



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE
DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHESCIENTIFIQUE

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Université des Frères Mentouri Constantine

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biochimie/ Biologie Cellulaire et Moléculaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

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

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème

Screening des levures lipolytiques et production de lipase en FMS

Présenté et soutenu par : Djama Chaima

Hassi Sara

Jury d'évaluation :

Président : Mme BENNAMOUN L. M.C.B, Université des frères Mentouri Constantine¹.

Encadreur : Mme DAKHMOUCHE S. M.C.A, ENS, Assia Djebar, Constantine.

Examineur : Mme SAMRA I. M.C.B, Université des frères Mentouri Constantine¹.

Année universitaire : 2020 – 2021

Remerciements

Nous voudrions, en premier lieu, remercier notre dieu Allah qui nous a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.

*Nous tenons en second lieu à remercier chaleureusement notre Encadreur Madame **DJEKRIF - DAKHMOUCHE Scheherazed** qui a dirigé ce modeste travail de recherche de Master. Nous lui remercions pour tout ce qu'elle nous a apporté, pour ses conseils, sa présence, sa patience, et de nous avoir fait confiance.*

Nos sincères remerciements s'adressent aux membres de jury de nous avoir honorées de leur présence.

*A Madame **BENNAMOUN Leila**. d'avoir accepté de présider ce jury et d'évaluer ce travail.*

*Et à Madame **SAMRA Ilhem** d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Nous remercions également, Melle **Chaïb Ibtissem** Doctorante au laboratoire de Génie Microbiologique et Application.*

Chaima et Sara

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*en premier lieu à mes chers parents **Djama Mouhamed** et **Habbati Amina**
pour toutes ces années de sacrifices, que dieu leur procure santé et longue
vie.*

*A toi papa, qui m'as toujours fait confiance et poussée à donner le
meilleur de moi-même,*

*A toi maman, qui par son amour et ses prières a toujours cru en ma
réussite que Dieu la préserve et lui accorde santé et longue vie.*

*A mes chers frères **Yasser** et **Djéhad** et **Chamsse el dine** et mes chères sœurs **Soumia** et
Bouchra et mes chers neveux **Anes** et **Akram** et mes chères nièces **Roufaida** et **Ranime** pour
leur amour, et mes beau-frères **Faïssel** et **Abd el hamid**.*

*A mon grand-père **Habbati Hacene**, que Dieu le bénisse et le demeure au paradis.*

*A mes chères tantes **Nabiha** et **Rokia** et **Lamisse***

*Toutes les personnes que je porte dans mon cœur et qui ont sans le savoir
participer d'une
manière considérable à ma réussite.*

Chaima

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents,

pour tout votre amour, votre soutien et votre stimulante fierté.

Que Dieu vous garde et vous procure santé et longue vie...

*A mon mari **Fouad** pour son soutien moral, sa générosité, sa patience et ses encouragements.*

*A mon fils **Anes** et à mes chers frères **saleh, sami, chaouki, wail** et **oussama** pour leur confiance et leur disponibilité.*

*A mes amies **hiba** et **chaima, linda, selma**, et tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

A tous ceux qui occupent une place dans mon cœur et les personnes qui m'ont aidée et soutenue de près ou de loin.

Que Dieu vous protège et vous bénisse tous.

SARA

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction **1**

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Levures **3**

1. Définition	3
2. Caractéristiques des levures	3
2.1. Caractéristiques écologiques	3
2.2. Caractéristiques biologiques	5
2.3. Caractéristiques Physiologiques et nutritionnels	6
2.4. Caractéristiques physico-chimiques	8
3. Morphologie	9
3.1. Morphologie	9
3.1.1. Forme de levure	9
5. Reproduction des levures	10
6. Classification des levures	12
7. Production des enzymes par les levures	14

Chapitre 2 : Lipases **17**

1. Définitions	17
2. Caractéristiques des lipases	18
3. Origines des lipases	18
3.1. Origine végétale	19
3.2. Origine animale	19
3.3. Origine Microbienne	19
4. Mécanisme catalytique des lipases	20

5.Réactions catalysée par les lipases	22
5.1.Réaction d'hydrolyse	21
5.2.Réaction de synthèse	21
5.2.1.Transestérification	21
6.Production de lipase	22
7.Facteurs influençant la production de lipase	22
7.1.Sources de carbone	22
7.2.Sources de nitrogène	23
7.3.Température	23
7.4.pH	24
8.Microorganismes producteurs de lipases	24
9.Intérêt industriel des lipases	25
9.1.Détergents et agents nettoyants	25
9.2.Industrie alimentaire	26
9.3.Produits chimiques fins	26
9.4.Industrie de la pâte et du papier	26
9.5.Bioremédiation de la lipase et processus environnementaux	26
PARTIE 2 : MATERIELS ET METHODE	
1.Matériel biologique	27
1.1.Isolement	27
1.2.1.Préparation des dilutions	27
1.2.2.Ensemencement	28
1.2.Purification	28
1.3.Sélection de levure lipolytique	29
1.1.Ensemencement des milieux	30
1.2.Révélation	30
2. Production de lipase	31
2.1.Choix de substrat de fermentation	31
2.2.Conduite de la fermentation	31
2.2.1.Dénombrement par cellule de Thoma	31

2.2.2.Fermentation à l'état solide	32
2.2.3.Fermentation liquide	32
2.3 Extraction	32
3.Dosage de l'activité enzymatique	32
3.1.Détermination de la matière sèche	33
4. Optimisation du milieu de production	33
4.1 Étude de l'effet du pH	33
4.2 Étude de l'effet de la source de carbone	34
4.3 Étude de l'effet de la source d'azote	34
4.4 Étude de l'effet de l'interaction de différents facteurs étudiée	34
5. Essai d'Application industrielle de lipase	34
5.1 Test de la compatibilité de lipase avec divers détergents à lessive commerciaux	34
5.2 Analyse de la performance de lavage	35
PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	
1. Isolement et purification des souches de levures	36
2.Mise en évidence des activités lipasiques	42
3.Sélection de la souche la plus performante pour la production d'enzymes	45
4.Sélection du milieu de production	45
5.Optimisation de la production de lipase	46
5.1.Etude de l'effet de la source du carbone	46
5.2.Etude de l'effet de la source d'azote	47
5.3.Etude de l'effet du pH sur la production de lipase	49
5.4.Etude de l'effet des interaction de différents facteurs sélectionnés	50
6.Test de la compatibilité de lipase avec divers détergents à lessives commerciales	50
7.Test d'analyse de la performance de lavage	51
Conclusion générale	53
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

Lip : Lipase

FML/SmF : Fermentation Liquide/ Submerged Fermentation

FMS/SSF : Fermentation Solide/ Solid- State Fermentation

YPGA : Yeast extract Peptone Glucose Agar

YMA : Yeast Malt Agar

TPA : Tween Peptone Agar

POA : Phénol Oil Agar

GO : Grignons d'Olives

S : Sol d'olivier

IAA : Industrie Agro-Alimentaire

Liste des figures

Figure 01 : Cellules levuriennes	3
Figure 02: Pseudomycélium chez <i>Candida lusitaniae</i>	5
Figure 03 : Cycle de reproduction de la levure	10
Figure04: Reproduction sexuée d'une levure	10
Figure05: Reproduction asexuée par bourgeonnement d'une levure	11
Figure 06 : Division de cellules levuriennes par bourgeonnement	11
Figure 07: Structure dimensionnelle d'hélice (site active d'une lipase) .	17
Figure 08: Réaction enzymatique catalysant l'hydrolyse ou la synthèse de triglycéride	18
Figure 09: Réactions catalysée par la lipase	22
Figure 10 : Dilutions décimales	27
Figure 11: A : Milieu YPGA ;B : Préparation de milieu YPGA	28
Figure 12 : Préparation de l'noculum	29
Figure 13: A : le milieu POA ; B : préparation de milieu POA	30
Figure 14 : Dosage par titration	33
Figure 15: Souches isolés à partir du sol d'olivier et des grignons d'olives	38
Figure 16: Mise en évidence de l'activité lipasique de la souche Lip ₁₇ A :sur milieu TPA ; B : sur milieu POA	43
Figure 17: Dosage de l'activité lipasique	45
Figure 18 : Effet des sources de carbone (C) sur le production lipolytique.	46
Figure 19 : Effet des sources d'azote (N) sur le production lipolytique.	48
Figure 20 : Effet des pH sur le production lipolytique.	49
Figure 21: Etude de l'effet des interactions de différents facteurs selectionnés sur la production de la lipase.	50
Figure 22: Compatibilité de lipase avec divers détergents à lessives commerciales	50
Figure 23 : Test d'analyse de la performance de lavage de la tache rouge à lèvres et le beurre sur les morceaux de tissu lavés.	52

Liste des tableaux

<u>Tableau 01:</u> Habitat de <i>Candida</i> .	4
<u>Tableau 02 :</u> Classification des levures.	12
<u>Tableau 03 :</u> Exemple de quelques enzymes d'intérêt industriel produites par les levures.	13
<u>Tableau 04 :</u> Microorganismes producteurs de lipases..	24
<u>Tableau 05 :</u> Observation microscopiques des souches.	39
<u>Tableau 06:</u> Mise en évidence des activités lipasiques des 17 souches de levures sélectionnées.	42

INTRODUCTION

Introduction

Depuis longtemps, la production d'enzymes est dominée par les bactéries et les moisissures : les plus couramment utilisées *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens* et *A. niger* car elles ont la capacité de produire de grandes quantités d'enzymes. Elles produisent environ 60% des enzymes disponibles sur le marché. Peu d'études ont été réalisées sur la production d'enzymes à utilisation industrielle par les levures. Les levures ne sont pas aussi omniprésentes que les bactéries dans l'environnement naturel, mais elles peuvent néanmoins être isolées du sol, de l'eau, des aliments, des plantes, des animaux et des insectes (**Temim et Hamaidia,2018**).

Environ 1000 espèces de levure ont été décrites, mais de nouvelles espèces sont régulièrement caractérisées et il y a une biodiversité considérable de la levure inexploitée sur Terre (**Walker, 2009**). Par exemple, en 1996 il a été estimé que seulement 0,065 % des genres de levure (62000 au total) et 0,22 % espèces de levures (total 669 000) ont été isolées et caractérisées.

Cela signifie qu'il existe un immense fossé dans nos connaissances concernant la biodiversité disponible des isolats naturels sauvages de levure (**Temim et Hamaidia,2018**).

En effet, le marché mondial des enzymes est représenté par 80% des hydrolases, particulièrement les amylases et les protéases (**Morvan ,2010**). La demande de différentes enzymes est en augmentation continue. En Algérie, les enzymes utilisées dans diverses industries (panification, biscuiterie, amidonnerie...etc) sont importées en totalité, ceci a un effet néfaste sur l'économie du pays d'où la nécessité de la production de ces enzymes dans des ateliers locaux en utilisant des souches locales .

Les enzymes de levures sont de plus en plus utilisées en industries pour faciliter les procédés et diminuer le coût énergétique du produit fini en particulier dans les IAA (Industrie Agro-Alimentaire). La recherche de nouvelles enzymes de levures possédant un potentiel d'application industrielle continue à se développer. Des levures comme *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Hansenula polymorpha* sont utilisées actuellement pour la production industrielle de protéines et d'enzymes, y compris les protéines pharmaceutiques (**Johnson et Echavarri-Erasum, 2011**).

Introduction

Les levures *Yarrowia lipolytica* et *Rhodotorula glutinis* sont utilisées grâce à leur capacité à produire des lipases dans les industries du pétrole, en blanchisserie, en industrie des détergents et dans les IAA (**Burden et Eveleigh 1990 and Gholam and Sahebeh, 2013**).

Cette étude vise la production de la lipase pour l'utilisation industrielle. Elle comprend trois parties : 1/ Revue bibliographiques qui renferme deux chapitres ; les levures et les lipases, 2/ Matériel et méthodes et 3/ Résultats et discussion.

Nous avons choisi le sol d'olivier et les grignons d'oliviers comme source de levures possédant l'activité lipasique car riches en matière grasse.

Notre étude consiste, d'une part à l'isolement des levures à partir des sols et des grignons d'oliviers ; la mise en évidence de la lipase chez les levures et la sélection de la souche ayant la meilleure capacité de production, et d'autre part à l'étude et à l'amélioration du milieu de production ainsi que le type de fermentation.

Aussi un essai d'application de la lipase de la levure lip₁₇ dans les détergents a été effectué.

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

LEVURES

Chapitre 1 : Levures

1. Définition

Le terme « levure » vient du latin « *levare* », faisant référence à la capacité de faire lever le pain en produisant du CO₂ en conditions anaérobiques et de fermenter le sucre (**Kutzman et al., 2011a**). Les levures sont des eucaryotes hétérotrophe, c'est-à-dire qu'elles sont capables de tirer leur énergie à partir des réactions d'oxydo-réduction ou de fermentation de composés chimiques tels que les sucres avec un ADN double brin (**Kurtzman et al., 2011**).

Elles se reproduisent par bourgeonnement ou par fission binaire (**François et al., 2001**). Leurs cellules sont généralement ovoïdes et leur taille varie de quelques μmole à 30 μmole (figure 01) (**Merabti,2006**).

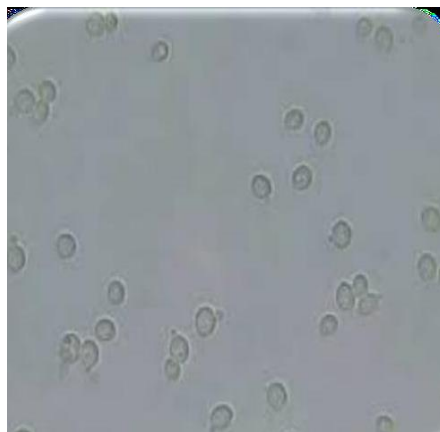


Figure 01 : Cellules levuriennes (**Belmaziz et Djalal ,2017**)

2. Caractéristiques des levures

2.1. Caractéristiques écologiques

Les levures sont thallophytes, absorbotrophes hétérotrophes capables de provoquer la fermentation de matières animales ou végétales. Dans la nature, les milieux fortement concentrés en sucre représentent un des environnements préférés pour les levures (sirops, bière, miel, fleurs et de nombreux fruits) (**Jimoh et al., 2012; Greppi et al., 2013; Adewara et al., 2013**).

elles se trouvent principalement dans le sol (**Laiche,2019**), dans l'air (**Starmer et Lachance, 2011**), D'autres, se développent au niveau des eaux douces et profondes associées au plancton

(Van Uden et Fell, 1968 et Ahearn, 1973) dans le raisin (Younes, 2012). Les levures des produits alimentaires ne sont pas pathogènes (pas de production de toxines) mais peuvent produire, par leur développement, des altérations de la qualité des produits commercialisés par la formation de troubles, d'odeurs ou de goûts anormaux (éthanol, variation de pH).

Les levures se trouvent dans diverses niches écologiques (Lachance, 2011b) : dans des milieux naturels (sur/dans les fruits, sur les arbres, ...) ou dans les milieux anthropisés (chez l'homme, dans les produits fermentés naturels et industriels de l'alimentation ou de pharmacie). Certaines espèces isolées de l'homme ou des produits fermentés sont des pathogènes opportunistes (comme *Candida tropicalis*, *C. zeylanoides*, *Pichia fermentans*, *Rhodotorula mucilaginosa* ou *Citeromyces matritensis* (Anaissie *et al.*, 2009 ; Dismukes *et al.*, 2003 ; Euzéby 2008), c'est-à-dire pathogènes chez des personnes immuno-déficientes (Jacques et Casaregola 2008 ; Miceli *et al.*, 2011). D'autres espèces sont commensales à l'homme, naturellement présentes dans le tractus digestif, sur les muqueuses et la peau, et également présentes dans des produits fermentés (Kurtzman *et al.*, 2011). Le tableau 1 présente les différents habitats des levures du genre *Candida*.

Tableau 01: Habitats de *Candida*

Habitats	Références
Cornichons	(Rezki <i>et al.</i> , 2013) .
Dattes	(Rezki <i>et al.</i> , 2013).
Ecorces d'arbres	(Rao R. S. <i>et al.</i> , 2008).
Déchets de la pomme de terre	(Ouédrago <i>et al.</i> , 2012).
Fromage	(Prillinger <i>et al.</i> , 1999 ; Jacques et Casaregola, 2008 et Binetti <i>et al.</i> , 2013).
Lactosérum	(Jairath <i>et al.</i> , 2012) .
Yaourt	(Lopandic <i>et al.</i> , 2006) .
Jus d'orange	(Covadonga <i>et al.</i> , 2002).
Jus de fruits	(Jairath <i>et al.</i> , 2012).
Mezcal	(Verdugo Valdez <i>et al.</i> , 2011) .
Grains de blé , Sol	(Djekrif, 2016)
Déchets industriels	(Lachance, 2011b ; Ouédrago <i>et al.</i> , 2012).
Agave	(Pérez-Brito <i>et al.</i> , 2015).
Spécimens cliniques	(Zhang <i>et al.</i> , 2010; Lachance, 2011 et Ouédrago <i>et al.</i> , 2012).

2.2. Caractéristiques biologiques

Une levure est un mycète unicellulaire avec un cycle biologique comportant une phase unicellulaire prépondérante. Généralement, les cellules des levures sont plus grandes que celles des bactéries avec une forme sphérique ou ovoïde. A certains stades de leur vie, elles peuvent parfois former des filaments et constituer un pseudo-mycélium (Figure 2) ou un vrai mycélium (**Barnett et al., 2000**).

Les souches de *C. lusitaniae* produisent les pseudo-hyphes avec des chaînes de blasto-conidies développées (**Lachance, 2011b**).

La reproduction se fait selon deux modes :

- Certaines levures adoptent une reproduction asexuée, par bourgeonnement multilatéral et division transversale, qui aboutit à la forme anamorphe ou forme imparfaite (hétérothallique téléomorphe). Les cellules sont ovoïdes, allongées ou ellipsoïdales : *Clavispora lusitaniae* est le représentant de ce groupe.
- D'autres se reproduisent de façon sexuée : certaines arrivent à faire la méiose comme *Candida lusitaniae*. Après la méiose, les asques s'ouvrent par déliquescence pour libérer 1 à 4 ascospores de forme conique (**François et al., 2001**).

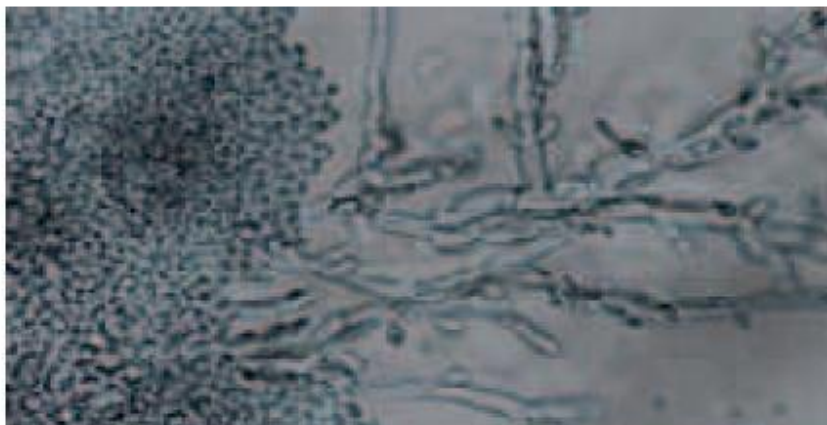


Figure 2: Pseudomycélium chez *Candida lusitaniae*

2.3. Caractéristiques Physiologiques et nutritionnels

Le stress en biotechnologie définie comme des variations effectuées dans le milieu de culture de la levure (température, pH, apport d'oxygène, apports nutritionnels) qui peuvent, en fonction de leur concentration, provoquer différentes «réponses dynamiques» du microorganisme à différents niveaux (macroscopique, microscopique, moléculaire) (Sainz *et al.*, 2003), comme par exemple une modification du métabolisme cellulaire, des capacités de croissance et des fonctions physiologiques, des rendements et des productivités. Les substances inhibitrices sont parfois difficiles à éviter puisqu'elles sont souvent substrats ou produits de la réaction biochimique considérée (Gryta *et al.*, 2000). Une concentration élevée en éthanol inhibe l'activité enzymatique de α -Amylase (Vincent T. *et al.*, 2016).

●Sources de carbone

Les levures étant des chimio-hétérotrophes ont besoin de sources carbonées (Walker, 2009) et de précurseurs pour la biosynthèse de constituants cellulaires variés comme les glucides, les lipides, les protéines, les acides nucléiques... (Kherraz et Lorbi, 2015). Plus de 400 espèces de ces microorganismes identifiées dans la littérature sont capables de métaboliser le glucose, le fructose et le mannose (Pol, 1996 ; Walker, 2009), le glucose peut avoir un effet répressif et inhibiteur sur l'assimilation d'autres sucres par les levures (Walker, 1998). Certaines d'entre elles utilisent des saccharides, des polyols, des alcools (éthanol, méthanol, glycérol), des polysaccharides (amidon soluble, pectine), l'acide lactique et l'acide citrique grâce aux enzymes de leur capital génétique (Kurtzman et Suzuki, 2010). Les souches de *Schwanniomyces castellii*, *S. fibuligera* produisent la biomasse à partir de l'amidon non hydrolysé (à partir des pommes de terre ou leurs pelures, l'amidon soluble) (Ouédragoet *al.*, 2012), les hydrolysats de plantes, le moût de pomme,... (Halász et Lásztity, 1991 ; Klein et Fauveau, 1995 et Bekatorou *et al.*, 2006). Ces données suggèrent une capacité à disposer d'un niveau élevé d'enzymes glycolytiques et lipasiques.

●Sources d'azote

La plupart des levures sont capables d'assimiler différentes sources d'azote organiques (peptone, extrait de levure, glutamine, base purines et pyrimidines...), l'extrait de levure constitue le principal stimulateur de la croissance microbienne en particulier pour les levures (Deak, 2006)

et des sources inorganiques pour la biosynthèse des acides aminés, des protéines, des acides nucléiques et des vitamines (Deak, 2006). Toutes les levures sont pratiquement capables d'utiliser l'azote minéral comme les sels d'ammonium utilisés dans les milieux de culture (Bourgeois, 1996). Contrairement à *Hansenula* et *Citeromyces*, certains genres de levures sont incapables d'utiliser les nitrates : *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia* et *Debaryomyces*. Par contre, les nitrites sont métabolisables par *Debaromyces hansenii* et *Pichia pinus* (Bourgeois, 1996) .

●Minéraux, oligoéléments et vitamines

Ils sont nécessaires en très petites quantités mais un excès provoquera la dénaturation d'enzymes et une perturbation de la morphologie et de la physiologie cellulaire et de la vitesse de croissance (Blom et al., 2000). Pour un développement adéquat, elles ont besoin d'oligo-éléments variés (Al^{3+} , Cr^{3+} , Br^+ , Cu^+ , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Sn^{2+} ...) et en très faible concentration servant des tabilisateurs des biomolécules ou constituants essentiels des systèmes enzymatiques (Larpen-Gourgaud 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 (Aguilar Uscanga, 2003). comme pour *Sacharomyces cerevisiae* qui a besoin de biotine pour croître. Par contre, certaines levures peuvent se multiplier en l'absence de vitamines comme la souche *Candida lusitaniae* qui n'a pas besoin de vitamines pour sa croissance. Les besoins en vitamines varient selon l'espèce (Guiraud, 1998). Les ions Ca^{2+} ont un effet significatif sur le métabolisme et la physiologie des microorganismes (Sarıkaya et Gurgun, 2000).

2.4. Caractéristiques physico-chimiques

Les facteurs environnementaux, tels que, l'aération, le pH, la disponibilité d'eau, les nutriments et la température influencent la croissance des micro-organismes et jouent un rôle déterminant sur la biodiversité microbienne dans un habitat particulier (Brock et al., 1994b; Dix et Webster, 1995a).

●Effets de la température

La température de culture des levures se situe entre 35 et 45°C pour leur assurer une croissance adéquate. Toutefois, ces températures ne sont pas rigoureusement les températures optimales de croissance que les levures trouvent dans leurs habitats naturels (Leveau et Bouix, 1993). En effet,

la température minimale de croissance peut se situer entre 20°C et 50°C pour les microorganismes thermophiles qui poussent à des températures comprises entre 45 et 80°C (**Rudigeret *et al.*, 1995 et Madigan et Martino, 2006**) comme pour des espèces des genres levuriens de *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Candida*, 98% des levures ont une température de croissance comprise entre 24 et 48 °C (**Deak, 2006**). La levure *Candida thermophila*, isolée du sol en Corée, croit à 51°C (**Shin *et al.*, 2001**), certaines se développent à plus de 50°C : *Candida Slooffii*, *Saccharomyces telluris* et *Torulopsis bovina* (**Bourgois *et al.*, 1988 et Leveau et Bouix, 1993**). Les microorganismes capables de se développer à des températures comprises entre 50 et 60 °C sont désignés comme thermophiles modérés (**Bertoldo et Antranikian, 2002**). D'autres levures peuvent se développer à des températures allant de 0 à 50°C, ce sont les levures mésophiles (**Oteng-Gyang, 1984**), tandis que les levures psychrophiles ont une température maximale de croissance se situant entre 5°C et 20°C. Les levures thermophiles ont besoin d'une température élevée pour vivre qui peut aller jusqu'à 100 °C (**Leveau et Bouix, 1993 et Prescott *et al.*, 1995**).

● Effets du pH

Le pH a également une influence sur le développement des levures qui ont tendance à coloniser des environnements acides et par leurs activités métaboliques (la respiration et la sécrétion d'acide organique) acidifiant encore plus le milieu. Les levures tolèrent une large gamme de pH allant de 2,4 à 8,6. Leur croissance optimale se fait à des pH allant de 4 à 6,5 et beaucoup d'espèces tolèrent de grandes variations de pH comme les levures du genre *Candida* qui se multiplient activement en milieu acide, de pH 2 à pH 6 mais peuvent survivre à pH 9. Les levures sont fortement inhibées par les acides acétique, lactique citrique, l'acide ascorbique et propénoïque (**Nancy, 1983**) .

● Aération

Les levures peuvent être classées selon leur mode de production énergétique, utilisant la respiration ou la fermentation. Il est important de noter que ces processus sont principalement réglés par des facteurs environnementaux (**Walker *et al.*, 1997**). En effet, toutes les levures sont capables de se développer en présence d'oxygène, il n'y a pas de levures anaérobies strictes, certaines sont aérobies strictes et d'autres sont aéro-anaérobies facultatives (**Bouix et Leveau, 1991**).

● Pression osmotique et l'activité d'eau (A_w)

La pression osmotique varie d'une souche à une autre. La plupart des souches ne peuvent se développer à des activités de l'eau inférieure à 0,90. Certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées correspondant à une activité de l'eau de l'ordre de 0,60 mais avec un métabolisme lent.

Ces levures sont dites xérotolérantes (**Leveau et Bouix, 1979 et Larpent et Larpent Gaurgaud, 1997**), car elles sont capables de synthétiser des osmoprotecteurs (bétaine et glycérol).

3. Morphologie

3.1. Morphologie

La morphologie des levures est très variée. On distingue trois formes: la forme levure, le pseudomycélium et le mycélium.

3.1.1. Forme de levure

La morphologie des levures est d'une grande importance taxonomique. Elle est sphérique, ovoïde, globuleuse, cylindrique, ellipsoïde, allongée, apiculée, ogivale, triangulaire ou en forme de bouteille (**Walker, 2009 ; Kutzman et al., 2011a**). Sous cette forme unicellulaire, les dimensions sont de 2,5 à 10,5 μm de large et de 4,5 à 21 μm de long. Cette longueur peut dépasser, chez certaines espèces, les 30 μm . Ces dimensions, ainsi que leurs aspects dépendants fréquemment de l'âge des cellules et des conditions de culture (**Scherr et Weaver, 1953**).

● Pseudomyclium

Chez certaines espèces et après bourgeonnement, les cellules filles restent associées les unes aux autres et donnent des chainettes constituées de plusieurs cellules formant un pseudomycélium. Ce dernier peut être rudimentaire ne comptant que quatre à cinq cellules comme il peut être plus important et présenter des ramifications (**Belin, 1996**).

● Mycélium

La propriété de donner un vrai mycélium séparé par des cloisons ou septa caractérise certaines espèces de levures. Cette différenciation présente un allongement important des cellules et l'hyphe ainsi formé prolifère par une croissance apicale (**Bouix et Leveau, 1980**).

5.Reproduction des levures

Les levures sont des champignons unicellulaires, qui peuvent se reproduire de manière sexuée ou asexuée (figure 3).

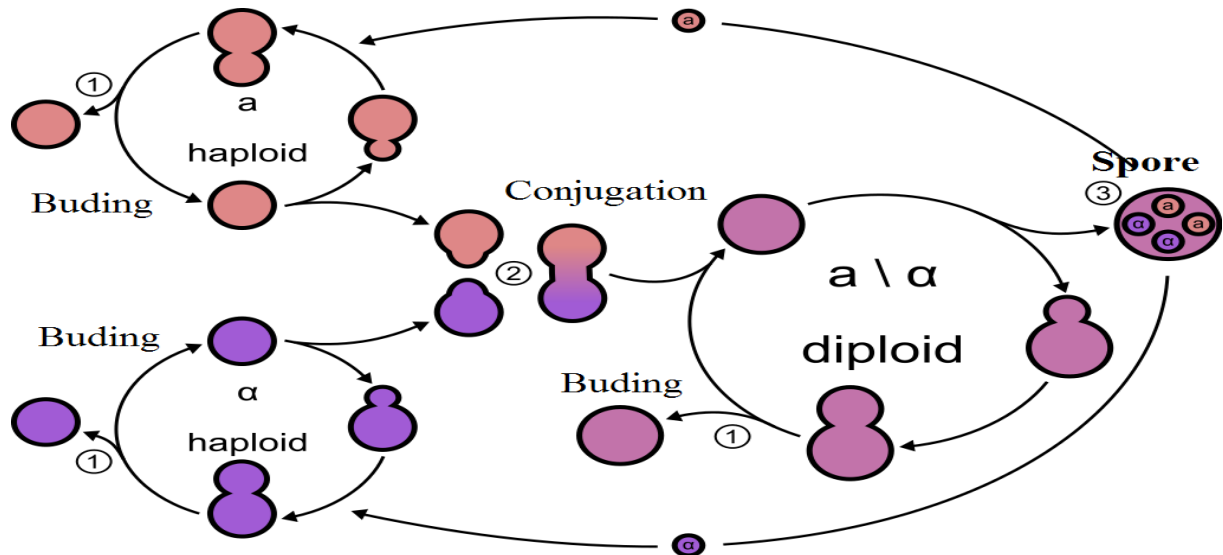


Figure 03 : Cycle de reproduction de la levure (Leclerc *et al.*, 1995).

- **reproduction sexuée**

De plus, les populations des levures connaissent un cycle de vie complexe, dans lequel on trouve alternativement des cellules haploïdes et des cellules diploïdes, La reproduction sexuée s'effectue par conjugaison des deux cellules qui donnent naissance à un zygote (figure4). Après différenciation et méiose un asque à 4 ascospores haploïdes se forme (Oteng-Gyang, 1984).

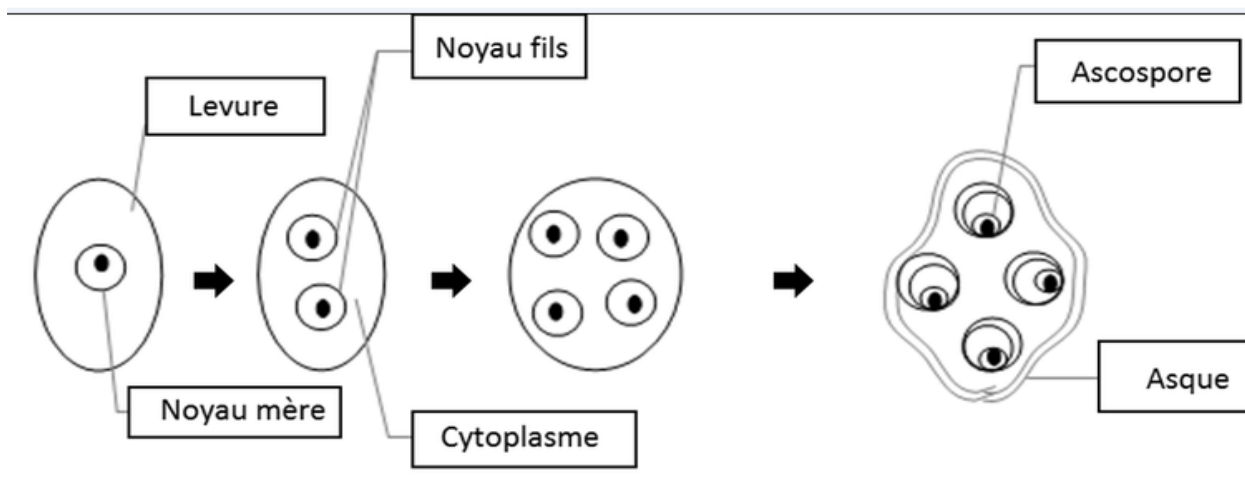


Figure04: la reproduction sexuée d'une levure (Thuriaux, 2004).

- **reproduction asexuée**

Leur mode de reproduction asexuée peut se faire soit par fission binaire, soit par bourgeonnement (figure 5). Il leur permet de se multiplier très rapidement dans des conditions favorables (figure 6). Par exemple, une seule cellule de levure de boulanger peut produire par bourgeonnement jusqu'à 40 cellules filles en moins de deux heures. (Larousse 2006).

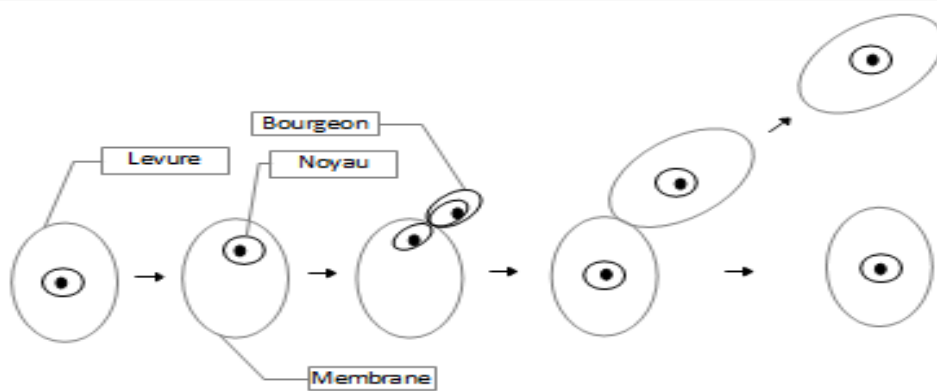


Figure05: la reproduction asexuée par bourgeonnement d'une levure (Thuriaux, 2004).



Figure 06 :Division de cellules levuriennes par bourgeonnement (Dakhmouche,2016).

6.Classification des levures

La classification de référence est actuellement celle de (Kreger-Van, 1984) (Tableau 02) qui présente des changements sensibles par rapport à la précédente classification de (Lodder, 1971).En particulier, de nouveaux critères taxonomiques sont pris en considération pour permettre

des études plus rigoureuses. Il s'agit d'un groupe hétérogène, qui d'un point de vue taxonomique, comprend une soixantaine de genres et près de 500 espèces (Kreger-Van, 1984). Les levures se divisent en 3 grandes classes :

- **Les ascomycètes** : genres sexués, où les produits de la méiose ou ascospores sont endogènes et enfermés dans une structure issue du zygote : l'asque.
- **Les basidiomycètes** : genres sexués, où les produits de la méiose ou basidiospores (chez les levures sont souvent appelés ballistospores) sont exogènes et émis à l'extérieur du zygote.
- **Les deutéromycètes ou levures imparfaites** : genres asexués ne se multipliant que par reproduction végétative.

Tableau 02 : Classification des levures (Kreger-Van., 1984).

Levures basidiomycètes	Les levures ascomycètes	Les levures imparfaites
Levures formant des teliospores	Saccharomycetaceae	Sporobolomycetaceae
<i>Leucosporidium</i>	1. Schizosaccharomycetoidea	<i>Bullera</i>
<i>Rhodospordium</i>	<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>Sporobolomyces</i>
<i>Sporidiobolus</i>	2. Saccharomycetoidea	Cryptococcaceae
Filobasidiaceae	<i>Ambrosiozyma</i>	<i>Aciculoconidium</i>
<i>Filobasidiella</i>	<i>Cyniclomyces</i>	<i>Brettanomyces</i>
<i>Filobasidium</i>	<i>Debaryomyces</i>	<i>Candida</i>
Levures non classées	<i>Dekkera</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>Sterigmatosporidium</i>	<i>Hansenula</i>	<i>Kloeckera</i>
	<i>Pichia</i>	<i>Malassezia</i>
	<i>Saccharomyces</i>	<i>Oosporidium</i>
	<i>Saccharomycopsis</i>	<i>Phaffia</i>
	<i>Schwanniomyces</i>	<i>Rhodotorula</i>
	<i>Yarrowia</i>	<i>Schizoblastosporion</i>
	<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Sterigmatomyces</i>
	3. Lipomycetoidea	<i>Sympodiomyces</i>
	<i>Lipomyces</i>	<i>Trichosporon</i>
	4. Nadsonioidea	<i>Trigonopsis</i>
	<i>Hanseniaspora</i>	
	<i>Nadsonia</i>	

	5. Spermophthoraceae <i>Coccidiascus</i>	
--	--	--

7. Production des enzymes par les levures

Certaines enzymes industrielles produites par les levures sont regroupées dans le **tableau 3** ci-dessous.

Tableau 03 :Exemple de quelques enzymes d'intérêt industriel produites par les levures.

Enzymes	Levures	Références
Protéase	<i>Aureobasidium pullulans</i>	(Chi <i>et al.</i> , 2007).
	<i>Candida lipolytica</i>	(Tobe <i>et al.</i> , 1976).
α-amylase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(Liese <i>et al.</i> , 2000).
	<i>Candida guilliermondii</i>	(Akbache et Bariout, 2007).
	<i>Candida tropicalis</i>	(Liese <i>et al.</i> , 2000).
	<i>Candida sp.</i> <i>Pichiasp.</i>	(Ruohonen <i>et al.</i> , 1991).
Cellulase	<i>Candida molischiana</i> , <i>Candida pulcherrima</i> <i>Candida stellata</i> <i>Candida wickerhamii</i> , <i>Cryptococcus flavus</i> , <i>Kloeckera apiculata</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Rhodotorula glutinis</i> , <i>Saccharomyces fibuligeratinis</i> , <i>Trichosporon cutanum</i>	(Béguin et Aubert, 1994).
Amylopullulanase	<i>Clavispora lusitaniae</i>	(Dakhmouche, 2016) .
Pectinase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(Djouldé Darman <i>et al.</i> , 2005).
	<i>Candida cylindracea</i>	D'Annibal <i>et al.</i> (2006) Kim et Hou (2006)
	<i>Candida utilis</i>	Grbavcic <i>et al.</i> (2007)
	<i>Candida rugosa</i>	Zahoet <i>et al.</i> (2008) Benjamin et Pandey(2001)
	<i>Geotrichum candidum</i>	Burkert <i>et al.</i> (2005)
	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Lopes <i>et al.</i> (2009) Dominguez <i>et al.</i> (2003)
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Tan et Yin (2005) Yang <i>et al.</i> (2005)
	<i>Rhizopus homothallicus</i>	Diaz <i>et al.</i> (2006)

<i>Rhizopus oryzae-</i>	Surribaset <i>al.</i> (2007)
<i>Rhizopus chinensis</i>	Tenget <i>al.</i> (2009)
<i>Williopsis californica</i>	Ciafardinet <i>al.</i> (2006)
<i>Aspergillus oryzae</i> :	Cihangir et Sarikaya (2004)
<i>Aspergillus carneus</i>	Kaushiket <i>al.</i> (2006)
<i>Aspergillus niger</i>	Dutra <i>et al.</i> (2008)
<i>Saccharomyces serevisiae</i>	Ciafardinet <i>al.</i> (2006)
<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	Colenet <i>al.</i> (2006)
<i>Penicillium restrictum</i>	Azeredoet <i>al.</i> (2007)
<i>Penicillium verrucosum</i>	Pinheiroet <i>al.</i> (2008) Kempkaet <i>al.</i> (2008)
<i>Trichosporon asahii</i>	Kumar et Gupta (2008)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Liu <i>et al.</i> (2008)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Potumarthiet <i>al.</i> (2008)

CHAPITRE 2

LIPASES

Chapitre 02 : Lipases

1. Définitions

Les lipases (Triacylglycerol acylhydrolases EC3.1.1.3) appartiennent à une classe d'hydrolases spécifiques à l'hydrolyse des graisses en acides gras et du glycérol à l'interface eau-lipides. Ils sont également capables d'inverser la réaction dans les milieux non aqueux et ils sont abondamment présents dans la nature (Singh *et al.*, 2017). Claude Bernard, 1856, dans le jus pancréatique, a déterminé que la lipase était une enzyme qui hydrolysait les gouttelettes d'huile insoluble et les transformait en produits solubles (Sangeetha *et al.*, 2010).

La structure des lipases a été déterminée par cristallogénèse et diffraction des rayons x (Najjar, 2010). Toutes les lipases connues à ce jour présentent une organisation tridimensionnelle commune composée d'un feuillet bêta centrale formée de huit brins parallèles connectés entre eux par des hélices alpha (Figure 07) (Najjar, 2010).

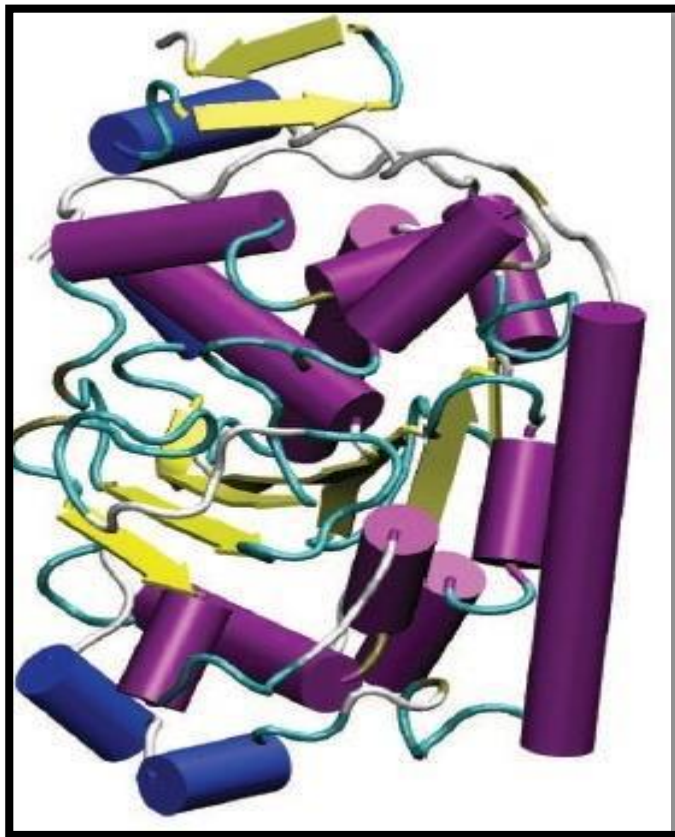


Figure 07: Structure dimensionnelle d'hélice (site active d'une lipase) .le feuillet beta en jaune, les hélices alpha en violet, les hélices alpha en bleu, et les motifs 'turn' en bleu ciel (chapot, 2012).

2. Caractéristiques

Le poids moléculaire des lipases se situe entre 19 et 60 kDa et on a signalé qu'il s'agissait de protéines monomériques (**Chandra et al.,2020**).

Les lipases agissent sur des substrats insolubles émulsionnés dans l'eau et catalysent l'hydrolyse (liaisons ester de clivage) de triacylglycérides composés d'acides gras à longue chaîne (plus de dix atomes de carbone) (**Fatima et al.,2020**).

Dans le milieu eau /solvant organique immiscible, elles sont également capable de catalyser la réaction réversible de synthèse et échangeuse de groupes d'esters et résolution de mélange racémique en alcools et acides optiquement actives (Figure 08). Certaines lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides, des esters de cholestérol et même parfois certains esters synthétiques (**Pabai ,1997 ;Fickers et al., 2008**).

Les lipases diffèrent des estérases parce que ces dernières agissent sur des substrats solubles dans l'eau, tels que les esters simples avec des acides gras à chaîne courte (moins de six atomes de carbone)(**Fatima et al.,2020**).

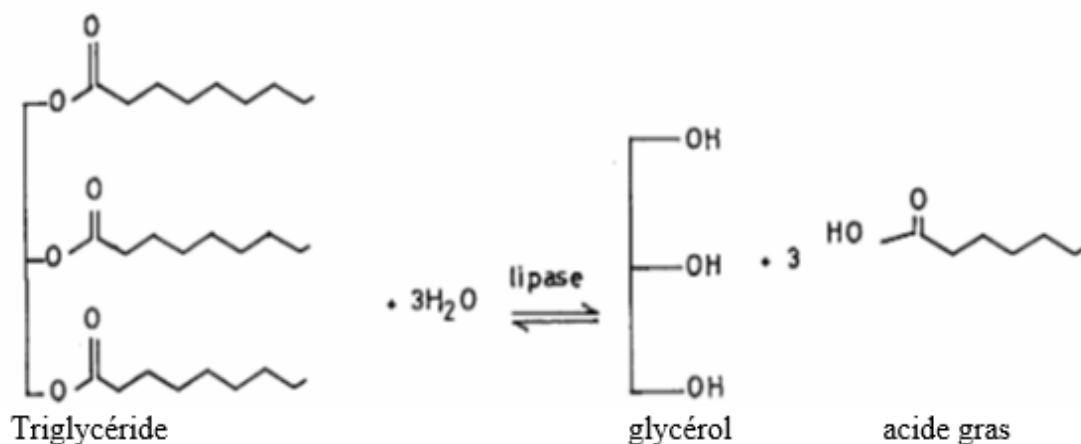


Figure 08: Réaction enzymatique catalysant l'hydrolyse ou la synthèse de triglycéride (**Jaeger et al., 1994 ; Benjamin et Pandey,1998**).

3. Origines des lipases

Les lipases sont largement répandue dans la nature où elles ont un rôle physiologique important dans le métabolisme des graisses ; on les retrouve chez de nombreux organismes vivants (**Gilhan et Lehner, 2005**). Ce sont des enzymes omniprésentes, produites par les plantes, les animaux et les microorganismes (**Lascano Demera et al., 2019**).

3.1. Origine végétale

Les lipases se trouvent au sein de la plante, principalement dans les graines où les trilycérides sont stockés dans des structures intracellulaires appelées oléosomes (**Fickers et al., 2007 ; Casas goday et al., 2012**). Ces derniers contiennent des lipases capables d'être utilisées dans la biotransformation des lipides dans les domaines suivants la papeteries, l'oléochimie, la farine de blé et les huiles essentielle (**Wilfried et al., 2011**).

3.2. Origine Animale

Les lipases animales représentent une source énergétique essentielle et avantageuse qui interviennent dans le control, de la digestion, de l'absorption et de la reconstitution des graisses ; elles se divisent en trois grands groupes.

- **Lipases gastriques**

Secrétée par la muqueuse gastrique, hydrolyse les lipides alimentaires dans l'estomac. Elle ne nécessite pas la présence de cofacteurs pour être active ; elle est stable et active à des valeurs de pH proche de 1 et elle est résistante à la pepsine ainsi qu'aux protéases gastriques (**Chahinian et Sarda ,2009**).

- **Lipases pancréatiques**

Principal enzyme responsable de la digestion des lipides alimentaires. Elle est secrétée dans le duodénum et fonctionne à des pH légèrement alcalins, contrairement à la lipase gastrique (**Gargouri et al.,1984**).

- **Lipases hépatiques**

Elle joue également un rôle dans le métabolisme des lipoprotéines circulant dans le sang. Elle est capable d'hydrolyser les glycérides, les phospholipides, et les esters de cholestérol. Elle peut aussi catalyser la transestérfication entre glycérides (**Fickers et al., 2008**).

3.3. Origine Microbienne

De nombreux genres des microorganismes sont capables de produire de la lipase, et bon nombre d'entre eux sont associés à des bactéries, des actinomycètes, des champignons, les moisissures et les levures. Les lipases produites à partir de ces origines microbiennes sont plutôt diverses et diffèrent normalement les unes des autres en termes de caractéristiques physiochimiques et biologiques (**Fatima et al.,2020**); L'intérêt des lipases microbiennes n'a cessé de s'accroître au cours de ces dernières années principalement en raison du grand nombre d'application qu'elles offrent dans les domaines très variée (**Rihani, 2012**).

Les lipases provenant de micro-organismes sont plus ciblées en raison d'un rendement plus élevé, d'une meilleure adaptabilité et peuvent être facilement manipulées génétiquement (**Maharana et Singh, 2018**).

Pseudomonas est considéré comme un producteur remarquable de lipase active à froid (**Maharana et Ray, 2015b ; Zeng et al., 2004**). En outre, d'autres genres pour une meilleure production de lipase appartiennent aux genres *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Microbacterium*, *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Staphylococcus* etc. (**Joseph et al., 2008**).

Les levures comme *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Yarrowia lipolytica* etc. ont la potentialité maximale de produire des lipases actives froides (**Singh et al., 2014a, b ; Taskin et al., 2016 ; Maharana et Singh, 2018**). En plus **Maharana et Ray (2014c)** ont signalés les micro-champignons psychrotolerants comme *Absidia*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Coccoides*, *Fusarium*, *Microsporium*, *Mucor*, *Penicillium*, et *Rhizopus* produisant des lipases actives à froid. Les cutinases sont des enzymes qui peuvent être apparentées aux lipases et estérases produit par *Fusarium solani* qu'est responsable de la formation de Mycétome chez l'homme (**Hasen et al., 2006 ; Fickers et al., 2008**).

4. Mécanisme catalytique des lipases

Le mécanisme commence par une acylation. Cette étape consiste à transférer un proton entre l'aspartate, l'histidine et les résidus de sérine de la lipase, provoquant l'activation du groupe hydroxyle de la sérine catalytique. En conséquence, le résidu hydroxyle de la serine, avec une nucléophilie accrue, attaque le groupe carbonyle du substrat. Le premier intermédiaire tétraédrique est formé avec une charge négative sur l'oxygène du groupe carbonyle. Le trou d'oxyanion stabilise la distribution de charge et réduit l'énergie d'état de l'intermédiaire tétraédrique en formant au moins deux liaisons d'hydrogène. L'étape de désacidylation a ensuite lieu, où un nucléophile attaque l'enzyme, libérant le produit et régénérant l'enzyme. Ce nucléophile peut être soit de l'eau dans le cas de l'hydrolyse ou de l'alcool dans le cas de l'alcoololyse (**Casas-Godoy et al., 2018**).

5. Réactions catalysée par les lipases

Les lipases catalysent un grand nombre de réactions allant de l'hydrolyse à l'estérification et les réactions d'alcoololyse et d'acidolyse (Figure 09). Cette particularité catalytique des lipases de diverses réactions en fonction de leurs microenvironnement, leurs spécificités et leurs conditions

de réactions, rend cette classe d'enzyme intéressante de point de vue industriel (**Fickers *et al.*, 2008; Reis *et al.*, 2008**).

5.1. Réaction d'hydrolyse

Les lipases catalysent naturellement l'hydrolyse de la liaison ester des tri-, di- et monoglycérides en acides gras et en glycérol (**Casas-Godoy *et al.*, 2018**).

5.2. Réaction de synthèse

Lipases, dans des conditions thermodynamiques favorables (une faible activité de l'eau), catalysent également une grande variété de réactions de synthèse qui peuvent être classées en deux principaux types de réactions, à savoir l'estérification et la transestérification (**Kapoor et Gupta, 2012**).

5.2.1. Transestérification

Lors de la transestérification, la substitution du groupe R d'une molécule d'ester se produit au groupe R d'un acide, d'un alcool et d'un ester dans les réactions d'acidolyse, d'alcoolyse et d'interestérification (**Fatima *et al.*, 2020**).

- **Interestérification**

Lors de la réaction, un groupe acyle est transféré à un acide gras ou à un ester d'acide gras (**Jaeger *et al.*, 1999**).

- **Alcoolyse**

C'est une réaction d'un ester avec un alcool monovalent (l'éthanol et butanol) ou un alcool polyvalent (la glycérine) pour produire un ester avec de différents groupes d'alkyl (**Alloue, 2008 ; Gunstone, 1999**).

- **Acidolyse**

C'est une réaction d'un ester avec un acide qui mène un changement de groupe acyle transféré à un acide gras (**Gunstone, 1999**).

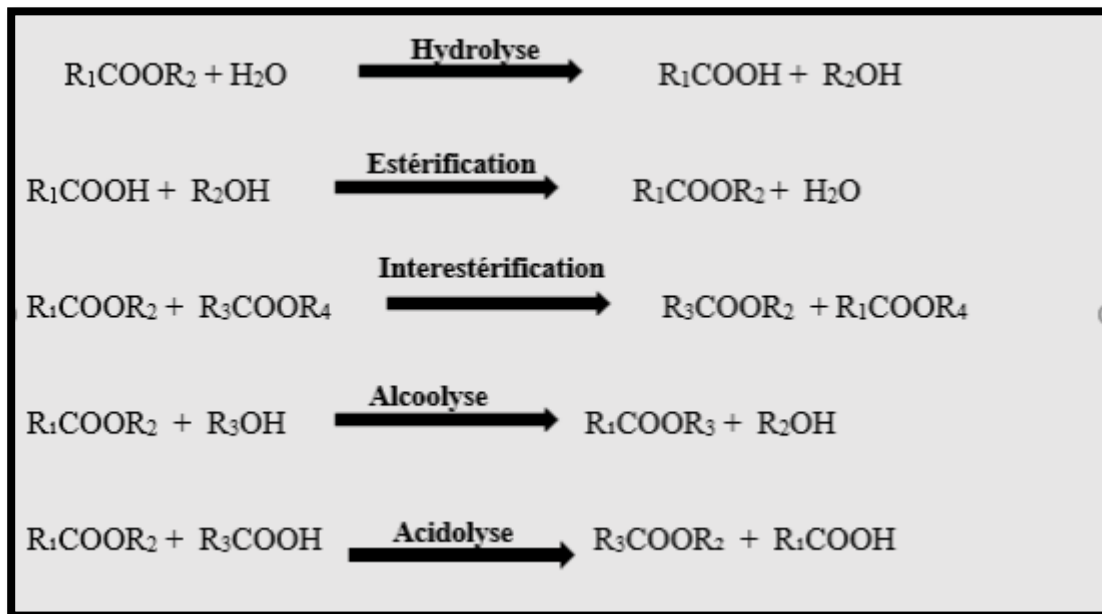


Figure 09: Réactions catalysées par la lipase (Chandra *et al.*, 2020).

6. Production de lipase

La fermentation est une approche de transformation biologique de substrats complexes en molécules plus simples à travers différents microorganismes. Elle est largement utilisée pour la production industrielle de lipases et confère de grands avantages sur les approches conventionnelles (Fatima *et al.*, 2020).

La production de lipase est réalisée par la fermentation solide (FMS ou en anglais Solid- State Fermentation, SSF) et la fermentation liquide (FML ou en anglais Submerged Fermentation, SmF). Plusieurs études sont portées sur la production de la lipase en FMS chez *Aspergillus niger* MTCC 872 (Nema *et al.*, 2019); *Yarrowia lipolytica* (Dominguez *et al.*, 2003), *Candida rugosa* (Benjamin et Pandey, 2001) et *Candida utilis* par FMS (Grbavcic *et al.*, 2007) et aussi en FML chez *Candida guilliermondii* (Oliveira *et al.* 2014) et *Yarrowia lipolytica* (Lopes *et al.*, 2009).

7. Facteurs influençant la production de lipase

Plusieurs facteurs affectent la production de la lipase tels que :

7.1. Sources de carbone

La lipase microbienne est produite couramment par l'induction de gènes codant pour la lipase. Les sources de carbone jouent un rôle important dans l'induction de la lipase dans tous les types de

sources microbiennes. *Aspergillus terreus* a observé un bon rendement dans la production de lipase avec de l'huile de moutarde comme source de carbone (Sethi et al., 2012). La production accrue de lipase dans les souches fongiques est accomplie en utilisant un amalgame de gâteau d'huile d'olive et de bagasse de canne à sucre comme source de carbone. Contrairement à d'autres sources de carbone, une augmentation du développement de la lipase a été enregistrée avec des gâteaux d'huile d'olive (Zarevucka, 2012). L'utilisation de Tween 80 a contribué à améliorer la récupération de la lipase développée par *Acinetobacter sp.*(Cheng et Chen, 2001).

7.2. Sources de nitrogène

L'azote joue un rôle important dans la production de lipase. Diverses sources organiques et inorganiques d'azote ont joué un rôle important dans la production accrue de lipases provenant de diverses espèces microbiennes (Oliveira et al., 2016 ;Das et al., 2017). *Rhizopus sp.* a été cultivé en appliquant de l'urée au milieu de culture de la lipase, qui est plus efficace dans l'activité lipolytique (Rodriguez et al.,2006). Maharana et Singh (2018) ont utilisé l'extrait de levure, NaNO_3 et $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ au milieu de production de lipase de *Rhodococcus erythropolis*. Différents types de sources d'azote (extrait de levure, peptone, caséine, nitrate d'ammonium et nitrate de potassium) ont été utilisés dans les milieux de production car ils pouvaient affecter la production de lipase (Ilesanmi et al.,2020).

7.3. Température

La température est un facteur important pour la croissance des microorganismes et par conséquent pour la sécrétion d'enzymes, car une concentration plus élevée de biomasse de lipase a été notée à une température de 37 °C (Bharathi et al.,2019). Les scientifiques ont noté que la faible hausse de température allant jusqu'à 38 °C augmente la production de lipases. La basse température diminue la production d'enzyme lipase, et la température plus élevée influe également sur la fonction des enzymes (de Souza et al.,2019).

Les scientifiques ont notés que faible température produit la lipase de *Guehomyces pullulans* à une température de 25 °C (Lascano Demera et al.,2019), et de *Candida guilliermondii* à température de 30 °C (Oliveira et al. 2014).

7.4. pH

En général, les lipases bactériennes ont un pH alcalin ou neutre. Plusieurs travaux ont montré une augmentation de la production de lipase à partir de cellules bactériennes et de levures dans des conditions de pH alcalin et neutre (Bharathi et al., 2019) alors que la production de lipase fongique était plus élevée à pH acide. Turati et al., 2019 ont constaté une augmentation de la production et de l'activité de la lipase à pH 4.

La lipase de *Candida guilliermondii* a présenté une activité plus élevée à pH 6.5 (Oliveira et al., 2014) ; La lipase de *Guehomyces pullulans* a une activité maximale à pH 8 (Lascano Demera et al., 2019); et celle d'*Aspergillus niger* MTCC 872 à pH 6 (Nema et al., 2019).

8. Microorganismes producteurs de lipases

Les lipases microbiennes sont universelles dans la nature et sont très commercialisées en raison de leur faible coût de leurs fabrications supérieures ainsi que leur grande disponibilité (Borrelli et Trono, 2015). Tableau 04 rassemble certains microorganismes lipolytiques.

Tableau 04 : Microorganismes producteurs de lipases.

Espèces	Références
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Lopes et al., (2009); Fickers et al., (2006)
<i>Candida rugosa</i>	Francoliniet al.,(2020) ; Rajendran et al.,(2008) ; Boareto et al., (2007)
<i>Candida sp.</i>	He et Tan ,(2006)
<i>Candida guilliermondii</i>	Oliveira et al.,(2014)
<i>Guehomyces pullulans</i>	Lascano Demera et al.,(2019)
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Kaieda et al., (2001)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hu et al., (2018)
<i>Xanthomonas oryzae</i>	Mo et al.,(2016)
<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus flavus</i>	Colla et al., (2016)
<i>Bacillus subtilis</i>	Suci et al.,(2018)
<i>Streptomyces sp.</i>	Al-Dhabi et al.,(2020)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ciafardini et al. (2006)
<i>Trichosporon asahii</i>	Kumar et Gupta (2008)

9. Intérêt industriel des lipases

En 2020, l'ampleur du marché mondial de la lipase a atteint 590,5 millions \$, à un CAGR (ou Compound annual growth rate) de 6,5 %. L'Asie-Pacifique était le plus grand marché pour la consommation de lipase en 2014 (**Özgen et al., 2020 ;Ávila et al., 2019**). Et pendant la période de prévision, on estime que le marché de l'Asie-Pacifique et le taux de croissance CAGR annuel augmentent. En outre, les perspectives croissantes dans les marchés en développement tels que l'Inde, la Chine et le Brésil devraient améliorer l'étendue du marché des lipases au cours de la période de prévision. Novozymes A/S (Danemark), E. I. du Pont de Nemours et Compagnie (Genencor) (États-Unis), Koninklijke DSM N.V. (Pays-Bas) et Chr. Koninklijke DSM N.V. (Pays-Bas) et Chr. Hansen Holdings A/S (Danemark) sont les plus importants de la consommation de lipases dans le monde (<http://www.marketsandmarkets.com>, 2020). Grâce à ses propriétés spécifiques telles que l'énantiosélectivité, la régiosélectivité et la large spécificité du substrat, la lipase présentant le plus d'intérêt parmi toutes les enzymes (**Lokha et al., 2020 ; Zhong et al., 2020**).

Les lipases revêtent une grande importance dans l'industrie en raison de leur stabilité dans les solvants organiques, de leur grande variété de substrats, de leur sélectivité et de leur capacité à catalyser les réactions sans ajouter de cofacteurs coûteux. De plus, ils sont facilement produits et actifs dans des conditions de réaction légère (**Casas-Godoy et al., 2018**).

Par conséquent, les lipases sont utilisées dans de nombreux domaines industriels différents :

9.1. Détergents et agents nettoyants

Comme additifs puisqu'ils sont actifs et stable à des températures élevées et à un pH alcalin. Ils sont également essentiels dans la production de savon, de produits pour le lave-vaisselle, de solvants pour le nettoyage à sec et de lentilles de contact (**Li et al., 2014 ;Lailaja et Chandrasekaran ,2013**).

9.2. Industrie alimentaire

Y compris la production de produits laitiers, comme le fromage, la modification des graisses et des huiles (par exemple :fabrication de beurre et de margarine, nouvelles huiles de cuisson) et la production d'aliments pour bébés et de lipides structurés ayant des propriétés uniques (par exemple :équivalent beurre de cacao, succédané de lait humain, graisses riches en calories ou réduites, huiles enrichies en acides gras polyinsaturés (AGPI)) (**Chaurasia et al., 2016 ;Ferreira-Dias et al., 2013 ;Peng et al., 2014**). Ils sont utilisés comme émulsifiants dans l'amélioration des produits de boulangerie et des pâtes alimentaires et comme additifs dans

l'alimentation animale (**Melim et al., 2013**). Enfin, ils sont également utilisés pour modifier les arômes et produire des composés parfumés (**Peng et al., 2014**).

9.3. Produits chimiques fins

Dans l'industrie pharmaceutique pour produire des énantiomères purs par la résolution de mélanges racémiques (par exemple, molécules chirales telles que les prostaglandines, les céphalosporines, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les hydantoïnes, et les pénicillines) (**Gérard et al., 2017 ; Tian et al., 2012**). Les molécules chirales sont également utilisées comme herbicides dans l'industrie agrochimique (**Bora et al., 2013**). Dans l'industrie du parfum et de la cosmétique, ils sont employés pour produire des tensioactifs et des parfums et comme émoullients dans les produits de soins personnels (**Khan et Rathod, 2015**).

9.4. Industrie de la pâte et du papier

Dans le contrôle du brai, pour l'élimination des triglycérides et des cires. De plus, leur présence augmente la blancheur et réduit la pollution des eaux usées (**Sharma et Kanwar, 2014**).

9.5. Bioremédiation de la lipase et processus environnementaux

Comme le traitement des eaux résiduelles riches en pétrole, la dégradation des débris organiques et le traitement des eaux usées provenant d'un large éventail d'industries (**Salihu et Alam, 2015**).

PARTIE 2

MATERIELS ET

METHODES

1. Matériel biologique

Les levures sont naturellement présentes dans les sols, sur les surfaces végétales, en particulier les baies de raisin, ou dans les zones viticoles. Les levures sont des acteurs essentiels intervenant dans divers domaines et l'intérêt qu'elles suscitent aujourd'hui est dû à leur grande diversité. Un grand nombre des levures obtenu à partir d'habitats naturels sont essentiellement utilisées en biotechnologie grâce à leurs caractéristiques physiologique L'ingénierie des levures a donc trouvé dans l'industrie de la fermentation un champ d'application privilégié pour produire divers métabolites comme les arômes et l'éthanol et les enzymes .

Isolement des levures

Échantillonnage

L'isolement est réalisé à partir d'un échantillon du sol d'un champ d'olivier (S) et de grignons d'olive (GO). Environ 100 g de sol et de grignons d'olive sont prélevés et introduits dans un bocal en verre stérile.

1.1 Isolement

L'isolement est réalisé selon la méthode de suspension - dilution (Davet et Rouxel, 1997).

1.2.1. Préparation des dilutions

La préparation des dilutions consiste, tout d'abord, à préparer la solution mère. Cette dernière est préparée, en ajoutant 1g de S et GO prélevé dans 9 ml d'eau distillée stérile, suivi, d'une agitation pendant 10 min. À partir de cette solution, des dilutions décimales sont préparés par l'ajout successif de 1 ml de la solution à 9 ml d'eau distillée stérile jusqu'à l'obtention de la dilution de 10^{-9} (figure 10).

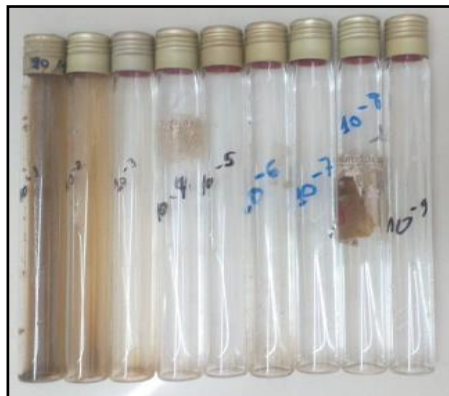


Figure 10: Dilutions décimales

1.2.2. Ensemencement

L'ensemencement se fait en surface, par étalement de 0,1ml de chaque dilution avec un râteau (**Hammer et al., 1998**) sur milieu d'isolement YPGA (figure 11), on tournant soigneusement la boîte.

Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 28°C, pendant 03 jours .



Figure 11: A : le milieu YPGA ; B : Préparation de milieu YPGA

1.2 Purification

La purification des souches est réalisée à partir de colonies bien isolées, sur milieu YMA (Yeast Malt Extract Agar) ; Par plusieurs repiquages successifs par la méthode des stries. L'incubation est réalisée en aérobiose, à 28°C pendant 48h. L'aspect macroscopique et microscopique est ensuite, examiné afin de vérifier la pureté de la souche.

Conservation

Des cultures jeunes de levures sont préalablement préparées sur milieu gélosé YPDA. A partir de ces cultures, des colonies bien développées sont prélevées et ensemencées sur le milieu liquide YPD additionnée du glycérol 30% (Annexe) comme cryoprotecteur. Les cultures préparées sont incubées pendant 3 à 4 jours, pour permettre une croissance maximale des cellules, et ensuite congelées à -20°C. Cette dernière permet la préservation d'une fractions riches en cellules viables pendant 1 à 2 ans (**Larpen, 1997**).

1.3. Sélection de levure lipolytique

À partir des résultats de la mise en évidence des activités lipolytique nous avons sélectionné les souches représentant une grande capacité d'activité.

Préparation de l'inoculum

Dans le but de sélectionner la souche levurienne productrice de la lipase la plus performante, une pré-culture est préparée par l'ensemencement de milieu de culture avec des colonies levuriennes prélevées à l'aide d'une pipette pasteurs stérile, incubé à une température de 28°C pendant 24 heures. Des colonies isolées sont prélevées et ajoutée dans un tube contenant 5ml de l'eau distillée stérile et agiter on utilisant Mc Farland4 pour la normalisation de la turbidité (figure12).



Figure 12 : Préparation de l'inoculum

Le premier milieu utilisé pour la mise en évidence de cette activité est le TPA (Tween Peptone Agar) (Tehreema *et al.*, 2011). Le deuxième milieu est POA (Phenol Oil Agar) (figure 13), (Singh *et al.*, 2006).

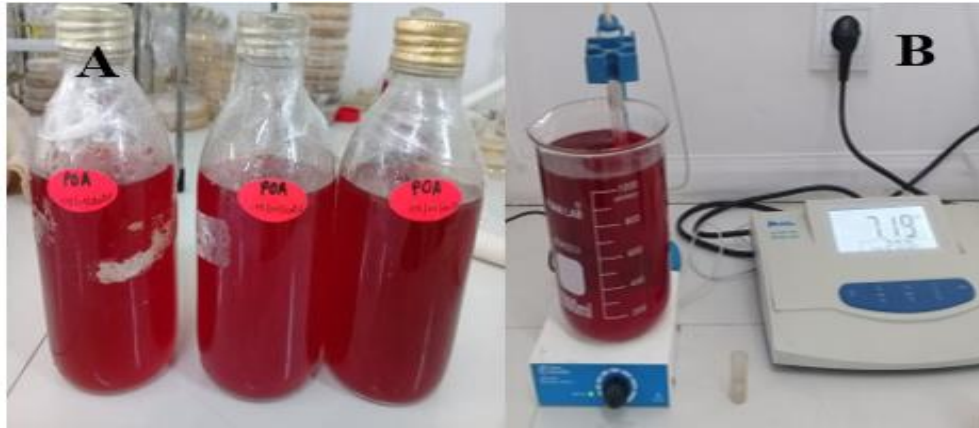


Figure 13: A : le milieu POA ; B : Préparation du milieu POA

1.1.ensemencement des milieux

- Préparer des suspensions à partir des cultures levuriennes jeunes en utilisant le Mc Farland4.
- Creuser des puits de 6 mm de diamètre dans la gélose à l'aide d'un bout revers de la pipette Pasteur.
- ensemencer par dépôt de 60 μ l de l'échantillon dans le puits (deux répétitions pour chaque levure).
- Incuber à 28°C pendant 3 jours (**Dekhmouche,2016**).

1.2.Révélation

L'activité est révélée par l'apparition d'une zone claire de forme annulaire claire entourant la croissance de la levure. La zone est révélée directement sans détecteur (**Singh et al., 2006**). La présence d'enzymes lipolytiques dans le milieu TPA se distingue par la précipitation des cristaux autour des colonies (forme anneau) ce qui indique que les acide gras qui constitue le Tween 80 sont dégradés par la lipase (**Tehrema et al., 2011**). La présence d'enzymes lipolytiques dans le milieu POA est révélée par l'apparence d'un halo autour de puit, les lipases attaquent les triglycérides, qui contiennent des acides gras à longue chaîne, comme l'huile d'olive (**Glogauer et al.,2011**).

2 . Production de lipase

2.1. Choix de substrat de fermentation

Pour la production de lipase, le choix d'un milieu de fermentation approprié est essentiel pour la croissance et la production quantitative d'enzymes, pour cela on a choisi un milieu de production à base de déchet de grignons d'olive et un autre à base de déchets de lentisque. Ces substrats végétaux sont constitués essentiellement de triglycérides et d'acides gras et d'un grand nombre de composants qui permettent à la levure de produire l'enzyme lipolytiques dégradant le déchet .

Grignons d'olive

Ce sous-produit résulte de l'extraction de l'huile d'olive. Il renferme la plus grande partie de la matière sèche d'olive, constituée essentiellement de l'épicarpe du fruit (pellicule), le mésocarpe (pulpe ou chair de l'olive) et l'endocarpe (coque et amandon de noyau). De plus, il peut contenir une certaine proportion d'eau de végétation qui contient à son tour les composants hydrosolubles de l'olive (Nefzaoui, 1987)

Déchets de lentisque

Ce déchet résulte de l'extraction de l'huile lentisque, C'est la matière sèche de lentisque, Ce déchet est aussi riche en triglycérides et en acides gras principalement pour cela nous avons choisi la production de lipase.

2.2. Conduite de la fermentation

2.2.1. Dénombrement par cellule de Thoma

Le dénombrement des cellules s'effectue par comptage direct à l'aide d'une cellule de Thoma. Le comptage permet de déterminer le nombre de cellules totales par unité de volume de milieu de culture. La relation suivante permet d'avoir accès à la concentration en cellules totales exprimée en nombre de cellules par ml :

$$\text{Nombre cellules totales /ml} = \frac{\text{nombre de cellules totales}}{\text{nombre de carreaux}} \times \text{dilution} \times 2 \times 2,5. 10^5$$

2.2.2.Fermentation à l'état solide

Les cultures sont réalisées dans des erlenmeyers de 250 ml contenant 5g de déchet utilisé on ajoute 1ml huile d'olive comme inducteur. La stérilisation du milieu est effectuée à 120°C pendant 20 min, suivi par l'ajoutée de 7ml d'eau distillée stérileensemencés par 65µL (75×10^6 cellule/ml) de la souche sélectionnée l'inoculum préparés précédemment et puis incubées à 28°C pendant 48 h.

2.2.3.Fermentation liquide

Dans erlenmeyers de 250 ml contenant 40ml de milieu liquide (5%) on ajoute 1ml huile d'olive stériliser. Les erlenmeyers sontensemencés par 520µL (75×10^6 cellule/ml) de la souche sélectionnée puis incubées à 30°C sous agitation 150 rpm pendant 48 h.

2.3 Extraction

Les enzymes ont été extraites par l'ajout 2.5 g de déchet fermenter en suspension avec 25 ml d'une solution tampon de phosphate à 0.1 M (pH 7,2) et vortexé pendant 2min pour extraire l'enzyme lipase. L'échantillon était centrifugé à 10000 rpm pendant 10 min à 4°C , Après la filtration le surnageant utiliser comme lipase brute (**Sahoo, Sahu, et Subudhi 2020**).

3.Dosage de l'activité enzymatique

L'activité enzymatique de la lipase est mesurée par titrage des acides gras libérés à partir de la dégradation d'huile d'olive (**Mafakher et al.,2010**). Pour ce faire, une millilitre de chaque surnageant est ajouté à 5 ml de l'huile d'olive et 20mL de tampon phosphate ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$) (0,5M, pH 7,23) Les milieux réactionnels sont incubés pendant 30 min à 30°C, sous agitation 130 rpm , La réaction est arrêtée par l' addition de 15ml de solution de stop (V : V, éthanol : acétone) .Des échantillons témoins sont préparés sans l'ajout de substrat. Les acides gras libérés au cours de la réaction enzymatique sont déterminés par titration avec du NaOH (0,05 N), en présence de

phénolphtaléine comme indicateur. Une unité d'activité de lipase est définie comme l'activité qui libère 1 μmol d'acide gras par minute (Nema et al., 2019).

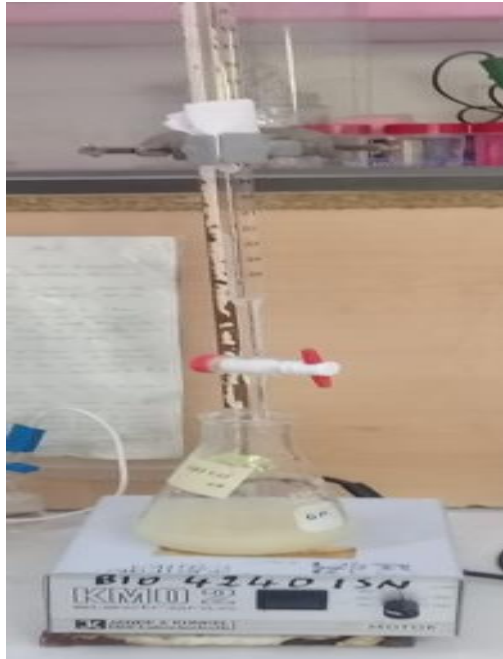


Figure 14 : Dosage de l'activité lipasique par titration

3.1.Détermination de la matière sèche

La matière sèche est déterminée par séchage d'un échantillon de poids connu (2,5g), dans une étuve réglée à 70°C pendant 3jour.

4. Optimisation du milieu de production

L'effet de différents facteurs est mis en évidence par le dosage de l'activité enzymatique comme il a été décrit précédemment .

4.1 Étude de l'effet du pH

Le milieu de fermentation sont taponnée par tampon phosphate ($\text{KH}_2\text{PO}_4 / \text{K}_2\text{HPO}_4$) à une concentration de 0.5M **pH = 5**.

4.2 Étude de l'effet de la source de carbone

On ajoute dans chaque milieu de fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose, fructose) et le Tween 80 avec une concentration de 0.1 % .

4.3 Étude de l'effet de la source de l'azote

Les milieux de fermentation sont additionnés de 0.1% des substances d'azote organique (extrait de levure, corn steep, peptone) ou d'azote inorganique (minéral) [$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, $\text{NH}_4 \text{Cl}_2$].

4.4 Étude de l'effet de l'interaction de différents facteurs étudiée

Après l'étude des facteurs séparément, nous avons aussi étudié l'effet des combinaisons de ces facteurs sur la production de la lipase de la souche *Candida sp.* Li17 à savoir :

Tween 80 + extrait de levure

Extrait de levure + tampon phosphate pH =5

Tween 80 + tampon phosphate pH 5

Tween 80 + extrait de levure + tampon phosphate pH 5

5. Essai d'Application industrielle de lipase

5.1 Test de la compatibilité de lipase avec divers détergents à lessive commerciaux

Le potentiel de lipase comme additif détergent dans les lessives, sa compatibilité et sa stabilité envers certains détergents commerciaux disponibles sur le marché local (Marseille, Test, et Isis) sont testés. Pour stimuler l'état de lavage, les solutions aqueuses de détergents (7 mg/ml) sont chauffées à 100 °C pendant 60-90 minutes pour dénaturer l'activité enzymatique endogène. Ensuite, le détergent et l'enzyme sont mélangés dans un rapport de 1 :1 (v / v) et doser par la méthode utiliser précédemment. (Dakhmouche ,2016)

5.2 Analyse de la performance de lavage

Pour déterminer l'efficacité de lipase levurienne pour une utilisation comme additif bio-détergent, une performance de lavage a été évaluée par la détermination de la capacité de l'enzyme d'éliminer la tache de rouge à lèvres et du beurre sur des tissus de coton. Le rouge à lèvres et le beurre sont appliqués sur des tissus de coton propres (7 cm × 7 cm) séchés pendant une nuit dans un four à air chaud. Pour tester la performance de lavage, chaque morceau de tissu sale est plongé dans des erlenmeyers contenant :

- (a) 25 ml d'eau du robinet (témoin).
- (b) 20 ml d'eau du robinet et 5,0 ml d'extrait enzymatique.
- (c) 20 ml d'eau du robinet et 5 ml de détergent chauffé (7 mg/ml).

Tous les erlenmeyers sont incubés à 37°C pendant 60 min sous agitation 200 rpm. Après incubation, les morceaux de tissu sont retirés et rincés à l'eau puis séchés (**Dakhmouche ,2016**).

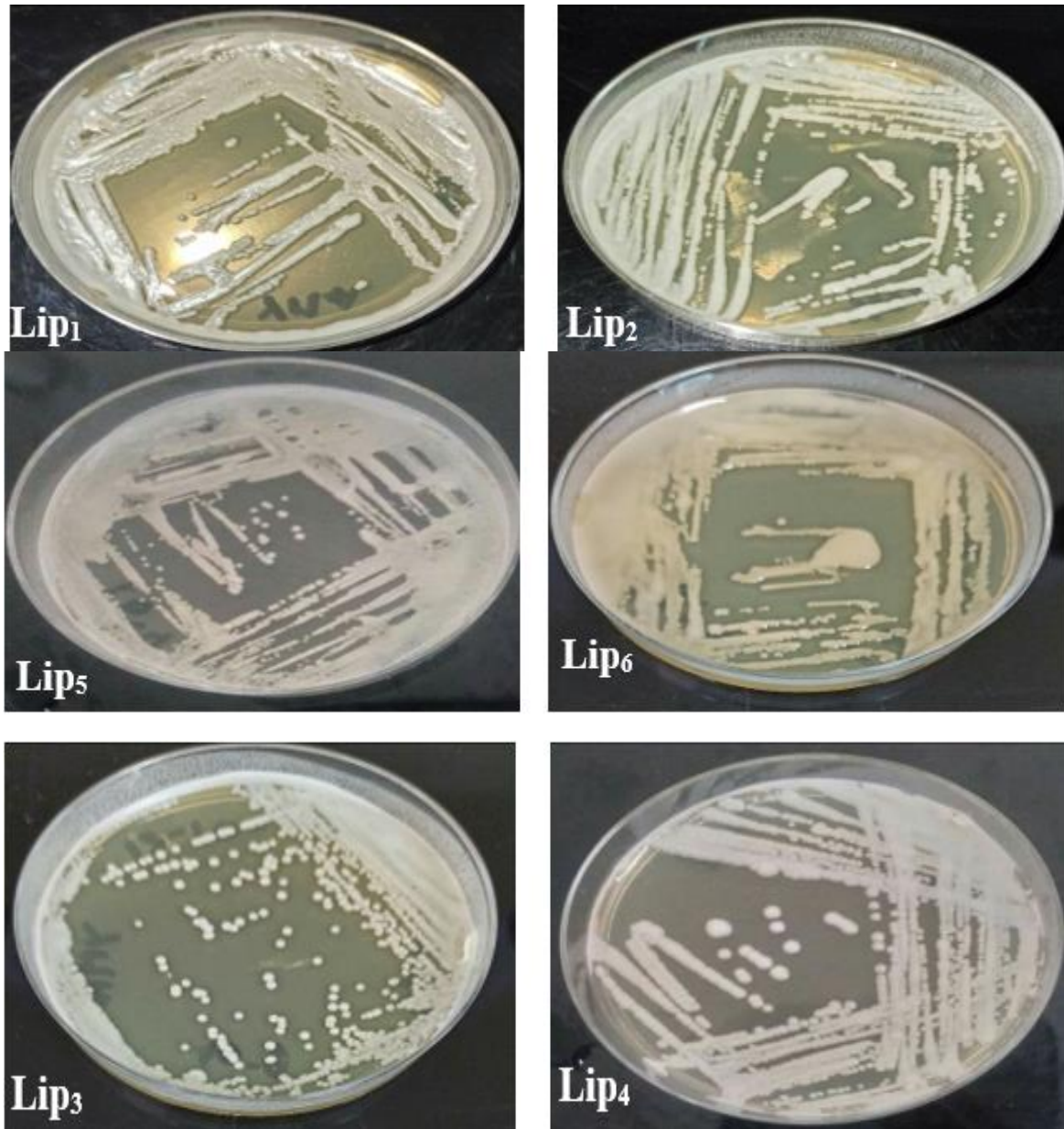
PARTIE 3

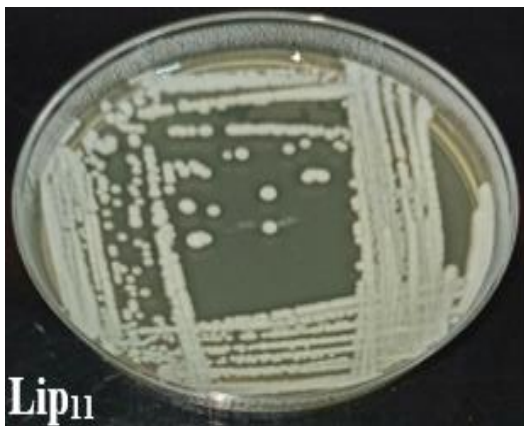
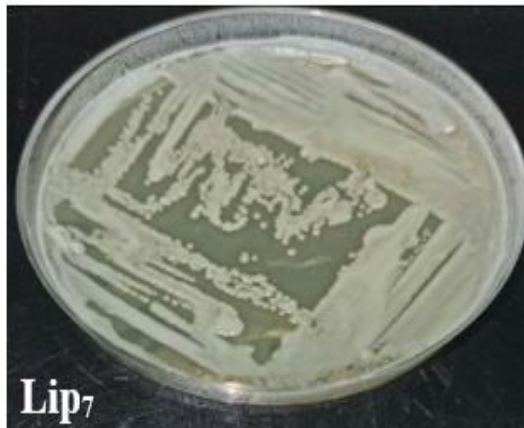
RESULTATS ET

DISCUSSION

1. Isolement et purification des souches de levures

L'isolement des levures à partir de sol d'olivier et des grignons d'olives a permis l'obtention de 17 souches levuriennes. Ces souches ont donné une bonne croissance sur les milieux YPGA et YMA incubés à 28°C pendant 3 jours, les résultats sont présentés dans les figures suivantes :





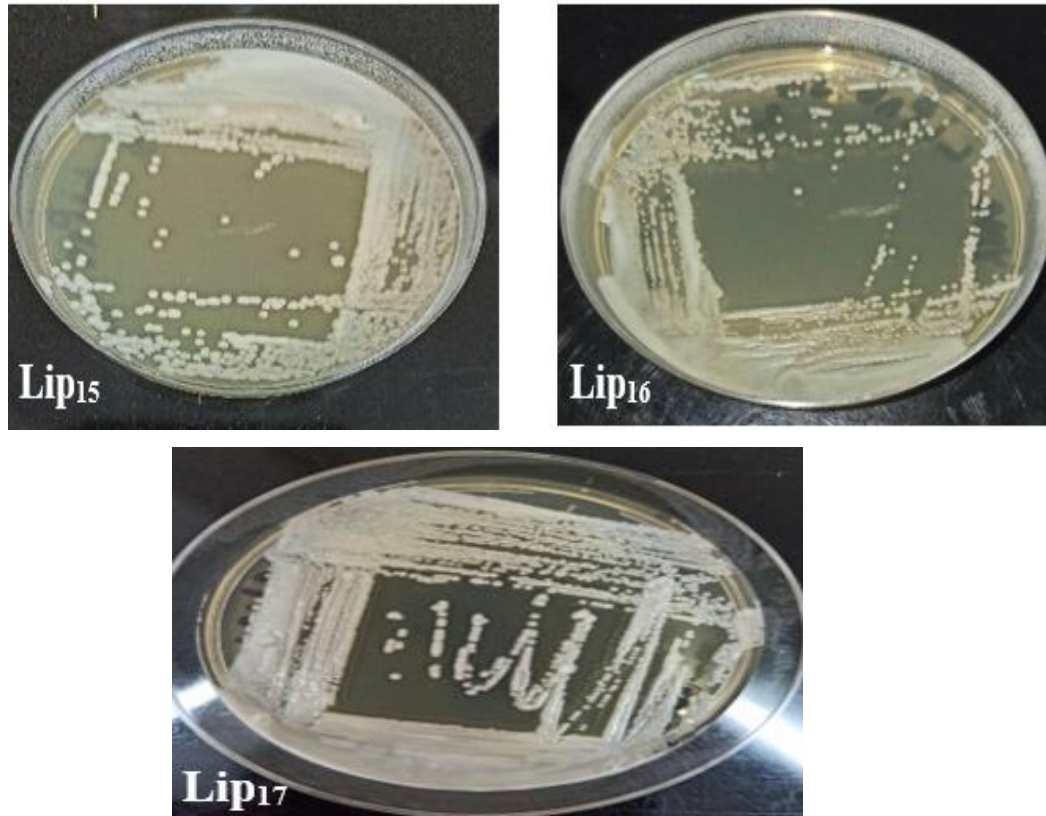


Figure 15: Souches isolés à partir du sol d'olivier et des grignons d'olives .

Les colonies des souches Lip 1,2 ,3,4 ,5,7,8,10,11 ,12,13,14,15,16,17 présentent des caractères culturels similaires avec des colonies rondes , bombées à centre élevé ,un couleur blanchâtre et un contour régulier. Les colonies de la souche Lip₆ sont rondes, bombées à centre élevé à texture crémeuses avec un contour régulier.

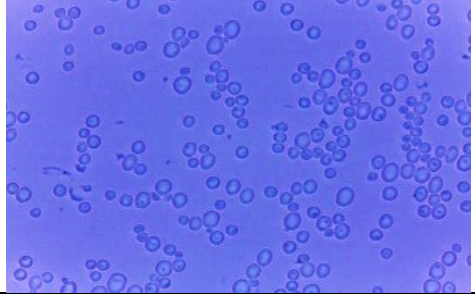
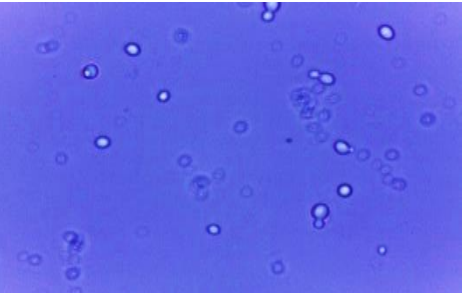
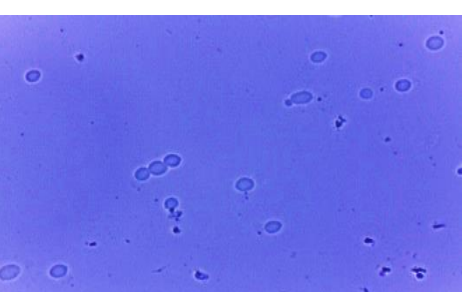
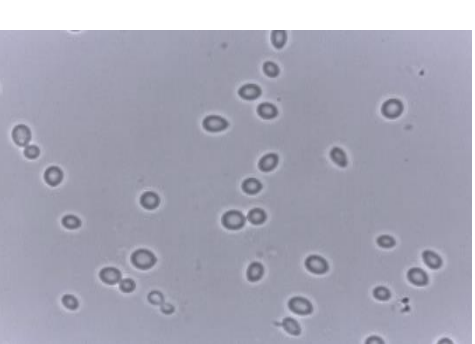
Après des observations macroscopiques et microscopiques, la purification des souches est réalisée à partir de colonies bien isolées.

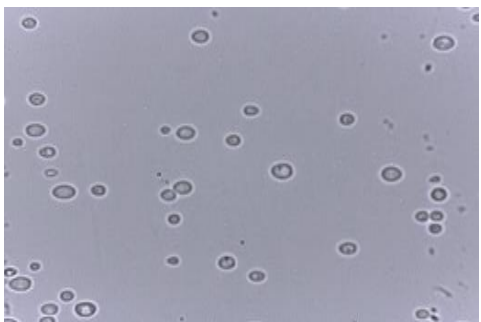
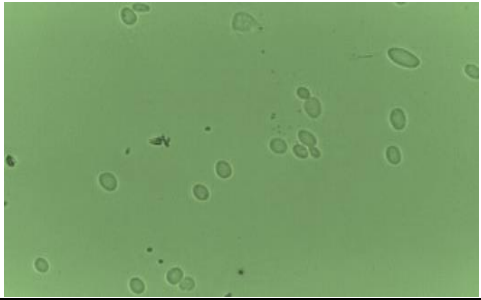
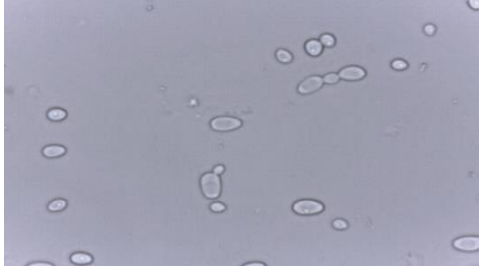
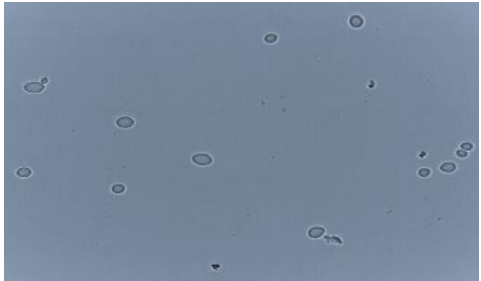
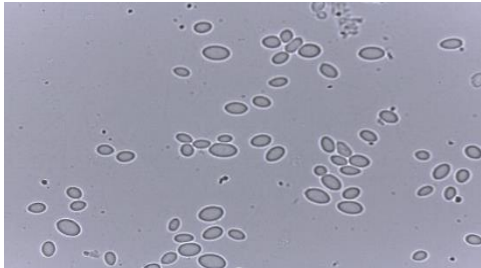
Dans des conditions favorables, les levures peuvent se multiplier dans certains sols, comme les sols des oliviers.

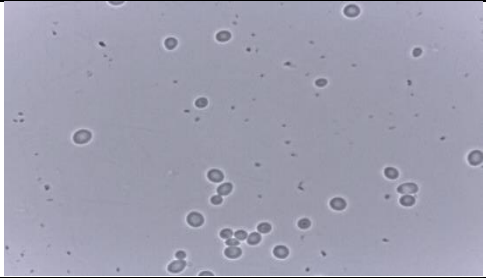
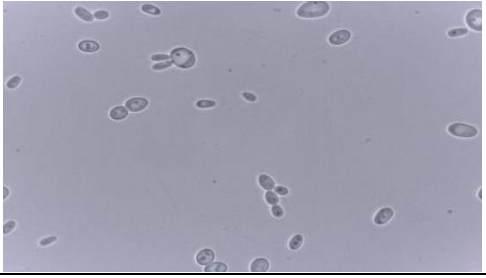
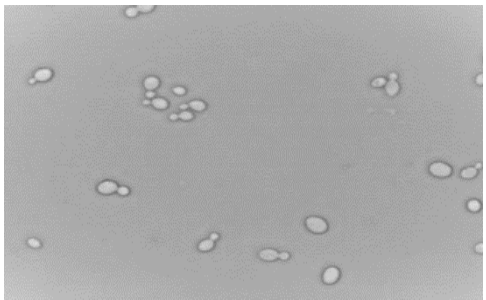
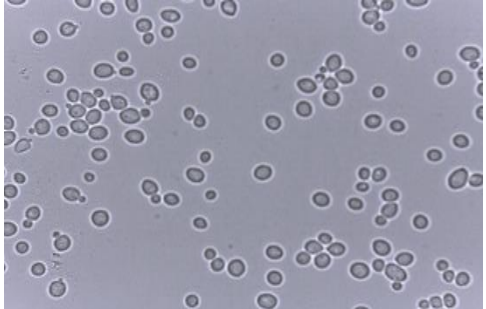
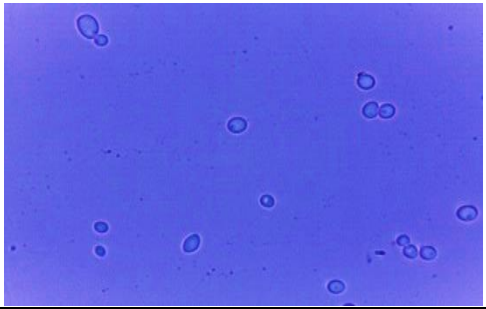
Par ailleurs, et à notre connaissance, l'isolement de levures lipolytiques à partir du sol des oliviers n'a pas été, au paravent, exploité.

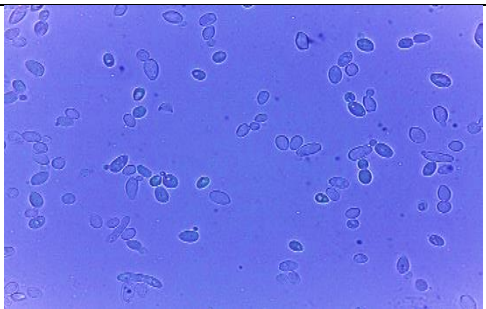
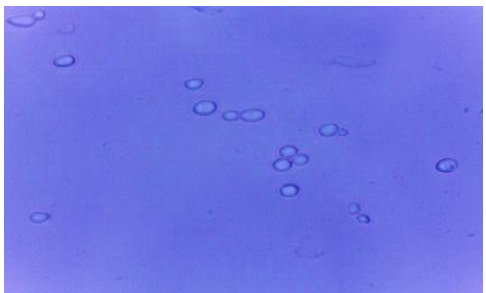
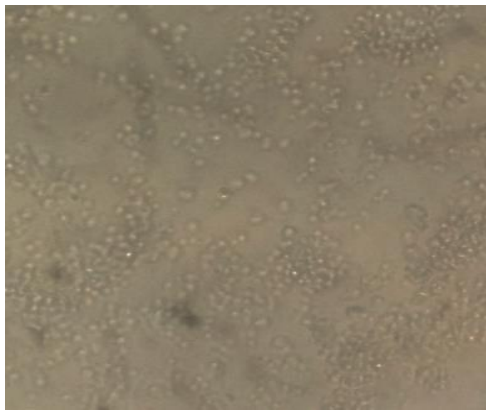
Après incubation des souches sur YPGA et YMA pendant 3 jours à 28°C. Les observations microscopiques sont réalisées et présentées dans le tableau suivant

Tableau 05 : Observation microscopiques des souches

Dilution	Origine	Code	Caractéristiques microscopiques	Observation microscopique
10^{-3}	Sol d'oliviers	Lip ₁	cellules grandes, ronde à allongées bourgeonnement mono et bilatérale et présence de pseudomycelium	
10^{-8}	Sol d'oliviers	Lip ₂	cellules rondes, mono et bilatérale et présence de pseudomycelium	
10^{-9}	Sol d'oliviers	Lip ₃	cellules rondes à allongées avec bourgeonnement monolatérale et présence de pseudomycelium	
10^{-7}	Sol d'oliviers	Lip ₄	cellules ronde à allongées, avec bourgeonnement monolatérale	

10 ^{-4'}	Sol d'oliviers	Lip ₅	cellules rondes à allongées, avec bourgeonnement monolatérale	
10 ⁻⁴	Sol d'oliviers	Lip ₆	cellules rondes à allongées, avec bourgeonnement monolatérale	
10 ⁻⁴	Sol d'oliviers	Lip ₇	cellules rondes à allongées bourgeonnement mono et bilatérale et présence de pseudomycelium	
10 ^{-3'}	Sol d'oliviers	Lip ₈	cellules rondes à allongées, avec bourgeonnement monolatérale	
10 ^{-6'}	Sol d'oliviers	Lip ₉	cellules grandes et ovales, avec bourgeonnement monolatérale	

10 ⁻⁶	Sol d'oliviers	Lip ₁₀	cellules rondes avec bourgeonnement monolatérale	
10 ⁻⁵	Sol d'oliviers	Lip ₁₁	cellules ovales avec bourgeonnement mono et bilatérale	
10 ⁻⁸	Sol d'oliviers	Lip ₁₂	cellules ovales avec bourgeonnement mono et bilatérale	
10 ⁻³	Sol d'oliviers	Lip ₁₃	cellules rondes à allongées avec bourgeonnement monolatérale	
10 ⁻⁷	Sol d'oliviers	Lip ₁₄	cellules rondes à allongées, avec bourgeonnement monolatérale	
10 ⁻⁸	Sol d'oliviers	Lip ₁₅	cellules ovale avec bourgeonnement monolatérale	

				
10 ⁻⁸	Sol d'oliviers	Lip ₁₆	cellules rondes à allongées et bourgeonnement monolatérale	
10 ⁻⁵	grignons d'olives	Lip ₁₇	cellules rondes à allongées et bourgeonnement mono et bilatérale et présence de pseudomycelium	

D'après les observations microscopiques à 40 x et à 100 x, les levures isolées présentent de différentes formes des cellules ovoïdes, rondes et ovales avec des taille petites et grandes on observe aussi des bourgeonnement mono, bi et multilatérale.

2. Mise en évidence des activités lipasiques

La mise en évidence de la production de la lipase chez les levures isolées et cultivées sur les deux milieux TPA et POA a été effectuée.

Après révélation, la présence de l'activité lipasique est détectée par l'apparition des zones claires, de forme annulaire entourant la croissance de la levure (figure 16).

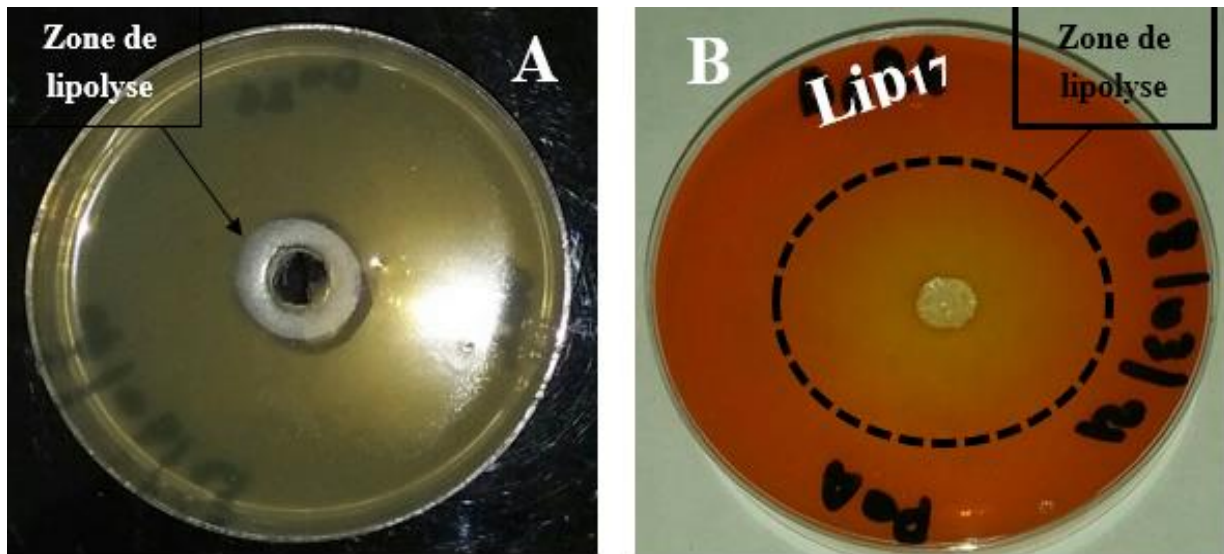


Figure 16: Mise en évidence de l'activité lipasique de souche Lip17

A : sur milieu TPA ; B : sur milieu POA

Le diamètre des halos et des colonies sont mesurés résultats sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau 06: Mise en évidence des activités lipasiques des 17 souches de levures sélectionnées

Code	Diamètre d'halo (cm)		Diamètre des colonies (cm)	
	TPA	POA	TPA	POA
Lip1	-	-	0,6	-
Lip2	-	-	0,9	-
Lip3	-	-	1,1	-
Lip4	-	-	1,3	-
Lip5	-	-	0,9	-
Lip6	-	-	1,6	-
Lip7	-	-	1	-
Lip8	-	-	1,2	-
Lip9	-	-	1,1	-
Lip10	-	-	1	-
Lip11	+1,9	-	1	-
Lip12	-	-	0,6	-
Lip13	-	-	1,1	-
Lip14	-	-	1	-
Lip15	-	-	1,4	-
Lip16	-	-	1,3	-
Lip17	+1,5	+2,1	1	-

(+) : test positif ; (-) : test négatif

D'après les résultats, il reçoit que seulement 02 souches sont productrices de lipase, la souche Lip₁₁ est productrice de lipase sur le milieu TPA et la souche Lip₁₇ sur les deux milieux TPA et POA (tableau 06). avec des précipitation des cristaux autour des colonies sur milieu TPA (Figure 16).

Des études ont été réalisées sur l'isolement des levures lipolytiques à partir de différents milieux et substrats. **Bataiche (2014)** a isolée 116 souches de levures lipolytiques à partir des produits laitiers de vache et de grignons d'olives variétés *Chemlal*.

Les produits laitiers de vache ont permis l'isolement de 98 de levure lipolytique à cause de leur richesse en matière grasse (47%) de la sèche pour le lait cru et 25 levures lipolytique à partir de grignons d'olives (**FAO, 1998 ; Papanikolaou et al., 2007 ; Yu et al., 2007 ; Fickers et al., 2011**).

Salgado et al.,(2020) ont isolé trente-deux levures et le dépistage de l'activité estérase/lipase par la méthodes de détection rapide sur plaque a permis de sélectionner cinq isolats.

Maharana et Singh (2018), ont étudié la production de lipase active à froid par des isolats de bactéries et de levures, qu'ont isolé à partir de carotte du lac Nella, région des collines Larsemann, Antarctique de l'Est. Parmi les levures et les bactéries potentielles produisant des lipases,les meilleurs isolats ont été identifiés comme *Cryptococcus sp. Y-32* et *Rhodococcus erythropolis N149.erythropolis N149* par technique moléculaire.

Ratledge et Tan (1990) ont examiné la production de lipases extracellulaires chez les levures. L'étude a révélé que plusieurs levures de vin (*C. stellata*, *C. pulcherrima*, *C. krusei*, *T. delbrueckii* et *C. colliculosa*) ont le potentiel de produire une activité lipolytique extracellulaire.

Temim et Hamaidia (2018) ont isolé 38 souches de levures, pour les quelle 28 souches ont montré une activité lipasique.

Bennamoun (2017) a isolée une vingtaine de souches de levures à partir du sol de la région d'El-M'gheir Wilaya d'El-Oued. Les souches ont été identifiées : 02 souches de *Clavispora lusitaniae*, 02 souches de *Cryptococcus magnus*, 12 souches de *Meyerozyma guilliermondii* ; cette levure (*Meyerozyma guilliermondii*) a montré une activité de lipase et d'estérase ,01 souche d'*Aureobasidium pullulans* produit de différentes activités enzymatiques : pectinase , amylase ,estérase ,protéase et lipase et 03 souches de *Yarrowia lipolytica* ont donné des activités enzymatiques pour la lipase et l'estérase.

Shahida (2004) a isolé 165 souches de levure à partir de 100 échantillons de sol prélevé de 10 régions différentes. Les levures obtenues sont : *Lipomyces starkeyi*, *L. tetrasporus*, *D.hansenii* var. *Fabryi* et *D.occidentalis*, *Debaryomyces polymorphus*, *Dipodascus spicifer*, *Galactomyces geotrichum*, *G. reessii*, *Kluyveromyces lactis*, *L. kononenkoae*, *L. mesembrius*, *L.spencermartinsiae*, *Pichia anomala*, *P. fabianii*, *P. guilliermondii*, *Yarrowia*. Cinq isolats de *Lipomyces* sont producteurs de lipase.

3. Sélection de la souche la plus performante pour la production d'enzymes

D'après le tableau 4, seule la souche Lip₁₇ isolée à partir des grignons d'olives a montré une production de lipase avec des zones de lyse de 2,1 cm sur le milieu POA et de 1,5 cm sur le milieu TPA. La souche Lip₁₇ est sélectionnée pour la suite de notre travail.

4. Sélection du milieu de production

Pour l'étude de la production lipolytique deux milieux ont été utilisés à savoir les déchets de lentilles et les grignons d'olives en FMS et en FML et les résultats sont montrés dans la figure 17.

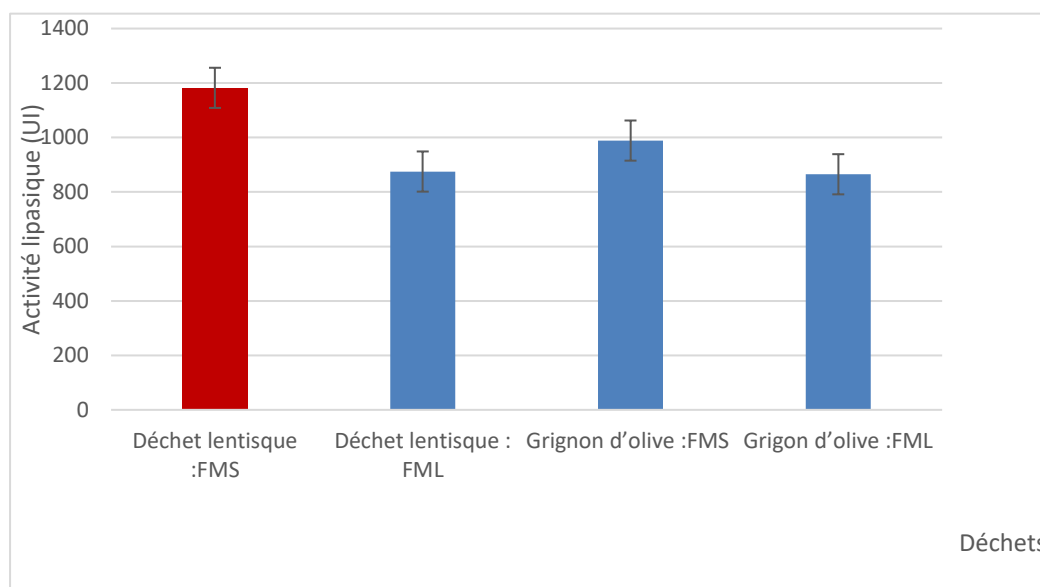


Figure 17: Production de la lipase sur les déchets lentilles et les grignons d'olives par FMS et FML.

Les résultats présentés dans la figure 17 indiquent que les deux substrats grignons d'olives et déchets de lentilles sont des milieux adéquats pour la production lipasique de la souche lip₁₇ cultivée en FML et en FMS.

Cependant, la meilleure production de lipase est observée en milieu solide de déchets de lentilles (1182,31UI), suivi de FML en présence de grignons d'olive (988,64 UI), de FML sur milieu de déchets de lentilles puis FMS sur milieu de grignons d'olive (875 UI et 865 UI respectivement).

On conclut que la souche sélectionnée Lip₁₇ s'adapte mieux à la fermentation solide sur les déchets de lentilles pour la production de la lipase.

C'est le cas aussi des souches *Y. lipolytica* L2 et *C. boidinii* G5 qui d'après (Bataiche ;2014), la quantité de lipase y produite est, en moyenne, deux fois plus importante que celle produite par les mêmes souches sur milieu submergé enregistrant un temps d'incubation plus long.

5. Optimisation de la production de lipase

La production des lipases est influencée par la composition du milieu de fermentation spécialement la source de carbone et d'azote et les facteurs physicochimiques (pH,température, ...etc).

5.1. Etude de l'effet de la source du carbone

Afin d'étudier l'effet de la source de carbone sur la production de la lipase chez la souche lip₁₇. différentes sources de carbone sont testées à savoir Tween80, Glucose, Saccharose, Lactose.

Après incubation à 28°C pendant 48h, l'activité lipolytique est déterminée et les résultats sont présentés dans la figure 18.

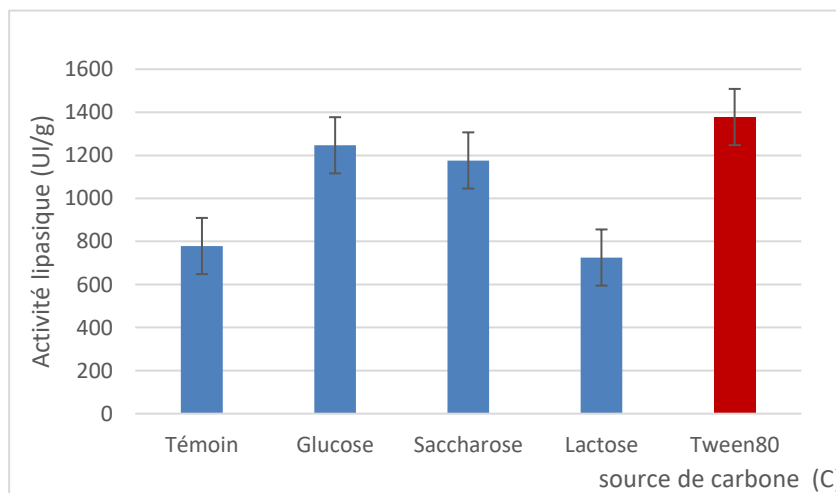


Figure 18 : Effet des sources de carbone sur la production lipolytique.

La figure 18 montre que la meilleure production de lipase est obtenue en présence de Tween 80 avec une activité de 1378,08 UI/g . Aussi, le glucose et le saccharose ont donné de bonne production de 1246,7476 UI/g et de 1176,2377 UI/g respectivement. Alors que le lactose n'a pas amélioré la production lipasique (725,24UI/g) par rapport au milieu de base (témoin), (778,79UI/g).

Nous constatons que les substrats de nature lipidiques (Tween 80) est plus efficace que les substrats glucidiques (lactose, glucose et saccharose) pour la production de lipase.

Selon **Gupta et al., (2004a)**, Le facteur principal pour la production des lipases est toujours la source de carbone. D'après **Awad (2005)**, la meilleure production de lipase est obtenue en présence des polysaccharides (dextrine, amidon) suivie par le saccharose, le glucose et fructose chez *A.ochraceus* et *A. ocheraceus* NRRL 3174.

Des études sur les conditions de fermentation pour la production des lipases extracellulaires par plusieurs microorganismes comme *Candida rugosa*, *Yarrowialipolytica*, démontrent que l'addition des lipides dans le milieu augmente le niveau de la production des lipases. Les acides gras sont généralement considérés comme les substrats les plus efficaces pour la biosynthèse des lipases (**GrbavCié et al.,2007**). On peut aussi utiliser les huiles ou d'autres substrat comme le triacylglycérol, les esters hydrolysables, Tween et le glycérol (**Gupta et al., 2004a**).

Plusieurs rapports révèlent que *Y. lipolytica* produit une grande quantité de lipase quand elle est cultivée dans un milieu contenant de huile d'olive ou de triacylglycéride à longue chaîne comme source de carbone (**Amaral et al., 2006**).

Aggoune et Marouf (2017), ont trouvé que la présence des sucres dans le milieu (Glucose, Saccharose, Fructose) a inhibé l'activité lipolytique et le taux de production de lipases a atteint 8,46 UI tandis que l'amidon, la dextrine et le lactose n'ont aucun effet sur la production de lipase.

5.2. Etude de l'effet de la source d'azote (N)

Différentes sources d'azote organiques telle que : peptone, extrait de levure, corn steep, et inorganique à savoir le NH_4Cl_2 et le $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sont additionnées au milieu de production de lipase l'activité lipolytique est mesurée et les résultats sont présentés dans la figure 19. Nous remarquons que toutes les sources ajoutées ont donné une production de lipase.

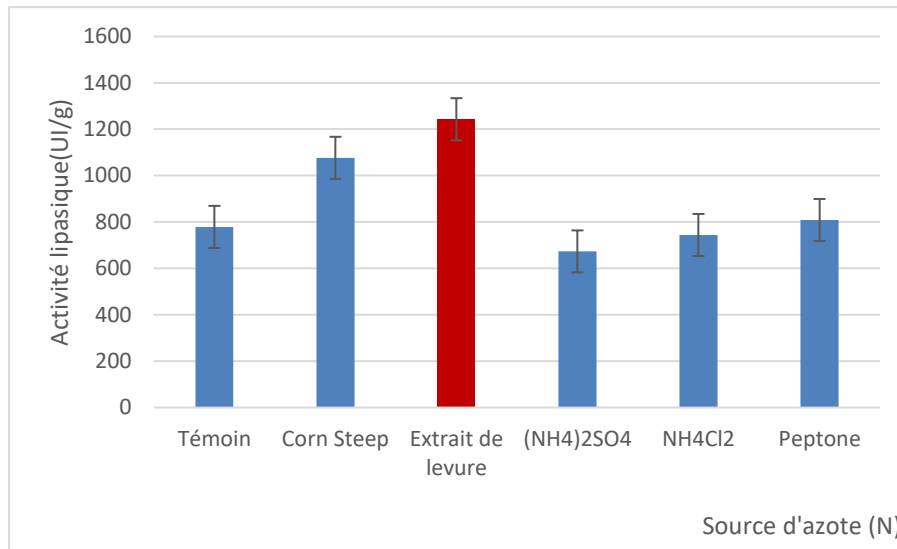


Figure 19 : Effet des sources d'azote sur la production lipolytique.

Néanmoins, parmi les source d'azote organique étudiées, l'extrait de levure est le meilleur (1243,182 UI) suivie de corn steep liquor (1076,559 UI). La peptone montre une production lipolytique moins importante (808,582 UI). Quant aux source azotée inorganique ((NH₄)₂SO₄ et NH₄Cl₂) la production est faible de 673,16UI et 744UI respectivement par rapport au milieu de base constitué seulement de déchets lentisques (778,79 UI) (figure 19) .

Pour la production de la lipase par *Aspergillus sp*, les sources azotées organiques et minérales utilisées ont montré un effet inhibiteur sur l'activité lipolytique, seule la présence de (NH₄)₂CO₃ a une influence positive sur la production de l'enzyme (**Aggoune et Marouf 2017**).

Les sources d'azote ont un rôle dominant dans la biosynthèse des métabolites secondaires. Parmi les sources d'azote minérales, l'ammonium est connu pour être un répresseur sur le métabolisme secondaire (**Omura et al., 1980; Demain, 1991; Giordano et al., 1999; Litzka et al., 1999**).

La répression catabolite par les ions d'ammonium peut réguler les métabolites secondaires en inhibant et/ou en réprimant des enzymes qui permettent la biosynthèse des précurseurs (**Giordano et al., 1999**).

5.3. Etude de l'effet du pH sur la production de lipase

L'effet de deux pH (5 et 6) sur l'activité lipasique a été étudié. Selon les résultats présentés dans la figure 20, la production de lipase est plus importante à pH 5 (914,99UI/g).

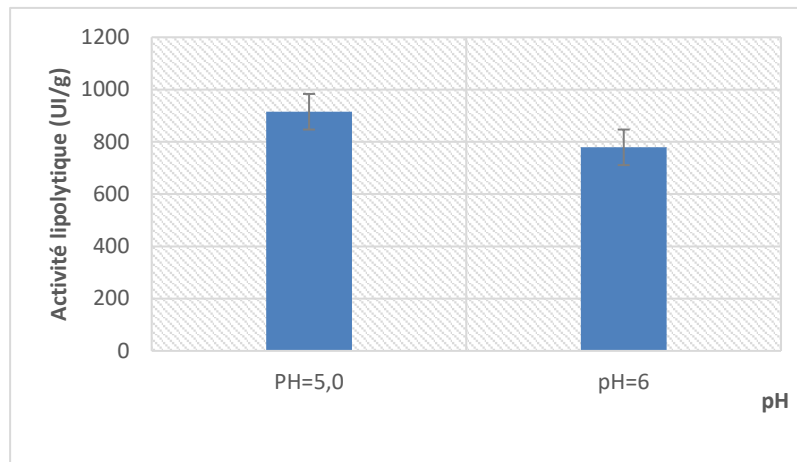


Figure 20 : Effet du pH sur le production lipolytique.

D'après **Nema et al., (2019)**, l'effet du pH est essentiel pendant la fermentation solide, car le changement du pH pourrait avoir une incidence sur la croissance microbienne et l'activité de la lipase. L'influence du pH a été étudiée en faisant varier le pH du tampon de phosphate de potassium de 5,5 à 8 et la meilleure production de lipase est obtenue à pH 6. **Gwen et al., (2006)** ont trouvé que la meilleure production de lipase est obtenue à pH 6.

La meilleure production de lipase de *Guehomyces pullulans* est obtenue à pH8 (**Demera et al., 2019**), celle de *Candida guilliermondii* est maximale à pH 6,5 (**Oliveira et al., 2014**).

5.4. Etude de l'effet des interactions de différents facteurs sélectionnés

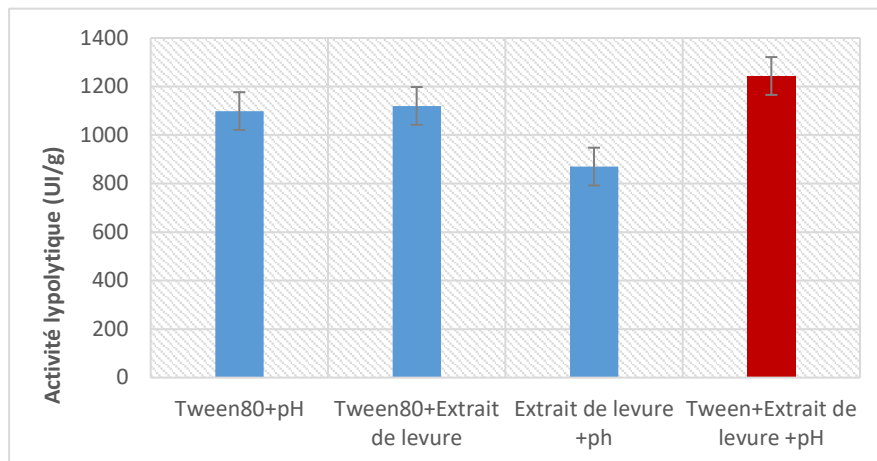


Figure 21: Etude de l'effet des interactions de différents facteurs sélectionnés sur la production de la lipase.

D'après les résultats présentés dans la figure 21, la meilleure production lipasique est obtenue en présence des trois facteurs sélectionnés à savoir le tween80, l'extrait de levure et le pH avec un taux d'activité de 1243,34UI/g. En effet, l'interaction de ces trois facteurs a permis l'augmentation de 2 fois de la production de lipase de la levure Lip17.

6. Test de la compatibilité de lipase avec divers détergents à lessives commerciales

La compatibilité de la lipase de souche lip17. avec divers détergents à lessives a été étudiée. Les lessives étudiées sont Isis (liquide), Test (poudre), Marseille (liquide), Isis (poudre), et les résultats sont montrés dans la figure 22.

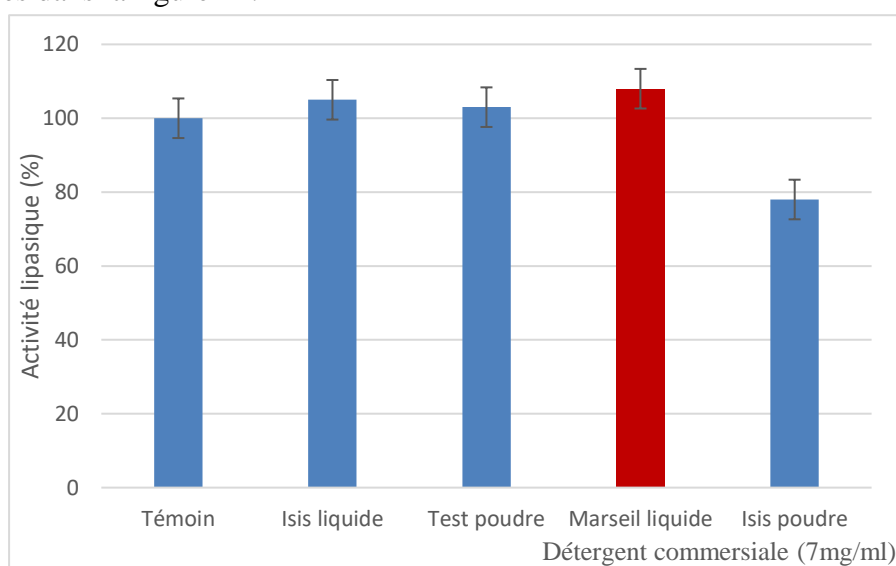


Figure 22: Compatibilité de lipase avec divers détergents à lessives commerciales

L'activité lipasique de la souche sélectionnée a une bonne compatibilité avec tous les détergents des lessives commerciales étudiées.

En présence des lessives Marseille (liquide), Test (poudre), et Isis (liquide) et (poudre), la lipase a maintenu respectivement 108%, 103%, 105% et 78% de son activité initiale.

L'augmentation de l'activité de l'enzyme peut être attribuée à l'effet stimulateur des composants des détergents.

L'activité lipasique est maximale avec le détergent Marseille liquide. La stabilité d'une quelconque enzyme dans des formulations des détergentes dépend principalement de différents ingrédients tels que des tensioactifs, les agents de blanchiment et des stabilisants utilisés pour les formulations des détergentes (**Joo et Chang, 2006**). Par conséquent, la perte de l'activité lipasique dans ses détergents peut être attribuée à l'effet inhibiteur d'un composant de ces détergents. Certains composants du détergent peuvent avoir un effet stimulateur sur la lipase de la souche Lip₁₇ (augmentation de l'activité enzymatique en présence de détergent par rapport à celle du témoin sans détergent).

Une telle observation pour d'autres enzymes hydrolytiques en présence de constituants détergents a déjà été signalée (**Joo et Chang, 2006**). Cependant, des études plus détaillées sont nécessaires pour élucider le mécanisme de l'inhibition / activation de lipase par différents composants de détergents.

En conclusion, la lipase de la souche Lip₁₇ à démontre une moyenne compatibilité avec les détergents à lessives commerciales (généralement, utilisé au lavage) qui favorise son inclusion dans les formulations des détergents de blanchisserie commerciale.

7. Test d'analyse de la performance de lavage

La capacité d'élimination des taches par la lipase est évaluée en utilisant des tissus de coton teinté de rouge à lèvres et de beurre. La figure 23 montre que le traitement des taches de rouge à lèvres et de beurre par le détergent (Marseille) supplémenté avec la lipase a abouti à une élimination parfaite par rapport à l'élimination des taches avec le détergent ou de l'enzyme seule.

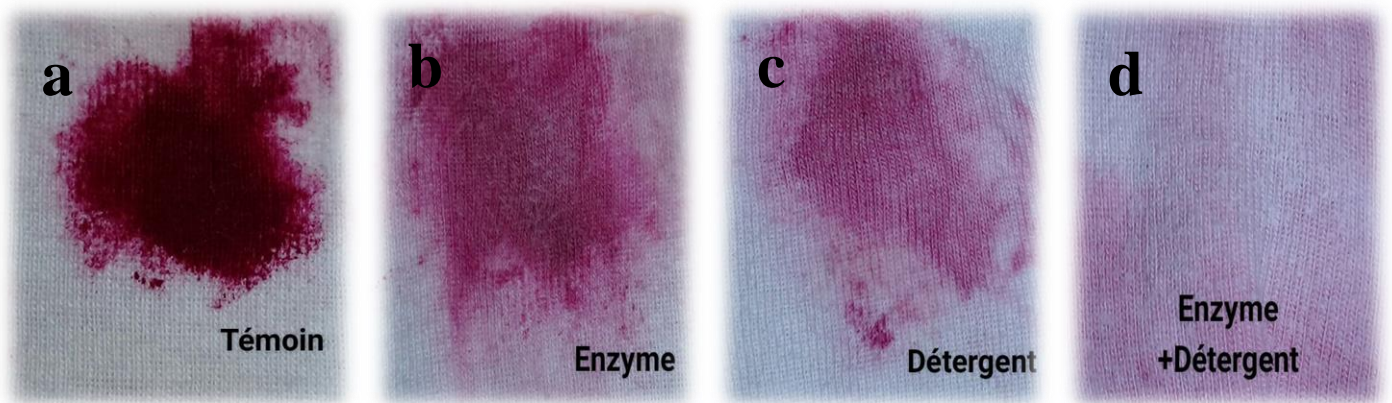


Figure 23 : Test d'analyse de la performance de lavage de la tache rouge à lèvres et le beurre sur les morceaux de tissu lavés.

a : Témoin (eau de robinet) ; **b :** Enzyme (5ml)

c : Détergent (7 mg/ml) ; **d :** Enzyme (5ml) + Détergent(7 mg/ml)

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Cette étude a pu répondre aux différents objectifs à atteindre. L'isolement des levures lipolytiques à partir des sol d'olivier et des grignons d'olives sur le milieu YPGA à 28°C pendant 03 jour, a permis l'obtention d'un lot de 17 souches.

Un screening est réalisé sur deux milieux solides (TPA et POA) pour la mise en évidence de la lipase. Les résultats ont montré que deux souches Lip₁₁ et Lip₁₇ sont productrice de la lipase et c'est la souche Lip₁₇ la plus performante car elle a donné un halo de lyse de 2,5 cm. La souche Lip 17 est sélectionnée l'étude de la production, l'optimisation et l'application d'enzyme.

La production de lipase sur deux déchets à savoir les déchets lentisques et les grignons d'olives en FMS et en FML a été réalisée. Les résultats ont montré que la meilleure production lipolytique est obtenue sur les déchets lentisques en FMS.

Les résultats de l'optimisation montrent que le tween 80 comme source de carbone, l'extrait de levure comme source d'azote et le pH 5 présentent une meilleure influence sur l'activité lipolytique par Lip₁₇ et ont donné une meilleure production lipasique de 1243,34 UI/g.

La lipase de la Lip₁₇ peut être désignée pour une application industrielle plus particulièrement dans le domaine des industries des détergents. L'étude de sa compatibilité avec divers détergents à lessives commerciales a montré qu'elle offrait une excellente stabilité et une compatibilité avec les détergents commerciaux.

Comme perspectives, il serait intéressant :

- D'optimiser la production lipasique par les plans statistiques.
- De purifier l'enzyme et d'étudiés ses propriétés physico-chimiques et cinétiques.
- D'identifier les souches levuriennes par la biologie moléculaires.
- D'étudier la cinétique de la croissance et de la production lipasique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Adewara A.O. & Ogunbanwo S.T. (2013).** Effects of processing variables on the production of “Burukutu”. A Nigerian fermented beverage. *Nat. Sci.* 11:16-28.
- **Aggoune .w, Marouf.s. (2017).** L’optimisation de la production de lipases par *Aspergillus sp.* Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, , Université des Frères Mentouri, Constantine, pp. 70.
- **Aguilar Uscanga, B-R., (2003).** Influence des paramètres de croissance et des conditions de mise en œuvre sur la composition et l’architecture de la paroi cellulaire de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse INSA Toulouse.
- **Aguilar-Uscanga B. & François J.M. (2003).** A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Lett Appl Microbiol* 37 (3): 268-274.
- **Ahearn D.G. (1973).** Estuarine Microbial Ecology : The Belle W. In . *Marine Science* 1, p: 433-440. University of South Carolina Press, Columbia, South Carolina.
- **Al-Dhabi, N. A., Esmail, G. A., Ghilan, A. K. M., and Arasu, M. V. (2020).** Isolation and screening of *Streptomyces sp.* Al-Dhabi-49 from the environment of Saudi Arabia with concomitant production of lipase and protease in submerged fermentation. *Saudi J. Biol. Sci.* 27, 474–479.
- **Alloue W.A.M., Aguedo M., Destain J., Ghalfi H., Blecker C., Wathelet J.P. and Thonart P. (2008).** Les lipases immobilisées et leurs applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* I 2: 57-68.
- **Alloue, W.A.M. (2008).** Formulation et immobilisation de la lipase de *Yarrowia lipolytica* :Thèse de Doctorat. Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux. Belgique, 165p.
- **Anaissie, Elias J., Michael R. McGinnis, et Michael A. Pfaller. (2009).** *Clinical Mycology.* Elsevier Health Sciences.
- **Arnold W.M. (1981).** Enzymes: In Yeast cell envelopes. *Biochemistry Biophysics and Ultrastructure*, 2: 1-46, s12010-008-8293-1.
- **Ashutosh Nema, Sai Haritha Patnala, Venkatesh Mandari, Sobha Kota and Santhosh Kumar Devarai (2019).** Production and optimization of lipase using *Aspergillus niger* MTCC 872 by solid-state fermentation. *Bulletin of the National Research Centre.* 3.

- **Ávila SN, Gutarra ML, Fernandez-Lafuente R, Cavalcanti ED, Freire DM. (2019).** Multipurpose fixed-bed bioreactor to simplify lipase production by solid-state fermentation and application in biocatalysis. *Biochem Eng J.*;144:1–7.
- **Awad, G. (2005).** Caractérisation et étude de l'effet des sources de carbone et d'azote sur la production de nouveaux métabolites secondaires chez *Aspergillus ochraceus* producteur de l'ochratoxine A. Thèse de Doctorat ; sciences des procédés. p:222.
- **Azeredo, L. A. I., Gomes, P. M., Sant'Anna, G., Jr, Castilho, L. R., & Freire, D. G. (2007).** Production and regulation of lipase activity from *Penicillium restrictum* in submerged and solid-state fermentations. *Current Microbiology*, 54, 361–365.
- **Barnett J. A., Payne R. W. and Yarrow D. (2000).** *Yeast: Characteristics and identification*. Third edition 2000, reprinted 2007. Cambridge University Press.
- **Barnett J.A. & Robinow C.F. (2002).** A history of research on yeasts 4: cytology part I, 1890- 1950. *Yeast*, 19: 151-182.
- **Bataiche I. (2014).** Recherche de nouvelles potentialités de *Yarrowia lipolytica*, isolé de différents milieux naturels pour des applications biologiques. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri. Constantine.
- **Bayley R.B. & Parks L.W. (1975),** Yeast sterol esters and their relationship to the growth of yeast. *J Bacteriol*, 124: 606-612,
- **Bekatorou A., Psarianos C. and Koutinas A. A. (2006).** Production of food grade yeasts. *Food technol. biotechnol.* 44 :407-415.
- **Belin J.M. (1996).** Yeasts. In "C.M. Bougeois & J.P. Larpent Edit, *Food microbiology*, Tec and Doc Lavoisier. Paris. 36 p. "
- **Belmaziz .M, et Djalal .F ,(2017) .** Analyses microbiologiques, biochimiques et biotechnologiques des levures issues du cépage Cinsault cultivé dans la commune Ben Abdelmalek Ramdane .Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.PP :110
- **Benjamin S. & Pandey A. (1998).** *Candida rugosa* Lipases: Molecular Biology and Versatility in Biotechnology. *Yeast*. 14: 1069 1087.
- **Benjamin, S., & Pandey, A. (2001).** Isolation and characterization of three distinct forms of lipases from *Candida rugosa* produced in solid-state fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 44(2), 213–221.
- **Bennamoun .L .(2017).** Isolement, sélection de souches levuriennes de sols arides sahariens (El-M'gheir) productrices de polygalacturonase: Purification et

caractérisation enzymatique Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences, Université des frères Mentouri, Constantine 1.

- **Bertoldo C. and Antranikian G (2002).** Starch-hydrolyzing Enzymes from Thermophilic Archaea and Bacteria. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6: 151-160.
- **Bharathi, D., Rajalakshmi, G., and Komathi, S. (2019).** Optimization and production of lipase enzyme from bacterial strains isolated from petrol spilled soil. *J. King Saud Univ. Sci.* 31, 898–901.
- **Bharathi, D., Rajalakshmi, G., and Komathi, S. (2019).** Optimization and production of lipase enzyme from bacterial strains isolated from petrol spilled soil. *J. King Saud Univ. Sci.* 31, 898–901.
- **Binetti A., Carrasco M., Reinheimer J. and Suarez V(2013).** Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and functional properties. *Journal of Applied Microbiology*, , 115:434-444.
- **Blom, J., Mattos, M.J.T.D., et Grivell, L.A., (2000).** Redirection of the Respiratory Fermentative Flux Distribution in *Saccharomyces cerevisiae* by Over expression of the Transcription Factor Hap4p. *Appl. Environ. Microbiol.* PP : 1970 -1973.
- **Boareto, A. J. M., Souza, M. B., Valero, F., & Valdman, B. (2007).** A hybrid neural model (HNM) for the on-line monitoring of lipase production by *Candida rugosa*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 82, 319–327.
- **Bonaly .R, (1991).** Morphologie et reproduction asexuée des levures Ds : Larpent J.P., *Biotechnologie des levures.* Masson, Milan Barcelone Bonn. Paris. PP: 4-18.
- **Bora. L, Gohain. D, Das. R (2013).** Recent advances in production and biotechnological applications of thermostable and alkaline bacterial lipases. *J Chem Technol Biotechnol* 88 (11):1959–1970.
- **Borrelli GM, Trono D.(2015).** Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. *Int J Mol Sci.*;16(9):20774–840.
- **Botton B. (1991).** La physiologie des levures ds : Larpent J.P., *Biotechnologie des levures.* Masson, Milan Barcelone Bonn. Paris. 97-127.
- **Bouix M., Leveau J.Y. (1991).** Les levures. Dans: Bourgeois C.M., Leveau J.Y. (Eds). *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires.* Techniques et Documentation - Lavoisier, Paris, pp. 210-223.
- **Bourgeois C. M. et Larpent J. P. (1996).** *Microbiologie alimentaire. Tome II aliment fermenté et fermentations alimentaires.* Ed. Tec. et Doc. Lavoisier, Paris. : 100-450.

- **Bourgeois C.M., Mescle J. F. et Zucca J. (1988).** Microbiologie alimentaire, Tome 1. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires, Technique et Documentation Lavoisier, Paris. 8, p.161-171.
- **Brock, T.D., Madingan, M.T., Martingo, J.M. & Parker, J. (1994b).** Growth and Its Control. En 'Biology of Microorganisms'. Prentice-Hall International, Inc. New Jersey. 321-360.
- **Burkert, J. F. M., Maldonado, R. R., Maugeri, F., & Rodrigues, M. I. (2005).** Comparison of lipase production by *Geotrichum candidum* in stirring and airlift fermenters. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 80, 61–67.
- **Casas-Godoy L., Gasteazoro F., Duquesne. S, Bordes. F, Marty. A, and Sandoval. G. (2018).** Lipases: An Overview. In: Sandoval G. (eds). Lipases and Phospholipases. Methods in Molecular Biology, vol 1835. Humana Press, New York, NY.
- **Casas-Goday, L; Duquesne, S; Bordes, F; Sandoval, G; et Marty, A. (2012).** Lipases and phospholipases: Methods and protocols. Méth. Mol. Bio. 861.
- **Chahinian, H; Sarda, L. (2009).** Distinction between esterases and lipases: Comparative biochemical properties of sequence –related carboxylesterases protein pept. lett. 16: 1149-1161.
- **Chandra P., Enespa, Singh R. and Arora P. K.. (2020).** Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. Microb Cell Fact. 19:169.
- **Chaurasia .S.P, Bhandari .K, Sharma. A, Dalai. A.K. (2016).** A review on lipase catalysed synthesis of DHA rich glyceride from fish oils. Int J Res Sci Innov 3(1A):3–19.
- **Ciafardini, G., Zullo, B. A., & Iride, A. (2006).** Lipase production by yeasts from extra virgin olive oil. Food Microbiology, 23, 60–67.
- **Ciafardini, G., Zullo, B. A., and Iride, A. (2006).** Lipase production by yeasts from extra virgin olive oil. Food Microbiology, 23, 60–67.
- **Cihangir, N., & Sarikaya, E. (2004).** Investigation of lipase production by a new isolated of *Aspergillus sp.* World Journal of Microbiology & Biotechnology, 20, 193–197.
- **Colen, G., Junqueira, R. G., & Moraes-Santos, T. (2006).** Isolation and screening of alkaline lipase-producing fungi from Brazilian savanna soil. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 22, 881–885.

- Colla, L. M., Primaz, A. L., Benedetti, S., Loss, R. A., Lima, M. D., Reinehr, C. O., Bertolin, T.E., and Costa, J. A. V. (2016). Surface response methodology for the optimization of lipase production under submerged fermentation by filamentous fungi. *Braz. J. Microbiol.* 47, 461–467.
- Colonia, B. S. O., Woiciechowski, A. L., Malanski, R., Letti, L. A. J., and Soccol, C. R. (2019). Pulp improvement of oil palm empty fruit bunches associated to solid-state biopulping and biobleaching with xylanase and lignin peroxidase cocktail produced by *Aspergillus sp.* LPB-5. *Bioresour. Technol.* 285, 121361.
- D'Annibale, A., Sermanni, G. G., Federici, F., & Petruccioli, M. (2006). Olive-oil wastewaters: A promising substrate for microbial lipase production. *Bioresource Technology*, 97, 1828– 1833.
- Dakhmouche, S (2016). Production et caractérisation de l'amylopullulanase de la levure *Clavispora lusitaniae* ABS7 isolée de blé cultivé et stocké en zones arides. 72.
- Das, A., Bhattacharya, S., Shivakumar, S., Shakya, S., and Sogane, S. S. (2017). Coconut oil induced production of a surfactant-compatible lipase from *Aspergillus tamarii* under submerged fermentation. *J. Basic Microbiol.* 57, 114–120.
- Davet, P. et Rouxel, F. (1997). *Detection et isolation des champignons du sol.* (edn) INRA. Paris. 190p.
- de Souza, C. E. C., Ribeiro, B. D., and Coelho, M. A. Z. (2019). Characterization and Application of *Yarrowia lipolytica* Lipase Obtained by Solid-State Fermentation in the Synthesis of Different Esters Used in the Food Industry. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 1–27.
- Deak Tibor. (2006). Chapitre 8: environmental Factors. Influencing yeasts, in yeast handbook : biodiversity and ecophysiology of yeasts, Carlos rosa, gabor peter (eds.). Springer Verlag Berlin Heidelberg. : 155-174.
- Demera L. L., Barahona P.P. and Javier Carvajal Barriga E. (2019). Production, Extraction and Characterization of Lipases from the Antarctic Yeast *Guehomyces pullulans*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* , 15 (2): 75.82.
- Diaz, J. C., Rodriguez, J. A., Roussos, S., Cordova, J., Abousalham, A., Carriere, F., et al. (2006). Lipase from the thermotolerant fungus *Rhizopus homothallicus* is more thermostable when produced using solid state fermentation than liquid fermentation procedures. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 1042–1050.

- **Dismukes, William E., Peter G. Pappas, et Jack D. Sobel. (2003).** Clinical Mycology. 1st edition. Oxford ; New York: Oxford University Press.
- **Dix Nj & Webster J. (1995a).** Structure of Fungal Communities. En 'Fungal Ecology'. Chapman & Hall. London. 39-84.
- **Dominguez, A., Costas, M., Longo, M. A., & Sanroman, A. (2003).** A novel application of solid state culture: Production of lipases by *Yarrowia lipolytica*. Biotechnological Letters, 25, 1225–1229.
- **Dominguez, A., Costas, M., Longo, M. A., & Sanroman, A. (2003).** A novel application of solid state culture: Production of lipases by *Yarrowia lipolytica*. Biotechnological Letters, 25, 1225–1229.
- **Dutra, J. C. V., Terzi, S. C., Bevilaqua, J. V., Damaso, M. C. T., Couri, S., Langone, M. A. P., et al. (2008).** Lipase production in solidstate fermentation monitoring biomass growth of *Aspergillus niger* using digital image processing. Applied Biochemistry and Biotechnology, 147, 63–75.
- **Eerappa R, Acharya P, Ahmad S, Sankaranaryanan R, Rao NM (2008)** Structural basis for the remarkable stability of *Bacillus subtilis* lipase (Lip A) at low pH. Biochim Biophys Acta 1784:302–311
- **Euzéby. (2008).** Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire. Lavoisier.
- **FAO. (1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Source: <http://www.fao.org/docrep/t4280f/t4280f00.HTM>.
- **FatimaS., FaryadA., AtaaA., JoyiaF.A. et ParvaizA.. (2020).** Microbial lipase production: A deep insight into the recent advances of lipase production and purification techniques. Biotechnology and Applied Biochemistry, - Wiley Online Library.445-458.
- **Ferreira-Dias S, Sandoval G, Plou F, Valero F (2013).** The potential use of lipases in the production of fatty acid derivatives for the food and nutraceutical industries. Electron J .Biotechnol 16.
- **Fickers P., Marty B. A. et Nicaud J. M. (2011).** The lipases from *Yarrowia lipolytica*: Genetics, production, regulation, biochemical characterization and biotechnological applications. *Biotech. Adv.* 29 : 632–644.

- **Fickers, P., Ongena, M., Destain, J., Weekers, F., & Thonart, P. (2006).** Production and down-stream processing of an extracellular lipase from the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 756–759.
- **Fickers, P; Destain, J; Thonart, Ph. (2008).** Les lipases sont des hydrolases atypiques : principale caractéristique et application. *biotechnol. agron. Soc. Environ* 12(2) 119-130.
- **Fickers, P ; Destain, J ; et THonart, P. (2007).** Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et Application. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 12(2) : 119-130.
- **François F., Noël T., Pépin R., A Brulfert., Chastin C., Favel A. and Villard J. (2001).** Alternative identification test relying on sexual reproductive abilities of *Candida lusitaniae* strains isolated from hospitalized patients. *J. Clin. Microbiol.*, 39: 3906-14.
- **Francolini, I., Taresco, V., Martinelli, A. and Piozzi, A. (2020).** Enhanced performance of *Candida rugosa* lipase immobilized onto alkyl chain modified-magnetic nanocomposites. *Enzyme Microb. Technol.* 132, 109439.
- **Gargouri, Y ; Julien, R ; Pieroni, G ; Verger, R ; Sarda, L. (1984).** Studies on the inhibition of pancreatic and microbial lipases by soybean proteins. *Journal of lipid research*.25: 1214-1221p.
- **Gérard. D, Gue´roult. M, Casas-Godoy. L, Condoret. J-S, Andre´ I, Marty. A et al. (2017).** Efficient resolution of profen ethyl ester racemates by engineered *Yarrowia lipolytica* Lip2p lipase. *Tetrahedron Asymmetry*:1–9.
- **Gilham D. & Lehner R. (2005).** Techniques to measure lipase and esterase activity in vitro. *Methods*. 36: 139-147.
- **Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H. & Davis R.W. (1996).** Life with 6000 genes. *Sciences*, 96 :563-574.
- **Grbavcic S.Z., Dimitrijević-Brankovic S.I., Bezbradica D.I., Siler-Marinkovic S.S. and kneze.vié Z.D. (2007).** Effect of fermentation conditions on lipase production by *Candida utilis*. *J. Serb. Chem. Soc.* 72: 757-765.
- **Grbavcic, S. Z., Dimitrijevic-Brankovic, S. I., Bezbradica, D. I., Siler- Marinkovic, S. S., & Knezevic, Z. D. (2007).** Effect of fermentation conditions on lipase production by *Candida utilis*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(8–9), 757–765.

- **Greppi A. et al. (2013).** Yeast dynamics during spontaneous fermentation of mawè and tchoukoutou, two traditional products from Benin. *Int. J. Food microbiol.* 165 : 200-207.
- **Gryta M., Morawki A. and Tomaszewska M. (2000).** Ethanol production in membrane distillation bioreactor. *Catalysis today.* (16) : 159-165.
- **Guiraud. J-P, (1998).** Microbiologie alimentaire Ed. Dunod. PP: 320-652.
- **Gunstone, F.D. (1999).** Enzymes as biocatalysts in the modification of natural lipides. *Journal of the science of food and agriculture* .79: 1535-1549.
- **Gupta N., Gauri M. and Gupta R. (2004).** A glycerol-inducible lipase from *Bacillus sp.*: medium optimization by a Plackett-Burman design and by response surface methodology. *Can. J. microbiol.* 50: 361-368.
- **Gwen, F., Janny, C. A., Julio, C., Dustet, M., José, L., Martinez, H. (2006).** Production of Extracellular Lipase from *Aspergillus niger* by Solid-State Fermentation. *Food Technol Biotechnol J* 44 (2): 235–240.
- **Halasz A. and Lasztity R. (1991).** Use of Yeast Biomass in Food Production. CRC Press, Boca Raton, FL. : 312.
- **Hammer, E., Krowas, D., Schafer, A., Specht, M., Franche, W. et Schauer F. (1998).** Isolation and characterization of a Dibenzofuran- Degrading Yeast: Identification of oxidation and ring cleavage products. *Appl. Env. Microbiol.* 64 :2215-2219.
- **Hasan. F., A. A. Shah and Hameed. A. (2006).** Industrial applications of microbial lipases. *Enzy. Micro. Technol.* 39, 235-251.
- **He, Y. Q., and Tan, T. W. (2006).** Use of response surface methodology to optimize culture medium for lipase for production of lipase with *Candida sp.* 99-125. *Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic,* 43, 9–14.
- **Hu, J., Cai, W., Wang, C., Du, X., Lin, J., and Cai, J. (2018).** Purification and characterization of alkaline lipase production by *Pseudomonas aeruginosa* HFE733 and application for biodegradation in food wastewater treatment. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 32, 583–590.
- **Ian Spencer Homsey. (2012).** Alcohol and its role in the evolution of human society. RSC publishing, page 471.

- **Iefuji Haruyuki, Iimura Yuzuru and Obata Takaji.(1994).** Isolation and Characterization of a Yeast *Cryptococcus sp.* S-2 That Produces Raw Starch-digesting α -Amylase, Xylanase, and Polygalacturonase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 58(12): 2261-2262.
- **Ilesanmi O.I., Adekunle A.E., Omolaiye J.A., Olorode E. M., et Ogunkanmi A.L. (2020).** Isolation, optimization and molecular characterization of lipase producing bacteria from contaminated soil. *Scientific African* 8, e00279.
- **Jacques Noémie and Serge Caseregola.(2008).** « Safety assessment of dairy microorganisms: The hemiascomycetous yeasts ». *International Journal of Food Microbiology, Contribution to the safety assessment of technological microflora found in fermented dairy products*, 126 (3): 321-26.
- **Jaeger K. E., Ransac S., Dijkstra B. W., Colson C., Heuvel M. V & Misset O. (1994).** Bacterial lipases. *FEMS Microbiology reviews*. 15:29-63.
- **Jairath Saloni, Parampal Sahota and Gulab Pandove (2012).** Preparation of Non-Alcoholic Naturally Carbonated Beverage Using Yeast Isolate from Whey Beverage. *Czech J. Food Sci.*, , 30 (2): 135-143.
- **Jeager, K.E ; Dijkstra, B.W ; etreetz, M.T. (1999).**Bacterial biocatalysts: Molécular biology three dimensional structure and biotechnological applications of lipases annu. *Ret. Microbiol*53: 315-351.
- **Jimoh S.O., Ado S.A., Ameh J.B. & Whong C.M.Z. (2012).** Characteristics and diversity of yeast in locally fermented beverages sold in Nigeria. *World J. Eng. Pure Appl. Sci.* 2 : 40-44.
- **Johnson E. A. and Echavarri C. Erasmus. (2011).** Part II, Chapter 3 : Yeast biotechnology in Kurtzman C. P., Fzll J. W.and Boekhout T. (eds). *The yeast. A taxonomic study*. Fifth edition. Elsevier. 1: 21-45.
- **Joseph, B., P. W. Ramteke and Thomas, G. (2008).** Cold active microbial lipases: some hot issues and recent developments. *Biotechnol. Adv.* 26, 457-470.
- **Kaieda, M., Samukawa, T., Kondo, A., and Fukuda, H. (2001).**Effect of Methanol and water contents on production of biodiesel fuel from plant oil catalyzed by various lipases in a solvent-free system. *J. Biosci. Bioeng.* 91, 12–15.
- **Kapoor M, Gupta MN (2012).** Lipase promiscuity and its biochemical applications. *Process Biochem* 47:555–569.

- **Kaushik, R., Saran, S., Isar, J., & Saxena, R. K. (2006).** Statistical optimization of medium components and growth conditions by response surface methodology to enhance lipase production by *Aspergillus carneus*. *Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic*, 40, 121–126.
- **Kempka, A. P., Lipke, N. R., Pinheiro, T. L. F., Menoncin, S., Treichel, H., Freire, D. M. G., et al. (2008).** Response surface method to optimize the production and characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* in solid-state fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 31, 119–125.
- **Khan. N.R, Rathod .V.K (2015).** Enzyme catalyzed synthesis of cosmetic esters and its intensification: a review. *Process Biochem* 50 (11):1793–1806.
- **Kim, B. S., & Hou, C. T. (2006).** Production of lipase by high cell density fed-batch culture of *Candida cylindracea*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 29, 59–64.
- **Klein R. D., and M. A. Favreau. (1995).** The *Candida* species : biochemistry, molecular biology, and industrial applications. In : Y.H. Hui and G. G. Khachatourians (Eds). *Food biotechnology. microorganisms*. VCH publishers, New York. 297-371.
- **Klis M. F., Pieterella M., Klaas H. & Stanley B. (2002).** Dynamics of Cell Wall Structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev*, 23: 234-245.
- **Kreger van Rij, N. (1984).** The yeasts, a taxonomic study. Elsevier Science & Technology.
- **Kumar, S. S., & Gupta, R. (2008).** An extracellular lipase from *Trichosporon asahii* MSR 54: Medium optimization and enantioselective deacetylation of phenyl ethyl acetate. *Process Biochemistry*, 43, 1054–1060.
- **Kumar, S. S., and Gupta, R. (2008).** An extracellular lipase from *Trichosporon asahii* MSR 54: Medium optimization and enantioselective deacetylation of phenyl ethyl acetate. *Process Biochemistry*, 43, 1054–1060.
- **Kurtzman C.P. (2011a).** 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, pp. 304.
- **Kurtzman, C. P. and Suzuki M. (2010).** coenzyme Q-9 and the proposal of the new genera *Babjeviella*, *Meyerozyma*, *Milleroyzyma*, Phylogenetic analysis of ascomycete yeasts that form *Priceomyces* and *Scheffersomyces*. *Mycoscience*. 51(1) : 2-14.

- **Laachari, F; El Bergadi, F and Ibnsouda, S.K. (2015).** Purification and characterization of a Novel thermostable lipase from *Aspergillus flavus* international journal of research, 2(2): 342-352.
- **Lachance Marc-André.(2011a).** Yeast. Encyclopaedia of Life Sciences, Wiley John Wiley and sons, , p.12-56.
- **Lachance Marc-André.(2011b).** Chapitre 21: *Clavispora Rodrigues* de Miranda (1979) in Kurtzman C; P., Fzll J. W. and Boekhout T. The yeast. A taxonomic study. Volume 2. Fifth edition. Elsevier.
- **Lailaja. V.P, Chandrasekaran. M. (2013).**Detergent compatible alkaline lipase produced bymarine *Bacillus smithii* BTMS 11. World J Microbiol Biotechnol 29(8):1349–1360.
- **Larpent J. P. et Larpent-Gourgaud M. (1997).** Mémento technique de microbiologie. 3e édition, Lavoisier-Tec & Doc, Paris. (8) : 217-240.
- **Larpent J.P. (1991).** Biotechnologie des levures. Ed Masson, Paris, 445 p.
- **Larpent-gourgaud M. et Sanglier J.J. (1992).** Biotechnologies, principes et méthodes. Ed Doin. 574-581.
- **Leclerc H., Meyer A. et Deiana J. (1995).** Cours de microbiologie générale. Nouveau programme. Biosciences et techniques. Doin éditeurs, Paris. 73-92.
- **Leveau J.Y and Bouix M . (1979).** Etude des conditions extrêmes de croissance des levures osmophiles. Ind. Alim. Agric. (11) : 1147-1151.
- **Leveau J.Y. et Bouix M. (1993).** Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Lavoisier TEC et DOC, Paris. 08 : 2-92.
- **Li, C. Y., Cheng, C. Y., and Chen, T. L. (2001).**Production of *Acinetobacter radioresistens* lipase using Tween 80 as the carbon source. Enzyme Microb. Technol. 29, 258–263.
- **Li. X.L, Zhang. W.H, Wang. Y.D, Dai. Y.J, Zhang. H.T, Wang. Y et al.(2014).**A high-detergentperformance, cold-adapted lipase from *Pseudomonas stutzeri* PS59 suitable for detergent formulation. J Mol Catal B Enzym102:16–24.
- **Liese A., Weelbach K. and Wandrey C.(2000).** Industrial BioTransformations, 2nd eds. Wiley VCH Verlag, Weinheim,.
- **Liu, Z., Chi, Z., Wang, L., & Li, J. (2008).** Production, purification and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* HN2.3 with

- potential application for the hydrolysis of edible oils. *Biochemical Engineering Journal*, 40, 445–451.
- **Lodder J. (1971).** The yeasts. A taxonomic study. North Holland Publishing Company Amsterdam., London.
 - **Lokha Y, Arana-Peña S, Rios NS, Mendez-Sanchez C, Gonçalves LR, Lopez-Gallego F, Fernandez-Lafuente R.(2020).** Modulating the properties of the lipase from *Thermomyces lanuginosus* immobilized on octyl agarose beads by altering the immobilization conditions. *Enzym Microbial Technol*;133:109461.
 - **Lopandic K., Zelger S., Banzky L. K., Eliskases-Lechner F. and Prillinger H.(2006).** Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. *Food Microbiol.*, , 23: 341-350.
 - **Lopes, M., Gomes, N., Mota, M., & Belo, I. (2009).** *Yarrowia lipolytica* growth under increased air pressure: Influence on enzyme production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
 - **Madigan M. T., Martino J. M. (2006).** Brock biology of microorganisms. pearson education. Upper Saddle River, NJ, USA.
 - **Mafakher, L., Mirbagheri, M., Darvishi, F., Nahvi, I., Zarkesh-Esfahani, H. et Emtiazi, G. (2010).** Isolation of lipase and citric acid producing yeasts from agro-industrial wastewater. *New Biotech.* 27(4).
 - **Maharana A. K. and Singh S. M.. (2018).** Cold Active Lipases Produced by *Cryptococcus* sp. Y-32 and *Rhodococcus erythropolis* N149 Isolated from Nella Lake, Antarctica. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(03): 1910-1926.
 - **Maharana, A. K., and Ray, P. (2013).** Isolation and screening of cold active extracellular enzymes producing psychrotrophic bacteria from soil of Jammu City. *Biosci. Biotech. Res. Asia.* 10(1): 267-273.
 - **Maharana, A. K., and Ray, P. (2014a).** Application of Plackett-Burman Design for improved cold temperature production of lipase by psychrotolerant *Pseudomonas* sp. AKM-L5. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(4): 269-282.
 - **Maharana, A. K., and Ray, P. (2014c).** Screening of psychrotrophic micro-fungi for cold active extracellular enzymes isolated from Jammu city, India. *J. Pure Appl. Microbio.* 8(3): 2369-2375.
 - **Maharana, A. K., and Singh, S. M. (2018a).** A cold and organic solvent tolerant lipase produced by Antarctic strain *Rhodotorula* sp. Y-23. *J. Basic Microbiol.* 58, 1-12.

- **Maharana, A., and Ray, P. (2015b).** A novel cold-active lipase from psychrotolerant *Pseudomonas* sp. AKM-L5 showed organic solvent resistant and suitable for detergent formulation. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 120, 173-178.
- **Melim Miguel. A.S, Martins-Meyer .T.S, da Costa Figueiredo. E.V, Paulo Lobo .B.W,Dellamora-Ortiz. G.M (2013).** Enzymes in bakery: current and future trends. In: Muzzalupo I (ed) Food industry. InTech, pp 287–321.
- **Merabti .R, (2006).**Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien .Université des Frères Mentouri Constantine .PP :85
- **Messias, J. M., da Costa, B. Z., de Lima, V. M., Dekker, R. F., Rezende, M. I., Krieger, N., and -Barbosa, A.M. (2009).** *Enzyme Microb. Technol.* 45, 426–431.
- **Miceli, Marisa H., José A. Díaz, et Samuel A. Lee. (2011).** « Emerging opportunistic yeast infections ». *The Lancet infectious diseases* 11 (2): 142-51.
- **Mo, Q., Liu, A., Guo, H., Zhang, Y., and Li, M. (2016).**A novel thermostable and organic solvent-tolerant lipase from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* YB103: screening, purification and characterization. *Extremophiles* 20, 157–165
- **Najjar, A. (2010).** Etude quantitative de la sécrétion de lipase. de la lipolyse et du stockage delipides chez *Yarrowia lipolytica* lors de sa croissance en présence d’huile d’olive. Thèse de doctorat : Microbiologie et biotechnologies : Université de la méditerranée (Aix Marseille II)132P.
- **Nancy J. Moon. (1983).** Inhibition of the Growth of acidtolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *Journal of Applied Bacteriology.*55: 453–460.
- **Nema, A., Patnala, S.H., Mandari, V, S. Kota and S. Kumar .(2019).** Production and optimization of lipase using *Aspergillus niger* MTCC 872 by solid-state fermentation. *Bull Natl Res Cent*43, 82.
- **Neumann N.P. & Lampen J.O. (1967).** Purification and properties of yeast invertase *Biochemistry*, 6: 468-475.
- **Oliveira, F., Moreira, C., Salgado, J. M., Abrunhosa, L., Venancio, A., and Belo, I. (2016).**Olive pomace valorization by *Aspergillus* species: lipase production using solid-state fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 96, 3583–3589.
- **OliveiraA. C. D., Fernandes M. L. et MarianoA. B..(2014).**Production and characterization of an extracellular lipase from *Candida guilliermondii*. *Brazilian Journal of Microbiology* 45, 4, 1503-1511.

- **Oteng-Gyang K.(1984).** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Edition Technique et documentation, Paris,.
- **Ouédraogo N., Savadogo A., Zongo C., Somda K. M. A. and Traoré S. (2012).** High performance amylolytic yeast strains isolation and identification for valorization of potatoes waste available in Burkina Faso. *Int. Food Res. J.* 19(4): 1463-1469.
- **Ouédraogo N., Savadogo A., Zongo C., Somda K. M. A. and Traoré S. (2012).** High performance amylolytic yeast strains isolation and identification for valorization of potatoes waste available in Burkina Faso. *Int. Food Res. J.*, 19(4): 1463-1469.
- **Özgen FF, Vardar-Yel N, Roth OS, Shahbaz LS, Vardar-Schara G. (2020).**Surface residues serine 69 and arginine 194 of metagenome-derived lipase influence catalytic activity. *Biochem Eng J.* 154:107442.
- **Pabai F. (1997).** Purification, Characterization of selected microbial lipases and their application for inter esterification of better fat. Department of food science & agricultural chemistry. McGill University, Montréal, Canada. Applied image. INC. PP: 179.
- **Pandey A., Webb C., Soccol C.R. and Larroche C. (Eds). (2006).** Enzyme Technology. Springer. Asiatech Publishers. New Delhi.
- **Papanikolaou, S., Chevalot, I., Galiotou-Panayotou, M., Komaitis, M., Marc, I. et Aggelis, G. (2007).**Industrial derivative of tallow: a promising renewable substrate for microbial lipid, single-cell protein and lipase production by *Yarrowia lipolytica*. *Elect. J. Biot.* 10 (3).
- **Pastor-Pascual F, Espana-Gregori E, Avino-Martinez J, Gallego-Pinazo R. (2007).** Dacryocystitis caused by *Candida lusitaniae*. *Arch Soc Esp Oftalmol*, , 82: 365-368.
- **Peng Q, Wang X, Shang M, Huang J, Guan G, Li Y et al (2014).**Isolation of a novel alkaline-stable lipase from a metagenomic library and its specific application for milk fat flavor production. *Microb Cell Factories*13(1):1–1.
- **Pera L.M., Romero C.M., Baigori M.D. and Castro G.R. (2006).**Catalytic properties of lipase extracts from *Aspergillus niger*. *Food Technol. Biotechnol.* 44: 247-252.
- **Pérez-Brito D., Magaña-Alvarez A., Lappe-Oliveras P., Cortes-Velazquez A., Torres-Calzada C., Herrera-Suarez T., Larqué-Saavedra A. and Tapia-Tussell R. (2015).** Genetic diversity of *Clavispora lusitaniae* isolated from Agave four croydes Lem, as revealed by DNA finger printing. *J Microbiol.* 53(1): 14-20.

- **Phaff H .J and Starmer W.T. (1987).** Yeasts Associated with Plants, Insects and Soil In: Rose A.H., Harrison J.S. (eds), The yeasts, V1, Biology of yeast. 2nd edition Academic Press. Londres. p :123-174.
- **Pinheiro, T. L. F., Menoncin, S., Domingues, N., Oliveira, D., Treichel, H., Di Luccio, M., et al. (2008).** Production and partial characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* obtained by submerged fermentation of conventional and industrial media. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(2), 444–450.
- **Pol D. (1996).** Travaux pratiques de biologie des levures. Guide de laboratoire. Ellipses edition marketing S.A, Paris. 15 :20-38, 42-57, 141-151.
- **Potumarthi, R., Subhakar, C., Vanajakshi, J., & Jetty, A. (2008).** Effect of aeration and agitation regimes on lipase production by newly isolated *Rhodotorula mucilaginosa*-MTCC 8737 in stirred tank reactor using molasses as sole carbon source. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 151, 700–710.
- **Prescott., Hartley., Klein. (1995).** Microbiologie. 2ème édition Ed. De Boeck-Wesmael SA.P. 1014 .
- **Prillinger Hansjorg, Molnar Orsolya, Frieda Eliskases- Lechner and Ksenga Lapandic; 1999.** Phenotypic and genotypic identification of yeast from cheese. *Antonie Van Leewenhock.*, 75: 267-283.
- **Rajendran A., Palanisamy A., & Thangavelu V. (2008).** Evaluation of medium components by Plackett–Burman statistical design for lipase production by *Candida rugosa* and kinetic modeling. *Chinese Journal of Biotechnology*, 24(3), 436–444.
- **Rao R. S., Bhadra B. and Shivaji S. (2008).** Isolation and characterization of ethanol-producing yeasts from fruits and tree barks . *Letters in Applied Microbiology*. 47 (1): 19-24.
- **Reis, P; Holmberg, K; Liser, M.E; Miller, R. (2008).** Lipases at interfaces: A review advances in colloid and interface science.
- **Reski-Bekki M.A. (2014).** Production de metabolites par les levures: caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse de doctorat, Université d’Oran. Algérie.
- **Rezki-Bekki Meriem Amina, Laurent Benbadis, Gustavo DeBillerbeck, Zoubida Benbayer and Jean Marie François ,(2013).** Isolation and physiological characterization of indigenous yeasts from some Algerian agricultural and dairy products. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 4(6): 75-83.

Références Bibliographiques

- **Rihani, A. (2012).** Screening de microorganismes producteurs de lipases : Application dans la biodécontamination de surface. Magister en Microbiologie. Université Badji mokhtar d' Annaba,55P.
- **Rodriguez, J. A., Mateos, J. C., Nungaray, J., Gonzalez, V., Bhagnagar, T., Roussos, S., Cordova, J., and Baratti, J. (2006).** Improving lipase production by nutrient source modification using *Rhizopus homothallicus* cultured in solid state fermentation Process Biochem. 41, 2264–2269.
- **Rudiger A., P. L.Jorgensen, and G. Antranikian. (1995).** Isolation and characterization of a heat-stable pullulanase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus woesei* after cloning and expression of its gene in *Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology. 61(2): 567-575.
- **Sahoo, Rajesh Kumar, Anshuman Sahu, et Enketeswara Subudhi.(2020).** « Bioremediation of Hydrocarbon Using Bacterial Lipase from Waste Biomass ». Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science 44(5): 1287-93.
- **Sainz, J., F. Pizarro, J. R. Pérez-Correa et E. Agosin. (2003).** Modeling of yeast metabolism and process dynamics in batch fermentation. Wiley periodicals Inc. 818.
- **Salgado, V., Fonseca, C., Lopes da Silva, T., Roseiro, J. C., & Eusébio, A. (2020).** Isolation and identification of *Magnusiomyces capitatus* as a lipase-producing yeast from olive mill wastewater. Waste and Biomass Valorization, 11(7), 3207-3221.
- **Salihu A, Alam. M.Z (2015).**Solvent tolerant lipases: a review. Process Biochem 50 :86–96.
- **Sangeetha.R, Geetha.A, Arulpandi.I.(2010).**Concomitant production of protease and lipase by *Bacillus licheniformis* VSG1: production, purification and characterization, Braz. J. Microbiol. 41 .179–185 .
- **Sarikaya E. and Gurgun V. (2000).** Increase of the α -amylase yield by some Bacillus strains. Turk J. Biol.24: 299-308.
- **Scherr G.H. & Weaver R.H. (1953).** The dimorphism phenomenon in yeasts. Bact Rev, 17: 51- 92
- **Schurr A. & Yagile Y. (1971).** Regulation and characterization of alkaline phosphate in yeast J Gen Microbiol, 65: 291-303.
- **Segel, I.H. (1976).** Biochemical energetics in biochemical calculations, John Wiley and Sons. New York. 145-207.

- **Sethi, B.K., Rout, J.R., Das, R., Nanda, P.K., and Sahoo, S.L. (2012).**Lipase production by *Aspergillus terreus* using mustard seed oil cake as a carbon source. *Ann. Microbiol.* 63, 241–252.
- **Sharma, S., Kanwar, S.S. (2014).** Organic solventtolerant lipases and applications. *Sci World J:* 625258.
- **Shin K. S., Shin Y. K., Yoon J. H. and Park Y. H. (2001).** *Candida thermophila* sp. nov., a novel thermophilic yeast isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 2167-2170.
- **Sicard P. (1982).** Applications industrielles des enzymes. In : Les enzymes production et utilisation industrielles Durand G, Monson P. (Ed):. Ed. Gauthier-Villars. 121-164.
- **Sikander Ali., Hameedullah Rafi., Ikram-Al-Haq. (2010).** Production of an extracellular lipase from *Candida lipolytica* and Parameter significance analysis by plackett-burman design. *Engineering in Life Sciences.*10: 465– 473.)
- **Simon P. et Meunier R. (1970).** Microbiologie industrielle et génie biochimique. Masson ET Cie, Editeurs. Paris VIe. p: 31-47, 385-411.)
- **Singh M., Chandraveer , Tripathi.A. (2017).** Isolation and screening of lipases producing microorganisms from natural sources, *Indian J. Ecol.* 44 (1) 19–23.
- **Singh, P., S. M. Singh and Dhakephalkar, P. (2014a).** Diversity, cold active enzymes and adaptation strategies of bacteria inhabiting glacier cryoconite holes of High Arctic. *Extremophiles*, 18(2): 229-242.
- **Singh, P., S. M. Singh, M. Tsuji, G. S. Prasad and Hoshino, T. (2014b).***Rhodotorula svalbardensis* sp. nov., a novel yeast species isolated from cryoconite holes of Ny-Ålesund, Arctic. *Cryobiology.* 68(1): 122-128.
- **Singh, R., Gupta, N., Goswami, V. K. and Gupta, R. (2006).** A simple activity staining protocol for lipases and esterases. *Applied Microbiology and Biotechnology* 70: 679-682.
- **Souciet J.L, Dujon B., Gaillardin C., Johnston M., Baret P.V., Cliften P., ...& Talla E. (2009).** Comparative genomics of protoplloid Saccharomycetaceae. *Genome Res*, 19(10): 1696-1709,
- **Suarit, R., Gopal, P-K, et Sherped, M-G, (1988).** Evidence for a glycosidic linkage between chitin and glucan in the cell wall of *Candida albicans*. *J. Gen. Microbial*, 134 : 359 - 368.

- **Suci, M., Arbianti, R., and Hermansyah, H. (2018).** Lipase production from *Bacillus subtilis* with submerged fermentation using waste cooking oil. *Environ. Earth Sci.* 105, 012126.
- **Surribas, A., Stahn, R., Montesinos, J. L., Enfors, S. O., Valero, F., & Jahic, M. (2007).** Production of a *Rhizopus oryzae* lipase from *Pichia pastoris* using alternative operational strategies. *Journal of Biotechnology*, 130, 291–299.
- **Tan, T., & Yin, C. (2005).** The mechanism and kinetic model for glycerolysis by 1, 3 position specific lipase from *Rhizopus arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal*, 25, 39–45.
- **Taskin, M., M. H. Ucar, Y. Unver, A. A. Kara, M. Ozdemir and Ortucu, S. (2016).** Lipase production with free and immobilized cells of cold-adapted yeast *Rhodotorula glutinis* HL25. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 8, 97-103.
- **Temim .M et Hamaidia. N. (2018).** Screening et identification des levures pour la mise en évidence des enzymes à intérêt industriel. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biochimie et nutrition, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- **Teng, Y., Xu, Y., & Wang, D. (2009).** Changes in morphology of *Rhizopus chinensis* in submerged fermentation and their effect on production of mycelium-bound lipase. *Bioprocess and Biosystems Engineering*.
- **Thanh Vu Nguyen. (2006).** *Lipomyces orientalis* sp. Nov., a yeast species isolated from soil in Vietnam. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 56: 2009-2013.
- **Thuriaux P., (2004).** Les organismes modèles la levure. Ed. Belin. Paris. PP: 15-44.
- **Tian. X, Zhang. G, Lu." X, Zhang A, Lin. J, Zheng. L et al. (2012).** Resolution of N-(2-ethyl-6-methylphenyl) alanine by using microgel beads containing *Pseudomonas cepacia* lipase. *Biocatal Biotransform* 30 (4):391–398.
- **Turati, D. F. M., Almeida, A. F., Terrone, C. C., Nascimento, J. M., Terrasan, C. R., Fernandez-Lorente, G., Pessela, B.C., Guisan, J.M., and Carmona, E. C. (2019).** Thermotolerant lipase from *Penicillium* sp. section *Gracilentia* CBMAI 1583: Effect of carbon sources on enzyme production, biochemical properties of crude and purified enzyme and substrate specificity. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 17, 15–24.
- **Van Uden N and Fell J.W. (1968).** *Advances in Microbiology of the Sea*. Academic Press, New York. 1, p: 167-201.

- **Verdugo Valdez A.(2011).** Segura Garcia L., Kirchmayr M., Ramírez Rodríguez P., González Esquinca A., Coria R. and Gschaedler Mathis A. Yeast communities associated with artisanal mezcal fermentations from *Agave salmiana*. *Antonie Van Leeuwenhoek.*, 100 (4):497-506.
- **Vincent T. Calabrese, Jason W. Minns, Arshad Khan. (2016).** Suppression of α -Amylase inactivation in the presence of ethanol: Application of a two-step model. *Formulation and engineering of biomaterials.*
- **Walker G. M. (2009).** Yeast. In. M. Schaechter, ed. *Desk Encyclopedia of microbiology.* 2nd ed. London : Elsevier/Academic Press. : 1174-1187
- **Walker G.M., Wiley J and Chihster S.(1997).** *Yeast physiology and biotechnology.*
- **Walker G.M. (1998).** *Yeast. Physiology and Biotechnology* John Wiley and Sons, Chichester.
- **Wilfried, R; Moussavou, M; Brunshwig, Ch; Villeneuve, P; Blin, J. (2011).** 6^{ème} Journées scientifiques du 2iE. Screening de l'activité lipasique dans des extraits végétaux de la biomasse burkinabé pour la synthèse d'esters éthylique d'huile végétale (EEHV). 4-8 Campus 2iEOuagadougou, 6P.
- **Yang, X., Wang, B., Cui, F., & Tan, T. (2005).** Production of lipase by repeated batch fermentation with immobilized *Rhizopus arrhizus*. *Process Biochemistry*, 40, 2095–2103.
- **Yu, M., Lange, S., Richter, S., Tan T. et Schmid, R.D. (2007).** High-level expression of extracellular lipase Lip2 from *Yarrowia lipolytica* in *Pichia pastoris* and its purification and characterization. *Protein Expr.Purif.* 53 : 255–263.
- **Zarevucka, M. (2012).** Olive Oil-Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions, In *Tech Europe*, Rijeka, Croatia, 457–470.
- **Zeng, X., X. Xiao, P. Wang and Wang, R. (2004).** Screening and characterization of psychrotrophic lipolytic bacteria from deep-sea sediments. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14(5): 952-958.
- **Zhao, W., Wang, J., Deng, R., & Wang, X. (2008).** Scale-upfermentation of recombinant *Candida rugosa* lipase expressed in *Pichia pastoris* using the GAP promoter. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35, 189–195.

Références Bibliographiques

- **Zhong L, Feng Y, Wang G, Wang Z, Bilal M, Lv H, Jia S, Cui J.(2020).Production and use of immobilized lipases in/on nanomaterials: a review from the waste to biodiesel production. Int J Biol Macromol.;152:207–22.**
- **Zubay, G.L; Parson, W.W and Vance, D.E. (1995).** Enzyme kinetics. En principales of biochemistry WCB publishers. Oxford : 135-153.

ANNEXES

Annexe 1

Composition des milieux de culture

1-YPGA (Yeast extract Peptone Glucose Agar) :

- Extrait de levure :5g/l
- Peptone : 10g/l
- Glucose :20g/l
- Antibiotique :0.1g/l
- Agar :20g/l

Stérilisation à 120°C pendant 20 min.

2-YMA (Yeast Malt Agar) :

- Extrait de levure 3 g/l
- Extrait de malt 3 g/l
- Peptone 5 g/l
- Glucose 10 g/l
- Agar 20 g/l
- Antibiotique 0.1g/l

Stérilisation à 120°C pendant 20 min.

3-Milieu de la mise en évidence de lipase

➤ **TPA** (Tween Peptone Agar) :

- NaOH 5g/l
- CaCl₂, 2H₂O 0.1g/l
- Peptone 10 g/l
- Agar 20g
- Tween 20 :10ml

Stérilisation dans l'autoclave à 120 °C pendant 20 min.

➤ **POA** (Phénol Oil Agar) :

- 0.1g /l rouge de phénol
- 10 ml /l huile d'olive
- 0.1g/l CaCl₂

- 20g Agar

Stérilisation dans l'autoclave à 120 °C pendant 20 min.

4. Milieu de conservation YPG (Yeast extract Peptone Glucose)

Pour 250 ml :

-Extrait de levure 1,25 g

- Peptone 2,5 g

- Glucose 5 g

Annexe 2

1. Détermination de la matière sèche

Le taux de matière sèche exprimé en %, est donné par la formule suivante :

$$\text{Matière sèche en \%} = (m_2 - m_0 \div m_1 - m_0) \times 100$$

m₀ : est la masse, en gramme, du creuset vide.

m₁ : est la masse, en gramme, du même creuset contenant la prise d'essai avant dessiccation..

m₂ : est la masse, en gramme, du creuset après dessiccation.

2. Calcule de l'activité enzymatique

L'activité enzymatique en unité internationale (U/g) est : **AE (u/ml) × 25 / MS%**

AE (U/ml) :est l'activité enzymatique en U/ml.

MS% : matière sèche en %.

3. Préparation du tampon

-Tampon NaOH (0,1N) pH =7,3

Pour 1000 ml :

NaOH 4g

-Tampon phosphate potassium (0,1M) pH =7,2

Pour 500 ml :

KH₂ PO₄ 6,8 g

K₂H PO₄ 11,4 g

Ajuster le pH à 5 ou 6 par le pH-mètre.

4. Préparation de solution titrant NaOH (0,05N)

Pour 1000 ml :

NaOH 2 g

Résumé

Le but de ce travail est la recherche des levures lipolytiques et l'amélioration de la production de lipase pour une utilisation industrielle. Un total de 17 d'isolats levuriens est obtenu à partir du sol des oliviers et des grignons d'olives.

En effet, Deux souches Lip₁₁ et la Lip₁₇ ont une activité lipasique (diamètre des halo 1,9 cm et 2,1cm respectivement), l'isolat Lip₁₇ est sélectionné car son activité lipolytique est meilleure. La production lipolytique de la souche lip₁₇ est étudiée en FMS et en FML sur les déchets de lentisque et les grignons d'oliviers. La meilleure production lipasique (1182,31UI) est obtenue en FMS sur les déchets de lentisque comme substrat et support. L'amélioration de la production de la lipase de la levure lip₁₇ a été étudiée. Différentes sources azotées organiques (extrait de levure, peptone, corne steep liquor) et inorganique ont été testées. L'extrait de levure semble être la meilleure source azotée avec une activité de 1243,182UI /g et un taux d'augmentation de 2 fois. Parmi les sources de carbone étudiée (glucose, lactose, saccharose, tween 80), le tween 80 a donné l'activité la plus élevée de 1378,08UI/g avec un taux d'augmentation aussi de 2 fois. Pour l'effet du pH, le pH 5 est plus efficace car il présente une activité de 914,99 UI/g avec un faible taux d'augmentation. L'effet de l'interaction des facteurs sélectionnés a montré que la présence des 03 facteurs étudiés est favorable pour la production lipasique (Activité de lipase de 1243,34UI/g et un taux d'augmentation de 2 fois). Pour un essai d'application industrielle de la lipase de la levure lip₁₇, l'enzyme a montré une compatibilité avec les détergent à lessive commerciales, essentiellement avec la lessive Marseille (liquide). La compatibilité de la lipase de la levure lip₁₇ avec les détergents à lessive commerciales la qualifie comme source d'utilité industrielle en particulier dans l'industrie des détergents.

Mots clés : Lipase, levure, fermentation solide, optimisation, détergent.

Abstract

The aim of this work is the research of lipolytic yeast and the improvement of lipase production for use in industrial applications. 17 yeast isolates are obtained from olive soil and olive pomace. Two strains Lip₁₁ and Lip₁₇ have lipase activity (halo diameter 1.9 cm and 2.1 cm respectively), Lip₁₇ is selected because its lipolytic activity is better than the two yeast isolates. The lipolytic production of the Lip₁₇ strain was studied in FMS and MLF on lentisk waste and olive pomace. The best lipase production (1182.31IU) is obtained in FMS on lentisque waste as substrate and support. The improvement of lipase production of lip₁₇ yeast was studied. Different organic (yeast extract, peptone, horn steep) and inorganic nitrogen sources were tested, and yeast extract was the best with an activity of (1243.182IU /g) and a rate of increase of 2 times. Among the carbon sources studied (glucose, lactose, sucrose, tween 80), tween 80 gave a significant activity of (1378.08IU/g) with a 2-fold increase rate. For the effect of pH, pH 5 seems to be the best, it presents an activity of (914,99UI/g) with a low rate of increase. The effect of the interaction of the selected factors showed that the presence of the 3 factors studied and favorable for the lipase production (Lipase activity of 1243,34 UI/g and a rate of increase 2 times). For an industrial application test of the yeast lipase lip₁₇, the enzyme showed a compatibility with commercial laundry detergents, mainly with the laundry detergent Marseille (liquid). The compatibility of the yeast lipase lip₁₇ with commercial laundry detergents qualifies it as a source of industrial utility especially in the detergent industry.

Key words: Lipase, yeast, solid fermentation, optimization, detergent.

المخلص

يهدف هذا العمل إلى بحث عن الخميرة الدهنية وتحسين إنتاج الخميرة الدهنية لاستخدامها في التطبيقات الصناعية. ويتم الحصول على ما مجموعه 17 خميرة معزولة من تربة أشجار الزيتون وعنب الزيتون. وهناك سلالتان Lip11 و Lip17 لهما نشاط ليباسي (قطر الهالو 1 ، 9 سم و 2 ، 1 سم على التوالي) ، Lip17 يتم اختيار العزلات لأن نشاطها الليبولي أفضل. الخميرتين تعزلان. ويتم دراسة إنتاج ليبوليتي من سلالة ليبين 17 في FMS و FML على نفايات اللينتيسك وعنب الزيتون. ويتم الحصول على أفضل إنتاج من الليباز (1182,31 IU) على نفايات اللينتيسك (FMS) كما يتم الحصول على الطبقة السفلية والدعم. ودُرس تحسين إنتاج الليباز من خميرة الليبي 17. فقد تم اختبار مصادر مختلفة من النيتروجين العضوي (مستخلص الخميرة ، والبيتون ، والقرن الحاد) وغير العضوي ، وكان مستخلص الخميرة الأفضل مع نشاط بلغ (1243 ، 182 IU/g) ومعدل زيادة بلغ 2 مرة. ومن بين مصادر الكربون التي تمت دراستها (الجلوكوز ، اللاكتوز ، السوكروز ، 80 التوين) ، أعطى 80 التوين نشاطاً كبيراً قدره (1378 ، 08 IU/g) مع معدل زيادة 2 مرات وبالنسبة لتأثير الأس الهيدروجيني ، يبدو أن الأس الهيدروجيني 5 هو الأفضل ، مع نشاط يبلغ (914.99 IU/g) مع معدل ارتفاع منخفض. وأظهر تأثير التفاعل بين عوامل مختارة أن وجود العوامل 3 التي تمت دراستها ومواتية لإنتاج الليباسي (نشاط ليباسي 1243 و 34 IU/g ومعدل زيادة 2 مرة). وبالنسبة لتجربة التطبيقات الصناعية من الليباز المستخرج من خميرة الليباز 17 ، أظهر الإنزيم توافقاً مع منظفات الغسيل التجاري ، وأساساً منظفات الغسيل (السائل) في مرسليليا. إن توافق الليباز من خميرة ليبين 17 مع منظفات الغسيل التجاري يؤهله كمصدر لفائدة الصناعية خاصة في صناعة المنظفات (الكلمات الرئيسية: الليباز ، الخميرة ، التخمر الصلب ، التنظيف الأمثل

Présenté par

Soutenu le 23 septembre 2021

- **Djama Chaima**
- **Hassi Sara**

Résumé

Le but de ce travail est la recherche des levures lipolytiques et l'amélioration de la production de lipase pour une utilisation industrielle. Un total de 17 d'isolats levuriens est obtenu à partir du sol des oliviers et des grignons d'olives.

En effet, Deux souches Lip₁₁ et la Lip₁₇ ont une activité lipasique (diamètre des halo 1,9 cm et 2,1cm respectivement), l'isolat Lip₁₇ est sélectionné car son activité lipolytique est meilleure. La production lipolytique de la souche lip₁₇ est étudiée en FMS et en FML sur les déchets de lentisque et les grignons d'oliviers. La meilleure production lipasique (1182,31UI) est obtenue en FMS sur les déchets de lentisque comme substrat et support. L'amélioration de la production de la lipase de la levure lip₁₇ a été étudiée. Différentes sources azotées organiques (extrait de levure, peptone, corne steep liquor) et inorganique ont été testées. L'extrait de levure semble être la meilleure source azotée avec une activité de 1243,182UI /g et un taux d'augmentation de 2 fois. Parmi les sources de carbone étudiée (glucose, lactose, saccharose, tween 80), le tween 80 a donné l'activité la plus élevée de 1378,08UI/g avec un taux d'augmentation aussi de 2 fois. Pour l'effet du pH, le pH 5 est plus efficace car il présente une activité de 914,99 UI/g avec un faible taux d'augmentation. L'effet de l'interaction des facteurs sélectionnés a montré que la présence des 03 facteurs étudiés est favorable pour la production lipasique (Activité de lipase de 1243,34UI/g et un taux d'augmentation de 2 fois). Pour un essai d'application industrielle de la lipase de la levure lip₁₇, l'enzyme a montré une compatibilité avec les détergent à lessive commerciales, essentiellement avec la lessive Marseille (liquide). La compatibilité de la lipase de la levure lip₁₇ avec les détergents à lessive commerciales la qualifient comme source d'utilité industrielle en particulier dans l'industrie des détergents.

Mots clés : Lipase, levure, fermentation solide, optimisation, détergent.

Jury d'évaluation :

- **Président : Mme BENNAMOUN L. M.C.B, Université des frères Mentouri Constantine1.**
- **Encadreur : Mme DAKHMOUCHE S. M.C.A, ENS, Assia Djébar, Constantine.**
- **Examineur : Mme SAMRA I. M.C.B, Université des frères Mentouri Constantine1.**

Année universitaire : 2020 – 2021