



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Selma SAADA ; Selwa HAMDANE

Le : samedi 26 juin 2021

Thème

Optimisation de la production cellulase par des souches bactériennes isolées de différentes sources

Jury :

Mme. Fadjria YAKOUB	MAA	Université de Biskra	Président
M. Hakim HEBAL	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Fatiha BEN GUERAICHI	MAB	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2020-2021

Remerciement

*Nous voudrions d'abord remercier en premier lieu **ALLAH**, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la santé et la patience pour achever ce travail.*

*Sincères remerciements s'adressent à notre honorable encadreur Monsieur **Hebal Hakim** merci de votre confiance, patience, notre soutien, ses précieux conseils qui nous ont permis de réaliser ce travail...Nous avons eu le grand honneur de travailler sous votre direction....Merci beaucoup Monsieur.*

Mes vifs remerciements vont aux membres de jurés d'avoir acceptés de juger ce travail.

Enfin, nous tenons également à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Hamdane Selwa & Saada Selma

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail,

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir.... mon adorable mère

Naima.

*À l'homme, à qui je dois ma vie, mon succès et tout mon respect....à mon cher père **Noureddine.***

*A ma chère sœur, **Lyna**.... pour leur encouragement permanent, et leur soutien moral.*

*A mes chers frères, **Okba, Houssein, Yasser**....pour leur appui et leur encouragement.*

*À mes précieuses sœurs **Chahrazed et Nassima Khouidem**,.... merci de votre soutien, d'être à mes côtés, merci pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble.*

*À ma merveilleuse collègue **Selwa Hamdan.***

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, en particulier ma chère grand-mère et ma tante.

Ce travail est la réalisation de votre désir, et votre soutien infaillible, Merci d'être toujours là pour moi.

Saada Selma

Dédicace

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à mes parents ceux Qui m'ont donnés l'espoir et le courage nécessaire pendant mon long trajet d'étude.

*Un grand merci à mon binôme **Saada Selma***

*à tous mes chers amis : **Amina, Hanane, Fériale, Nermine, Ikram, Yousra , Mayada, Houda , souzane** qui m'a beaucoup aidé et m'encouragé*

*A Mon adorable sœur **Ghaniya***

Je dédie à toutes les personnes qui ont contribué, à un moment de notre travail, au bon déroulement et à l'achèvement de ce mémoire.

Hamdane Selwa

Sommaire

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

Introduction1

Première partie Synthèse bibliographique

Chapitre I Biomasse lignocellulosique

1.1. Généralité sur la matière lignocellulosique.....2

1.2. Structure et composition de la biomasse lignocellulosique.....2

1.2.1. Cellulose2

1.2.2. Hémicelluloses3

1.2.3. Lignine.....3

Chapitre II Cellulase

2.1. Définition.....5

2.2. Nomenclature du cellulase.....5

2.3. Enzyme cellulolytiques5

2.3.1. Endoglucanases ou Endo-1, 4- β -D-Glucan Glucanohydrolases (EC 3.2.1.4).....5

2.3.2. Exoglucanases ou 1, 4- β -D-Glucan Cellobiohydrolases (Cellobiohydrolases) (EC 3.2.1.91)5

2.3.3. Exoglucanases ou 1, 4- β -D-Oligoglucan Cellobiohydrolases (également appelées Cellodextrinases) (EC 3.2.1.74).....6

2.4. Mécanisme de production de cellulase6

2.5. Applications industrielles de la cellulase6

Chapitre III Optimisation de la production de cellulase

3.1. Optimisation de la production de cellulases.....8

3.1.1. Effet du pH.....8

3.1.2. Effet de la température8

3.1.3. Effet de la période d'incubation8

3.1.4. Effet de la source de carbone8

3.1.5. Effet de la Source d'azote9

Deuxième partie Partie expérimentale

Chapitre IV Matériel et méthodes

4.1. Matériel biologique	10
4.2. Méthodologie	13
4.2.1. Optimisation de production de cellulase	14
4.2.1.1. Optimisation des sources de carbone	14
4.2.1.2. Optimisation de Source d'azote	14
4.2.1.3. Effet du pH.....	15
4.2.1.4. Effet de la température.....	16
4.2.1.5. Effet de la période d'incubation sur la production d'enzyme	17
4.2.2. Mesure de l'activité enzymatique	18
4.2.3. Détermination des protéines	18

Chapitre V Résultats et discussion

5.1. Résultats	19
5.1.1. Effet des sources de carbone.....	19
5.1.2. Optimisation des sources d'azote.....	24
5.1.3. Effet du pH sur la production de cellulase.....	30
5.1.4. Effet de la température	34
5.1.5. Effet de période d'incubation sur production de cellulases.....	38
5.2. Discussion	40
5.2.1. Effet de source de carbone.....	40
5.2.2. Effet de source d'azote	40
5.2.3. Effet de pH.....	41
5.2.4. Effet de la température	42
5.2.5. Effet de période d'incubation.....	43
Conclusion	44

Bibliographie

Résumé

Liste des Tableaux

Tableau 1. Application de cellulase dans une différente industrie (Ramesh <i>et al.</i> , 2011)	7
Tableau 2. Microorganismes cellulolytiques.	10
Tableau 3. Optimisation des sources de carbone (Sujatha <i>et al.</i> , 2014).....	19
Tableau 4. Effet de carbone source sur la production de cellulase par <i>Bacillus thuringiensis</i> (ABS 125A) (Lokhande et Pethe, 2017).....	20
Tableau 5. Optimisation des sources d'azote pour la production d'enzymes par <i>Scytalidium thermophilum souche</i> SKESMBKU01 (Sujatha <i>et al.</i> , 2014).....	25
Tableau 6. Effet de différentes sources d'azote (0,1 % W/V) sur la production de cellulase par <i>Bacillus</i> sp après 10 jours d'incubation à 37°C et pH 7,0. Les résultats du test post hoc de Tukey ont montré des différences significatives entre les variables appariées sous nitrosources de gènes et types d'enzymes, à l'exception de ceux présentés avec NS en exposant (Sadhu <i>et al.</i> , 2013).....	27
Tableau 7. Effet de diverses sources d'azote sur la cellulase production par <i>Bacillus licheniformis</i> MVS1 et <i>Bacillus</i> sp.MVS3 (Acharya et Chaudhary, 2012).....	28
Tableau 8. Optimisation de la température (Acharya <i>et al.</i> , 2008).....	37
Tableau 9. Optimisation de la production de cellulase (Vimal <i>et al.</i> , 2016)	39

Liste des Figures

Figure 1. Structure tridimensionnelle de la lignocellulosique (Eloutassi <i>et al.</i> , 2014)	2
Figure 2. Structure linéaire de la cellulose (Tchunden, 1990)	3
Figure 3. Présentation de structure de la lignine (Paillet, 2013)	4
Figure 4. Effet de sources de carbone (Sethi <i>et al.</i> , 2013)	21
Figure 5. Effet du glucose (Sethi <i>et al.</i> , 2013)	21
Figure 6. Effet du lactose (Sethi <i>et al.</i> , 2013)	22
Figure 7. Effet du saccharose (Sethi <i>et al.</i> , 2013)	22
Figure 8. Effet du fructose (Sethi <i>et al.</i> , 2013).....	23
Figure 9. Effet du maltose (Sethi <i>et al.</i> , 2013)	23
Figure 10. Production de cellulase par <i>B. altitudinis</i> et <i>B. licheniformis</i> dans les médias complétés par différentes sources de carbone (Sreeja <i>et al.</i> , 2013)	24
Figure 11. Effet de la peptone sur <i>Aspergillus niger</i> activité cellulase en utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya <i>et al.</i> , 2008).....	25
Figure 12. Effet de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ au <i>Aspergillus niger</i> activité cellulase en utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya <i>et al.</i> , 2008).....	26
Figure 13. Effet de l'urée sur <i>Aspergillus niger</i> activité cellulase utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya <i>et al.</i> , 2008).....	26
Figure 14. Effet des sources d'azote (Sethi <i>et al.</i> , 2013).....	27
Figure 15. Effet de la source d'azote sur la production d'enzymes par <i>Bacillus subtilis</i> dans la production d'enzymes media contenant des vieux papiers comme source de carbone (Balasaravanan <i>et al.</i> , 2013).....	29
Figure 16. Production de cellulase par <i>B.altitudinis</i> et <i>B. licheniformis</i> dans les milieux additionnés de différentes sources d'azote (Sreeja <i>et al.</i> , 2013).....	29
Figure 17. Effet du pH sur l'activité endoglucanase par <i>Scytalidium thermophilum</i> SKESMBKU01 (Sujatha <i>et al.</i> , 2014).....	30
Figure 18. Effet du pH sur l'activité exoglucanase par <i>Scytalidium thermophilum</i> SKESMBKU01 (Sujatha <i>et al.</i> , 2014).....	30
Figure 19. Effet du pH sur <i>Aspergillus niger</i> activité cellulase utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya <i>et al.</i> , 2008).....	31
Figure 20. Effet du pH sur la production de cellulase par <i>Bacillus thuringiensis</i> (ABS 125A) (Lokhande <i>et Pethe</i> , 2017)	32
Figure 21. Effet de pH sur l'activité cellulase (Sethi <i>et al.</i> , 2013)	32

Figure 22. Effet du pH optimal pour la production de cellulase sur épis de maïs en <i>Alternaria alternata</i> (Ijaz <i>et al.</i> , 2011)	33
Figure 23. Effets du pH sur activité CMCCase (Li <i>et al.</i> , 2020)	33
Figure 24. Effet du pH initial du milieu de croissance sur la production de cellulase par <i>Micrococcus</i> sp. SAMRC-UFH3. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SD de trois répétitions. Graphiques à barres avec différents les lettres montrent une différence significative $p < 0,05$ (Mmango-Kaseke, 2016)	34
Figure 25. Effet de la température sur l'activité de l'endoglucanase par <i>Scytalidium thermophilum</i> SKESMBKU01 (Sujatha <i>et al.</i> , 2014)	35
Figure 26. Effet de la température sur l'activité exoglucanase par <i>Scytalidium thermophilum</i> SK (Sujatha <i>et al.</i> , 2014).....	35
Figure 27. Optimisation de la température pour la production de cellulase 2b. Ont été utilisés pour la production de cellulase (Nandimath <i>et al.</i> , 2016).....	36
Figure 28. Optimisation de la température pour la production de cellulase 38b. Ont été utilisés pour la production de cellulase (Nandimath <i>et al.</i> , 2016).....	36
Figure 29. Effet de la température sur la production de cellulase par <i>Bacillus thuringiensis</i> (ABS 125A) (Lokhande et Pethe, 2017).....	37
Figure 30. Effet de la température sur l'activité cellulase (Sethi <i>et al.</i> , 2013)	38
Figure 31. Effet de diverses températures sur l'activité cellulase de l'isolat <i>B.subtilis</i> TD6 (Andriani et Park, 2010).	38
Figure 32. Effet de la période d'incubation sur la production de cellulase par <i>Bacillus thuringiensis</i> (ABS 125A.) (Lokhande et Pethe, 2017).....	39
Figure 33. Evolution de la production de cellulase par <i>Alternaria alternata</i> au cours du temps (Ijaz <i>et al.</i> , 2011)	40

Liste des abréviations

EC : Enzyme commission.

rpm : Rotation par minute

CMC : Carboxyméthylcellulose

DO : Densité Optique

DNS : Acide 3,5-dinitrosalicylique

FPas : filter paperase

SSF : Solid state fermentation

SmF : Submerged fermentation

Introduction

Introduction

Le choc pétrolier de 1973, la diminution des ressources combustibles fossiles et des produits chimiques de base ont suscité un vif intérêt pour les ressources carbonées naturelles renouvelables. L'un de ces sources la biomasse végétale elle communément appelée lignocellulose est la plus abondante sur terre et est constituée essentiellement de cellulose, d'hémicellulose et de lignine dans des proportions différentes (Chang et Holtzapfel, 2000).

Les enzymes hydrolytiques qui sont des enzymes de type hydrolase peuvent provenir d'animaux, de plantes et de microbes qui ont connu une demande croissante dans plusieurs applications telles que la production de détergents, la transformation dans l'industrie des pâtes et papiers, ainsi que dans les industries textiles, alimentaires et fourragères (Howard *et al.*, 2003).

Parmi ces enzymes, les cellulases sont des systèmes enzymatiques complexes qui hydrolysent les liaisons -1, 4 glycosidiques de la cellulose pour libérer des unités de glucose (Nishida *et al.*, 2007). Les chercheurs s'intéressent fortement à l'optimisation de cellulase en raison de leurs applications dans diverses industries, notamment la transformation de l'amidon, la fermentation alcoolique des grains, la brasserie et le vin, l'extraction de jus de fruits et de légumes (Lokhande et Pethe, 2017).

Il existe deux méthodes pour optimiser la production de cellulase, à savoir la méthode classique et la méthode statistique. La méthode classique consiste à étudier l'effet d'un facteur sur la production tout en maintenant les autres facteurs constants (Shanmughapriya *et al.*, 2010 ; Annamalai *et al.*, 2011 ; Shivanand *et al.*, 2012). D'autres ont suivi une approche statistique consistant en l'étude simultanée de plusieurs facteurs suivie par des calculs par ordinateur (Singh et Kaur, 2012 ; Singh *et al.*, 2014). L'optimisation des conditions de cultures pour une meilleure production de cellulases est nécessaire pour réduire le prix de ces enzymes. Des progrès considérables ont été conçus pour une production élevée de cellulase par optimisation des conditions de fermentation (Islam *et al.*, 2019).

Donc on étudie l'effet de différents paramètres environnementaux sur la production optimale de cellulase : effet source de carbone, effet source d'azote, effet de pH, effet de la température, effet de la période d'incubation.

L'objectif de ce travail est l'étude comparative et synthétique des travaux sur l'optimisation de la production de cellulase à partir de souches bactériennes mésophiles isolées de différentes sources naturelles.

Première partie
Synthèse
bibliographique

Chapitre I
Biomasse
lignocellulosique

1.1. Généralité sur la matière lignocellulosique

La lignocellulose est le principal composant structural des plantes ligneuses et des plantes non ligneuses comme l'herbe et représente une source majeure de matière organique renouvelable. La lignocellulose est constituée de lignine, d'hémicellulose et de cellulose (Figure 1). Les propriétés chimiques des composants de la lignocellulose en font un substrat d'une grande valeur biotechnologique (Malherbe et Cloete, 2003).

La lignocellulose se compose principalement d'hydrates de carbone (cellulose et hémicellulose) et de lignine, ainsi que de petites quantités de protéines, de pectines, d'extractibles et de cendres (Jørgensen *et al.*, 2007 ; He *et al.*, 2016 ; Di *et al.*, 2018). Ces compositions sont différentes d'une espèce à l'autre (Ye et Cheng, 2002). En outre, les composants d'une même matière lignocellulosique de plante varient en fonction de l'âge des plantes, des stades de croissance et d'autres conditions de croissance (Pérez *et al.*, 2002).

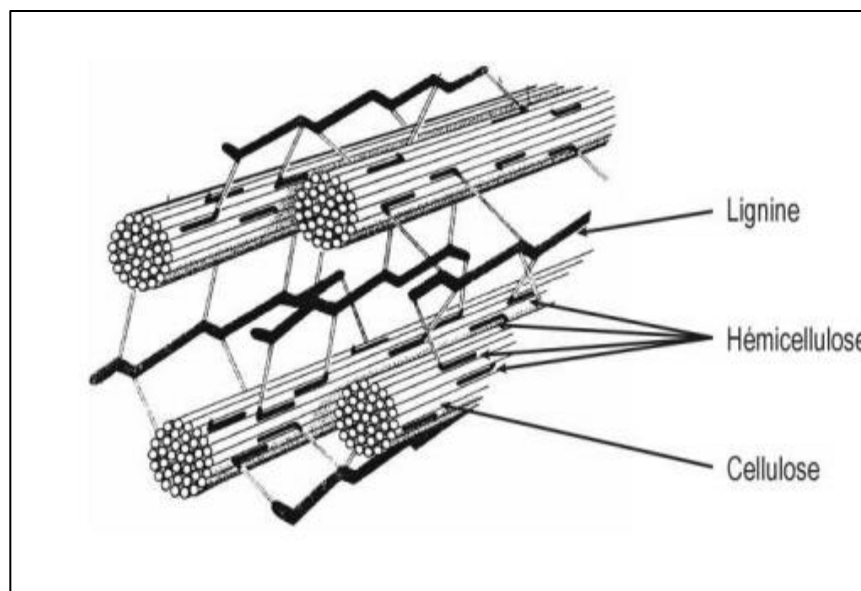


Figure 1. Structure tridimensionnelle de la lignocellulosique (Eloutassi *et al.*, 2014)

1.2. Structure et composition de la biomasse lignocellulosique

1.2.1. Cellulose

La cellulose est la molécule organique la plus abondamment synthétisée sur la terre. C'est un polysaccharide de la série des 1,3-D-glucanes. Elle est formée de plusieurs milliers d'unités de D-anhydro glucose dans la configuration chaise type 4 Cl reliées entre elles par des liaisons 8-4. Le maillon élémentaire est le cellobiose. Compte tenu de la taille du motif unitaire, la longueur de la molécule peut être estimée 10 μm ou plus (Tchunden, 1990).

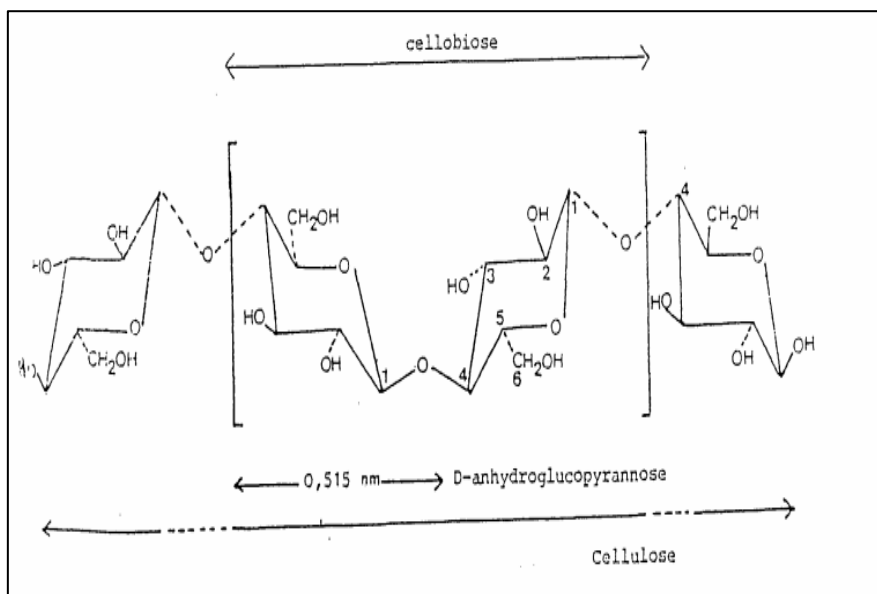


Figure 2. Structure linéaire de la cellulose (Tchunden, 1990)

1.2.2. Hémicelluloses

Ce sont des polymères de polysaccharides ramifiés à basse masse molaire (masse moléculaire moyenne < 30000) Elles sont constituées de sucres en C5 (pentoses) dont les principaux représentants sont les xylanes ou C6 (hexoses) représentés par les glucomannanes. La nature et la proportion des hémicelluloses varient sensiblement entre les espèces, paramètres qui auront un rôle déterminant dans le comportement du bois lors du traitement thermique. Les feuillus contiennent environ 25% de xylanes et 5% de glucomannanes. Les résineux contiennent environ 10% de xylanes et 15 à 20% de glucomannanes (Boutin *et al.*, 2002).

1.2.3. Lignine

Est le terme générique d'un vaste groupe de polymères aromatiques. Elle constitue le seul groupe de polymères bi synthétisés à squelette aromatique. Ces polymères sont déposés principalement dans les parois secondaires des cellules, les rendant rigides et imperméables. La lignine, qui protège les polysaccharides de la paroi cellulaire de la dégradation microbienne en leur conférant une résistance à la pourriture, est par la même occasion un des facteurs limitant les plus importants à la conversion de la biomasse en pâte à papier ou en biocarburants. La lignine est issue de la polymérisation des alcools p-coumarique, coniférylique et sinapylique, qui sont des monolignols, ou 4-hydroxyphénylpropanoïdes, dérivés d'un acide aminé, la phénylalanine. La polymérisation s'effectue par une radicalisation oxydative des monolignols suivie d'un couplage radicalaire combinatoire (Vanholme *et al.*, 2010).

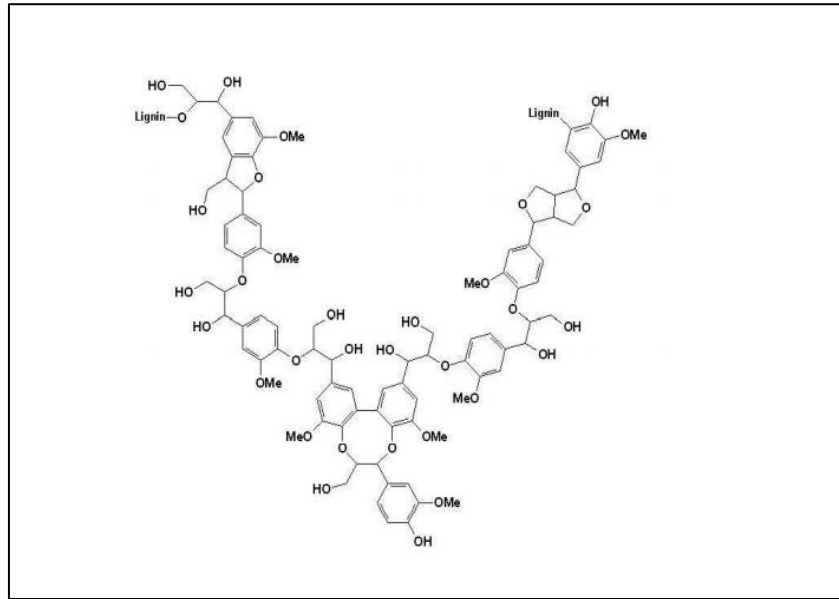


Figure 3. Présentation de structure de la lignine (Paillet, 2013)

Chapitre II

Cellulase

2.1. Définition

Les cellulases [1,4-(1,3 ; 1,4)- β -D-Glucanohydrolase] se rapportent à un groupe d'enzymes agissant ensemble et hydrolysent la cellulose en sucres simples (Korish, 2003).

Elle est l'une des principaux membres de la famille des glycosides hydrolases, qui est un système enzymatique complexe, composé de trois types principaux d'enzymes: Endo β (1-4)-glucanase ou endocellulase (EC 3.2.1.4), Exo β (1-4)- glucanase ou cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91), β (1-4)-glucosidase ou cellobiase (EC 3.2.1.21) (Xu, 2002).

2.2. Nomenclature du cellulase

Nom codifié : E.C.3.2.1.4

Nom systématique : 1,4-(1,3 ; 1,4)- β -D-Glucan 4-glucanohydrolase.

Nom recommandé : Cellulase.

Synonymes : Endoglucanase, Endo-1,4- β -Glucanase, Cellulase carboxyméthylrique, β -1,4-endoglucanhydrolase, Celludextrinase, Avicelase, ect. (Schamburg et Salzmann, 1991).

2.3. Enzyme cellulolytiques

Les micro-organismes ont produit des cellulases extracellulaires, libres ou associées aux cellules, pour hydrolyser et métaboliser la cellulose insoluble. L'analyse biochimique des systèmes cellulases des bactéries aérobies et anaérobies et des champignons a fait l'objet d'une étude approfondie au cours des trois dernières décennies. Les composants suivants des systèmes cellulases ont été classés en fonction de leur mode d'action catalytique (Sadhu et Maiti, 2013).

2.3.1. Endoglucanases ou Endo-1, 4- β -D-Glucan Glucanohydrolases (EC 3.2.1.4)

Les exoglucanases agissent de manière possessive sur les extrémités réductrices ou non réductrices des chaînes polysaccharidiques de la cellulose, libérant soit du glucose (glucanohydrolases) soit du cellobiose (cellobiohydrolase) comme principaux produits. Ces enzymes sont actives contre le substrat cristallin tel que l'avicel, les celluloses amorphes et les cellooligosaccharides. Cependant, elles sont inactives contre le cellobiose ou les celluloses solubles substituées telles que la CMC (Sadhu et Maiti, 2013).

2.3.2. Exoglucanases ou 1, 4- β -D-Glucan Cellobiohydrolases (Cellobiohydrolases) (EC 3.2.1.91)

Les exoglucanases agissent de manière possessive sur les extrémités réductrices ou non réductrices des chaînes polysaccharidiques de la cellulose, libérant soit du glucose

(glucanohydrolases) soit du cellobiose (cellobiohydrolase) comme principaux produits. Ces enzymes sont actives contre le substrat cristallin tel que l'avicel, les celluloses amorphes et les cellooligosaccharides. Cependant, elles sont inactives contre le cellobiose ou les celluloses solubles substituées telles que la CMC (Sadhu et Maiti, 2013).

2.3.3. Exoglucanases ou 1, 4- β -D-Oligoglucan Cellobiohydrolases (également appelées Cellodextrinases) (EC 3.2.1.74)

Il catalyse l'élimination du cellobiose des cellooligosaccharides ou du p-nitrophényl - β -D-cellobioside mais est inactif contre la cellulose amorphe ou la CMC (Sadhu et Maiti, 2013).

2.4. Mécanisme de production de cellulase

Il existe des Paramètres affectant la production de cellulase divers paramètres de croissance tels que la méthode de fermentation, la source de carbone, la source d'azote, le pH, la température d'incubation et la période d'incubation affectent largement les productions enzymatiques, ils doivent donc d'abord être optimisés (Saini *et al.*, 2017).

Production de cellulases par fermentation Dans la technologie enzymatique, l'étape la plus critique est la production d'enzymes, car cette étape détermine le coût global du procédé. Ainsi, l'objectif principal est de se concentrer sur l'étape de production et de rendre le processus économiquement viable. La fermentation est la méthode bien connue utilisée pour la production d'enzymes. Dans cette méthode, les microbes sont utilisés pour la conversion des polymères en leur forme réductrice, c'est-à-dire monomère (Pandiyani *et al.*, 2014). La cellulase peut être produite par fermentations solide ou immergée mais presque toutes les entreprises ont choisi un bouillon ou un milieu liquide est utilisé pour dissoudre tous les nutriments essentiels et la source microbienne utilisée pour la production d'enzyme utilise ces nutriments (Ahmed *et al.*, 2017).

2.5. Applications industrielles de la cellulase

Les différentes applications industrielles des cellulases sont compilées dans le tableau 1.

Tableau 1. Application de cellulase dans une différente industrie (Ramesh *et al.*, 2011)

L'industrie :	Application :
Agriculture	Contrôle des pathogènes et des maladies des plantes; génération de protoplastes végétaux et fongiques; amélioration de la germination des graines et système racinaire amélioré.
Bioconversion	Conversion de matières cellulosiques en éthanol, autres solvants, acides organiques et protéines unicellulaires et lipides; production d'aliments pour animaux riches en énergie.
Détergents	Détergents à base de cellulase; action de nettoyage supérieure sans endommager les fibres; amélioration de la luminosité des couleurs et élimination de la saleté.
Fermentation	Maltage et brassage améliorés; amélioration du pressurage et de l'extraction de la couleur des raisins; arôme amélioré des vins; amélioration de la fermentation primaire et de la qualité de la bière; amélioration de la viscosité et de la filtrabilité du moût.
Aliments	Libération des antioxydants du marc de fruits et légumes; amélioration des rendements en amidon et en protéines extraction; amélioration de la macération, du pressage et de l'extraction de la couleur des fruits et légumes; clarification des fruits jus de fruits.
Pâte et papier	Coadditif dans le blanchiment de la pâte; pâte biomécanique; drainage amélioré; désencrage enzymatique; énergie réduite exigence; besoin de chlore réduit; amélioration de la brillance des fibres.
Textile	Biodégradation de jeans; biopolissage de fibres textiles; amélioration de la qualité des tissus; propriété d'absorbance améliorée de fibres; adoucissement des vêtements.
Autres	Extraction améliorée des caroténoïdes; amélioration de l'oxydation et de la stabilité de la couleur des caroténoïdes; huile d'olive améliorée extraction; amélioration du pétrissage de la pâte d'olive.

Chapitre III

**Optimisation de la
production de cellulase**

3.1. Optimisation de la production de cellulases

La croissance et production des enzymes par les microorganismes sont influencés par plusieurs facteurs environnementaux tels le pH, la température, la source de carbone et la source d'azote, l'oxygène....etc. par conséquent, une étude systématique des conditions optimales qui favorisent une meilleure production de cellulases est nécessaire afin d'envisager la production rentable de ces enzymes à l'échelle industrielle.

3.1.1. Effet du pH

Le pH est un des paramètres physico-chimiques qui influence la production des enzymes. La variation du pH affecte la stabilité et la solubilité des enzymes. À des pH extrêmes il y a un excès de charge de même signe, de plus des interactions électrostatiques et les liaisons qui jouent un rôle clé dans la stabilisation de la structure tridimensionnelle des enzymes sont rompues. La dénaturation induite par le pH est un processus plus réversible que l'enzyme est exposée à des pH extrêmes. La valeur de pH optimale est très variable d'une famille d'enzyme à une autre (site web 1).

3.1.2. Effet de la température

La température est un paramètre très important pour la production d'enzyme. L'activité de plus part des enzymes est optimale entre 15°C et 45°. La vitesse de réaction chimique non catalysée est augmentée de manière exponentielle avec la température. Selon le modèle classique l'activité enzymatique augmente jusqu'à la température optimale pour l'enzyme considérée puis diminue à cause de la dénaturation irréversible d'enzyme (site web 1).

3.1.3. Effet de la période d'incubation

Il est défini comme le temps mis par le micro-organisme pour synthétiser l'enzyme utilisant les nutriments du milieu de production. Cela dépend également du type de fermentation et du microorganisme utilisé pour la production. SSF prend plus de temps par rapport à SmF et de même, les bactéries nécessitent moins de temps pour la culture par rapport aux sources fongiques. L'activité de l'enzyme cesse après avoir atteint la période optimale, cela peut être dû à l'épuisement des nutriments dans le milieu de fermentation (Ahmed *et al.*, 2018). On a rapporté 192 h et 168 h pour SSF et SmF respectivement, en utilisant *Myceliophthora heterothallica* contenant du son de blé ou de la canne à sucre Source de carbone.

3.1.4. Effet de la source de carbone

La source de carbone est la principale condition préalable à la production d'enzymes et toute la production d'enzymes en dépend (Saini *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2017). Divers agro

déchets comme le son de blé, le son de riz, la tige de maïs, la paille de blé et de riz, le coton tiges, épis de maïs et baggase de canne à sucre, sont couramment utilisés comme source de carbone (Prasanna *et al.*, 2016). Ont rapporté une activité cellulase maximale de *Penicillium* sp. En utilisant des sources de carbone telles que le sorbose, le maltose, le saccharose, lactose, dextrose, galactose, cellobiose et CMC (Zhang *et al.*, 2017).

3.1.5. Effet de la Source d'azote

Le deuxième constituant principal du milieu de fermentation est la source d'azote car ils induisent la synthèse des protéines, qui est essentielle pour l'extracellulaire production d'enzymes. Peptone, levure, tryptone, sulfate d'ammonium, le chlorure d'ammonium, l'hydrogénophosphate d'ammonium est les composés organiques et sources inorganiques d'azote (Ahmed *et al.*, 2018).

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériel et méthodes

4.1. Matériel biologique

Quinze sources ont fait l'objet de sources d'isolement de bactéries productrices de cellulases, dont le lieu et le milieu de culture utilisés pour l'isolement sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 2. Microorganismes cellulolytiques.

Microorganismes	Nom	Source	Lieu	Milieu d'isolement	Référence
Bactérie	<i>Pseudomonas florescens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>E. coli</i> , and <i>Serratia marcescens</i> .	Sol	Différent villages de saline belt de Akola et Buldhana District, Maharashtra India.	Méthode de plaque dilution. Isolement de bactérie cellulitique, Milieu (1.0 % peptone, 1.0 % (CMC), 0.2 % K_2HPO_4 , 1 % agar, 0.03 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.25 % $(NH_4)_2SO_4$ et pH 7.0) incubation 48 h 30°C.	(Lokhande et Pethe, 2017)
Bactérie	<i>Bacillus</i> sp	Matières fécales	Zoo d'Alipore, Kolkata,	Milieu gélos d'omealiansky $(NH_4)_2SO_4$ 1,0 K_2HPO_4 1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5; Nacl 0,1; Carboxy Méthylcellulose 1%, PH 7,0 par dilution de l'échantillon homogénéisé suivi d'une incubation à 37°C 4 Jours.	(Sadhu <i>et al.</i> , 2013)
Bactérie	<i>Micrococcus</i> Species	Biomasse végétale	Le village de Melani dans le Cap oriental	Les échantillons ont été collectés de manière aseptique et placés dans des conteneurs stérilisés et plus tard transporté	(Mmango-Kaseke <i>et al.</i> , 2016)

			Province du Sud d'Afrique.	sur des blocs de glace au laboratoire pour le traitement.	
Bactérie	<i>Bacillus velezensis</i>	Fumier frais	Ville de Suihua, province du Heilongjiang, Chine.	Échantillons ont été collectés dans un environnement aseptique de 50 millilitres de tubes visserment de six truies multipares (151,2 à 4,5 kg). Ils sont placés dans la glacière et transportés au laboratoire dans les 3 h.	(Li <i>et al.</i> , 2020)
Bactérie	<i>Aspergillus niger</i>	Sol		En utilisant de la gélose CMC. La culture a été maintenue sur PDA incliné à 4°C et sous-cultivée sur un PDA stérile frais incliné et incubé pendant 72 à 120 h.	(Acharya <i>et al.</i> , 2008)
Bactérie		L'intestin des termites	Chhattisgarh, Inde	Les colonies pures des isolats ont été maintenues en pente NAM à 16 ° C pour des études ultérieures.	(Shinde <i>et al.</i> , 2017)
Bactérie	Trois souches, NASCB-5, NASCB-8 et NASCB-12	Biomasse végétale épis de maïs	Village de Melani dans le Cap oriental Province du Sud	Les échantillons ont été collectés de manière aseptique et placés dans des conteneurs stérilisés et plus tard transportés sur des blocs de glace au laboratoire pour le	(Balasaravanan <i>et al.</i> , 2013)

			d'Afrique	traitement.	
Bactérie	<i>Pseudomonas florescens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>E. coli</i> , et <i>Serratia marcescens</i> .	Sol		Les bactéries ont été isolées des sols par la plaque de dilution ou méthode de plaque étalée utilisant des milieux de gélose CMC. Les assiettes ont été incubées à 45, 50 et 55°C pendant 24 heures.	(Sethi <i>et al.</i> , 2013)
Bactérie	<i>Pseudomonas</i> sp	Sole du jardin	Aurangabad, Ms, india	Le milieu CMC a été utilisé pour l'enrichissement et isolement des micro-organismes.	(Nandimath <i>et al.</i> , 2016)
Bactérie	<i>Bacillus licheniformis</i> MVS1 <i>Bacillus</i> sp. MVS3	L'eau	Birbhum du Bengale occidental, en Inde.	milieu liquid basique 20 l; (NH ₄) ₂ SO ₄ 1,0 g / l; MgSO ₄ 1,0 g / l; FeSO ₄ , 10,0 mg / l; Na ₂ CO ₃ 1,0 g / l; levure, 1,0 g / l supplémenté avec carboxyméthylcellulose à un échantillon d'eau mélangé et incubé.	(Acharya <i>et al.</i> , 2012)
Bactérie	<i>Bacillus altitudinis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	Intestin poisson Etroplus suratensis.	Chhattisgarh, Inde	Intestin du poisson a été prélevé de manière aseptique et homogénéiser dans eau salin le suspension a diluée en série et à partir d'une diluions 10 ⁻⁴ 0,4 ml d'échantillon a été plaqué sur plaque	(Sreeja <i>et al.</i> , 2013)

				d'agar CMC et incuber à 37° 24-48 h.	
Bactérie	Souche bactérienne	Zone industrielle et agriculture	Kerala.	Échantillon est collecter dans un conteneur stérile stoker à 4°C Jusque a moment utilisation et poser direct dans plaque d'agar CMC.	(Vimal <i>et al.</i> , 2016)
Bactérie	<i>Bacillus subtilis</i> TD6	Muscle et intestin Poisson Takifugu rubripes	Korea	Milieu de culture continent 10 g de CMC, 4gde K ₂ HPO ₄ , 4 g de Na ₂ HPO ₄ . 2H ₂ O, 0.2 g de MgSO ₄ .7H ₂ O, 0.001g de CaCl ₂ , 0.004 g de FeSO ₄ . 7H ₂ O 7, 2 g de crypton dans 1l de l'eau distiller pH =7.	(Andriani et Park, 2010)
Souche fongique	<i>Alternaria alternata</i>		Gujranwala, Pakistan	La souche était obtenue à partir des cultures de stock de la banque fongique d'institut de phytopathologie et de mycologie, Punjab Université, Lahore.	(Ijaz <i>et al.</i> , 2011)
Des champignons	Souche <i>Scytalidium thermophilum</i> SKESMBKU 01	Différent habitat thermogéniques	Warangal, Andhra Pradesh, Inde	Échantillons dilués en série versés sur milieu gélose levure-amidon gélose au glucose à l'extrait de levure et incubé à 45 °.	(Sujatha <i>et al.</i> , 2014)

4.2. Méthodologie

4.2.1. Optimisation de production de cellulase

Ce travail se propose d'optimiser la production de cellulase à partir des souches isolées de différentes sources. Elle consiste à déterminer les meilleures conditions de culture pour meilleure production de cellulase, donc on va étudier quelques paramètres qui influencent sur la production d'enzymes tels la composition du milieu de culture en sources de carbone et d'azote, le pH, température, l'effet de la période d'incubation.

4.2.1.1. Optimisation des sources de carbone

Dans l'une de ces études, l'optimisation de la production de cellulase a été étudiée dans différentes sources de carbone (Glucose, Xylose, Cellulose, Amidon, CMC, Saccharose, Maltose, Fructose et Lactose) à une concentration de 1% (p/v) (Sujatha *et al.*, 2014).

Dans une autre étude, l'effet de divers composés de carbone, à savoir, cellulose, CMC, dextrose, lactose, saccharose, ont été utilisés pour étudier. Le bouillon a été distribué dans différents flacons et 0,5 à 2,5% de chaque source de carbone étaient puis ajoutés avant l'inoculation de la souche et après inoculation de culture, les flacons ont été incubés pendant 5 jours à 40°C (Lokhande et Pethe, 2017).

Dans un autre travail, l'effet de diverses sources de carbone comme l'amidon, le glucose, le maltose, le lactose et le fructose à la concentration de 1 à 5% a été examinée dans la production moyenne (Sethi *et al.*, 2013).

Pour identifier la source de carbone appropriée pour la production de cellulase par les organismes d'essai, le carbone suivant les sources ont été testées. Le support de production contenant la Carboxyméthyl cellulose agit comme une source de carbone, cette CMC était remplacé par l'ajout de glucose, de saccharose, de fructose, de maltose, de cellulose perdue, lactose, mannitol et sorbitol. Ces sources de carbone ont été testées individuellement à la concentration de 1% avec des substrats (Sreeja *et al.*, 2013).

4.2.1.2. Optimisation de Source d'azote

Dans l'étude de Sujatha *et al.*, (2014), les sources d'azote telles que la peptone, l'extrait de levure, l'extrait de malt, le bœuf extrait, urée. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , KNO_3 , NH_4Cl ont été ajoutés à une concentration de 0,2% au milieu de fermentation Mandel et Weber. Tous les flacons ont été incubés à $45^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ dans un orbital agitateur incubateur à 100 rpm, à intervalles réguliers, un dosage enzymatique a été effectué.

Pour l'optimisation dans l'étude de Acharya *et al.*, (2008), les différentes sources d'azote utilisées étaient la peptone, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et urée. Toutes ces sources ont été utilisées dans

différente concentration. La peptone a été utilisée dans la plage de 0,05, 0,075, 0,1, 0,125 et 0,15%. Le $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a été utilisé dans la plage de 0,1, 0,12, 0,14, 0,16 et 0,18%. Alors que l'urée a été utilisée dans une plage de 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 et 0,05% dans la sciure de bois contenant de la fermentation médium. Tous les flacons ont été incubés à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ dans un agitateur orbital à 120 tr / min, à intervalles réguliers.

Des sources d'azote pour la sécrétion de cellulose, sources d'azote sont testées dans Omeliansky's moyen pour améliorer le milieu (Sadhu *et al.*, 2013).

Diverses sources d'azote comme la levure l'extrait, la peptone, l'urée et le sulfate d'ammonium ont été examinés pour leur effet sur la production d'enzymes en remplaçant 0,5% peptone dans le milieu de production (Sethi *et al.*, 2013).

Approprié source de production de cellulase par les isolats, le milieu de fermentation a été complété par deux inorganique (sulfate d'ammonium et sodium nitrate) et deux bio (extrait de levure et bœuf extrait) composés azotés à 0,2%, substituant ainsi la source d'azote prescrite du milieu de fermentation (Acharya et Chaudhary, 2012).

La source d'azote appropriée pour la production de cellulase par l'isolat, le milieu de fermentation a été complété avec de l'extrait de levure, de la peptone, de la glycine et les composés azotés d'extrait de malt à 0,5%, remplaçant ainsi la source d'azote prescrite du milieu de fermentation (Balasaravanan *et al.*, 2013).

Production de cellulase en utilisant différents sources azotes a également été analysée en changeant la source d'azote (NH_4NO_3 et Proteose peptone) de la production d'enzymes moyen. Les sources d'azote utilisées étaient: le nitrate de sodium, chlorure d'ammonium, hydrogénocarbonate d'ammonium, sulfate d'ammonium, nitrate de potassium, extrait de levure, soja, extrait de bœuf, NH_4NO_3 , peptone protéique et lait écrémé. Ils ont été incorporés individuellement dans le support de production à la concentration de 0,5% (Sreeja *et al.*, 2013).

4.2.1.3. Effet du pH

L'effet du pH sur la production d'enzymes a été étudié à différentes gammes de pH allant de 3,0 à 10,0 de milieu de production. Le pH du milieu a été ajusté en utilisant HCl 1N ou NaOH 1N. Après inoculation avec *Scytalidium thermophilum* les flacons ont été conservés dans un incubateur agitateur orbital à 45°C à 100 tr/min. Après 3 jours de croissance, le filtrat de culture a été récolté et dialysé contre eau pendant la nuit. Le filtrat concentré a été utilisé comme source d'enzyme (Sujatha *et al.*, 2014).

L'optimisation a été réalisée en ajustant les gammes de pH de 4,0, 4,5, 5,0, 5,5 et 6,0 de la sciure contenant des milieux de fermentation. Le pH du milieu a été ajusté en utilisant HCl 1N ou 1N NaOH. Après inoculation avec 10 disques d'*A. niger* de 8 mm. Les flacons ont été conservés dans un agitateur-incubateur orbital à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ à 120 tr / min (Acharya *et al.*, 2008).

Pour déterminer le pH optimal, *Bacillus thuringiensis* a été cultivé dans un flacon de 150 ml contenant 50 ml milieu optimisé avec différentes plages de pH de 3,0 à 8,0. Le pH du milieu a été ajusté en utilisant 1N HCl ou NaOH 1N. Les flacons ont été maintenus en stade stationnaire à 37°C pendant culture de 5 jours (Lokhande et Pethe, 2017).

Des flacons contenant du bouillon contenant la concentration optimale du substrat et de la source de carbone sont prélevés et le pH du bouillon est ajusté à 7,0, 8,0, 9,0, 10,0 et 11,0 dans différents flacons utilisant 1N HCl et 1N NaOH et stérilisés. Les cultures sontensemencées et incubées à température particulière. À la fin de la période d'incubation, la culture acellulaire le filtrat est obtenue et utilisé comme source d'enzyme (Sethi *et al.*, 2013).

Le pH a été optimisé de 3,0 à 9,0 (50 mM) pour sélectionner pH optimal auquel *A. alternata* présenterait l'activité hyper cellulase a été sélectionnée (Ijaz *et al.*, 2011).

Le flacon erlenmeyer de 250 ml a été utilisé dans toutes les cultures microbiennes. Différentes valeurs de pH initial (4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5 ou 7,0) de LB-CMC milieux ont été sélectionnées pour optimiser la valeur du pH pour le rendement élevé de production de cellulase (Li *et al.*, 2020).

L'effet du pH initial du milieu de croissance sur la production de cellulase a été examiné par faire varier le pH de 3 à 11. Le pH a été ajusté en utilisant HCl 1M ou NaOH avant l'autoclavage (Mmango-Kaseke *et al.*, 2016).

4.2.1.4. Effet de la température

L'effet de la température sur la production d'enzymes a été réalisé en incubant le *Scytalidium thermophilum* à différentes températures 45, 50, 55°C en incubateur agitateur orbital à 100 rpm pour trois jours d'incubation. Après des intervalles réguliers (Sujatha *et al.*, 2014).

Le milieu de production à pH 5 a été inoculé avec souche bactérienne. Le bouillon a été incubé à différentes températures de 25, 30, 35 et 40°C pendant 24 h. A la fin de la période d'incubation, le surnageant de culture cellulaire a été utilisé comme source d'enzyme (Nandimath *et al.*, 2016).

Afin de déterminer la température effective pour production de cellulase par *Bacillus thuringiensis* la fermentation a été effectuée à des intervalles de 10°C dans la plage de 20 à 80°C (Lokhande et Pethe, 2017).

L'optimisation de la température a été réalisée en incubant la scie poussières contenant du milieu de fermentation à 23, 28 et 37°C, dans un incubateur à agitateur orbital à 120 tr / min. Après intervalles réguliers (Acharya *et al.*, 2008).

Pour déterminer la température optimale pour la production de cellulase, la fermentation a été effectuée à diverses températures comprises entre 30, 35, 40 et 45°C (Vimal *et al.*, 2016).

Le milieu de production à pH 7 a été inoculé avec une souche bactérienne sélectionnée cultivée pendant une nuit. Le bouillon a été incubé à différentes températures de 35, 40, 45, 50, 55 et 60°C pendant 24 h. À la fin de la période d'incubation, le filtrat de culture cellulaire est obtenu et utilisé comme source enzyme (Sethi *et al.*, 2013).

Des flacons en double inoculés avec *A. alternata* ont été gardé à 25, 30, 35 et 40°C, respectivement à déterminer la température optimale à laquelle le dit exprimerait une activité cellulase élevée était de sélectionner (Ijaz *et al.*, 2011).

Effet de la température d'incubation pour meilleur production de cellulase est (25, 30, 37, 45 et 50°C) (Andriani et Park, 2010).

4.2.1.5. Effet de la période d'incubation sur la production d'enzyme

La période de fermentation était un paramètre important pour production d'enzymes par *Bacillus thuringiensis*. Dans cet Étude, une expérience de fermentation a été menée jusqu'à 7 jours et le taux de production a été mesuré à 24 h intervalle (Lokhande et Pethe, 2017).

Pour obtenir une production maximale de cellulase, la fermentation a été réalisée à différentes périodes d'incubation allant de 48, 72, 96 et 120 heures (Vimal *et al.*, 2016).

Dupliquer des flacons erlenmeyer à l'aide d'épis de maïs cultivés avec *A. alternata* ont été incubées à température 30°C pendant une période de 1 à 7 jours pour sélectionner la période d'incubation optimale d'*A. alternata* pour la production de cellulases. La croissance a été évaluée toutes les 24 heures et la meilleure période d'incubation à quelle contrainte employée donnerait le maximum l'activité cellulase a été sélectionnée (Ijaz *et al.*, 2011).

Pour déterminer temps d'incubation cultures bactériennes poussant dans un bouillon nutritif ont été retirés aux différents intervalles de temps et l'activité enzymatique a été déterminée (Shinde *et al.*, 2017).

4.2.2. Mesure de l'activité enzymatique

Généralement la mesure de l'activité enzymatique est baser sur le principe suivant: utilisation de substrat carboxyméthylcellulose avec un tampon plus d'enzyme filtrat ensuit en passe à l'étape d'incubation dans les quelle le mélange réactionnelle est incubé en température spécifique. La réaction enzymatique a été arrêtée en ajoutant de réactif DNS, acide 3,5-dinitrosalicylique et bouillie vigoureusement dans un bain d'eau bouillante. En fin en vas lire l'absorbance (Sadhu *et al.*, 2013 ; Sujatha *et al.*, 2014 ; Lokhande et Pethe, 2017).

L'activité cellulase a été mesurée selon la méthode de Miller Un mélange réactionnel composé de 0,2 ml de solution enzymatique brute plus 1,8 ml de carboxyméthyl cellulose à 0,5 % dans du tampon phosphate de sodium 50 mM (pH 7) a été incubé à 37°C dans un bain-marie agité pendant 30 min. La réaction a été interrompue en ajoutant 3 ml de réactif DNS. La couleur a ensuite été développée en faisant bouillir le mélange pendant 5 min. La DO des échantillons a été mesuré à 575 nm par rapport à un blanc contenant tous les réactifs moins le brut enzymatique (Sethi *et al.*, 2013).

4.2.3. Détermination des protéines

Pour la détermination des protéines, le kit de dosage des protéines SMARTTM Acide bicinchoninique (BCA) pour le dosage standard a été utilisé le produit de réaction de couleur violette de ce dosage est formé par la chélation de deux complexes hydrosolubles présentant une forte absorbance à 562 nm (Andriani et Park, 2010).

Les concentrations de protéines dans un échantillon brut ont été déterminées en utilisant une méthode de Folin Lowry avec de l'albumine sérique bovine (BSA) comme standard (Balasarayanan *et al.*, 2013 ; Sadhu *et al.*, 2013 ; Vimal *et al.*, 2016).

Chapitre V

Résultats et discussion

5.1. Résultats

5.1.1. Effet des sources de carbone

Neuf sources de carbone différentes ont été choisies pour élucider la meilleure d'entre elles qui convient à une production maximale de cellulases. La production maximale d'endo et d'exoglucanases a été atteinte dans le glucose (0,897 U/ml⁻¹) suivi du xylose (0,735 U/ml⁻¹) et lactose (0,540 U/ml⁻¹) par *Scytalidium thermophile* SKESMBKU01 (Tab. 3) (Sujatha *et al.*, 2014).

Tableau 3. Optimisation des sources de carbone (Sujatha *et al.*, 2014).

Nom de champignons thermophiles	Carbone sources	Activité endoglucanase/ U/ml ⁻¹				Activité exoglucanase/ U/ml ⁻¹			
		Période d'incubation (jours)				Période d'incubation (jours)			
		3rd	6e	9e	12e	3rd	6e	9e	12e
<i>Scytalidium thermophile</i> SKESMBKU01	Glucose	0,897	0,366	0,340	0,300	0,203	0,143	0,106	0,017
	Xylose	0,735	0,436	0,418	0,152	0,045	0,078	0,164	0,014
	Cellulose	0,012	0,066	0,012	0,006	0,014	ND	ND	ND
	Amidon	0,067	0,311	0,077	0,062	0,014	0,036	0,027	ND
	CMC	0,007	0,022	0,116	0,048	0,007	0,016	0,020	0,013
	Saccharose	ND	0,003	0,005	ND	0,014	0,008	0,007	ND
	Maltose	ND	0,118	0,270	0,390	0,007	0,037	0,134	0,014
	Fructose	0,029	0,059	0,222	0,077	0,029	0,060	0,149	0,055
	Lactose	0,540	0,699	0,418	0,070	0,029	0,051	0,048	0,016

Remarque : ND = aucune activité enzymatique n'a été détectée.

Sources de carbone testées pour la production d'enzyme cellulase par *B.thuringiensis* étaient la cellulose, la carboxyméthylcellulose, le dextrose, le lactose et le saccharose allant de 0,5 à 2,5% (p/v). Les CMC se sont avérées être les meilleures sources de carbone pour la production d'enzymes par *B.thuringiensis* comme indiqué dans le tableau 4 (Lokhande et Pethe, 2017).

Cependant, le maximum de production d'exoglucanase (2,11 UI/ml), l'endoglucanase (2,02 UI/ml) et la glucosidase, (2,08 UI/ml) ont été obtenus dans une culture contenant 1,0% de carboxyméthyl cellulose. Parmi les différentes sources de carbone utilisées, la CMC était la deuxième meilleure source de carbone (1,0%) pour la production de cellulase par *B.thuringiensis* suivis du dextrose, de la cellulose, du lactose et du saccharose (Tab.4). La production de cellulase a augmenté avec des augmentations de la concentration initiale en sucre de 1,0 à 1,5%, tandis que des augmentations supplémentaires de la concentration en sucre ont légèrement réduit le rendement. L'utilisation de la CMC comme source de carbone est la meilleure pour la production de cellulase, comme indiqué par Das *et al.*, (2010) (Lokhande et Pethe, 2017).

Tableau 4. Effet de carbone source sur la production de cellulase par *Bacillus thuringiensis* (ABS 125A) (Lokhande et Pethe, 2017)

Conc. %		0,5	1,0	1,5	2	2,5
Cellulose	1	0,61	1,91	1,50	0,89	0,55
	2	0,49	1,90	1,41	0,86	0,45
	3	0,41	1,85	1,39	0,81	0,49
Carboxyméthyle Cellulose	1	0,71	2,11	1,81	0,99	0,70
	2	0,69	2,02	1,71	0,97	0,62
	3	0,67	2,08	1,76	0,81	0,66
Dextrose	1	0,72	1,97	1,61	1,25	0,86
	2	0,68	1,89	1,56	1,11	0,71
	3	0,63	1,90	1,45	1,18	0,69
Lactose	1	0,41	1,83	1,51	1,11	0,71
	2	0,35	1,71	1,45	1,02	0,69
	3	0,34	1,63	1,46	1,09	0,65
Saccharose	1	0,55	1,51	1,21	0,88	0,51
	2	0,41	1,40	1,22	0,86	0,43
	3	0,40	1,49	1,22	0,76	0,42

1) Exoglucanase, 2) Endoglucanase, 3) β -glucosidase

Diverses sources de carbone telles que l'amidon, le fructose, le maltose et le saccharose ont été utilisées pour remplacer le glucose, les résultats obtenus ont montré que le glucose apportait la production de cellulase la plus élevée par rapport aux autres sources de carbone à 24 h d'incubation. Le lactose et le fructose ont également montré une production élevée de cellulase à 24 h d'incubation. Par conséquent, le glucose s'est avéré être la meilleure source pour la production de cellulase (figure 4). On a déduit aussi que la xylose n'est pas bien métabolisée par les souches bactériennes qui présentaient une production élevée de cellulose dans un milieu de glucose, alors que le saccharose, le glucose et le mannitol se sont avérés appropriés pour des niveaux optimaux de production de cellulase (Sethi et *al.*, 2013).

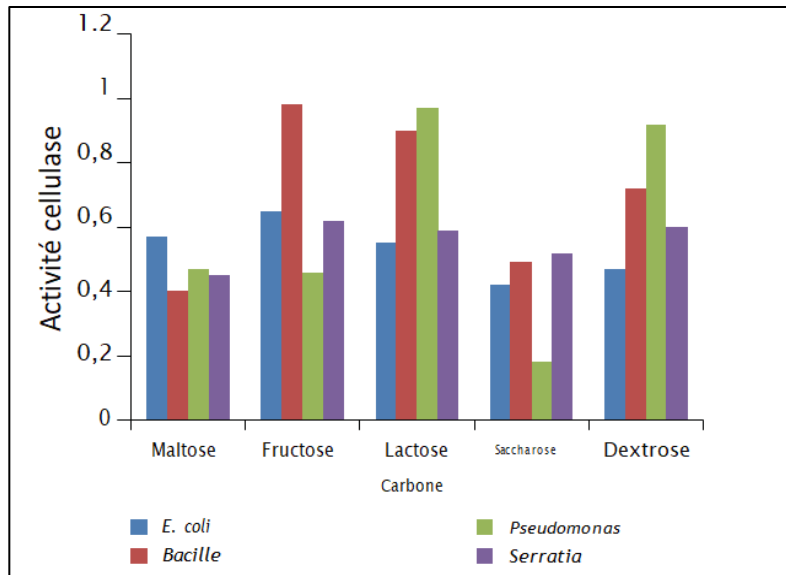


Figure 4. Effet de sources de carbone (Sethi *et al.*, 2013)

Des concentrations importantes de sources de carbone ont été utilisées pour remplacer 1% de sucre qui était la concentration d'origine dans les milieux de croissance avec 2 à 5%. Les résultats obtenus ont montré que 5% de source de carbone apportaient la production de cellulase la plus élevée par rapport aux autres % de sources de carbone à 24 h d'incubation (figures 5, 6, 7, et 8 et 9) (Sethi *et al.*, 2013).

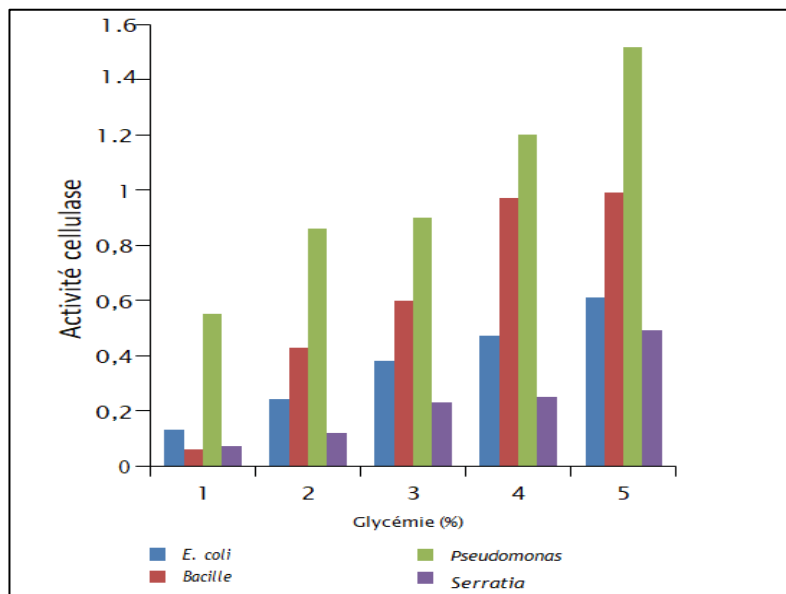


Figure 5. Effet du glucose (Sethi *et al.*, 2013)

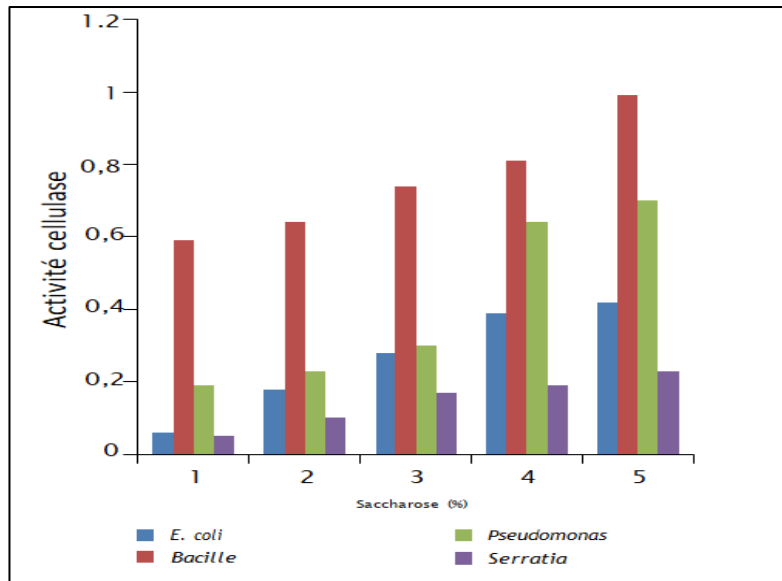


Figure 6. Effet du lactose (Sethi *et al.*, 2013)

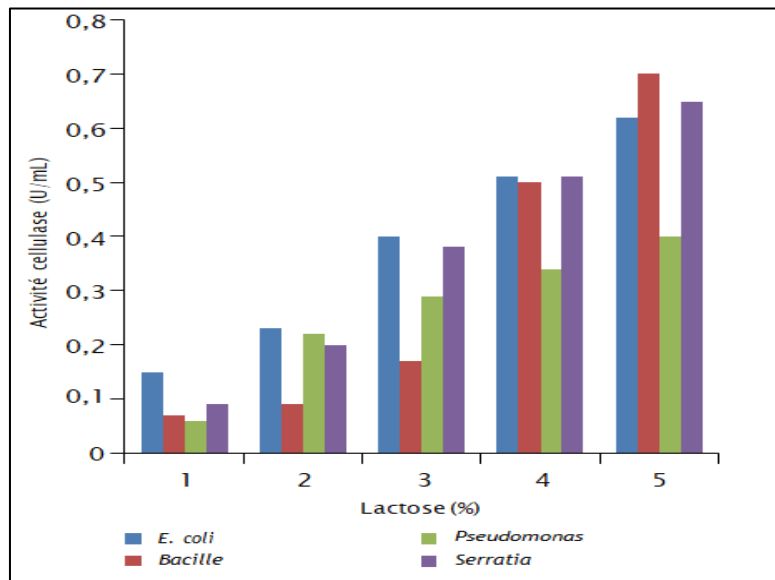


Figure 7. Effet du saccharose (Sethi *et al.*, 2013)

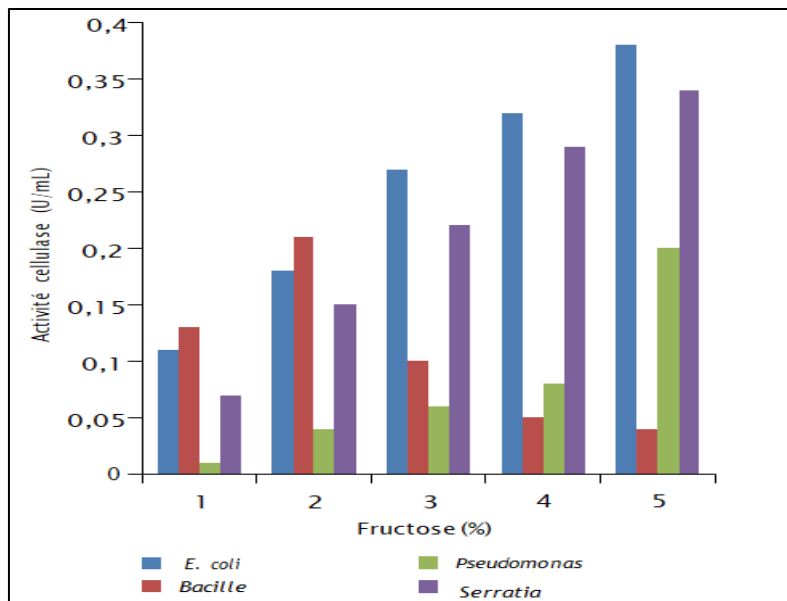


Figure 8. Effet du fructose (Sethi *et al.*, 2013)

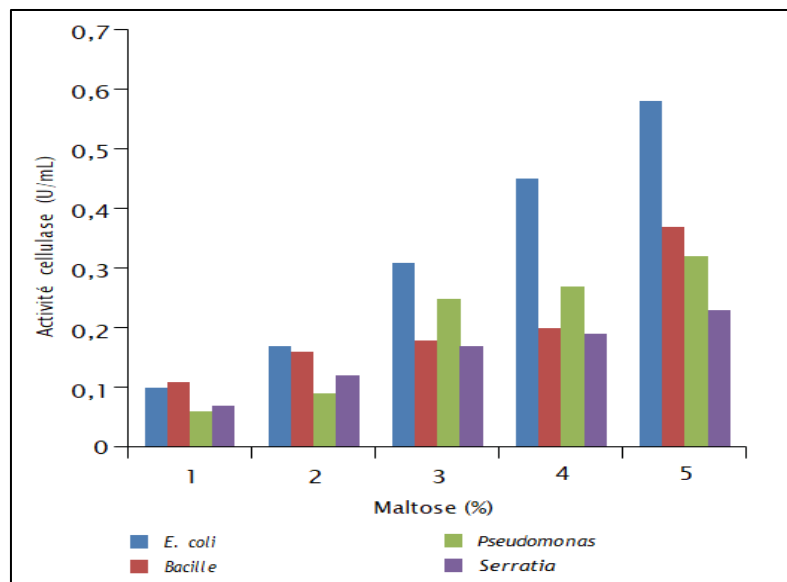


Figure 9. Effet du maltose (Sethi *et al.*, 2013)

Les sources de carbone telles que le glucose, le saccharose, le fructose, maltose, cellulose, lactose, mannitol et sorbitol ont été incorporés individuellement dans le milieu à raison de 1% et les bactéries ont été cultivées individuellement pendant 48h. La bactérie, *B. altitudinis* APS MSU a produit la quantité la plus élevée ($5,48 \pm 0,25$ U/ml) de cellulase dans le milieu additionné de fructose, alors que la quantité la plus faible ($0,96 \pm 0,21$ U/ml) de production d'enzyme a été enregistrée dans le milieu alimenté en maltose. La capacité de production de cellulase par *B. licheniformis* APS2 MSU était plus ($2,71 \pm 0,18$ U/ml) chez CMC, mais c'était moins au fructose ($0,30 \pm 0,05$ U/ml) (Figure 10) (Sreeja *et al.*, 2013).

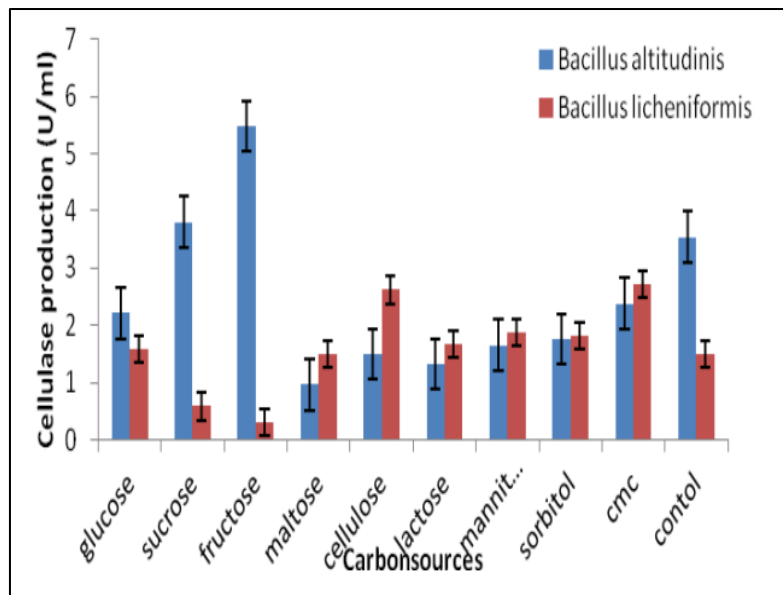


Figure 10. Production de cellulase par *B. altitudinis* et *B. licheniformis* dans les médias complétés par différentes sources de carbone (Sreeja *et al.*, 2013)

5.1.2. Optimisation des sources d'azote

Les sources d'azote qui ont soutenu la croissance et la production d'enzymes par *Scytalidium thermophilum* SKESMBKU01 ont été étudiés (Tab. 5). Les résultats ont révélé que KNO_3 ($0,366 \text{ U/ml}^{-1}$) était la source d'azote appropriée qui a exercé l'endoglucanase la plus élevée suivie par NH_4Cl ($0,27 \text{ U/ml}$) (Sujatha *et al.*, 2014).

Optimisation de la source d'azote et de sa concentration la $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et l'urée ont été utilisées pour une production d'enzymes maximale. Comme le montrent les figures 11, 12 et 13, après 96 h, 0,1196, 0,15281 et 0,1528 UI/ml d'activités cellulase étaient obtenues à l'aide de peptone, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, l'urée, respectivement. À 0,125% de concentration de peptone, maximum de cellulase ($0,1196 \text{ UI/ml}$) a été observée. À 0,03% d'urée, peptone et NaNO_3 utilisé comme source d'azote, l'activité de la cellulase obtenue était de 0,824, 0,421 et 0,401 UI/ml (Acharya *et al.*, 2008).

Tableau 5. Optimisation des sources d'azote pour la production d'enzymes par *Scytalidium thermophilum* souche SKESMBKU01 (Sujatha *et al.*, 2014)

Nom de champignons thermophiles	Sources d'azote	Activité endoglucanase / U/ml ⁻¹				Activité exoglucanase / U/ml ⁻¹			
		Période d'incubation (jours)				Période d'incubation (jours)			
		3rd	6e	9e	12e	3rd	6e	9e	12e
<i>Scytalidium thermophile</i> SKESMBKU01	Peptone	ND	0,214	0,222	0,088	ND	0,053	0,044	0,007
	Extrait de levure	0,059	0,211	0,179	0,003	0,019	0,058	0,055	0,004
	Extrait de malt	ND	ND	ND	0,179	0,056	0,019	0,016	0,007
	Extrait de boeuf	ND	0,168	0,168	0,118	0,007	0,040	0,038	0,010
	Urée	ND	0,233	0,214	0,220	ND	0,053	0,055	0,103
	(NH ₄) ₂ SO ₄	ND	0,185	0,196	0,222	ND	0,007	0,007	0,038
	NaNO ₃	0,011	0,240	0,222	ND	ND	0,007	0,007	0,053
	KNO ₃	0,035	0,240	0,281	0,366	ND	0,025	0,029	0,007
	NH ₄ Cl	0,118	0,270	0,240	0,118	ND	0,048	0,049	0,072

Remarque : ND = aucune activité enzymatique n'a été détectée

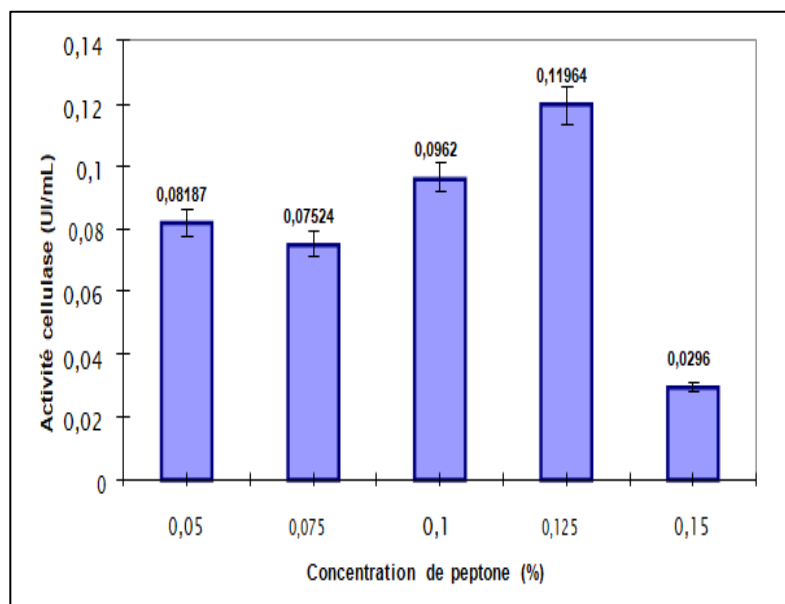


Figure 11. Effet de la peptone sur *Aspergillus niger* activité cellulase en utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya *et al.*, 2008)

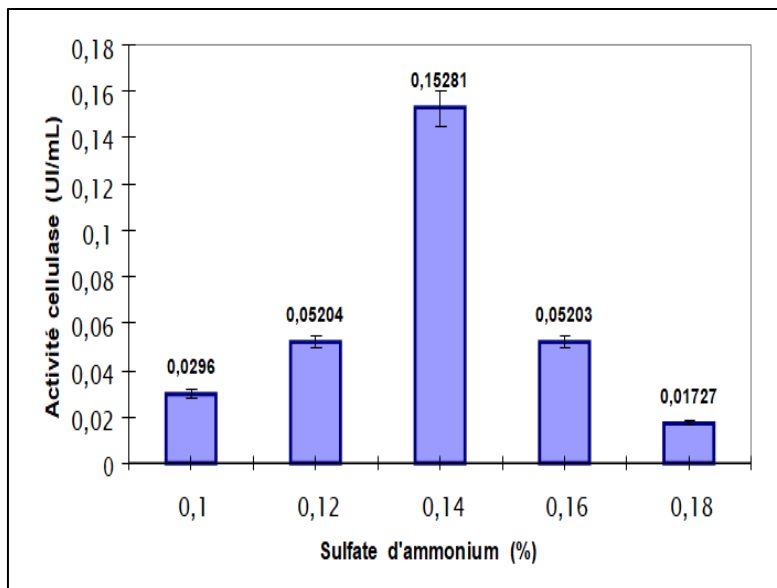


Figure 12. Effet de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ au *Aspergillus niger* activité cellulase en utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya *et al.*, 2008)

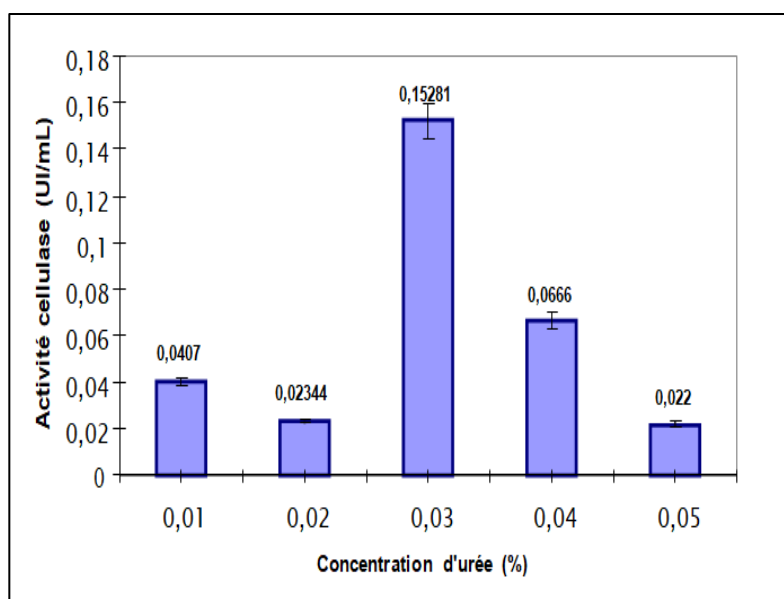


Figure 13. Effet de l'urée sur *Aspergillus niger* activité cellulase utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya *et al.*, 2008)

Parmi les différentes sources d'azote testées, chez *Bacillus* sp. Pour optimal production de cellulase l'activité enzymatique était plus élevée avec NH_4Cl (Tab 6). Pour connaître la concentration appropriée de NH_4Cl , différentes concentrations dont 0,15% NH_4Cl était optimal pour cette souche. NH_4 les composés ont été considérés comme les sources d'azote les plus favorables pour la synthèse de la cellulase comme noté dans *Thermomonospora fusca* (Sadhu *et al.*, 2013).

Tableau 6. Effet de différentes sources d'azote (0,1 % W/V) sur la production de cellulase par *Bacillus* sp après 10 jours d'incubation à 37°C et pH 7,0. Les résultats du test post hoc de Tukey ont montré des différences significatives entre les variables appariées sous nitrosources de gènes et types d'enzymes, à l'exception de ceux présentés avec NS en exposant (Sadhu *et al.*, 2013)

Source d'azote (0,1%)	CMCase (U/mg de protéine)	Avicelase (U/mg de protéine)	FPaseN.-É. (U/mg de protéine)	β - GlucosidaseN.- É. (U/mg de protéine)
KNO ₃	1,11 ± 0,0153	1,05 ± 0,01732	1,02 ± 0,01732	1,04 ± 0,01732
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,14 ± 0,0153	1,82 ± 0,0153	1,82 ± 0,0153	1,99 ± 0,01732
NH ₄ NO ₃	1,35 ± 0,0208	1,23 ± 0,0153	1,2 ± 0,01732	1,06 ± 0,0153
NH ₄ Cl	2,26 ± 0,0153	2,40 ± 0,0153	2,05 ± 0,0153	2,82 ± 0,01732
Peptone	1,75 ± 0,0153	1,68 ± 0,01155	1,45 ± 0,01155	1,40 ± 0,0153
Extrait de levure	1,22 ± 0,0152	1,12 ± 0,0153	1,07 ± 0,0173	1,04 ± 0,0152
Tryptone	1,05 ± 0,0153	1,20 ± 0,0153	1,08 ± 0,0153	1,12 ± 0,0153

L'effet de Les sources d'azote ont été étudiées dans le milieu de croissance, où la peptone a été remplacée par du sulfate d'ammonium, de l'urée et de l'extrait de levure. Parmi les différentes sources d'azote testées, le sulfate d'ammonium s'est avéré être la meilleure source d'azote pour la production de cellulase (Figure 14) (Sethi *et al.*, 2013).

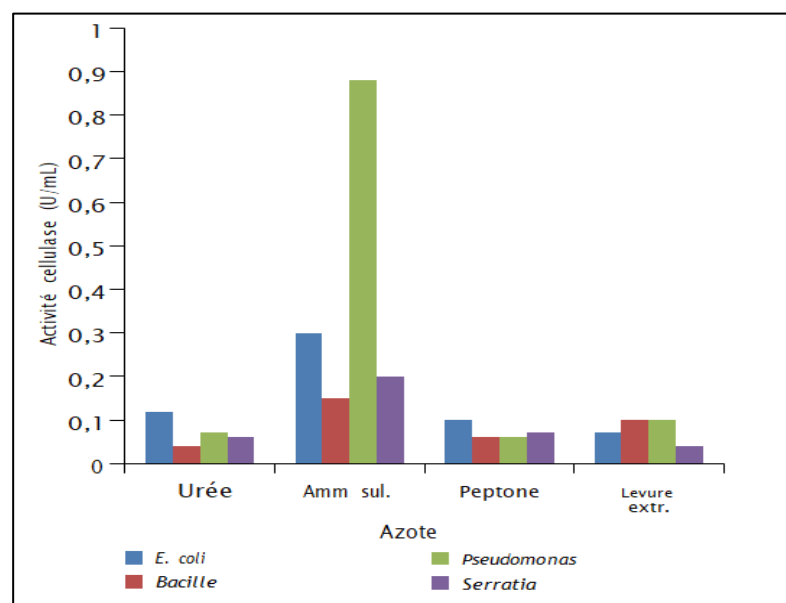


Figure 14. Effet des sources d'azote (Sethi *et al.*, 2013)

Les résultats de l'effet de divers azote, *B. lichéniforme* MVS1 et *Bacillus* sp. MVS3 est à la fois la production de CMCase et de FPase pour les deux illustrées dans le tableau 2. Parmi tous les pailles de blé et de riz azotées. Les résultats ont montré des sources testées, au cas où

de *B. lichéniforme* MVS1, activité cellulase inférieure avec azote inorganique l'extrait de bœuf a donné une activité FPase maximale 0,542 ces sources de données mais en cas de paille de riz milieu cellulolytique s'est avéré meilleur (0,471 UI/ml) (Tab. 7) (Acharya et Chaudhary, 2012).

La source d'azote joue un rôle important dans la production d'enzymes *Bacillus subtilise* a été étudié en ajoutant différentes sources d'azote dans les milieux de production. Différents azotes testés individuellement à la concentration de 0,5% d'azote dans les milieux de production. La production d'enzymes maximale observée dans les milieux complétés par un extrait de malt (0,61 U/ml) (Figure 15) (Balasaravanan *et al.*, 2013).

Tableau 7. Effet de diverses sources d'azote sur la cellulase production par *Bacillus licheniformis* MVS1 et *Bacillus sp.*MVS3 (Acharya et Chaudhary, 2012)

Azote sources	CMase (UI/ml)			FPase (UI/ml)			
	CMC	La paille de blé	La paille de riz	CMC	La paille de blé	La paille de riz	
<i>Bacillus licheniforme</i> MVS1	Contrôler	0,079±0,01c1	0,120±0,012 ^c	0,106±0,008 ^c	0,255±0,018 ^{une}	0,505±0,032 ^c	0,471±0,029 ^{ré}
	(NH ₄)SO ₄	ND	0,078±0,008 ^b	0,039±0,003 ^b	ND	0,308±0,021 ^{une}	0,177±0,013 ^{une}
	NaNO ₃	ND	0,018±0,002 ^{une}	0,021±0,002 ^{une}	ND	0,273±0,017 ^{une}	0,257±0,023 ^b
	Extrait de boeuf	0,023±0,002 ^{une}	0,119±0,009 ^c	0,018±0,002 ^{une}	0,300±0,021 ^b	0,542±0,030 ^{CD}	0,320±0,020 ^c
	Extrait de levure	0,041±0,003 ^b	0,075±0,006 ^b	0,035±0,004 ^b	0,274±0,019 ^{un B}	0,325±0,018 ^{un B}	0,315±0,015 ^c
Azote sources	CMase (UI/ml)			FPase (UI/ml)			
	CMC	La paille de blé	La paille de riz	CMC	La paille de blé	La paille de riz	
<i>Bacillus sp.</i> MVS3	Contrôler (NH ₄)2DONC 4	0,128±0,01b1	0,099±0,008 ^{ré}	0,082±0,009 ^c	0,271±0,019 ^{une}	0,433±0,027 ^c	0,444±0,026 ^c
		ND	0,083±0,007 ^c	0,055±0,005 ^b	ND	0,222±0,024 ^{une}	0,178±0,016 ^{une}
	NaNO ₃	ND	0,027±0,003 ^{une}	0,050±0,006 ^b	ND	0,244±0,020 ^{un B}	0,211±0,014 ^{une}
	Extrait de boeuf	0,045±0,00 ^{une4}	0,060±0,005 ^b	0,029±0,003 ^{une}	0,289±0,018 ^{une}	0,415±0,025 ^c	0,319±0,022 ^b
	Extrait de levure	0,035±0,004 ^{une}	0,050±0,004 ^b	0,043±0,004 ^{un B}	0,289±0,016 ^{une}	0,288±0,013 ^b	0,339±0,015 ^b

Valeurs moyennes portant le même exposant dans Columan ne différait pas significativement (P>0,05). ND = Nt détecté ; une unité de l'activité a été définie comme la quantité d'enzyme libérée par μ 1mol de glucose par minute dans les conditions de dosage exprimé en UI/ml.

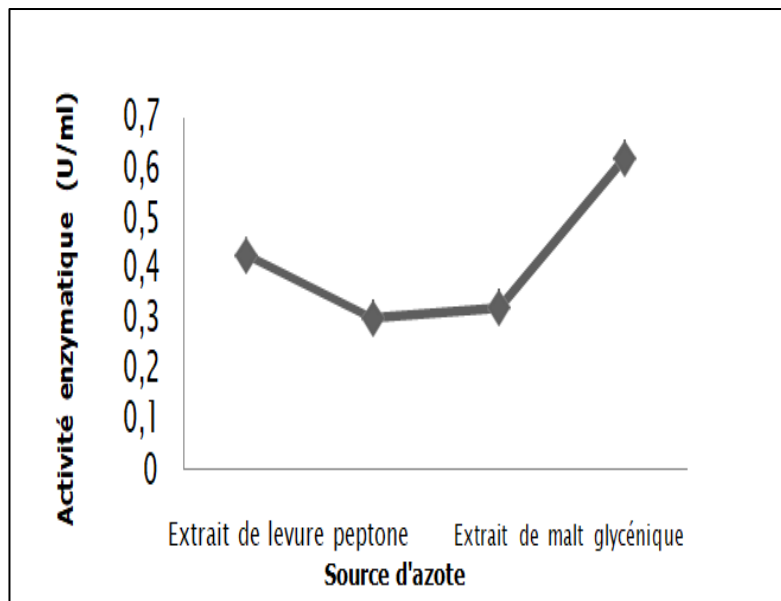


Figure 15. Effet de la source d'azote sur la production d'enzymes par *Bacillus subtilis* dans la production d'enzymes media contenant des vieux papiers comme source de carbone (Balasaravanan et al., 2013)

Effet de différentes sources d'azote sur la cellulase production après 48h d'incubation par *B. altitudinis* a montré le niveau le plus élevé ($27,42 \pm 0,11$ U/ml) dans le milieu incorporé avec de l'hydrogénocarbonate d'ammonium, cependant c'était maximum de seulement $1,52 \pm 0,29$ U/ml dans le milieu fourni avec sulfate d'ammonium par *B. licheniformis*. En même temps, la quantité maximale de production de cellulase a été enregistrée dans l'écramé ($2,91 \pm 0,38$ U/ml et $0,26 \pm 0,41$ U/ml) milieu fourni par les deux organismes *B. altitudinis* et *B. licheniformis*, respectivement (Figure. 16) (Sreeja et al., 2013).

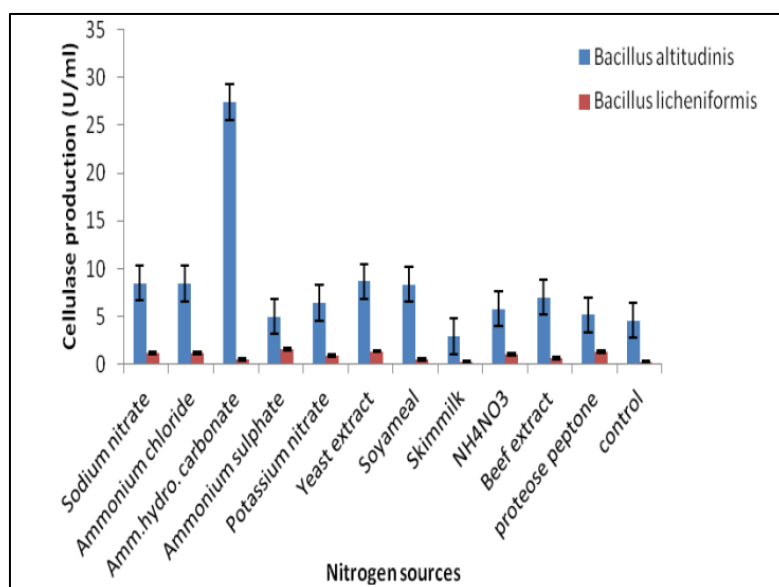


Figure 16. Production de cellulase par *B.altitudinis* et *B. licheniformis* dans les milieux additionnés de différentes sources d'azote (Sreeja et al., 2013)

5.1.3. Effet du pH sur la production de cellulase

Les Figures 17 et 18 montre que la production la plus élevée d'endo et d'exoglucanase de *Scytalidium thermophilum* SKESMBKU01 a opté pour les pH 5,0 et 6,0. Cependant, la production d'enzyme était faible à pH 9,0 et 10,0 le champignon a montré une bonne croissance à ces valeurs de pH (Sujatha *et al.*, 2014).

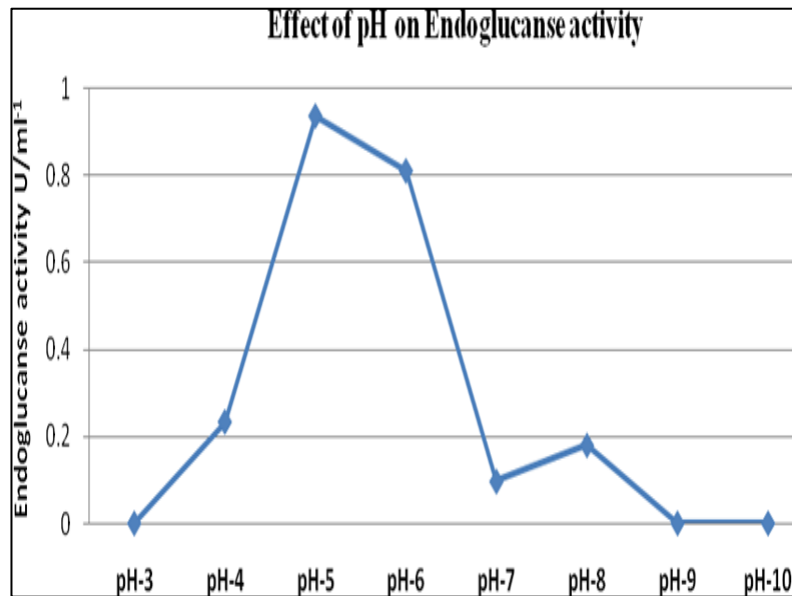


Figure 17. Effet du pH sur l'activité endoglucanase par *Scytalidium thermophilum* SKESMBKU01 (Sujatha *et al.*, 2014)

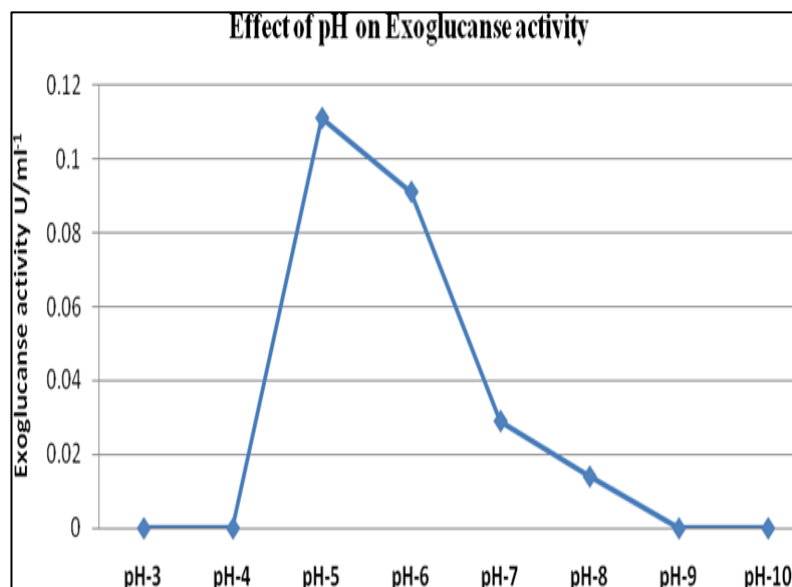


Figure 18. Effet du pH sur l'activité exoglucanase par *Scytalidium thermophilum* SKESMBKU01 (Sujatha *et al.*, 2014)

Comme le montre la figure 19, l'effet du pH sur la production de cellulase a été déterminé à des valeurs de pH de 4,0, 4,5, 5,0, 5,5 et 6,0 ; et l'activité cellulase obtenue était

de 0,0925, 0,0444, 0,05427, 0,04317 et 0,0074 UI/ml, respectivement. Le pH optimal pour l'activité cellulase était compris entre 4,0 et 4,5. L'activité cellulase maximale était de 0,0925 UI/ml trouvée à pH 4,0. Il a été observé que l'activité cellulase a une large gamme de pH entre 3,0 et 9,0. Il a été rapporté que le pH optimal pour une cellulase d'*A. niger* était entre 6,0 et 7,0 (Acharya *et al.*, 2008).

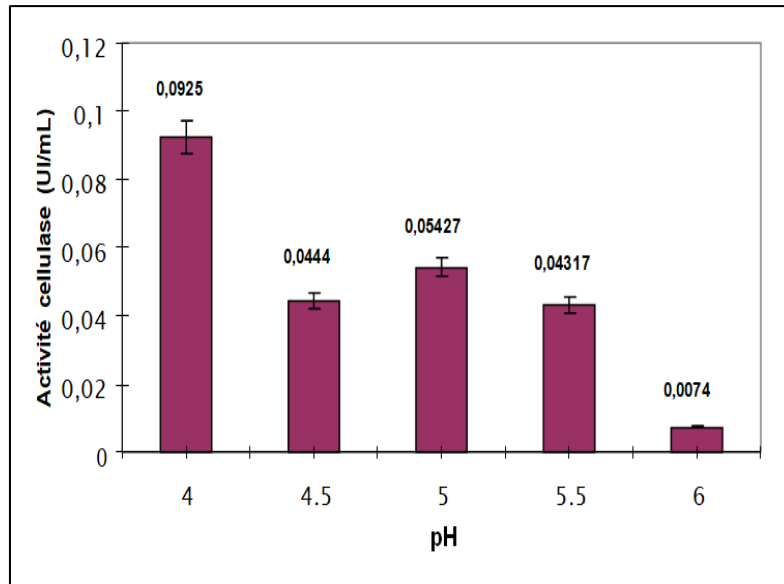


Figure 19. Effet du pH sur *Aspergillus niger* activité cellulase utilisant de la sciure de bois comme substrat (Acharya *et al.*, 2008)

Pour évaluer les effets de la valeur du pH dans le substrat sur la synthèse de la cellulase, les valeurs de pH ont été ajustées par l'ajout de HCl ou de NaOH à 3,0, 4,0, 5,0, 7,0 et 8,0. Les résultats présentés dans la figure 20 ont montré que la production d'exoglucanase (1,92 UI/ml), d'endoglucanase (1,86 UI/ml) et glucosidase (1,96 UI/ml) par *B. thuringiensis* a été trouvée à pH 7. L'activité enzymatique a augmenté progressivement lors de l'augmentation du pH jusqu'à l'optimum suivi d'une pleine activité progressive (Lokhande et Pethe, 2017).

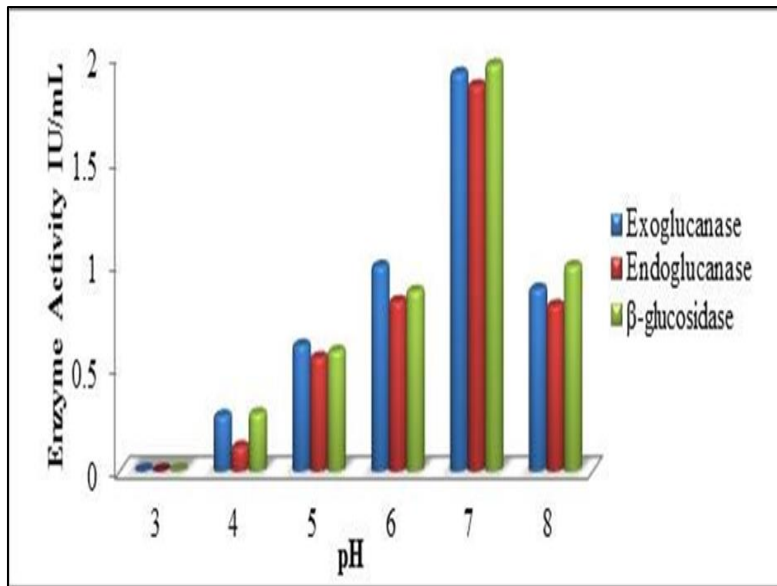


Figure 20. Effet du pH sur la production de cellulase par *Bacillus thuringiensis* (ABS 125A) (Lokhande et Pethe, 2017)

Effet du pH. Les quatre isolats on peut croître dans des milieux de pH différents allant de 6,0 à 11,0. Une activité enzymatique maximale a été observée dans un milieu de pH 9,0 à 11,0 dans cas d'*E. Coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, et *Serratia marscens* (Figure 21) (Sethi *et al.*, 2013).

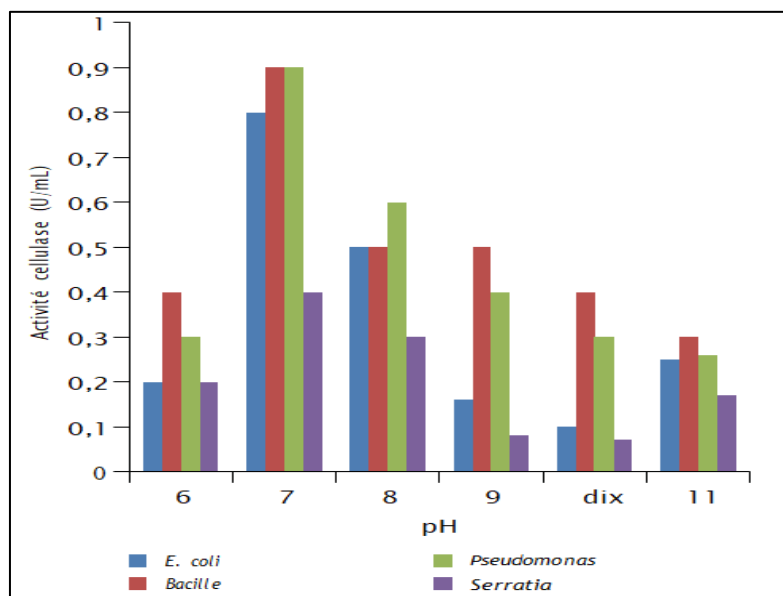


Figure 21. Effet de pH sur l'activité cellulase (Sethi *et al.*, 2013)

Le pH influence sur la production de cellulase. pH différent (3.0-9.0) à partir d'épis de maïs par *A. alternata* est représenté sur la figure 22, l'activité cellulase était la plus élevée à un pH acide de 6,0 ($26,41 \pm 0,08$ ug/ml) et le plus bas à pH 9,0 ($11,84 \pm 0,07$ ug/ml), indiquant son pH optimal de 6,0 (Ijaz *et al.*, 2011).

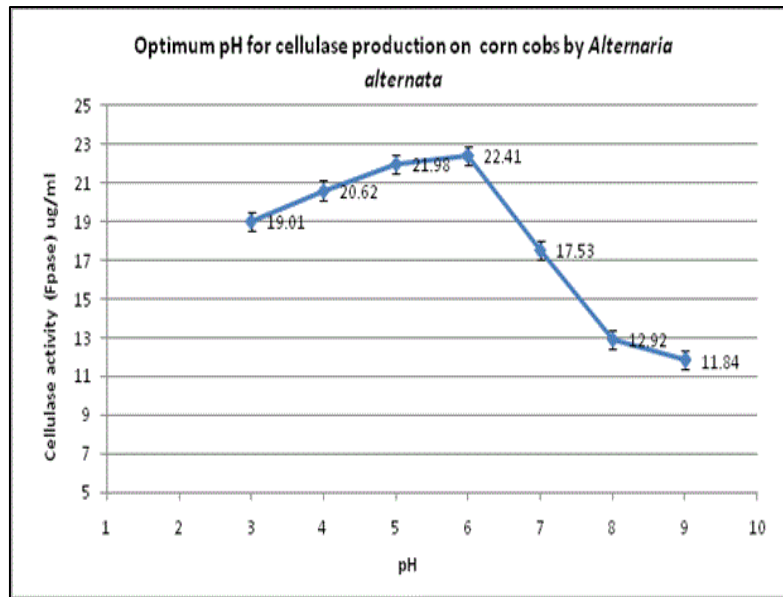


Figure 22. Effet du pH optimal pour la production de cellulase sur épis de maïs en *Alternaria alternata* (Ijaz *et al.*, 2011)

La tendance de l'activité cellulase a augmenté progressivement de pH 3,0 à 5,0 puis s'est stabilisée de pH 6,0 à 9,0 (Ijaz *et al.*, 2011).

La courbe de production d'enzymes de la souche M2 avec une valeur de pH initiale a été présentée sur la figure 23. L'activité CMCCase maximale ($20,20 \pm 0,74$ U/ml) a été observée à un pH du milieu initial de 5,0. De plus, l'activité CMCCase était stable (> 80 % du niveau maximal) sur une large gamme de valeurs de pH (de 4,5 à 7,0) (Li *et al.*, 2020).

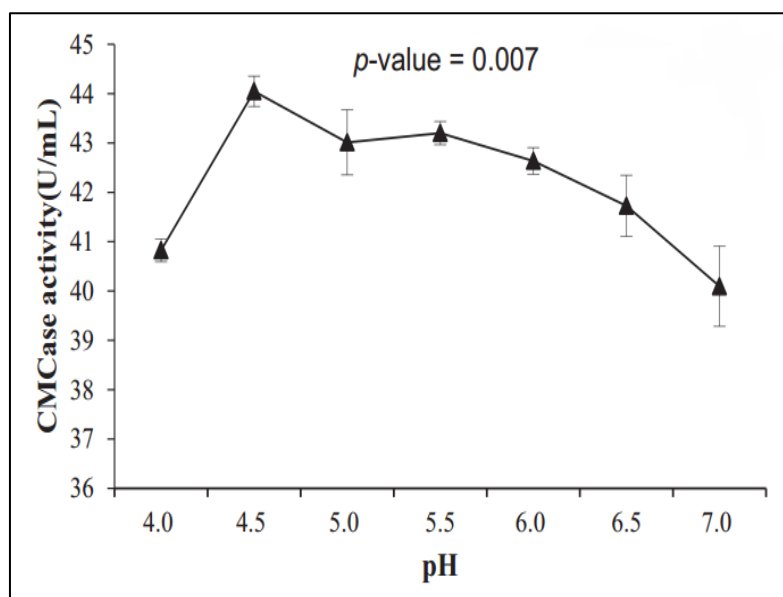


Figure 23. Effets du pH sur activité CMCCase (Li *et al.*, 2020)

L'effet du pH initial du milieu de croissance sur la production de cellulase par *Micrococcus* sp. SAMRC-UFH3 a été évalué sur une large gamme de pH de 3 à 11. Le pH optimal pour la cellulase la production était de pH 5 avec une activité enzymatique de 173 U/ml (Figure 24) (Mmango-Kaseke, 2016).

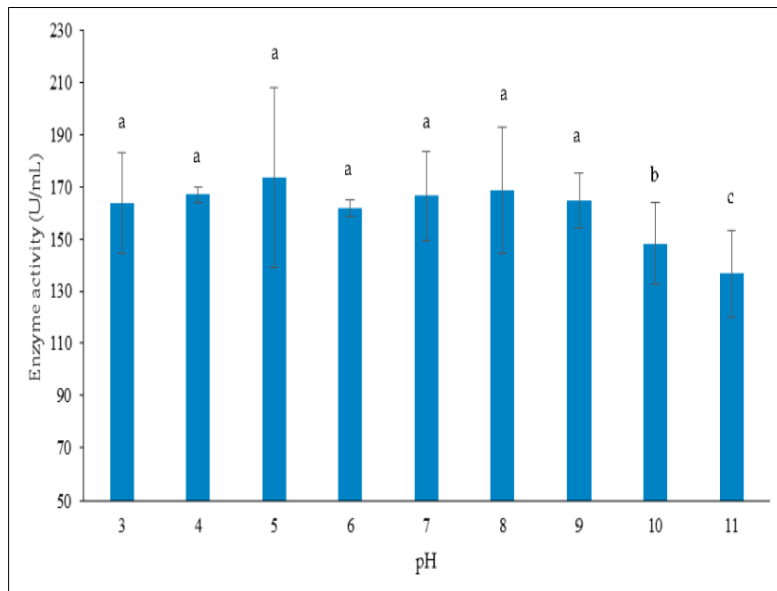


Figure 24. Effet du pH initial du milieu de croissance sur la production de cellulase par *Micrococcus* sp. SAMRC-UFH3. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SD de trois répétitions. Graphiques à barres avec différents les lettres montrent une différence significative $p < 0,05$ (Mmango-Kaseke, 2016)

5.1.4. Effet de la température

L'effet de la température sur la production d'enzymes a été étudié à 45-55°C. La température optimale pour les endo et exocellulases était de 45°C (Figures 25, 26). Faible quantité d'enzyme produite à 50°C sur 3 jours d'incubation (Sujatha *et al.*, 2014).

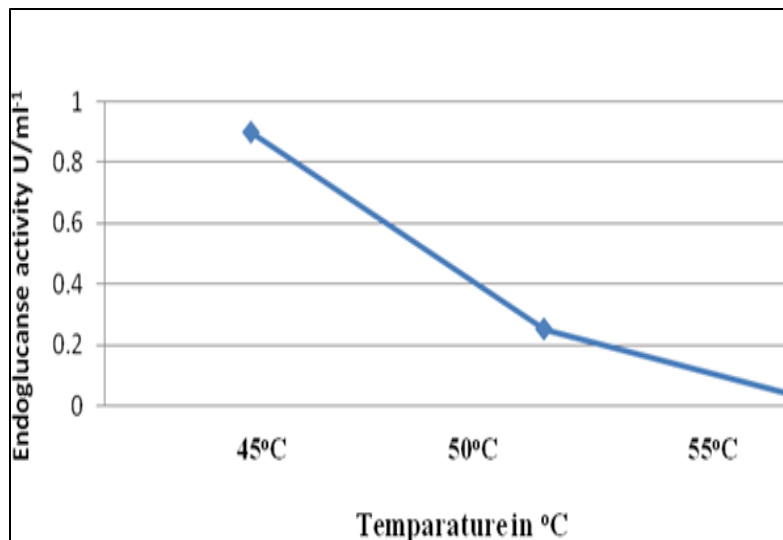


Figure 25. Effet de la température sur l'activité de l'endoglucanase par *Scytalidium thermophilum* SKESMBKU01 (Sujatha *et al.*, 2014)

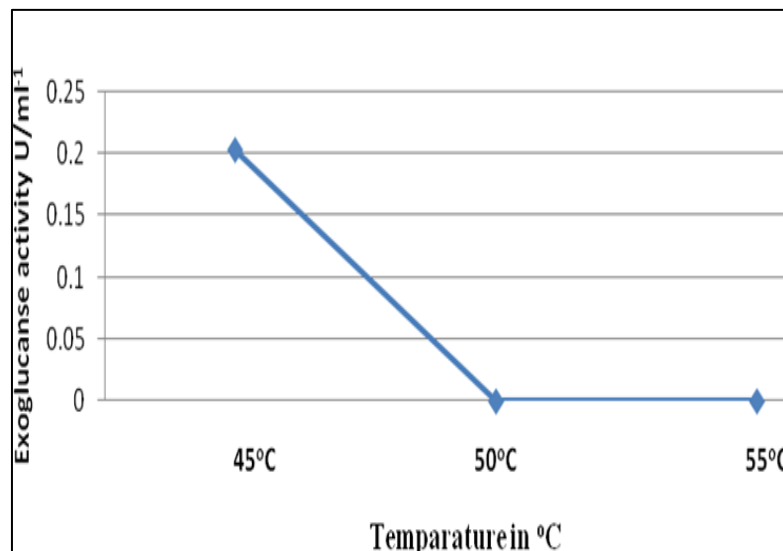


Figure 26. Effet de la température sur l'activité exoglucanase par *Scytalidium thermophilum* SK (Sujatha *et al.*, 2014)

La production d'enzyme a été enregistrée à différentes températures. Résultats illustrent que les souches 2b et 38b produisent une production maximale de cellulase à 30°C. La vitesse de réaction optimale a été observée à 30°C et pH 5. Les mesures ont été faites en triple et les barres standard représentent l'écart type. Le test t bilatéral de Student a été utilisé pour déterminer la signification statistique des différences entre les enzymes activités à des intervalles de temps différents. Les barres d'erreur indiquent SD (défini à 100 % ; n = 3 ; * * * * P < 0,0001, ***P < 0,001, **P < 0,01, *P < 0,05, ns-pas important) (Nandimath *et al.*, 2016).

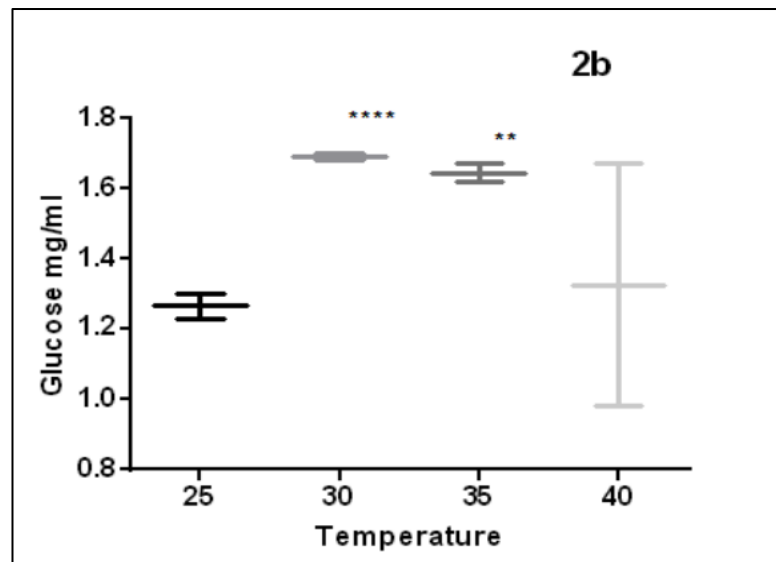


Figure 27. Optimisation de la température pour la production de cellulase 2b. Ont été utilisés pour la production de cellulase (Nandimath *et al.*, 2016)

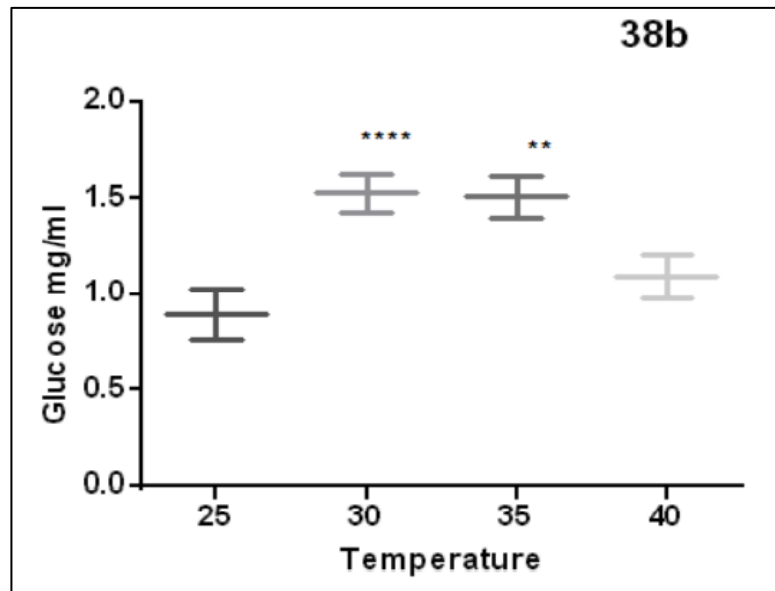


Figure 28. Optimisation de la température pour la production de cellulase 38b. Ont été utilisés pour la production de cellulase (Nandimath *et al.*, 2016)

Les résultats du test effectué à différentes températures ont montré que la température optimale pour l'activité de l'exoglucanase (2,09 UI/ml) et de l'endoglucanase (1,86 UI/ml) produite par *B.thuringiensis* était de 40°C (Figure 29) (Lokhande et Pethe, 2017).

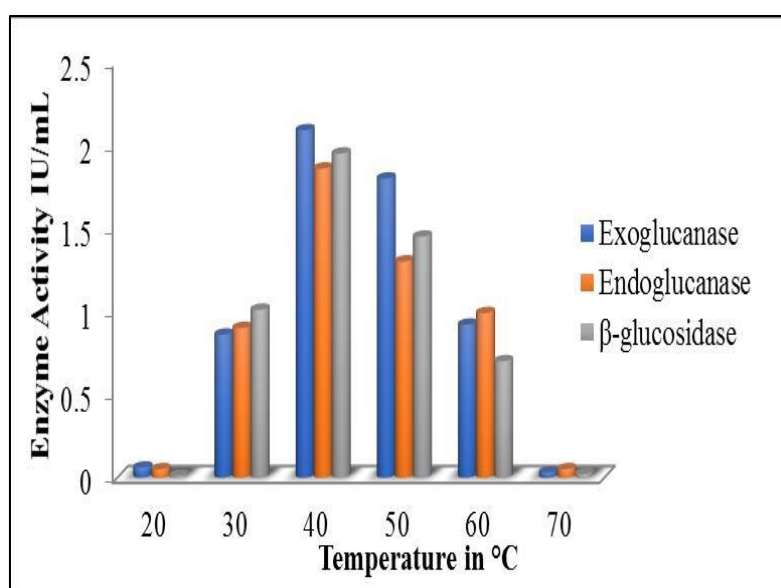


Figure 29. Effet de la température sur la production de cellulase par *Bacillus thuringiensis* (ABS 125A) (Lokhande et Pethe, 2017)

Tandis que la température optimale pour l'activité β-glucosidase (1,95 UI/ml). En raison de la température élevée (supérieure à 60°C), les résultats ont montré que l'activité enzymatique diminuait lorsque la température augmentait au-dessus de 65°C. Ont rapporté qu'un rendement minimum de cellulase était observé lorsque la fermentation était effectuée à 45°C (Lokhande et Pethe, 2017).

L'optimisation de température a été réalisée en incubant le flacon de fermentation à 23, 28 et 37°C et les activités cellulase étaient respectivement de 0,03207, 0,0925 et 0,02173 UI/ml. Ainsi, comme le montre le tableau 8, une dégradation maximale de la sciure de bois a été observée à 28°C (Acharya *et al.*, 2008).

Tableau 8. Optimisation de la température (Acharya *et al.*, 2008)

Les heures	23°C	28°C	37°C
	Activité cellulase UI/ml	Activité cellulase UI/ml	Activité cellulase UI/ml
48	0,03454	0,0629	0,0333
72	0,0555	0,0777	0,03947
96	0,03207	0,0925	0,02713

Activité enzymatique enregistrées à différentes températures ont révélé que les quatre bactéries ont produit une production maximale de cellulase à 40°C, la Figure 30. Température optimale pour croissance maximale de *Bacillus subtilis*115 et *Bacillus subtilis* avait 40°C (Sethi *et al.*, 2013).

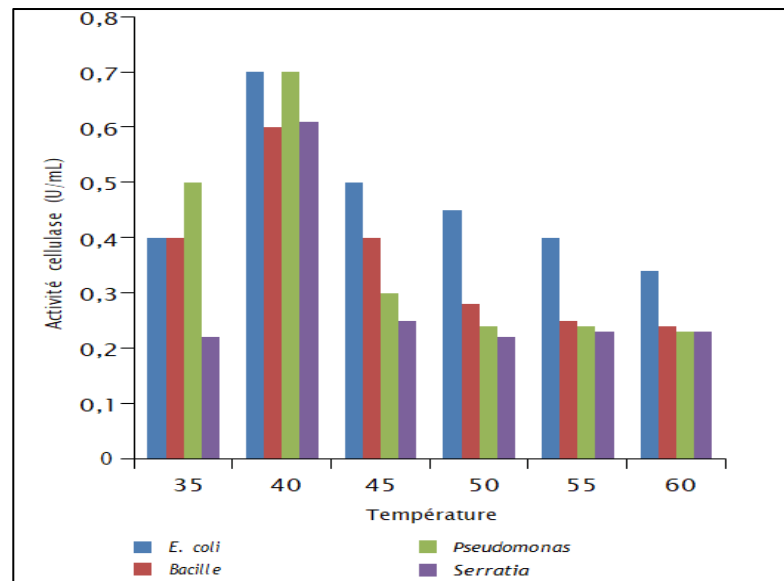


Figure 30. Effet de la température sur l'activité cellulase (Sethi *et al.*, 2013)

Effet de la température sur la production de cellulase par la souche TD6 a été déterminé à différentes températures allant de 25 à 50°C à pH 7,0 la figure 31 en utilisant un bouillon CMC. La production de cellulase la plus importante a été observée entre 30 et 45°C avec activité maximale à 45°C (4,1 U/ml) (Andriani et Park, 2010).

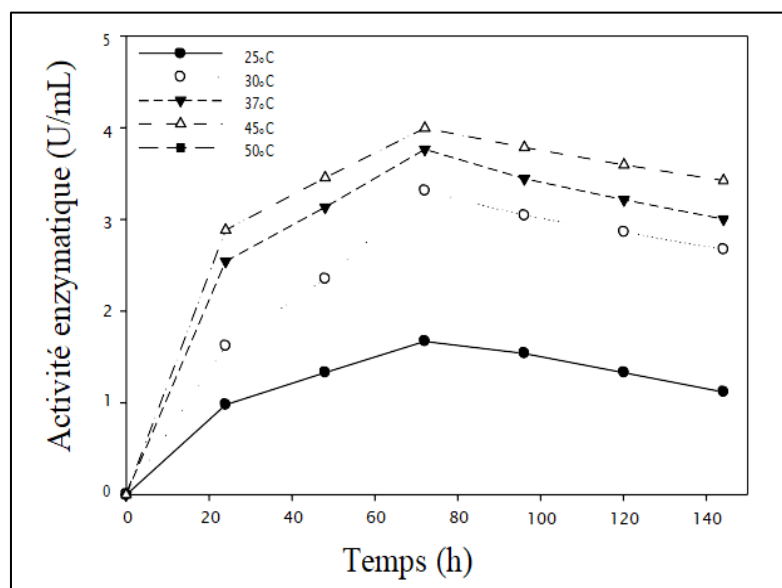


Figure 31. Effet de diverses températures sur l'activité cellulase de l'isolat *B.subtilis* TD6 (Andriani et Park, 2010).

5.1.5. Effet de période d'incubation sur production de cellulases

Bacillus thuringiensis a été inoculé dans un milieu salin basal et incubé à 40°C pendant une période de 7 jours. L'activité cellulase a été mesurée à intervalles réguliers, le rendement maximal d'activité de l'exoglucanase (1,41 UI/ml) et de l'endoglucanase (1,40 UI/ml) a été

obtenu après 4 jours. Cependant, une activité maximale de la glucosidase (1,45 UI/ ml) a été montrée après 4 jours d'incubation, la figures 32. Les périodes d'incubation pour atteindre l'activité cellulase maximale par le *Bacillus thuringiensis* étaient après 4 jours (Lokhande et Pethe, 2017).

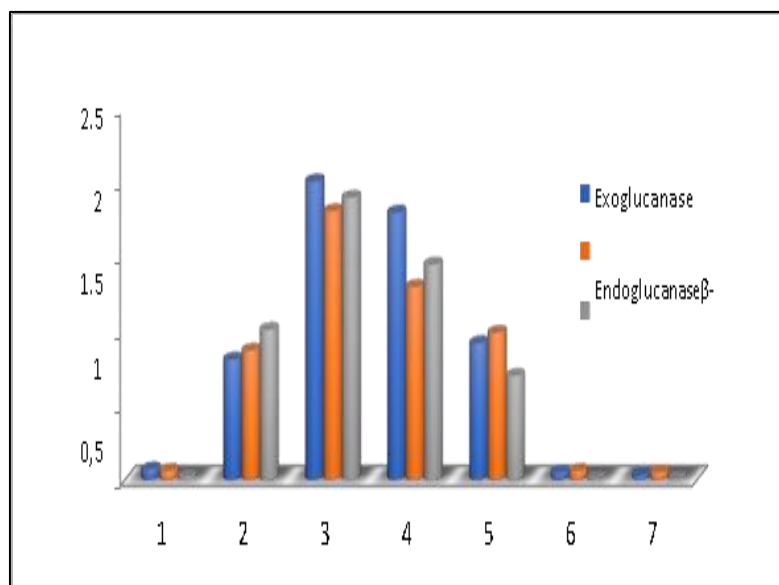


Figure 32. Effet de la période d'incubation sur la production de cellulase par *Bacillus thuringiensis* (ABS 125A.) (Lokhande et Pethe, 2017)

La période d'incubation de 48 heures, 72 heures et 96 heures s'est avérée optimale pour les souches CB3, CB4 et CB8 respectivement (Vimal et al, 2016).

Tableau 9. Optimisation de la production de cellulase (Vimal et al., 2016)

Différents paramètres	Différentes valeurs	Activité enzymatique des isolats (U/ml)		
		CB3	CB4	CB8
Durée d'incubation	48	2,56	1,87	2.971
	72	2,50	2.01	3.154
	96	2.012	2.09	2.487
	120	1,871	1,60	2.814
	30	1,235	1.713	1.173

Les teneurs en cellulose dans les rafles de maïs ont été déterminées à 24,54%. La période d'incubation est directement associée à la production. Période d'incubation pour la production de cellulase par *Alternaria alternata* sous SSF est représenté sur la figure 33, les

raffles de maïs et la bagasse de canne à sucre ont montré un jour optimal (72 h) avec une activité cellulase maximale de $15,06 \pm 0,17$ ug/ml (Ijaz *et al.*, 2011).

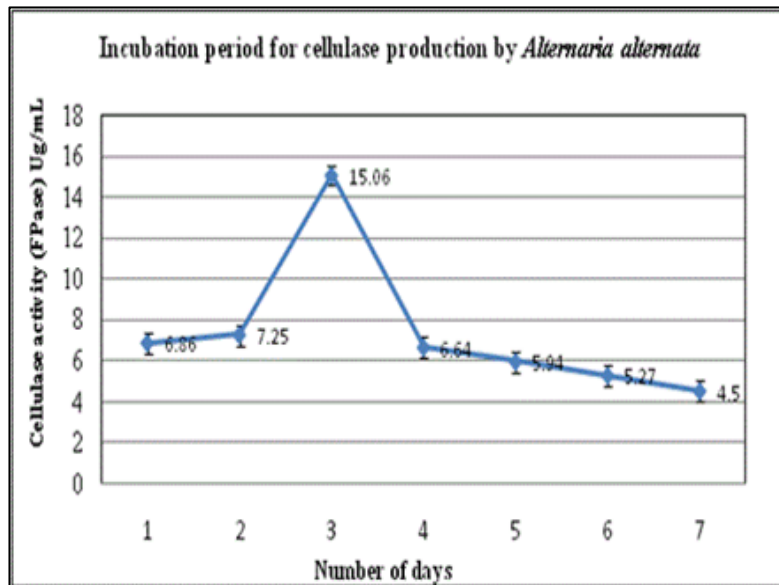


Figure 33. Evolution de la production de cellulase par *Alternaria alternata* au cours du temps (Ijaz *et al.*, 2011)

5.2. Discussion

5.2.1. Effet de source de carbone

D'après Sujatha *et al.*, (2014), la quantité maximale de production d'endo et d'exocellulases a été montrée dans le glucose comme se meilleure source de carbone par *Scytalidium thermophilum* souche SKESMBKU01, ces résultats sont en accord avec la production de cellulase chez les bactérie *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, et *Serratia marcescense* (Sethi *et al.*, 2013). Alors que Lokhande et Beth (2017) ont prouvé que la carboxy méthylcellulose la meilleure source de carbone pour la production de cellulase, Srieja *et al.*, (2013) et Li *et al.*, (2020) trouvé que le fructose et le CMC provoquent une production maximale de cellulase parmi les diverses sources de carbone chez les bactéries *B. altitudinis* et *B. licheniformis*.

Les cellulases de la souche sont des enzymes induites par les produits de la dégradation de la cellulose comme le cellobiose et le glucose, alors qu'elle est inhibée en présence de d'autres sources ne contenant pas le glucose.

5.2.2. Effet de source d'azote

Selon Acharya *et al.*, (2008) et Sethi *et al.* (2013) et Sujatha *et al.*, (2014) sulfate d'ammonium était la meilleure source d'azote pour la production de cellulase, dans l'étude de

Sreeja *et al.*, (2013) l'hydrogénocarbonate d'ammonium et le sulfate d'ammonium ont amélioré au maximum la production de cellulase en *Bacillus altitudinis* et *Bacillus licheniformis*. Sadhu *et al.* (2013) a montré que la source d'azote NH_4Cl à 0,15% était optimale pour la production de cellulase par *Bacillus* sp a combinaison de source d'azote inorganique et organique convenait à la production de cellulases. Dans l'ensemble, la production de FPase était beaucoup plus élevée que la production de CMCCase par les souches était plus *Licheniformis* MVS1 que *Bacillus* sp. MVS3, d'après Acharya et Chaudhary (2012). Alors que la production d'enzymes maximale observée dans les milieux complétés par un extrait de malt (0,61 U/ml) comme source d'azote (Balasaravanan *et al.*, 2013).

Source d'azote est un facteur essentielles qui influence sur optimisation de cellulase la variété dans les résultats obtenues par ce que chaque micro-organisme (des bactéries, champignon...) port caractère spécifiques.

5.2.3. Effet de pH

Scytalidium thermophilum a montré une activité élevée d'endo et d'exocellulases au début de la fermentation (3 jours) en raison de la présence d'un pH approprié (5,5), et l'activité des exo cellulases a diminué en raison de la dérive du pH vers des conditions très acides (pH 2,0 à 3,0) (Sujatha *et al.*, 2014). Similaire que optimal production de cellulase était de pH 5 avec une activité enzymatique de 173 U/ml (Ijaz *et al.*, 2011 ; Mmango-Kaseke, 2016 ; Li *et al.*, 2020) alors que l'activité enzymatique a augmenté progressivement pour d'exoglucanase (1,92 UI/ml), d'endoglucanase (1,86 UI/ml) et glucosidase (1,96 UI/ml) par *B. thuringiensis* à pH 7 (Lokhande et Pethe, 2017) bactéries cellulolytiques dérivées des *termites gut* le pH optimale aussi 7 (Shinde *et al.*, 2017).

Dans autres études de Sethi *et al.*, (2013) le pH 10 est meilleur production de cellulase, le recherche de Acharya et Chaudhary (2012) trouver que la production optimale de cellulase par *Bacillus licheniformis* MVS et *Bacillus* sp. MVS3 isolé de la source chaude indienne est 6,5-7. Acharya *et al.*, (2008) obtient que le pH optimal pour la production de cellulase *Aspergillus niger* était compris entre 4,0 et 4,5. La chute de l'activité de la cellulase pourrait être due à la perte d'humidité et à l'inactivation de l'enzyme résultant de la fluctuation du pH pendant la fermentation (Melo *et al.*, 2007) la raison de diminution de production en pH élevé est probablement due à l'inactivation protéolytique de cellulase. Par conséquence cela suggérée les valeurs de pH l'égerment acide favoriser production de cellulase avec les quelle nous sommes accordé avec résultat de autre chercheure (Yadav *et al.*, 2016).

Comme nous avons observé il existe des différences dans les valeurs de pH dans ces résultats à cause de caractéristique spécial de chaque micro-organisme le pH est un facteur important pour optimisation de production de cellulase donc une augmentation ou diminution de ce dernier peut agir sur la structure d'enzyme donc son activité, ci pour ça chaque micro-organisme port un pH favorable pour la meilleur production enzyme dans ce cas la cellulase.

5.2.4. Effet de la température

La plupart des organismes fongiques présentent une température optimale comprise entre 25 et 37°C pour la production de cellulase, comme le montre *Aspergillus fumigatus* (Gilna et Khaleel, 2011). Ou comme *Scytalidium thermophilum* SKESMBKU01 un thermophile a optimale pour 45°C pour une production maximale de cellulases (Sujatha et al., 2014).

Presque même résultat pour souche fongique d'*Alternaria alternata* l'activité cellulase a augmenté progressivement de 25-35°C puis est tombé à 40°C d'autres études. Les conditions optimales trouvées pour la production de cellulase étaient de 30°C souche bactérienne *Bacillus* sp. et *Pseudomonas* sp (Nandimath et al., 2016). Contrairement la fermentation submergée à 120 tr/min à 28°C a donné des rendements supérieurs en cellulase pour *Aspergillus niger* production optimal étaient de 40°C *Bacillus thuringiensis* (Lokhande et Pethe, 2017) une dégradation maximale de la sciure de bois a été observée à 28°C (Acharya et al., 2008).

Activité enzymatique enregistrées à différentes températures ont révélé que les quatre bactéries ont produit une production maximale de cellulase à 40°C (Sethi et al, 2013). Les résultats ont montré que l'activité enzymatique diminuait lorsque la température augmentait au-dessus de 65°C. Ray et al., (2007) ont rapporté qu'un rendement minimum de cellulase était observé lorsque la fermentation était effectuée à 45°C. Immanuel et al., (2006) a enregistré une activité endoglucanase maximale dans *Cellulomonas*, *Bacillus*, et *Micrococcus* sp. Alors que de cellulase de, *Bacillus subtilis* TD6 isolé poisson de *Takifugu rubripes* activité maximale à 45°C (4,1 U/ml) (Andriani et Park, 2010).

La production maximale de cellulase a été obtenue à température 40°C (0,741 ± 0,02 U/ml) et suivi de 35°C (Balasaravanan *et al.*, 2013). Les bactéries cellulolytiques ont été précédemment isolées des intestins des termites *gut*. L'activité CMCase a été trouvée optimale à différentes températures (35°C, 40°C et 45°C). Les activités avicelase et FPase ont été trouvées optimales à 35°C (Shinde *et al.*, 2017). On peut dire que ce différence l'augmentation de température de milieu de culture peut être port un effet négatif sur l'activité

de cellulase la dénaturation mais la basse température port aussi effet négative mais tout ça selon aux propriétés spécifiques de micro-organisme étudié.

5.2.5. Effet de période d'incubation

Activité enzymatique maximale de production de cellulase après troisième jour de la période d'incubation (Lokhande et Pethe, 2017). La période d'incubation de 48 heures, 72 heures et 96 heures s'est avérée optimale pour les souches CB3, CB4 et CB8 respectivement (Vimal *et al.*, 2016) alors que les conditions optimales de culture étaient 96 heures d'incubation (Ijaz *et al.*, 2011) autre recherche trouve que la production maximale a été trouvée entre 48 et 72 heures et le pic d'activité majeur a été trouvé à 60 heures (0,72 + 0,02U/ml). Chez *Bacillus subtilis* (Balasaravanan *et al.*, 2013). Cela pourrait être dû à l'épuisement des nutriments dans le milieu qui a souligné la physiologie fongique entraînant l'inactivation de la machinerie sécrétaire des enzymes (Nochur *et al.*, 1993). La production d'enzymes cellulase chez bactérie *Bacillus* sp augmentait régulièrement depuis le début et atteignait le maximum à 10 jours d'incubation (Sadhu *et al.*, 2013) activités de cellulase de champignon augmenter régulièrement avec augmentation de période d'incubation est atteint le maximum (1.8 U/mg de substrat) en 144 heure d'incubation. Cependant une incubation supplémentaire entraîne une diminution de production de cellulase.

Conclusion

Conclusion

L'objectif de ce travail consiste de faire une revue sur plusieurs études qui ont comme but d'optimiser la production de cellulase à partir de souches bactériennes isolées de différentes sources. Les paramètres étudiés dans ces travaux sont l'effet de la source de carbone, de la source d'azote, du pH, de la température, de période d'incubation.

Les résultats obtenus ont montré que la meilleure source de carbone est le glucose, la carboxy-méthylcellulose et le fructose. La meilleure source d'azote est le sulfate d'ammonium, l'hydrogénocarbonate d'ammonium, le sulfate d'ammonium, le chlorure d'ammonium et l'extrait de malt. Ces résultats montrent la diversité des sources de carbone et d'azote utilisées par les bactéries pour la production de cellulases. Les sources d'azote inorganiques semblent être les sources préférées par les bactéries pour la production de ces enzymes.

Le meilleur pH de production de cellulases par les bactéries est également divers ; il peut être un pH légèrement acide (4 - 4,5-5,5), un pH neutre (7) ou un pH basique (6,5-10). La meilleure température est entre 25°C à 45°C. La période d'incubation pour une production maximale de cellulase varie entre 48h jusqu'à 10 jours. Ce sont des périodes de production relativement courtes à l'échelle industrielle.

Ils existent d'autres paramètres qui agissent sur la production optimale de cellulases tels que l'effet des conditions statiques et agitées sur la production de cellulase, la taille de l'inoculum, la concentration du substrat et l'effet des ions métalliques.

Bibliographie

- Accetola F., Haberbauer M. 2005. Biofuels for Fuel Cells: Renewable energy from biomass fermentation. Control of Siloxanes 445-545.
- Acharya P. B., Acharya D. K., Modi, H. A. 2008. Optimization for cellulase production by *Aspergillus niger* using saw dust as substrate. African J. of Biotechnology 7(22): 4147-4152.
- Acharya S., Chaudhary A. 2012. Optimization of fermentation conditions for cellulases production by *Bacillus licheniformis* MVS1 and *Bacillus* sp. MVS3 isolated from Indian hot spring. Brazilian archives of biology and technology 55(4): 497-503
- Ahmed A., Bibi A. 2018. Fungal cellulase; production and applications: Minireview. LIFE: Int J. Health Life Sci 4(1):19-36
- Andriani D., Park, D. H. 2010. Screening and optimization of cellulase production of *Bacillus subtilis* TD6 isolated from *Takifugu rubripes* fish. In Annales Bogorienses 14(1) :31-37
- Annamalai N., Thavasi R., Vijayalakshmi S., Balasubramanian T. 2011. A novel thermostable and halostable carboxymethylcellulase from marine bacterium *Bacillus licheniformis* AU01. World J. Microbiol. Biotechnol 27:2111–2115.
- Balasaravanan T., Rathnan, R. K., John, D. 2013. Isolation, screening, identification and optimized production of extracellular cellulase from *Bacillus subtilis* using cellulosic waste as carbon source. J. of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 2(6): 2383-2386
- Boutin O., Ferrer M., Lédé J. 2002. Flash pyrolysis of cellulose pellets submitted to a concentrated radiation: experiments and modelling. Chemical Engineering Science 57(1): 15-25
- Chang V. S., Holtzapple M. T. 2000. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. In Twenty-first symposium on biotechnology for fuels and chemicals, pp. 5-37.
- Das A., Bhattacharya S., Murali L. (2010) Production of cellulase from a thermophilic *Bacillus* sp. isolated from cow dung. American- Eurasian J. Agric Environ Sci 8(6): 685-691
- Di J., Ma C., Qian J., Liao X., Peng B., He Y. 2018. Chemo-enzymatic synthesis of furfuralcohol from chestnut shell hydrolysate by a sequential acid-catalyzed dehydration under microwave and *Escherichia coli* CCZU-Y10 whole-cells conversion. Bioresour Technol 262:52–58.
- Eloutassin N., Louaste B., Boudine L., Remmal A. 2014. Valorisation de la biomasse Lignocellulosique pour la production de bioéthanol de deuxième génération. Energies Renouvelables 4: 600-609.
- Gilna V.V., Khaleel K.M. 2011. Cellulase enzyme activity of *Aspergillus fumigatus* from mangrove soil on lignocellulosic substrate. Recent Research in Science and Technology 3: 132–134.
- Ijaz A., Anwar Z., Zafar Y., Hussain I., Muhammad A., Irshad M., Mehmood S. 2011. Optimization of cellulase enzyme production from corn cobs using *Alternaria alternata* by solid state fermentation. J. of Cell and Molecular Biology 9(2): 51-56
- He Y. C., Liu F., Di J.H., Ding Y., Tao Z.C., Zhu Z.Z., Wu Y.Q., Chen L., Wang C., Xue Y.F., Chong G.G., Ma C.L. 2016. Effective enzymatic saccharification of dilute NaOH extraction of chestnut shell pretreated by acidified aqueous ethylene glycol media. Ind Crop Prod 81:129–138.
- Howard R.R., Abotsi E., Jansen van Renshurg E.L., Howard S. 2003. Lignocellulose biotechnology: Issues of bioconversion and enzyme production. Afr. J. Biotechnol 2:602- 619.

- Immanuel G., Dhanusha R., Prema P., Palavesam A. 2006. Effect of different growth parameters on endoglucanase enzyme activity by bacteria isolated from coir retting effluents of estuarine environment. *Int J. Env Sci Technol* 3: 25-34.
- Islam M., Sarkar P. K., Mohiuddin A. K. M., Suzauddula M. (2019). Optimization of fermentation condition for cellulase enzyme production from *Bacillus* sp. *Malaysian J. of Halal Research* 2(2): 19-24
- Jørgensen H., Kristensen J.B., Felby C. 2007. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Biofuels Bioprod Biorefin* 1:119–134.
- Korish. M. 2003. Production, Purification, Properties and Application of the Cellulase from a Wild type Strain of a Yeast isolate. Thèse de doctorat d'état, Faculty of Biology, Johannes Gutenberg-University, Mainz, Germany, 140 p.
- Kuhad R. C., Gupta R., Singh, A. 2011. Microbial cellulases and their industrial applications. *Enzyme research* 2011:10.
- Lens P., Westermann P., Haberbauer M., Moreno A. 2005. Biofuels for fuel cells: renewable energy from biomass fermentation .Edition IWA Publishing Alliance House London, pp. 5-50 / 169-220.
- Li F., Xie Y., Gao X., Shan M., Sun C., Niu Y. D., Shan A. 2020. Screening of cellulose degradation bacteria from Min pigs and optimization of its cellulase production. *Electronic J. of Biotechnology* 48 : 29-35.
- Lokhande S., Pethe A. S. 2017. Isolation and screening of cellulolytic bacteria from soil and optimization of cellulase production. *International J. of Life Sciences* 5: 277-282.
- Malherbe S., Cloete T.E. 2003. Lignocellulose biodegradation: fundamentals and applications. *Biotechnol* 1:105-114.
- Melo I.R., Pimentel M.F., Lopes C.E., Calazan G.M.T. 2007. Application of fractional factorial design to levan production by *Zymomonas mobilis*. *Braz J Microbiol* 38: 45-51.
- Mmango-Kaseke Z., Okaiyeto K., Nwodo U. U., Mabinya L. V., Okoh A. I. 2016. Optimization of cellulase and xylanase production by *Micrococcus* species under submerged fermentation. *Sustainability* 8(11) : 1168
- Nishida Y., Suzuki K. I., Kumagai Y., Tanaka H., Inoue A., Ojima T. 2007. Isolation and primary structure of a cellulase from the Japanese sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. *Biochimie* 89(8): 1002-1011
- Nandimath A. P., Kharat K. R., Gupta S. G., Kharat A. S. 2016. Optimization of cellulase production for *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. soil isolates. *African J. of Microbiology Research* 10(13): 410-419
- Nochur S.V., Roberts M.F., Demain A.L. 1993. True cellulase production by *clostridium thermocellum* grown on different carbon sources. *Biotechnology Letters* 15(6): 641– 646
- Paillet F. 2013. Les biocarburants. Mémoire de master en énergie. Université de Mantpellier 2.
- Pandiyan K., Tiwari R., Singh S., Nain P.K.S., Rana S., Arora A., Singh S.B., Nain L. 2014. Optimization of enzymatic saccharification of alkali pretreated *Parthenium* sp. using response surface methodology. *Enzyme research* 2014 :8.
- Prasanna H.N., Ramanjaneyulu G., Rajasekhar R.B. 2016. Optimization of cellulase production by *Penicillium* sp. *3 Biotech* 6:162.

- Pérez J., Muñozdorado J., De I.R.T., Martínez J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int Microbiol* 5:53–63.
- Ray A. K., Bairagi A., Ghosh K. S., Sen S. K. 2007. Optimization of fermentation conditions for cellulase production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated from fish gut. *Acta Ichthyologica ET Piscatoria* 37: 47-53.
- Sadhu S., Ghosh P. K., De T. K., Maiti T. K. 2013. Optimization of cultural condition and synergistic effect of lactose with carboxymethyl cellulose on cellulase production by *Bacillus* sp. isolated from fecal matter of elephant (*Elephas maximus*) 3(3): 9
- Sadhu S., Maiti T. K. (2013). Cellulase production by bacteria: a review. *Microbiology Research J. International* 3(3): 235-258
- Saini A., Aggarwal N.K., Yadav A. 2017. Cost-effective cellulase production using *Parthenium hysterophorus* biomass as an unconventional lignocellulosic substrate. *3 Biotech* 7(1):12
- Schamburg D., Salzmann m. G. B. F. 1991. Cellulase. In: *Enzyme HandBook. Volume IV*. Springer-Verlag Berlin, pp. 1-11.
- Sethi S., Datta A., Gupta B. L., Gupta, S. 2013. Optimization of cellulase production from bacteria isolated from soil. *International Scholarly Research Notices* 2013:7.
- Shanmughapriya S., Kiran G.S., Selvin J., Thomas T.A., Rani C. 2010. Optimization, purification, and characterization of extracellular mesophilic alkaline cellulase from sponge associated *Marinobacter* sp. MSI032. *Appl. Biochem. Biotechnol* 162:625–640.
- Shinde V. S., Agrawal T., Kotasthane A. S. 2017. Molecular characterization of cellulolytic bacteria derived from *termite gut* and optimization of cellulase production. *Int J. Curr Microbiol Appl Sci* 6(10): 2474-2492
- Shivanand P., Mugeraya G., Kumar A. 2013. Utilization of renewable agricultural residues for the production of extracellular halostable cellulase from newly isolated *Halomonas* sp. strain PS47. *Annals of Microbiology* 63 (4): 1257–1263
- Singh J., Kaur P. 2012. Optimization of process parameters for cellulase production from *Bacillus* sp. JS14 in solid substrate fermentation using response surface methodology. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 55 (4): 505-512
- Singh K., Richa K., Bose H., Karthik L., Kumar G., Rao K.V.B. 2014. Statistical media optimization and cellulase production from marine *Bacillus* VITRKHB. *3 Biotech* 4:591–598.
- Sreeja S. J., Jeba M. P. W., Sharmila J. F. R., Steffi T., Immanuel G., Palavesam A. 2013. Optimization of cellulase production by *Bacillus altitudinis* APS MSU and *Bacillus licheniformis* APS2 MSU, gut isolates of fish *Etroplus suratensis*. *Int J. Adva Res & Technol* 2(4): 401-6
- Sujatha E., Santoshkuar S., Shiva Krishna P. 2014. Optimization and characterization of cellulases from thermophilic strain of *Scytalidium thermophilum* SKESMBKU01. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 4(2):236-249
- Tchunden J. 1990. Cellulolyse Anaérobie Mésophile: étude de l'amélioration de la production de cellulases par *Cl. cellulolyticum* ATCC 35319. Thèse de doctorat d'état, Université Henri Poincaré-Nancy 1, 143 p.
- Vanholme R., Demedts B., Morreel K., Ralph J., Boerjan W. 2010. Lignin biosynthesis and structure. *Plant physiology* 153(3): 895-905

Vimal J., Venu A., Joseph J. 2016. Isolation and identification of cellulose degrading bacteria and optimization of the cellulase production. *Int J. Res Biosciences* 5(3): 58-67

Wood T. M. 1989. Mechanisms of cellulose degradation by enzymes from aerobic and anaerobic fungi. In: MP Coughlan (ed.), *Enzyme systems for lignocellulose degradation*. Elsevier Applied Science, London, pp. 17-35.

XU B. 2002. Endoglucanase and Mannanase from Blue Mussel, *Mytilus edulis*: Purification, Characterization, Gene and Three Dimensional Structure. Thèse de doctorat d'état, Faculty of Science and Technology, Uppsala University, Sweden, 57p.

Yadav P.R., Chauhan P.B., Gahlout M., Prajapati H. 2016. Isolation, screening and optimization of process parameters for enhanced production of cellulase by solid state fermentation. *International J. of Advanced Research in Biological Sciences* 3(5):21-27

Ye S., Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *ChemInform* 83:1-11.

Zhang Y., Tang B., Du G. 2017. Self-induction system for cellulase production by cellobiose produced from glucose in *Rhizopus stolonifer*. *Scientific Reports* 7: 10161.

<http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/4EnzymologieLicence/6ParametresPhysChimiques/1EffetsTemperaturePH.html>

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة مجموعة من الاعمال التي تهتم بدراسة تأثير بعض العوامل البيئية على تحسين إنتاج السليولاز من 15 بكتيريا معزولة من مصادر مختلفة. بعد قياس النشاط الأنزيمي وجد أن المصدر الأمثل للكربون هو الجلوكوز ، كربوكسي ميثيل سلولوز ، الفركتوز. مصدر النيتروجين الأمثل هو كبريتات الأمونيوم وكربونات هيدروجين الأمونيوم وكلوريد الأمونيوم وخلاصة مالات. يعطي الأس الهيدروجيني الحمضي قليلاً (4-4.5-5.5) المحايد (7) أو الأس الهيدروجيني الأساسي (6.5-10) إنتاجاً أفضل. تتراوح درجة الحرارة المثلى بين 25 درجة مئوية إلى 45 درجة مئوية وأفضل فترة حضانة هي 48 ، 60 ، 96 ساعة و 3 ، 10 أيام.

الكلمة الرئيسية: الكتلة الحيوية اللينوسيلولوزية، السليولاز، تحسين، العوامل البيئية

Résumé

Le but de ce travail est l'étude des travaux qui se sont intéressés l'influence des facteurs environnementaux sur la production de cellulases à partir de 15 bactéries isolées de différentes sources. Après la mesure de l'activité enzymatique on trouve que la source optimale de carbone est le glucose, la carboxy- méthylcellulose, le fructose. La source d'azote optimale est le sulfate d'ammonium, l'hydrogénocarbonate d'ammonium, le chlorure d'ammonium, et l'extrait de malat. Des pH légèrement acide (4-4,5-5,5) neutre (7) ou basique (6,5-10) donnent une meilleure production. La température optimale est entre 25°C à 45°C et la meilleure période d'incubation est de 48, 60, 96 h et 3, 10 jours.

Mots Clés : biomasse lignocellulosique, cellulase, optimisation, paramètres environnementaux

Abstract

The purpose of this work is the study of the work that has investigated the influence of environmental factors on the production of cellulases from 15 bacteria isolated from differential sources. After the measurement of the enzymatic activity, it is found that the optimal source of carbon is glucose, carboxy- methylcellulose, fructose. The optimum nitrogen source is ammonium sulphate, ammonium hydrogen carbonate, ammonium chloride, and malat extract. Slightly acid pH (4-4,5-5,5) neutral (7) or basic (6,5-10) gives a better production. The optimal temperature is between 25°C to 45°C and the best incubation period is 48, 60, 96 h and 310 days.

Keywords: lignocellulosic biomass, cellulase, optimization, environmental parameters