
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université M'hamed Bouguerra Boumerdès

Faculté des sciences

Département de biologie



Mémoire de master académique

Filière Sciences agronomiques

Specialité: Contrôle de qualité et Nutrition en Agro-alimentaire

Thème

Valorisation du lactosérum comme milieu de culture pour la production de métabolites d'*Aspegillus niger*

Présenté par :

Ali Mahamane Oumarou
Yacouba Mai Kodomi Amina

Membres du jury:

Mme HALOUANE F.	Professeur UMBB	Présidente
Mme GANA S.	MCA UMBB	Examinatrice
Mme CHAHBAR N.	MCA UMBB	Encadreur
Mme AMALOU A.	Responsable laboratoire	Co-Encadreur

Soutenu le, 16/06/2016

Année universitaire 2015 /2016

Nous exprimons tout d'abord, nos profonds remerciements et louanges à DIEU tout puissant, nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Remerciements :

Nous remercions vivement nos parents qui nous ont toujours supportés, encouragés, conseillés, par leur soutien tant moral que financier.

Notre profonde gratitude et reconnaissances vont à Mme CHAHBAR Nora qui malgré ses nombreuses responsabilités, nous a guidés, encadrés, encouragés, soutenu et beaucoup aidé par ses précieux conseils lors de la réalisation de ce travail ; sans oublier Mme Gana pour sa contribution, sa disponibilité, ses conseils et son expérience.

Nous adressons également nos remerciements à tous le personnel de la laiterie et fromagerie de Boudouaou, en particulier ceux du laboratoire, notamment notre co-encadreur Mme AMALOU et ceux qui nous ont fourni le lactosérum et l'ensemble des techniciennes du laboratoire de la faculté.

Nous exprimons notre gratitude au Pr.HALOUANE F.d'avoir présidé notre jury ; sans oublier Mme GANA notre examinatrice, pour avoir bien voulu examiner, ce travail.

A toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à réaliser ce travail, nous exprimons nos remerciements.

Sommaire

<u>Introduction</u>	1
1- LE Lait	3
1-1-Définition.....	3
1-2-Composition du lait.....	3
1-3-Fromage à pâte pressé type EDAM	3
1-3-1-Définition.....	3
1-3-2-Le diagramme de fabrication de l'EDAM.....	3
2- Le lactosérum.....	5
2-2-Différents type de lactosérum.....	6
2-2-1- Lactosérum doux	6
2-2-2- Lactosérum acide.....	6
2-3- Composition chimique du lactosérum	6
2-3-1-Lactose.....	7
2-3-2- Protéine.....	7
2-3-3- Minéraux	7
2-3-4- Vitamine	7
2-3-5- Matière grasse.....	8
2-4- Lactosérum et pollution de l'environnement	9
2-5 Valorisation et utilisation du Lactosérum	9
2-5-1-Intérêt industriel du lactosérum	10
2-5-2-Intérêt alimentaire.....	10
2-5-3-Intérêt médical.....	10
2-5-4- Intérêt biotechnologique.....	12
3-Acide citrique.....	12
3-1-Généralités	12
3-2-Bases biochimiques	13
3-3-Applications de l'acide citrique	13
3-3-1- Industrie alimentaire.....	13
3-3-2-Industrie pharmaceutique	14
4-Microorganisme producteur de citrate: <i>Aspergillus niger</i>	14

4-1-Historique	14
4-2-Définition.....	15
4-3-Classification	15
4-4-Morphologie	15
4-5-Croissance et cycle fongique	16
4-6-Habitat	16
4-7-Identification d'Aspergillus : par sa couleur.....	17
5- La fermentation.....	17
5-1-Généralité sur le fermenteur	17
5-2-Le mode de fonctionnement	17
5-3-Les différentes utilisations de la fermentation.....	18
1- LE Lait	9
1-1-Définition.....	9
1-2-Composition du lait.....	9
1-3-Fromage à pâte pressé type EDAM	9
1-3-1-Définition.....	9
1-3-2-Le diagramme de fabrication de l'EDAM.....	10
2- Le lactosérum.....	11
2-2-Différente type de lactosérum.....	12
2-2-1- Lactosérum doux	12
2-2-2- Lactosérum acide.....	12
2-3- Composition chimique du lactosérum	12
2-3-1-Lactose.....	13
2-3-2- Protéine.....	13
2-3-3- Minéraux	13
2-3-4- Vitamine	13
2-3-5- Matière grasse.....	14
2-5- Valorisation et utilisation du Lactosérum.....	15
2-5-1-Intérêt industriel du lactosérum	16
2-5-2-Intérêt alimentaire.....	16
3-1-Généralités	18
3-2-Bases biochimiques	19
3-3-Applications de l'acide citrique	19
3-3-1- Industrie alimentaire.....	19

3-3-2-Industrie pharmaceutique	20
4-2-Définition.....	21
4-3-Classification	21
4-4-Morphologie	21
4-5-Croissance et cycle fongique	22
4-7-Identification d'Aspergillus : par sa couleur.....	23
5- La fermentation.....	23
5-1-Généralité sur le fermenteur	23
5-2-Le mode de fonctionnement	24
II-Matériels et méthodes	25

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : composition du lait de vache.....	8
Tableau 2 : Activité biologique des protéines et des peptides du lactosérum.....	11
Tableau 3 : Matériel non biologique.....	20
Tableau 4 : établissement du courbe étalon en réalisant une série de dilutions à partir d'une solution mère de glucose à 1 g/l.....	27
Tableau 5 : les valeurs d'étalonnage d'acide citrique.....	30
Tableau 6 : Résultats des analyses physico-chimiques du lactosérum.....	32
Tableau 7 : vu macroscopique et caractéristiques d' <i>Aspergillus niger</i>	33
Tableau 8 : Aspect microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	34
Tableau 9 : Evolution des vitesses de la croissance mycélienne au cours de la fermentation.....	40

Tableau 10 : Evolution des vitesses de consommation des sucres au cours de la fermentation.....	40
Tableau 11 : Evolution des vitesses de production de l'acide citrique au cours de la fermentation.....	41

Liste des figures :

Figure 1 : diagramme de fabrication du fromage de l'EDAM.....	4
Figure 2 : image du lactosérum.....	5
Figure 3 : Schéma du champignon genre « Aspergillus ».....	16
Figure 4 : image d'un bioréacteur en aérobie.....	18
Figure 5 : Courbe étalon utilisée pour le dosage du glucose.....	28
Figure 6 : Courbe étalon utilisée pour le dosage de l'acide citrique.....	29
Figure 7 : Récupération de l'acide citrique.....	31
Figure 8 : Evolution du poids sec de mycélium au cours de la fermentation.....	36
Figure 9 : Evolution de l'assimilation des sucres au cours de la fermentation.....	37
Figure 10 : Evolution du pH au cours de la fermentation.....	38

Figure 11 : Evolution de production de l'acide citrique au cours de la fermentation.....39

Liste des abréviations

A.niger : *Aspergillus niger*

MPDA : Milieu Potato Dextrose Agar

MLD : Milieu Lactosérum Déprotéiné

ML : Milieu Lactosérum brut

Aw : activité de l'eau

pH : potentiel d'Hydrogène

D : Dornic

Introduction

Le lait est la matière première à partir duquel est issu le lactosérum ou petit lait car il contient tous les constituants solubles du lait. Les quantités de lactosérum disponibles dans le monde sont considérables puisqu'elles représentent au moins 85% du lait transformé en fromage (SABOUNDJI, 2013). Il n'y a pas si longtemps, le lactosérum liquide était souvent traité comme un déchet tandis qu'aujourd'hui on le considère comme un sous-produit utile de la production laitière. L'industrie agro-alimentaire laitière rejette dans la nature des centaines de litres de sous-produit (lactosérum) obtenu au cours de la transformation après coagulation du lait, ce qui constitue une source de pollution de l'environnement. Ainsi la valorisation du lactosérum ou son utilisation dans divers secteurs offre plusieurs avantages à savoir : résoudre un problème de traitement des déchets, réduire potentiellement la pollution provoquée par le lactosérum rejeté dans les eaux résiduaires (GANA et TOUZI, 2001).

Cette pollution est due à la fermentation des matières organiques (lactose) et à la diminution de la teneur en oxygène dissous dans l'eau. Ces rejets peuvent être valorisés en bioéthanol (bioénergie) par fermentation alcoolique. Le lactose valorisable en éthanol est estimé à plus de 4 millions de tonnes par an, ce qui pourrait rapporter environ 2,3 millions de m³ d'éthanol (à savoir, 3,5% de la production mondiale en 2008) (TEBBOUCHE, 2012). Et en fin produire des substances à forte valeur ajoutée sans recourir aux ressources alimentaires disponibles. Par exemple la poudre de lactosérum est utilisée en alimentation animale, dans les laits infantiles, les fromages fondus, ajoutée aussi comme additif dans la préparation (des saucisses, des soupes...etc.). Le lactosérum est aussi utilisé pour remplacer partiellement le lait dans la chocolaterie et la biscuiterie industrielle. Sa matière grasse peut être utilisée pour la fabrication de fromage à pâte fondue ou de beurre de second choix (BOUDIER ; LUQUET, 1989). La valorisation des déchets agroalimentaires (lactosérum) par les microorganismes (valorisation biotechnologique), grâce à sa composition biochimique, celui-ci peut être un milieu favorable à la production d'enzymes, en particulier les protéases, de biomasse...etc. (DENDOUGA, 2006). De plus les protéines du lactosérum possèdent des effets bénéfiques pour la santé humaine, donc leur utilisation dans le domaine diététique et

thérapeutique est possible. Des expériences ont montrés que ces derniers peuvent réduire le risque de développer des maladies du cœur, ulcère, cancer. (BERRY, 2000).

Cependant, nous avons pu constater au cours de notre séjour à l'usine de Laiterie et Fromagerie de Boudouaou (LFB), que l'usine rejette environs quatre-vingt-dix (90%) pourcent sur mille litre de lait comme déchet (lactosérum) après coagulation à chaque production de fromage. Pour cela notre but essentiel est de récupérer ce lactosérum rejeté par l'industrie LFB et de le valoriser en l'utilisant comme milieux de culture pour les microorganismes (*genre Aspergillus*), pour produire de la biomasse ou un métabolite (acide citrique, enzyme etc.). Les moisissures ont un rôle utile dans la fabrication de nombreux aliments (boissons, fromages, saucisses et saucissons...) dans les industries alimentaires comme les *Aspergillus*, *Penicillium*..... (DELARRAS, 2007).

Dans la présente étude, une synthèse bibliographique est bien développée dans le premier chapitre. Dans le second chapitre, le matériel et méthodes sont exposés. Le troisième chapitre est consacré aux résultats et aux discussions. Enfin une conclusion générale accompagnée de perspectives clôture notre travail.

1- LE Lait

1-1-Définition

Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères, comme la vache chèvre et la brebis, destiné à l'alimentation du jeune animal naissant (CAROLE ; VIGNOLA, 2002). Le lait est un liquide aqueux, blanc et opaque, d'une saveur douce, fragile, sensible à la lumière et à la chaleur, très riche et énergétique (riche en ferments et en enzymes), de pH voisin de la neutralité. Il est de composition complexe et hétérogène.

1-2-Composition du lait

Le lait est un aliment naturellement riche en protéine de haute valeur biologique, en calcium, en vitamines et oligo-éléments. (CAHIER DE LA NUTRITION ET DE DIETETIQUE, 2012) .Le lait est un édifice physico-chimique extrêmement complexe qui contient des trésors de richesses nutritionnelles (LUQUET, 1990) articulés autour de quatre nutriments principaux qui sont : les protéines, glucides, lipides, sels minéraux. Ainsi que d'autres éléments : les vitamines, et les enzymes.

1-3-Fromage à pâte pressé type EDAM

1-3-1-Définition

Le fromage EDAM a été fabriquée pour la première fois dans la région d'Edam, localisée d'Edam ville située près de ZUIDERZEE au nord de la Hollande, il est fabriqué depuis XVI siècle. C'est un fromage obtenu à partir d'un lait coagulé en cuve ou sont effectués un découpage et brassage accélérant l'égouttage suivi d'une durée de 3 à 4 semaines d'affinage.

1-3-2-Le diagramme de fabrication de l'EDAM

Afin de fabriquer le fromage, plusieurs étapes sont suivies selon le diagramme ci-après.

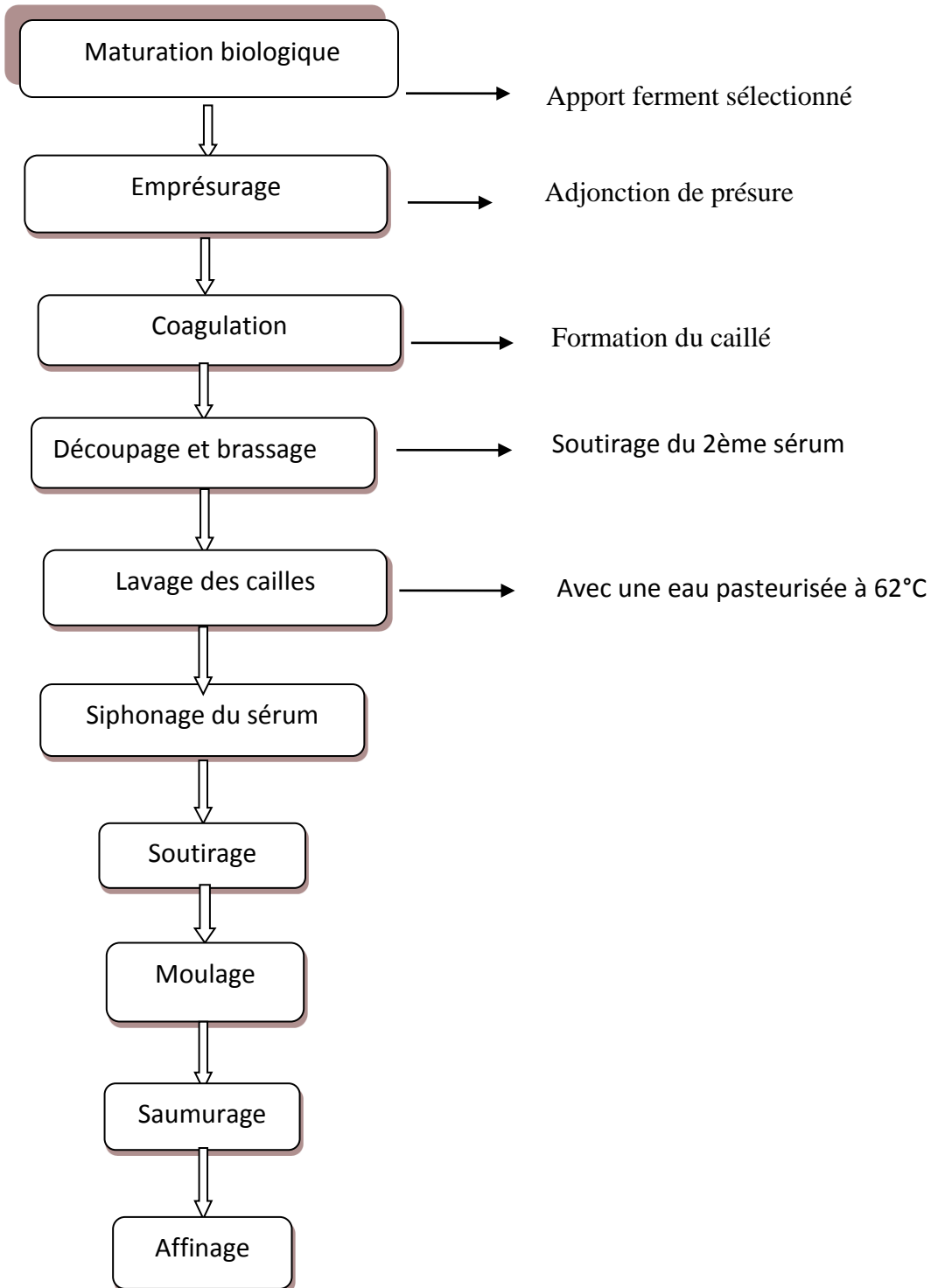


Figure n°01 : *diagramme de fabrication du fromage à pâte pressée non cuite type (EDAM) selon LFB*

2- Le lactosérum

Le lactosérum ou sérum ou encore petit lait, c'est un sous-produit laitier liquide de couleur jaune verdâtre obtenu pendant la production du fromage, de la caséine ou de produits similaires, par séparation du caillé après coagulation du lait (figure 02). Le caillé représente l'ensemble des protéines non solubles, et la matière grasse alors que le lactosérum contient toutes les substances solubles du lait : eau, lactose, protéines et minéraux solubles, un peu ou de trace de matière grasse (LUQUET et BONJEAN-LINCZOWSKI, 1985).

Il a longtemps été considéré comme un déchet encombrant car à la fois très polluant et produit en grandes quantités par l'industrie fromagère (Chaque fois qu'un litre de lait est mis en œuvre pour fabriquer un fromage, il y a production de 0.6 à 0.9 litre de lactosérum).



Figure N° 02 : image du lactosérum

2-2-Différente type de lactosérum

Selon l'enzyme utilisée pour la coagulation du lait au cours de la fabrication des produits consommables nous pouvons distinguer deux types de lactosérum à savoir : lactosérum doux et lactosérum acide.

2-2-1- Lactosérum doux

Comme son nom l'indique le lactosérum doux est issu de la fabrication du fromage à pâte cuite, à pâte pressé et de la caséine, après le traitement du lait par voie enzymatique, généralement par la présure, avec un pH variant entre 5,7 et 6,5 avec une acidité varie entre 15 et 22° Dornic (DENDOUGA, 2006).

2-2-2- Lactosérum acide

C'est la phase aqueuse résultant de la fabrication des fromages à pâtes molles ou fraîches ou de caséines, pour lesquels le caillage à lieu sans emprésurage c'est-à-dire par acidification (coagulation lactique) d'où leur nom. Le pH du lactosérum acide varie entre 4 et 5,5 avec une acidité de 120° Dornic (BENAOUIDA, 2008).

2-3- Composition chimique du lactosérum

A chaque type de fromage et à chaque étape de fabrication est associé un lactosérum. Les lactosérums doux sont pauvres en calcium et phosphore contrairement aux lactosérums acides, tout en présentant une teneur peu supérieur en lactose et protéine. Le lactosérum emporte avec lui la plus grande partie de l'eau du lait. Il est donc fait à 94 % d'eau, à 4 à 5 % de lactose puis de protéines solubles (9 % de ms), de sels minéraux.

2-3-1-Lactose

Le lactose représente 70 à 80% de matière sèche du lactosérum; il peut subir des réactions de cristallisation, de dégradation physico-chimique et de fermentation lactique bactérienne. Le lactose représente l'essentiel de la matière sèche, c'est la source de Carbone et d'énergie pour les microorganismes dans un milieu de culture au cours de la fermentation (GANA et al, 2006).

2-3-2- Protéine

Les protéines du lactosérum représentent 0.6 à 0.7 % de la matière sèche du lactosérum. Elles ont une meilleure valeur nutritionnelle, surtout en raison de leur composition élevée en acides aminés essentiels. Les plus importantes sont la β -lactoglobuline (β -LG), l' α -lactalbumine (α -LA), le glycomacropéptide (GMP), les immunoglobulines (IgG), l'albumine sérique (BSA) et la lactoferrine (LF) (MCLNTOCH, 1998).

2-3-3- Minéraux

Ils représentent 7 à 12 % de matière sèche du lactosérum. Il s'agit essentiellement du calcium et du phosphore, ainsi que le potassium, le sodium, le magnésium, le chlore, le fer, ...etc.

2-3-4- Vitamine

Les vitamines sont en majorité hydrosolubles, car les vitamines liposolubles sont entraînées par la matière grasse du caillé égoutté. Ce sont donc essentiellement les vitamines du groupe B: la riboflavine (B2) qui lui donne sa couleur verdâtre, la thiamine (B1), la pyridoxine (B6), ainsi que la vitamine C (LINDEN, 1994).

Les différents types de vitamine présente dans le lactosérum sont représentés en mg/ml dans le tableau 02 ci-dessous.

2-3-5- Matière grasse

Elles ne représentent que 0.7 % de la matière sèche du lactosérum, puisque la quasi-totalité de la matière grasse du lait est retenue dans le caillé.

La Composition chimique du lactosérum varie considérablement selon la source du lait, les différents traitements utilisés pour le transformer en produits consommables et les procédés de fabrication (LAPLANCHE, 2004). Ainsi nous pouvons distingués la composition chimique du lactosérum doux et acide dans le tableau 01.

Tableau N°01: Composition typique du lactosérum doux et acide en g/l (TEBBOUCHE, 20012).

Composition	Lactosérum doux	Lactosérum acide
Solides Totaux	63.0-70.0	63.0-70.0
Lactose	46.0-52.0	44.0-46.0
Protéine	6.0-10.0	6.0-8.0
Calcium	4.0-6.0	1.2-1.6
Phosphate	1.0-3.0	2.0-4.5
Lactate	2	6.4
Chlorite	1.1	1.1

2-4- Lactosérum et pollution de l'environnement

Le lactosérum est un sous-produit de l'industrie fromagère, lorsqu'il est déversé dans une rivière; il engendre des effets polluants: les bactéries et autres micro-organismes vivants dans l'eau, attaquent certains constituants du lactosérum (lactose principalement) en consommant l'oxygène de l'eau. Ce dernier manquera aux poissons et aux plantes aquatiques qui mourront d'asphyxie (YANG *et al.*, 1980). Le rejet du lactosérum est considéré comme un polluant car il impose une forte demande biochimique en oxygène (DBO), de 30000-50000 ppm (MARWAHA *et al.*, 1988).

Ces torts causés à l'environnement pourraient être évités d'autant que le lactosérum est une matière noble dont il y a encore beaucoup à tirer.

2-5- Valorisation et utilisation du Lactosérum

La valorisation du lactosérum est une voie très importante non seulement pour l'environnement, car elle permet de diminuer au maximum le risque de pollution provoquée par le lactosérum rejeté dans les eaux résiduaires. Le lactosérum entre dans la composition de divers produits alimentaires et pharmaceutiques, notamment les produits diététiques.

Les progrès de la technologie ont permis ces dernières décennies de résoudre les problèmes de valorisation d'un produit agricole qui contient encore la moitié de la matière sèche du lait. À cette fin, il faut procéder à une série d'extractions:

- 1) éliminer l'eau, le principal constituant du lactosérum : par évaporation et séchage sur cylindre ou par pulvérisation (THOMAS *et al.*, 2008).
- 2) enrichir et extraire les protéines sériques et matière grasse : par ultrafiltration
- 3) éliminer une partie des minéraux : par échange d'ion et électrodialyse (GAUCHERON, 2004).
- 4) et en fin extraire le lactose.

2-5-1-Intérêt industriel du lactosérum

Les recherches effectuées pendant plusieurs années ont permis de comprendre l'intérêt nutritionnelle du lactosérum, ainsi que les possibilités de son utilisation en alimentation du bétail (vache), comme milieux de fermentation pour la production par voie microbienne de l'acide lactique, acide citrique, des vitamines (B2, et 12), d'enzymes (protéase, amylase, galactosidase et cellulase) et de biomasse.....(BENAOUIDA, 2008).

2-5-2-Intérêt alimentaire

La poudre de lactosérum (en particulier le lactose) est surtout utilisée en alimentation animale, dans les laits infantiles, pour les fromages fondus, ajoutée aussi comme additif dans la préparation du bœuf, des volailles, des saucisses, des ragouts, et des soupes. Le lactosérum est aussi utilisé pour remplacer partiellement le lait dans la chocolaterie et la biscuiterie industrielle. La matière grasse du lactosérum (la « crème de sérum ») peut être utilisée pour la fabrication de fromage à pâte fondue ou de beurre de second choix. . (LUQUET ; BOUDIER, 1990). De plus, il constitue un ingrédient alimentaire à valeur ajoutée, utilisé pour enrichir les aliments ou les régimes pauvres en protéines ou encore utilisé dans une vaste gamme d'aliments et de boissons (LOWISFERT, 1994 ; DRYER *et al.*, 2001). En pathologie, il est utilisé pour l'alimentation des diabétiques, des malades diabétiques ou des sujets souffrant de mal nutrition, et en alimentation de soutien, pour les sportifs, les personnes âgées (DRYER, 2001).

2-5-3-Intérêt médical

Les différents types de protéine ou peptide se trouvant dans le lactosérum peuvent être utiles lorsqu' on les applique dans l'alimentation humaine. Ils ont un effet bénéfique sur la santé. Voir tableau N°02 comportant les protéines du lactosérum et leurs rôles (BERRY, 2000).

2-5-4- Intérêt biotechnologique

Le lactosérum par sa composition biochimique en particulier le lactose qui est principalement utilisé comme source de carbone et d'énergie pour les milieux de fermentation par plusieurs microorganismes assimilant le lactose. Il s'agit des levures de boulangerie telles que *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir* et *Kluyveromyces fragilis*, cette dernière est cultivée sur le lactosérum doux déprotéiné et enrichi par des facteurs de croissance dont le but est de produire de la biomasse (GANA et TOUZI, 2001). Le lactose est un disaccharide formé par le galactose et le glucose, sa conversion en éthanol (bioénergie) ne peut être effectuée que seulement par certaines levures appartenant aux genres *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* ou des bactéries du genre *Zymomonas mobilis* qui sont capables de fermenter directement le lactose en éthanol (TEBBOUCHE, 2012). Le lactosérum peut aussi être utilisé comme milieu de culture pour les moisissures. *Penicillium camemberti* a permis la production des protéases acides, neutres et alcalines. Ce sous-produit a été utilisé aussi comme milieu de base pour la production de la cellulase par la moisissure *Aspergillus niger*, mais déprotéiné (LEGHLIMI, 2004). Certaines espèces bactériennes comme *Lactobacillus bulgaricus* fermentent sur des milieux de cultures à base de lactosérum pour la production d'acides organiques et de différentes enzymes, comme de l'alpha-amylase par la moisissure *Rhizopus oryzae* (AIT KAKI, 2004).

3-Acide citrique

3-1-Généralités

L'acide citrique (acide 2-hydroxy-1,2, 3-propanetricarboxylique) est très diffus dans la nature. (MORETTI et FELIPPONE, 2000). Il est solide, blanc, incolore, inodore, d'une saveur excessivement aigre. (EUGENE, 1837). Il intervient dans le métabolisme de nombreux animaux et plantes .Il a été isolé sous forme cristalline à partir du jus de citron, en 1784, par SHEELE. En 1893, WETTNER découvrit quelques micromycètes capables de produire de l'acide citrique par fermentation de substrats contenant du sucre.

Les premiers équipements industriels remontent au début du siècle. Ils produisaient l'acide citrique par extraction à partir de citrons (qui en contiennent de 7 à 9 %) ; jusqu'en 1920, plus de 90 % de la production mondiale d'acide citrique était réalisée en Italie. À cette époque le

procédé industriel par fermentation, en utilisant *Aspergillus niger* comme microorganisme producteur et le sucre comme matière première commença à se développer en Europe et aux États-Unis. Au début des années 30, 80 % de la production mondiale d'acide citrique était réalisée par fermentation.

De nos jours, l'acide citrique est produit par des techniques de fermentation « en surface » et en « submergée » (MORETTI et FELIPPONE, 2000).

3-2-Bases biochimiques

L'acide citrique est un intermédiaire du cycle tricarboxylique, ce dernier peut s'accumuler selon les cas suivants :

En utilisant des souches mutantes (mutation de régulation).

En inhibant la libre circulation du cycle, en modifiant l'environnement et les conditions physico-chimique exemple : la T°, pH, O₂, composition du milieu (éliminer les ions métalliques qui interviennent comme cofacteur des enzymes du cycle).

3-3-Applications de l'acide citrique

L'acide citrique est utilisé en industrie alimentaire et pharmaceutique

3-3-1- Industrie alimentaire

- Il est utilisé comme additif (boisson, confiture, etc...) (MEYER *et al.*, 2004). Dans les boissons, il est utilisé en général comme rafraîchissante ou effervescente;
- Dans la fabrication des bonbons, dans la conservation des fruits, de poisson, des glaces, des friandises en général, les sauces, les jus et sirops de fruit...etc.
- Pendant les vendanges, comme acidifiant du moût;
- Dans les vins blancs, rosés et rouges, pour corriger l'acidité pendant les processus d'élaboration;
- Il peut être utilisé comme agent nettoyant de l'acier inoxydable en raison de son pouvoir séquestrant; (AGROVIN, 2012).

3-3-2-Industrie pharmaceutique

- L'acide citrique favorise indirectement la croissance des os en facilitant l'assimilation du calcium et en régulant la taille des cristaux de calcium dans les os;
- Il est utilisé comme composant de solutions d'irrigation vésicale;
- L'acide citrique et ses sels empêchent une coagulation sanguine du sang conservé;
- Il est utilisé comme solution de rinçage lors de traitements du canal radiculaire en médecine dentaire;
- Dans les poudres et comprimés effervescents, l'effet effervescent est obtenu grâce à l'acide citrique et le bicarbonate de sodium (MEYER, 2004).

4-Microorganisme producteur de citrate : *Aspergillus niger*

4-1-Historique

C'est Michelli, qui en 1729, donne le nom d'*Aspergillus* aux moisissures qu'il observe au microscope : il leur trouve une ressemblance très marquée avec le goupillon (« aspergillus » en latin) dont on se servait à l'église. En 1809, Link nomme pour la première un champignon *Aspergillus glaucus*. L'ayant trouvé dans un herbarium, il en décrit les premières formes sexuées et les nomme *Eurotium herbariorum*. En 1872, Frésenius nomme pour la première fois *Aspergillus fumigatus*, cité par (SIMON, 2011).

Les champignons du genre *Aspergillus* sont des moisissures à filaments hyalins, cloisonnés, et ils sont haploïdes. Le genre *Aspergillus* comprend aujourd'hui 185 espèces (BADILLET *et al.*, 1987). Les *Aspergillus* sont ubiquistes, et en région tempérée plus particulièrement à la fin de l'été, presque toutes les saisons. Ces champignons ont un métabolisme aérobie. Ils sont thermophiles (certaines espèces peuvent survivre à des températures proches de 70°C) et ne requièrent pas de nutriments spécifiques (QUATRESOUS, 2011).

L'histoire de ces microorganismes, est ensuite surtout définie au travers de la découverte des affections dont ils sont responsables chez l'homme et l'animal. En 1994, Pitt propose une nouvelle classification des *Aspergillus*, toujours en place à l'heure actuelle (SIMON, 2011).

4-2-Définition

Les champignons du genre *Aspergillus* sont des moisissures, autrement dit des champignons microscopiques filamenteux, dont l'élément structural est l'hyphe, plusieurs hyphes formant le mycélium ou thalle. Les champignons vivent en saprophytes (c'est-à-dire qui tirent leur nourriture de substances organiques en décomposition.) dans de très nombreux écosystèmes (SIMON, 2011).

4-3-Classification

Les *Aspergillus* sont les formes asexuées de plusieurs espèces d'Ascomycètes. La classification des *Aspergillus* est surtout basée sur leurs caractères morphologiques. (SAMSON, 1994 ; SAMSON et PITT, 1986). Leur position systématique est :

Règne	Fungi
Embranchement	Ascomycota
Sous-embranchement	Pezizomycotina
Classe	Eurotiomycetes
Sous-classe	Eurotiomycetidae
Ordre	Eurotiales
Famille	Trichocomaceae
Genre	<i>Aspergillus</i>
Espèce	<i>Aspergillus niger</i>

4-4-Morphologie

Le genre *Aspergillus* est caractérisé morphologiquement par la présence de filaments conidiophores (organe de reproduction asexuée) renflés à leur sommet par une vésicule partiellement couverte de phialides fixées ou non à des métules, le tout formant une entité spécifique appelée « tête aspergillaire » (figure 03) (CHERMETTE et BUSSIERA, 1993).

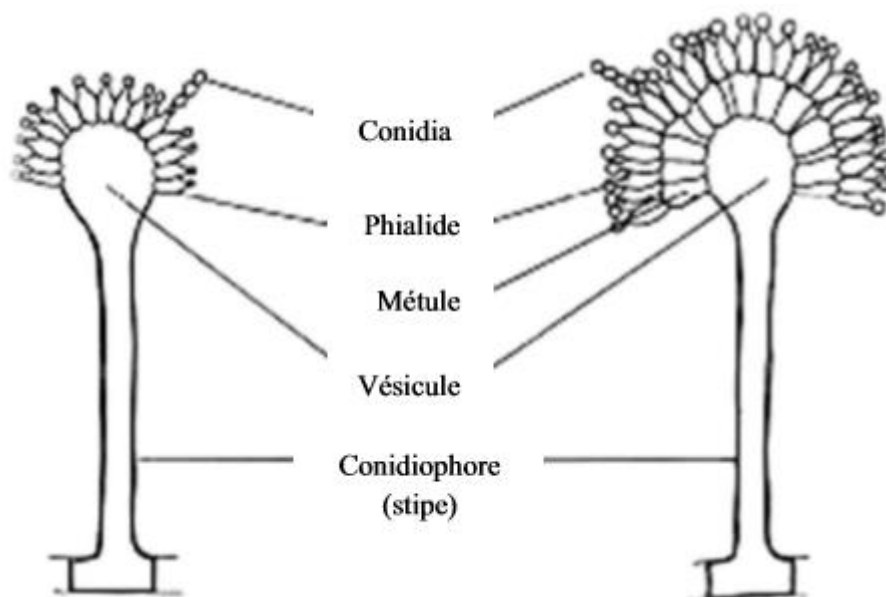


Figure N° 03 : Schéma du champignon genre « *Aspergillus* » (VAUBOURDOLLE, 2007)

4-5-Croissance et cycle fongique

Les conidies, spores asexuées unicellulaires et uninucléées, sont produites au niveau des organes de fructification par les phialides. Les phialides sont des cellules conidiogènes fertiles, en forme de bouteille et qui prennent naissance sur la vésicule terminale. Ce sont les conidies, 2 à 3 μm de diamètre et très volatiles, qui sont responsables de la dissémination du champignon dans l'environnement. La germination des spores se déroule en deux étapes. Dans des conditions adéquates, les conidies gonflent. Cette phase de croissance iso-diamétrale dure 3 à 4h à 37°C. Après cette phase de gonflement, la croissance devient polarisée. En effet, on observe l'apparition d'un tube germinatif qui va s'allonger progressivement et produire un filament ramifié qui formera la colonie typique de tous les champignons filamenteux (QUATRESOUS, 2011).

4-6-Habitat

A. niger est une espèce cosmopolite, très commune sur beaucoup de substrats organiques, dont les céréales et produits dérivés. *A. niger* aurait certaines propriétés antagonistes vis à vis d'*A. flavus*. Il pourrait empêcher la production d'aflatoxines par ce dernier, et même détoxifier certains produits contaminés (SAMSON, 2004).

4-7-Identification d'Aspergillus : par sa couleur

La couleur de colonies permet une orientation rapide dans l'identification d'espèces : gris-vert pour *A. fumigatus*, vert-jaune pour *A. flavus* et les espèces du groupe *A. glaucus*, vert foncé à chamois pour *A. nidulans*, brun canelle pour *A. terreus*, chamois clair, jaune et rose pour *A. versicolor*, jaune puis noir pour *A. niger* et blanche pour *A. candidus*. (TABUC, 2007).

5- La fermentation

La fermentation est un procédé largement utilisée au sein des industries pharmaceutiques et alimentaires. Il requiert la culture immergée d'un microorganisme identifié (essentiellement bactérien) en tant que monoculture dans des conditions atmosphériques définies. Ce régime d'incubation imposé est conçu pour favoriser le développement dans des conditions optimales. L'organisme développé peut être un métabolite bioactif ou une protéine recombinante. Au cours d'un cycle d'incubation, une source énergétique nutritive (par exemple le glucose) est ajoutée : la biomasse est le produit final augmentant jusqu'à épuisement de cette source (SUMANTHA *et al.*, 2006).

5-1-Généralité sur le fermenteur

Un bioréacteur, appelé également fermentateur ou propagateur (Figure 04), est une unité technologique dans laquelle on multiplie des microorganismes (levures, bactéries, champignons microscopiques, algues, cellules animales ou végétal). Ce sont des dispositifs formés d'un récipient renfermant un milieu liquide contenant les éléments nutritifs nécessaires à la croissance de la biomasse microbienne, croissance donnant parfois lieu à l'apparition de nouveaux composés biochimiques. (TOUMI, 2009).

5-2-Le mode de fonctionnement

Dans la pratique, les modes opératoires se caractérisent par les échanges liquides, c'est-à-dire par la façon dont les réacteurs biologiques sont alimentés en substrat. Nous distinguons trois modes principaux à savoir : le mode batch (discontinu), le mode semi continu (feed batch) et le mode continu (SABOUNDJI, 2013).

5-3-Les différentes utilisations de la fermentation

- production de microorganismes : l'objectif premier est la croissance de la masse cellulaire elle-même. C'est le cas des cultures visant à produire la levure boulangère.
- Production métabolique : dans ce cas, c'est la production des substances organiques résultantes de l'activité métaboliques qui est favorisée (alcools, antibiotiques...).
- Consommation du substrat : ici, c'est la dégradation du substrat qui est privilégiée
- On retrouvera dans cette catégorie les procédés de dépollution (traitement biologique des eaux usées) (KLEIN, 2006).

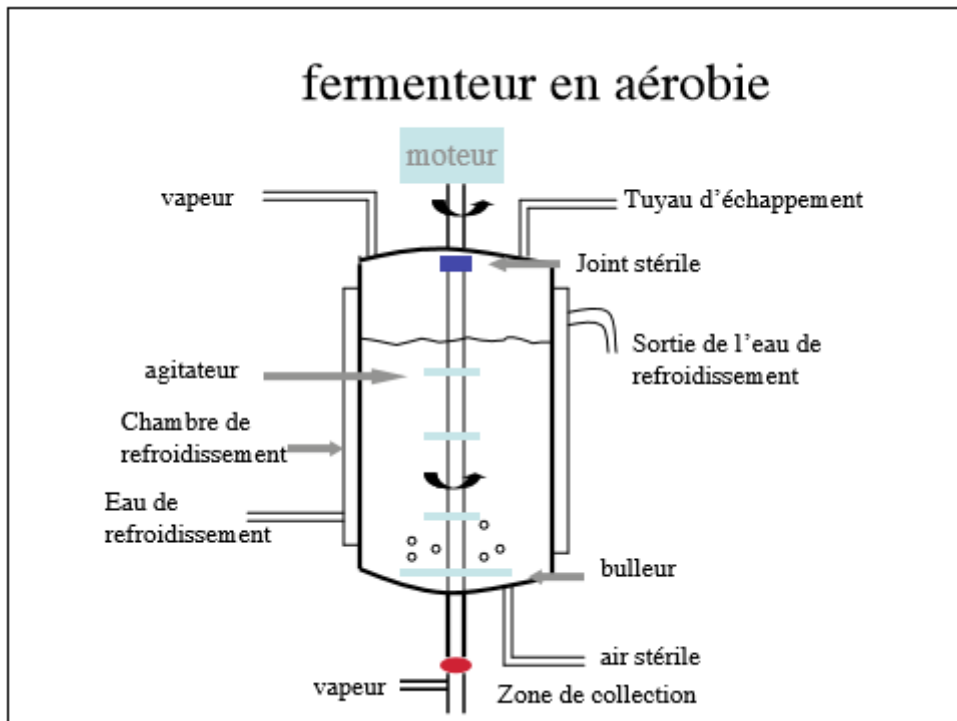


Figure N°04 : image d'un bioréacteur en aérobie.

II-Matériels et méthodes

Dans le cadre de notre étude sur la valorisation du lactosérum et la production de biomasse de la souche fongique, une étude expérimentale a été effectuée au niveau du laboratoire physico chimique et microbiologique de la laiterie et fromagerie de Bouadouaou, ainsi que dans le laboratoire phytopathologique de la faculté de science, structure des sciences agronomiques. Notre travail a consisté à un contrôle des propriétés physico chimiques du lactosérum à revivifier les souches fongiques, et à une fermentation. Pour mener à bien cette étude nous avons utilisé un matériel spécifique et une méthodologie adoptée en vue de l'obtention de résultats satisfaisants.

1-Matériels

1-1-Matériels biologique

1-1-Champignon utilisé

Le champignon utilisé a été isolé à partir d'un biotope (air) au niveau du laboratoire de la faculté de science de Boumerdes.

1-2-Matériels non biologique

1-2-1-Milieu de culture à base de lactosérum brut

Le milieu de culture utilisé est un déchet que nous avons récupéré au niveau de l'industrie Laitière et Fromagerie de Boudouaou (LFB), c'est le « lactosérum ». Ce dernier est composé de lactose (source de carbone et d'énergie pour les microorganismes.), vitamine, minéraux, protéine. Ce déchet va permettre la croissance et la production de métabolites par souche la fongique.

1-2-2-Milieu de culture à base de lactosérum déprotéiné

Même caractéristique et composition chimique exempté de protéine que le lactosérum brut. On a procédé à une déprotéinisation parce qu'il existe un biofilm qui empêche l'assimilation du substrat.

1-2-3 Milieu PDA

Nous avons utilisé deux types de milieux PDA, un liquide c'est-à-dire sans agar et l'autre PDA normal (gélose solide).

1-2-4-Appareillages, ustensiles verrerie, produits réactifs

Pour réaliser ce travail, plusieurs équipements dont la verrerie, les appareils, les produits et les réactifs ont été utilisés et présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Matériel non biologique

Appareillages	Ustensiles et verreries	Produits et réactifs
-PH mètre	-Béchers	1-Potato Dextrose Agar(PDA)
-Butyromètre	-Boites de pétri	-Pomme de terre
-Centrifugeuse	-Entonnoir	-Agar
-Incubateur	-Flacons	-Glucose
-Thermo lactodensimètre	-Couteau	-Eau distillée
-Agitateur à plaque chauffante	-Eprouvette	-HCL
-Autoclave	-Entonnoir	-acide sulfurique

-Spectrophotomètre	-Passoir	-Phénol
-Balance	-tube à essai	-Eau distillée
-Bec benzène	-erlenmeyer	-Enzyme inactif
-Agitateur	-Papier filtre	
	-Micropipette	
	-Anse de platine	

2-Méthodes

2-1-Analyse physico-chimiques et biochimique du lait et du lactosérum

Pour effectuer ces analyses nous avons utilisé les méthodes selon AFNOR (1986).

2-1-1-Détermination pour le pH

Principe : le principe de cette méthode est basé sur la mesure directe du PH à l'aide d'un PH mètre.

Mode opératoire : introduire les électrodes de PH mètre dans un bécher contenant le lait ou le lactosérum à analyser. La valeur du PH est lue directement sur l'échelle graduée du PH mètre.

2-1-2-Détermination de l'acidité

La détermination de cette acidité est un essai important pour apprécier la fraîcheur d'un lait ou l'efficacité des procédés de conservation.

Principe : titrage de lait ou de lactosérum par une solution de NaOH en présence de phénolphtaléine.

Mode opératoire : dans un bécher, introduire 10ml de lactosérum ou le lait, ajouter 3 gouttes de phénolphthaléine, mélanger puis titrer avec la solution alcaline de NaOH jusqu' à coloration rose pâle pendant 30seconde. La lecture se fait directement. L'acidité du lactosérum ou du lait est égale au volume de la solution titrée.

2-1-3-Détermination de la teneur en matière grasse

Principe : la teneur en matière grasse est déterminée par la méthode d'acidobutyrométrie qui est basée sur la dissolution de la matière grasse excepté l'acide sulfurique sous l'influence de la force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une petite quantité d'alcool iso amylique. La matière grasse se sépare.

Mode opératoire : dans un butyromètre de gerber, introduire 10ml d'acide sulfurique(H_2SO_4) concentré, 1ml d'alcool iso amylique et 1ml de lait ou de lactosérum. Le butyromètre est maintenu dans une position verticale et secoué horizontalement afin d'éviter une attaque trop brutale du lactosérum ou du lait par l'acide. Le mélange est homogénéisé par retournement successifs de vitesse de 1100 trs/min pendant 2min.

La lecture se fait aussitôt à une demi-vision près de l'échelle graduée à la base de mécanisme de matière grasse et au plan de séparation inférieure de la colonne grasse.

2-1-4-Détermination de la matière sèche totale

Principe : la détermination de l'extrait sec total est reposée sur la dessiccation par l'évaporation d'une quantité de lait ou de lactosérum.

Cette expérience est réalisée à l'aide d'un dessiccateur, ce dernier est équipé d'une balance et une résistance.

Mode opératoire : on met à l'intérieur du dessiccateur une prise d'essai de 1,2 à 1,5g de produit, on règle la température de séchage à 95°C. On laisse le lactosérum ou le lait pendant quelque minute. Le résultat est inscrit sur l'écran de l'appareil, ceci indique le pourcentage de l'extrait sec total.

2-1-5-Détermination de la densité

Principe : la densité est définie comme étant le quotient d'un certain volume de lait sur le même volume d'eaux. Ce rapport doit se faire à température et à pression constante.

Mode opératoire : le lait est versé doucement dans une éprouvette de 250 ml, le faisant couler le long de la paroi pour éviter la formation de la mousse.

Remplir l'éprouvette jusqu' à son extrémité supérieur de manière que le lait déborde légèrement puis on plonge le lactodensimètre.

La lecture se fait directement sur l'échelle graduée du lactodensimètre en suivant la loi suivant :

- Si T supérieur à 20°C _ alors $D = D_i + 0,2(T - 20)$

- Si T inférieur à 20°C _ alors $D = D_i - 0,2(T - 20)$

2-1-6-Analyse biochimique

2-1-6-1-Recherche des résidus d'antibiotiques

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait, par la suite de mammites par exemple, peut parfois constituer un danger pour le consommateur, mais aussi sur le plan industriel car ils peuvent perturber les processus de fermentation et maturation des produits laitiers de large consommation tels que : le fromage, le yaourt et autres laits. Il est donc important de les détecter.

Mode opératoire : avec une pipette jetable de 1ml on prend le lait puis on le verse dans un petit flacon contenant des enzymes inactives, placer le flacon dans un incubateur pendant 3min. Puis mettre la bandelette et laisser agir encore pendant 3min.

La lecture se fait directement avec changement de couleur des bandes sur la bandelette.

3-Récupération et transport jusqu'au laboratoire du lactosérum

Après repos du caillé dans le sérum, ce dernier qui surnage est soutiré puis refroidi légèrement. Le transport du petit-lait se fait en bidon de 1,5 l jusqu'au laboratoire où il sera directement congelé jusqu'à son utilisation ultérieure.

4-Déprotéinisation du lactosérum

Il existe plusieurs méthodes de déprotéiner le lactosérum, parmi ces méthodes nous avons utilisé celle qui nous paraissait la plus simple et rapide elle est comme suit :

Avant d'être utilisé, le lactosérum subit un chauffage à 100°C en ramenant son pH à 4,6 par addition de l'acide chlorhydrique (HCl). Les protéines du lactosérum précipitent par thermocoagulation. Après trois chauffages successifs à 100°C, pendant 30 minutes, une centrifugation à 3500 trs / mn est effectuée. On récupère le surnageant que l'on filtre à l'aide du papier filtre dans un erlenmeyer.

5-Préparation du milieu P.D.A

La première étape de préparation pour un litre (1 L) du milieu P.D.A (Potato-Dextrose-Agar) pour la culture d'*Aspergillus niger*, consiste à nettoyer puis à couper en petits cubes 200 g de pomme de terre. Ceux-ci sont mis dans 200 ml d'eau distillée et portés à l'ébullition pendant vingt minutes (20mn). Après cuisson, on filtre puis on récupère le jus. 20 g de l'agar dans le jus de pomme de terre puis on ajoute encore 20 g de glucose (dextrose). On ajuste le sont dissoutes dans un volume d'un 1 litre l'eau distillée. Et enfin le milieu est stérilisé dans l'autoclave à 110°C pendant 20 minutes ou à 104°C pendant 30minutes.

6-Isolement de la souche fongique

Nous connaissons que la plupart des microorganismes sont ubiquitaire c'est-à-dire présent dans les milieux naturels air, sol, eau et matières premières alimentaires peuvent servir de matériel de départ pour l'isolement des moisissures (KARAM, 2000 ; JULIEN, 2002). Pour avoir un échantillon du champignon à étudier, nous avons coulé du milieu PDA dans plusieurs boîtes pétri. Après solidification du milieu PDA, les boîtes ouvertes sont déposées à différentes endroit du laboratoire à l'air libre pendant 20 minutes, puis incubées à 30°C durant trois jours.

Purification de la souche fongique

La souche fongique estensemencée stérilement sur plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé P.D.A. Au bout de quelques jours d'incubation à 30°C, les spores apparaissent à la surface du tapis mycélien.

Afin d'assurer la pureté de la souche fongique, nous avons continué à repiquer sur milieu PDA à partir des boîtes déjàensemencées pendant quinze jours.

7-Conduite de la fermentation

7-1-Préparation d'inoculum

La préculture est conduite dans une fiole d'erlenmeyer d'une capacité de 500 ml, contenant 50 ml de milieu de culture spécifique aux champignons. Ce milieu est ensemencé aseptiquement, avec une anse de culture jeune du champignon à étudier obtenue sur milieu PDA. La préculture est incubée à 30°C sous agitation pendant 24 heures. Cette préculture servira d'inoculum pour la fermentation en discontinue (batch).

7-2-Conduite de la fermentation discontinue en minifermuteur

Après vérification de la pureté de la préculture, par une observation au microscope optique, on introduit stérilement 10 ml de la préculture dans 100 ml de milieu de culture frais, refroidi et stérilisé à l'autoclave. L'inoculation du minifermuteur se fait par simple transfert du volume de la préculture dans du milieu frais.

7-3-Suivi de la fermentation

Des prélèvements d'une prise d'essai de 10 ml sont effectués tous les jours. Ces derniers serviront à l'étude de la cinétique de production d'acide citrique, contrôlée par la détermination de la teneur en acide citrique, la teneur en sucres résiduels, l'évolution du pH, et le dosage de la biomasse (masse mycélienne). En parallèle, une observation microscopique permet de contrôler le développement mycélien ainsi que toute contamination éventuelle.

7-3-1-Détermination de la biomasse

La méthode consiste à faire dessécher un échantillon de 10 ml de lactosérum. Après centrifugation de la culture à 3200 trs / mn pendant 15 minutes. Le surnageant servira au dosage des sucres résiduels et après lavage à l'eau distillé, le culot est introduit dans une capsule préalablement séchée et tarée. Les échantillons sont introduits dans une étuve à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant pendant 24 heures. Cette opération est réalisée en plusieurs séries. Le calcul est réalisé par la formule suivante (AFNOR, 1986) :

$$MS = ((M2 - M1) / (V)) \times 100$$

M1 : masse en gramme de la capsule vide.

M2 : masse en gramme de la capsule et du résidu.

V : volume de l'échantillon en ml.

7-3-2-Dosage des sucres

• Principe

La détermination de la concentration des sucres est réalisée par la méthode de Dubois et al., (1956) dont le principe repose sur la réaction suivante : L'acide sulfurique concentré provoque à chaud le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la formation d'un hydroxy-méthylfurfural (HMF) dans le cas d'hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune orangé). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la coloration des oses présents dans l'échantillon à doser.

• Protocole : dosage des échantillons à analyser

Ce dosage permet la détermination des concentrations de glucose et du lactose dans le lactosérum brut, PDA liquide et lactosérum déprotéiné. Pour cela à 0, 5 ml de l'échantillon dilué, on ajoute 0,5 ml du phénol à 5% puis 2 ml d'acide sulfurique. Après agitation, on laisse le mélange réactionnel reposer 10 min à température ambiante, puis on l'incube au bain Marie à 30°C pendant 30 min. Après la lecture des absorbances au spectrophotomètre (Lambda

EZ150) à 488 nm, les valeurs obtenues sont traduites en concentrations de glucose et lactose par référence à des courbes d'étalonnage préalablement établies.

Pour déterminer la concentration des sucres réducteurs dans nos échantillons, nous avons établi en premier lieu une courbe d'étalon comme le montre le tableau suivant :

Tableau 4 : établissement du courbe étalon en réalisant une série de dilutions à partir d'une solution mère de glucose à 1 g/l.

Réactif/ tube	Tube témoin négative	Tube1	Tube2	Tube3	Tube4	Tube5
Glucose (1g/l)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Eau distillé (ml)	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
Phénol (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Acide Sulfurique (ml)	2	2	2	2	2	2

-Mettre au bain marie bouillant pendant 15min.

-Refroidir immédiatement à l'eau glacée (arrêt de la réaction).

-Mettre à l'obscurité pendant 30min

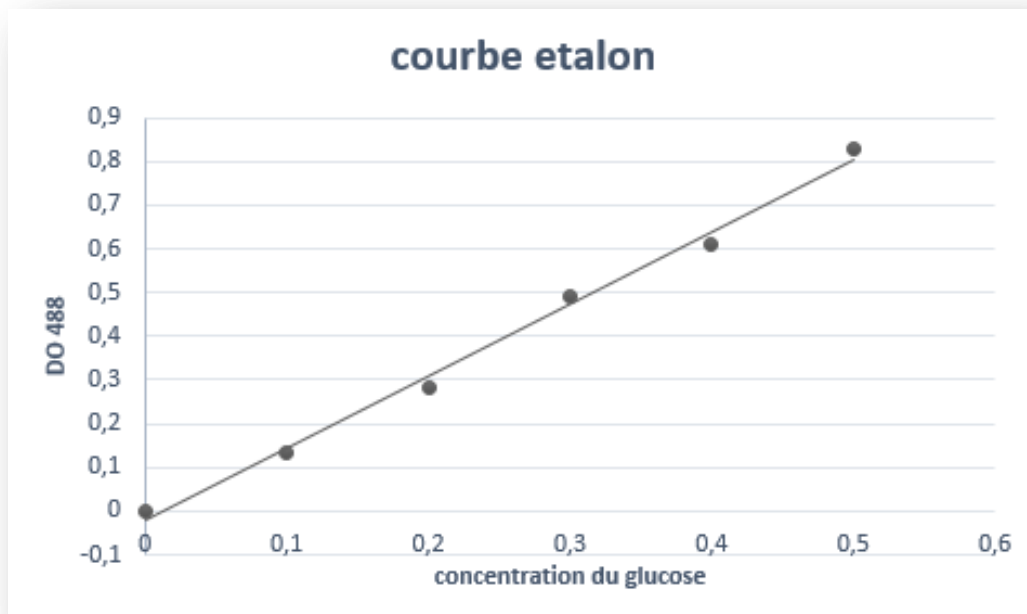


Figure 5 : Courbe étalon utilisée pour le dosage du glucose.

7-3-3- Méthode de dosage de l'acide citrique

L'acide citrique est dosé par la méthode de MARIER et BOULET(1958). Le principe consiste en la réaction de coloration qui a lieu sous l'action combinée de la pyridine et de l'anhydride acétique à 32°C en présence d'acide citrique. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en citrate. Une courbe étalon préalablement établie permet de déterminer la concentration en acide citrique.

La densité optique est lue au spectrophotomètre UV à une longueur d'onde de 420 nm.

Un courbe étalon est établi préalablement (ZERGAT, 1996).

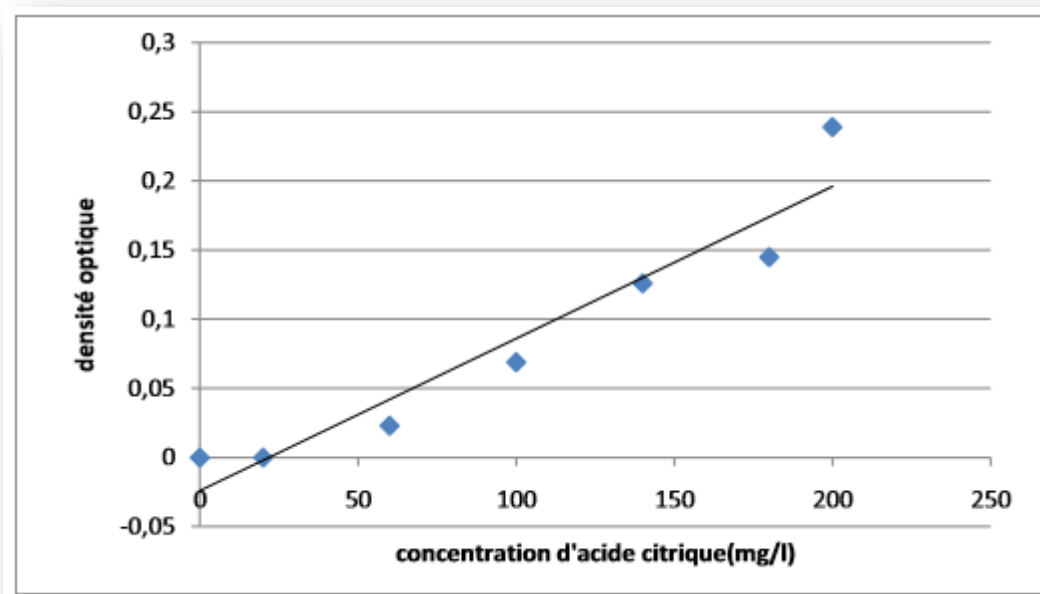


Figure 6 : Courbe étalon utilisée pour le dosage de l'acide citrique

• Mode opératoire

Dans un bain de glace, on introduit un tube à essai contenant 1ml de milieu de fermentation filtré auquel on ajoute 1.3ml de pyridine.

Le mélange agité vivement au vortex, reçoit ensuite 5,7ml de l'anhydride acétique. Après une deuxième agitation de 30 secondes, le tube est transféré dans un bain marie à 32°C.

Le développement de la coloration jaune est complet au bout de 30mn. Une droite étalon est établie préalablement (fig.6) avec des solution d'acide citrique connues variant de 20mg/l à 200mg/l.

Tableau 5 : les valeurs d'étalonnage d'acide citrique

Tubes	Solution Mère (mg/l)	Acide Citrique (mg/l)	H2O (ml)	Pyridine (ml)	Anhydride Acétique (ml)
1	0,0	0	1	1,3	5,7
2	0,1	20	0,9	1,3	5,7
3	0,3	60	0,7	1,3	5,7
4	0,5	100	0,5	1,3	5,7
5	0,7	140	0,3	1,3	5,7
6	0,9	180	0,1	1,3	5,7
7	1	200	0	1,3	5,7

8-Récupération de l'acide citrique

L'extraction de l'acide citrique à partir des jus fermentés s'effectue selon le protocole suivant : séparation du mycélium par filtration, précipitation de l'acide citrique par la chaux à l'état de citrate de calcium puis séparation du précipité, traitement H_2SO_4 et séparation du précipité de sulfate de calcium, décoloration au charbon actif et, enfin, cristallisation (Fig.7) (RACHID *et al.*, 2012).

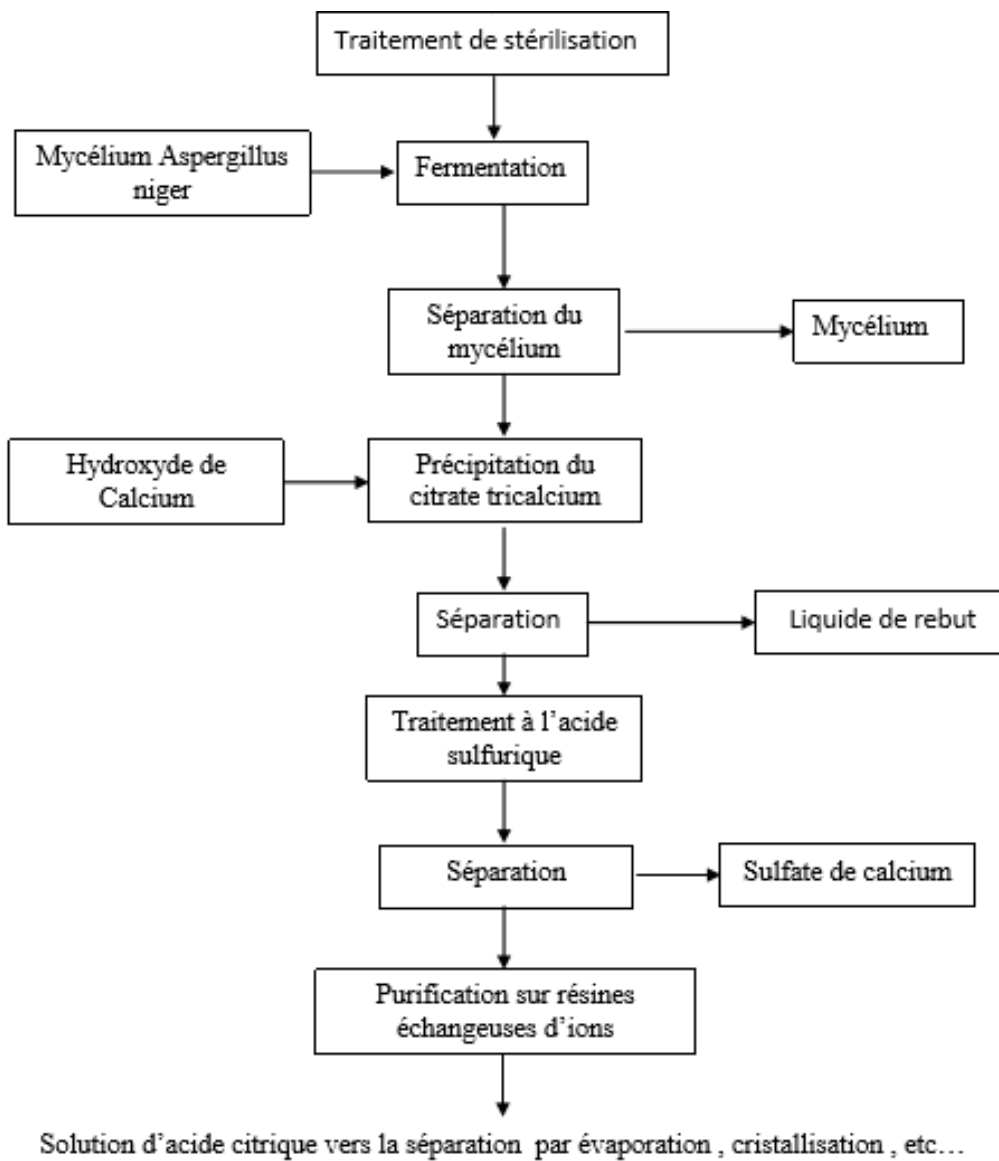


Figure 7 : Récupération de l'acide citrique selon (RACHID, *et al.*, 2012).

III-Résultats et discussion

1-Analyses physico-chimiques

Les résultats relatifs aux analyses physico-chimiques du lactosérum brut sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°6 : Résultats des analyses physico-chimiques du lactosérum

	Résultats	Normes selon AFNOR
Acidité	11	Selon la méthode de coagulation utilisée
PH	6.51	4,5 à 6
Matière grasse	2.5	1 à 2
Densité	Proche de celle de l'eau	Proche de l'eau
Antibiotique	Absence	-

A partir de ces résultats nous pouvons constater que, la valeur du pH est conforme à celle de la norme AFNOR qui est de 4.5 à 6. SABOUNDJI (2012) a noté une valeur du pH inférieur qui est de 4,89.

Le taux de matière grasse est élevé puisque nous avons utilisé le 1^{er} lactosérum.


En ce qui concerne la densité elle est proche de celle de l'eau.

Pour l'antibiotique, l'analyse se fait dès la réception du lait de vache au niveau de la LFB.

2-Identification macroscopique de la souche fongique

Après ensemencement du champignon sur le milieu PDA, incubé à 30°C pendant 3 jours, et après plusieurs repiquages pour purifier la souche fongique. On observe une souche pure à caractéristiques représentées dans le tableau suivant.

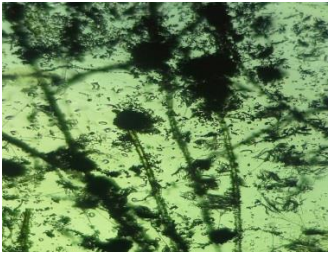
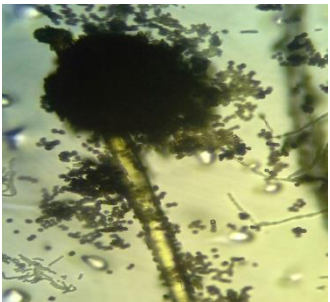
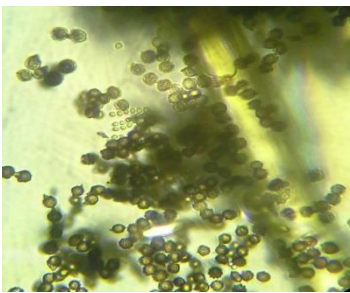
Tableau n°7 : caractéristiques macroscopique de la souche fongique

Image	Aspect des colonies	Reliefs	Taille	couleur
	les colonies apparaissent sous forme laineuses et granuleuses	les colonies présentent un aspect plissé et mou	la taille est comprise entre 1.5-2cm et peut être étendue à 4cm.	les colonies apparaissent blanches puis jaune puis noirâtre, et verso : jaune pâle

3-Identification microscopique

L'identification se fait par un examen microscopique d'une colonie fongique après réalisation sur lame et lamelle puis observé au grossissement G x 10, 40, 100 (tableau n°10)

Tableau n°8 : Aspect microscopique du champignon

Image	Thalle	Spores
 <p>G x 10</p>  <p>G x 40</p>  <p>G x 100</p>	<p>La souche possède un appareil végétatif constitué de filaments (les hyphes) qui ensemble, forment le thalle filamenteux ou le mycélium. Le thalle est de forme cloisonné (septé)</p>	<p>sont le produit de reproduction asexuée, les spores (les conidies) sont exogènes et sont formés par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisée (cellule conidiogène).</p>

Tous ces caractéristiques nous permettent d'affirmer que le champignon identifié est *Aspergillus niger* (Bennett, 1985).

C'est un champignon imparfait de la classe Eurotiomycetes.

Aspergillus niger possède des amérospores (microspore) qui sont unicellulaires et de petite taille et cet aspect est distingué selon la forme et les modalités de septation (DIGUTA, 2010).

4-Cinétique de la fermentation

La cinétique de fermentation est une étape très importante parce qu'elle permet d'étudier la vitesse de production de cellules microbiennes ou des produits métabolisés par celle-ci dans le temps, en fonction du milieu environnant (ZERGAT, 1996).

4-1-Evolution de la croissance mycélienne

Les résultats de l'évolution de la croissance mycélienne sur les trois milieux utilisés sont portés sur la figure n°8.

Sur les trois milieux utilisés à savoir le milieu PDA, le lactosérum déprotéiné et le milieu lactosérum brut, les courbes d'évolution de la croissance mycélienne présentent presque la même allure. Le poids sec évolue progressivement pour atteindre son maximum à la fin de la fermentation, soit 11.2 g/l pour le lactosérum, 19.42 g/l pour le lactosérum déprotéiné et 28,23 g/l pour le milieu PDA

La croissance mycélienne se déroule en 5 phases (Fig.8) à savoir, la phase de latence est très courte, car le milieu de préculture est le même que celui de la fermentation.

La seconde étape qui dure un jour sur le milieu PDA et deux jours sur les autres milieux. On peut dire que c'est la phase d'accélération qui est caractérisée par l'augmentation de la vitesse spécifique de la croissance.

Au cours de la troisième phase les vitesses de croissance du mycélium atteignent leur maximum soit 7,20 g/l/j pour le milieu PDA ; 4,8 g/l/j pour lactosérum déprotéiné et 2,2 g/l/j pour lactosérum brut. Il s'agit de la phase exponentielle, qui est la phase physiologique par excellence.

La quatrième phase est caractérisée par la chute des vitesses de croissance ce qui nous laisse penser qu'on est dans la phase de ralentissement ou on assiste à une vitesse de croissance en régression.

Et en fin la cinquième phase qui est sans doute la phase stationnaire, les champignons ne se divisent plus, la vitesse de croissance est constante ce qui annonce la fin de fermentation ou phase de déclin.

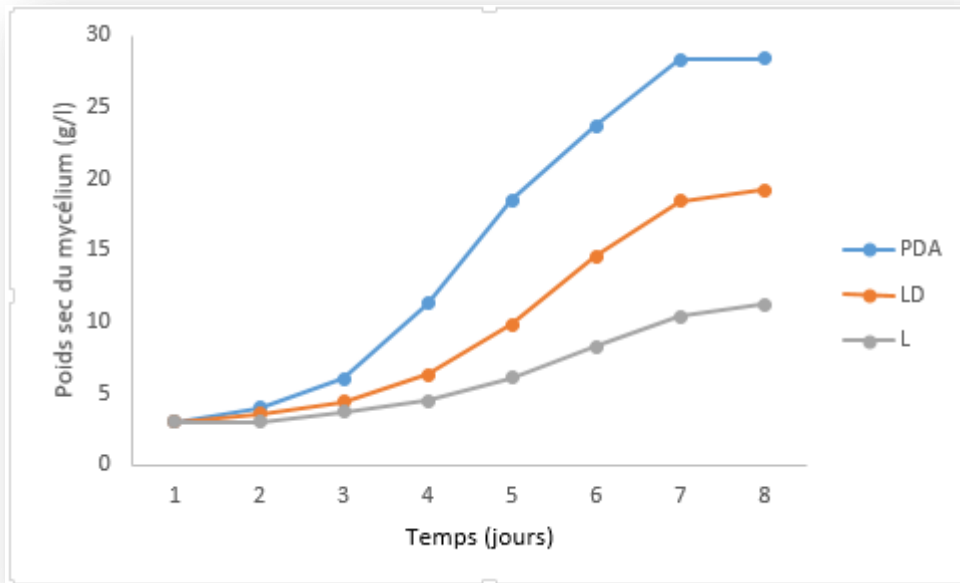


Figure 8 : Evolution du poids sec de mycélium au cours de la fermentation

4-2-Evolution des sucres

Généralement, la concentration en sucres dans les trois milieux diminue progressivement au cours de la fermentation (fig.9). Cependant, cette diminution est plus rapide dans le milieu PDA que dans les autres milieux. Aussi la concentration en sucre diminue plus rapidement dans le milieu lactosérum déprotéiné que le milieu lactosérum brut.

En effet nous constatons que le champignon a consommé beaucoup de lactose et de glucose qui sont les principales sources de carbone. Ceci peut être expliqué par la dégradation de ces substrats par l'enzyme beta -galactosidase et glucosidase sécrété par *Aspergillus niger*.

Les vitesses d'assimilation des sucres atteignent leur maximum qui est de $264 \cdot 10^{-3} \text{g/l}$, $33 \cdot 10^{-3} \text{g/l}$ et $297 \cdot 10^{-4} \text{g/l}$ respectivement pour milieu PDA, milieu lactosérum déprotéiné, et milieu lactosérum brut.

Les taux des sucres résiduels à la fin de la fermentation sont de 0 pour le milieu PDA, 0.01 pour le milieu lactosérum déprotéiné et 0.06 pour le milieu lactosérum brut.

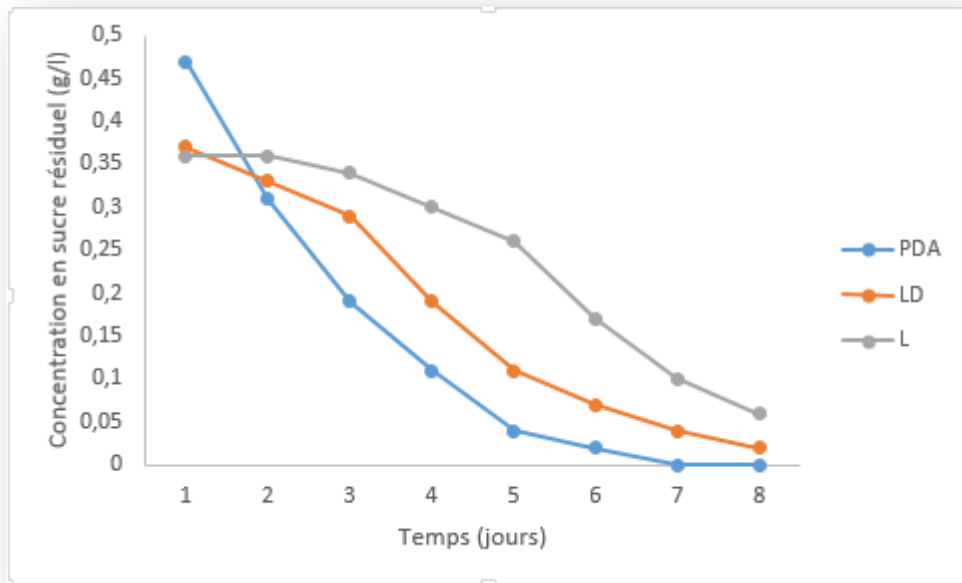


Figure 9 : Evolution de l'assimilation des sucres au cours de la fermentation

4-3-Evolution du pH

Les valeurs du pH enregistrées montrent que le milieu PDA est plus acide que le milieu lactosérum déprotéiné à la fin de la fermentation (fig.10). Ceci peut se traduire par une production d'acide citrique plus importante dans le milieu PDA que le milieu lactosérum déprotéiné. Il continue de chuter jusqu' au 8^{ème} jour pour atteindre 2,4 pour milieu PDA et 2,7 pour le milieu lactosérum déprotéiné. La stabilisation du pH autour de 2, a été déjà signalée par HOSSAIN (1984) in ZERGAT (1996). Tandis que pour le milieu lactosérum brut le pH est autour 4,5 à 4,1, cette faible variation du pH nous laisse penser que le milieu lactosérum brut manque de production de citrate.

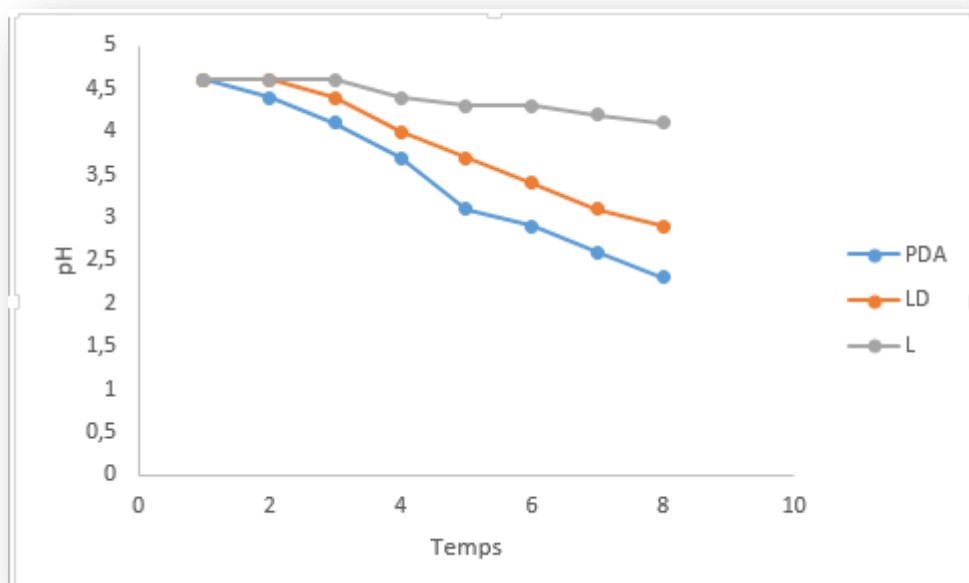


Figure 10 : Evolution du pH au cours de la fermentation.

4-4-Évolution de l'acide citrique

La production de l'acide citrique est plus importante dans le MPDA que le MLD. Les résultats obtenus lors de la présente étude (fig.11), montrent que la production de l'acide citrique commence vers le 4^{ème} et 5^{ème} jour de la fermentation pour les deux milieux, milieux PDA et milieu lactosérum déprotéiné.

La plus forte production est enregistrée dans le milieu PDA soit 36.4mg/l, tandis que pour le milieu lactosérum déprotéiné elle est de 22.7mg/l.

En ce qui concerne le milieu lactosérum brut nous avons constaté que le pH du milieu reste autour de 4 jusqu'à la fin de la fermentation. Ce qui a empêché la production de l'acide citrique qui nécessite un pH inférieur à 3,5

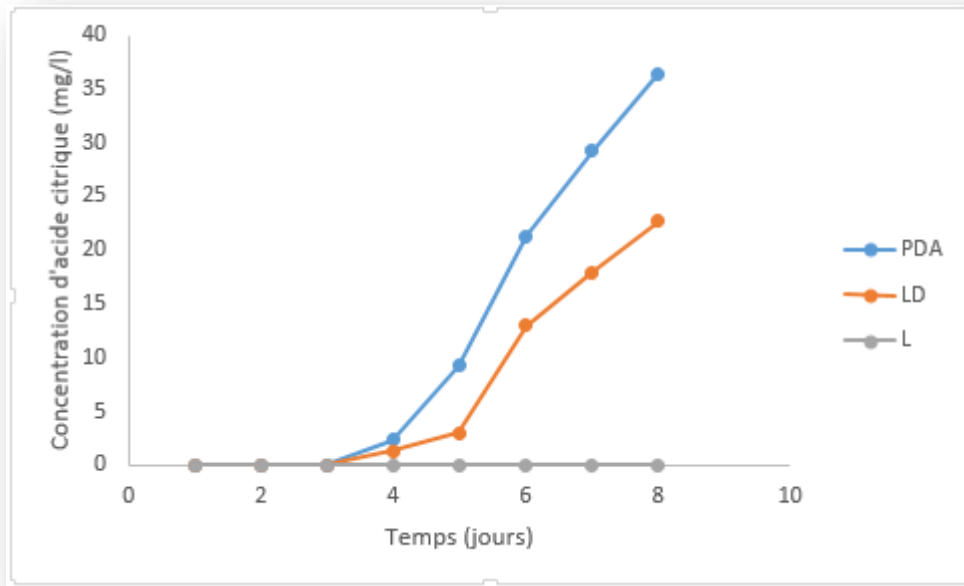


Figure 11 : Evolution de production de l'acide citrique au cours de la fermentation

5-Les vitesses spécifiques

Les résultats des différentes vitesses de l'évolution du poids sec de mycélium, de l'évolution de l'assimilation des sucres, et de l'évolution de production de l'acide citrique au cours de la fermentation sont représentés dans les tableaux n°9, 10 et 11.

Tableau 9 : Evolution des vitesses de la croissance mycélienne au cours de la fermentation.

Temps (jour)	MPDA	MLD	ML
1	-	-	-
2	0.33	0,198	-
3	0.66	0,264	0,231
4	1.749	0.627	0,264
5	2.376	1.155	0.528
6	1.716	1.584	0.693
7	1.518	1.254	0.66
8	0,033	0,264	0,231

Vitesse de croissance mycélienne = $(dx/dt)(1/x)$ (g/l.j)

$$dx/dt = (x-x_0)/(t-t_0) \times (1/x)$$

X= poids sec du mycélium au t

X0 = poids sec du mycélium au t₀

Tableau 10 : Evolution des vitesses de consommation des sucres au cours de la fermentation.

Temps (jour)	MPDA	MLD	ML
1	-	-	-
2	0,052	0,013	-
3	0,039	0,0132	0,0066
4	0,264	0,033	0,0132
5	0,231	0,0264	0,0132
6	0,02	0,0132	0,0297
7	0,006	0,0099	0,0231
8	0	0,0033	0,0132

Vitesse de consommation du substrat = $(DS/Dt)(1/x)$ (g/l.j)

$$DS/DT = (S-S_0)/(t-t_0) \times (1/x)$$

S : concentration de sucre présent au temps t

S₀ : concentration de sucre présent au temps t₀

Tableau 11 : Evolution des vitesses de production de l'acide citrique au cours de la fermentation.

Temps (jour)	MPDA	MLD	ML
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	0.759	0.429	-
5	2.280	0.891	-
6	3.989	2.739	-
7	2.607	2.046	-
8	2.343	1.584	-

Vitesse de production de l'acide citrique = (DP/Dt)(1/x) (g/l.j)

$DP/Dt = (P - P_0) / (t - t_0) \times (1/x)$

P : concentration en acide citrique au temps t

P₀ : concentration en acide citrique au temps t₀

L'analyse des différents paramètres mesurés et calculés montre que la production de l'acide citrique démarre au cours de la phase exponentielle. Le pH chute brusquement traduisant ainsi l'accumulation de citrate dans le milieu. Cette phase est bien apparente en milieu PDA et lactosérum déprotéiné. Selon RIVERE (1975) in ZERGAT (1996); il Ya une synthèse de citrate quand le milieu est déséquilibré, il y a alors déclenchement du métabolisme secondaire d'*Aspergillus niger* induit par la concentration élevée en sucres dans le milieu. La production de citrate par *Aspergillus niger* se fait en 02 grandes phases consécutives:

- une première phase caractérisée généralement par une forte croissance mycélienne ou la biosynthèse du citrate est faible avec une importante consommation en sucres.
- Puis une deuxième phase ou le mycélium produit du citrate mais sa croissance est très réduite. Cette phase est marquée d'une diminution progressive du pH.

Dans le cas de cette étude, ces deux phases sont plus distinctes avec le milieu PDA puis le milieu lactosérum déprotéiné. Nos observations sont en accord avec celles rapportées par de nombreux auteurs (BRIKI, ZITOUNI *et al.*, 2013).

La production enregistrée lors de la présente étude est faible en comparaison avec celles rapportées par la bibliographie, cela pourrait être certainement dû aux contraintes liées à l'expérimentation. Néanmoins quel que soit les résultats obtenus, le milieu lactosérum déprotéiné semble plus intéressant que le milieu lactosérum brut puisqu'il a permis une meilleure production de citrate.

Pour les vitesses de consommation de sucres il y a une diminution marquant une phase, appelée phase de perturbation de la croissance, selon ZERGAT (1996), elle serait due à la perturbation du métabolisme primaire d'*Aspergillus niger* qui résulterait de l'épuisement du milieu.

Les quantités de biomasses obtenus soit 19.42 g/l pour le lactosérum déprotéiné et 28,23 g/l pour le milieu PDA dépassent les 12g/l, marge au-dessus de laquelle sont atteints les meilleurs taux d'acide citrique (BERRY *et al.* 1977 in ZERGA, 1996).

SABOUNDJI (2013) a eu une évolution de la biomasse allant jusqu'à 37.33g/l au cours de la fermentation de *Lecanicillium lecanii* sur le lactosérum. Quant à BRIKI K. et ZITOUNI N. (2013) ils ont eu des quantités de biomasses d'*Aspergillus niger* qui sont égales à 19.15g/l dans le milieu de dattes non enrichi et 37.33g/l milieu de datte enrichi.

Au cours de la culture de *Kluveromyces fragilis* sur le lactosérum, GANA et TOUZI, 2001) ont trouvé une biomasse de 14.5g/l.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de cette recherche nous pouvons conclure que, ce travail avait pour objectif de valoriser le lactosérum comme milieu de culture. Pour cela nous avons utilisés deux types de lactosérum pour la production de l'acide citrique par *Aspergillus niger*.

Nous avons commencé par la détermination de la composition physico- chimique et biochimique de la matière première (lait) et le sous-produit (lactosérum) qui est issu lors de la transformation du lait par les industries fromagère (milieu de fermentation).

La fermentation est menée sous agitation de 120 avec une aération continue et elle a duré 08 jours.

La meilleure production d'acide citrique a été obtenue sans doute dans le milieu témoin avec une valeur égale à 36,4g/l qui correspond à un taux de croissance mycélienne de 28,23g/l et un pH qui tend vers 2 à la fin de la fermentation.

La seconde meilleure production d'acide citrique a été enregistrée dans le milieu lactosérum déprotéiné avec une valeur égale à 22,7g/l qui correspond à un taux de croissance mycélienne de 19,42g/l et un pH qui tend vers 2.5 à la fin de fermentation.

En ce qui concerne le milieu lactosérum brut nous n'avons pas pu doser l'acide citrique, car pour qu'il ait production il faut que le ph du milieu soit inférieur à 3, 5.

A l'échelle industrielle, le meilleur milieu de culture est celui qui permet à une souche de produire le maximum de citrate, avec un faible coût et dans un temps court.

Notre étude a montré que le milieu lactosérum déprotéiné est le meilleur milieu parce qu'il permet à l'*Aspergillus niger* de synthétiser une quantité d'acide citrique très importante. Le lactosérum est un déchet, il ne coûte rien donc plus économique que le milieu PDA. Sa valorisation constitue un moyen très efficace pour lutter contre la pollution de l'environnement.

Pour améliorer ces résultats nous préconisons l'utilisation de lactosérum déprotéiné enrichi surtout en glucose. Nous avons pu constater que l'espèce *Aspergillus niger* pousse mieux et produit une quantité importante d'acide citrique lorsqu'il est fermenté dans un milieu riche en glucose (milieu PDA). Aussi s'il serait possible de déminéraliser le milieu lactosérum déprotéiné.

On pourra aussi produire des métabolites secondaires tels que des arômes, des antibiotiques, toxines et pourquoi pas des enzymes.

Références bibliographiques

- Aït Kaki A., 2004.** Isolement de la moisissure *Rhizopus oryzae* et optimisation d'un milieu à base de lactosérum pour la production de l -amylase. Thèse de Magistère. Université Mentouri Constantine.
- Alais C., 1981.** La valorisation du lactosérum " les bases et les problèmes". Technique laitière. N° 952, p : 7-10.
- Alais C., 2003.** Biochimie alimentaire ,5 ED. Dunod, Paris, 532p.
- Afnor, 1986.** Contrôle de qualité des produits laitiers. Analyses physicochimiques par SONIA AMARIGLIO, troisièmes ED.
- AGROVIN., 2012.** ACIDE CITRIQUE Acidifiant et antioxydant de moûts et de vins. Rev. AGROVIN 10, 1.
- BENNETT J.W, 1958 .**Taxonomy of fungi and biology of the aspergilli.app.
- Berry D.,2000.** Ingredients foods. Dairy Foods. 101 (4) : 32p.
- Benaouida K., 2008.** Etude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Mém. Microb. Appliquée, Univ. Mentouri Constantine. 104p.
- Boiron.,1996.**Organisation et biologie des champignons. Nathan.Paris : 19-79p.
- Bott 1999.,**Moisissures utiles et nuisibles.Importance industrielle. ED. Masson.Paris :12-426p.
- **BRIKI K. ZITOUNI N et al.,2013.** Production d'acide citrique par *Aspergillus niger* cultivée sur milieu à base de dattes "variété Ghars".Mémoire.Microb.appliquée.U.K.M Ouargla.61p.
- Carolle L.et Vignola. 2002.** science et technologie du lait : transformation du lait presses inter polytechnique. 600p.
- Capotorti G., Digianvincenzo P., Cesti P., Bernardi A., Guglielmetti G.,2004.** Pyrene and benzo[a]pyrene metabolism by an *Aspergillus terreus* strain isolated from a polycyclic aromatic hydrocarbons polluted soil. Biodegr., 15; 79–85p.
- Chermette, R., and J. Bussieras.,1993.** Fascicule V: Mycologie vétérinaire, p. 179. In E. N. V. d'Alfort (ed.), Abrégé de Parasitologie vétérinaire, Maisons-Alfort.
- Cahier de la nutrition et de diététique, 2012 ; vol : 47(5) p : 242-249**

-**CSHPF, 2006.**contaminations fongiques en milieux intérieurs :Diagnostic,effets sur la santé respiratoire, conduite à tenir, valable sur :

http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/cshpf/r_mv_0906_contamfongiques.pdf.

-**DELARRAS C.,2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse de contrôle sanitaire. Médicale international et TEC et DOC, Paris. PP. 112-140p.

-**Dendouga w.,2006.** Isolement et identification de moisissures productrices de protéase à partir de milieux extremes. Mém. Biochimie-Microb.appliquée, Univ. Mentouri Constantine, 84p.

-**Dursun A.Y.,2003.** The effect of pH on the equilibrium of heavy metal biosorption by *Aspergillus niger*. Fres. Environ. Bull., 12; 1315–1322p.

-**Dryer J., 2001.** La grande diversité du lactosérum. Dairy foods .102 (5) : 35p.

-**Delgado J., Rincon A. M. & Benitez T.,2002.** Aspartyl protease from *Trichoderma harzianum* CECT 2413: cloning and characterization. Microbiology. 148: 1305- 1315p.

-**Fevrier C. et Collet J. 1975.** Considérations sur l'utilisation du lactosérum en industrie alimentaire. Revue Laitière Français N°332.

-**Frédéric G.,2004 :** Minéraux et produits laitiers. Technique et documentation, Lavoisier.

-**Julien R.2002.**Les moisissures parlons-en.objectif prevention.25 (4) :7-8p.

-**Gana S. & Touzi A. 2001.** Volarisation du lactosérum par la production de levures lactiques avec les procédés de fermentation discontinue et continue. Rev. Energ. Ren : 51-58.

-**Guiraud, J-P., "Microb. alimentaire", Dunod 1998,** 390p.

-**Guenounou.,2009.**Methodologie de conception de contrôleurs intelligents par l'approche génétique application à un procédé. Toulouse III.Paul Sabatier . 161p.

-**George J. G. Ruijter,1999.** « Oxalic acid production by *Aspergillus niger*: an oxalate-non-producing mutant produces citric acid at pH 5 and in the presence of manganese », Microbiology, vol. 145, no 9, 2569–2576p.

-**G.Linden; D.Lorient.,1994:** Biochimie agroalimentaire. Valorisation alimentaire de la production agricole.ED. Masson, paris.

-**Kadi H et Bourahla F.,2015.** Activité biologique des champignons entomopathogène vis-à-vis du puceron noir des agrumes *Toxoptera aurantii*. Mém. Moyens de lutte et biorégulateurs, Univ. Ahmed Bouguara Boumerdés, 50p.

-**Klein. 2006 .**Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique, 3^e édition .340p.

-
- Karam H. & Karam N-E.,2000.** Isolement et identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle. XIIèmes Journées Nationales de Microbiologie. Constantine
- Leghlimi H.,2004.** Optimisation de la production de la cellulase d'Aspergillus niger ATCC 16 404 cultivé sur un milieu à base de lactosérum : étude comparative entre Aspergillus niger ATCC 16 404 et Aspergillus niger O.Z isolée localement. Thèse de Magistère. Université Mentouri. Constantine.
- Lowisfert S.,1994.** Recyclage du lactosérum issu de la transformation fromagère dans l'alimentation animale. Belletin technique UC AAB. 2 : 11-17p.
- Luquet F. M. & Boudier J. F.,1990.** Utilisation des lactosérums en alimentation humaine et animale. Apria. 21 : 1-7p.
- Liu J.-Z., Weng L.-P., Zhang Q.-L., Xu H., Ji L.-N.,2003.** A mathematical model for gluconic acid fermentation by Aspergillus niger. Biochem. Eng. J., 14; 137–141p.
- Luquet F. M. & Bonjeau-Linczowski Y.,1985.** Lait et produits laitiers vache – brebis - chèvre. 2 les produits laitiers transformation et technologie. ED. APRIA. Paris. 1-108p.
- Li et Yang.,2004.**Fungal contamination as a major contributor to sick building syndrome.In advancs in applied Microbiology.Academic Pres :31-112p.
- MEYER A., DEIANA J., BERNARD A., 2004.** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2e Ed, DOIN éditeurs, France, 204-205p.
- MORETTI E., FELIPPONE F.,2000.** Acide citrique par fermentation. Pressindustria SpA - Biassono (MI) Italie
- McIntoch G.H.,1998.** Whey proteins as functional food ingredients. Dairy J. 8: 425-434p.
- Malherbe D.F., du Toit M., Otero R.R.C., van Rensburg P., Pretorius I.S.,2003.** Expression of the Aspergillus niger glucose oxidase gene in Saccharomyces cerevisiae and its potential applications in wine production. Appl. Microbiol. Biotechnol., 61; 502– 511p.
- Murphy R.A., Horgan K.A.,2005.** Antibiotics, enzymes and chemical commodities from fungi, in Kavanagh K., Fungi: Biology and applications, John Wiley & Sons Ltd, England.125; 134p.
- MARWAHA S-S.,KENNED J-F.,1988**-Whey pollution problem and potential utilization. International Journal of Food Science and Technology. Vol (23) : 323 – 336p.
- Nicklin.J.,2000.**l'essentiel en microb.ED.Berti:210-216p.
- O'Gorman, C. M., H. T. Fuller, and P. S. Dyer.,2009.** Discovery of a sexual cycle in the opportunistic fungal pathogen Aspergillus fumigatus. Nature 457:471-4p.

-
- Pawelczak, K., M. Makowski, M. Kempny, J. M. Dzik, B. Golos, W. Rode and B. Rzeszotarska.,2002.** "Sulfamide antifolates inhibiting thymidylate synthase: synthesis, enzyme inhibition and cytotoxicity". *Acta Biochimica Polonica* 49, 407-420p.
- Perry, K., J. D. Toney and A. L. Leblanc.,1967.** "Effect of nitrofuranto in on the human fetus". *Texas Reports on Biology and Medecine* 25,270-272p.
- Pfohl-Leszkowicz.,2001.**Definition et origins des mycotoxines dans l'alimentation: evaluation et gestion du risqué, Ed.Tec & Doc, 3-14p.
- QUATRESOUS N.,2011.** Aspergillose humaine. Épidémiologie, diagnostic biologique, contrôle. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, Limoges.
- Punt.,2000.**Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production.*Trends Biotechnol.*20 (5) :200-206p.
- Rymowicz W., Lenart D.,2003.** Oxalic acid production from lipids by a mutant of *Aspergillus niger* at different pH. *Biotechnol. Lett.*, 25; 955–958p.
- Rachid K.,2012.** Opimisation des parametres de production de l'acide citrique à partir de melasse de canne de sucre avec *Aspergillus niger*. *Journal de la science chimique de tunisie*, 14, 57-62p.
- Simon T.,2011.** Etude de la diversité génétique et du pouvoir pathogène d'*Aspergillus fumigatus* et de *Chlomydophila* chez les oiseaux. Thèse. Microbiologie. Institut des sciences et Industrie du vivant et de l'environnement, 214p.
- Sumantha A., Larroche C., Pandey A.,2006.** Microbiology and industrial biotechnology of food-grade proteases: a perspective. *Food Technol. Biotechnol.*, 244; 211–220p.
- Samson, R.A & Pitt, J.I. eds.,1986.** *Advances of Penicillium and Aspergillus systematics.* Plenum Publ., London & New-York, 483p.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. eds.,2004.** *Introduction to food- and airborne fungi (7e ed.).* Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 389p.
- Sabrine O. 2009.** Mise en évidence de résidus d'antibiotique dans le lait de vache produit dans l'Algérois. *European Journal of Scientific Research*, No.3, 357-362p.
- Sanchez Gonzalez .,2008.** Etude de l'adaptation et de la gestion de l'activité cellulaire dans un bioréacteur et intensification de la production d'ethanol.*INSA.*215p.
- Samson, R.A.,1994.** Taxonomy and Current concepts in *Aspergillus*. In J.E. Smith ED, *Biotechnology Handbooks : Aspergillus.* Plenum Publishing Co., 1-22p.
- Saboundji.,2013.**Essai de culture et de production de l'hypomycète sur le lactosérum, 45p.

-
- Scriban R.,1999.** Biotechnologie. 5eme ED. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris. 149-159p.
- Toumi.,2009.**Modelisation et identification paramétrique des processus de fermentation lactique, genie chimique, UFAS.
- VAUBOURDOLLE M., 2007.** Infectiologie. 3e ED, LE MONITEUR INTERNAT, Paris. 436p.
- Ward O.P., Qin W.M., Dhanjoon J., Ye J., Singh A., 2006.** Physiology and biotechnology of Aspergillus. Adv. Appl. Microbiol., 58; 1-55p.
- YANG S-Y., JONES J-H., OLSEN F- J., PETERSON J.,1980-**Soil as a medium for dairy liquid waste disposal. Journal of Environmental Quality. (9) : 370 – 372p.
- Ziani J.,2008.** Application de Beauveria bassiana contre la punaise lineolaris (palisot de beauvois). Mém. Maitrise en biologie, Univ du Québec à Montréal. 101p.
- ZERGAT F.,1996.** Contribution à l'Etude de la Production d'Acide Citrique par Aspergillus niger Cultivée sur Moût de Dattes. Mém. d'ingénieur d'état en agronomie saharienne, Université Kasdi Merbah,Ouargla.

ANNEXS



Figure : pH mètre



Figure : solution étalon



Figure : Lactodensimètre



Figure : Butyromètre

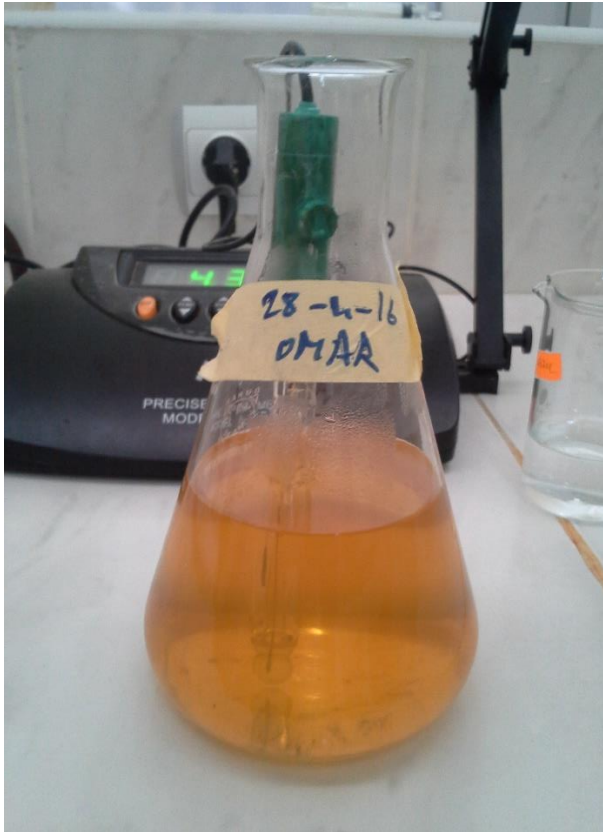


Figure : Lactosérum déprotéiné
Figure : centrifugeuse pour la matière grasse



Figure : Milieu PDA et Lactosérum après ensemencement d'Aspergillus niger.

Tableau : Evolution du poids sec de mycélium au cours de la fermentation.

Temps (jour)	MPDA	MLB	MLD
1	3	3	3
2	4	3,6	3
3	6	4,4	3,7
4	11,3	6,3	4,5
5	18,5	9,8	6,1
6	23,7	14,6	8,3
7	28,3	18,4	10,4
8	28,4	19,2	11,2

Tableau : évolution de la consommation du substrat (g/l).

Temps (jour)	MPDA	MLD	ML
1	0,47	0,37	0,36
2	0,31	0,33	0,36
3	0,19	0,29	0,34
4	0,11	0,19	0,3
5	0,04	0,11	0,26
6	0,02	0,07	0,17
7	0	0,04	0,1
8	0	0,02	0,06

Tableau : évolution de la production de citrate (mg/l).

Temps (jour)	MPDA	MLD	ML
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	2,3	1,3	-
5	9,21	3,4	-
6	21,3	11,71	-
7	29,2	17,9	-
8	36,4	22,7	-

ملخص

ترتب عن البضاعة التحويلية للحليب كل عام بقايا هائلة من المصل. وهذا العمل يتمحور حول انتاج حمض الستريك من فطريات على *Aspergillus niger* المصل من اجل اعادة القيمة لهذه المادة .

لذلك استخدمنا التخمر المتقطع على ثلاثة مستنبتات وهي مستنبت الوسط الشاهد. مصل حر ومصل منزوع البروتين .

وسمحت لما النتائج ان صناعة الاستقلاب مهمة في مستنبت الوسط الشاهد ب 36.4 غ/ل ثم على المصل المنزوع البروتين ب 22.7 غ/ل والنتيجة سلبية في المصل الحر.

الصناعة لحمض الستريك هي نتائج صناعة الكتلة الحيوية بكمية هائلة ب 11.2 غ/ل وبالنسبة للمصل ب 19.42 غ/ل والمصل المنزوع البروتين وفي مستنبت الوسط الشاهد

الي ترافق انخفاض تركيز السكر و الحموضة ف محيطات التخمر

Résumé :

L'industrie laitière rejette chaque année des quantités importantes de lactosérum. Ce travail s'axe sur la production d'acide citrique à partir du champignon *Aspergillus niger* sur du lactosérum afin de valoriser ce dernier. Ainsi nous avons eu recours à une fermentation discontinue sur trois milieux à savoir : le milieu PDA, du lactosérum brut et du lactosérum déprotéiné. Nos résultats nous ont permis de voir que la production du métabolite est plus importante sur le milieu PDA (36.4g/l), puis sur le lactosérum déprotéiné (22.7g/l) et voire nulle sur le lactosérum brut. Cette production d'acide citrique est le résultat d'une production de biomasse assez importante soit 11.2 g/l pour lactosérum, 19.42 g/l pour lactosérum déprotéiné et pour PDA et s'accompagne de la diminution de la concentration des sucres et du pH dans le milieu de fermentation.

Mots clés : *Aspergillus niger*, valorisation, acide citrique, lactosérum, fermentation discontinue.

Summary :

The dairy industry rejects each year significant quantities of whey. This work is centered on the production of citric acid from the fungus *Aspergillus niger* on whey in order to enhance it. So we used a batch fermentation on three areas media: the PDA medium, raw whey and whey deproteinised. Our results have allowed us to see that the production of the metabolite is more important on the PDA medium (36.4mg / l), then the deproteinized whey (22.7mg / l) or no on raw whey. This citric acid production is the result of a fairly large biomass production is 11.2 g / l for raw whey, 19.42 g / l for deproteinized whey and 28.23 g / l for PDA and is accompanied by the decrease of the concentration of sugars and the pH in the fermentation medium.

Keywords: *Aspergillus niger*, valorisation, citric acid, whey, batch fermentation.

