre. Les laits de consommation, qu'ils soient crus, pasteurisés ou stérilisés, se distinguent également par leur teneur en matière grasse : le lait entier à une teneur en matière grasse de 3,5 % au minimum, celle du lait demi-écrémé est comprise entre 1,5 et 1,8 % et le lait écrémé ne contient quasi plus de matière grasse**(Boudier et Luquet, 1981 ; Moucheron,2017)**.

#### **I.2.2. Lait cru**

Intéressant sur le plan de la nutrition puisqu'il n'a subi aucun traitement d'assainissement, le lait cru est tant au niveau de sa production que de sa commercialisation, sévèrement contrôlé. Il doit provenir d'animaux reconnus indemnes de brucellose et de tuberculose, et être préparé dans des conditions hygiéniques strictes, il doit en outre satisfaire à des critères microbiologiques déterminés jusqu'à la date limite de consommation **(Boudier et Luquet, 1981;Larpen, 1997 ;Moucheron;2017)**.

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (**Larpen, 1997 ; Fredot, 2006**).

### I.2.3. Laits pasteurisés

La pasteurisation a pour but de détruire tous les micro-organismes pathogènes potentiellement présents dans le lait ainsi que la plus grande partie des autres micro-organismes et des enzymes susceptibles d'altérer les propriétés organoleptiques du lait (**Larpen, 1997**).

Différents processus existent (**Larpen, 1997, Cerf, 2002**):

- ✓ la pasteurisation à basse température (63°C pendant 30 minutes) ; ce procédé (le plus ancien) n'est pratiquement plus utilisé.
- ✓ la pasteurisation à température plus élevée (72-76°C pendant 15 à 20 secondes) ; ce procédé préserve l'enzyme peroxydase.
- ✓ une pasteurisation à 80 °C ou plus pendant 15 à 20 secondes est utilisée pour la fabrication des produits fermentés et de la crème.

Ces laits pasteurisés doivent par ailleurs répondre à des normes sanitaires et qualitatives ; leur durée de conservation entre le conditionnement et la consommation est de 7 jours au maximum, au froid (**Cerf, 2002 ; Moucheron, 2017**).

### I.2.4. Laits stérilisés

La stérilisation a pour but de permettre une conservation de longue durée d'un produit stable tant du point de vue microbiologique que chimique et biochimique (**Djoughri et Madani, 2015**).

Selon **Larpen (1997)**, deux types de processus sont utilisés :

- ✓ le chauffage à ultra-haute température ou procédé UHT (135-150°C pendant 2 à 5 secondes), le lait est ensuite conditionné aseptiquement dans un récipient stérile et hermétiquement clos.
- ✓ la stérilisation en deux phases : le lait est prétéralisé à une température de 130 à 140°C pendant quelques secondes puis, après refroidissement, il est conditionné et subit alors une seconde stérilisation à 110-120 °C pendant 10 à 20 minutes.

Ces laits stérilisés doivent eux aussi répondre à des normes sanitaires et qualitatives ; les laits UHT se conservent 90 jours, les autres jusqu'à plus de 5 mois (**Moucheron, 2017**).

## I.3. Produits laitiers élaborés

### I.3.1. Laits fermentés

Les laits fermentés sont tous obtenus par la multiplication de bactéries lactiques dans une préparation de lait. L'acide lactique formé coagule le lait et lui confère une saveur acide plus ou moins prononcée. Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont liées à la composition du lait, à la température d'incubation, à la flore lactique ou à la flore microbienne autre que lactique (**Franworth et Mainville, 2010; Moucheron, 2017**).

Il existe un grand nombre de laits fermentés, développés surtout dans les pays nordiques (Skyr, Lattemjök, Tattmjök, Fila, Ymer), Le bassin méditerranéen (Naja, Mladost, Zimme) et les pays de l'Est (Karmdinska, Biokys, Tarho, Koumis, Kefir) (**Franworth et Mainville, 2010**).

Selon, **Moucheron (2017)**, ces deux derniers sont en fait des laits fermentés alcoolisés. Le lait fermenté au *Bifidobacterium* et *Lactobacillus acidophilus* présente des qualités thérapeutiques supplémentaires : ces micro-organismes, naturellement présents dans les intestins, jouent en effet un rôle important dans l'équilibre de la flore intestinale et la prévention du cancer du côlon, avec l'âge, les bifidobactéries diminuent, cet inconvénient peut être limité en intégrant dans l'alimentation des produits laitiers fermentés qui contiennent ces bifidobactéries vivantes.

### I.3.2. Yaourt

Le type de lait fermenté le plus consommé chez nous est le yaourt (ou yoghourt) (**Figure 01**). Il est obtenu par la multiplication dans le lait de deux bactéries lactiques spécifiques associées, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (**Guiraud, 1998. Yildiz, 2010**). Ces bactéries sont cultivées sur du lait préalablement standardisé, homogénéisé puis pasteurisé et refroidi. Une foisensemencée, la préparation est incubée (généralement entre 42 et 45°C et pendant 2 à plus de 12 heures selon la fabrication). Après fermentation, le yaourt est refroidi entre 1 et 10°C avant d'être entreposé (**Moucheron, 2017**).



**Figure 01** : Image représentant le yaourt nature additionné de fruits (Yıldız, 2010)

### **I.3.3. La crème et le beurre**

Le beurre est fabriqué au départ de crème, sa teneur en matière grasse doit être de 82 % minimum et sa teneur en eau de 16 % maximum. La première opération, le barattage, consiste en une agitation énergique de la crème maturée pour provoquer la formation des grains de beurre. Le liquide qui se libère lors du barattage s'appelle le babeurre. Après le barattage, le beurre est lavé afin d'éliminer les restes de caséine emprisonnés entre les grains. Le malaxage, opération suivante, a pour but d'agglomérer les grains de beurre pour en former une masse onctueuse, tout en répartissant l'eau restante de la manière la plus homogène (Mahamedi, 2015).

Pour la fabrication de beurre salé, c'est pendant le malaxage que l'ajout de sel pur se fait. La teneur en sel est limitée à 1,5 %. L'emballage termine la fabrication. Il existe des beurres à teneur réduite en matière grasse : le beurre allégé (60 %) et le beurre demi-écrémé (40 %) leur teneur en eau est évidemment d'autant plus importante. Au contraire, le beurre concentré a une teneur en eau extrêmement réduite et une teneur en matière grasse comprise entre 90 et 99,8 % (Mahamedi, 2015 ; Moucheron, 2017).

### **I.3.4. Les fromages**

Il existe une grande diversité de fromages, chacun ayant ses spécificités. Ils varient par la nature du lait (vache, brebis, chèvre), par la teneur en matière grasse (résultant de l'addition ou non de crème ou de lait entier), par leur mode de préparation (affinage, égouttage, pressage, cuisson), par la consistance de leur pâte, par leur durée de conservation (Aissaoui et al. 2006) (Figure 02).



**Figure 02 :** Image représentant le fromage (Eck et Gillis, 1997).

Habituellement, on distingue les fromages frais ou non fermentés, les fromages fermentés à pâte molle et les fromages fermentés à pâte dure ou semi-dure. La fabrication des fromages à partir du lait se fait en quatre étapes : la coagulation, l'égouttage, le salage et l'affinage ou maturation (Bousnane et Djadi, 2009).

La coagulation résulte de la production d'acide lactique par les bactéries lactiques et de l'addition de présure, ferment ayant la propriété de coaguler la caséine du lait. En se solidifiant, la caséine entraîne avec elle la matière grasse pour former le caillé qui est découpé et soumis à diverses manipulations afin d'en expulser l'eau et les matières solubles qui s'y trouvent emprisonnées (Boutonnier, 2012).

Le caillé égoutté est le fromage frais. La phase aqueuse qui s'est séparée du caillé est appelée lactosérum ou sérum ; elle contient le lactose, les protéines solubles, les sels minéraux solubles et un peu de matière grasse. Les sujets qui ne produisent plus de lactase peuvent donc consommer du fromage, puisque le lactose n'y est plus présent (Boutonnier, 2012).

Après l'égouttage, les fromages sont moulés et salés. Dans le cas des fromages fermentés à pâte molle, le drainage du lactosérum est lent et l'acidification importante. La teneur en eau est de 55 à 60 % (Eck et Gillis, 1997).

L'affinage est court. Ces fromages sont divisés en fromages à croûte lavée et en fromages à croûte fleurie (c'est-à-dire avec des moisissures à la surface). Dans le cas des fromages fermentés à pâte dure, l'acidification est plus faible tandis que l'égouttage est accéléré par pressage (responsable de la fermeté - dure, semi-dure - de la pâte). La teneur en eau est de 40 à 55 %. L'affinage est long. La pâte de certains de ces fromages est cuite entre 50 et 60°C (Eck et Gillis, 1997). Les fromages fermentés à pâte dure ou semi-dure sont eux aussi divisés en deux catégories : ceux qui présentent des moisissures intérieures et ceux qui n'en ont pas (Boutonnier, 2012).

#### I.4. Microflore de lait :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (Larpent, 1997). Le lait dans les cellules du pis est stérile (Tolle, 1980), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Ménard *et al*, 2004). Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite (Ménard *et al*, 2004).

- **Flore originale** : Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : Microcoques, Streptocoques lactiques et lactobacilles (Guiraud, 1998).
- **Flore pathogène** : Elle présente un danger pour le consommateur c'est le cas de : *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis*, *Bacillus cereus*, et des représentants des genres *Brucella* et *Salmonella* (Fukushima *et al*, 1984 ; Bourgeois *et al*, 1996).
- **Flore psychotrope** : Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacteres*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température de 3 à 7°C. *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier à une température comprise entre 0°C et 10°C est qualifiée de ce fait de psychotrope (Ross, 2002).

##### I.4.1. Les bactéries

Elles prédominent parmi les micro-organismes rencontrés dans le lait. Les cellules bactériennes sont de très petite taille (généralement au plus quelques millièmes de millimètre, soit quelques micromètres ou  $\mu\text{m}$ ). Les formes les plus courantes sont des cellules sphériques (coques) ou des bâtonnets (bacilles), plus ou moins réguliers ou incurvés (Figure 03).



**Figure 03.** Cellules bactériennes en forme de coques Et en forme de bâtonnets (Guiraud, 1998)

Un des premiers moyens d'étude et de classification des bactéries est l'examen en microscopie optique. La coloration de Gram - de loin la plus courante - permet d'apprécier la forme des cellules et de différencier, selon la structure de la paroi, les bactéries à Gram positif des bactéries à Gram négatif. Complétée par la recherche de quelques grandes propriétés (catalase, oxydase), cette différenciation est très utile pour diagnostiquer l'appartenance de bactéries à une famille (*Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*) (Saubusse *et al.*, 2007 ; Mallet *et al.*, 2010 ).

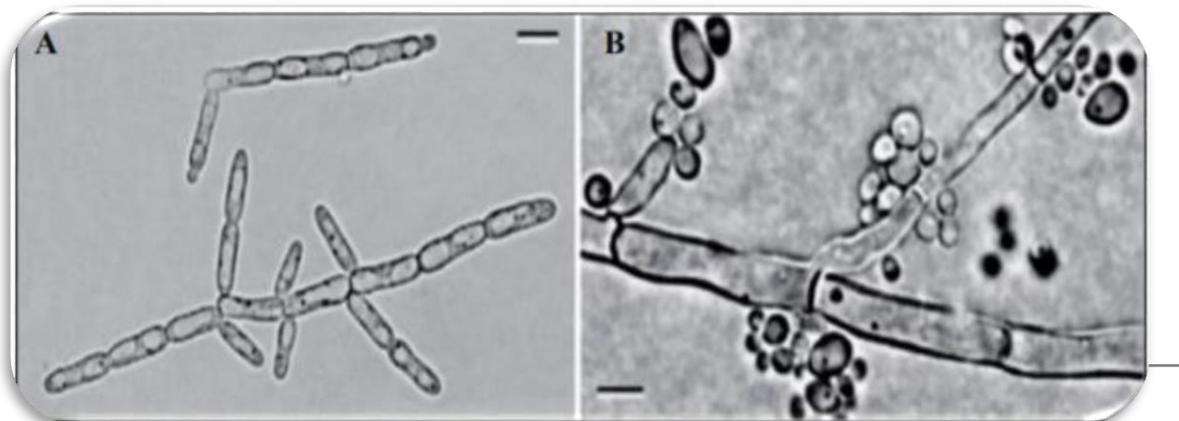
### I.4.2. Les champignons microscopiques

Ce sont des organismes unicellulaires ou pluricellulaires, porteurs de spores qui assurent leur multiplication et/ou leur dissémination. Ils sont habituellement divisés en deux types de microorganismes. (*Arthrobacter*, *Brachy bacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Jeotgalicoccus*, *Kocuria*, *Macro coccus*) (Callonet *et al.*, 2000).

### I.4.3. Les levures

Le mot levure provient du mot latin «*levare*» qui se traduit par «lever» (Kurtzman *et al.*, 2011). Les levures sont classiquement définies comme étant des champignons unicellulaires immobiles présentant une structure cellulaire eucaryote, en effet leurs cellules possèdent toutes les caractéristiques des eucaryotes mais se différencient des cellules végétales ou animales par leur petite taille (Bouchet *et al.*, 2005). Certaines peuvent former des associations cellulaires, ou se présenter sous forme filamenteuse à certains stades de leur vie (Bouix et Leveau, 1991 ; Kurtzman *et al.*, 2011). Il existe plus de 1500 espèces de levures, alimentaires, commensales ou pathogènes, notamment pour le genre *Candida* (Satyanarayana et Kunze, 2009 ; Kurtzman *et al.*, 2011).

La morphologie des levures est d'une grande importance taxonomique. Les cellules sont généralement ovoïdes ou sphériques, mais peuvent présenter autres formes parfois cylindriques, allongées, apiculées ou des formes plus spécifiques : ogivales (genre *Dekkera*), en forme de bouteille (genre *Malassezia*), triangulaires (*Trigonopsis*) ou en forme de citron (*Hanseniaspora*) (Leveau et Bouix, 1993). Les levures se regroupent en paires, en chaînes, en petits amas, ou isolées. La taille des cellules est très variable suivant les espèces : 2.5-10.5 µm de largeur contre 4.5-21 µm de longueur (Larpent, 1991 ;



**Bourgeois et Larpent, 1996**). La masse cellulaire des levures est 100 fois plus grande que celle des bactéries et elles se divisent 4 fois moins rapidement. Leur morphologie est très variée. On distingue trois formes : la forme levure, le pseudomycélium et le mycélium

**Figure 04** :Filamentation des levures. (A) : Pseudomycélium. (B) : Vrai mycélium.

**(Kurtzman et al., 2011).**

#### **I.4.4. Les moisissures**

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes filamenteux aérobies strictes et rarement anaérobies, formant une structure mycélienne et des thalles constitués par de nombreux filaments ramifiés, unis ou multicellulaires, immobiles, non chlorophylliens et sporogènes(**Bocquet, 1993 ; Chabasse et al.,2002**).

Les moisissures sont ubiquistes, en effet certaines vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres encore sont des saprophytes qui se développent sur des déchets organiques ou comme contaminants des denrées alimentaires (**Nicklin et al.,2000**).



**Figure 05** : Tête conidienne d'*Aspergillus flavus*

**(Kurtzman et al., 2011).**

## **II. Les levures lactiques :**

### **II .1.Définition des levures lactiques :**

Les levures lactiques ce sont des champignons le plus souvent unicellulaires dont le type de reproduction asexuée se fait dans la plupart des cas par bourgeonnement. Les espèces les plus importantes rencontrées dans les produits laitiers sont : (*Geotrichum candidum*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces* et *Kluyveromyces*). Quand à *Geotrichum candidum*, il est classé comme champignon levuriforme, c'est-à-dire qu'il est intermédiaire entre les levures et les moisissures (**Derguine, 2017; Anonyme 2**).

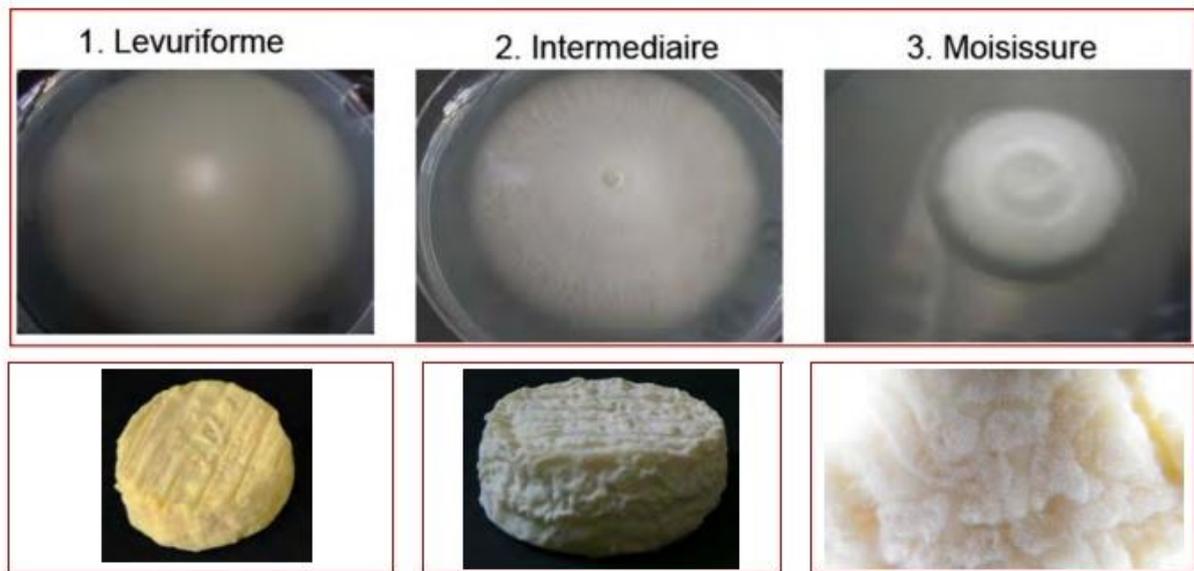
## II.2. Les espèces des levures lactiques

### II.2.1. Le genre *Geotrichum candidum*

*G. candidum* peut être définie comme une espèce ubiquitaire se retrouvant dans l'eau, le sol et l'air, dans les céréales, le riz, le maïs et les fruits très mûrs (raisins, agrumes, tomates, bananes, concombres...), puis dans le lait (présent naturellement) et les produits laitiers (souvent ajouté volontairement comme agent d'affinage) pour cette raison elle a été exploitée dans le domaine alimentaire, particulièrement dans le secteur des produits laitiers.

*G. candidum* est la diversité de formes morphologiques sous lesquelles on peut le retrouver. Il est possible de différencier 3 types morphologiques :

- Type 1 : souches de couleur crème, à l'aspect levuriforme, à température optimale située entre 22 et 25°C, à croissance plus réduite à 30°C, à production abondante d'arthrospore et activité protéolytique faible
- Type 2 : souches dites « intermédiaires », poudreux sous les doigts, peu feutrant
- Type 3 : souches bien blanches, plus ou moins feutrées, à température optimale plus élevée (25-30°C), à croissance plus faible à 22°C, sporulant peu, produisant en milieux liquides des mycéliums plus importants que les souches du type 1 et à activité protéolytique plus marquée. (**buret et al, 2014**).



**Figure 06.** Trois formes du *Geotrichum* sur boîte de Petri (milieu PDA) et sur pâte lactique (Buret *et al.*, 2014)

### Caractéristiques et rôles de *Geotrichum candidum*

*Geotrichum candidum* est une levure dimorphique qui occupe plusieurs rôles importants au sein de l'écosystème microbien de la surface des fromages à croûte fleurie et à croûte lavée. Ses différentes activités, notamment celles d'alcalinisation et de production de composés aromatiques, sont toutefois reconnues pour être souche-dépendantes (Vignola, 2018). La diversité génétique et le phénotype des souches de *G. candidum* ne permettent pas de les classer facilement en tant que levure ou champignons de type levure qui font encore l'objet de débats. (Boudier et Luquet, 1981).

Quelle que soit sa classification, *G. candidum* possède de nombreuses voies métaboliques présentant un intérêt particulier pour l'industrie laitière. *G. candidum* est important dans l'affinage du fromage, et on en sait beaucoup sur sa contribution directe à l'affinage et à la formation de la saveur du fromage. Grâce à son potentiel métabolique diversifié, *G. Candidum* peut jouer un rôle important dans la maturation de nombreux fromages à pâte molle et semi-dure et apporter une contribution positive au développement du goût et de l'arôme. Cela peut également affecter la croissance d'autres micro-organismes, qu'ils soient précieux ou nocifs (Boutrou, M. Guégun, 2005).

*G. candidum* présente une croissance optimale à 25 °C, pour un intervalle de pH entre 5,0 et 5,5 en présence d'oxygène (Eliskases *et al.*, 2011), la levure a toutefois la capacité de croître à des températures aussi éloignées qu'entre 5 et 38 °C (Eliskases-Lechner, 2002) et sur un large intervalle de pH, soit entre 2,2 et 11, dépendamment de la souche (Boutrou et Guegun, 2005). *G. candidum* est reconnue pour son

activité fermentaire quasiment nulle, cette dernière étant incapable de fermenter le lactose et le sucrose, et très variablement le glucose (Boutrou et Gueguen, 2005 ; Eliskases et al. 2011). Cette espèce de levure a cependant la capacité de croître en présence de différentes sources de carbone, dont le D-glucose, le D-galactose, le DL-lactate, le L-sorbose, le D-xylose et le D-mannitol, ainsi que dans des milieux sans vitamines (Hoog et Smith, 2011). Par ailleurs, *G. candidum* est très peu tolérante au sel, sa croissance étant affectée à partir de 1-2 % de NaCl et inhibée à une concentration de 5-6 % (Eliskases et al., 2011). Enfin, *G. candidum* est une espèce qui tolère facilement de faibles concentrations en O<sub>2</sub> et de hautes concentrations en CO<sub>2</sub> (Desmasures, 2014).

### II.2.2. Le genre *Debaryomyces hansenii*

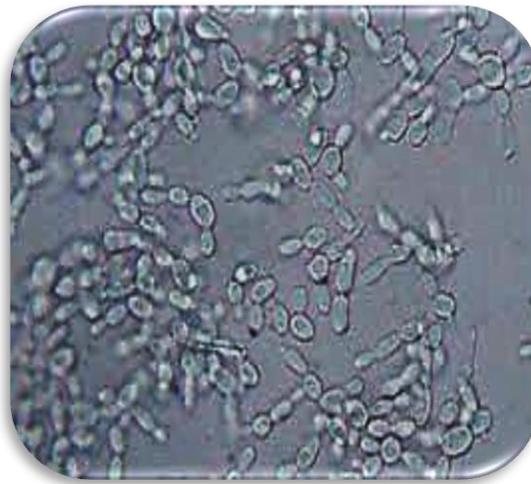
*Debaryomyces hansenii* est l'une des levures «oléagineuses» accumulatrices de lipides. Les levures oléagineuses peuvent accumuler des lipides à des concentrations allant jusqu'à 70% de leur biomasse sèche. (Roseiro et al, 1991). Leur métabolisme est clairement dominé par des voies qui contribuent au métabolisme lipidique. L'extrême capacité de *D. hansenii* à synthétiser, accumuler et stocker des lipides pourrait être avantageuse pour la production biotechnologique de produits naturels et artificiels, *D. hansenii* est une espèce très hétérogène, et donc polyvalente, leur capacité à assimiler et à fermenter diverses sources de carbone, l'expression de différentes activités de lipase et de protéase et leur optimal très diversifié conditions de croissance (Anderson et al, 1963 ; Boudier et Luquet, 1981).

Selon la taxonomie actuelle, deux variétés de *Debaryomyces. hansenii* sont distinguées, *D. hansenii var fabryi* et *Debaryomyces*. Avec différentes propriétés, par ex. leurs températures de croissance maximales. Toutes les espèces de *Debaryomyces* sont des levures haploïdes parfaites qui se reproduisent végétativement par bourgeonnement multilatéral. Un pseudo mycélium est absent, primitif ou parfois bien développé. La reproduction sexuelle se fait par conjugaison hétérogame, c'est-à-dire la conjugaison de deux cellules de forme ou de taille différente, ici une cellule mère et un bourgeon (Nobreet al, 1999). *D. hansenii* est une espèce commune à tous les types de fromages, y compris les fromages à pâte molle et les saumures de fromages à pâte dure et mi-dure (Boudier et Luquet, 1981).

### Caractéristiques de *Debaryomyces hansenii*

Les propriétés clés du genre *Debaryomyces* comprennent sa tolérance au sel, sa capacité à produire des enzymes protéolytiques et lipolytiques qui peuvent métaboliser les protéines et les graisses du lait, et sa capacité à croître à basses températures et à de faibles activités aquatiques (aW), qui sont également des raisons proposées pour sa prévalence.

De plus *D. hansenii* s'est avéré inhiber la germination dans les saumures de fromage de micro-organismes indésirables, tels que *Clostridium butyricum* et *C. Tyrobutyricum*. *hansenii* a La capacité de se multiplier dans le fromage, ainsi que sa capacité d' assimiler le lactate, le citrate, le lactose et le galactose, favorisent cet organisme en tant que composant des cultures de départ pour la production de fromage , Ca capacités à utiliser l'acétate comme seule source de carbone, à assimiler (mais non à fermenter) le lactose et à assimiler le glucose tout en le fermentant dans une mesure limitée. De plus, il a été constaté que les activités métaboliques de *D. hansenii* modifient le microenvironnement dans le fromage au profit de certaines bactéries et / ou *Penicillium roqueforti* souhaitées et protègent le fromage contre les fermentations indésirables de glucides (**Jacobsen, 2000**)(figure 7).



**Figure07** : Forme microscopique de *Debaryomyces hansenii* (**Jacobsen, 2018**).

### II.2.3. Le genre *Candida*

Le espèce du genre *Candida* présente plusieurs genres parmi cela on trouve: *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*

#### II.2.3.1 .Description morphologique :

Les *Candida* sont des micromycètes (champignons microscopiques). Ces organismes eucaryotes sont caractérisés par un appareil végétatif (thalle) composé de spores. La forme levure ou blastospore est une structure unicellulaire, ronde ou ovoïde de taille variable (2 à 12  $\mu\text{m}$ ) se multipliant par simple bourgeonnement selon un mode de reproduction asexué de type blastique solitaire. Les levures sont non pigmentées et non capsulées (**Pianetti ,2015**).

A l'exception de *C. glabrata*, les levures du genre *Candida* peuvent produire des filaments. Deux formes filamenteuses peuvent être observées :

- Le pseudofilament (ou pseudo-mycélium) résulte de la formation successive de bourgeons qui s'allongent sans se détacher de la cellule mère et des bourgeons précédents. Il n'y a pas de véritable septation mais uniquement des constriction entre chaque bourgeon.
- Le mycélium vrai est une véritable forme filamenteuse cloisonnée et ramifiée. Cette structure s'observe seulement pour quelques espèces dont *C. albicans*.

La forme levure est souvent associée à un état commensal alors que les formes filamenteuses sont retrouvées de façon importante dans les situations d'infections. La capacité de *Candida albicans* à changer de morphologie participe à la virulence du pathogène lors de cette étape du processus de l'infection. La formation de chlamydospores est particulière aux espèces *C. albicans* et *C. dubliniensis*. Il s'agit de structures arrondies de grande taille (6 à 15 µm) à parois épaisses qui se forment sur les filaments. Ces structures observées sur des milieux pauvres servent au diagnostic d'espèce (Pianetti, 2015).

Les *Candida* sont des levures ubiquitaires retrouvées dans l'environnement (sol, air), mais aussi dans certains produits alimentaires (fruits, céréales, légumes, produits laitiers...). Introduits dans l'organisme par l'alimentation, ces levures sont présentes naturellement dans la flore intestinale de l'Homme et de nombreux mammifères ou oiseaux. Chez l'homme, *Candida* colonise de nombreux sites anatomiques (Kebbouche-Gana et Gana, 2014 ; Pianetti, 2015).

*Candida* fait partie de la « flore » normale de bactéries et champignons qui colonisent le corps humain. Lorsque votre système immunitaire est fort et en bonne santé, il maintient un juste équilibre de *candida*. Cependant, il peut y avoir rupture de cet équilibre lorsque votre système immunitaire est affaibli ou si vous prenez des antibiotiques, ce qui peut conduire à une infection aux levures (Borges et al., 2014).

### L'espèce *Candida albicans*

*Candida albicans* est un champignon ascomycètes commensal qui colonise normalement les muqueuses buccales, gastro-intestinales et urogénitales humaines. Ils n'ont que des formes levures, sont capables de former des pseudo-mycéliums, n'ont pas de capsule, fermentent certains sucres, sont agents de candidoses. Ce sont des saprophytes, potentiellement pathogènes. Le genre *Candida* fait partie du phylum des Ascomycètes de la classe des Saccharomycètes (forme télomorphe ou sexuée) (Hunguenin et al, 2020).



**Figure 08** : Levure du genre *Candida albicans* sur milieu Sabouraud (Hungueninet al 2020).

### II.2.3.2. Classification

**Règne** : *Fungi*

**Division** : *Ascomycota*

**Classe** : *Saccharomycetes*

**Ordre** : *Saccharomycetales*

**Famille** : *Saccharomycetaceae*

**Genre**: *Candida, albicans, Candida, dubliniensis, Candida, glabrata, Candida*

*guilliermondii, kefyr, Candida, Candida lusitaniae, Candida parapsilosis, Candida tropicalis*

### II.2.4. Le genre *Kluyveromyces*

*Kluyveromyces* est une levure et un membre de la classe Ascomycètes. Ses bourgeons peuvent également former des hyphes. Elle est étroitement liée à *Saccharomyces*. Parmi les différentes espèces, un certain nombre ont des applications biotechnologiques, y compris la compétence d'accueillir d'hôte pour l'expression recombinante des enzymes. *Kluyveromyces* est composé de levures isolées de divers environnements, tels que la drosophile, les arbres, l'eau de mer et les produits laitiers. L'omniprésence de ce genre conduit à d'énormes différences dans les caractéristiques morphologiques, physiologiques et moléculaires des souches de levure, ce qui rend difficile la classification des souches de levure dans différentes espèces (Hebert, 2010 ; Fasoli et al., 2016).

Les espèces les plus importantes pour l'industrie laitière sont *K. lactis* et *K. Marxianus*, dont les souches contribuent au processus de maturation de différents fromages et à la production de kéfir. Plusieurs études ont mis en lumière l'hétérogénéité exceptionnelle dans la physiologie et la génétique de

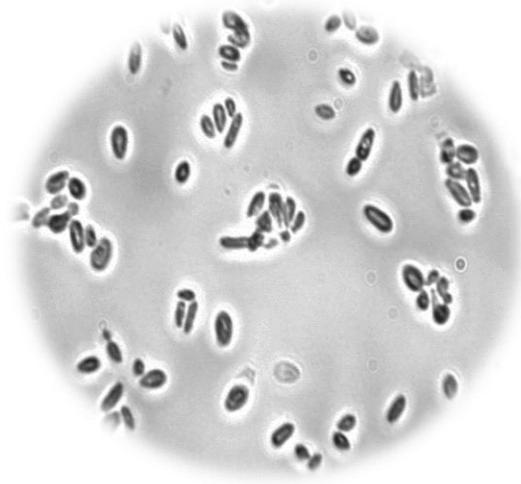
ces levures, ce qui a conduit à leur division en plusieurs « repopulation » écologiques et géographiques (Hebert,2010, Fasoli et al.,2016).

La population la plus intéressante est constituée par la levure laitière se rapportant à la variété *K. lactis*, caractérisée par la présence d'un régulateur de lactose dans leur génome. L'achèvement récent de la séquence du génome entier a fait de *K. lactis* l'une des levures « non conventionnelles » les plus connues. Malgré les problèmes taxonomiques créés par l'hétérogénéité des levures '*Kluyveromyces*' leur diversité métabolique a conduit à de nombreuses applications biotechnologiques telles que la production d'enzymes, les unicellulaires, bioingrédients à partir de lactosérum au fromage, et les métabolites avec l'activité biologique (Hebert,2010, Fasoli et al.2016).

Le Genre *Kluyveromyces lactis* et *Kluyveromyces marxianus* sont deux levures retrouvées naturellement dans le lait et le fromage. Elles sont aussi utilisées en technologie fromagère, par leur ensemencement volontaire dans le lait. Ces levures très proches phylogénétiquement présentent cependant de grandes diversités physiologiques. *K. lactis*, comme la majorité des *Kluyveromyces*, est classée parmi les levures de type respiratoire, tandis que *K. marxianus* est une levure de type fermentaire (Hebert ,2010).

En effet bien que *K. lactis* soit capable de fermenter le lactose en éthanol, seulement 30% du glucose provenant de la dégradation du lactose est fermenté en présence d'oxygène contre 70% assimilé via le cycle de Krebs Au contraire, *K. marxianus* dégrade majoritairement le glucose par voie fermentaire en condition d'aérobiose (le cas typique étant celui de *S. cerevisiae*) (Hebert ,2010, Fasoli et al., 2016).

La régulation du métabolisme respiro-fermentaire chez *K. lactis* a fait l'objet de nombreuses revues bibliographiques Les gènes essentiels pour la croissance en aérobiose et en anaérobiose ont été identifiés par comparaison de *S. cerevisiae* avec *K. lactis*). D'importantes différences métaboliques ont été observées au sein même de l'espèce *Kluyveromyces lactis* lors de l'étude comparative de la souche de référence et d'une souche utilisée dans l'industrie fromagère (Hebert, 2010)



**Figure 09 :** *Kluyveromyces marxianus* dans la fermentation du chocolat observée au microscope optique (Fasoli et al., 2016).

- **Le rôle de *Kluyveromyces***

La levure du genre *Kluyveromyces* ont la capacité de consommer le lactate, et ainsi de participer à la désacidification de caillé. Les levures du genre *Kluyveromyces* sont capables de produire des composés d'arôme variés, principalement des esters aux notes fruitées et des alcools. *K. lactis* peut produire des composés soufrés volatils (CSVs) comme le méthanthiol (MTL), le diméthylsulfure (DMS), le diméthyltrisulfure (DMTS) ou encore le méthylthioacétate (Hébert, 2010 ; Fasoli et al., 2016).

#### **II.2.5. Le genre *Saccharomyces* :**

D'un point de vue industriel, *Saccharomyces cerevisiae* est le genre le plus important. L'espèce principale est *Saccharomyces cerevisiae*, et ses différentes souches sont utilisées dans de nombreuses industries alimentaires pour la production de pain et de bière, de vin, d'alcool et d'autres produits. Il a également été utilisé pour produire des protéines unicellulaires et des ingrédients alimentaires, tels que la levure auto lytique (Bahia et al., 2018).

C'est probablement la levure la plus cruciale connue. Les cellules de *S. cerevisiae* sont elliptiques à ovoïdes dans la forme, avec quelques cellules sphériques et allongées aussi bien. Ils se reproduisent en bourgeonnant et forment des ascospores. *S. cerevisiae* peut également causer des déchets dans certaines conditions où son activité fermentative n'est pas souhaitée (Bullerman et Bianchini, 2007; Parachin, 2018).

- **Caractéristiques du *Saccharomyces***

Le genre *Saccharomyces* est composé de levures ascosporegènes qui produisent des cellules ovoïdes, sphériques ou allongées. Les souches de *Saccharomyces* utilisées dans le brassage commercial sont des espèces polyploïdes. La reproduction par des moyens végétatifs se produit par bourgeonnement multilatéral, alors que la reproduction sexuelle implique la formation d'un ascus contenant une à quatre spores (**Bullerman et Bianchini, 2007; Parachin, 2018**).

Les membres de ce genre fermentent vigoureusement les sucres. Les souches qui peuvent produire des quantités importantes d'éthanol par métabolisme sont utiles commercialement (**Bullerman et Bianchini, 2007; Parachin, 2018**). Un mycélium végétatif se produit par bourgeonnement multilatéral, alors que la reproduction sexuelle implique la formation d'un "ascus" contenant une à quatre spores. Les membres de ce genre fermentent vigoureusement les sucres. Les souches qui peuvent produire des quantités importantes d'éthanol par métabolisme sont utiles commercialement (**Bullerman et Bianchini, 2007; Parachin, 2018**).

Tableau 01 : Principaux caractéristiques et fonctions des levures lactiques(Fasoli et al., 2016).

Familie	Genre	Principales fonctions	Assimilations des sucres		Fermentation des sucres		Mode de reproduction
			Lactate	lactose	Glucose	lactose	
Levure	<i>Kluyveromyces</i>	la production d'enzymes, les unicellulaires, les bioingrédients à partir de lactosérum au fromage, et les métabolites avec l'activité biologique	+	+	+	+	reproduction sexuée
	<i>Saccharomyces</i>	Désacidification, protéolyse (modérée pour <i>Kluyveromyces</i> et <i>Debaryomyces</i> ) et lipolyse (sauf pour <i>Kluyveromyces</i> et <i>Debaryomyces</i> ), estérification des globules gras	+	+	+	+	par bourgeonnement multilatéral
	<i>Geotrichum candidum</i>	Feutrage superficiel, désacidification, protéolyse et lipolyse	+	+	-	-	reproduction sexuée
	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Désacidification, protéolyse (modérée pour <i>Kluyveromyces</i> et <i>Debaryomyces</i> ) et lipolyse (sauf pour	+	+	-	-	par bourgeonnement multilatéral

	<i>Candida</i>	<i>Kluyveromyces</i> et <i>Debaryomyces</i> ), estérification des globules gras	+	+	+	+	<b>Par bourgeonne ment ou par scissiparité</b>
--	----------------	--	---	---	---	---	--

# ***Chapitre II :***

## ***Les Biosurfactants.***

- I. Généralités sur biosurfactants**
- I.1. Définition du biosurfactant**



En comparaison avec leurs équivalents chimiques de synthèse, les biosurfactants présentent de nombreux avantages. Ils sont respectueux de l'environnement, moins toxique et biodégradable. Ils sont doués des activités anti-microbienne, anti-virale, anti-tumorale, anti-adhésive, anti-biofilm, etc... Certains peuvent être actifs à des pH, des températures et des salinités extrêmes (**Santos et al., 2016**). Les principales caractéristiques des surfactants dérivés des microorganismes sont discutées ci-dessous :

- **Activité de surface et d'interface** : Le tensioactif aide à réduire la tension superficielle et la tension interfaciale. Des biosurfactants sont plus efficaces que les tensioactifs chimiques en raison de leur faible CMC (**Desai et Banat, 1997**)
- **Tolérance** à la température, au pH et à la salinité : La plupart des biotensioactifs sont résistants aux facteurs environnementaux extrêmes tels que la température, la salinité et le pH (**Banat et al., 2000**);
- **Biodégradabilité** : Ils sont facilement dégradés par les bactéries et autres organismes microscopiques : par conséquent, ils ne posent pas beaucoup de menace pour l'environnement (**Mohan et al., 2006**);
- **Faible toxicité** : Bien que peu de recherches soient disponibles dans le sujet de la toxicité des biosurfactants, ces biomolécules sont généralement considérées comme des produits non ou faiblement toxiques et sont appropriées pour les utilisations pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires (**Vijayakumar et Saravanan, 2015**)
- **Disponibilité des matières premières** : Les biosurfactants peuvent être produits à partir de déchets renouvelables et des sous-produits utilisés comme sources de carbone. Cette caractéristique rend la production de biosurfactants économique et permet l'utilisation des déchets en les valorisant et en réduisant leur effet polluant en même temps permettant une diminution significative du coût de la production (**Banat et al, 2000**)
- **Autres avantages** : Les biosurfactants sont caractérisés par leur biocompatibilité et leur digestibilité, ce qui garantit leur application dans des produits alimentaires et des produits cosmétiques (**Santos et al., 2016**).

### I.3. Classification

On distingue sept classes de biosurfactants selon la structure chimique : les glycolipides, les lipopeptides, les acides gras, les phospholipides, les lipides neutres, les tensioactifs polymériques et les surfactants particuliers (**Santos et al., 2016**).

### I.3.1. Les glycolipides

Ils sont constitués d'hydrates de carbone en combinaison avec une longue chaîne d'acides aliphatiques ou d'acides hydroxyaliphatiques. Les rhamnolipides, les tréhalolipides et les sophorolipides sont les glycolipides les plus étudiés (**Rosenberg et Ron, 1999**).

### I.3.2. Les lipopeptides

Les lipopeptides sont des molécules amphiphiles composés d'un cycle peptidique attaché à une chaîne d'acide gras. La synthèse des lipopeptides est effectuée par une voie indépendante du ribosome, en utilisant de grands complexes multienzymatiques appelés synthétases ou «Non Ribosomal Peptides Synthétase (NRPS)». Ce sont des enzymes remarquables par leur masse élevée (5.106 Da) et organisées en modules. Elles représentent à la fois la matrice et jouent un rôle comparable à celui de l'ARNm dans la voie classique, mais aussi dans la machinerie biosynthétique, une fonction réalisée par les ARNt et les ribosomes au sein de la synthèse protéique classique (**Ongena et Jacques, 2008**). Les lipopeptides peuvent être linéaires ou bien cycliques, en se basant à la topologie de la chaîne peptidique (**Daas et 2017 ; 2018**).

Les polymyxines, la daptomycine, la surfactine, l'iturine, la fengycine, la lichensisine, la paenibactérine, et la pseudofactine sont des lipopeptides cycliques (**Pate et al., 2015**). La tridecaptine A1, la tridecaptine B1, les gageostatines A et C sont tous des exemples des lipopeptides linéaires (**Patel et al. 2015**). Ces lipopeptides cycliques sont synthétisés par de nombreuses espèces à Gram positif, telles *Pseudomonas* et *Serratia*, sont également connues par leur production des lipopeptides (**Henkel et al., 2017**).

Le genre *Bacillus* est connu comme le producteur le plus populaire et le plus efficace des lipopeptides, et en particulier : les surfactines, les iturines et les fengycines, différentes en fonction de leur séquence d'acides aminés (**Daas et al., 2018**).

### I.3.3. Les Phospholipides

Les phospholipides sont des lipides amphiphiles constituées d'une tête polaire et deux queues hydrophiles. La plupart des phospholipides sont des phosphoglycérides, dont la tête s'organise autour d'un résidu glycérol-3-phosphate estérifié par une molécule polaire, et les deux queues sont les chaînes aliphatiques de deux acides gras (**Santos et al., 2016**). Bien qu'ils soient présents dans tous les microorganismes dans la membrane cellulaire, il y a peu d'exemples de production extracellulaire des phospholipides. Des phospholipides extracellulaires, produits par la souche KJ564272 de *Staphylococcus*

*hrominis*, ont révélé des activités physiologiques de stimulation immunologique d'une espèce de poisson, *Oreochromismossambicus*(Daas et al.,2018).

#### **I.3.4. Les acides gras**

Les acides gras considérés comme des agents tensioactifs résultent de l'oxydation microbienne des alcanes (Santos et al., 2016). Ces biomolécules sont douées des activités de surface et des activités biologiques notables (Wagner et Lang, 1996). A titre d'exemple, l'acide spiculisporique qui est produit par *Penicilliumspiculisporum* avec un rendement de production important (110 g/l) et contribue à l'élimination de certains métaux lourds (Mulligan, 2002). Les acides corynomycoliques, des acides gras complexes contenant des groupes hydroxyle et des branches d'alkyle, sont également décrits comme des tensioactifs puissants (Mulligan, 2002).

#### **I.3.5. Les lipides neutres**

Plusieurs microorganismes sont capables de produire des lipides neutres doués des propriétés tensioactives (Santos et al., 2016). Des bactéries marines hydrocarbonoclastes, par exemple, sont capables de stocker des lipides neutres (Exemple : des triacyglycéroles, diacyglycéroles, des cérides et des polyhydroxyalcanoates) qui peuvent être utilisés comme des sources d'énergie en cas de l'appauvrissement en nutriments du milieu (Daas et al, 2018).

#### **I.3.6. Les biosurfactants polymériques**

Les biosurfactants polymériques sont généralement des polymères d'hétéro-saccharides contenant des protéines. Ce sont le type des biosurfactants qui possèdent la masse molaire la plus élevée. L'emulsane, le lipomanane, l'alasane, le liposane sont les biosurfactants polymériques les plus connus et les mieux étudiés(Santos et al, 2016).

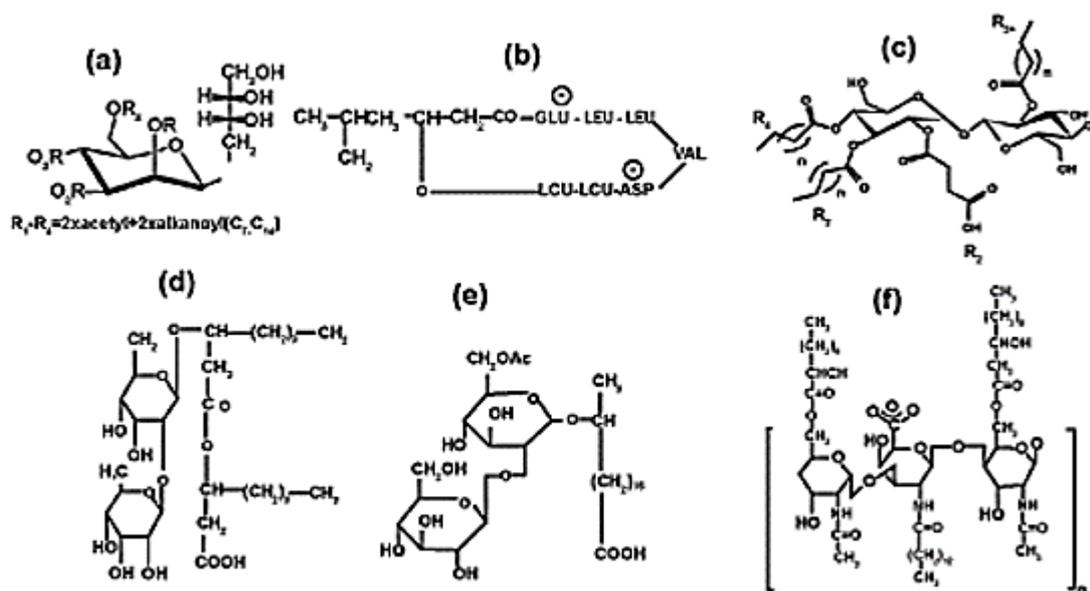
#### **I.3.6. Les biosurfactants polymériques**

Les biosurfactants polymériques sont généralement des polymères d'hétéro-saccharides contenant des protéines. Ce sont le type des biosurfactants qui possèdent la masse molaire la plus élevée. L'emulsane, le lipomanane, l'alasane, le liposane sont les biosurfactants polymériques les plus connus et les mieux étudiés(Santos et al, 2016).

#### **I.3.7. Surfactants particuliers**

On trouve deux types de biosurfactants particuliers (Shekhar et al. 2015) :

Des vésicules extracellulaires : Certains microorganismes secrètent des métabolites extracellulaires vésiculaires, appelés des biosurfactants particuliers, qui contribuent dans l'adsorption des n-alcanes par la membrane cellulaire. A titre d'exemple, la souche HO1-N de *Acinetobacter* sp. est capable de produire des vésicules, doués d'une activité de surface et composés par des protéines, des phospholipides, et des lipopolysaccharides, qui sont impliqués dans l'adhérence des cellules aux hydrocarbures. Ces molécules sont souvent connues comme des agents bioémulsifiants (Shekhar et al. 2015). Des cellules bactériennes entières peuvent jouer parfois le rôle d'un surfactant.



(a) lipide Mannosylerythri, (b) Surfactine, (c) lipide trehalose, (d) Sophorolipide, (e) Rhamnolipide, (f) Emulsane,

Figure 11 : Structures chimiques de quelques biosurfactants communs (Fakruddin.2012)

#### I. 4. Propriétés physico-chimique des biosurfactants :

D'après Banat et al., (2010), les biosurfactants sont des molécules amphiphiles ayant deux parties fonctionnelles

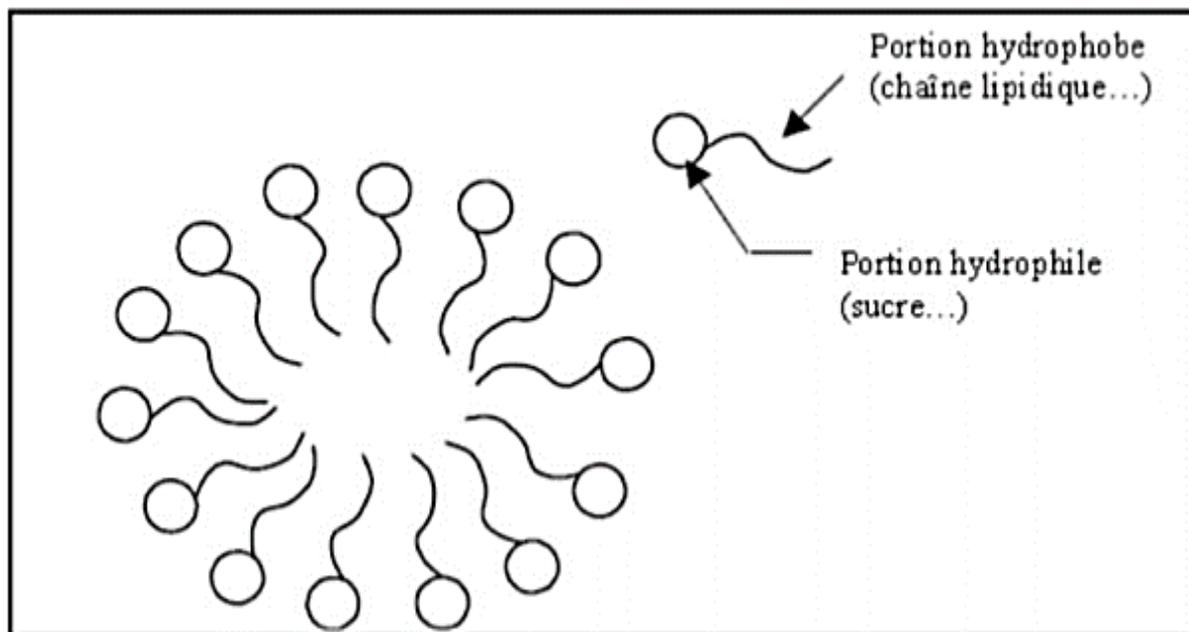
- une partie lipophile, non polarisée (soluble dans les solutions apolaires).
- une partie hydrophile, polarisée (soluble dans les solutions aqueuses).

Cette structure confère aux molécules de biosurfactants un certain nombre de propriétés physico-chimiques particulières (Henkel et al., 2017).

## I.5. Caractéristiques physiques des biosurfactants

### I.5.1. Concentration micellaire critique (CMC) :

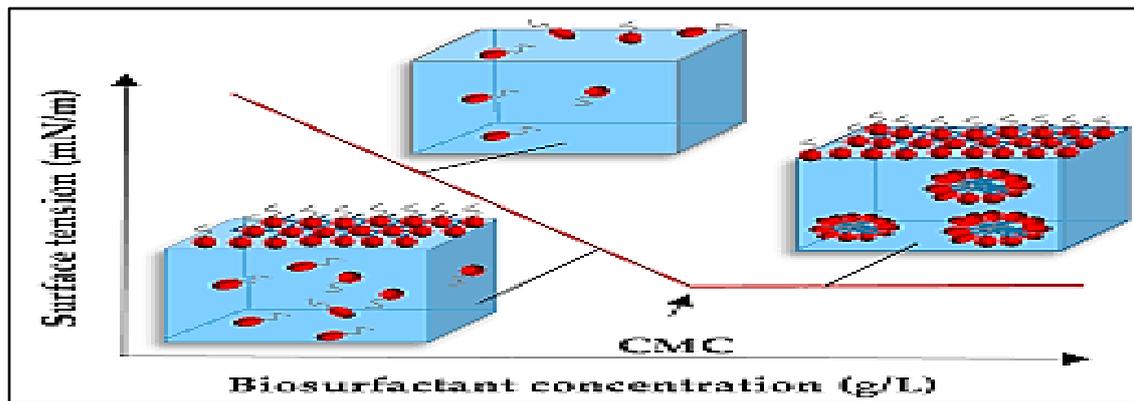
Par définition la CMC est la concentration d'un agent de surface (biosurfactant) dans laquelle une partie des molécules réparties dans la solution aqueuse rassemble sous forme de micelle (**Parachinet al., 2018**) (**figure 12**)



**Figure 12:** Représentation schématique d'une micelle de biosurfactant(**Parachinet al., 2018**)

### I.5.2. Diminution des tensions de surface (**Larpent, 1995**)

Les biosurfactants réduisent considérablement la tension superficielle de l'eau même dans des solutions hautement diluées. Cela peut être vu dans l'exemple suivant : la tension superficielle de l'eau pure est de 72,80 mN / m (**Kiraet al., 2010**)(**figure 13**).



**Figure13:** Variations de la tension superficielle et la formation des micelles en fonction de la concentration en surfactant (Mulligan et Gibbs, 2002).

## II. Intérêts des biosurfactants

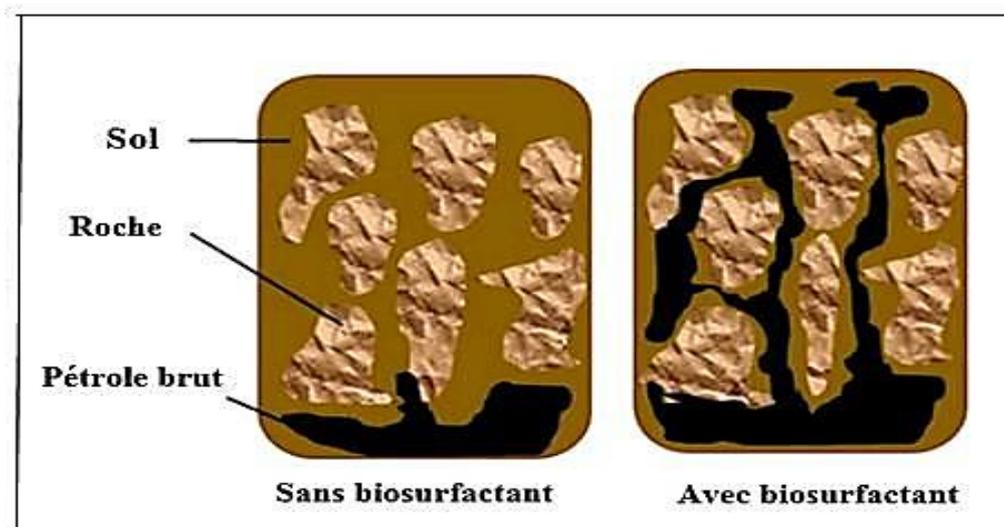
Les biosurfactants peuvent être aussi efficaces et plus bénéfiques que les surfactants synthétiques. Ils sont très spécifiques, biocompatibles, biodégradables avec l'environnement (Mulligan et Gibbs, 2002), moins sensibles aux pH, salinité extrêmes et biotopes de températures (Derguine et al., 2017), moins dangereux et peuvent être biosynthétisés en grandes quantités sur des sources d'énergie coûteuses telles que les produits pétroliers, mais aussi sur les sources d'énergie renouvelables.

Lors de l'ajout d'un groupement fonctionnel, les biosurfactants ont des nouvelles propriétés, dépassant ainsi les surfactants chimiques dans de nombreuses applications (Henkel et al. 2017).

Leur pouvoir à se former et ses propriétés interfaciales et leur auto-assemblage en micelles ou autres nanostructures est cruciale pour plusieurs processus industriels comme la formation de couches, la formation de mousse, la diffusion, la catalyse micellaire, la détergence, etc. (Henkel et al. 2017).

Ces molécules organiques ont une large gamme de propriétés fonctionnelles qui permettent leur utilisation dans un grand nombre de domaines (Henkel et al. 2017).

Des propriétés techniques excellentes telles que la formation d'émulsion (50-100%), l'abaissement de la tension interfaciale ( $\sim 0,1$  dyne/cm), abaissement de la tension superficielle ( $\sim 27$  dyne/cm), pouvoir moussant (mousse stable (15min)), pouvoir mouillant, CMC (20-2000 mg/l) et pouvoir antibiotique ou fongicide (Henkel et al. 2017)(figure 14).



**Figure 14** : Mécanisme amélioré de récupération du pétrole par les biosurfactants  
(Henkel et al. 2017).

### III. Différents domaines d'application des biosurfactants

Compte tenu de leurs potentialités et de leur innocuité, les surfactants biologiques sont largement utilisés dans de nombreux domaines d'applications tels que la production alimentaire, l'agriculture, la chimie, l'industrie pharmaceutique et la cosmétique.

Ces dernières années, les biotensioactifs ont été utilisés comme des solutions de rechange pour les tensioactifs chimiques et devraient trouver de nombreuses applications environnementales et industrielles, tels que la biorestauration des polluants, la récupération améliorée du pétrole, la lubrification, la détergence, la solubilisation et la dispersion (Singh et al., 2006).

L'application de biosurfactants a été également augmentée dans les produits cosmétiques (les crèmes antirides, crèmes hydratantes, et les cosmétiques de nettoyages) (Santoret al., 2016) et les produits de santé et de soins (la lutte contre de nombreuses maladies, agents thérapeutiques conduisant à une réduction d'un grand nombre d'infections sans l'utilisation de produits chimiques de synthèse et de médicaments) (Santos et al., 2016)(tableau2).

**Tableau 02 : Différents domaines d’application des biosurfactants (Banat et al., 2000; Santos et al., 2016).**

Domaine	Applications
<b>Environnement</b>	Bioremédiation : opération de nettoyage de déversements d’hydrocarbures ; Assainissement et rinçage du sol ; solubilisation des huiles
<b>Pétrole</b>	Récupération améliorée des pétroles (MEOR)
<b>Exploitation minière</b>	Opérations de nettoyages des métaux lourds : Elimination des ions métalliques des solutions aqueuses, du sol et des sédiments
<b>Aliments</b>	Solubilisation des huiles aromatisées ; Amélioration de la texture des produits à base de matières grasses
<b>Médicament</b>	Agents antiadhésifs ; antifongiques ; antibactériens ; antiviraux ; anticancéreux ; cicatrisants
<b>Agriculture</b>	Biopesticides ; fongicides ; antiparasites
<b>Cosmétique</b>	Nettoyants ; Préparation des crèmes hydratantes dermatologiquement compatibles, les crèmes antirides
<b>Chimie</b>	Détergent domestique et industriel ; Peinture : dispersant, émulsifiant Textile : agent de mouillage

Compte tenu de leurs potentialités et de leur innocuité, les biosurfactants sont aujourd'hui utilisés dans différents domaines d'application tels que :

- La bioremédiation des sites contaminés par les hydrocarbures, les polluants organiques et les métaux lourds et dans le traitement des eaux usées (Banat et al., 2000; Santos et al., 2016).
- L’industrie pétrolière, et particulièrement dans l’amélioration de récupération transport dans les pipelines et dans les opérations de nettoyage des bacs de stockage du pétrole (Banat et al., 2000; Santos et al., 2016).
- L’agriculture, jouant le rôle d’antagonistes empêchant la propagation des zoospores dans les systèmes de culture sans sol (l’hydroponique)(Banat et al., 2000; Santos et al., 2016).
- L’industrie alimentaire, comme additifs alimentaires, et comme améliorants dans la boulangerie et la charcuterie(Banat et al., 2000; Santos et al., 2016).

- L'industrie du cosmétique et dans les procédés de teinture du textile (Banat et al., 2000; Santos et al., 2016).
- L'industrie pharmaceutique, comme agents thérapeutiques présentant des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales pour combattre les différentes maladies infectieuses (Rodrigues et al., 2006).
- Le secteur de haute technologie comme l'impression électronique, l'enregistrement magnétique, la micro-électronique ainsi que dans les nanotechnologies, tel que la fabrication des nanoparticules d'argent ou les tiges de NiO, etc. (Mulligan, 2002).

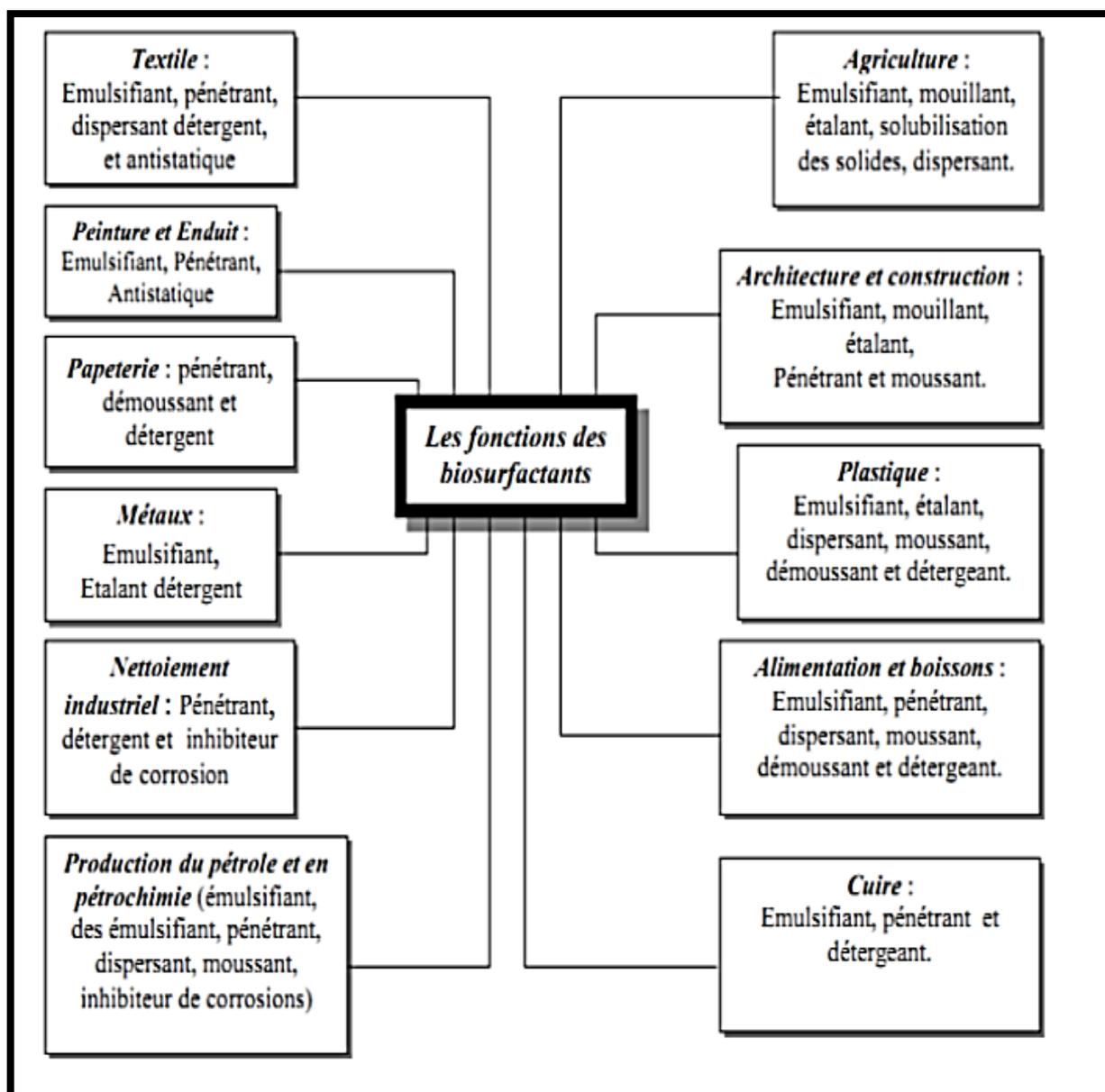


Figure 15 : Les fonctions des biosurfactants les plus demandées pour usage industriel (Banat et al., 2000; Santos et al., 2016).

# *Chapitre III*

## *Partie pratique prévisionnelle*

### **I .Matériel biologique**

Suite à la situation sanitaire du premier semestre de l'année 2020 à cause de la pandémie due au Covid 19, la partie expérimentale n'a pu être réalisée. Nous allons donc présenter un plan détaillé de la procédure expérimentale que nous avons prévu de faire.

### **I.1. Isolement et Identification des levures lactiques**

lors des stades de fabrication et d'affinage du fromage et certains produits laitiers, une quantité importante de levures est présente. Afin d'isoler ces levures productrices de biosurfactants nous avons choisi comme matériel biologique le fromage Camembert.

#### **I.1.1. Les phases de production du fromage**

Il existe plusieurs méthodes de production du camembert. Si les principales étapes sont identiques, certaines sont caractéristiques de la production artisanale qui est mentionnée dans la figure 16 qui suit : (Seminel, 2015). La méthode traditionnelle de fabrication du camembert AOP selon la Société Fromagère de Jort, à Bernières d'Ailly dans le Calvados, commence par la collection du lait quotidiennement, s'en suit une maturation de ce lait qui se fait entre 12 et 14°C avec des ferments lactiques qui vont l'acidité. (Seminel, 2015)

Le lendemain, le lait subit une seconde maturation d'une heure à 20°C qui permet de poursuivre l'acidification. On va ensuite porter sa température à 34–35°C (selon le cahier des charges de l'appellation, le lait ne doit jamais dépasser les 37°C, sa température à la sortie du pis de la vache), le verser dans des bassines de 120 litres et y ajouter de la présure pour coaguler. Au bout d'une dizaine de minutes, le lait passe ainsi de l'état liquide à l'état de gel. Le durcissement va durer une heure.

Le caillé est ensuite sabré. Puis le moulage à la louche peut débuter. Les moules sont disposés sur de grandes nattes en bouleau – les stores – qui vont donner au camembert ses stries caractéristiques. Cinq louches vont être versées dans les moules avec un intervalle d'une heure entre chaque louche.

C'est l'égouttage naturel qui a lieu entre les différentes louches qui permet d'en verser dans un moule censé n'en contenir que 3 à 3,5. L'égouttage va se poursuivre encore 6 heures. À ce moment, les camemberts sont retournés et l'on pose dessus de petites plaques en inox pesant 80g qui vont maintenir la surface plane (Seminel, 2015).

Pour mouler les 120 litres de caillé, chaque mouleur va déposer environ 300 louches, et ceci en 13 minutes seulement. Ainsi, un mouleur va mouler chaque jour près de 1200 fromages en versant dans les

moules 5 louches pour chacun d'eux. Le lendemain matin, les camemberts sont démoulés et salés à raison de 4,5 à 5g de sel fin par camembert.

Ils sont salés sur leurs deux faces et également sur le talon (le tour). Les camemberts sont ensuite mis à sécher durant 24 heures. Ensuite, ils vont être mis en hâloir durant 13 à 15 jours, afin d'être affinés. Là, leur «fleur» va évoluer et ils seront retournés 1 fois au bout de 4 à 5 jours. Le «dessus» du camembert correspond donc à la première louche lors de son moulage. À la fin de cette quinzaine, les fromages vont être triés et emballés.

### **I.1.2. Dénombrements et isolements des souches à partir du Camembert**

Les isolements seront réalisés sur des fromages fabriqués à partir de lait cru dans différents stades de l'affinage (**Seminel, 2015**).

Chaque fromage sera découpé aseptiquement de manière uniforme, afin de séparer la surface, constituée par la couche externe de 5 mm d'épaisseur, et l'intérieur de la pâte. Les dénombrements seront effectués en double sur chacune des parties.

Les parties internes ou superficielles correspondant aux trois fromages seront homogénéisées au mortier. Dix grammes de pâte seront alors prélevés et dissous dans 90 ml d'une solution stérile de citrate de sodium à 2 p. 100 préalablement chauffée à 45° C.

Des dilutions décimales seront ensuite effectuées dans cette solution de citrate et ensemencées en boîtes de Petri sur milieu gélose à l'extrait de pomme de terre (Dextrose Agar Difco) ajusté à pH 3,5 par addition d'acide tartrique à 10p. 100 (**Derguine et al. 2017**). Les dénombrements des colonies seront réalisés après incubation trois jours à 25° C.

Sur les boîtes contenant une centaine de colonies, 5 à 10 colonies seront prélevées au hasard et ensemencées en bouillon à l'extrait de malt (Bacto Malt Extract Broth Difco B 113). A partir des cultures en bouillon, un nouvel isolement sera réalisé sur gélose à l'extrait de pomme de terre afin d'assurer la pureté des souches.



la figure 16 : Les étapes de fabrication du camembert AOP de Jort, à Bernières d’Ailly dans le Calvados (Seminel , 2015)

### I.1.3. Identification des levures isolées

L'identification des espèces a porté sur des souches de levures isolées de trois fabrications. Elle sera conduite sur les bases de la classification de **Lodder (1971)**. Les principaux caractères étudiés sont les suivants :

#### 1) Caractères cultureux et morphologie

L'aspect de la culture sera noté après 72 h d'incubation à 25° C .1 sur bouillon Y.E.G. (extrait de levure, 0,5p. 100; glucose, 2 p. 100) et sur milieu Y.E.G. gélosé. Sur les cultures en bouillon un examen microscopique direct sera effectué afin d'observer la forme des cellules, leurs dimensions, leur mode de reproduction végétative.

#### 2) Formation d'ascospores

La propriété de former des ascospores sera mise en évidence sur deux milieux spéciaux :

- *le milieu de Fowell* : acétate de sodium, 0,5p. 100; gélose, 2p. 100; pH 6,5-7,0;

- *le milieu de Wickerham* : gélose, 2 p. 100; jus de légumes (V 8, Campbell Soup Company) dilué au demi; extrait de levure, 0,7p. 100; pH 6,8.

Les examens seront effectués après 6 jours d'incubation à 25°C et le nombre ainsi que la forme des ascospores seront notés.

#### 3) Aptitude à la formation de filaments mycéliens

La technique mise en œuvre va préconiser le milieu de culture maïs agar (**Lodder 1971**): extrait de maïs, 300 ml (12,5 g de farine de maïs mélangés à 300 ml d'eau distillée, chauffé 1 h à 60°C au bain-marie puis filtrés sur papier) ; gélose, 3,8 g.

La présence éventuelle de mycélium sera recherchée au microscope sur les cultures sur lame après incubation 6 jours à 25° C.

#### 4) Fermentation des sucres

La méthode employée sera celle décrite par Vergeade (**Lodder, 1971**); la fermentation est décelée par le dégagement gazeux dans une cloche de Durham et par le virage de l'indicateur de pH, le rouge de phénol. L'incubation est réalisée à 25° C et les lectures seront effectuées à intervalles réguliers pendant un mois.

**5) Assimilation des sucres**

Les essais d'assimilation des sucres seront conduits en tubes à essais sur milieu Y.N.B. BactoYeastNitrogen Base Difco n° 392, 0,67p. 100).Ce milieu sera stérilisé par filtration sur filtre Millipore (Stérifil HA 0,45 Lm) et repartis en tubes à essais par fractions de 9 ml.

A chaque tube sera ajouté 1 ml d'une solution de chacun des sucres à tester, solution également stérilisée par filtration sur filtre Millipore, la concentration finale en sucre sera 0,5p. 100 sauf pour le raffinose : 1p. 100.

L'incubation et les lectures comportant une appréciation de la croissance par turbidimétrie seront réalisées dans les mêmes conditions que celles précisées pour les épreuves de fermentation.

**6) Assimilation des nitrates**

La technique utilisée sera celle préconisée par **Lodder(1971)** avec le milieu BactoYeastCarbon Base Difconv 391 (1,17p. 100) additionné d'une solution stérile de nitrate de potassium à la concentration finale de 0,078p. 100. La lecture sera fait après incubation 4 jours à 25°C ; en cas de résultat positif, un deuxième tube de milieu sera ensemencé et incubé dans les mêmes conditions pour confirmation.

**III. Production et caractérisation de biosurfactants par les Levures lactiques**

En raison des objectifs de ce travail qui consistent à rechercher les souches de levures productrices de biosurfactants, nous devons procéder au criblage de cette production par l'utilisation de souches de levures isolées de produits laitiers comme cela l'a été mentionné précédemment. La production des biosurfactants doit mettre en mise en évidence l'utilisation des techniques suivantes :

**III. 1 Test du "drop-collapsing"**

Selon **Bodour et Maier (1998)**, cette technique qualitative est réalisée dans un couvercle de polystyrène, plaque de 96-micropuits (12.7 x 8.5cm). Les couvercles ont 96 puits circulaires (diamètre, 8 mm). Avant utilisation, chaque couvercle est rincé trois fois avec de l'eau chaude, de l'éthanol et d'eau distillée, puis séché.

Après la préparation, chaque puits est rempli d'une fine couche d'huile. Plusieurs huiles peuvent être testées (huile d'olive, tournesol et colza). Pour ce test, chaque puits a été enduit de 1,8 µl de 10W-40 Pennzoil® (huile choisit). Cette huile a été répandue comme une mince couche sur le fond du puits.

Pour l'essai, 5 microlitres de l'échantillon sous forme de moût de culture seront déposés dans le centre du puits à l'aide d'une seringue en verre de 25 µl (Hamilton, Reno, NV, USA) à un angle de 45°. La seringue sera rincée trois fois entre chaque échantillon avec de l'eau et ensuite avec de l'acétone. Les résultats seront déterminés visuellement après 1 min. Si la goutte est restée perlée, le résultat est négatif. Si la goutte s'est étalée, le résultat a été marqué comme positif. Chaque expérience est répétée trois fois.

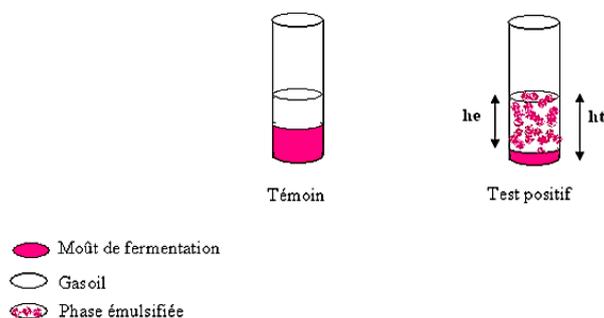
**III.2 Test d'émulsification E<sub>24</sub>**

Ce test a été mis au point par **Bodour et Maier (1998)**. Ce test permet de vérifier la capacité des souches microbiennes à émulsionner une phase hydrophobe dans une phase hydrophile.

Le test consiste à mélanger 3 ml du mout de fermentation avec 3 ml d'hydrocarbure (diesel) dans des tubes et après homogénéisation des deux phases, on procède au calcul de l'index d'émulsion que l'on compare au témoin. Ce dernier est constitué du milieu de culture non inoculé. Les tubes sont laissés pendant 24 heures à température ambiante, puis on recalcule une seconde fois, l'index d'émulsification E<sub>24</sub> pour vérifier la stabilité de l'émulsion.

Ainsi, le calcul de l'index de l'émulsion E<sub>24</sub> est défini comme étant : le rapport de la hauteur de l'émulsion formée (he) sur la hauteur totale du mélange (ht), multiplié par 100 selon la formule ci-après.

$$E_{24}\% = (he / ht) \times 100$$



**III.3. Production de biosurfactants par fermentation**

**III.3.1 Milieux de culture**

Dans un premier lieu, comptons utiliser le milieu à base de lactosérum doux, provenant de l'unité O.R.L.A.C de Boudouaou. Ce dernier va subir une déprotéinisation par chauffage. Le pH est ajusté à 7,5 avant stérilisation des milieux à l'autoclave à 120°C pendant 20 min.

**III.3.2. Préculture**

La préculture des levures se fait en 2 étapes de 48 heures, chacune en Erlenmeyer de 500 ml contenant chacun 100 ml de milieu à base de lactosérum. La première préculture a permis l'adaptation des souches de levures aux conditions du milieu et la seconde va servir d'inoculum. Le pH sera ajusté à 5,5 au début de la fermentation avant la stérilisation. La température sera réglée à 25°C et l'agitation a été fixée à 200 rpm.

### **III.3.3 Culture en Fermenteur**

La fermentation sera réalisée dans un bioréacteur de type Minifors d'une capacité totale de 2.5L. Ce fermenteur est composé d'une cuve en verre borosilicatée, d'un bloque chauffant et d'une extension thermo bloque ; l'ensemble est relié à l'unité de base permettant une configuration et un contrôle de tous les paramètres du réacteur à l'aide du panneau de contrôle (Minifors direct digital control (DDC)). La température est réglée par un régulateur balayant une gamme de 0 -60°C. Le pH est de même contrôlé par un système de régulation automatique contrôlant une pompe péristaltique munie d'une sonde à pH. L'aération du bioréacteur ; muni d'un diffuseur d'air fixe est assurée par un compresseur d'air (1 bar) relié à un rotamètre à fin de fixer le débit d'air (0-6 v.v.m). La mesure de la pression partielle de l'oxygène dissous ( $P_{O_2}$ ) est réalisée à l'aide d'une sonde polarographique Ingold reliée à un oxymètre. L'agitation est assurée par un arbre d'agitateur muni de deux agitateurs à pales et relié au moteur du fermenteur (rpm entre 30 -300).

#### **III.3.3.1.Préparation du fermenteur**

L'étude de la cinétique sera réalisée dans un fermenteur Minifors d'une capacité de 2.5L en culture discontinue, le volume utile est donc estimé de 1.6L. La cuve, préalablement nettoyée, est remplie du volume du milieu requis puis stérilisée avec les périphériques du fermenteur (flacons de réactifs, système de prélèvement, tête de pompe.... etc.) à l'autoclave pendant 30 min à 121°C.

#### **II.3.3.2. Conditions opératoires**

Les conditions opératoires de la culture sont choisies selon les conditions de culture de la souche étudiée. La température est fixée à 25°C, le pH est ajusté à 5,5 par l'ajout de la soude NaOH (2N) ou de l'HCl (1N). L'agitation est maintenue à 200 rpm et l'aération à 1 v.v.m. La formation de mousse est contrôlée par l'ajout d'anti-mousse aseptique sous forme d'octanol.

#### **II.3.3.3.Inoculation du fermenteur**

L'inoculation du fermenteur se fera à l'aide d'une aiguille perce septum. Le flacon contenant l'inoculum est alors transvasé dans la cuve par surpression à l'aide d'une seringue connectée au filtre du flacon. Le volume de l'inoculum est d'1/10 du volume utile. La suspension bactérienne est pure, âgée de 72 H et sa densité optique à 600nm est comprise entre [2-3]. La figure 18 présente un schéma simplifié de la conduite de fermentation en batch :

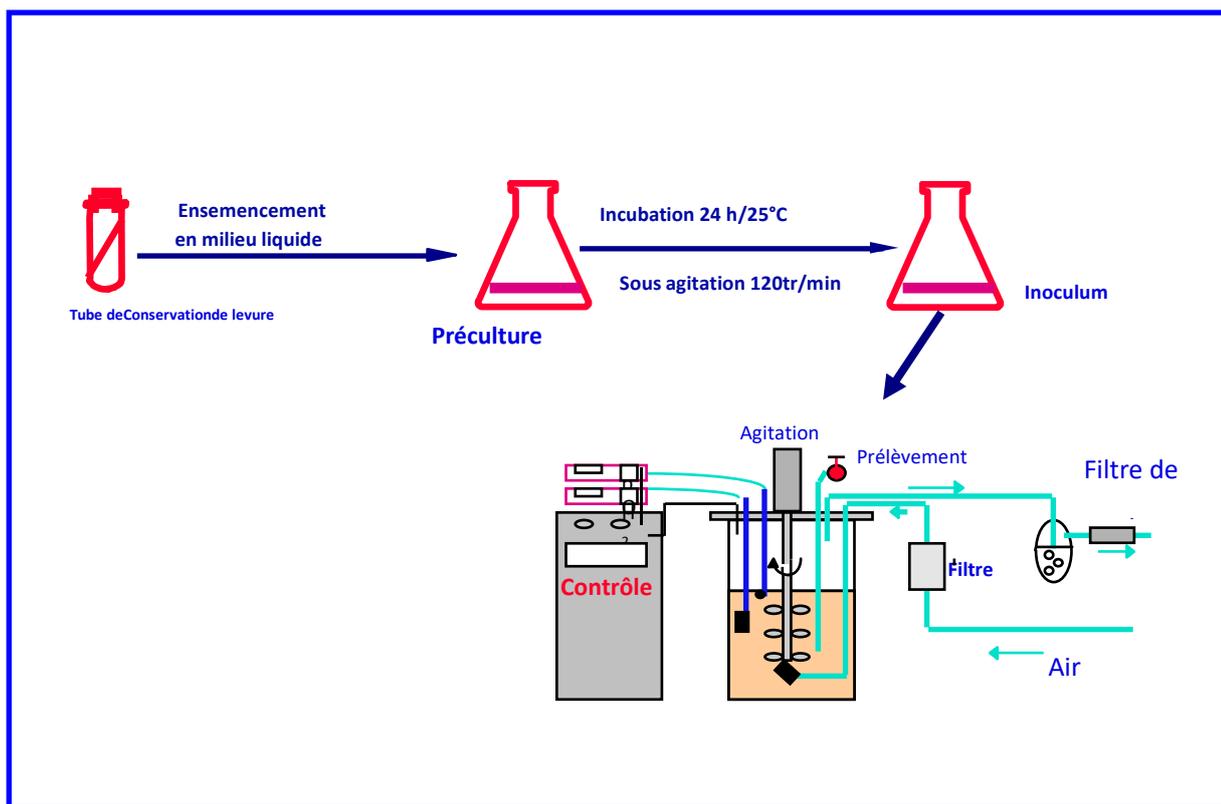


Figure 17: Schéma du principe d'une culture en batch (Kebbouche-Gana et al., 2013).

#### III.4. Les méthodes analytiques

Le suivi de la cinétique de croissance a été fait par le contrôle régulier des paramètres suivants : L'estimation de la biomasse, dosage des sucres réducteurs, calcul de l'index d'émulsification et le suivi de la tension superficielle.

#### IV. Extraction et caractérisation des biosurfactants produits

Pour extraire les biosurfactants du milieu de croissance, il est d'abord nécessaire de séparer les levures du milieu de culture par centrifugation. La récupération des biosurfactants dépend principalement de leur charge ionique, de leur solubilité et de leur localisation (extracellulaires ou liés aux cellules). Au

cœur de cette étude, nous devons utiliser plusieurs protocoles d'extraction de biosurfactants, on cite celui **Cooper et al., (1981)**.

L'extrait brut des biosurfactants a été obtenu après centrifugation d'un moût de fermentation en culture (10 000x g, 10 min, 4° C), le surnageant formé est ajusté à pH 2 au moyen d'une solution d'acide chlorhydrique 1 N HCl. Le liquide acidifié a été maintenu à 4°C pendant une nuit, le précipité qui s'est formée a été collecté par centrifugation (17,300x g, 30 min, 4°C). Le précipité est dissous dans de l'eau distillée, le pH a été ajusté à 7,0 à l'aide d'une solution NaOH 1N, l'extrait est séché et ensuite pesé. A partir du produit brut, on procède ensuite à une triple extraction par un mélange de solvant chloroforme / méthanol (2:1, v/v), L'extrait est séché à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide. Le concentré est ensuite lyophilisé.

#### **IV.1.Caractérisation des biosurfactants extraits**

##### **IV.1.1. Chromatographie sur couche mince**

Afin de purifier et d'identifier les constituants des biosurfactants produits, il est difficile de trouver un système de solvant adéquat, nous devons tester plusieurs protocoles, nous pouvons retenir celui de **Kebbouche-Gana et al.,(2009 et 2013)**. Les plaques de CCM utilisées sont de type gel de silice 60A (Merck). Elles ont été activées à 120°C avant d'être utilisées. Les composés glucidiques et peptidiques ont été séparés dans un système de solvant S1 (chloroforme-méthanol-acide acétique, 80:18:2, v/v). Les constituants peptidiques ont été visualisés par vaporisation de la ninhydrine (5 mg de ninhydrine dans 50 ml de butanol-50 ml de mélange d'acétone) et de chauffage à 100°C pendant 5 min (**Hodge et Hofreiter, 1962**). Les composés sucrés ont été localisés par chauffage des plaques à 110°C pendant 5 min après pulvérisation du réactif à l'antrone (**Hodge et Hofreiter, 1962**).

##### **IV.1.2.Purification des biosurfactants extraits**

Avant de caractériser les biosurfactants extraits une purification sera nécessaire. Cette dernière sera constituée de plusieurs étapes successives et complémentaires afin d'isoler des biosurfactants de type lipopeptidique. De plus, une analyse par la méthode de *Spot-on-lawn* sera suggérée pour surveiller l'efficacité des fractions actives de chaque étape de purification en utilisant *S. enterica* sp. sérotype entérique *Typhimurium* ATCC 23564 et *C. divergens* LV13 en tant que souches indicatrices appropriées. Des contrôles de solvant ont été effectués, indiquant que les solvants n'induisent pas d'activité antimicrobienne (**Daas et al., 2017**).

Une fois les produits (biosurfactants) seront purifiés, il faut déterminer leur structure. Parmi les différentes analyses qualitatives on utilisera le plus fréquemment :

- La spectrométrie d'adsorption en lumière ultra-violette et visible (UV-VIS) qui détecte la présence de chromophore (**Spoeckner et al, 1999**) ,
- La spectrométrie infra rouge (IR) qui détermine le groupement fonctionnels (**Peypoux et al, 1999**),
- La spectrométrie de masse (MS) qui donne le poids moléculaire, les indications sur la structure et qui a une haute résolution, fournit l'analyse élémentaire de la molécule (**Daniels et al, 1999**).

*Chapitre IV*

*Résultats et Discussion*

## I. Résultats Attendus selon des études antécédentes

### I.1. Evolution quantitative de la flore levure

Selon une étude de **Devoyod et Sponem (1974)** sur l'isolement de levure à partir la flore microbienne du fromage de Cantal, sur 38 souches de levures isolées au cours des premiers stades de la fabrication du fromage de Cantal, 20 (soit 53 p. 100) fermentaient le lactose. D'après leur possibilité de former, ou non, des ascospores et leur pouvoir d'assimiler et de fermenter les sucres, ils ont pu classer les Levures isolées comme suit : *Torulopsissphaerica* (six souches), *Saccharomyceslactis* (douze souches) et *Saccharomyces fragilis* (deux souches). Ils ont donc retrouvé les mêmes espèces que dans d'autres fromages fabriqués à partir de lait cru (**Devoyod et Sponem, 1970**). Les levures qui ne fermentaient pas le lactose appartenaient aux genres *Pichia* et *Rhodotorula*.

Selon **Schmidt et Lenoir (1978)** dans une étude effectuée sur l'étude de la flore levure du fromage de Camembert et son évolution au cours de la maturation pour mieux connaître la nature de la flore levure de ce type de fromage, flore qui par sa densité de peuplement et par son activité métabolique qui peut jouer un rôle important dans la maturation de la pâte. Le tableau 3 a mentionné la répartition des souches de levures isolées selon les fabrications et les divers stades de l'affinage.

**Tableau 3** : Répartition des souches de levures isolées à partir de différentes fabrications de fromages de Camembert (**Schmidt et Lenoir, 1978**)

I : intérieur, E : extérieur

	Fabrication 1		Fabrication 2		Fabrication 3	
Stades de maturation (jours)	1	E	1	E	1	E
<b>1- 8 j</b>	32	29	26	32	29	32
<b>13-30 j</b>	24	27	26	21	25	20
<b>Total</b>	56	56	52	53	54	52

Selon le Tableau 3, l'analyse a été portée sur les trois fabrications 1, 2 et 3, soit au total 323 souches dont les principales espèces ont été identifiées, nous citons :

- *Kluyveromyces lactis* (Dombrowski) Van der Walt et sa forme imparfaite *Torulopsissphaerica* (Hammer et Cordes) Lodder;
- *Kluyveromyces fragilis* (Jorgensen) Van der Walt et sa forme asexuée *Candida pseudotropicalis* (Cast.) Basgal;

- *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et Kreger Van Rijet sa forme imparfaite *Torulopsis candida* (Saito) Lodder
- *Saccharomyces cerevisiae* Hansen;
- *Saccharomyces rouxii* Boutroux et sa forme asexuée *Torulopsisismogii* Vidal-Leiria ;
- *Torulopsisversatilis* (Etchells et Bell) Lodder et Kreger Van Rij.

Selon **SchmidtLenoir(1978)**, la répartition de ces espèces entre les trois fabrications figure sur le tableau 4. En effet, la flore levure du Camembert paraît donc être dominée par le groupe des *Kluyveromyces* et leurs formes imparfaites qui représenteront plus de 60 p. 100 de population. Veineront ensuite *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomycescerevisiae*, *Saccharomycesrouxii* et *Torulopsisversatilis*. Selon les mêmes auteurs, la répartition des espèces en suivant le stade d'affinage et les parties interne ou superficielle du fromage, il a été observé que dans l'ensemble *Kl. lactis* (et *T. sphaerica*) est plus nettement dominante à l'extérieur de la pâte et en fin d'affinage.

Le groupe *Kl. fragilis*, assez régulièrement réparti, est présent en proportion relative plus élevée à l'extérieur du fromage en début d'affinage. Quant au groupe *D. hansenii*, il est plus fortement représenté en fin de maturation, à l'intérieur de la pâte. Il a été remarqué cependant que, d'une fabrication à l'autre, il existe des variations importantes dans la répartition des espèces. Ainsi, dans l'une des fabrications, *Kl. lactis* est plus abondante au début de l'affinage qu'en fin de maturation alors qu'à ce stade *Kl. fragilis* domine en surface et à l'intérieur du fromage.

Selon la même étude et à côté de ces espèces dominantes regroupant 270 souches, la présence de 12 autres espèces regroupant au total 19 souches a été mise en évidence ; parmi elles figurent : *Candida kefir*, *Brettanomycesanomalus*, *Saccharomyces italicus*(**SchmidtLenoir, 1978**) (Tableau5). Ces mêmes auteurs ont pu identifier que 34 souches selon leurs caractères cultures morphologiques et biochimiques.

**Tableau 4 :** Répartition des principales espèces de levures isolées des fromages de différentes fabrications (**SchmidtLenoir, 1978**)

Souches identifiées	Fabrication 1	Fabrication 2	Fabrication 3
<i>Kluyveromyces lactis</i>	18	21	9
<i>Torulopsissphaerica</i>	6	16	48
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	16	26	0
<i>Candida pseudotropicalis</i>	4	10	4

<i>DebaryomycesCandida</i>	21	7	6
<i>Hansenii etTorulopsis</i>	2	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23	1	1
<i>Saccharomyces rouxii</i>	1	0	9
<i>Torulopsismogii</i>	1	0	7

**.Tableau 5** : Espèces de levures trouvées en faible nombre dans les fromages de trois fabrications  
(Schmidt et Lenoir, 1978)

<b>Souches identifiées</b>	<b>Nombre de souches</b>
<i>Candida kefir</i>	3
<i>Saccharomyces italicus</i>	2
<i>Brettanomycesanomalous</i>	3
<i>Torulopsisholmii</i>	1
<i>Rhodotorulalactosa</i>	1
<i>Genre Hansenula</i>	3
<i>Saccharomyces telluris</i>	1
<i>Saccharomyces bailii</i>	1
<i>Pichiabovis</i>	1
<i>Candida lipolytica</i>	1
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	1

## II. Discussion Générale

Les biosurfactants sont des molécules tensioactives produites par une grande variété de microorganismes (bactéries, levures et champignons), soit sécrétés à l'extérieur de la cellule, soit liés à des parties de la cellule. Parmi les différents biosurfactants recensés, on trouve des glycolipides, des lipopeptides, des phospholipides, des lipides neutres, des acides gras ou des lipopolysaccharides. Les biosurfactants ont été utilisés comme agents de dissolution. Leurs applications ont été étendues à d'autres domaines, comme une meilleure alternative aux produits chimiques tensioactifs (carboxylates, sulfonates), en particulier dans les produits alimentaires, pharmaceutiques et dans l'industrie pétrolière. Aussi, ils possèdent de nombreux avantages par rapport aux surfactants synthétiques. Ils offrent des applications variées aussi bien dans le domaine environnemental que le domaine médical. Parmi les eucaryotes, des levures osmotolérantes (*Rhodotorulamucilaginosa* et *Pichiaguilliermondii*) isolées de bassins d'évaporation d'effluents pharmaceutiques en Palestine à 15% de sel et même au-delà.

D'après Spencer et al. (1979), certaines levures produisent des glycolipides en milieux liquides. Ces derniers sont classés en deux catégories : les glycosyl d'acide gras hydroxylés (sophorose lipide) et les esters de polyols d'acide gras (monosylerythritol-lipides). Un complexe polysaccharide a été isolé à partir de la membrane cellulaire de la levure *Candida tropicalis* après culture sur hydrocarbure (Laurila, 1985). Chez les levures, la production de glycolipides par *Torulopsisbombicola* est stimulée par l'addition d'huile végétale durant la croissance sur un milieu à 10% de D-glucose donnant un rendement de 80 g/l (Cooper et Paddock, 1984).

Selon Yalçın et al. (2018), Dans leur étude sur l'isolement et caractérisation moléculaire des levures produisant des biosurfactants à partir d'échantillons de sol contaminés par des dérivés pétroliers, 65 souches de levure ont été isolées à partir de différents échantillons environnementaux contaminés par divers hydrocarbures pétroliers tels que des boues activées et des échantillons de sol provenant d'ateliers automobiles. Les isolats de levure ont été testés pour la production de biosurfactants en utilisant diverses méthodes de criblage telles que le test parafilm M, le test de déplacement d'huile, le test d'effondrement de goutte, la détermination de la réduction de la tension superficielle et l'indice d'émulsification. Dix-neuf des isolats se sont révélés positifs pour la production de biosurfactants et leurs caractérisations moléculaires ont été effectuées par analyse de séquençage de la région ITS1-5.8S - ITS2 et du domaine D1 / D2 de l'ADNr 26S. Les résultats ont indiqué que ces souches provenaient d'un large éventail de genres de levures, notamment *Rhodotorula*, *Candida*, *Yarrowia*, *Geotrichum*, *Galactomyces* et *Cystobasidium*. Les études pour déterminer l'indice d'émulsification ont révélé que les biosurfactants produits par les souches de *Yarrowialipolytica* (TEMGS33, TEMOS12 et TEMOS14) et la souche

*Apiotrichumloubieri* (TEMOS16) étaient les plus intéressantes capables de former des émulsions stables avec un indice d'émulsion (E24) allant jusqu'à 68 %.

De plus, des mesures quantitatives de la réduction de la tension superficielle des biosurfactants produits par ces souches ont été réalisées par la méthode de l'anneau Du Noüy. Les biosurfactants produits à partir de la souche *Yarrowialipolytica* TEMGS33 et de la souche *Apiotrichumloubieri* TEMOS16 ont donné les meilleurs résultats en réduisant la tension superficielle à  $34,7 \pm 1,15$  et  $35,3 \pm 0,55$  mN m<sup>-1</sup>, respectivement.

Dans une autre étude réalisée par **Derguine et al., (2017)**, des levures produisant des biosurfactants ont été isolées à partir de différents biotopes, y compris des échantillons alimentaires, des déchets et des échantillons de sable prélevés dans des zones contaminées par des hydrocarbures en Algérie. Les isolats ont été criblés pour la production de biosurfactant dans un milieu salin minéral et à haute salinité en utilisant l'indice d'émulsification (E24), le test d'effondrement de goutte, la technique de l'huile étalée et l'activité hémolytique. Cinquante sur cent isolats étaient positifs pour presque tous les tests qualitatifs, quatre d'entre eux étaient les meilleures souches pour la production de biosurfactants avec des émulsions supérieures à 60%.

Plus intéressant encore, un isolat de levure à haute tolérance au sel était le biosurfactant le plus puissant produisant de la levure avec un indice d'émulsification de  $69,50 \pm 0,70$ . Il a été identifié par des tests morphologiques, physiologiques et biochimiques et par analyse de l'ADNr 5.8s comme *Cryptococcus*sp.YLF. Cette souche a produit un biosurfactant en utilisant différentes sources de carbone et d'azote et lorsqu'elle est cultivée dans des milieux fermentatifs à faible coût à base de sous-produits et de déchets agro-industriels tels que le lactosérum, la mélasse, la liqueur de maïs, le sirop de dattes et les eaux usées des moulins à huile (OMW) complétés avec du NaCl ( 2,5 M).

Le biosurfactant produit par *Cryptococcus*sp. Le YLF a été partiellement caractérisé comme glycolipide sur la base de l'estimation des macromolécules, de l'analyse TLC et IR. Le biosurfactant brut a démontré une stabilité en ce qui concerne la réduction de la tension superficielle et l'activité d'émulsification dans une gamme de températures (5 à 100 ° C), de pH (2 à 12) et de salinités élevées (1 à 10%). Le biosurfactant partiellement purifié a montré un potentiel prometteur d'application dans la récupération assistée du pétrole (EOR).

Sur la base de ces données, les biosurfactants des souches de levures ont montré des résultats prometteurs et pourraient être mis en œuvre dans de nombreux domaines industriels tels que la bioremédiation et l'industrie alimentaire.

# ***Conclusion***

### **Conclusion :**

Au cours des dernières années, les biosurfactants ont reçu une attention considérable en raison de leur origine naturelle, de leur faible toxicité et de leur biodégradabilité élevée. Mais d'un point de vue économique, ils ne sont pas compétitifs avec leurs homologues synthétiques.

Les coûts de production élevés ne peuvent être acceptés que pour les biosurfactants utilisés dans les produits à faible volume et dans les produits à prix élevé tels que les cosmétiques et les médicaments. Néanmoins, les biosurfactants peuvent être produits avec un rendement élevé par certains micro-organismes, en utilisant diverses ressources de renouvellement et déchets industriels.

Pour répondre à notre objectif qui consiste à produire des biosurfactants à partir des levures, dans un premier lieu, nous souhaitons procéder à l'isolement des levures à partir de différents produits laitiers. Cette manipulation nous permettra d'obtenir une centaine de levures. Par la suite, ces isolats vont subir un criblage pour déterminer les souches possédant une capacité efficace en production de biosurfactants. Ce criblage sera réalisé avec différents tests comme l'indice d'émulsification E 24, le test de drop collapse, le test de déplacement de l'huile et la recherche de l'activité hémolytique. Ces caractéristiques peuvent être utilisées dans divers domaines en particulier dans les domaines : cosmétiques, produits ménagers et alimentaires. En plus de ces propriétés, ils ont la capacité de réduire la tension superficielle entre deux phases immiscibles. Cette caractéristique est très utilisée dans le domaine de récupération du pétrole.

## *Références bibliographiques*

### A

- [1]. **Abid,Z.(2015)**. Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques Agro-alimentaire .Université Mentouri de Constantine, Algérie ,72p.-29 Novembre
- [2]. **Aissaoui,O.,Zitoun,M.,etZidoune,N.,** (2006). Le fromage traditionnel algérien «Bouhezza».Séminaire d'animation Régional. Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments .INSAT-Tunis. Tunisie27-28.
- [3]. **Alais C. (1984)**., Science du lait : principes des techniques laitières. IVE édition, Ed, SEP ArC, Paris, 1984,814 p. Sciences du lait : Principes
- [4]. **Anonyme. (1995)**. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO: Alimentation et nutrition, 28.

### B

- [5]. **Bahia FM, de Almeida GC, de Andrade LP (2018)**Rhamnolipids production from sucrose by engineered *Saccharomyces cerevisiae*.Scientific Reports. Feb;8 (1):2905. DOI: 10.1038/s41598-018-21230-2.
- [6]. **Banat I. (2018)** Biocatalyse et biotechnologie agricoleVolume 14, avril 2018, Pages 23-32
- [7]. **Banat IM, Franzett A, Gandolfi I, Bestetti G, Martinotti MG, Fracchia L, Smyth TJ, Marchant R (2010)**Microbial biosurfactants production, applications and future potential. J ApplMicrobiolBiotechnol 87:427–444
- [8]. **Bencharif, A., (2001)**. Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux etproblématiques. *Options Méditerranéennes* Série B. Etudes et Recherches 32: 25-45.
- [9]. **Bendanou. (1981)**. L'industrie beurrière chez les pasteurs nomades du sud-Algérien.Communication faite à l'Office Colonial de l'Algérie, 570-580.
- [10]. **Benderouich B.,(2009)**. La kémariya: un produit du terroir à valoriser. . Mémoire de master, Institut de biologie, Université D'Ouargla, Algérie, 12 p.
- [11]. **Bendimerad N.,(2013)**. Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l, Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben».Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie p
- [12]. **Benkerroum N, Tamime AY. (2004)**. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale: a review. Food Microbiol. 21:399–413.
- [13]. **Bergamaier D. (2002)**. Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de Doctorat, Université de Laval, Canada
- [14]. **Boudier J.F. et Luquet F.M., (1981)** Dictionnaire laitier.- 2e éd.-BOUIX M. ; LEVEAUJ. Y.- Les microflores responsables des transformations : les levures, D 130145. Ln techniques d'analyses et de contrôle dans les IAA ~ le contrôle microbiologique. Vol. III,Paris Tec & Doc, 1988, 331 p.
- [15]. **Bodour AA, Maier RM (1998)** Application of a modified dropcollapse technique for surfactant quantification and screening of biosurfactant-producing microorganisms. *J Microbiol Methods*, 32:273–280.
- [16]. **Bourgeois, C. M., Larpent, J.P. (1996)**. Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Microbiologie alimentaires. Tome 2. Ed © Technique Documentation Lavoisier, Paris.
- [17]. **Bousnane M et Djadi O, (2009)**. Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien" *Takammèrite*" de la région de Ghardaïa. Mémoire Ing. I.N.A.T.A.A. Constantine, 108p.
- [18]. **Boutonnier J-L., (2012)**. Fabrication du fromage fondu, Techniques de l'ingénieur, f6310, Paris-France, 14 p.

## Références bibliographiques

- [19]. **Branger A. (2012)**, Fabrication de produits alimentaires par fermentation : l'ingénierie, f3501, Paris-France, p. 17.
- [20]. Bullerman LB, Bianchini A. (2007). Stability of mycotoxins during food processing. *Int J Food Microbiol.* 119:140–146



- [21]. **Campbell L.B. and Pavlasek S.J. (1987)**. Dairy products as ingredients in chocolate and confections. *Food Technology*, 41 (10), 78-85.
- [22]. **Carole L. Vignola., (2002)**. Science et technologie du lait. Edit. Fondation de technologie laitière du Québec Inc., Canada, 599p.
- [23]. **Cerf O.** « Risques bactériens liés aux produits laitiers ». In Science Direct, éd.2002.
- [24]. **Chamba J. F., (2008)**. Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In : Corrieu, G. and Luquet, F.M. (Eds.), Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments. Lavoisier, Paris, p. 787-815.
- [25]. **Chye, F.Y, Abdullah, A. and Ayob, M.K. (2004)**. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiol*, 21: 535–541.
- [26]. **Cooper D. G. et. D. A. Paddock (1984)** Production of a biosurfactant from *Torulopsisbombicola*, *Appl. Environ. Microbiol.* 47:173–176.
- [27]. **Courtin P., Monnet M. and Rul F. (2002)**. Cell- wall proteinases PrtS and Prt B have a different role in streptococcus thermophilus / *Lactobacillus bulgaricus* mixed cultures in milk,



- [28]. **Daas MS, Albert Remus R. Rosana, Jeella Z. Acedo, Malika Douzane, Farida Nateche, Salima Kebbouche-Gana and John C. Vederas (2018)** Insights into the draft genome sequence of bioactives-producing *Bacillusthuringiensis* DNG9 isolated from Algerian soil-oil slough. *Standards in Genomic Sciences*; <https://doi.org/10.1186/s40793-018-0331-1>
- [29]. **Daas MS. Jeella Z. AcedoAlbert Remus R. RosanaFabini D. OrataBéla ReizJing ZhengFarida NatecheRebecca J. CaseSalima Kebbouche-GanaJohn C. Vederas (2017)***Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* F11 isolated from Algerian salty lake as a source of biosurfactants and bioactive lipopeptides *FEMS Microbiology Letters*, fnx248, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx248>.
- [30]. **Dadie, A., (2009)**. Characterization of the purified coaguland extracts derived from artichoke flowers (*Cynarascolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *International Journal of Food Technology* 7: 20-29.
- [31]. **Dellaglio F., De Rossart H., Torriani S., Curk M. Et Janssens D. (1994)**. Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Loriga, 1, 25-116.
- [32]. **Derguine-Mecheri Louisa, Salima Kebbouche-Gana, SouadKhemili, DjamelDjenane (2017)**, Screening And Biosurfactant/Bioemulsifier Production From A High-Salt-Tolerant Halophilic *Cryptococcus* Strain YLF Isolated From Crude Oil, *Journal of Petroleum Science and Engineering*, Volume 162, March 2018, Pages 712-724- Elsevier [/https://doi.org/10.1016/j.petrol.2017.10.088](https://doi.org/10.1016/j.petrol.2017.10.088)
- [33]. **Djoughri, K., Madani,S. (2015)**. Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (Jben) : isolement et identification des bactéries lactiques. Mémoire de master, Institut de biologie, Université d'Ouargla, Algérie, 05 p.
- [34]. **Doleyres Y. (2003)**. Production en conteneur du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Québec. 167 pages
- [35]. **Devoyod J. J. et Sponem D. (1970)**. La flore microbienne du fromage de Roquefort. VI. Les levures. *Le Lait*, 498, 254.

## Références bibliographiques

- [36]. **Devoyod J. J. et Sponem D. (1970)**. La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru III. - Rôle des levures dans la maturation de la cc tome» Le Lait, 539-540.
- [37]. **Dubeuf J- P , (1999)**. Action de Recherche-Développement sur *Cynaracardunculus* transformation fermière. L'utilisation de la présure végétale en transformation fromagère.



- [38]. **Eck A., Gillis J.C., (1997)**. Le Fromage, De la science à l'assurance-qualité ; 3e éd-Paris,891p.



- [39]. **Fasoli G, Barrio E, Tofalo R, Suzzi G, Belloch C. (2016)**. Multilocus analysis reveals large genetic diversity in *Kluyveromyces marxianus* strains isolated from Parmigiano Reggiano and Pecorino di Farindola cheeses. International Journal of Food Microbiology **233**:1-10.
- [40]. **Franworth E. et Mainville I .,(2010)** Les produits laitiers fermentés et leur potentiel, thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe. <http://www.dos.transf.edwa.pdf>.
- [41]. **Fredot E., (2006)** .Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : 25 (397 pages).



- [42]. **Gelais ST-D.Tirrard-coller P., Belanger G., Draapeau R., Couture R.,(2002)**.Le fromage In Science et technologies du lait transformation du lait par Vignola Carole L.presse internationale polytechnique. 349-413pp.
- [43]. **Guiraud, J.P. (1998)**. Microbiologie des principaux produits alimentaires, Microbiologiealimentaire. Ed ©Dunod, Paris.



- [44]. **Hebert C, Villaran R, Tolentino J, Best L, Boonlayangoor S, Pitrak D, Lin M, Weber SG.(2010)**, Prior antimicrobial exposure and the risk for bloodstream infection with fluconazole-non-susceptible *Candida strains*. Scand J Infect Dis. 2010 Jul;42(6-7):506-9. doi: 10.3109/00365541003699631. PMID: 20370357.
- [45]. **Henkel M., MareenGeissler, Fabiola Weggenmann and Rudolf H (2017)**Production of microbial biosurfactants: Status quo of rhamnolipid and surfactin towards large-scale production Biochemical Engineering Science Volume12, Issue7.
- [46]. **Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M., (2004)**. Contamination bactérienne d'une laitière de stabulation libre paillée : effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In: Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants.



- [47]. **Jacobsen, (2000)**. La levure *Geotrichum candidum*, diversité et applications en fromagerie (Maîtrise en sciences et technologie des aliments Maître ès Sciences (M. Sc.)



## Références bibliographiques

- [48]. **Katz H., Weaver W.W., (2003).** Encyclopedia of food and culture. Volume 1: Acceptance to food politics. 718p. Charles Scribner's Sons. New York.
- [49]. **Kebbouche-Gana S., M. L. Gana, S. Khemili, F. Fazouane-Naimi, N. A. Bouanane, M. Penninckx and H. Hacene (2009);** Isolation and characterization of halophilic Archaea able to produce biosurfactants. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. Volume 36, Number 5, pp 727-738. DOI 10.1007/s10295-009-0545-8
- [50]. **Kebbouche-Gana S., Mohamed Lamine Gana, Imen Ferrioune, Souad Khemili, Nesrine Lenchi, Sihem Akmouci-Toumi, Nabila Amel Bouanane-Darenfed et Nacer-Eddine Djelali (2013)** Production of biosurfactant on crude date syrup under saline conditions by entrapped cells of *Natrialba* sp. strain E21, an extremely halophilic bacterium isolated from a solar saltern (Ain Salah, Algeria), *Extremophiles*, Volume 17, Issue 6, pp 981-993: DOI 10.1007/s00792-013-0580-2. Cité 6 fois. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00792-013-0580-2>
- [51]. **Kebbouche-Gana S. and Mohamed Lamine Gana (2014)** Algerian Yeast Strains: Isolation, Identification and Production of Single Cell Protein from Whey with Strain *Candida kefyr*, International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics vol. 4, no. 3, pp. 160-165. DOI: 10.7763/IJBBB.2014.V4.331, <http://www.ijbbb.org/show-46-632-1.html>.
- [52]. **Kira G.S, Thomas T .A, Sivin J, Sabarthnam b, Lipton A.P, (2010)** optimization and characterization of a new lipopeptide biosurfactant produced by marina *Brevibacterium aureum*.

R

- [53]. **Lahsaoui, S. (2009).** Etude de procédé de fabrication d'un fromage traditionnel (klila). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme d'ingénieur Université El Hadj Lakhdar Batna, Département d'agronomie.
- [54]. **Lamoureux L. (2000).** Exploitation de l'activité  $\beta$ -galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galactooligo saccharides. Mémoire de maîtrise, Université de Laval, Canada.
- [55]. **Larpent, J.P, (1997).** Mémento technique de microbiologie .3eme Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 910 pages.
- [56]. **Laurila M.A. (1985)** Biosurfactants production by mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Department of biotechnology, Swiss Federal Institute of technology Zurich, Switzerland. Pp 1-10 (117p).
- [57]. **Leory F., Degeest B. and De Vuyst L. (2002).** A novel area of predictive modeling: describing the functionality of beneficial microorganisms in foods. International Journal of Food Microbiology, 73, 251-259.
- [58]. **Lodder J. (1971).** - The yeasts : a taxonomic study. North Holland Publishing Co, Amsterdam
- [59]. **Loones A. (1994).** Lait fermenté par des bactéries lactiques. In «bactéries lactiques ». Vol II. DEROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, Paris. 37-151.

M

- [60]. **Mahamedi, A. (2015).** Etude des qualités hygiéniques, physico-chimique et microbiologiques des ferments et des beurres traditionnelles destinés à la communication dans différents régions d'Algérie. Thèse de Doctorat, Université Oran
- [61]. **Mahaut M., Jeant et R., Schak P. Et Brul G. (2000).** Les Produits Industriels laitiers. Ed, techniques et documentation, Lavoisier, Paris. 26-40.

## Références bibliographiques

- [62]. **Mami A.2013.** « Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxiinfections alimentaires en Algérie ».Thèse de Doctorat. Oren. University d'Oran,164p.
- [63]. **Marchant R, Banat I.M (2012)** microbial biosurfactants; challenges and opportunities for future exploitation trends biotechnology.
- [64]. **Marty-Teyssset C. De La Torre F. and Garel J-R. (2000).** Increased production of hydrogen peroxide by lactobacillus *Delbruekiisspbulgaricus* upon aeration: involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 262-267.
- [65]. **Mechai A, Debabza, M. and Kirane, D. (2014).** Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. International Food Research Journal 21(6): 2451-2457.
- [66]. **Mechai A, Kirane D. (2008).** Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteriaisolated from Algerian traditional fermented milk —Raibl *Afr J Biotechnol*7:2908–14.algérie.P 16.
- [67]. **Mechai A. et Kirane D., (2008).** Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk “Raïb”. *African Journal of Biotechnology*, 7 (16) : 2908-2914.
- [68]. **Medouni, Y., Boulahchiche, N.,etBrahimi,R. (2005).** Rôle de la femme rurale dans le système de production agropastorale. Cas de la fraction Ouled-Baida de la zone d'El Guedid Région de Djelfa (steppe centrale).Option : *Méditerranéennes*, Série A, n°70.
- [69]. **Mekentichi, Z. 2003.** Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza).mémoire d'ingénieur. Département d'agronomie. Université de Batna. Algérie.
- [70]. **Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A.,Ross, R. P., Mittaine J., (1980).** Les laits autres que le lait de vache, [http://whqlibdoc.who.int/monograph/ who mono](http://whqlibdoc.who.int/monograph/who mono).
- [71]. Microbiology, 148, 3413 -3421.
- [72]. **Modler H.W. (1985).** Functional properties of nonfat dairy ingredients. A review. Modification of products containing casein. Journal of Dairy Science, 68, 2195-2205.
- [73]. **Morgan, S., and Hill, C. (2002).** Preservation and fermentation: past, presentand future. Int J Food Microbiol.79: 3-16.
- [74]. **Mulligan. C., et Gibbs. B., (2002)** Type, Production and Applications of biosurfactants, *Civil and Environmental engineering, Concordia University*. 1pp : 31-55.



- [75]. **Ngounou C., Ndjouenkeu R., Mbofung F. Et Noubi I. (2003).** Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zebu. Journal of Food Engineering, 57, 301-307.
- [76]. **Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet,S . , Bellal, M.M., eschramm, stasiuk E .N, Marangoni D.G(2003)**surfactants and their applications ,annual reports on the progress reports of chemistry.
- [77]. **Noznick P.P. (1982).** Dairy Ingredients in food. Bulletin de la Federation Internationale de Laiterie, 142, 60-66.



- [78]. **Parachin N.S. (2018).**Rhamnolipids production from sucrose by engineered *Saccharomycescerevisiae*. *Scientific Reports*. 8: 29-35.

## Références bibliographiques

- [79]. **Parente E. et Cogan T. M., (2004).** Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T.M. et Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. I. Chapman and Hall, London, p.123-148.
- [80]. **Pradal M. (2012).** La transformation fromagère caprine fermière .Paris : TEC& DOC .Lavoisier . 295p



- [81]. **Ramet J.P. (1985).** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin Méditerranéen. Rome : FAO, 222p.
- [82]. **Rousseau M. (2005).** La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9 pages.
- [83]. **Rodrigues LR, Teixeira JA, Van Der Mei HC, Oliveira R (2006)** Isolation and partial characterisation of a biosurfactant produced by *Streptococcus thermophilus* A. *Colloids Surf B Biointerfaces* 53:105–112. doi:10.1016/j.colsurfb.2006.08.009



- [84]. **Santos D.K.F., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Sarubbo L.A. (2016).** Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21<sup>st</sup> Century *International Journal of Molecular Sciences*. 17: 401-432.
- [85]. **Schmidt J.L., Tourneur C. Et Lenoir J. (1994).** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in «bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, paris. 37-46.
- [86]. **Schmidt JL, J. Lenoir, Michèle Schmidt, ThanLuu, Christine Graffard.** Contribution à l'étude de la flore levure du fromage de Camembert. Son évolution au cours de la maturation. Le Lait, INRA Editions, 1978, 58 (577), pp.355-370. fihal-00928798f
- [87]. **Settanni L. et Moschetti G., (2010).** Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits, *Food Microbiology*, 27:691-697.
- [88]. **Seminel L. (2015).** Le livre blanc du camembert liberté, égalité, camembert !, Edition Fromage et chef .19pt
- [89]. **Singh Sudheer K., Ahmed Syed U. and Ashok P. (2006).** Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge: woodhead Publishing.
- [90]. **Sobrinho et al (2008)** *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 197, numéro 10, 15 mai 2008, pages 1436–1447.
- [91]. **Spencer J.F.T., D.M. Spencer et A.P. Tulloch (1979)** Extracellular glycolipids of yeasts. In *Economic Microbiology Biology, Secondary production of metabolisms. Economic Microbiology*, 3: 523–540.
- [92]. **Shekhar S., Arumugam Sundaramanickam & Tangavel Balasubramanian (2015)** Biosurfactant Producing Microbes and their Potential Applications: A Review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45:14, 1522-1554, DOI: 10.1080/10643389.2014.955631



- [93]. **Tamime A.Y. and Deeth H.C. (1980).** Yogurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43, 12, 939-977.
- [94]. **Tamime A.Y. and Robinson R.K. (1999).** Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge: wood head Publishing
- [95]. **Tolle, A., (1980).** The microflora of the udder. *Bull. Int. Dairy Fed*, 120: 4–10. transformation fermière. L'utilisation de la présure végétale en transformation fromagère.



- [96]. **Wagner F. et S. Lang (1996)** Microbial and enzymatic synthesis of interfacial active glycolipids. *Word. J. Microbial. Technol*,1: 124-137.



- [97]. **Yakhlef H., Madani T., Ghozlane F. et Bir B. (2010)**. Rôle du matériel animal et de l'environnement dans l'orientation des systèmes d'élevages bovins en Algérie ; in : « la filière lait en Algérie ». Communication aux 8emes Journées des Sciences Vétérinaires ,18 et 19 avril. Ecole Nationale Supérieure Veterinaire d'Alger.
- [98]. **Yalçın, HT, Ergin-Tepebaşı, G, Uyar, E.(2018)** Isolation and molecular characterization of biosurfactant producing yeasts from the soil samples contaminated with petroleum derivatives. *J Basic Microbiol*. 2018; 58: 782– 792. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800126>.
- [99]. **Yıldız F., (2010)**. Development and manufacture of yogurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435 p.

## Résumé

L'objectif de cette étude est la production et la caractérisation de biosurfactants par des levures lactiques isolées à partir de différents échantillons comprenant des produits laitiers en particulier le fromage camembert. En raison de son extrême importance le lait et les produits laitiers sont la base de notre recherche car ils contiennent des composés qui nous intéressent particulièrement. Les bactéries, les champignons et les levures produisent des molécules tensioactives et amphiphiles appelés biosurfactants. La plupart de ces molécules sont des agents extracellulaires, mais peuvent également être intracellulaires. Ils présentent de nombreux avantages par rapport à leurs équivalents chimiques de synthèse. Ils peuvent être utilisés comme émulsifiants, agents mouillants, agents moussants, agents de propagation et ingrédients alimentaires. Ces dernières années, les biosurfactants ont été utilisés comme substituts des tensioactifs chimiques et devraient trouver de nombreuses applications environnementales et industrielles, telles que la biorestauration des polluants et l'amélioration de la récupération des hydrocarbures.

**Mots clés :** *levures lactiques, biosurfactants, produits laitiers.*

## Abstract

The objective of this study is the production and characterization of biosurfactants by lactic yeasts isolated from different samples including dairy products in particular camembert cheese. Due to its extreme importance, milk and dairy products are the basis of our research because they contain compounds of particular interest to us. Bacteria, fungi and yeasts produce surfactant and amphiphilic molecules called biosurfactants. Most of these molecules are extracellular agents, but can also be intracellular. They have many advantages over their synthetic chemical equivalents. They can be used as emulsifiers, wetting agents, foaming agents, propagation agents and food ingredients. In recent years, biosurfactants have been used as substitutes for chemical surfactants and are expected to find many environmental and industrial applications, such as the bioremediation of pollutants and improving oil recovery.

**Keywords:** *lactic yeasts, biosurfactants, dairy products*

## الملخص

الهدف من هذا الدراسة هو إنتاج وتصنيف الخمائر اللبنية المعزولة لمنعينات مختلفة بما في ذلك منتجات الألبان وخاصة جبن الكامبرت. نظرًا لأهميتها القصوى، فإن الحليب ومنتجات الألبان هي أساس بحثنا لأنها تحتوي على مركبات ذات أهمية خاصة بالنسبة لنا. تنتج البكتيريا والفطريات والخمائر خافضات التوتر السطحي جزئيًا بمائة تسمة المواد الحيوية. معظم هذه الجزئيات هي عوامل ملخار خلوية، ولكن يمكن أيضًا أن تكون نداء خلوية. لديهم العديد من المزايا علمعادلاتها الكيميائية الاصطناعية. يمكن استخدامها كاستحلبات وعوامل ترطيب وعوامل رغوة وعوامل إكثار ومكونات غذائية.

في السنوات الأخيرة، تم استخدام المواد الخافضة للتوتر السطحي كبدائل للمواد الخافضة للتوتر السطحي الكيميائية من المتوقع أن تجد العديد من التطبيقات البيئية والصناعية، مثل معالجة الحويمة للملوثات وتحسين استخلاص النفط.

**الكلمات المفتاحية: الخميرة اللبنية، الخمائر الحيوية، منتجات الألبان.**