



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et De la

Recherche Scientifique

جامعة الاخوة منتوري

Université des Frères Mentouri Constantine

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biochimie / Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la Nutrition

Thème :

Contribution à l'étude de la microflore levure du lait de chamelle d'Algérie.

Présenté et soutenu par : ZAMOUCHE kaouther

Le 04/07/2018

NEDJAR Louiza-Rayene

Jury d'évaluation:

Président du jury : NOUADRI T. M.C.A., Université Frères MENTOURI, Constantine.

Encadreur : LABBANI F-Z K. M.C.B., ENS Assia DJEBAR, Constantine.

Examinatrices : DAKHMOUCHE S. M.C.A., ENS Assia DJEBAR, Constantine.

BENNAMOUN L. M.C.B., Université Frères MENTOURI, Constantine.

Année universitaire 2017–2018

Remerciements

REMERCIEMENTS

*Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu, le tout
Puissant de nous avoir donné volonté et patience pour achever
ce travail.*

*Nous adressons nos plus vifs remerciements à notre chère encadrante
Madame LABBANI F-ZK pour la confiance qu'elle nous a témoignée
en acceptant d'encadrer ce travail.*

*Nos vifs remerciements s'adressent également aux membres
de jury qui ont accepté de juger ce travail :*

*À monsieur NOUADRI T pour le grand honneur de présider le
jury.*

*À mesdames DAKHMOUCHE S et BENNAMOUN L pour avoir bien
voulu examiner ce travail.*

*Un merci bien particulier est adressé à madame le professeur
MERAIHI Z , pour nous avoir accueillies dans son laboratoire.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À la mémoire de ma très chère maman « Souad »

Aucun dédicace ne serait exprimer mon amour et mon chagrin en exposant cette mémoire en votre absence. J'aurais tant aimé que vous soyez à mes côtés ce jour.

Ni la mort, ni le temps ne feront oublier votre mémoire

Que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

À mon très cher père à qui je dois beaucoup, qui m'a offert le soutien et le courage et qui m'a guidé vers le meilleur, que Dieu te bénisse et te protège.

À ma deuxième maman « Wided » qui m'a prodigué tant d'amour, d'affection et de bonheur, que Dieu tout puissant vous procure santé, longévité et prospérité.

À mes chers frères : Abd Arraouf et Alla Eddine et Zaid

À ma petite sœur : Djouri Israe

À ma grande mère et à tous mes oncles, tantes, cousins, cousines et tous les membres de la famille.

A tous ceux que j'aime

Kaouther

Dédicaces

Dedicates

Je dédie ce mémoire :

*Premièrement mon beau Dieu pour m'avoir donné la force et la santé
pour d'éditer ce mémoire*

*A ma grande mère j'aurais tant aimé que vous soyez présente que dieu
ait vos âmes dans sa sainte miséricorde*

Chère maman

*Aucune dédicace ne serait exprimer mon respect mon amour éternel et
ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon
instruction et mon bien être, je suis une princesse parce que vous
m'avez couronnez.*

Ma chère tante et ma deuxième maman

*mon conseiller et amie fidèle. Je vous remercie pour tout le soutien et
l'amour que me portez depuis mon enfance*

*Mon plus beau cadeau de ma vie mon mari pour son soutien moral, sa
patience et ses encouragements*

Mon bonheur et la joie de ma vie cher frère Mehdi

Sans oublier son papa Cherif

Mon frère, mon oncle, mes amies et collègues d'études

*Chère collègue dans ce travail et sa sera le départ
de notre chemin professionnel*

A toute la famille et belle famille

A tous ceux que j'aime

Rayenne

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I: Etude bibliographique

1. Lait de chamelle	3
1.1. Aperçu sur le dromadaire	3
1.2. Effectif et répartition géographique du dromadaire en Algérie.....	3
1.3. Production laitière.....	4
1.4. Caractéristiques du lait de chamelle	5
1.4.1. Propriétés physiques et organoleptiques	5
1.4.2. Composition biochimique	5
1.4.3. Propriétés thérapeutiques et médicinales.....	6
1.4.4. Qualités microbiologiques du lait camelin	9
2. Les levures.....	12
2.1. Généralités sur les levures	12
2.2. Habitat des levures.....	13
2.3. Morphologie des levures	14
2.4. Reproduction des levures.....	14
2.4.1. La reproduction asexuée	15
2.4.2. La reproduction sexuée	15
2.5. Conditions de croissance	16
2.5.1. Besoins nutritionnels.....	16
2.5.2. Conditions physico-chimiques.....	17
2.6. Métabolisme	18
2.6.1. Métabolisme oxydatif	18
2.6.2. Métabolisme fermentaire	19

2.7. Classification des levures	19
2.8. Levures et biotechnologie.....	21
2.8.1. Production des boissons alcoolisées	21
2.8.2. Panification	21
2.8.3. Affinage des fromages	21
2.8.4. Production d'alcools industriels.....	22
2.8.5. Production d'enzymes et de protéines recombinantes	22

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Echantillons de lait.....	26
2. Isolement des levures	26
3. Purification et conservation des levures isolées.....	27
4. Mise en évidence des activités enzymatiques	28
4.1. Activité protéolytique	28
4.2. Enzymes lipolytiques.....	28
4.2.1. Activité lipase	28
4.2.2. Activité estérase	28
5. Identification des levures isolées selon les méthodes conventionnelles	28
5.1. Etude des caractères cultureux	29
5.1.1. Caractères cultureux en milieu liquide	29
5.1.2. Caractères cultureux sur milieu solide.....	29
5.2. Etude des caractères morphologiques.....	29
5.2.1. Morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative	29
5.2.2. Test de filamentation.....	29
5.2.3. Test de sporulation	30
5.3. Etudes des caractères biochimiques	30
5.3.1. Assimilation de substrats carbonés	30
5.3.2. Assimilation de substrats azotés	30

5.3.3. Fermentation de substrats carbonés	31
---	----

Chapitre III: Résultats et discussions

1. Isolement des levures	33
2. Mise en évidence des activités enzymatiques chez les isolats de levures	34
2.1. Sélection des souches protéolytiques	34
2.3. Sélection de souches productrices d'estérase	36
3. Identification conventionnelle des isolats de levures	38
3.1. Caractères cultureux	38
3.1.1. Sur milieu solide	38
3.1.2. En milieu liquide.....	39
3.2. Caractères morphologiques	41
3.2.1. Morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative (asexuée)	41
3.2.2. Test de filamentation.....	43
3.2.3. Test de sporulation.....	44
3.3. Caractères biochimiques.....	46
3.3.1. Assimilation des sources carbonées.....	46
3.3.2. Assimilation des sources azotées	46
3.3.3. Fermentation des sucres	47
Conclusion et perspectives.....	49
Résumés	51
Références bibliographiques	55
Annexes	70

Liste des figures

Figure 1. Effectif du cheptel camelin en Algérie en 2015	3
Figure 2. Modèle schématique de l'action allostérique du lait de chamelle sur le récepteur de l'insuline humaine.	8
Figure 3. Bourgeonnement d'une cellule de levures, barre = 500 nm.	12
Figure 4. Présentation d'une cellule de levures (Manyri, 2005).	13
Figure 5. Filamentation des levures. A : pseudomycélium ; B : vrai mycélium ; C : vrai mycélium cloisonné (Guiraud, 1998).	14
Figure 6. Observation au microscope de cellules en bourgeonnement.	15
Figure 7. Asques et ascospores.	16
Figure 8. Géolocalisation des régions d'échantillonnage de lait.	26
Figure 9. Isolement des levures à partir du lait camelin.	27
Figure 10. Résultats du test de la mise en évidence de l'activité protéolytique. Développement de zones claires pour les souches I, J, K, M, P, S, T et W, après 5 j d'incubation à 25 °C.	35
Figure 11. Résultats du test de la mise en évidence de l'activité lipolytique. Dépôts de cristaux insolubles autour des colonies des souches D, F, H, N, O, Q, R, S et U, après 5 j d'incubation à 25 °C.	36
Figure 12. Résultats du test de la mise en évidence de l'activité de l'estérase.	37
Figure 13. Aspect des cultures sur milieu YPG liquide après 3 jours d'incubation à 25°C. ..	40
Figure 14. Test de filamentation des souches O, Q et S après 7 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA.	44
Figure 15. Test de sporulation des souches K, O, P, Q, S Après 10 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA.	45

Liste des tableaux

Tableau 1. La production du lait de chamelle en Algérie (en tonnes de lait).....	4
Tableau 2. Composition chimique du lait de chamelle (gm%).....	6
Tableau 3. Concentrations moyennes de lactoferrine, de lysozyme et d'immunoglobulines G dans le lait de chamelle (mg/L).....	7
Tableau 4. Moyenne des diverses flores (cfu mL-1) dénombrées dans du lait de chamelle cru	10
Tableau 5. Classification simplifiée des levures.....	20
Tableau 6. Quelques enzymes industrielles produites par les levures.....	22
Tableau 7. Isolement des levures à partir de différents échantillons du lait de chamelle....	31
Tableau 8. Résultat des tests de la mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques chez les 23 isolats de levures.....	32
Tableau 9. Caractères cultureux des isolats de levures après 3 jours d'incubation à 25°C sur milieu YPGA.....	36
Tableau 10. Caractères cultureux des isolats de levures après 3 jours d'incubation à 25°C sur milieu YPG liquide.....	38
Tableau 11. Morphologie cellulaire des isolats de levures après 3 jours d'incubation à 25°C sur milieu YPGA.....	40
Tableau 12. Résultat du test d'assimilation des sources carbonées.....	44

Tableau 13. Résultat du test d'assimilation des sources azotées des isolats de levures.....45

Tableau 14. Résultat du test de fermentation des sources azotées des isolats de levures.....

Introduction

Le lait est un aliment hautement nutritif par sa richesse en glucides, lipides, vitamines et sels minéraux. Le lait camelin est un aliment majeur prisé par les populations des régions arides et semi-arides du globe, il est très souvent consommé après transformation (lait fermenté) (Bezzalla et Gouttaya, 2013). Le lait de chamelle constitue depuis des temps très lointains, la principale ressource alimentaire pour les peuples nomades qui le consomment habituellement à l'état cru ou fermenté.

Bien qu'il présente une composition physico-chimique relativement proche de celle du lait bovin, ce lait se singularise néanmoins par une teneur élevée en vitamine C et en niacine et par la présence d'un puissant système protecteur, lié à des taux relativement élevés en Lysozyme, en Lactoperoxydase (système LP/SCN/H₂O₂), en Lactoferrine et en bactériocines produites par les bactéries lactiques. Ceci prolonge naturellement sa conservation de quelques jours sous des températures relativement élevées (Siboukeur, 2007).

La préoccupation majeure des laitiers et technologues est de pouvoir transformer le lait de chamelle en produits laitiers dérivés présentant une conservabilité satisfaisante. Les études entreprises sur ce lait ont porté sur la composition, les caractéristiques physico-chimiques, en comparaison avec le lait de vache, ainsi que sur les potentialités de transformation en produits dérivés (Karam et Karam, 2006 ; Alaoui Ismaili *et al.*, 2016).

La transformation de ce lait nécessite, entre autres, une bonne connaissance de sa microflore lactique (Karam et Kram, 2006). A notre connaissance, la microflore levure du lait de chamelle restent peu décrites dans la littérature.

En effet, Les levures sont des composants importants de la microflore de nombreux produits alimentaires. Ces micro-organismes sont généralement détectés en grand nombre dans les produits laitiers (lait cru, lait fermenté, fromages, etc.) reflétant une bonne adaptation à un substrat riche en protéines lipides, sucres et acides organiques. Cette large distribution est la conséquence de la production des activités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques extracellulaires par les souches de levures ainsi que l'assimilation et/ou la fermentation du lactose (Corbaci *et al.*, 2012). De plus, les levures peuvent se développer dans le substrat avec une forte concentration de

sel, des températures basses, un pH faible et leur caractère inhérent d'adaptation aux substrats complexes.

Les souches de levures isolées à partir du lait cru peuvent jouer un rôle bénéfique dans la production laitière (Viljoen, 2001 ; Corbaci *et al.*, 2012). En effet, elles sont utilisées comme culture starter pour le développement des propriétés sensorielles des produits laitiers tels que les laits fermentés et de nombreux types de fromages (Njage *et al.*, 2011 ; Corbaci *et al.*, 2012).

Dans cette optique, l'objectif principal de cette étude est d'isoler et d'identifier des souches levures à partir du lait cru de chamelle ainsi que la sélection des souches possédant des activités enzymatiques d'intérêt technologiques.

1. Lait de chamelle

1.1. Aperçu sur le dromadaire

Le terme dromadaire est dérivé des grecs de *dromos* signifiant route et est donc directement applicable à la course et à l'équitation (Hossein et Mansour, 2013). Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est l'un des plus gros ongulés domestiques et l'un des ajouts les plus récents au bétail, connu comme le «naïve du désert» (Bulliet *et al.*, 1975).

1.2. Effectif et répartition géographique du dromadaire en Algérie

L'effectif camelin algérien est estimé à 362,265 têtes en 2015, cet effectif est réparti sur 16 wilayas, avec 93,78 % du cheptel dans les dix wilayas sahariennes : Ouargla, Ghardaïa, Laghouat, El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf, Béchar et Biskra et 6,21 % du cheptel dans six wilayas steppiques : Tbessa, Djelfa, El-Bayad, Naâma, Tiaret et M'sila (Figure 1) (Ben amara., 2017).

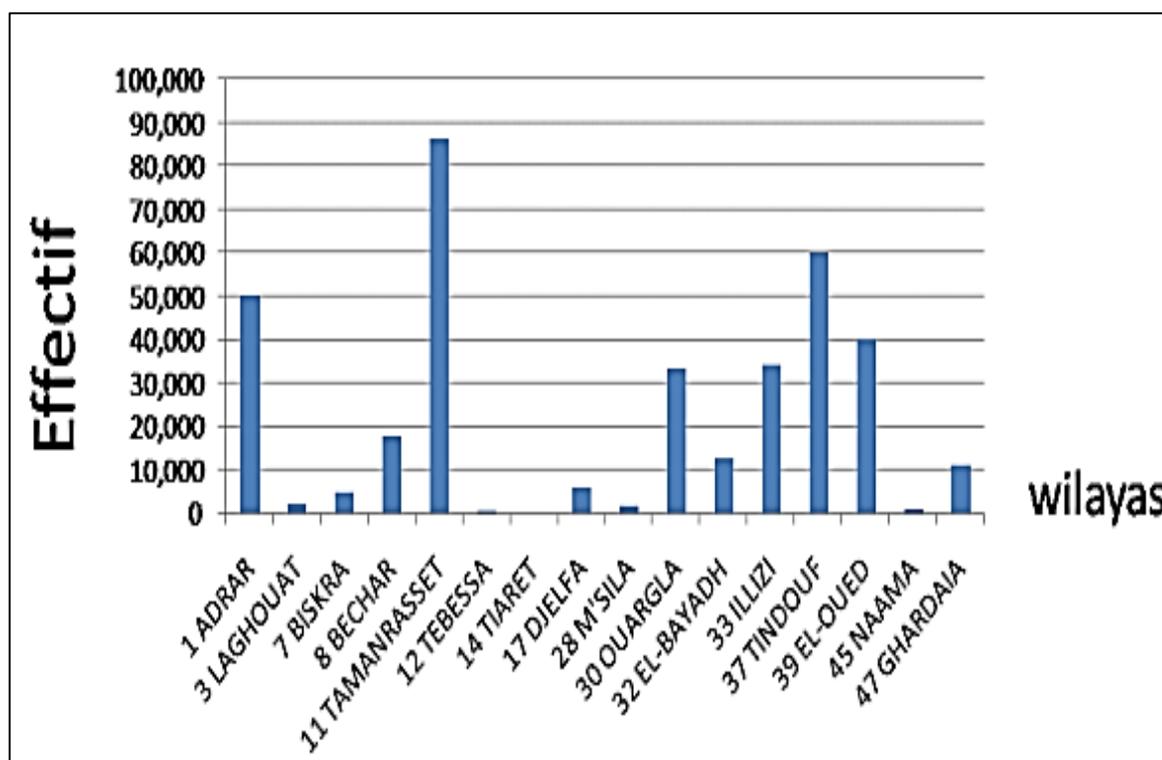


Figure 1. Effectif du cheptel camelin en Algérie en 2015 (Ben amara, 2017).

1.3. Production laitière

La production laitière des races camelines en Algérie est estimée à environ 5 à 6 litres/jour soit 1800 litres/lactation (Anonyme, 1986). Cette production est intéressante, en comparaison avec la production laitière moyenne dans le monde (800 et 3600 litres pour une durée de lactation de 9 et 18 mois). Richard et Gerald (1989) l'ont estimée entre 2 à 6 litres/jour en élevage extensif et de 12 à 20 litres/jour en élevage intensif. Pour les chamelles mauritaniennes peuvent produire 3 à 9 litres/jour au pic de lactation. Kamoun (1998) rapporte que la production de lait au pic de lactation qui correspond le plus souvent au troisième mois est de 11,9 litres/jours chez les chamelles de la race maghrébines.

Selon FAO (2014), la production du lait camelin en Algérie a connu une petite évolution au cours de ces dernières années (Tableau 1).

Tableau 1. La production du lait de chamelle en Algérie (en tonnes de lait) (FAO, 2014).

Année	Production en Algérie
2003	10.700.00
2004	11.700.00
2005	11.500.00
2006	12.300.00
2007	12.500.00
2008	12.599.00
2009	12.271.00
2010	13.300.00
2011	13.500.00
2012	14.600.00
2013	15.000.00

1.4. Caractéristiques du lait de chamelle

1.4.1. Propriétés physiques et organoleptiques

Le lait de chamelle a généralement une couleur blanche opaque et a une légère odeur sucrée et un goût prononcé ; parfois, il peut être salé (Abbas *et al.*, 2013). Sa couleur est due aux graisses qui sont finement homogénéisées dans le lait, tandis que les changements de goût sont dus au type de fourrage et à la disponibilité de l'eau potable (Kumar *et al.*, 2015). Le pH du lait camelin se situe entre 6,31 à 6,64 (Alaoui Ismaili *et al.*, 2016) et sa densité moyenne est de 1,029 g cm⁻³ (Laleye *et al.*, 2008). La viscosité du lait camelin à 20° C est de 1,72 mPa s (Khaskheli., 2005). Son point de congélation est compris entre -0,57° C et -0,61° C et a un pouvoir calorifique de 665 Kcal/L (Wangoh, 1997).

1.4.2. Composition biochimique

La composition chimique globale du lait de chamelle même si elle fluctue selon les auteurs (donc selon les animaux et l'environnement considéré) montre néanmoins des teneurs importantes et équilibrées en nutriments de base (protéines, matière grasse, lactose, cendres et solides totaux). Les teneurs en protéines et en matière grasse varient respectivement de 2,30 à 4,9 % et de 1,2 à 5,4 % alors que la teneur en lactose fluctue entre 3,30 et 5,61%. Les concentrations élevées observées pour ce dernier expliqueraient la saveur parfois sucrée du lait de chamelle (Gnan et Shereha, 1986 ; Bayoumi, 1990). Les valeurs de cendres sont 0,63 à 0,99% alors que les valeurs de solides totaux sont plus élevées par rapport aux autres constituants par les quelles on trouve 8,90 jusqu'à 14,50% (Tableau 2). La teneur en eau du lait de chamelle varie de 87 à 90% (Singh *et al.*, 2017). Une relation inverse a été trouvée entre les solides totaux dans le lait de chamelle et la consommation d'eau par chameau (Haddadin *et al.*, 2008).

Cependant, les variations observées dans la composition du lait de chamelle peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que les procédures de mesure analytique, les lieux géographiques, les conditions d'alimentation et les échantillons de différentes races (Khaskheli *et al.*, 2005). La constitution génétique et l'état de santé du chamelle (Konuspayeva *et al.*, 2009), ainsi que d'autres facteurs tels que le stade de lactation (Khaskheli *et al.*, 2005). L'origine géographique et les variations saisonnières sont les facteurs les plus efficaces dans la composition du lait de chamelle (Singh *et al.*, 2017).

Tableau 2. Composition chimique du lait de chamelle (gm%) (Singh *et al.*, 2017).

Lait de chamelle				
Protéines	Matière grasse	Lactose	Cendres	Solides totaux
3.45	4.15	4.55	0.7	8.90
2.50	3.5	3.90	0.8	11.0
3.19	5.22	5.00	0.8	14.50
2.30	2.30	4.05	0.85	9.500
4.9	3.9	5.00	0.63	13.80
2.69	2.95	3.92	0.82	12.30
3.11	3.15	5.24	0.8	12.20
3.13	4.29	4.05	0.82	12.5
3.30	3.3	5.61	0.82	13.00
3.36	2.74	4.19	0.86	11.10
3.25	2.65	4.05	0.83	10.80
4.00	3.2	4.80	0.7	13.40
3.66	3.79	5.15	0.81	13.40
2.68	3.31	4.67	0.8	11.30
3.00	5.4	3.30	0.7	13.70
3.50	3.26	3.60	0.67	11.00
2.81	1.2	5.40	0.99	9.60

1.4.3. Propriétés thérapeutiques et médicinales

Le lait de chamelle agit comme un adjuvant et possède des propriétés médicinales, ce qui suggère qu'il contient des protéines protectrices qui pourraient jouer un rôle dans l'amélioration du mécanisme de défense immunitaire (Yagil *et al.*, 2013). En outre, il joue également un rôle important dans le contrôle d'un nombre de troubles de santé physique ou même de troubles mentaux (Askale *et al.*, 2017).

- **Activités antimicrobiennes et immunologiques**

Le lait de chamelle contient diverses protéines protectrices (lactoferrine, lactoperoxydase, N-acétyl- β -glucosaminidase (NAGase), PGRP, immunoglobulines (Ig) et lysozymes) qui exercent une activité antibactérienne, antivirale, antifongique et antiparasitaire, des propriétés immunologiques, une activité de promotion de la croissance et une activité antitumorale (Amany *et al.*, 2005, Conesa *et al.*, 2008, Mona *et al.*, 2010, Gizachew *et al.*, 2014) (Tableau 3). Néanmoins, certains d'entre eux ont des propriétés spécifiques dans le lait de chamelle.

Tableau 3. Concentrations moyennes de lactoferrine, de lysozyme et d'immunoglobulines G dans le lait de chamelle (mg/L) (Askale *et al.*, 2017).

Lait de chamelle	Concentrations moyennes (mg/L)		
	Lactoferrine	Lysozyme	Immunoglobulines G
	700-2000	100-890	40-54

- **Propriétés antidiabétiques**

Le lait de chamelle est apparu comme une alternative thérapeutique puissante qui peut aider à réduire les doses d'insuline (Agrawal *et al.*, 2010). L'action allostérique positive du lait de chamelle implique l'induction/la stabilisation de la conformation spécifique du récepteur de l'insuline humaine avec un impact sur sa signalisation en aval. En effet, en présence de lait de chamelle, la conformation de récepteur de l'insuline humaine (conformation B) (Figure 2-B) est plus efficace en ce qui concerne l'activation de l'ERK1/2 (extracellular regulated kinase), mais probablement pas Akt (Protéine kinase B), par rapport à la conformation liée à l'insuline en l'absence de chameau composant de lait (conformation A) (Figure 3-A) (Abdulrahman *et al.*, 2016).

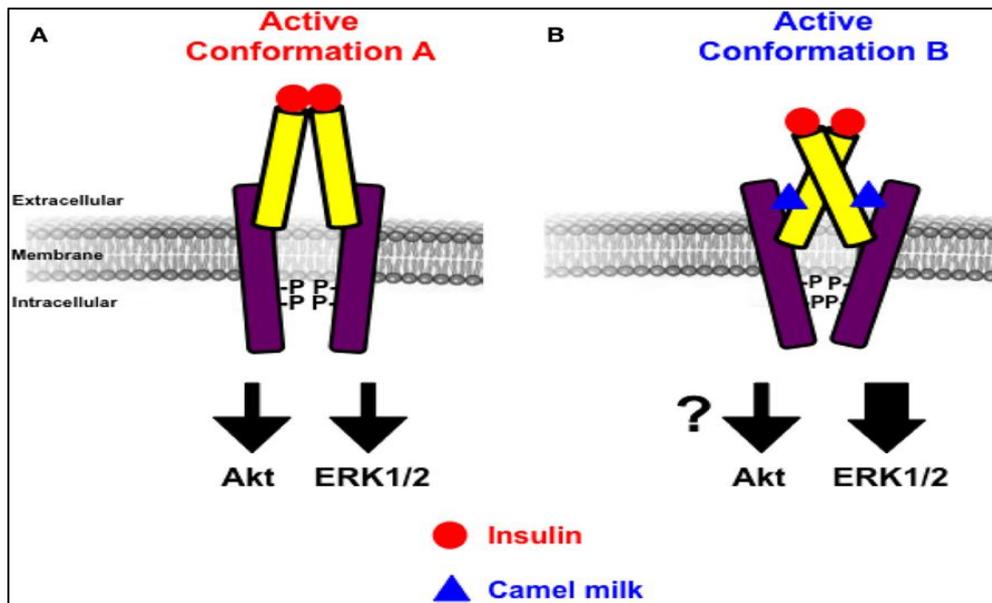


Figure 2. Modèle schématique de l'action allostérique du lait de chamelle sur le récepteur de l'insuline humaine (Abdulrahman et al., 2016).

- **Actions anticancéreuse et anti-tumorale**

Le lait de chamelle déclenche l'apoptose (mort cellulaire contrôlée) dans le cancer du sein humain et les cellules cancéreuses du foie par des mécanismes épigénétiques (Korashy *et al.*, 2012 ;Wernery et Yagil, 2012). En outre, le lait de chamelle aide à restaurer les traitements anti-tumoraux par leurs effets antigénotoxiques et anticytotoxiques en inhibant les érythrocytes polychromatiques micronucléés et améliore l'index mitotique des cellules de la moelle osseuse (Salwa et Lina 2010).

- **Traitement pour les allergies**

Le lait de chamelle est récemment suggéré comme aliment alternatif pour les enfants allergiques au lait bovin. L'hypoallergénicité du lait maternel serait due au pourcentage élevé de β -CN (β -caséine), au faible pourcentage d' α -CN (α -caséine) (El-Agamy *et al.*, 2009), au déficit en β -lactoglobuline (Kappeler *et al.*, 1998) et à la similarité des immunoglobulines (Shabo et Yagil, 2005). Il a été rapporté que le lait de chamelle pourrait être une nouvelle source de protéines pour les enfants allergiques au lait bovin. On s'attend à ce qu'il provoque peu de réactions d'hypersensibilité car les protéines du lait de chamelle et leurs pourcentages sont similaires à ceux trouvés dans le lait humain (El-Agamy *et al.*, 2009).

- **Traitement pour l'autisme**

Le trouble du spectre autistique est un trouble neuro-développemental grave caractérisé par des troubles de l'orientation sociale, de la communication et des comportements répétitifs (McPheeters *et al.*, 2011). Un dysfonctionnement du système immunitaire provoque une inhibition de l'enzyme alimentaire, provoquant la dégradation de la caséine en casomorphine, et non en acides aminés. La casomorphine est un opioïde puissant, beaucoup plus puissant que la morphine elle-même et est capable de causer des dommages au cerveau et des symptômes cognitifs et comportementaux de l'autisme. Les enfants autistes qui boivent du lait de chamelle ont eu des améliorations incroyables dans leur comportement et leur alimentation (Shabo et Yagil, 2005).

- **Effet cosmétique et anti-âge**

Le lait de chamelle a un effet cosmétique dû à la présence d'acides α -hydroxylés. Les acides alpha-hydroxylés aident à éliminer la couche cornée externe des cellules mortes de la peau (épiderme) en aidant à décomposer les sucres, qui sont utilisés pour maintenir les cellules de la peau ensemble. Cela aide à révéler de nouvelles cellules, plus élastiques et plus claires. Les acides alpha-hydroxylés aident à éliminer les rides et les taches de vieillesse et à soulager la sécheresse, car ils rendent la couche externe de la peau plus fine et soutiennent la couche inférieure du derme en la rendant plus épaisse. De plus, les liposomes présents dans le lait de chamelle sont applicables à un ingrédient cosmétique potentiel pour améliorer l'effet anti-âge (Choi *et al.*, 2013).

1.4.4. Qualités microbiologiques du lait camelin

Le lait est un excellent milieu de culture pour la croissance des micro-organismes. Le taux de multiplication des microbes dépend principalement de la température et du temps de stockage, du niveau de nutriments et des conditions de manipulation (Bachmann, 1992).

La qualité du lait cru est fonction de la nutrition et de la santé de l'animal, de la combinaison chimique et de ses activités microbiennes. Les deux facteurs dominants de la qualité sont le temps avant la livraison au consommateur et l'état de conservation du produit. L'analyse microbienne du lait et des produits laitiers comprend des tests tels que le dénombrement bactérien total, les levures et moisissures et l'estimation des coliformes. (Kamal *et al.*, 2010, Abdurahman, 2006).

Le tableau au dessus relève le dénombrement de différentes flores microbiennes du lait de chamelle cru.

Tableau 4. Moyenne des diverses flores (cfu mL-1) dénombrées dans du lait de chamelle cru (Alaoui Ismaili et al ,2016).

Flore (cfu mL-1)	Moyenne	Valeur min	Valeur max
Flore aérobie totale	1.76 · 10 ⁸	5.6 · 10 ³	1.8 · 10 ⁹
Coliformes totaux	1.18 · 10 ⁷	1.0 · 10 ²	1.5 · 10 ⁸
Coliformes fécaux	3.24 · 10 ⁶	1.0 · 10 ²	3.1 · 10 ⁷
Flore psychrotrophique	9.84 · 10 ⁷	1.0 · 10 ³	9.7 · 10 ⁸
Moisissure	1.60 · 10 ⁵	0.0 · 10 ⁴	1.4 · 10 ⁶
Enterocoque	3.76 · 10 ⁶	8.6 · 10 ¹	9.0 · 10 ⁷
Lactocoques	4.24 · 10 ⁷	8.2 · 10 ²	4.2 · 10 ⁸
Leuconostoc	4.45 · 10 ⁷	1.2 · 10 ³	4.9 · 10 ⁸
Lactobacilles	3.55 · 10 ⁷	1.4 · 10 ³	4.2 · 10 ⁸
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.32 · 10 ⁵	1.0 · 10 ²	5.6 · 10 ⁶
Levures	3.12 · 10 ⁶	1.7 · 10 ²	3.0 · 10 ⁷

La flore aérobie totale variait de $5,6 \cdot 10^3$ à $1,8 \cdot 10^9$ CFU ml-1 avec une moyenne de $1,8 \cdot 10^8$ CFU ml-1. Les comptes moyens des coliformes totaux et fécaux étaient de $1,8 \cdot 10^7$ et de $3,2 \cdot 10^6$ CFU ml-1. Les bactéries lactiques étaient présentes à des concentrations plus élevées que 10^4 CFU ml-1 dans la plupart des échantillons testés. Les leuconostocs ont été trouvés avec des teneurs variant de $1,2 \cdot 10^3$ à $4,9 \cdot 10^8$ CFU ml-1 avec une moyenne de $4,45 \cdot 10^7$ CFU ml-1. Les résultats du dénombrement des lactocoques indiquaient un taux moyen de $4,25 \cdot 10^7$ CFU ml-1 et une plage de $8,2 \cdot 10^4$ à $4,2 \cdot 10^8$ CFU ml-1. Ces deux groupes de bactéries lactiques représentaient chacune 35% des bactéries lactiques totales. La valeur moyenne des lactobacilles était de $3,55 \cdot 10^7$ UFC ml-1, ce qui représentait 28% de la flore lactique totale. Les entérocoques ont montré une gamme de $8,6 \cdot 10^1$ à $9,0 \cdot 10^7$ CFU ml-1 avec une moyenne de $3,7 \cdot 10^6$ CFU ml-1.

Flore pathogène : La teneur moyenne de *S. aureus* égale à $2,32 \cdot 10^5$ CFU ml-1. Les moisissures ont présenté une moyenne de $1,6 \cdot 10^5$ CFU ml-1. Le nombre de levures était de $1,7 \cdot 10^2$ à $3 \cdot 10^7$ CFU ml-1 avec une moyenne de $3,1 \cdot 10^6$ CFU ml-1. Les taux élevés de levures et de moisissures dans le lait sont plutôt rares, car le pH naturel du lait favorise la dominance bactérienne (Pitt et Hocking, 1997).

2. Les levures

2.1. Généralités sur les levures

Le terme levure, selon (Phaff et *al.*, 1968), provient du mot latin « *levare* » qui se traduit par lever. Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'aptitude de ces microorganismes à produire du CO₂ pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (Farhat et Laklouka., 2015). Les levures sont souvent présentées comme des champignons microscopiques unicellulaires pour tout ou une partie de leur cycle végétatif et qui forment un groupe très hétérogène (Rezki-Bekki., 2014). Les levures se multiplient par un processus asexué (mitose) qui s'effectue par bourgeonnement (Figure 3) dans la plupart des cas (*Saccharomyces cerevisiae*) ou par scissiparité pour quelques espèces (*Schizosaccharomyces pombe*) ou encore par un processus intermédiaire de sporulation (Rezki-Bekki, 2014).



Figure 3. Bourgeonnement d'une cellule de levures, barre = 500 nm (Klei et al., 2011).

Les levures sont des microorganismes immobiles, non photosynthétiques chimio-hétérotrophes (Henky, 200). La cellule de levure est limitée par une paroi riche en polysaccharides antigéniques : glucanes, mannanes, et phosphomannanes liés à des peptides. En chitine au niveau des bourgeons, en protéines dont certaines sont des enzymes. La membrane cellulaire est constituée de protéines et lipides. Le cytoplasme contient des vacuoles, des ribosomes, des mitochondries, un ergastoplasme et des réserves (tréhalose,

glycogène, etc.). Le noyau contient plusieurs chromosomes et il est limité par une membrane (Figure 4). Certaines espèces possèdent une capsule polysaccharidique (Guireau, 1998).

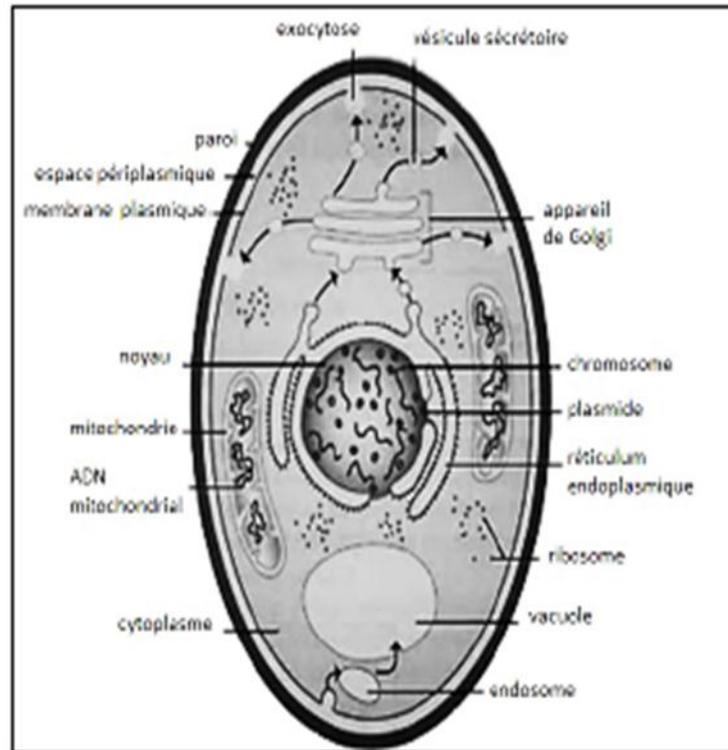


Figure 4. Présentation d'une cellule de levures (Manyri, 2005).

2.2. Habitat des levures

Les levures sont des espèces ubiquitaires, largement distribuées dans la nature. Elles se rencontrent sur les végétaux riches en sucre directement assimilables. En effet, les milieux fortement concentrés en sucre représentent un de leur environnement préférés, comme les sirops, le miel, les fleurs et de nombreux fruits (les pommes, les raisins) (Walker, 2009). Certaines levures ont été isolées à partir d'environnements extrêmes comme les sources thermales (Benaouida, 2008 ; Labbani, 2008) et l'Antarctique (Satyanarayana et Kunze, 2009). On trouve également des levures dans le tube digestif de certains animaux et les galeries d'insectes (Starmer et Lachance, 2011), dans des produits alimentaires (STARTFORD, 2006), dans les eaux, dans l'atmosphère et dans le sol (Leveau et Bouix., 1993 et Pol., 1996).

2.3. Morphologie des levures

La morphologie des levures est d'une grande importance taxonomique. Les cellules sont généralement sphériques ou ovoïdes, parfois cylindriques, ellipsoïdes, allongées, apiculées, ogivales, triangulaires, ou en forme de bouteille (Walker, 2009 ; Kurtzman, 2011 ; Labbani, 2015). La taille des cellules est grande par rapport aux bactéries : elle varie entre 5 et 20 micron. La morphologie cellulaire peut être examinée facilement à l'objectif $\times 40$ pour une préparation à l'état frais. Les cellules peuvent rester accolées et donner naissance à un pseudomycélium ou même un vrai mycélium (Figure 5) (Guiraud, 1998).

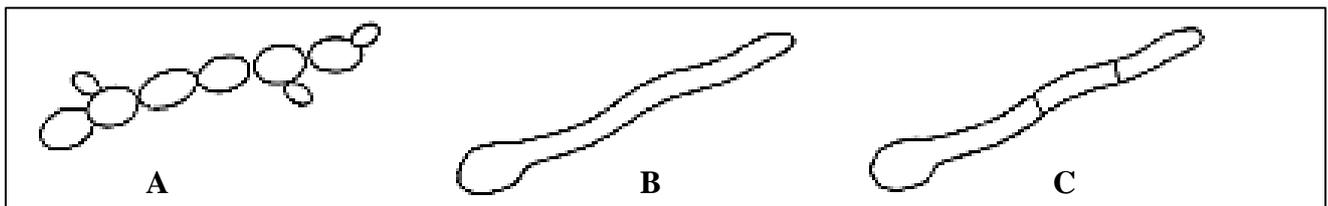


Figure 5. Filamentation des levures. A : pseudomycélium ; B : vrai mycélium ; C : vrai mycélium cloisonné (Guiraud, 1998).

2.4. Reproduction des levures

Il existe deux modes de reproduction ; la reproduction asexuée par bourgeonnement où la cellule mère donne naissance à deux cellules filles et la reproduction sexuée par sporulation qui consiste en la fusion de deux cellules préexistantes.

Pour la majorité des levures, la multiplication asexuée est la forme majeure de multiplication. Mais *S. cerevisiae* a la capacité, en fonction du milieu, de se reproduire aussi par voie sexuée et d'alterner entre ces deux modes de reproduction.

Ainsi, si le milieu est favorable (présence de sucres et de minéraux), elles bourgeonnent tandis que si le milieu est défavorable, elles sporulent (Thuriaux, 2004 ; Knop, 2011).

2.4.1. La reproduction asexuée

La reproduction asexuée s'effectue par bourgeonnement. Une petite masse saillante apparait à la surface de la cellule mère qui grossit petit à petit puis se détache lorsqu'elle atteint la même taille. Au même moment, le noyau de la cellule mère se déplace vers la périphérie, il s'étire, une partie s'infiltré dans le bourgeon. Il se sépare alors de la cellule mère y laissant parfois une petite « cicatrice » (Figure6).

La cellule fille ainsi produite grandit jusqu'à atteindre environ un diamètre égal au deux tiers de la cellule mère, puis donne à son tour de nouveaux bourgeons (Guinet et Godon, 1994).

Dans des conditions optimales de croissance, cette population double toutes les quatre-vingt-dix minutes, ce qui représente un temps record pour des cellules eucaryotes (Silar et Malagnac, 2013).

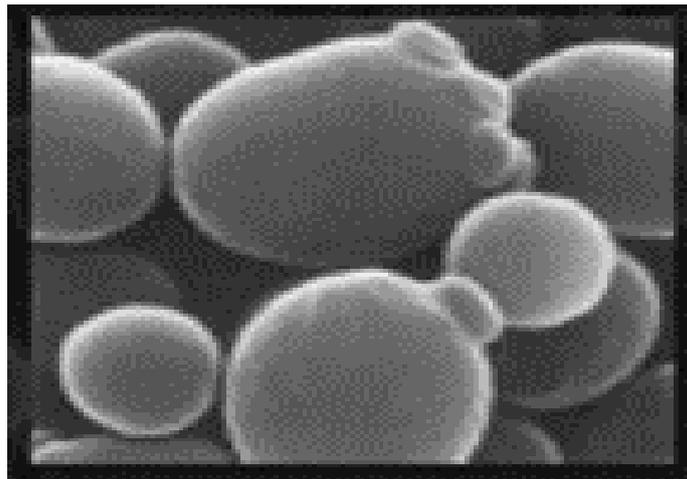


Figure 6. Observation au microscope de cellules en bourgeonnement (Castan, 2016).

2.4.2. La reproduction sexuée

Dans un milieu défavorable (riche en acétate, pauvre en nutriments, températures extrêmes...) (Larpent, 1997 ; Leblon, 1988). La cellule diploïde de levure va sporuler c'est à dire produire 4 ou 8 cellules haploïdes, nommées « ascospores » chez les Ascomycètes et « basidiospores » chez les Basidiomycètes, qui resteront en vie ralentie. Si les conditions du milieu redeviennent favorables, les spores sont libérées, vont germer, croître et commencer un nouveau cycle de multiplication végétative sous la forme haploïde (Guinet et Godon, 1994) ou diploïde (Ferreira, 1997).

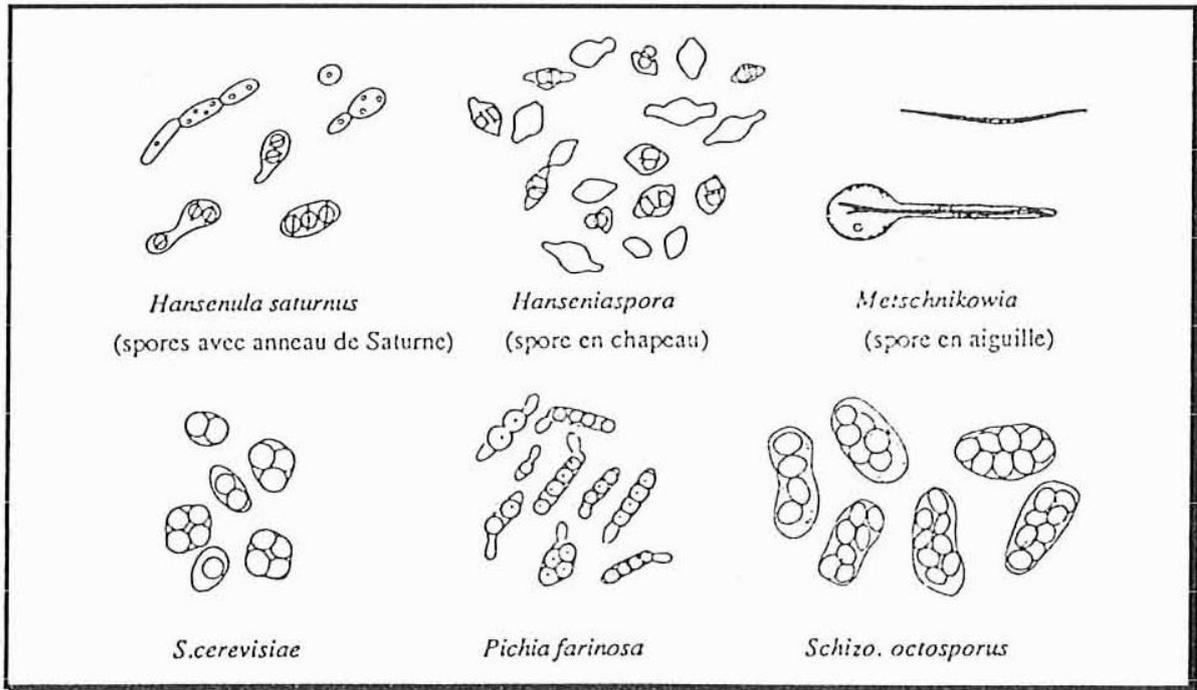


Figure 7. Asques et ascospores (Leveau et Bouix, 1993).

2.5. Conditions de croissance

Pour se maintenir, croître et se reproduire, la levure doit trouver dans son milieu externe, les éléments nécessaires à la synthèse cellulaire et des conditions physicochimiques favorables.

2.5.1. Besoins nutritionnels

Les sources carbonées sont d'une grande importance pour les levures puisqu'elles fournissent le carbone nécessaire pour la biosynthèse de constituants cellulaires et l'énergie nécessaire à son fonctionnement. Les levures utilisent fréquemment des glucides, en particulier des monosaccharides (ex. le glucose, le fructose), des disaccharides (ex. le maltose, le saccharose), et des tri saccharides (ex. le maltotriose) comme source principale de carbone et par conséquent d'énergie (ReakiI-Bekki, 2014). D'autres levures particulières

utilisent des sources de carbone non conventionnelles ; elles sont capables d'oxyder des acides organiques (ex. citrate, lactate) et des alcools (éthanol, glycérol) (Otenggyang, 1984).

L'azote est le deuxième constituant important, jouant un rôle capital puisqu'il entre dans la composition de plusieurs molécules, essentielles au fonctionnement cellulaire allant des plus simples comme les acides aminés, les sucres aminés, les nucléotides, les coenzymes et les vitamines jusqu'aux macromolécules, telles que les protéines, les acides nucléiques et la chitine (Sanchez, 2008). La plupart des levures sont capables d'utiliser les sources azotées minérales simples sous forme d'ion ammonium qui sont apportés dans le milieu par le chlorure d'ammonium, le nitrate d'ammonium, le phosphate d'ammonium et surtout le sulfate d'ammonium, meilleur composé car il apporte en même temps du soufre nécessaire à la synthèse de certains acides aminés. L'azote peut être apporté également par des composés organiques divers tels que les acides aminés, les peptides ou des polypeptides dont la taille nécessite pour leur utilisation une hydrolyse par des peptidases intracellulaire.

Certaines levures, en particulier les *Hansenula*, *Pachysolen*, *Citeromyces* et certaines espèces de *Candida* et de *Trichosporon* sont capables d'utiliser les nitrites et les nitrates. Généralement, les espèces qui utilisent les nitrates utilisent les nitrites, mais l'inverse n'est pas toujours vrai, ainsi *Debaryomyces hansenii* et *Pichia pinus* utilisent les nitrates mais pas les nitrites. Chez *Brettanomyces bruxellensis* et *B.intermedius*, l'utilisation des nitrates est une caractéristique stable au moins à l'intérieur de l'espèce ce qui en fait un outil utilisé à des fins taxonomiques (Lodder, 1970 ; Kreger Van Rij, 1984 et Moore et al., 1988). Enfin l'urée en association avec la biotine et les bases puriques et pyrimidiques peut aussi être utilisée comme source d'azote (Rezki-Bekki ,2014).

Pour leur croissance, les levures ont besoin également de sels minéraux et d'oligoéléments nécessaires à de très faibles concentrations (Larpen et Sanglier., 1992). De plus, d'autres facteurs sont essentiels comme les vitamines (la biotine, la thiamine et l'acide pantothénique), qui interviennent lors des réactions enzymatiques, comme des coenzymes (Botton et al., 1990) .

2.5.2. Conditions physico-chimiques

- **Température et pH**

En général, les levures se développent à une gamme de température optimale située entre 25°C et 30°C (Labrecque, 2003). Comme les autres microorganismes, les levures

peuvent être classées en levures psychrophiles, mésophiles et thermophiles. D'une façon générale, les levures ne sont pas aussi tolérantes, telles que les bactéries, aux températures élevées. Les levures se développent surtout en milieu acide : leur optimum de pH se situe entre 4.5 et 6.5 mais elles tolèrent des valeurs entre de 2.5 et 8.0 (Labrecque, 2003).

En dessous de pH 5.5, les levures entrent facilement en compétition avec les bactéries et la plupart d'entre elles supportent des acides organiques et sont inhibées par les acides acétique, citrique et lactique (Larpen, 1990 ; Gournier *et al*, 1994 ; Bourgeois *et al*, 1996).

- **Pression osmotique et activité de l'eau**

L'activité de l'eau (a_w) est le rapport de la pression osmotique (PO) de la vapeur d'eau du milieu sur la pression d'eau distillée à la même température. C'est donc l'état d'équilibre qui s'établit entre l'atmosphère et le produit. La plupart des levures ne peuvent se développer à des $a_w < 0.9$, mais certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées, correspondant à une a_w de l'ordre de 0.6, en ralentissant leur métabolisme. Ce sont des levures xérotolérantes ou osmotolérantes (Bouix et Leveau, 1991 ; Guiraud, 1998). Leur mécanisme de résistance se manifeste par l'accumulation de polyols afin de minimiser la différence de pression osmotique entre la cellule et le milieu et d'hydrater les polymères intracellulaires (Schobert, 1977).

- **Besoin en oxygène**

Toutes les levures peuvent se développer en présence d'oxygène : il n'y a pas de levures anaérobies strictes. Cependant, quelques espèces orientent leur métabolisme vers la fermentation même en présence d'oxygène (*Saccharomyces*) et d'autres préfèrent un métabolisme respiratoire (*Candida* et *Kluyveromyces*) (Leveau ; Bouix, 1993).

2.6. Métabolisme

2.6.1. Métabolisme oxydatif

Ce type de métabolisme nécessite la présence d'oxygène et une concentration en substrat limitée afin d'éviter un changement métabolique vers la production d'éthanol et d'autres co-métabolites. Dans ces conditions, le glucose est oxydé via les voies métaboliques de la glycolyse, du cycle de Krebs et de la phosphorylation oxydative. (Rose et Harrison, 1971 et Van Dijken et Scheffers, 1986).

Ce métabolisme qui conduit à la formation du CO₂ et H₂O est très énergétique et permet aux levures de se maintenir en vie, de synthétiser de la matière organique et de produire de la biomasse (X) avec un rendement cellulaire élevé (Lai, 2010). Dans ce cas l'oxydation du sucre est complète et le bilan énergétique théorique de cette voie métabolique est décrit par l'équation suivante :



2.6.2. Métabolisme fermentaire

En anaérobiose, les levures sont capables de fermenter le glucose en éthanol, en dioxyde de carbone, avec coproduction de glycérol, de certains acides et esters (Leyral et Vierlin, 2007) et Lai, 2010). Le rendement de conversion de biomasse à partir du glucose est divisé par 5 par rapport aux conditions aérobies et 18 fois moins d'ATP est produit (Hencké, 2000). L'équation globale de la fermentation est la suivante :



2.7. Classification des levures

Les levures appartiennent au groupe des champignons supérieurs et se essentiellement en trois classes (Somda, 2012) (Tableau 5) :

- **Les Ascomycètes** : se reproduisent par un processus sexué dans un asque résultant de la transformation d'une cellule après méiose.
- **Les Basidiomycètes** : réalisent une reproduction sexuée avec formation de basidiospores sur une baside.
- **Les Deutéromycètes** : regroupent l'ensemble des levures ne présentant pas de mode connu de reproduction sexuée, ne se multipliant que par reproduction végétative.

La classification de référence est actuellement celle de (Kreger, 1984) qui présente des changements sensibles par rapport à la précédente classification de (Lodder, 1971).

En particulier, de nouveaux critères taxonomiques comme la composition en bases de l'ADN, la structure de la paroi. La classification actuelle répertorie 60 genres et 500 espèces (Labrecque, 2003).

Tableau 5. Classification simplifiée des levures (Alphonse *et al.*, 2004).

Classes	Ordres	Familles	Sous-familles	Genres
Ascomycètes	Endomycétales	Spermophthoraceae Saccharomycetaceae	Shizosaccharomycetoideae Nadsoniideae Lipomycetoideae Saccharomycetoideae	<i>Shizosacchromyces</i> <i>Hanseniaspora</i> <i>Lipomyces</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Hansenula</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Pichia</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Coccidiascus</i>
Basidiomycètes (reproduction sexuée avec basidiospores)	Ustilaginales Tremellales	Filobasidiaceae Levures à téliosporos Sirobasidiaceae Tremellaceae		<i>Filobasidium</i> <i>Leucosporidium</i> <i>Sirobasidium</i> <i>Tremella</i>
Deuteromycètes	Blastomycetales	Cryptococcaceae Sporobolomycetaceae	Cryptococcoideae Rhodotoruloideae Trichosporoideae	<i>Brettanomyces</i> <i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Torulopsis</i> <i>Rhodotrula</i> <i>Trichosporon</i> <i>Sporobolomyces</i>

2.8. Levures et biotechnologie

Au cours des dernières décennies, des recherches importantes ont été entreprises sur les capacités des enzymes à être appliquées industriellement : forte thermostabilité et reproductibilité dans le temps par le biais de la biotechnologie, la biochimie et la microbiologie qui assurent une maîtrise hautement qualifiée, répondant aux besoins industriels, industrie agro-alimentaire ou pharmaceutique (Dali et Hamame, 2016).

Actuellement, les levures, en tant qu'usine cellulaire, sont les sources les plus exploitées dans une large gamme d'applications industrielles biotechnologiques (Karin *et al.*, 2016 ; Dammak *et al.*, 2016 et Singh *et al.*, 2015), en raison de leur thermorésistance avérée et leur caractère non pathogènes (GRAS) (Benamoun L,2017).

2.8.1. Production des boissons alcoolisées

Le rôle traditionnel des levures est la fabrication de boissons alcoolisées, dont la fabrication repose sur la fermentation alcoolique, qui consiste à fermenter les sucres simples en éthanol. Cette propriété, les fait intervenir dans la vinification et de l'élaboration de la bière (Coulibaly *et al.*, 2014). La levure *Saccharomyces cerevisiae*, est la plus utilisée (Leveau et Bouix, 1993).

2.8.2. Panification

Une autre utilisation, connue depuis l'antiquité, est la fabrication du pain : le dégagement de gaz carbonique, qui accompagne la fermentation, permet de faire lever la pâte en lui conférant une texture légère (Dali et Hamame, 2016). On utilise également *S. cerevisiae* (levure de boulanger) (Simon et Meunier, 1970 ; Cofalec, 2006).

2.8.3. Affinage des fromages

Incapables d'utiliser les acides organiques comme source d'énergie et de carbone (Larpen, 1991), les levures participent à l'affinage des fromages ; en consommant l'acide

lactique produit par les bactéries lactiques à partir des composants du lait et contribuent ainsi à réduire l'acidité du caillé (Leveau et Bouix, 1993). En plus de la levure *S.cerevisiae*, de nombreuses espèces ont été introduites comme les genres *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* et *Rhodotorula* (Larpent, 1991).

2.8.4. Production d'alcools industriels

Depuis quelques temps, une nouvelle utilisation des levures est apparue. Les levures, essentiellement des souches du genre *Saccharomyces*, grâce à leur haute capacité fermentaire, peuvent assurer la bioconversion de nombreux substrats saccharosés (jus de betteraves, sirop, mélasse de sucrerie) en bioéthanol (Leveau et Bouix, 1993).

2.8.5. Production d'enzymes et de protéines recombinantes

La production de protéines recombinantes utilisées en thérapie est un marché en nette progression, peut atteindre plus de 20 milliards de dollars à l'horizon 2020 (Gaëlle Fleitour, 2012). Les enzymes digestives et leur utilisation en bio-industries sont très développées. A l'horizon 2015, les lipases occupent 38,5 % du marché suivi par les amylases, 30,5 % marché européen des enzymes dans les applications alimentaires (Morvan, 2010). Les levures constituent une des importantes sources d'enzymes commerciales en raison de leurs capacités polyvalentes et de la frugalité de leurs exigences permettant, d'obtenir une biomasse importante à bas prix (Tableau 6) (Pol, 1996).

Tableau 6. Quelques enzymes industrielles produites par les levures (Dali et Hamame, 2015 ; Bennamoun, 2017).

Enzyme	Code	Type de liaison hydrolysée	Levures	Industrie
Amylase	EC 3.2.1.1	α 1-4 endogène	<i>Lipomycess tarkey.</i> <i>Schwanniomyces castelli.</i> <i>Aureobasidium pullulans.</i>	Préparation des aliments, textile, papeterie, pharmacie , Saccharification de l'amidon, panification

Chymosine	EC 3.4.23.4	Protéase	<i>Klyveromyces</i> sp. <i>S.cerevisiae.</i>	Préparation des aliments
Estérase	EC 3.1.1.73	Il hydrolyse les liaisons entre les fractions d'acide uronique du xylane et le polymère de lignine	<i>A. pullulans.</i>	Applications alimentaires et pharmaceutiques, papeterie, industrie chimique production de carburants
β -galactosidase	EC 3.3.1.23	β -1-4 du lactose	<i>Saccharomyces</i> sp.	Applications alimentaires
Pullulanase	EC 3.2.1.41	catalyse l'hydrolyse des liaisons osidiques α -D-(1 \rightarrow 6) du pullulane, de l'amylopectine et du glycogène, ainsi que celles des dextrines limites α et β de ces deux derniers. Les pullulanases de type I attaquent spécifiquement les liaisons α -(1 \rightarrow 6) tandis que les pullulanases de type II sont également capables d'hydrolyser les liaisons α -(1 \rightarrow 4)	<i>A. pullulans.</i>	Brasserie, panification, domaine médical et pharmaceutique, industrie chimique (détergents pour lave-vaisselle)
Pectinase	EC 3.2.1.15	Hydrolyse la pectine	<i>A. Pullulans.</i>	Extraction et clarification des jus de fruit, traitement des eaux usées, fermentation du thé et du café, extraction des huiles
Lactase	EC 3.2.1.108	Hydrolyse la liaison β (1-4) du lactose en galactose et glucose	<i>Candida pseudotropicalis</i> <i>Klyveromyces fragilis</i> <i>Candida</i>	Préparation des aliments laitiers
Mannanase	EC 3.2.1.78	d'hydrolase d'hémicellulose qui peut détruire la liaison β -1,4-	<i>A. Pullulans.</i>	Papeterie, bioconversion

		glycosidique et dégrader le β -mannane , le galactomannane et le gluco-mannane en mannan-huile glucosique et mannose.		desdéchets en sucres fermentescibles,réduction de la viscosité desextraits de café, production de manno-oligosaccharides
Lipase	EC 3.1.1.3	Hydrolyse les liaisons sn1 et sn3 des triacylglycérols ou TG	<i>Candida lipolytica</i> <i>Candida rigosa</i> <i>Saccharomycopsis lipolytica</i> <i>Pseudozyma antarctica</i> <i>Trichosporon fermentum</i> <i>Yarrowialipolytica</i>	Préparation des aliments Thérapeutique Aromes Dégraissage, biorestauration Thérapeutique, détergents
Protéase	EC3.4.21.X EC3.4.22.X EC3.4.23.X EC3.4.24.X	catalysent l'hydrolyse des protéines.	<i>A. pullulans.</i> <i>Candida,</i> <i>Debaryomyces.</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Brasserie, panification, domaine médical et pharmaceutique, industrie chimique,affinage des fromages.

1. Echantillons de lait

Trois échantillons de laits crus de chamelle ont été collectés à partir de troupeaux de chameaux de trois régions du sud Algérien : Biskra (El outaya), Ghardaïa (Zelfana) et El Oued (Stil) (Figure 8). Les différents échantillons, mis dans des bouteilles en verre stériles, sont gardés au frais (4°C) puis transférés au laboratoire pour être analysés immédiatement.



Figure 8. Géolocalisation des régions d'échantillonnage de lait.

2. Isolement des levures

Dix millilitres de chaque échantillon sont introduits dans 90 ml d'eau distillée stérile. Les solutions sont ensuite agitées pendant 5 minutes à l'aide d'un agitateur Vortex. Cette suspension est considérée comme étant la solution mère. Une série de dilutions décimales (10^{-1} jusqu'à 10^{-7}) est ensuite préparée à partir de la solution mère. Un échantillon de 1 ml de chaque dilution est ensuite étalé sur milieu YGCA (Annexe 1) (Figure 9).

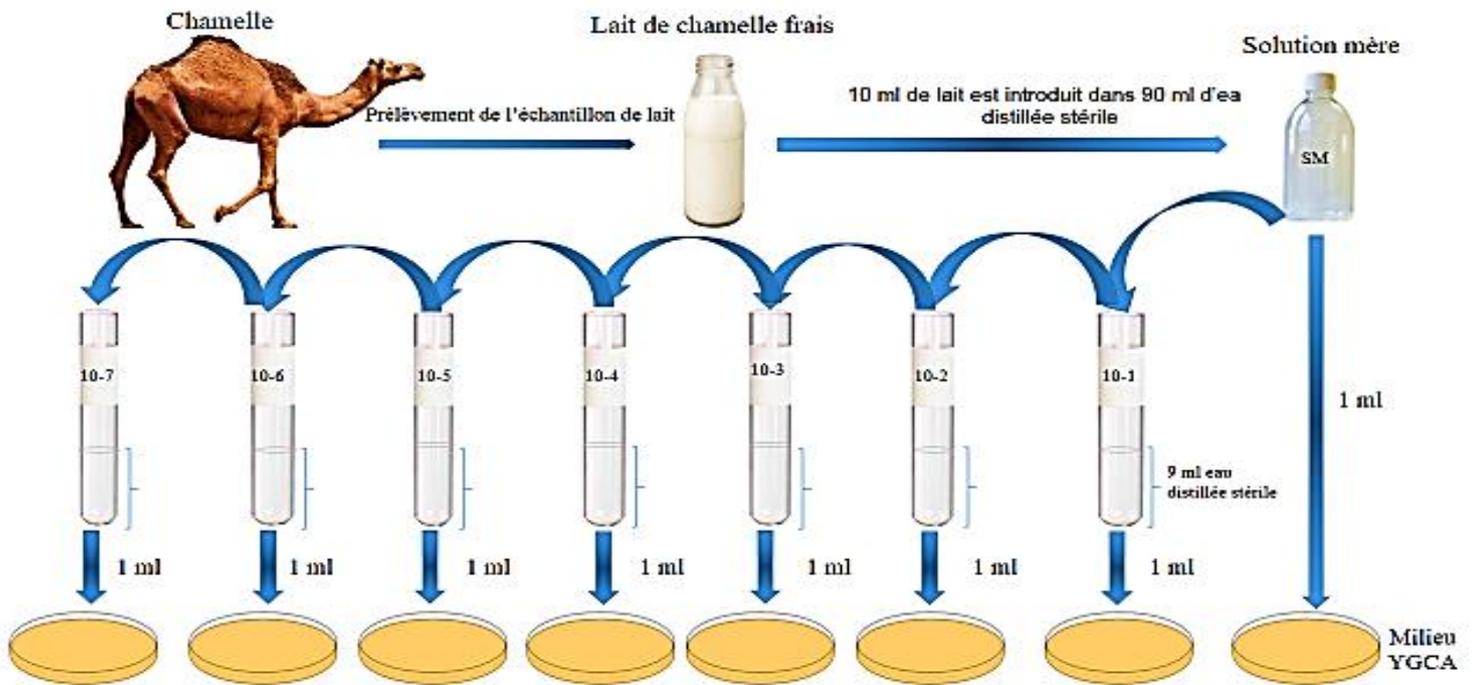


Figure 9. Isolement des levures à partir du lait camelin.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 25°C pendant 5 jours. Les colonies bien isolées, sont observées au microscope à l'objectif 100 en utilisant l'aide de l'huile à immersion, pour vérifier la morphologie et l'homogénéité des cellules.

3. Purification et conservation des levures isolées

Après isolement, les isolats de levures sont purifiés par stries d'épuisement sur milieu YPGA (Annexe 2). L'incubation est réalisée à 25°C pendant 72 h. Les aspects macroscopique et microscopique sont ensuite examinés afin de vérifier la pureté de la souche. Les cultures pures sont conservées sur le même milieu en gélose inclinée puis stockée à 4°C.

4. Mise en évidence des activités enzymatiques

Le principe de la mise en évidence des activités enzymatiques est l'observation de l'apparition des zones de lyse directement ou bien après l'utilisation des colorants spécifiques.

4.1. Activité protéolytique

La mise en évidence de l'activité protéolytique des souches isolées est testée sur un milieu lait écrémé - Agar (Annexe 3). 10 µl d'inoculum de la suspension de chaque isolat de levures est déposé sous forme de spots à la surface du milieu gélosé. Après 5 jours d'incubation à 25°C, l'apparition d'une auréole claire autour des colonies indique la production de la protéase (Bennamoun, 2017).

4.2. Enzymes lipolytiques

4.2.1. Activité lipase

La recherche de l'activité lipase est réalisée sur milieu Peptone Tween 20 agar (Annexe 4). Les boîtes de Pétri sont incubées à 25°C pendant 5 jours, après avoir déposé un inoculum de 10 µl de chaque souche isolée en spots à la surface de la gélose. La production de lipase est révélée par l'apparition des cristaux insolubles autour du site d'inoculation (Sierra, 1957 ; Kumar *et al.*, 2012).

4.2.2. Activité estérase

La mise en évidence de l'activité estérase des levures isolées est réalisée sur milieu Peptone Tween 80 agar (Annexe 5). Après 5 jours d'incubation à 25°C, l'apparition d'un halo opaque autour des colonies traduit la production de l'estérase (Kumar *et al.*, 2012).

5. Identification des levures isolées selon les méthodes conventionnelles

L'identification des levures selon les méthodes conventionnelles est basée sur l'étude des caractères morphologiques (macroscopiques et microscopiques), biochimiques et physiologiques (Kurtzman *et al.*, 2011).

5.1. Etude des caractères cultureux

Les caractères cultureux des souches isolées sont étudiés en milieu liquide et sur milieu solide.

5.1.1. Caractères cultureux en milieu liquide

L'aspect des cultures en milieu liquide est étudié dans des tubes à essai contenant le milieu YPG liquide (Annexe 6). Les cultures sont incubées à 25°C et observées après 3, 7, 14 et 28 jours. L'aspect de la culture de chaque isolat est soigneusement noté : la présence de dépôt au fond du tube (sédimentation des cellules) ainsi que la présence d'un anneau, de voile ou de pellicule en surface.

5.1.2. Caractères cultureux sur milieu solide

Cette étude est faite sur milieu YPG gélosé. L'ensemencement se fait en stries. Après incubation pendant 1 - 7 jours à 25°C, des observations sur la forme, la couleur, l'aspect et la pigmentation des colonies sont notées avec précision.

5.2. Etude des caractères morphologiques

5.2.1. Morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative

Cette étude a pour but l'examen microscopique de la forme, de la taille, de l'arrangement et du mode de reproduction végétative des cellules. L'examen est réalisé à l'état frais (grossissement x 100) de frottis préparés à partir de colonies fraîches bien isolées sur milieu YPGA.

5.2.2. Test de filamentation

L'aptitude à la filamentation est observée à partir d'une culture sur milieu PDA (Annexe 7) en boîte de Pétri. La levure à examiner est ensemencée en une strie longitudinale à la surface du milieu gélosé. Une lamelle stérile est ensuite placée sur le centre de la strie. L'observation microscopique (grossissement x 100) se fait sur une période allant de 3 à 7

jours. La bordure de la culture, sa filamentation ainsi que la nature du mycélium (pseudomycélium ou vrai mycélium) sont notées.

5.2.3. Test de sporulation

La sporulation est observée à partir d'une culture sur milieu PDA en boîte de pétri. Les levures sont ensemencées à la surface du milieu, puis incubés pendant 10 jours à 25 °C ou elles sont observées au microscope à l'état frais. Si les levures sont capables de faire une reproduction sexuée, la forme des asques, le nombre et la forme des ascospores, leur position, sont notés (Bouix et Leveau, 1991 ; Larpent, 1997).

5.3. Etudes des caractères biochimiques

Les caractéristiques biochimiques étudiées sont l'assimilation de sources de carbone et d'azote et la fermentation de sucres.

5.3.1. Assimilation de substrats carbonés

L'étude de l'assimilation des sources carbonées est réalisée sur milieu minimum YNB (Annexe 8), additionné de 0.5% de source de carbone. Ce milieu est ensuite stérilisé dans l'autoclave puis réparti dans des tubes contenant 4.5 ml d'eau distillée stérile (à raison de 0.5 ml/tube). Les tubes sont ensemencés avec 0.1 ml d'une suspension de levures.

Les substrats carbonés testés sont : le D-glucose, le D-galactose, le saccharose, le D-maltose, le lactose et le raffinose, l'arabinose, le mannitol, le rhamnose, le sorbitol, le xylose, l'amidon soluble, le cellulose, l'inositol et le sorbose. La lecture des tubes s'effectue après 7 jours, 14 jours et 21 jours d'incubation à 25°C. L'assimilation de la source carbonée se traduit par une turbidité dans les tubes indiquant la croissance des souches isolées.

5.3.2. Assimilation de substrats azotés

Une suspension de chaque isolat de levures à identifier est préparée dans l'eau distillée stérile. 1 ml de chaque suspension est mélangé avec un milieu synthétique sans azote (Annexe 9) dans les boîtes de Pétri. Des disques stériles en papier Whatman imbibés de solutions à 1%

des substrats azotés à tester sont déposés en surface du milieu gélosé après solidification. Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 5 jours (Larpen, 1997). Les sources d'azote testées sont : le nitrate (KNO₃), la cystéine, le tryptophane, la leucine, l'acide aspartique, l'alanine, la thréonine, l'adénine et la guanine. La peptone et le sulfate d'ammonium sont utilisés comme témoin positif

5.3.3. Fermentation de substrats carbonés

L'étude du métabolisme des glucides par la voie fermentaire, est réalisée en tube de Durham (contenant chacun une cloche de Durham). Les sucres testés sont : le D-glucose, le D-galactose, le saccharose, le D- maltose, le cellulose, le D-lactose, le xylose, l'amidon et le D-raffinose à une concentration finale en sucre de 2% et du raffinose à 4 %. La solution de base utilisée pour la fermentation de sucres est le milieu YP (Annexe 10), réparti dans des tubes de Durham. Les tubes sontensemencés avec 0.1 ml d'une suspension de levures puis incubés à 25°C et observés après 3, 7, 14, 21 et 28 jours. La fermentation se traduit par l'observation d'un dégagement gazeux dans la cloche de Durham.

1. Isolement des levures

L'isolement des levures se fait à partir de 3 échantillons de lait cru de chamelle collectés à travers des régions du Sud Algérien : El Outaya (Biskra), Zelfanaa (Ghardaïa) et Stil (El Oued). Le milieu de culture YGC agar additionné de chloramphénicol à 0.1 g/ litre est utilisé pour l'isolement des levures. Le chloramphénicol sert comme un inhibiteur de la croissance bactérienne car les bactéries lactiques sont présentes en grande quantités dans le lait de chamelle cru (Alaoui Ismaili *et al.*, 2016). Un total de 23 souches de levures (A – W) sont isolées et répertoriées. Leur répartition en fonction des sites d'échantillonnage est récapitulée dans le Tableau 7

Tableau 7. Isolement des levures à partir de différents échantillons du lait de chamelle.

Origine	Dilution	Code de la Souche
Lait de chamelle (El Outaya, Biskra)	SM	A, B, C
	10^{-1}	D, E, F, P, S, U
	10^{-3}	G
Lait de chamelle (Zelfana, Ghardaïa)	SM	H
	10^{-7}	R
Lait de chamelle (Stil, El Oued)	SM	I, J, K, T, W
	10^{-1}	M, L
	10^{-4}	N, O, Q, V

L'analyse des résultats montre que les échantillons de lait de chamelle collectés à partir des régions d'El Outaya, Biskra et de Stil, El Oued renferment plus de souches de levures (43.5 % et 47.8 %, respectivement) par rapport à l'échantillon du lait de la région de Zelfana, Ghardaïa (8.7 %). Ce résultat indique que l'environnement géographique ainsi que les conditions d'élevage de l'animal, qui déterminent la qualité et la variabilité du lait de chamelle, peuvent probablement influencer sur la microflore de ce lait.

2. Mise en évidence des activités enzymatiques chez les isolats de levures

Les tests de la mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques (lipase et estérase) chez les 23 isolats de levures à partir de lait cru de chamelle indiquent que la majorité des souches isolées présente au moins une activité enzymatique (Tableau 8).

Tableau 8. Résultat des tests de la mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques chez les 23 isolats de levures.

Souches	Estérase	Lipase	Protéase
A, B, C, E, G, V	-	-	-
D, F, H, N, O, Q, R, U	-	+	-
I, J, K, L, M, T, W	-	-	+
P	+	-	+
S	-	+	+

2.1. Sélection des souches protéolytiques

Les résultats du test de la mise en évidence de l'activité protéolytique chez les 23 souches isolées montre qu'après 5 jours d'incubation à 25°C sur le milieu Lait écrémé Agar, un développement d'une zone de lyse (halo clair) est observé autour de 9 colonies des souches I, J, K, L, M, P, S, T et W (Figure 10). Elles présentent donc une activité protéolytique, tandis que les autres souches n'en possèdent pas.

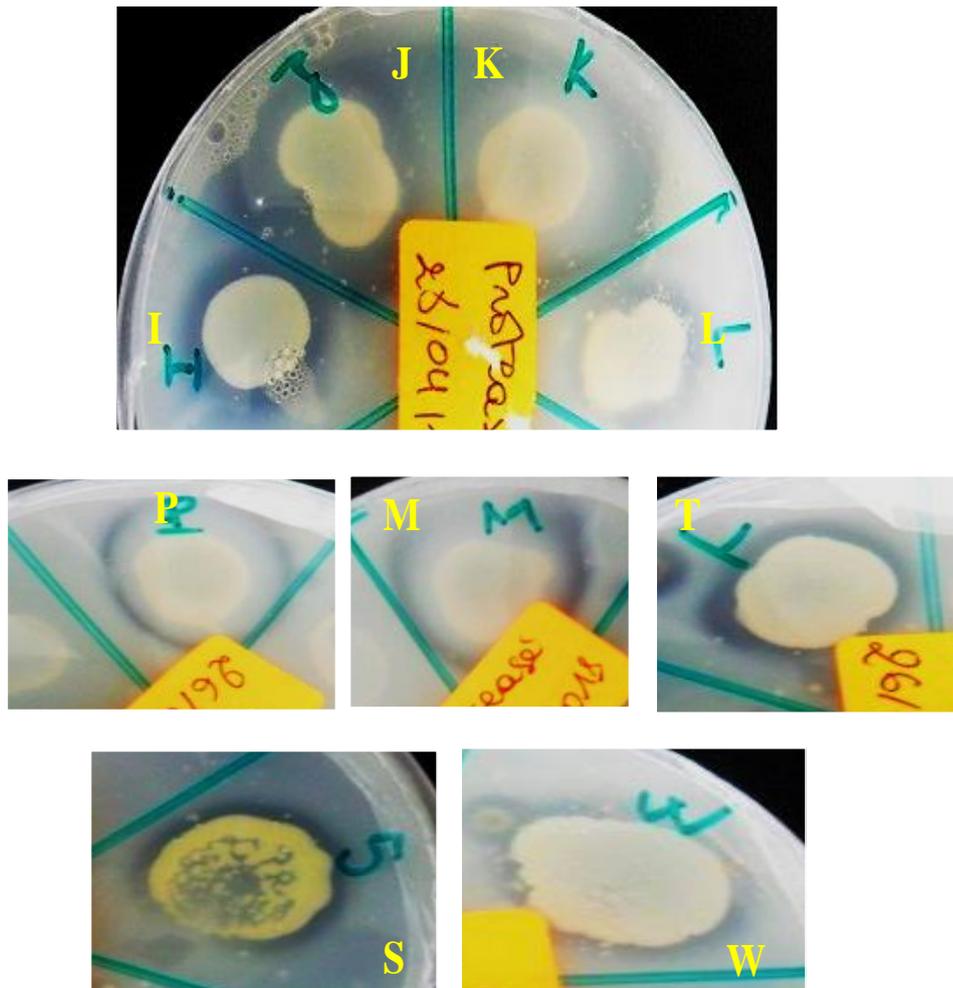


Figure 10. Résultats du test de la mise en évidence de l'activité protéolytique. Développement de zones claires pour les souches I, J, K, M, P, S, T et W, après 5 j d'incubation à 25 °C.

2.2. Sélection de souches productrices de lipase

Le Tween 20 constitue l'inducteur de l'activité lipasique. En sa présence les levures lipolytiques secrètent la lipase qui va diffuser et hydrolyser le Tween et libère des acides gras qui se lient au calcium dans le milieu pour former des cristaux insolubles autour du point d'inoculation. Les résultats de la mise en évidence de l'activité lipasique révèlent que les souches D, F, H, N, O, Q, R, S et U sont productrices de lipase (Figure 11).

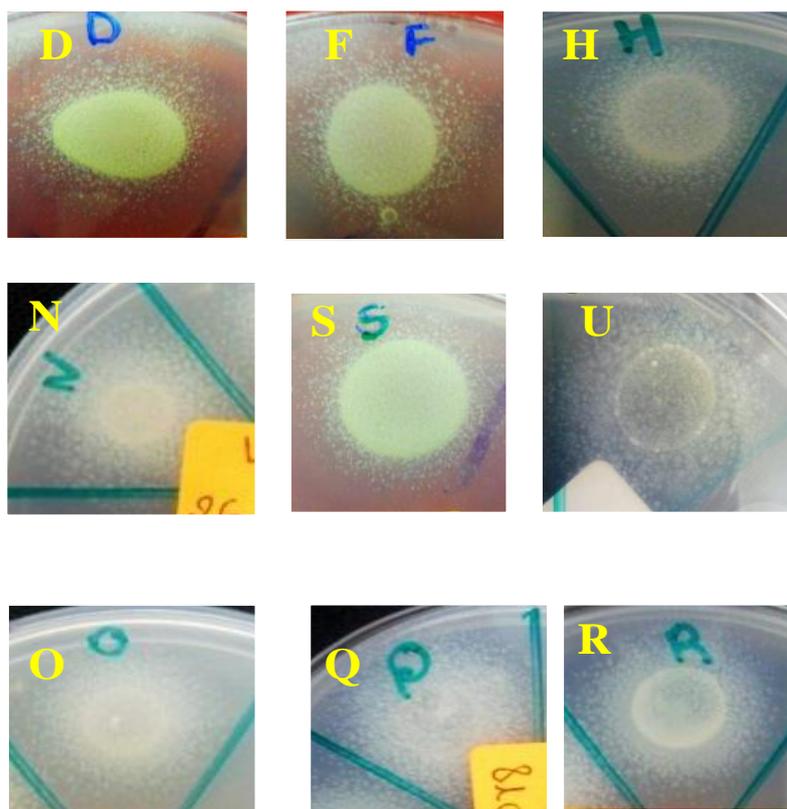


Figure 11. Résultats du test de la mise en évidence de l'activité lipolytique. Dépôts de cristaux insolubles autour des colonies des souches D, F, H, N, O, Q, R, S et U, après 5 j d'incubation à 25 °C.

2.3. Sélection de souches productrices d'estérase

La sélection des souches isolées sur le milieu Tween 80 Agar montre que seule la souche P a développé un halo opaque autour de la colonie (Figure 12). Ceci signale sa capacité à produire l'estérase. Les acides gras libérés se lient au calcium incorporé dans le milieu. Le complexe de calcium est visible sous forme de cristaux insolubles autour de la colonie (Aktas et *al.*, 2002).



Figure 12. Résultats du test de la mise en évidence de l'activité de l'estérase.

Selon la littérature, les levures sont généralement détectées, en grand nombre, dans les produits laitiers (lait cru, lait fermenté, fromages, etc.) reflétant une bonne adaptation à un substrat riche en protéines, en lipides, en sucres et en acides organiques. Cette large distribution est la conséquence de la production des activités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques extracellulaires par les souches de levures ainsi que l'assimilation et/ou la fermentation du lactose (Corbaci *et al.*, 2012).

En effet, l'activité protéolytique de différentes souches de levures est bien connue. Selon les études bibliographiques, la levure *Y. lipolytica* est capable de produire une protéase qui hydrolyse la caséine β (Das, 2004).

D'autre part, un grand nombre de levures sont des productrices actives de lipase (Das, 2004). Bataiche (2014) a isolé 116 souches de levures à partir des produits laitiers et qui sont positives à la production de lipase extracellulaire. Ceci du probablement à la richesse des produits laitiers en matière grasse.

Des espèces de levures telles que *Candida*, *Kluyveromyces* et *Pichia* ont été rapportées comme étant de bons producteurs de lipase isolés du lait cru (Cocolin *et al.*, 2002).

3. Identification conventionnelle des isolats de levures

3.1. Caractères cultureux

3.1.1. Sur milieu solide

L'étude des caractères cultureux sur milieu solide est faite après 3 jours d'incubation à 25°C sur milieu YPGA. L'observation des boîtes montre que les colonies possèdent en commun une forme ronde, une couleur crème, un profil élevé, une marge entière et une surface lisse et brillante. Cependant des différences d'aspect sont notées chez les souches Q et S qui présentent des colonies beiges et blanches, respectivement. La taille des colonies est comprise entre 0.5 et 2 mm (Tableau 9).

Tableau 9. Caractères cultureux des isolats de levures après 3 jours d'incubation à 25°C sur milieu YPGA.

Code de la souche	Caractères cultureux sur milieu solide	Vue d'ensemble de la boîte
K	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie ronde, crème et butyreuse • Surface lisse et brillante • Marge entière • Elevé • La taille : 1- 2 mm 	
O	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie crème, ronde et crémeuse • Surface lisse et brillante • Marge entière • Elevé • La taille : 0.5- 1 mm 	

<p>P</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie crème, ronde et crémeuse • Surface brillante et lisse • Marge entière • Elevé • La taille : 0,5- 1 mm 	
<p>Q</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie ronde, beige et crémeuse • Surface lisse et brillante • Marge entière • Elevé • La taille : 1- 2 mm 	
<p>S</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie ronde, blanche et crémeuse • Surface lisse et brillante • Marge entière • Elevé • La taille : 2 mm 	

3.1.2. En milieu liquide

La croissance des isolats de levures en milieu YPG liquide se manifeste de façon différente. Après 3 jours d'incubation à 25°C, on observe l'apparition d'un dépôt chez

l'ensemble des souches. La formation d'un anneau en surface est observée chez les souches O, P et Q. On observe également la présence d'une pellicule qui nappe la paroi chez l'ensemble des souches, excepté pour P (Figure 13). Elle correspond à des polysaccharides produits par cette souche (Rezki-Bekki, 2014). La formation d'un voile est observée chez l'ensemble des souches à l'exception des deux souches P et S (Tableau 10).

Tableau 10. Caractères culturels des isolats de levures après 3 jours d'incubation à 25°C sur milieu YPG liquide.

Code de la souche	Dépôt	Anneau	Pellicule	Voile
K	+	-	+	+
O	+	+	+	+
P	+	+	-	-
Q	+	+	+	+
S	+	-	+	-

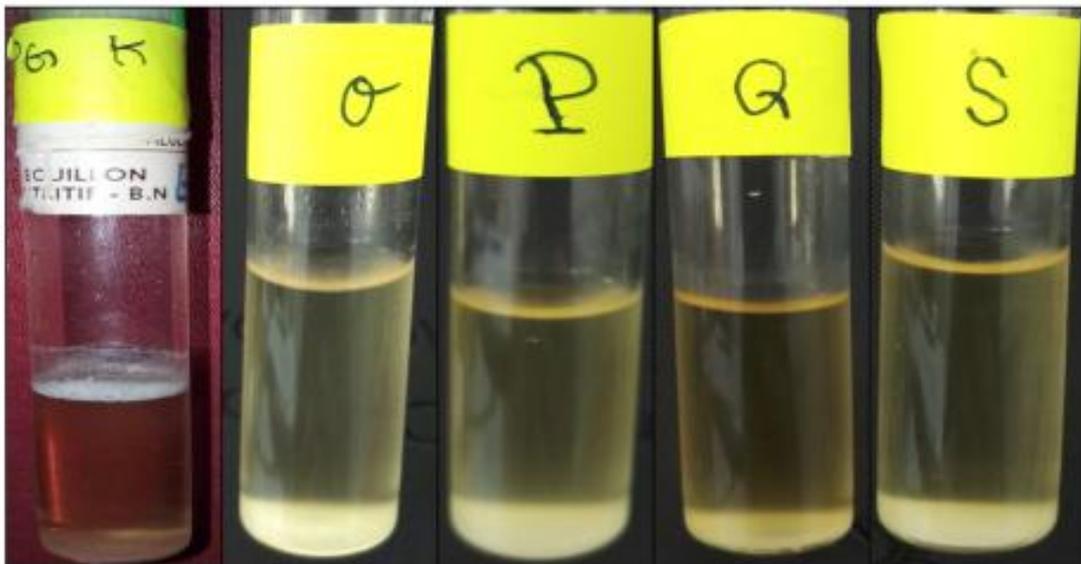


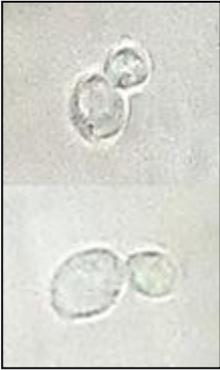
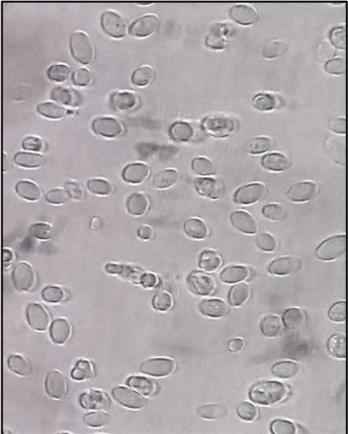
Figure 13. Aspect des cultures sur milieu YPG liquide après 3 jours d'incubation à 25°C.

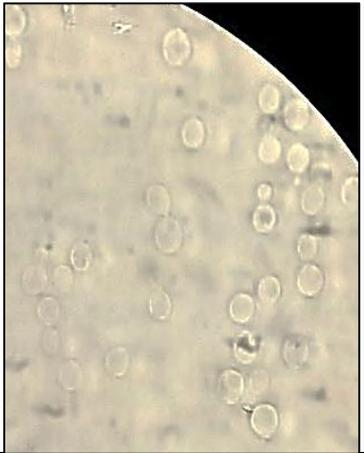
3.2. Caractères morphologiques

3.2.1. Morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative (asexuée)

Après une croissance de 3 jours et à 25°C sur milieu YPGA, l'examen microscopique à l'état frais (grossissement x 100) a montré que la morphologie des cellules est variable et est résumée dans le tableau 11. Elle est ronde chez la souche P, ronde à ovale chez la souche O, ovale allongée chez la souche K, ronde...chez la souche Q et ovoïde chez la souche S. Le mode de reproduction végétatif se fait par bourgeonnement pour la totalité des souches. Il est unipolaire chez les souches P et latéral chez les souches K, O, Q et S.

Tableau 11. Morphologie cellulaire des isolats de levures après 3 jours d'incubation à 25°C sur milieu YPGA.

Souche	Caractères morphologiques	Photographie microscopique (Grossissement x 100)	
K	<ul style="list-style-type: none"> • Cellules ovales allongées • Bourgeonnement latéral 		

<p>O</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cellules rondes à ovales • Bourgeonnement latéral 		
<p>P</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cellules rondes • Bourgeonnement unipolaire 		
<p>Q</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cellules rondes • Bourgeonnement latéral 		

S	<ul style="list-style-type: none">• Cellules ovoïdes• Bourgeonnement latéral	 
---	---	---

3.2.2. Test de filamentation

Après 7 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA, le résultat du test de filamentation révèle la présence d'un pseudo mycélium chez la souche O et S et un vrai mycélium septé chez la souche Q (Figure 14). Par contre, les souches K et P sont incapables de développer des filaments mycéliens.

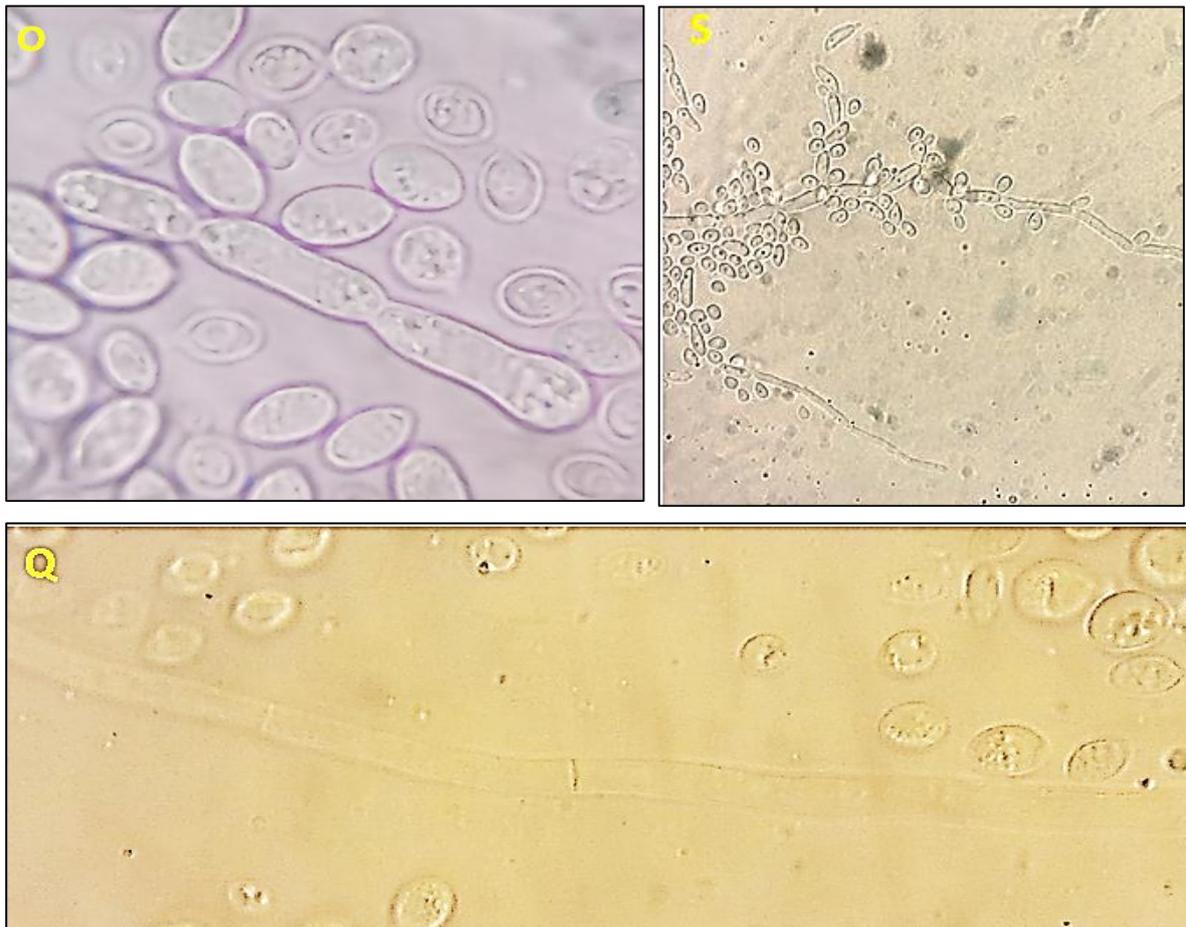


Figure 14. Test de filamentation des souches O, Q et S après 7 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA

3.2.3. Test de sporulation

Après 10 jours d'incubation à 25 °C sur milieu PDA, les cultures sont observées sous microscope (Grossissement x 100). Les souches étudiées sont capables de faire une reproduction sexuée avec formation des asques contenant 1 à 4 ascospores (Figure 15).

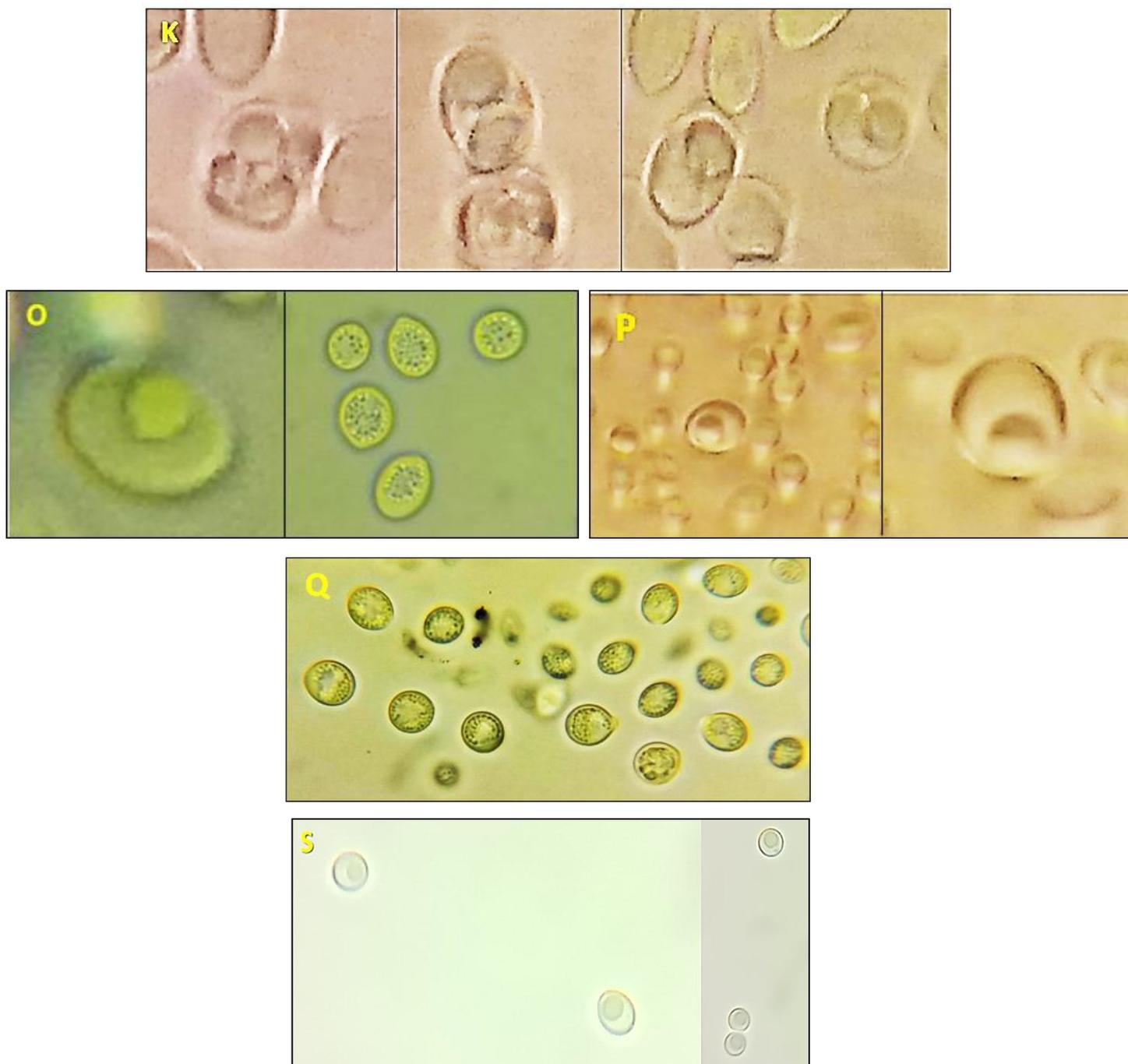


Figure 15. Test de sporulation des souches K, O, P, Q, S Après 10 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA (Grossissement x 100).

3.3. Caractères biochimiques

3.3.1. Assimilation des sources carbonées

Le test d'assimilation des substrats carbonés montre que les souches K, O et Q sont capables d'assimiler tous les sucres testés à l'exception de l'inositol pour la souche K et l'amidon pour les souches O et S. Les souches P et S sont capables d'assimiler la totalité des sucres à l'exception du lactose, de l'amidon et de l'inositol. De plus, la souche S est incapable d'assimiler le rhamnose (Tableau 12).

Tableau 12. Résultat du test d'assimilation des sources carbonées

Code de la souche	Substrats carbonés														
	D-glucose	D-galactose	Saccharose	D-maltose	Lactose	Raffinose	Arabinose	mannitol	Rhamnose	Sorbitol	Xylose	Amidon	Cellubiose	Inositol	Sorbose
K	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
P	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
Q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
S	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+

(+) : assimilation ; (-) : pas d'assimilation.

3.3.2. Assimilation des sources azotées

Le test d'assimilation des substrats azotés montre que les 5 souches étudiées sont capables d'assimiler au moins deux substrats azotés comme étant le cas de la souche Q dont elle est capable d'assimiler la peptone et la leucine. Les résultats pour les autres souches sont présentés dans le tableau 13

Tableau 13. Résultat du test d'assimilation des sources azotées des isolats de levures.

Code de la souche	Substrats azotés												
	Peptone	Sulfate	KNO ₃	Cystéine	A-aspartique	Tryptophane	A-glutamine	Leucine	Alanine	Glutamique	thréonine	Adénine	Guanine
K	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
O	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
Q	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
S	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

(+) : assimilation ; (-) : pas d'assimilation.

3.3.3. Fermentation des sucres

Le résultat du test de fermentation des sucres montrent que les souches isolées à partir de lait de chamelle sont incapables de fermenter les sucres testés, excepté pour Q qui est capable de fermenter le D- glucose, D- galactose, le D- lactose, xylose et l'amidon (Tableau 14).

Tableau 14. Résultat du test de fermentation des sources azotées des isolats de levures.

Code de la souche	Fermentation de sucres									
	D-glucose	D-galactose	Saccharose	D- maltose	Cellubiose	D-lactose	Xylose	Amidon	D-raffinose	
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Q	+	+	-	-	-	+	+	+	-	
S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

L'analyse des résultats de l'identification par la méthode conventionnelle, montre que les souches K, O, P, Q et S semblent probablement appartenir aux genres *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* et *Udeniomyces*.

Les souches K, Q semblent appartenir au genre *Debaryomyces*. En effet les caractères présentés par ces souches (couleur crème et lisses, cellules ovoïdes, reproduction végétative par bourgeonnement latéral, présence d'un dépôt et la fermentation est absente et parfois présente) se rapprochent énormément à ceux cités par Lodder et Kreger-van Rij (1952) pour l'identification de ce genre.

La souche O a des colonies de forme sphérique à ovoïde, de couleur crème et d'une marge entière, présence ou absence de filaments. Cette souche semble appartenir au genre *Kluyveromyces* selon Van der Walt (1971).

La souche S possède des colonies blanches, lisses et brillantes et les cellules sont de formes ovoïdes, et possède un pseudomycellium, absence de fermentation. Ces caractéristiques se rapprochent à ceux cités par Berkhout (1923) pour l'identification du genre *Candida*.

Pour la souche P, elle est de couleur crèmeuse, cellule allongées, se reproduisent végétativement par bourgeonnement latéral, elle est capable d'assimiler le nitrate. D'après Nakase et Takematsu (1992) cette souche semble appartenir au genre *Udeniomyces*.

Les méthodes d'identification par les méthodes conventionnelles sont sûres, mais la détermination de l'espèce exige des tests d'assimilation d'autres substrats carbonés et azotés, des tests de fermentation d'autres sucres, des tests physiologiques ainsi que des méthodes d'identification moléculaire.

Conclusion et perspectives

L'isolement des espèces de levure à partir des échantillons du lait de chamelle issu des régions du sud Algérien : El-outaya (Biskra), Stil (El Oued) et Zelfana (Ghardaïa) s'est révélé intéressant, et a permis l'obtention de 23 souches levuriennes.

La mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques (lipase et estérase) chez les 23 isolats de levures montre que, 9 souches (D, F, H, N, S, U, O, Q, R) sont productrices de lipase, 9 souches (I, J, K, L, P, M, T, S, W) sont productrices de protéase et une seule souche (P) est productrice d'estérase.

Les souches P et S qui présentent plus d'une activité enzymatique (Estérase et protéase ou lipase et protéase) sont sélectionnées pour l'identification par la méthode conventionnelle. De plus, La souche K productrice une seul activité enzymatique protéase parmi les 9 souches. Les deux souches O et Q (deux aspects différents) parmi le groupe présentant une seul activité lipolytique.

L'étude des caractères cultureux sur milieu solide YPGA montre que les colonies possèdent en commun une forme ronde, une couleur crème, un profil élevé, une marge entière et une surface lisse et brillante.

La croissance des isolats de levures en milieu YPG liquide se manifeste de façon différente. Cependant, on observe l'apparition d'un dépôt chez l'ensemble des souches.

Après une croissance sur milieu YPGA, l'examen microscopique à l'état frais a montré que la morphologie des cellules est variable et le mode de reproduction végétatif se fait par bourgeonnement pour la totalité des souches.

Le résultat du test de filamentation sur milieu PDA chez la souche Q et pseudo mycélium chez les souches O et S. Par contre, les souches K et P sont incapables de développer des filaments mycéliens.

Pour la sporulation sur le milieu PDA, les résultats montre que toutes les levures sporulent.

D'après l'analyse des résultats obtenus les souches K, O, P, Q et S semblent probablement appartenir aux genres *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Udenomyces*, *Debaryomyces* et *Candida*, respectivement.

A la lumière de ce travail plusieurs points peuvent se constituer en perspectives :

- Identification par biologie moléculaire et une identification physiologique pour compléter l'identification biochimique en utilisant les différentes méthodes disponibles.
- L'étude de la cinétique de nos souches pour qu'elles puissent être utilisées en industrie alimentaire.

Résumé :

L'objectif principal de cette étude est l'isolement des levures à partir des échantillons du lait de chamelle pour des applications biotechnologiques. L'isolement sur milieu YGC Agar permet de répertorier 23 souches de levures. La mise en évidence de leurs activités protéolytique et lipolytique (lipase et estérase) sur milieux Lait écrémé Agar, Tween 20 Agar et Tween 80 Agar, respectivement, révèle qu'un total de 17 souches sont productrices d'activités enzymatiques. Les souches P et S sont capables de produire deux activités enzymatiques (estérase/protéase et lipase/protéase, respectivement). De plus, la souche K, qui présente une seule activité enzymatique, semble avoir une bonne activité protéolytique. Les souches O et Q, qui présentent des aspects différents, semblent avoir une bonne activité lipolytique. L'étude des caractères culturels des 5 souches sélectionnées (K, O, P, Q et S) révèle l'apparition d'un dépôt chez la totalité des souches étudiées. Le test d'assimilation des substrats carbonés montre que les souches étudiées assimilent la majorité des sources testées. L'assimilation des substrats azotés indique que les 5 isolats de levures assimilent au moins deux sources azotées. La souche Q présente un pouvoir de fermentation. La reproduction sexuée est présente chez les 5 souches étudiées. De plus Les souches O et S sont capables de développer un pseudomycélium, tandis que la souche Q développe un vrai mycélium. L'analyse des résultats d'indentification montre que les levures K, O, P, Q et S semblent probablement appartenir aux genres *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Udenomyces*, *Debaryomyces* et *Candida*, respectivement.

Par leurs activités enzymatiques, nous pouvons conclure que les souches de levures isolées à partir du lait de chamelle peuvent présenter un intérêt technologique car elles peuvent être utilisées dans la transformation du lait camelin.

Mots clés : levures, isolement, lait de chamelle, enzymes d'intérêt technologique, identification.

Abstract:

The main objective of this study is the isolation of yeasts from camel milk samples for biotechnological applications. The screening for the isolation on YGC Agar medium allows to list 23 yeast strains. Demonstration of their proteolytic and lipolytic (lipase and esterase) activities on Skimmed Milk Agar, Tween 20 Agar and Tween 80 Agar media, respectively, reveals that a total of 17 strains produce enzymatic activities. Strains P and S are capable of producing two enzymatic activities (esterase / protease and lipase / protease, respectively). In addition, the strain K, which has a single enzymatic activity, appears to have a good proteolytic activity. Strains O and Q, which have different aspects, appear to have a good lipolytic activity. The study of the cultural characteristics of the 5 selected strains (K, O, P, Q and S) reveals the appearance of a deposit for the totality of the studied isolates. The assimilation carbon substrates show that the studied strains assimilate the majority of the sources tested. The assimilation of nitrogenous substrates indicates that the 5 yeast isolates assimilate at least two nitrogen sources. The strain Q has a fermentation capacity. Sexual reproduction is present in the 5 strains studied. In addition, strains O and S are capable of developing a pseudomycelium, whereas strain Q develops a true mycelium. The analysis of the identification results shows that the yeasts K, O, P, Q and S probably appear to belong to the genera *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Udenomyces*, *Debaryomyces* and *Candida*, respectively.

By their enzymatic activities, we could conclude that the 5 yeasts strains isolated from camel milk may present a potential biotechnological application because they can be used in camel milk processing.

Key words: yeasts, isolation, camel milk, enzymes of technological interest, identification.

ملخص:

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو عزل الخمائر من عينات حليب الإبل للتطبيقات البيوتكنولوجية. العزلة على وسط YGC-AGAR يجعل من الممكن قائمة 23 سلالة من الخمائر. اظهر اختبارالنشاطية الانزيمية للسلالات المعزولة (انزيم البروتياز، الليباز و الاستراز) على وسط حليب منزوع الدسم (- Agar) ،

Tween 80-Agar و Tween 20 - Agar) على التوالي ان 17 سلالة لهم نشاطية انزيمية. السلالتين P و S لهما نشاطية انزيمية (استراز/ بروتياز و ليباز/ بروتياز) على التوالي. من جهة اخرى السلالة K لها نشاطية انزيمية واحدة (بروتينية). السلالتين Q و O لهما مظهر مختلف و لآكن نشاطية جيدة لانزيم الليباز. وتكشف دراسة الخصائص الثقافية للسلالات الخمسة المختارة K ، O ، P ، Q و S ترسب في جميع السلالات المدروسة. اختبار الاستيعاب من ركائز الكربون يدل على أن السلالات دراسة استيعاب غالبية المصادر التي تم اختبارها. ويشير استنتبات الركائز النيتروجينية إلى أن العزلات الخمس الخميرة تستوعب على الأقل اثنين من مصادر النيتروجين. تمتلك سلالة Q قدرة تخمير. الاستنساخ الجنسي موجود في السلالات 5 المدروسة. بالإضافة إلى ذلك ، السلالات O و S قادرة على تطوير *pseudomycelium* ، في حين أن سلالة Q تطور *mycelium* حقيقي. ويظهر تحليل نتائج تحديد الهوية أن الخمائر K و O و P و Q و S ربما تنتمي إلى الجينات *Debaryomyces* و *Kluyveromyces* و *Udenomyces* و *Debaryomyces* و *Candida* على التوالي. وبالنسبة للأنشطة انزيم، يمكننا أن نستنتج أن سلالات الخميرة معزولة من حليب الإبل قد يكون له مصلحة التكنولوجية لأنها يمكن أن تستخدم في تجهيز حليب الإبل.

الكلمات المفتاحية: الخمائر ، العزلة ، حليب الإبل ، الإنزيمات ذات الأهمية التكنولوجية ، تحديد الهوية.

Abbas S, Ashraf H, Nazir A, Sarfraz L. (2013). Physico-Chemical Analysis and Composition of Camel Milk. *International Research* 2, p: 85-98.

Abdel-Rahim AG. (1987). The chemical composition and nutritional value of camel (*Camelus dromedarius*) and goat (*Capra hircus*) milk. *World Rev Anim Prod*, p 23;9-11.

Abdurahman OA. (2006). Udder health and milk quality among camels in the Errer valley. *Livest Res for Rural Dev*, p: 18.

Abu-Lehia IH. (1987). Composition of camel milk. *Milchwissenschaft*, p: 42; 368-371.

Agrawal RP, Jain S, Shah S, Chopra A, Agarwal V. (2010). Effect of camel milk on glycemic control and insulin requirement in patients with type 1 diabetes: 2-years randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, p : 65 ; 1048–1052.

Alaoui Ismaili M. Saidi B. Zahar M. Hamama A. Ezzaier R. (2016). Composition and microbial quality of raw camel milk produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. .12.001.

Alphonse M, Jose D, Bernarda. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. Ed. Wolters Kluwer, France, p: 430.

Amany S, Mahmoud A, Ahmed M. (2005). Anti-schistosomal activity of colostral and mature camel milk on *Schistosoma mansoni* infected mice. *Asia Pacific journal of Clinical Nutrition*, p: 14; 432–438.

Applied microbiology and biotechnology. 74 : 1205-121.

Ascomycetous Yeasts and Yeast-like Taxa. In: C.P. Kurtzman., J.W. Fell., T. Boekhout ;Ed, *The Yeasts, a Taxonomic Study*. Elsevier, London, p: 304.

Attia H, Kherouatou N. (2001). Dromedary milk lactic acid fermentation: microbiological and rheological characteristics. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, p: 26; 263-270.

Références bibliographiques

Aust. Journal of Dairy Technology. **41**, 33-35.

Bachmann T. (1992). Quality control at reception in: handbook on milk collection in warm developing countries. Brussels: IDF.

Baffi M.A, Tobal T, Lago J.H.G.,Da-Silva R. (2013). Wine aroma improvement using a β -Glucosidase preparation from *Aureobasidium pullulans*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, p: 169; 493–501.

Bakker B M, Overkamp K M, Van-Maris A J A, Kötter P, Luttik M A H, Van-Dijken J P, & Pronk, J T. (2001). Stoichiometry and compartmentation of NADH metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS). Microbiology Reviews*, 25(1), p: 15–37.

Bataiche I. (2014). Recherche de nouvelles potentialités de *Yarrowia lipolytica*, isolé de différents milieux naturels pour des applications biologiques. Thèse de doctorat. Université Constantine1, p : 89.

Bayoumi S. (1990). Studies of composition and rennet coagulation of camel milk. *Kieler Milchwirtschaft Forschung berichte*, p : 42 ; 3-8.

Ben amara F. (2017). Contribution à l'étude de la caractérisation phénotypique des dromadaires de course (cas de la région d'Ouargla). Mémoire de Master Académique. Université Kasdi Merbah- Ouargla. 31.

Benaouida K. (2008). Etude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême (sol environnant des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Mémoire Magistère. Université Mentouri. Constantine, p : 104.

Bennamoun L. (2017). Isolement, sélection de souches levuriennes de sols arides sahariens (El- M'gheir) productrices de polygalacturonase : Purification et caractérisation enzymatique. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri Constantine.

Benyahia L , Mansouri B. (2014). Etude physico-chimique, biochimique et qualité microbiologique du lait camelin cru. Projet de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de Licence. Université Kasdi Merbah- Ouargla, 29.

Bezzala F, Gouttaya A. (2013). Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi- lactation. Mémoire Master Académique. Université Kasdi Merbah- Ouargla, 59

Bitter G A, Kevin M. E. (1984). Expression of heterologous genes in *Saccharomyces cerevisiae* from vectors utilizing the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene promoter. Gene, p : 32 ; 263 -274.

Blin CP. (2002). Etude comparative du catabolisme de l'acide ricinoléique chez les levures du genre *Sporidiobolus* : mise en évidence et caractérisation du système bêta -oxydase impliqué. Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure de biologie appliquée à la nutrition et à l'alimentation, université de Bourgogne, France.

Boekhout T. Eds, The Yeasts, a Taxonomic Study. Elsevier, London, p: 115.

Boiron P. (1996). Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris, p : 19-79.

Botton B, Breton A, Fever M, Gauthier S, Guy P, Larpent J P, Reymond P, Sanglier J J, Vayssier Y, Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles d'importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies, p : 34-381.

Bouix M, Leveau J Y. (1991). Les levures Ds : Bourgeois C.M., Leveau J.Y., Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. Édition 2 Lavoisier-Tec &Doc, Paris. 3 : 206-229.

Bourgeois C M, Mesclej F, Zucca J. (1996). Microbiologie alimentaire Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments_ l'Ille édition Ed. Tec&Doc, p: 672.

Bulliet R. (1975). The Camel and the Wheel. Morningside Book Series. Columbia University Press, p. 183.

Buzzini P. (2000). An optimization study of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* DBVPG 3853 from substrates containing concentrated rectified grape must as the sole carbohydrate source. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, p : 24 ; 41-45.

Castan C. (2016). La levure de bière : un champignon aux multiples bienfaits pour la santé et la beauté. Thèse de Doctorat. Université de MONTPELLIER UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.

Chi Z, Wang F, Chi Z, Yue L, Liu G., Zhang T. (2009). Bioproducts from *Aureobasidium pullulans*, a biotechnologically important yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, p: 82; 793-804.

Choi SK, Park KD, Kim DA, Lee DW, Kim YJ. (2013). Preparation of camel milk liposome and its anti-aging effects. *Journal Society of Cosmetic Scientists of Korea* 40(2), p: 155–161.

Cocolin L, Aggio D, Manzano M, Cantoni C, Comi G. (2002). An application of PCR-pDGGE analysis to profile the yeast populations in raw milk. *International Dairy Journal*, 12, p: 407–411.

Cofalec. (2006). Caractérisation des levures de boulangerie. Adopté par Comité de fabrication de levures de panification de l'union Européenne. Paris. : 1-10.

Conesa C, Sanchez L, Rota C, Perez M, Calvo M, Farnaud S, Evans RW. (2008). Isolation of lactoferrin from milk of different species: calorimetric and antimicrobial studies. *Comparative Biochemistry & Physiology*, p : 150; 131–139.

Corbaci C, Ucar FB, Yalcin HT. (2012). Isolation and characterization of yeasts associated with Turkish style homemade dairy products and their potential as starter cultures. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(3), p: 534-542.

Coulibaly W H, N'guessan K F, Coulibaly I. et al. (2014). *Journal Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*

Dali N S, Hamame A. (2016). Recherche de levures productrices d'enzymes glycolytiques exocellulaires thermostables : Production (sur boîte de Pétri et en batch) et Caractérisation des enzymes produites. Mémoire du Master, université Mentouri Constantine.

DBVPG 3853 from substrates containing concentrated rectified grape must as the sole carbohydrate source. Journal of industrial microbiology and biotechnology, p: 24; 41-45.

Deive F J, Costas M, Longo M A. (2003). Production of a thermostable extracellular lipase by *Kluyveromyce smarxianus*. Biotechnology Letters. 25: 6-1403. Ed. Wolters Kluwer, France, p: 430.

El-Agamy E, Nawar M, Shamsia SM, Awad S, Haenlein G. (2009). Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children? Small Rumin Res, p: 82;1-6.

FAO 2014: Food and Agriculture Organisation.

Farah Z, Ru'egg MW .(1989). The size distribution of casein micelles in camel milk. Food Microstruct 8, p : 211-216.

Farhat H, Laklouka S. (2015). Contribution à l'étude de l'Alpha amylase levurienne : optimisation des conditions de production. Mémoire de Master. Université Echahid Hamma Lakhder, El-oued.

Immunology and Medical Microbiology (FEMS) Reviews, 25(1), p: 15-37.

Ferreira F1. (1997). *Saccharomyces cerevisiae* : importance dans le développement des sociétés humaines. Rôle dans l'industrie agro-alimentaire et en thérapeutique. Thèse de Doctora Pharmacie: Paris XI

Fleitour G. (2012). Les génériques des biotechs débarquent. L'Usine Nouvelle 3277.

Gizachew A, Teha J, Birhanu T. (2014). Review on medicinal and nutritional values of camel milk. Journal Natural Science 12(12), p: 35-40.

Gnan SO, Sheriba AM. (1986). Composition of Libyan milk. Journal of Dairy Technology 41(1), p : 33-35.

Gournier C, Larpent 1P, Castellanosm I, LARPENT G1. (1989). Les levures-aliment Bull. Société Mycologique de France, p : 4 ; 105 ; 155-170.

Gournier C, Larpent I P, Castellanosm L, Larpent L. (1994). Les probiotiques en alimentation animale et humaine Ed. Tee&Doc – Lavoisier, p : 192.

Grandet 1. (1989). Les levures-aliment Bull. la Société Mycologique de France de France, p : 105, 4, 155-170.

Guinet R, Godon B. (1994). La panification Française. Cachan : Tec & Doc Lavoisier, p : 521.

Guiraud J P. (1998). Microbiologie alimentaire. Ed, .Dunod, p : 652.

Guiraud J P. (1998). Microbiologie alimentaire.Ed, Dunod, Paris, p :7-9.

Guiraud J-P. (1998). Microbiologie alimentaire.Ed, Dunod, Paris, p : 310-321.

Haddadin MSY, Gammoh SI, Robinson RK .(2008). Seasonal varations in the chemical composition of camel milk in Jordan, Journal of Dairy Research 75, p: 8-12.

Haifeng L, Zhenming C, Xiaohong W, Chunling M. (2007) .Amylase Production by the Marine Yeast , Aureobasidium pullulans N13d. Journal of Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research). 6 (1), p: 60–65.

Hassan AH, Hargrass AI, Soryat KA, El-Shabrawy SA. (1987). Phisico-chemical properties of camel milk during lactation period in Egypt. the Society of Food Science and Technology 15 (1), p : 1-14.

Hencké S. (2000). Utilisation alimentaire des levures. Diplôme de Docteur: Pharmacie. Université Henri Poicare - Nancy I.

HjortafOmas B. (1988). Sustainable subsistence in arid lands: the case of camel rearing. In: HjortfOmas B (ed) Camels in development. Uppsala, Sciences Interdisciplinaires Appliquées à la Santé. (SIAS).

Huaxin C, Chu J, Zhang S, Zhuang Y, Qian J, Wang Y, Hu X. (2007). Intra cellular expression of Vitreoscilla hemoglobin improves S –Adenosyl methionine production in a recombinant *Pichia pastoris*.

Jacob A, Rendleman J. (1997). Enhancement of cyclodextrin production through use of debranching enzymes. *Biotechnology and applied biochemistry*. 26(1), p: 51-61.

Jayani R.S., Saxena S., Gupta R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*., p: 40; 2931–2944.

Johns O, Echavarri C, Erasum. (2011). Part II, Chapitre 3 : Yeast biotechnology in Kurtzman kurtzman C P, Fzll J. W. and Boekhout T.2011. eds, *The yeast. A taxonomic study*. Fifth edition. Elsevier, p:21-45.

Johns on E. A. and Echavarri C. Erasum. (2011). Part II, Chapitre 3: Yeast biotechnology in Kurtzman C. P., Fzll J. W. and Boekhout T. (2011). Eds, *The yeast. A taxonomic study*. Fifth edition. Elsevier. 1: 21-45.

K.G.A., BoekhoutT. (2011). Cytology, Cell Walls and Septa: A Summary of Yeast Cell Biology from a Phylogenetic Perspective. In: C.P. Kurtzman., J.W. Fell., T. Boekhout (Eds), *The Yeasts, a Taxonomic Study*. Elsevier, London, pp.115.

Kamal ZL, Kamal ZA, Heydar NA. (2010). Total bacterial, coliforms and the *Staphylococcus aureus* bacteria count of raw milk (from farms to the processing factory), and pasteurized milk in khozestan province. The 4 th Congress on Animal Science, Iran.

Kamoun M, Ramet J.P. (1989). Conservation et transformation du lait de dromadaire. *Options Méditerranéennes - Série Séminaires – n° : 6*, 229-231

Kappeler S R, Ackermann M, Farah Z., Puhan Z. (1999). Sequence analysis of camel (*Camelus dromedarius*) lactoferrin,” *International Dairy Journal*, vol. 9, no. 7, p: 481–486.
Khaskheli M, Arain MA, Chaudhry S, Soomro AH, Qureshi TA. 2005. Physico-chemical quality of camel milk. *Journal of Agricultural Science* 2, p: 164–166.

Karam H Z. et Karam N-E. (2006). Bactéries lactiques du lait de chamelle d’Algérie: mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *TROPICULTURA*. 24, 3, 153-156

Kashyap D R, Vohra P K, Chopra S, Tewari R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, p: 77; 215–27.

Kleil V, Veenhuis M, Brul S, Klis FM, De GrootP W J, Wally H, MüllerW.H, van D, Boekhout T. (2011). Cytology, Cell Walls and Septa: A Summary Knop M. Yeast cell morphology and sexual reproduction–A short overview and some considerations. *Comptes Rendus Biologies.*;334(8–9), p: 599-606.

Khaskheli, M., Arain, M.A., Chaudhry, S., Soomro, A.H., Qureshi, T.A. (2005). Physico-chemical quality of camel milk. *Journal of Agricultural Science* 2, 164–166.

Kleil.V., VeenhuisM., BrulS., KlisF.M., De GrootP.W.J., Wally H. MüllerW.H.,van Driel, Knop M. (2011). Yeast cell morphology and sexual reproduction–A short overview and some considerations. *Comptes Rendus Biologies*, p: 334;(8–9); 599-606 ; 20.

Konuspayeva G, Faye B, Loiseau G. (2009). The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis* 22, p: 95–101.

Korashy HM, Maayah ZH, Allah RA, El-Kadi AOS, Alhaider AA. (2012). Camel milk triggers apoptotic signaling pathways in human hepatoma HepG2 and breast cancer MCF7 cell lines through transcriptional mechanism. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* , p: 1–9.

Kouniba A, Berrada M, Zahar M, Bengoumi M. (2005). Composition and heat stability of Moroccan camel milk. *Journal of Camel Practice and Research* 12, p: 105-110.

Kreger-Van-Rij N.J.W. (1984). The yeasts, a taxonomic study. Elsevier Science Publishing , Amsterdam.

Kresze G. B. 1991. Proteases during purification. *Bioprocess-technol*, p:12; 85-120.

Kumar D, Kumar L, Nagar S, Raina C, Parshad R, Gupta V. (2012). Screening, isolation and production of lipase/esterase producing *Bacillus* sp. strain DVL2 and its potential evaluation in esterification and resolution reactions. *Scholars Research*. 4 (4):1, p: 763-1770.

Kumar YK, Rakesh K, Lakshmi P, Jitendra S. (2015). Composition and medicinal properties of camel milk: A Review. Asian Journal Of Dairy And Food Research, p: 34: 83-91.

Kurtzman C P. (2011). Discussion of Teleomorphic and Anamorphic Ascomycetous Yeasts and Yeast-like Taxa. In: C.P. Kurtzman., J.W. Fell., T. Boekhout (Eds), The Yeasts, a Taxonomic Study. Elsevier, London, p: 304.

Kurtzman C P, Fell JW, Boekhout T, Robert V. (2011). The Yeasts, A taxonomic study, Discussion of Teleomorphic and Anamorphic.

Labani KFZ. (2008). Isolement de levures d'écosystèmes extrêmes (sols de sources thermales). Production de cellulase thermostable .thèse de magister. Université Mentouri. Constantine.

Labani KFZ. (2015). Activité «Killer» chez des levures isolées des sols du Nord-Est Algérien Purification, caractérisation et effet sur les souches de levures indésirables. Thèse de Doctorat. Université Mentouri. Constantine.

Labrecque M H. (2003). Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène.Mémoire, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, p : 19-24.

Lai Q P. 2010. Utilisation des levures non-Saccharomyces en œnologie: études des interactions entre *Torulasporea delbrueckii* et *Saccharomyces cerevisiae* en cultures mixtes. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse.

Laleye L C, Jobe B, Wasesa AAH. (2008). Comparative study on heat stability and functionality of camel and bovine whey proteins. Journal Dairy Science 91, p: 4527–4534.

Lamers D, Nick VB, Dirk M, PeterL, Zilver EV, Dreumel NJ., Wijffels RH, Christien L. (2016). Selection of oleaginous yeasts for fatty acid production. Journal the manipulation of biological macromolecules (BMC) 16(1), p: 120-210.

Larpent G M, Sanglier JJ. (1992). Biotechnologies. Principes et méthodes, p : 574-581..

Larpent J P, Larpent G M. (1990). Mémento technique de microbiologie-2ème édition Ed. Tec&Doc, p : 417.

Larpent J P, Larpent G M. (1997). Mémento technique de microbiologie-3ème édition Ed, Tec&Doc,p : 1039.

Larpent J P. (1991). Biotechnologie des Levures Ed. Masson, Paris, p : 426.

Leblon C. (1998). Etude des levures de vinification et des facteurs agissant sur la fermentation alcoolique,Thèse de Doctorat Pharmacie: Nancy 1.

Leclerc H, Meyer A, Deiana J. (1995). Cours de microbiologie générale. Nouveau programme. Biosciences et techniques. Doin éditeurs, Paris, p : 73-92.

Leveau I V, Bouix M. (1993). Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'intérêt industriel. Ed, Tec & Doc Lavoisier, p: 612.

Leveau J Y, Bouix M. (1993). Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Lavoisier TEC et DOC, Paris, p : 08 ; 2 ; 92.

Leyral G, Vierlin E . (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires.Eds, Wolters Kluwer, Amsterdam, p :287.

Liese A, Seelbach S, Wandrey C, Wileyu VCH. (2000). Industrial biotransformation.

Lin T C, Chen C. (2004). Enhanced mannanase production by submerged culture of *Aspergillus niger* NCH-189 using defatted copra based media. *Process Biochemistry* 39, p: 1103–1109.

Lodder J. (1970). Criteria and methods used in classification. In Lodder ed, *The yeasts. A taxonomic study.* North Holland Publishing Company, p: 84.

Lodder J. (1971). *The yeast, a taxonomic study*, 2ème édition. North Holland, Amsterdam, Londres. p: 1385.

Loiudice F H et al. (2001). Overexpression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in genetically modified *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied biochemistry and biotechnology* 91-93 : 161-9.

- Manyri L. (2005).** Analyse automatique d'image de population microbienne. Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
- Mattanovich D, Branduardi P, Dato L, Gasser B, Sauer M, Porro D. (2012).** Recombinant protein production in yeasts. *Methods. Journal of Molecular Biology* .824: 329-58.
- McPheeters ML, Warren Z, Sathe N, et al. (2011).** A systematic review of medical treatments for children with autism spectrum disorders. *Pediatrics*, p: 1312–1321.
- Mona E, Ragia O, Abeer A, Mosa T. (2010).** Biochemical effects of fermented camel milk on diarrhea in rats. *Journal of American Science* 3(5), p: 106–111.
- Moore K J, Johnson M.G. & McClary S.P. (1988).** Disk inoculums-solid medium method to test carbon and nitrogen assimilation by yeast isolates. *Applied and Environmental Microbiology* 54:3185-3186.
- Morvan J. (2010).** Marché européen des enzymes dans les applications alimentaires.M55B. <http://www.frost.com.of> Yeast Cell Biology from a Phylogenetic Perspective.
- Moubasher H, Wahsh SS, Abo El-Kassem N. (2010).** Purification of pullulanase from *Aureobasidium pullulans*. *Microbiology*, p : 79 ; 759 – 766.
- Ni XM, Chi Z.M, Liu Z Q, Yue LX. (2008).** Screening of protease producing marine yeasts for production of the bioactive peptides. *Acta Oceanologica Sinica*; p: 27; 1–10.
- Njage P.M.K., Dolci S., Jans C. Wangoh J. Lacroix C. et Meile L. (2011).** Characterization of yeasts associated with camel milk using Phenotypic and Molecular Identification Techniques. *Research Journal of Microbiology* 6 (9): 678-692, 2011.
- Oteng-Gyang K. (1984).** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. *Technique & Documentation Lavoisier*, Paris, p : 8:43-51.
- Pandey A, Webb C, Soccol C R, Larroche C. (2006).** Eds, *Enzyme Technology*. Springer. Journal of Asia technology Publishers. New Delhi.

- Phaff H J, Starme WT. (1968).** Yeasts associated with plants, insects and soil. In: Rose A.H., Harrison J.S. Eds, *The Yeasts. Biology of yeasts.* Academic, London, p : 123–180.
- Pol D. (1996).** Travaux pratiques de biologie des levures. Guide de laboratoire. ellipses edition marketing S.A, Paris, p : 15 ; 20-38 ; 42-57 ; 141-151.
- POL D. (1996).** Travaux pratiques de biologie des levures. Guide de laboratoire. ellipses edition marketing S.A, Paris, p : 15: 20-38, 42-57.
- Radfar M H, Gowhari MA. (2013).** Common gastrointestinal parasites of indigenous camels (*Camelus dromedarius*) with traditional husbandry management (free-ranging system) in central deserts of Iran. *Journal of parasitic diseases.* 37(2): 225–230.
- Raghvendar S, Shukla S, Sahani MS. (2004).** Chemical and physico-chemical properties of camel milk at different stages of lactation. Saving the camel and peoples' livelihoods. In: *Proceedings of an international conference held on 23-25 November 2004 in Sadri.* LokhitPashu- PalakSansthan, Sadri, Rajasthan, India, p : 37.
- Ramdaoui A, Obad I. (1998).** Caractérisation physico chimique et microbiologique du lait de dromadaire, et étude de stabilité thermique. Mémoire de 3^e cycle présenté pour obtenir le grade d'Ingenieur d'état en Industries Agricoles alimentaires. Nancy, France : ENSALA.
- Regenboog, Martine, André BP van Kuilenburg, Joanne Verheij, Dorine W. Swinkels, et Carla EM Hollak .(2016).** Hyperferritinemia and iron metabolism in Gaucher Disease: potential pathophysiological implications. *Blood Reviews.*
- Rezki-Bekki M.A. (2014).** Production de métabolites par les levures: caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse de doctorat, Université d'Oran. Algérie.
- Rich JO, Manitchotpisit P, Peterson SW, Liu S, Leathers T.D., Anderson A.M. (2016).** Phylogenetic classification of *Aureobasidium pullulans* strains for production of feruloyl esterase. *Biotechnology Letters.*
- Richar D, Gerald D. (1989).** La production laitière des dromadaires Dankali (Ethiopie). *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trp*, 42, 97-103.
- Rose A H, Harrison J S. (1971).** The yeast. Vol. 4, 2^eme edition, p: 297.

Salwa MQ, Lina AFK. (2010). Antigenotoxic and anticytotoxic effect of camel milk in mice treated with cisplatin. Saudi . Journal of Biological Sciences 17(2), p : 159–166.

Sanchez Y G. (2008). Etude de l'adaptation et de la gestion de l'activité cellulaire dans un bioréacteur biétagé: intensification de la production d'éthanol. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse.

Satyanarayana T., Kunze G. (2009). Yeast biotechnology: Diversity and Applications, Springer Science, New Delhi, pp. 744.

Schobert B. (1977). Is there an osmotic regulatory mechanism in algae and higher plants. Journal of Theoretical Biology.

Scriban R. (1984). Biotechnologies. 2ème édition. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris, p : 531.

Shabo Y., Yagil R. (2005). Behavioral improvement of autistic children following drinking camel milk. In: Treating Persons with Brain Damage. 4th National Conference. Tel Aviv, p 94.

Siboukeur O. (2007). Etude du lait camelin collecté localement :caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique, EL-HARRACH-ALGER.

Sibtain AS., Muhammad Y., Muhammad QB., Muhammad KK., Ghulam M., Li-Duo Y., Muhammed T. (2012). Factors affecting yield and composition of camel milk kept under desert conditions of central Punjab, Pakistan 12. Trop Anim Health Prod 44, p: 1402-1410.

Sicard P. (1982). Applications industrielles des enzymes. In : Les enzymes production et utilisation industrielles Durand G, Monson P. Ed. Gauthier-Villars. 121-164.

Sierra G. (1957). Antonie van Leeuwenhoek 23, p : 15–22.

Sikander A, Hameedullah R, Ikram-Al -Haq . (2010). Production of an extracellular lipase from *Candida lipolytica* and Parameter significance analysis by plackett-burman design. Engineering in Life Sciences, p: 10 ; 465–473.

- Silar P, Malagnac F. (2013).** Les champignons redécouverts. Paris : Belin, p : 232.
- Simon P., Meunier R. (1970).** Microbiologie industrielle et génie biochimique. Masson et Cie, Editeurs. Paris VIe. p : 31 -47, 385-411.
- Singh R, Mal G, Kumar D,Patil N. V, Pathak K M L. (2017).** Camel Milk: An Important Natural Adjuvant. *Agricultural Research*. 6, p: 327–340.
- Singh, B, Satyanarayana T. (2015).** Fungal phytases: characteristics and amelioration of nutritional quality and growth of non-ruminants. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 99(4) : 646-60.
- Solid medium method to test carbon and nitrogen assimilation by yeast isolates. *Journal Applied and Environmental Microbiology* 54:3185-3186.
- Starmer W T, Lachance M.A. (2011).** Yeast ecology. In:C.P.Kurtzman., J.W. Fell., T. Boekhout. Eds, *The Yeasts, a Taxonomic Study*. Elsevier, London, pp. 65-83.
- Stratford M. (2006).** Food and beverage spoilage yeasts. In: Querol A, Fleet GH Eds, *Yeasts in Food and Beverage*. Springer, Berlin, p: 335–379.
- Syndicat des producteurs de levure-aliment de France *Les levures-aliment* Paris.1991, p : 24.
- Taha NM, Keilwein G. (1989).** Studies on the nitrogen distribution and content of peptide bounds and free amino acids in camel milk, buffalo and ass milk. *Milchwissenschaft*. Thèse: Pharmacie: Nancy 1.
- Thuriaux P. (2004).** Les organismes modèles, la levure. Paris: Belin, p : 282.
- Van Dijken J P, Scheffers WA. (1986).** Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts. *journal of the Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Reviews*,32, p: 199-224.
- Verduyn C, Zomerdijk T P L, Dijken J P, Scheffers W A. (1984).** Continuous measurement of ethanol production by aerobic yeast suspensions with an enzyme electrode. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 19(3), p: 181–185.

Verduyn, C., Zomerdijs, T. P. L., Dijken, J. P., & Scheffers, W. A. (1984). Continuous measurement of ethanol production by aerobic yeast suspensions with an enzyme electrode. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 19(3), p: 181–185.

Viljoen, B. C. (2001). The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal of Food Microbiology* 69(1-2), 37-44.

Walker G M. (2009). Yeasts. University of Abertay Dundee, Dundee, Scotland. Elsevier Inc, p: 1174-1187.

Wangoh J, Farah Z, Puhan Z. (1998). Composition of milk from three camel (*Camelus dromedarius*) breeds in Kenya during lactation. *Milchwissenschaft*, p: 53;136-139.

Wangoh J. (1997). Chemical and technological properties of camel (*Camelus dromedarius*) milk. Diss ETH Nr 12295, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland.

Wernery R, Yagil R. (2012). Medicinal properties in camel milk for treatment of ‘epidemic’ diseases. In: Ridha, A, Wernery HU, editors. *Proceedings of the Third ISOCARD International Conference*. Dubai: Central Veterinary Research Laboratory; p: 225–227.

Wong DW, Batt S B, Lee CC, Robertson G H. (2002). Increased expression and secretion of recombinant alpha-amylase in *Saccharomyces cerevisiae* by using glycerol as the carbon source. *Journal of protein chemistry*. 21: 25-419.

Wong DW, Batt S B, Lee C C, Robertson GH. (2002). Increased expression and secretion of recombinant alpha-amylase in *Saccharomyces cerevisiae* by using glycerol as the carbon source. *Journal of protein chemistry*. 21, p: 25-419.

Yagil R . (2013). Camel milk and its unique anti-diarrheal properties. *Israel Med Assoc J* 15, p: 35-36.

Yagil R, Etzion Z. (1980). Effect of drought condition on the quality of camel milk. *Journal of Dairy Research* 47, p: 159-166.

Zhao D, Bai Y, Niu Y. (2015). Composition, characteristics of Chinese Bactrian camel milk. *Small Rumin Res* 127:58-67 *Journal of Dairy Science* 88(10), p: 3402-3410.

Annexes

Annexe 1: Yeast Glucose chloramphenicol Agar (YGCA)

- Extrait de levure : 5g
- Glucose : 20 g
- Chloramphénicol : 0,10 g
- Agar : 20 g
- Eau distillée : 100 ml

Annexe 2: Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA)

- Glucose : 20 g
- Peptone : 20 g
- Extrait de levure : 5 g
- Agar : 20 g
- Eau distillée : 1000 ml

Annexe 3 : milieu lait écrémé – Agar

- Lait écrémé : 100g
- Agar : 20 g
- Eau distillée : 1 litre

Annexe 4 : Tween 20 –agar

- Peptone : 10 g
- NaCl : 0,1 g
- CaCl₂, 2H₂O : 20 g
- Tween 20 : 10ml
- Agar : 20 g
- Eau distillée : 1 litre

Annexe 5: Tween 80-agar

- Peptone: 10 g
- NaCl: 0,1 g
- CaCl₂, 2H₂O: 20 g
- Agar: 20 g
- Tween 80: 10 ml
- Eau distillée : 1 litre

Annexe 6: Yeast Peptone Glucose (YPG):

- Extrait de levure : 10 g
- Peptone : 10 g
- Glucose : 20 g
- Eau distillée : 1000 ml

Annexe 7 (Potato Dextrose Agar) PDA

- Amidon de pomme de terre : 50 g
- Glucose : 20 g
- Eau distillée : 1000 ml

Annexe 8 :(YeastNarbon Base) YNB

- YNB : 6.7 g
- Glucose : 5 g
- Eau distillée : 1000 ml

Annexe 9 :milieu synthétique sans azote

- Glucose : 20 g
- KH₂PO₄ : 1 g
- MgSO₄ : 0,5 g
- Agar : 20 g
- Eau distillée : 1000ml

Annexe 10: Yeast Extract Peptone (YP)

- Extrait de levure : 4.5 g
- Peptone : 7.5 g
- Eau distillée : 1000 ml

Master en Biochimie de la Nutrition ZAMOUCHE Kaouther NEDJAR Louiza Rayenne	Date de soutenance : 4 Juillet 2018 Faculté SNV, Université Frères Mentouri
Intitulé : Contribution à l'étude de la microflore levure du lait de chamelle d'Algérie.	
<p>Résumé</p> <p>L'objectif principal de cette étude est l'isolement des levures à partir des échantillons du lait de chamelle pour des applications biotechnologiques. L'isolement sur milieu YGC Agar permet de répertorier 23 souches de levures. La mise en évidence de leurs activités protéolytique et lipolytique (lipase et estérase) sur milieux Lait écrémé Agar, Tween 20 Agar et Tween 80 Agar, respectivement, révèle qu'un total de 17 souches sont productrices d'activités enzymatiques. Les souches P et S sont capables de produire deux activités enzymatiques (estérase/protéase et lipase/protéase, respectivement). De plus, la souche K, qui présente une seule activité enzymatique, semble avoir une bonne activité protéolytique. Les souches O et Q, qui présentent des aspects différents, semblent avoir une bonne activité lipolytique. L'étude des caractères culturels des 5 souches sélectionnées (K, O, P, Q et S) révèle l'apparition d'un dépôt chez la totalité des souches étudiées. Le test d'assimilation des substrats carbonés montre que les souches étudiées assimilent la majorité des sources testées. L'assimilation des substrats azotés indique que les 5 isolats de levures assimilent au moins deux sources azotées. La souche Q présente un pouvoir de fermentation. La reproduction sexuée est présente chez les 5 souches étudiées. De plus Les souches O et S sont capables de développer un pseudomycélium, tandis que la souche Q développe un vrai mycélium. L'analyse des résultats d'indentification montre que les levures K, O, P, Q et S semblent probablement appartenir aux genres <i>Debaryomyces</i>, <i>Kluyveromyces</i>, <i>Udenomyces</i>, <i>Debaryomyces</i> et <i>Candida</i>, respectivement. Par leurs activités enzymatiques, nous pouvons conclure que les souches de levures isolées à partir du lait de chamelle peuvent présenter un intérêt technologique car elles peuvent être utilisées dans la transformation du lait camelin.</p> <p>Mots clés : levures, isolement, lait de chamelle, enzymes d'intérêt technologique, identification.</p>	
Laboratoire de recherche : Laboratoire de Génie Microbiologie et Applications (GMA)	
<p>Jury d'évaluation :</p> <p>Président du jury : NOUADRI T. M.C.A., Université Frères MENTOURI, Constantine. Encadreur : LABBANI F-Z K. M.C.B., ENS Assia DJEBAR, Constantine. Examinatrices : DAKHMOUCHE S. M.C.A., ENS Assia DJEBAR, Constantine. BENNAMOUN L. M.C.B., Université Frères MENTOURI, Constantine.</p>	
Année universitaire : 2017-2018	

