



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 : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
SOUDANI Ghofrane et ROUABEH Rayane

Le : mercredi 22 juin 2022

Thème

Cinétiques et optimisation de la production de xylanases par des souches microbiennes

Jury :

Mme. Boukharouba Khadidja	Pr	Université de Biskra	Président
M. Hebal Hakim	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Baba Arbi Souad	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire :2021-2022

Remerciement

Avant tout je remercie « *Allah* » qui m'a donné la force et la volonté

Pour terminer ce modeste travail.

J'adresse mes plus vifs remerciements à mon encadreur **Mr Hebal**

Hakim maitre de conférences à la faculté des sciences de la nature et
De la vie, Université Biskra, pour son encadrement et ses encouragements,
Ses orientations, Et pour son aide et ses conseils scientifiques judicieux.

Je tiens également à remercier les membres du jury pour avoir accepté

L'évaluation de mon travail.

Enfin, ma famille mes amies ma reconnaissance et mes remerciements

Vont À toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la

Réalisation de Ce travail

DEDICACE

Je remercie *ALLAH* le Généreux pour m'avoir guidé vers la lumière de
La recherche du savoir et de la science.

Je dédie ce modeste travail :

A MON CHERE PERE

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux et courageux
Qui se Sacrifie pour le bonheur de ses enfants. Merci mon père pour ton
Amour, ton Soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Puisse Dieu,
Le très Haut, vous Accorder santé et long vie.

A MA TRÈS CHER MERE

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma
Considération pour vos sacrifices innombrables qui m'a encouragé.
Merci énormément ma chère Maman pour ton tendresse, pour vos prières
Et vos soutiens. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de
Bonheur et vous procurer une longue vie.

A mes chers frères et mes sœurs, *dieu* vous donne la santé, le bonheur,
Le courage et surtout le succès.

A toutes mes copines : pour les bons souvenirs et le beau temps que nous
Avons passé ensemble, en leur souhaitant le succès et le bonheur dans leur vie.

A mes connaissances et à tous qui sont chères à mon cœur.

Table de matières

Remerciement.....	
Dédicace	
Table de matières	
Liste des Tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	IV
Introduction	1

Première partie : Partie bibliographique

Chapitre 1 :Biomasse lignocellulosique et enzymes xylanolytiques

1.1. Biomasse Lignocellulosique.....	3
1.1.1. Cellulose	3
1.1.2. Lignine	4
1. 1.3. Hémicelluloses :.....	5
1. 2. Xylanes :.....	5
1. 2.1. Définition des xylanes :.....	5
1. 2.2. Structuration des xylanes :.....	6
1. 3. Xylanases.....	6
1. 3.1. Classification des enzymes xylanolytiques :	8
1. 3.2. Application des xylanases :	8
1. 3.3. Production des xylanases :	9
1. 3.4. Source de xylanase :.....	9
1. 4. Types de fermentation :	10
1. 4.1. Fermentation à l'état solide (SSF) :.....	10

1. 4.2. Fermentation submergée / Fermentation Liquide (FL) :	10
--	----

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

2.1. Micro-organismes.....	11
2.2. Les substrats utilisés	11
2.3. Production d'xylanase dans la fermentation	12
2.4. Optimisation de production de xylanase.....	13
Bactéries.....	13
Champignons.....	13

Chapitre 3 : Résultats et discussion

3.1. Cinétique de production de xylanase :	15
3.2. Optimisation de la production de xylanases	16
3.2.1. Effet du pH initial du milieu	16
3.2.2 Effet de la température d'incubation	17
3.2.3. Effet de la concentration du substrat	18
3.2.4. Effet de la taille de l'inoculum	19
3.2.5. Effet de sources de carbone.....	20
3.2.6. Effet de sources de d'azote :	21
3.2.7. Effet de différentes concentrations de NaCl.....	22
3.2.8. Effet de la période d'incubation sur l'activité xylanase.....	23
3.2.9. Effet des sources de carbone sur l'activité xylanase <i>d'Arthrobacter sp</i> :.....	24
3.2.10. Effet des sources d'azote.....	25
3.2.11. Effet de différents substrats	26
3.2.12. Effet de différentes périodes d'incubation	27
3.2.13. Effet de différents niveaux de pH :.....	28
3.2.14. Effet de différents niveaux d'humidité.....	29

3.2.15. Effet des différentes températures	30
3.2.16. Effet de différentes sources d'azote	31
3.2.17. Effet de différentes sources minérales.....	32
3.2.18.Effet des différents niveaux de substrat du son d'orge.....	33
Conclusion.....	36
Références Bibliographiques	38

Liste des Tableaux

Tableau 1. Effet de la supplémentations de sources de carbone supplémentaires sur la production de xylanase par <i>Bacillus</i> sp. En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h).	21
Tableau 2. Effet de différentes sources d'azote sur la production de xylanase par <i>Bacillus</i> sp. En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h).	22
Tableau 3. Effet de différents substrats sur la production de xylanase.	27
Tableau 4. Effet de différentes sources d'azote sur la production de xylanase.	32
Tableau 5. Effet de différentes sources minérales sur la production de xylanase.....	33
Tableau 6. Résumé de la production de xylanase de <i>A. niger</i> et <i>T. viride</i> sur paille de riz et après optimisation sur son d'orge.....	34

Liste des figures

Figure 1. Structure de la biomasse lignocellulosique (Shleser <i>et al.</i> 1994)	3
Figure 2. Représentation de la molécule de cellulose (Mazza, 2009). Erreur ! Signet non défini.	
Figure 3. Structure de la lignine (Mussatto <i>et al.</i> 2012).....	4
Figure 4. Structure hypothétique d'un hémicellulose (Mussatto <i>et al.</i> , 2012). Erreur ! Signet non défini.	
Figure 5. Structure du xylane (Haberre, 2014).....	6
Figure 6. Enzymes xylanolytiques. Ac : groupe acétyle ; α -Araf : α -arabinofuranose; α -4-O-Me-GlcA : acide α -4-O-méthylglucuronique. Source : Sunna et Antranikian(Motta <i>et al.</i> ,2012).	7
Figure 7. Étude de l'évolution temporelle de la production de xylanase par <i>Bacillus sp.</i> En fermentation submergée à 37°C. Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0.05$	16
Figure 8. Effet du pH initial du milieu sur la production de xylanase lors d'une fermentation submergée de 48 h. Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$	17
Figure 9. Effet de la température d'incubation sur la production de xylanase par <i>Bacillus sp.</i> Avec un pH initial du milieu de 8 pendant 48 h de période de fermentation. Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$. ..	18
Figure 10. Effet de la concentration du substrat sur la production de xylanase par <i>Bacillus sp.</i> En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h). Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$	19
Figure 11. Effet de la taille de l'inoculum sur la production de xylanase par <i>Bacillus sp.</i> En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h). Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$	20
Figure 12. Effet de différentes concentrations de NaCl sur la production de xylanase par <i>Bacillus sp.</i> En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h). Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$	23
Figure 13. Effet de la période d'incubation sur l'activité xylanase d' <i>Arthrobacter sp MTCC 6915</i> En utilisant de la sciure de bois comme substrat.....	24

Figure 14. Effet des sources de carbone sur l'activité xylanase d'*Arthrobacter sp. MTCC 6915* utilisant de la sciure de bois comme substrat.25

Figure 15. Effet des sources d'azote sur l'activité xylanase d'*Arthrobacter sp. MTCC 6915* utilisant de la sciure de bois comme substrat.26

Figure 16. Effet de différentes périodes d'incubation sur la production de xylanase.....28

Figure 17. Effet de différents niveaux de pH sur la production de xylanase.29

Figure 18. Effet de différents niveaux d'humidité sur la production de xylanase30

Figure 19. Effet de différentes températures sur la production de xylanase31

Figure 20. Effet de différents niveaux de substrats sur la production de protéines.....34

Liste des abréviations

Aw	Activity of water
CMC	Carboxy Méthyl Cellulose
FL	Fermentation Liquide
PDA	Potato- Dextrose- Agar
SmF	Submerged Fermentation (Fermentation submergée)
SSF	Solid State Fermentation (Fermentation Solide)

Introduction

Introduction

La biomasse lignocellulosique représente une des ressources renouvelables la plus abondante sur terre, et certainement une des moins coûteuses. Cette dernière est composée essentiellement de trois polymères à savoir : la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. La teneur en ces constituants varie d'une espèce végétale à une autre. En effet, les hémicelluloses, représentent environ 20 à 40 % de la biomasse végétale. Et constituent le second polymère naturel et le plus abondant sur terre après la cellulose (**Coughlan, 1992; Privas, 2014**).

Les principales enzymes capables de dégrader les hémicelluloses sont des hydrolases nommées hémicellulase. La xylanase (E.C 3.2.1.8) est l'enzyme qui dégrade le xylane β -1, 4 en clivant les liaisons glycosidiques β -1, 4, formant ainsi des produits utilisables tels que la xylose, le xylobiose et les xylooligosaccharides (**Bernier et al., 1983 ; Chakrit et al., 2006**).

Ces enzymes sont utilisées dans plusieurs procédés industriels tels que la conversion du xylane en xylose (**Biely, 1985**). Le blanchiment biologique de la pâte à papier (**Battan et al., 2007 ; Kiddinamoorthy et al., 2008 ; Manimaran et al., 2009**). La clarification des jus, l'extraction du café, des huiles végétales et de l'amidon (**Wong et al., 1993**). Et la bioconversion des déchets lignocellulosiques en produits économiques utiles tels que l'éthanol, les protéines unicellulaires, les sirops de sucre et combustibles liquides et gazeux (**Dhiman et al., 2008**). L'amélioration de la digestibilité des aliments pour animaux, etc.

Les xylanases peuvent être produites par des bactéries et des champignons en culture liquide ou solide. La production de xylanases microbiennes est préférée aux sources végétales et animales, en raison de leur disponibilité, de leur stabilité structurelle et de leur facilité de manipulation génétique (**Bilgrami et Pandey, 1992**).

La principale proportion commerciale des hémicellulase et représentent un marché mondial d'environ 200 millions de dollars. Parmi les technologies existantes dans l'industrie de la fermentation, la fermentation à l'état solide (SSF) présente de nombreux avantages par rapport à la fermentation en culture submergée, tels qu'un coût moindre et des volumes de réacteur beaucoup plus faibles (**Pandey, 2003 ; Rodriguez-Couto et Sanromán, 2006**). De plus, cette technique de culture permet l'utilisation de différents résidus agricoles et agro-industriels comme

substrats tels que le son de blé et le son de soja(Castilho *et al.*, 2000 ; Silva *et al.*, 2005), la bagasse de canne à sucre(Acuña-Argüelles *et al.*, 1995), les écorces de citron et d'orange(Ismail, 1996 ;Silva, 2002). Ainsi, des enzymes xylanolytiques ont été produites avec succès en SSF en utilisant des substrats solides tels que les épis de maïs, le son de riz, la balle de riz (Badhan *et al.*, 2007), la tête de tournesol (Patil et Dayanand, 2006), le marc de raisin (Diaz *et al.*., 2007) ou le son de blé (Beg *et al.*., 2001).

Dans cette étude de synthèse qui s'est basée sur des travaux précédents, nous avons montré la production de xylanase à partir de trois souches en utilisant des types de fermentation différents. A cet effet, les souches *Bacillus subtilis* et *Bacillus megaterium* ont été utilisées en fermentation submergée, alors que les souches *Arthobacter sp* et d'*Aspergillus niger* et de *Trichoderma viride* ont été utilisées en fermentation à l'état solide en utilisant certains déchets agricoles. Parmi les facteurs de fermentation on peut cite: le temps d'incubation, la température, le pH et les sources d'azote, les sources de carbone, la taille de l'inoculum et les différentes concentrations du substrat le plus approprié, entre autres.

Première partie

Partie bibliographique

Chapitre 1 :

Biomasse lignocellulosique et enzymes xylanolytiques

1.1. Biomasse Lignocellulosique

La biomasse lignocellulosique est une matière organique, constituée principalement, de trois polymères à savoir ; la cellulose, l'hémicellulose et la lignine en proportions variables.

En effet, la cellulose est de l'ordre de 40 à 60 %, l'hémicellulose est de l'ordre de 20 à 40%, enfin, la lignine est de l'ordre de 10 à 25 % (**O'Donohue, 2008**). D'autres matériaux tels que les pectines et les protéines peuvent être trouvés en petites quantités (**Mathew et al., 2008; Dashtban et al., 2009**). A l'intérieur de la biomasse lignocellulosique (**Figure 1**), ces macroéléments s'entremêlent et forment une structure tridimensionnelle complexe et très résistante, maintenue par des liaisons hydrogènes et des liaisons covalentes, qui résistent aux attaques de phytopathogènes en conférant de la rigidité aux plantes (**Saidi, 2011**).

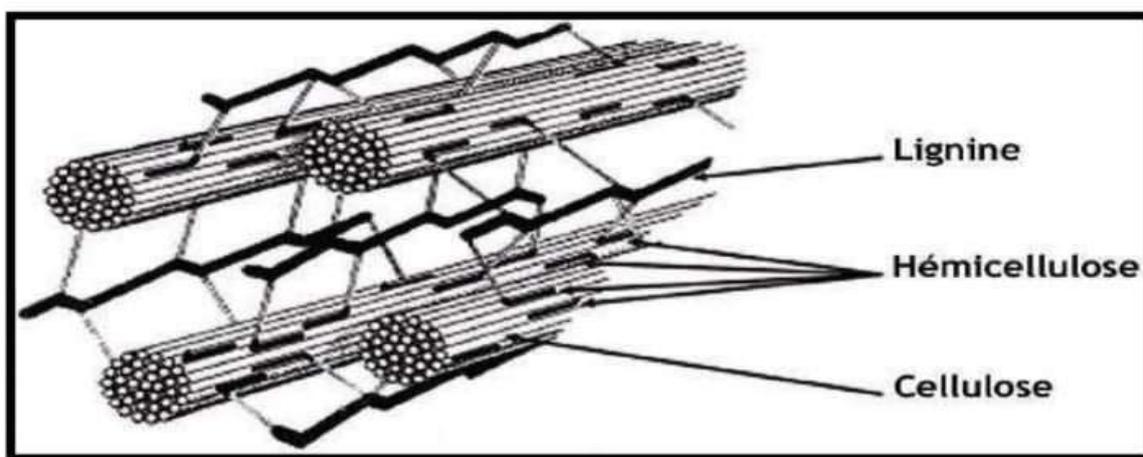


Figure 1. Structure de la biomasse lignocellulosique (Shleser *et al.* 1994)

1.1.1. Cellulose

La cellulose est un polymère de condensation formé à partir d'un sucre simple « Glucose » produit par la photosynthèse. Il est constitué de monomères D-glucopyranose liés entre eux par des liens glycosidiques β -(1 \rightarrow 4) (**Mohammad et Keikhosro, 2007**), ayant une fonction de support (**Létourneau, 2006**). La longueur de la molécule de cellulose est déterminée par le nombre des unités de glucanes présents dans le polymère.

Les molécules de cellulose sont orientées d'une façon aléatoire et ont une forte tendance à créer des ponts hydrogènes et des faibles liaisons de Van der Waal sinter moléculaires (**Létourneau, 2006**).

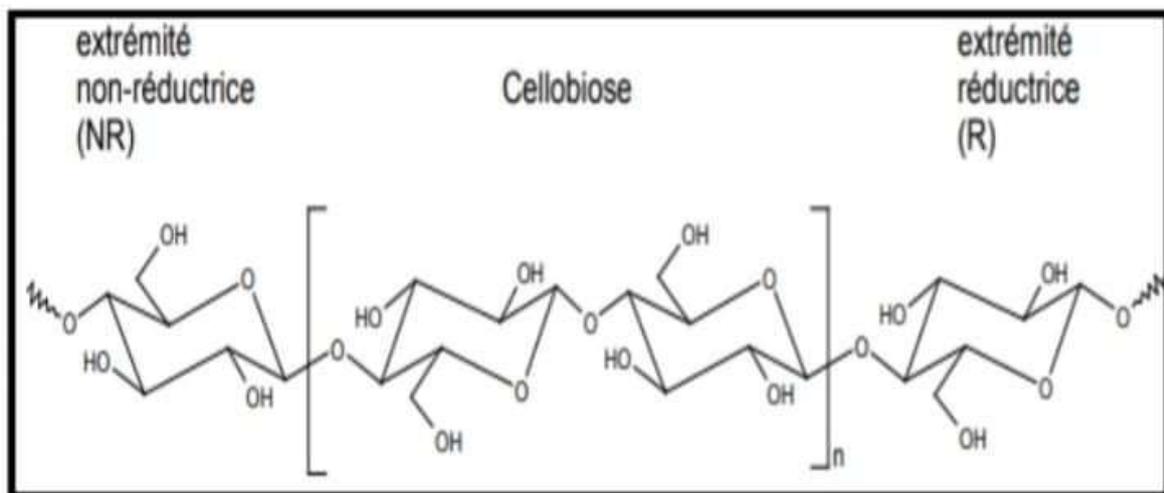


Figure 2. Représentation de la molécule de cellulose (Mazza, 2009).

1.1.2. Lignine

Elle constitue, après la cellulose, la plus importante source de matière organique la surface de la terre (**Hamid *et al.*, 2014**). Au sein de la structure de la plante, la lignine assure la rigidité et l'imperméabilité des parois cellulaires et permet ainsi aux plantes de croître sans support extérieur et de résister aux attaques biologiques.

La lignine est constituée de polymères phénoliques tridimensionnels, amorphes possédant trois unités différentes de type phénylpropane: les alcools coumaryliques, coniféryliques et Sinapyliques (**Novaes *et al.*, 2010**).

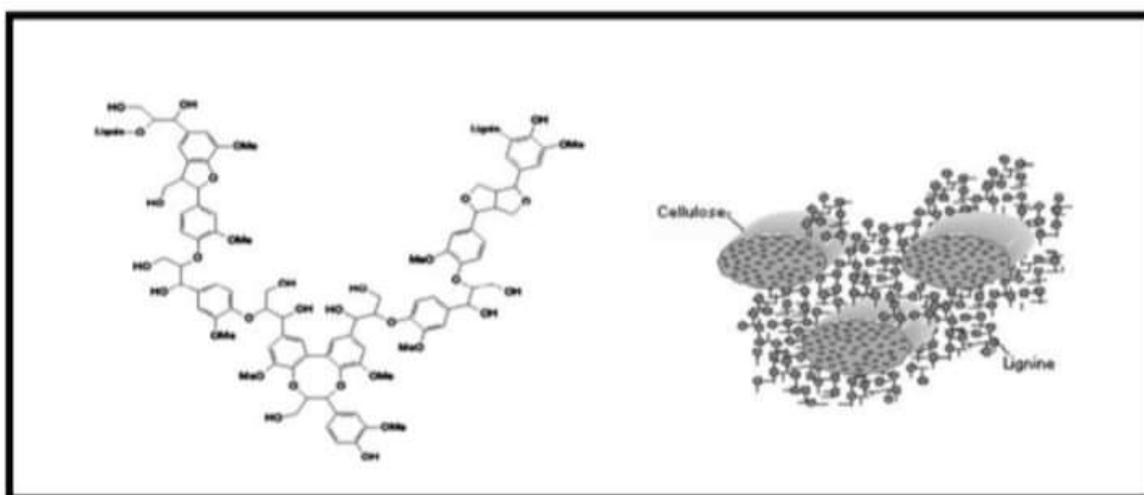


Figure 3. Structure de la lignine (Mussatto *et al.* 2012).

1. 1.3. Hémicelluloses :

Les hémicelluloses sont des hétéros polysaccharides ramifiés peu polymérisés et constitués de différentes unités monosaccharidiques telles que le glucose, le mannose, le galactose, l'arabinose et la xylose (**Figure 4**). Elles ont des ramifications courtes (~50-200) et amorphes, ce qui les rend partiellement solubles dans l'eau (**Demirbas, 2008**).

Les hémicelluloses sont capables de s'associer à la cellulose par de multiples liaisons par pont hydrogène et à la lignine par des liaisons covalentes. Ces polymères ne sont pas cristallins et sont plus accessibles à l'hydrolyse que la cellulose. Les hémicelluloses présentent une structure en bâtonnets avec des ramifications et des chaînes latérales repliées dans la chaîne principale par liaison hydrogène.

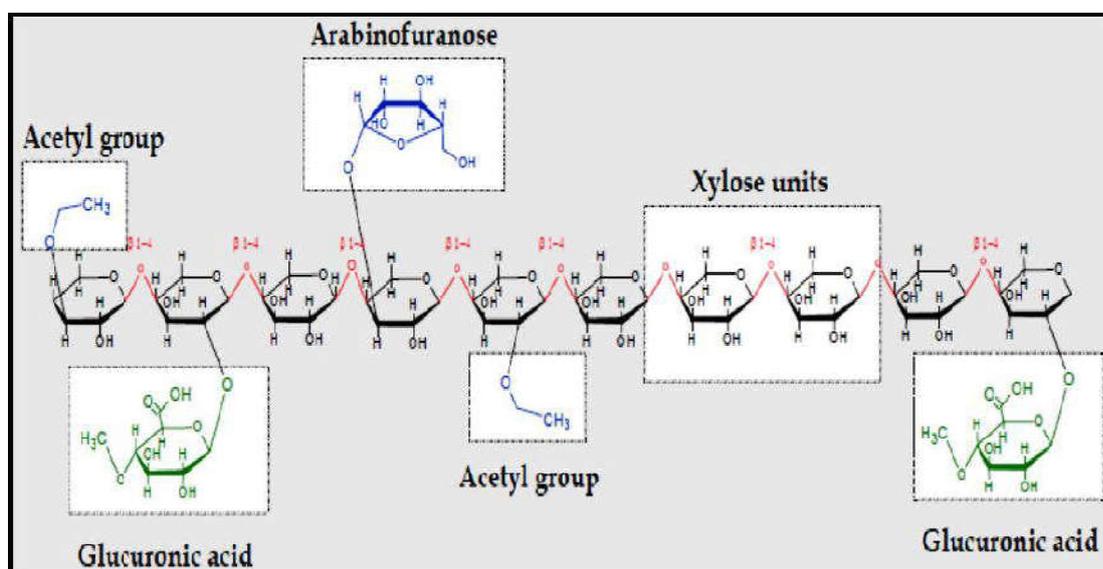


Figure 4. Structure hypothétique d'un hémicellulose (Mussatto *et al.*, 2012).

1. 2. Xylanes :

1. 2.1. Définition des xylanes :

Le xylane est le deuxième polysaccharide le plus abondant dans la nature, représentant environ un tiers du carbone organique renouvelable sur terre, et il constitue le composant majeur de l'hémicellulose. Le xylane est principalement présent dans la paroi cellulaire secondaire, se trouvant à l'interface entre la lignine et la cellulose, où il est considéré comme important pour la cohésion des fibres et l'intégrité de la paroi cellulaire végétale (**Motta *et al.*, 2012**).

1.2.2. Structuration des xylanes :

La structure de base des xylanes est représentée par un squelette linéaire d'unités de xylose reliées entre elles par des liaisons β -(1-4) et le degré de polymérisation se situe entre 100 à 200 unités de xylose (Béguin et Aubert, 1994). Ces liaisons portent la plupart du temps des ramifications monomériques de type D-xylose, L'arabinose, D-mannose, D-glucose, D-galactose et de l'acide glucuronique. Selon la nature de ces substituant, ces polymères sont appelés arabinoxyanes, galacto-xylanes, glucurono-xylanes (Seiboth et Metz, 2011). La structure du xylane comporte diverses chaînes latérales telles que les groupements acétyl-arabinofuranosyl et méthyl-glucuronyl sur les quelles viennent se greffer des composés aromatiques (acide ferulique et acide para-coumarique) (figure 5) (Georis *et al.*, 2000; Dodd et Cann, 2009 ; Knob *et al.*, 2010).

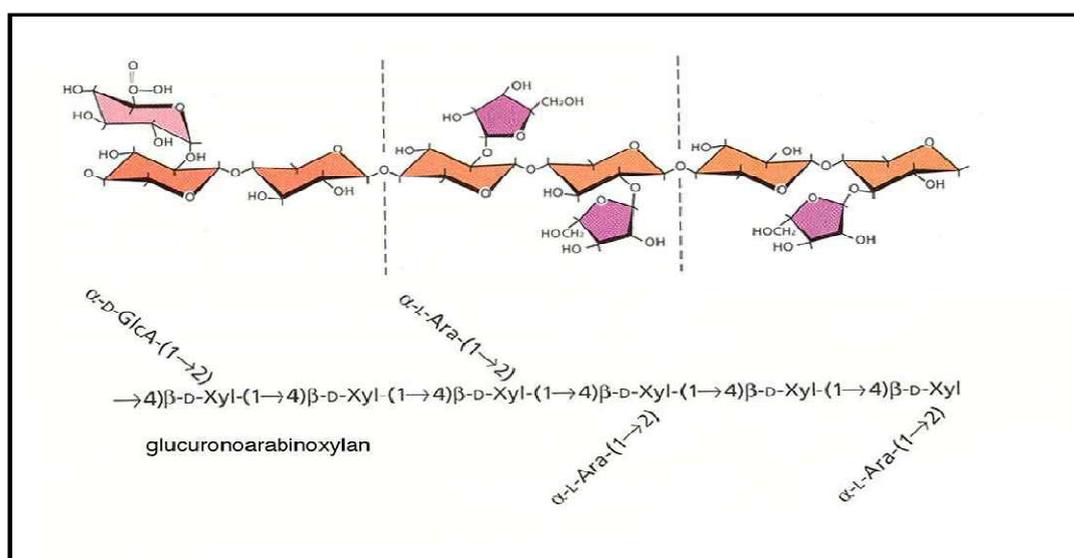


Figure 5. Structure du xylane (Haberre, 2014).

1.3. Xylanases

La biodégradation du xylane est un processus complexe qui exige l'intervention de plusieurs enzymes (Padilha *et al.*, 2014) assurant des activités plus ou moins spécifiques pour attaquer le squelette du substrat hémicellulosique (Figure 6). Il s'agit d'endoxylanases (EC.3.2.1.8) et de β -xylosidases (EC.3.2.1.37) et celles qui sont dites débranchantes dont le rôle est d'hydrolyser les ramifications présentes sur la chaîne principale, il s'agit des α -L-

arabinofuranosidases (EC .3.2.1.55) et des xylane estérases (EC .3.1.1.72) ...etc (**Ryabova et al., 2009**). Les endoxylanases catalysent la rupture de la liaison glycosidique reliant deux résidus xyloses de la chaîne principale des xylanes, engendrant une réduction du degré de polymérisation du substrat. Les liaisons sélectionnées pour l'hydrolyse dépendent de la nature du substrat tel que longueur de la chaîne, le degré de ramification et la présence de substituant (**Li et al., 2000**). Les principaux produits d'hydrolyse sont des oligomères de β -D-xylopyranosyl et des petites molécules comme les mono-, di- et trisaccharides de β -D-xylopyranosyl (**Polizeli et al., 2005**).

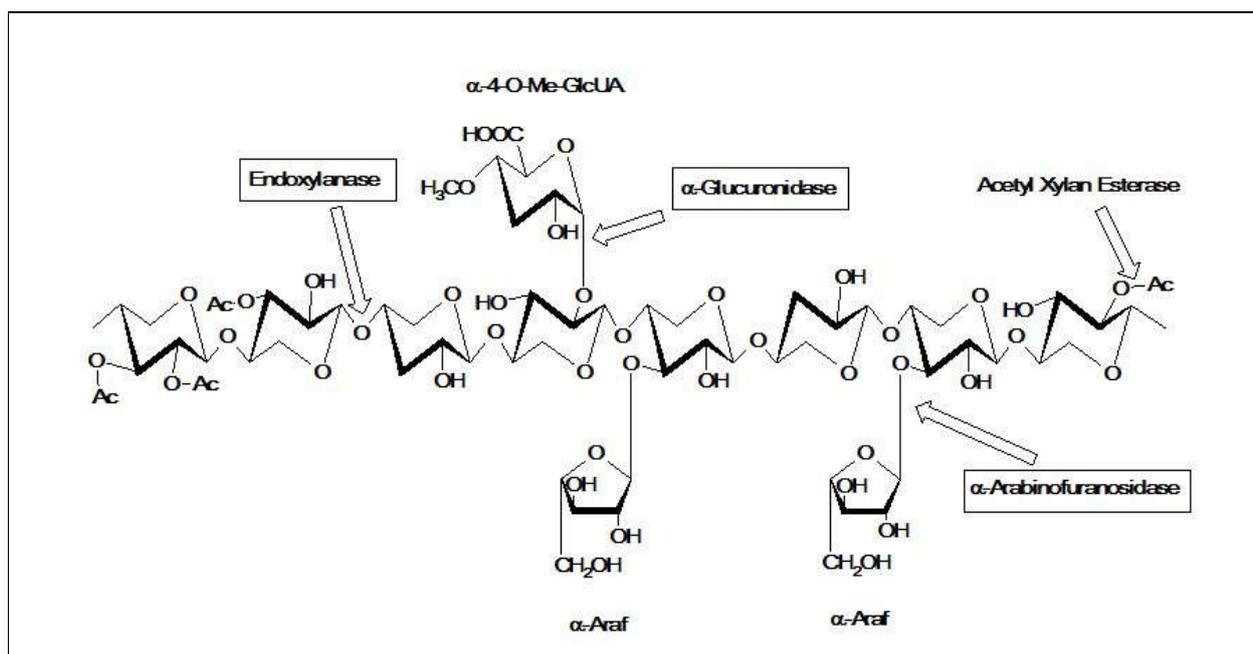


Figure 6. Enzymes xylanolytiques. Ac : groupe acétyle ; α -Araf : α -arabinofuranose; α -4-O-Me-GlcA : acide α -4-O-méthylglucuronique. Source : Sunna et Antranikian (**Motta et al., 2012**)

Les xylanases sont des hydrolases définies comme étant le groupe d'enzymes responsables de l'hydrolyse du xylane (**Li et al., 2000**). La xylanase est un glycoside hydrolase qui catalyse des liaisons (1-4)- β -D-xylosidiques dans les xylanes pour libérer de la xylose (**Beg et al., 2001**). Cette enzyme intervient donc dans la dégradation de l'hémicellulose, l'un des constituants principaux des parois cellulaires (**Polizeli et al., 2005**).

1. 3.1. Classification des enzymes xylanolytiques :

Face à l'hétérogénéité des xylanes et leurs complexités, les microorganismes qui les dégradent produisent en abondance divers xylanases, cette variété a montré les limites de la classification des enzymes basé sur le substrat (**Paes, 2005**).

Selon **Wong *et al.* (1988)**, une nouvelle classification de xylanases sur la base de leurs propriétés physico-chimiques a été proposée, on distingue deux groupes :

- Le premier groupe rassemblait les xylanases de faible masse moléculaire (<30kDa) et de pI basique.
- Le deuxième groupe rassemblait les xylanases avec une masse moléculaire élevée (>30 kDa) et un pI acide.

Plus tard, un système de classification plus complet a été admis et permettait la classification des xylanases et des glycosidases en générale par la comparaison des séquences des domaines catalytiques, ce système regroupait les xylanases en six familles (de A à F) (**Juturu et Wu, 2012**).

Des enzymes ayant des activités xylanolytiques ont été trouvées dans les familles 5, 7,8, 10, 11, 16, 26, 43, 52 et 62, mais seules les séquences appartenant aux familles 5, 7, 8, 10,11 et 43 possèdent des domaines catalytiques avec une activité endo-1,4- β -xylanase dont les plus étudiées se trouvent dans la famille 10 et 11 (**Assamooi *et al.*, 2009**).

Par contre les familles 16, 52 et 62 apparaissent être en fait des enzymes bifonctionnelles contenant deux domaines catalytiques distincts, quant à la famille 26, elle possède une activité endo- β -1,3-xylanolytique (**Paes, 2005 ; Mirande, 2009 et Carvalho *et al.*, 2013**).

1. 3.2. Application des xylanases :

Les xylanases trouvent des applications dans divers domaines industriels tels que la papeterie, l'alimentation animale, la boulangerie, l'industrie du jus, etc (**Polizeli *et al.*, 2005**).

En papeterie les xylanases rendent les fibres de papier plus accessibles pour le blanchissement chimique réduisant ainsi la consommation du chlore et le besoin en d'autres agents chimiques. Par conséquent, la pollution de l'environnement par les effluents de l'industrie papetière est considérablement réduite (**Ryu et Kim, 1997**).

Dans le domaine de la boulangerie, les xylanases sont utilisées comme additifs pour améliorer la qualité et le volume du pain en provoquant une meilleure rétention de l'eau (**Harris et Ramalingam, 2010**).

Dans l'industrie du textile, le dégraissage est réalisé en utilisant des xylanases qui éliminent spécifiquement les impuretés hémi-cellulosiques, inhibant la finition, le mouillage et la teinture, rendant la fibre textile lisse et souple. Ce procédé est meilleur que le traitement chimique traditionnel non spécifique qui s'opère à des concentrations élevées d'hydroxyde de sodium **(Battanet *et al.*, 2012)**.

Dans la pharmacologie, la production de polysaccharides actifs et des alkyl glycosides **(Collins *et al.*, 2005)**.

Les xylanases sont aussi utilisées en combinaison avec d'autres enzymes, et en particulier avec d'autres hydrolases, mais aussi avec des protéases, oxydases, isoméras. L'objectif est de développer l'exploitation de la biomasse végétale **(Assamoi *et al.*, 2009)** pour produire l'énergie renouvelable (bioénergie) **(Collins *et al.*, 2005; Saidi, 2011)**.

1. 3.3. Production des xylanases :

La production de xylanases dépend essentiellement du choix de substrat inducteur, du microorganisme et des conditions de fermentation. L'activité xylanolytique des moisissures est beaucoup plus élevée que celle des bactéries et des levures notamment celles des xylanases extracellulaires produites par *Aspergillus niger*, il produit 15 isoenzymes, alors que *Trichoderma viride* en produit 13 **(Biely, 1985 ; Vries, 2001)**, cependant cette activité est généralement accompagnée d'une activité cellulolytique, La xylanase de *Thermomyces lanuginosus* est une vraie xylanase avec un taux d'activité cellulolytique très faible de 0,01 U/ml **(Subramaniyan et Prema, 2002)**.

L'utilisation des procédés de fermentations en milieu liquide est plus fréquente pour la plupart des xylanases industrielles, mais les forces de cisaillement en fermenteur peuvent perturber la biomasse fongique fragile menant à des faibles productivités de xylanases **(Subramaniyan et Prema, 2002)**.

1. 3.4. Source de xylanase :

La xylanase est très répandue dans la nature, elle est produite par des procaryotes et des eucaryotes comme les bactéries marines et terrestres, des bactéries du rumen, des protozoaires, des champignons, des algues marines, des escargots, des insectes et des graines de plantes terrestres et de graines en germination **(Annamalai *et al.*, 2009;Walia *et al.*,2013)**. Mais, les moisissures sont considérées comme des grands producteurs de nombreux d'enzymes tel que ;

cellulases, xylanases, chitinases, amylases, protéases, et d'autres (**Braaksma et al., 2010**). Parmi les genres producteurs de xylanases: *Aspergillus*, *Neurospora*, *Penicillium*, *Neocallimastix*, *Disporotrichum*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Coniothyrium*, *T. lanuginosus*, etc (**Kumar et al., 2017**). Certaines de ces souches industrielles produisent plus de 100 g/l de cellulases et hémicellulase (**Balan et al., 2013**).

1. 4. Types de fermentation :

1. 4.1. Fermentation à l'état solide (SSF) :

La fermentation solide (SSF) utilise des substrats solides, comme le son de blé, la paille de blé, etc. La fermentation des substrats solides est opérée pour des périodes très longues. Cette méthode est la meilleure pour les techniques de fermentation impliquant des champignons et des micro-organismes qui nécessitent moins d'humidité. Cependant, il ne peut pas être utilisé dans les processus de fermentation impliquant des organismes qui nécessitent activité de l'eau (aw), élevée, tel que des bactéries (**Babu et Satyanarayana, 1996**).

1. 4.2. Fermentation submergée / Fermentation Liquide (FL) :

La fermentation liquide (FL) utilise des substrats liquides à écoulement libre, les composés bioactifs sont sécrétés dans le bouillon de fermentation. Cette technique de fermentation est la mieux adaptée pour des micro-organismes tels que des bactéries nécessitant une humidité élevée. Un avantage supplémentaire de cette technique est que la purification des produits est plus facile. La FL est principalement utilisée dans l'extraction des métabolites secondaires qui doivent être utilisés sous forme liquide (**Subramaniam et Vimala, 2012**).

Les xylanases sont produites par fermentation à l'état solide ou submergée. Bien que la plupart des fabricants de xylanase produisent ces enzymes en utilisant des techniques de fermentation submergée (SmF) (près de 90 % des ventes totales de xylanase dans le monde, la productivité enzymatique via la fermentation à l'état solide (SSF) est normalement beaucoup plus élevée que celle de la fermentation submergée. L'intérêt croissant pour l'utilisation de techniques de fermentation à l'état solide (SSF) pour produire une grande variété d'enzymes, y compris des xylanases d'origine fongique, est principalement dû aux avantages économiques et techniques de ce procédé.

La comparaison entre fermentation solide et liquide (voir annexe 1)

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre 2 :

Matériels et méthodes

2.1. Micro-organismes

Une grande variété de microorganismes produit les enzymes xylanolytiques (**Collins et al., 2005 ; Yang et al., 2006**). Les microorganismes utilisés dans ce travail sont les champignons *Aspergillus niger* et *Trichoderma viride*. et comme bactéries *Arthobacter sp*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* isolées du le sol.

Les souches *subtilis* et *Bacillus megaterium* ont inoculées dans le bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24h avec une vitesse d'agitation de 140 tr/min (**Muhammad et al.,2015**). *Arthobacter sp* inoculé à partir d'une gélose nutritive inclinée qui a été stockée à 4°C, dans bouillon nutritif bouillon et incubée pendant 24 heures à température ambiante (**Sevanan et al.,2011**)

Les souches *Aspergillus niger* et *Trichoderma viride* sont cultivées sur milieu Potatos Dextrose Agar (PDA) à 30°C pendant 7 jours ont été maintenues à 4°C (**Hoda et al., 2012**)

2.2. Les substrats utilisés

2.2.1. Les bactéries

Arthobacter sp : La sciure de bois a été utilisée comme substrat pour la production de xylanase. avec de l'eau distillée pendant environ 15 minutes. Le substrat a été séché dans un four et réduit en poudre (**Sevanan et al.,2011**).

- *Bacillus subtilis* et *Bacillus megaterium* : la bagasse de canne à sucre et utilisée comme substrat pour la production d'enzyme xylanase et fermentation submergée (**Muhammad et al.,2015**).

2.2.2. Les champignons

Aspergillus niger et *Trichoderma viride* : en utilisant certains substrats Lignocellulosique telle que : Paille de Riz (RS), Paille de Blé (WS), Paille de Maïs (CS), Bagasse (B), Épi de Maïs (CC), Son de Blé (WB), Son de Riz (RB), Son de Maïs (CB), Le son d'orge (BB) et le soja (SB), Chaque substrat a été séché à l'air, puis broyé (**Hoda et al., 2012**).

2.3. Production d'xylanase dans la fermentation

Les xylanases sont produites par fermentation à l'état solide ou submergée. Bien que la plupart des fabricants de xylanase produisent ces enzymes en utilisant des techniques de fermentation submergée (SMF) la productivité enzymatique via la fermentation à l'état solide (SSF) est normalement beaucoup plus élevée que celle de la fermentation submergée. L'intérêt croissant pour l'utilisation de techniques de fermentation à l'état solide (SSF) pour produire une grande variété d'enzymes (**Motta et al., 2012**)

Pour la bactérie *Arthobacter sp* :

La production d'xylanase est réalisée via la fermentation à l'état solide (SSF). Une fiole Erlenmeyer (250 ml) contenant 5 g de sciure de bois a été ajoutée à 15 ml de solution de sel basal minéral (MBSS) avec un rapport substrat/humidité de 1 : 3. Le milieu de production a été préparé avec la composition suivante (g/L) NaCl, 30,0 ; KCl, 0,75; MgSO₄ · 7,00 ; NH₄Cl , 0,5 ; K₂HPO₄ (10 %), 7,00 ml ; KH₂PO₄ (10 %), 3,00 mL et solution de métaux traces (mg/L) : H₃BO₃, 2,83 ; MnCl₂·7H₂O, 1,80; FeSO₄·7H₂O, 2,49; Na-K-tartrate, 1,77; CuCl₂ · 0,33 ; ZnCl₂ , 0,02; CoCl₂, 0,04 et Na₂MoO₄·2H₂O, 0,02. Les solutions de milieu et de métaux traces ont été autoclavées séparément. Les flacons ont été refroidis à température ambiante et une quantité connue d'oligo-éléments stérilisés a été ajoutée. Le flacon a été inoculé avec 1 ml d'inoculum et le contenu des flacons a été soigneusement mélangé pour assurer une distribution uniforme de l'inoculum et incubé à température ambiante pendant 24 heures (**Sevanan et al.,2011**).

Pour les souches *Bacillus subtilis* et *Bacillus megaterium*, la production de xylanase est réalisée en en fermentation submergée. Vingt-cinq millilitres de milieu de fermentation (g/l : Saccharose 20, K₂HPO₄ 0,5, NaCl 0,2, MgSO₄·7H₂O 0,16, extrait de levure 0,5.) avec 2 % de substrat (bagasse de canne à sucre). Après la stérilisation, le milieu a été inoculé avec une solution à 2% contenant cellules végétatives de *B. subtilis* BS04 et *B. megaterium* BM07 âgées de 24 heures. BM07 dans chaque flacon et incubé à 37 C pendant 48 h de fermentation. Période de fermentation avec une vitesse d'agitation de 140 rpm (**Muhammad et al.,2015**).

Pour les souches *Aspergillus niger* et *Trichoderma viride*, la fermentation à l'état solide a été réalisée pour la production de xylanase : La conception du milieu SSF a été préparée selon **Purkarthofer et al. (1993)** avec quelques modifications. Après la période d'incubation, 50 ml de

tampon acétate 0,1 M (pH 5,5) ont été ajoutés à chaque flacon et maintenus à température ambiante pendant 1 h sous agitation douce. La bouillie résultante a été filtrée à travers un tissu et centrifugée à 5000xg pendant 10 minutes.

2.4. Optimisation de production de xylanase

2.4.1. Bactéries

Pour les bactéries, différentes conditions de culture comme la durée de la fermentation (24-120 h), le pH initial du milieu (4-10), la température d'incubation (25-50°C), la taille de l'inoculum (0,5-3 %), la concentration en substrat (0.5-3.0%) et diverses conditions nutritionnelles telles que des sources de carbone supplémentaires (glucose, sucrose, fructose, CMC, arabinose, xylose), des sources d'azote (KNO₃, NaNO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄Cl, citrate d'ammonium, peptone, extrait de levure, Tryptone, extrait de malt, urée) supplémentation en mélasse (0,5-3,0 %) et la concentration de NaCl (0,2-1,0 %) ont été optimisées pour améliorer la production de xylanase par deux souches testées de *B. subtilis* BS04 et de *B. megaterium* BM07 dans un processus de fermentation submergée.

Pour *Arthobacter sp.*, l'effet de la supplémentation en sources de carbone et d'azote a été examiné à l'aide de sources de carbone constituées de carboxyméthylcellulose, de dextrose, de lactose et de saccharose (1 % à 5 %). De même, les sources d'azote examinées étaient le nitrate de potassium (KNO₃), le sulfate d'ammonium [(NH₄)₂SO₄], l'extrait de bœuf et peptone (1 % à 5 %). La concentration optimale des sources de carbone et d'azote a également été déterminée. L'effet synergique de diverses sources de carbone et d'azote qui a montré une activité xylanase élevée a également été examinée pour déterminer la meilleure combinaison de sources de carbone et d'azote pour l'activité xylanase. Les sources combinées de carbone et d'azote comprennent la carboxyméthylcellulose et la peptone, la carboxyméthylcellulose et l'extrait de boeuf, le dextrose et la peptone, et le dextrose et l'extrait de boeuf. Pour les mêmes études de supplémentation, la production d'enzymes a été réalisée à température optimale (30°C) et pH 9,0 pendant 96 heures.

2.4.2. Champignons

Le milieu SSF contenant un substrat solide et le milieu humidifiant décrit dans la section précédente a été pris comme milieu de base et les paramètres du procédé à l'étude ont été variés.

Différents déchets agricoles Paille de riz, paille de blé, paille de maïs, bagasse, épi de maïs, son de blé, son de riz, son de maïs, son d'orge et soja, temps d'incubation (1-8 jours), niveaux de pH initiaux (3,5-8,0), humidité (flacon de 0,5 à 7,0 ml), température d'incubation (20 à 55 °C), addition de 1,0 % de différentes sources d'azote organique (Tryptone, L-Glutamine, L-Asparagine, Urée), sources d'azote inorganique (nitrate d'ammonium, chlorure d'ammonium, nitrate de sodium, nitrate de potassium, sulfate d'ammonium), différents sels minéraux (eau du robinet, KCl, NaCl, CaCl₂, FeSO₄, CuSO₄, MnSO₄), la taille de l'inoculum (allant de 0,03 à 4,0 x 10⁷ spores/flacon) et enfin différents niveaux de son d'orge comme substrat solide approprié (flacon de 0,25 à 5,0 g) ont été réalisés (**Hoda *et al.*, 2012**).

Chapitre 3 :

Résultats et discussion

3.1. Cinétique de production de xylanase :

- *Bacillus subtilis* et *Bacillus megaterium* :

Différentes expériences ont été menées pour étudier la période optimale pour une production maximale de xylanase dans un de fermentation submergée. Les résultats (**Fig. 7**) ont montré que la période de fermentation de 48 heures était optimale pour la production de xylanase par *B. subtilis*BS04, tandis que *B. megaterium*BM07 a présenté une production maximale après 72 heures de fermentation. La production d'enzymes a diminué après une augmentation supplémentaire de la période de fermentation, ce qui pourrait être dû à la production de métabolites toxiques qui inhibent la synthèse enzymatique pendant la croissance microbienne (**Muhammad et al.,2015**).

Gupta et Kar (2009) ont étudié la production de xylanase par *Bacillus sp*, et ont rapporté que la production maximale de xylanase a été observée en 48 h et 72 h en utilisant respectivement du son de blé et l'épi de maïs comme substrat. **Mrudula et Shyam (2012)** ont rapporté un temps de fermentation de 48 h pour la production maximale de protéase à partir de *B. megaterium*MTTC2444. **Murugan et al. (2011)** ont signalé qu'une période de fermentation de 96 heures était optimale pour la production de xylanase par *Arthrobacter sp* MTCC 6915 en SSF en utilisant la poussière de scie comme substrat.

Dans une autre étude certaines souches de *Bacillus* ont montré une production maximale de xylanase après 24 h en utilisant du son digéré et 48 h de fermentation en utilisant de la sciure de bois comme substrat respectivement (**Heck et al., 2002 ; Simphiweet et al., 2011**). Ont isolé *B. subtilis* du sol qui présente l'activité xylanase la plus élevée après 72 heures de culture en SSF. *Bacilluslicheniformis*MTCC9415 une produire une un maximum de xylanase après 72 heures de fermentation dans la fermentation en milieu solide (**Gupta et Kar, 2008 ; Sepahy et al., 2011**) a signalé une période de fermentation de 48 heures par *Bacillus mojavensis*AG137 en fermentation submergée avec du son d'avoine comme substrat.

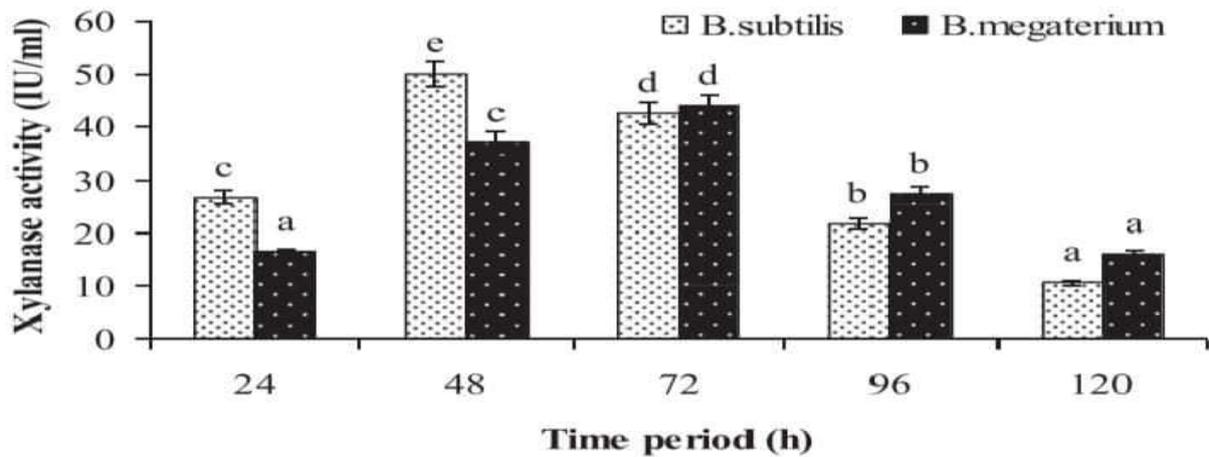


Figure 7. Étude de l'évolution temporelle de la production de xylanase par *Bacillus sp.* En fermentation submergée à 37°C. Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0.05$ (Muhammad *et al.*, 2015).

3.2 .Optimisation de la production de xylanases

3.2.1. Effet du pH initial du milieu

La plupart des bactéries dépendent du pH et produisent des xylanase à pH élevé (Poorna et Prema, 2006 ; Battan *et al.*, 2007) De nombreux processus enzymatiques et le transport de divers composants à travers les membranes cellulaires sont fortement affectés par le pH du milieu (Kapoor *et al.*, 2008).

B. subtilis BS04 et *B. megaterium* BM07 ont été testées pour la production maximale de xylanase en fermentation submergée à différentes gammes de pH (4-10). Les résultats (Fig. 8) ont montré que les deux souches de *Bacillus sp.* ont atteint leur pic d'activité à un pH de 8,0. Un pH plus faible (4) et plus élevé (10) du milieu de culture retarde la sécrétion de xylanase. Ces résultats indiquent que les deux souches bactériennes peuvent tolérer les conditions alcalines.

Des résultats similaires ont également été rapportés par Sepahy *et al.* (2011) qui ont montré un pH optimal de 8,0 pour la production de xylanase par *B. mojavensis* AG137 en fermentation submergée. Simphiwe *et al.* (2011) ont rapporté que huit souches différentes de

Bacillus sp ont montré une production maximale de xylanase à pH 8,0. *Bacillus pumilus* a montré une production maximale de xylanase à un pH de 7,0 (Monisha *et al.*, 2009).

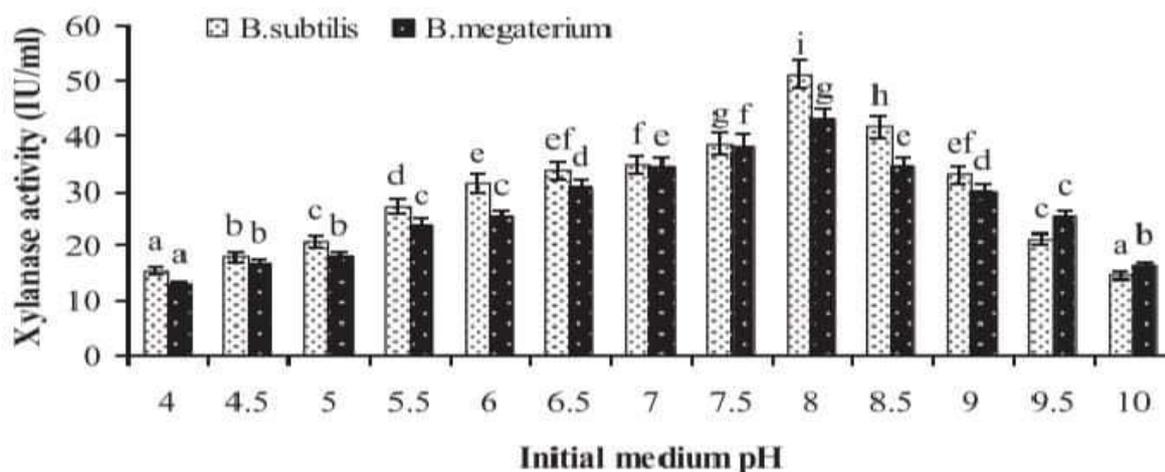


Figure 8. Effet du pH initial du milieu sur la production de xylanase lors d'une fermentation submergée de 48 h. Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$ (Muhammad *et al.*, 2015).

3.2.2 Effet de la température d'incubation

Différentes températures d'incubation (25-50°C) ont été testées pour production maximale de l'enzyme xylanase. Qu'à 25°C, les souches bactériennes ne se développent pas bien, ce qui entraîne une baisse de la production d'enzymes. *BS04 B. subtilisa* montrée production d'enzyme la plus élevée (51.60 ± 0.53 UI/ml) à 35°C tandis que *B. megaterium BM07* a produit le titre maximal de xylanase (41.66 ± 0.58 IU/ml) à 40°C. L'augmentation de la température d'incubation jusqu'à 50°C a réduit de manière significative la production d'enzyme (Muhammad *et al.*, 2015).

Sepahy *et al.* (2011) ont rapporté une température optimale de 37°C pour la xylanase par *B. mojavensis AG137* en fermentation submergée. Différentes souches de *Bacillus sp.* ont donné un rendement maximum de production de xylanase à des températures d'incubation de 45°C et 55°C (Simpfiwe *et al.*, 2011). Monisha *et al.* (2009) ont rapporté que l'incubation à 37°C a donné une production maximale de xylanase par *B. pumilus*.

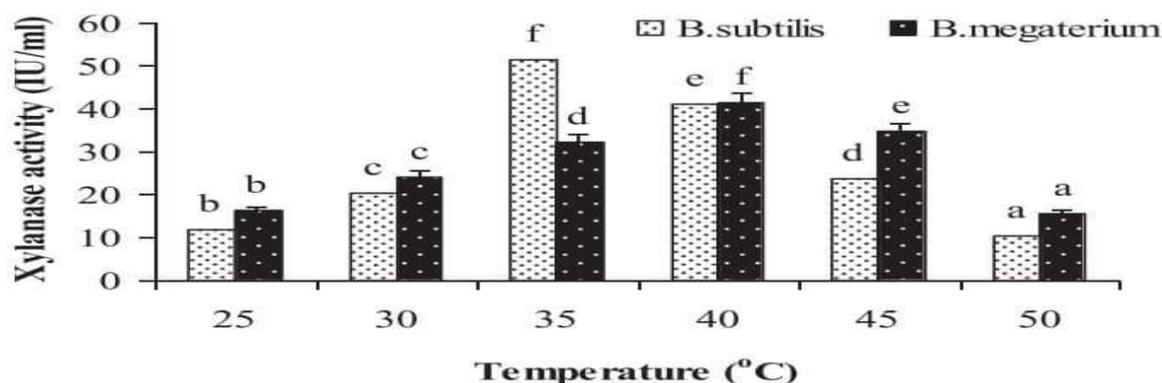


Figure 9. Effet de la température d'incubation sur la production de xylanase par *Bacillus sp.* Avec un pH initial du milieu de 8 pendant 48 h de période de fermentation. Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$ (Muhammad *et al.*, 2015).

3.2.3. Effet de la concentration du substrat

La figure 4 décrit l'effet de différentes concentrations de substrat (épis de maïs) (0,5 à 3,0 %) sur la production de xylanase par *Bacillus sp.* en fermentation submergée. Les résultats indiquent que *B. subtilis* BS04 a montré une production maximale d'enzyme (47,33±1,17 UI/ml) avec une concentration de substrat de 2% tandis que *B. megaterium* BM07 a montré sa production maximale (40,00±1,00 UI/ml) à une concentration de substrat de 1,5 %. Une augmentation supplémentaire de la concentration de substrat n'a pas affecté de manière significative la production d'enzyme (Muhammad *et al.*, 2015).

Saleem *et al.* (2002) ont isolé une nouvelle souche de *B. subtilis* qui peut produire la meilleure xylanase en utilisant 0,5 % de bagasse comme substrat dans une fermentation submergée. Gu (2006) ont travaillé sur la production d'endoxyanases par *Aspergillus awamori* ZH-26 dans le cadre d'une fermentation submergée, en indiquant que la concentration optimale de substrat (son de blé) de 4,93 % était la meilleure pour la production d'endoxyanases.

Immanuel *et al.* (2006) ont également signalé que la production d'endoglucanase était maximale avec une concentration de substrat de 1,5 % (poudre de coco) en utilisant *Cellulomonas sp.*, *Bacillus sp.* et *Micrococcus sp.*

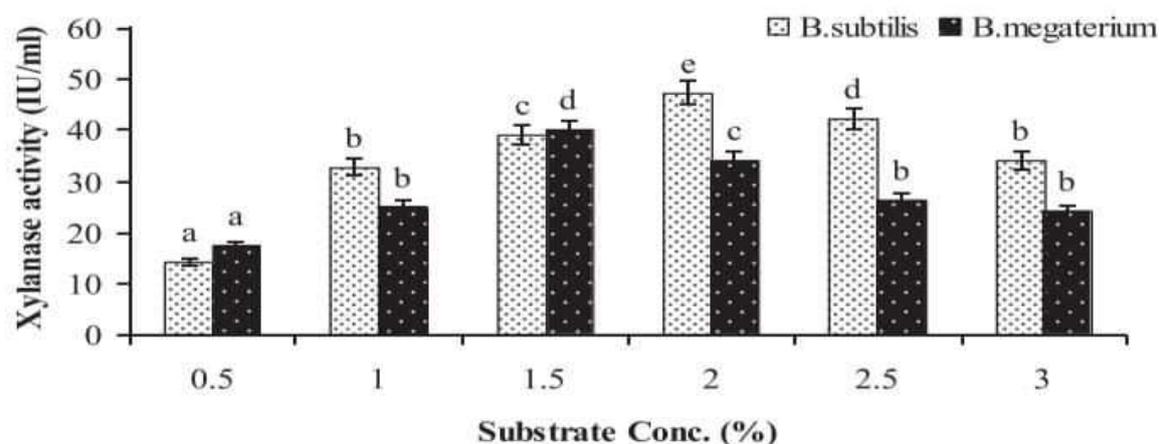


Figure 10. Effet de la concentration du substrat sur la production de xylanase par *Bacillus* sp. En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h). Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$ (Muhammad *et al.*, 2015).

3.2.4. Effet de la taille de l'inoculum

Différents niveaux d'inoculum (0,5-3,0 %) ont été testés pour améliorer la production d'enzyme xylanase par *Bacillus* sp en fermentation submergée. Lorsqu'un faible niveau d'inoculum (0,5 %) a été utilisé, la production d'enzyme était minimale, mais lorsque le niveau d'inoculum augmente, la production d'enzyme augmente également. Le rendement maximum de l'enzyme xylanase a été observé à 2 % avec le *Bacillus subtilis* BS04 et à 1,5% d'inoculum avec *B. Megaterium* BM07 (Fig. 11) (Muhammad *et al.*, 2015).

L'augmentation du niveau d'inoculum a surtout réduit la production de xylanase dans le processus de fermentation industrielle (Battan *et al.*, 2007). Cela peut être dû à l'épuisement des nutriments du milieu de fermentation, ce qui a entraîné une diminution de la synthèse enzymatique. Sepahy *et al.* (2011) ont rapporté que la taille de l'inoculum de 2% était la meilleure pour la production de xylanase par *B. mojavensis* AG137 en fermentation submergée.

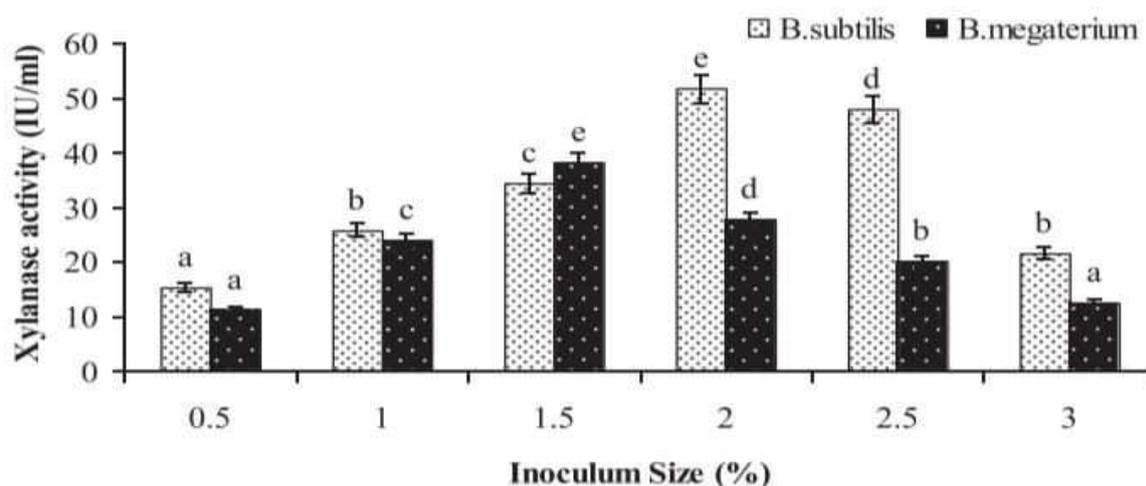


Figure 11. Effet de la taille de l'inoculum sur la production de xylanase par *Bacillus* sp. En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h). Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$ (Muhammad *et al.*, 2015).

3.2.5. Effet de sources de carbone

La production de xylanase a encore été améliorée en complétant le milieu de fermentation avec du carbone supplémentaire approprié.

Le **tableau 2** montre que le saccharose et la xylose à une concentration de 0,5 % ont été les meilleurs inducteurs de xylanase pour *B. subtilis* BS04 et *B. megaterium* BM07, respectivement, en fermentation submergée. Toute autre source de carbone comme le fructose, le glucose, la CMC (carboxyméthylcellulose) et l'arabinose ont donné une production d'enzyme moindre.

Azeri *et al.* (2010) ont isolé différentes souches de *Bacillus* sp. Et toutes ont montré une production maximale de xylanase en utilisant le xylane du bois de bouleau comme source de carbone. Saleem *et al.* (2002) ont rapporté que l'ajout de saccharose au milieu de fermentation augmente significativement la production de xylanase par *B. subtilis*. Pendant 96 heures de fermentation, le son de blé a été la meilleure source de carbone pour la production de xylanase par *Streptomyces* sp. (Sharma et Bajaj, 2005).

Tableau 1. Effet de la supplémentation de sources de carbone supplémentaires sur la production de xylanase par *Bacillus* sp. En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h) (**Muhammad et al., 2015**).

N° Sr.	Source de carbone		Activité xylanase (UI/ml)	
	<i>B. subtilis</i>	<i>B. megaterium</i>		
1	Control		19.96±1.55 ^a	16.63±1.18 ^a
2	Xylose		48.30±0.61 ^c	43.06±1.10 ^c
3	Fructose		38.80±1.25 ^d	26.60±1.21 ^b
4	Saccharose		54.80±0.52 ^f	39.27±0.94 ^d
5	Glucose		36.93±1.10 ^d	34.90±1.15 ^c
6	CMC		26.23±1.08 ^c	18.16±1.04 ^a
7	Arabinose		23.20±0.72 ^b	25.67±1.53 ^b

Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement $p < 0,05$

3.2.6. Effet de sources de d'azote :

Parmi toutes les sources d'azote inorganiques et organiques testées, Tryptone et le sulfate d'ammonium sont les meilleures pour *B. subtilis* BS04 tandis que le nitrate de potassium et l'extrait de malt pour *B. megaterium* BM07 pour la synthèse de la xylanase en fermentation submergée comme le montre le **tableau 3**. Par conséquent, ces sources d'azote ont été sélectionnées comme optimales pour les souches bactériennes respectives. Des études antérieures ont rapporté quelles sources d'azote organique stimulent la production de xylanase chez les espèces de *Bacillus* (**Battan et al., 2007**).

L'extrait de levure, Tryptone et l'extrait de levure le nitrate d'ammonium ont un effet stimulant sur la production de xylanase de *B. mojavensis*AG137 en fermentation submergée (Sepahy *et al.* 2011). Sharma et Bajaj (2005) ont isolé différentes espèces de *Streptomyce sp* et ont rapporté que la meilleure production de xylanase a été observée avec la farine de soja et l'extrait de levure comme sources d'azote dans le milieu.

Tableau 2. Effet de différentes sources d'azote sur la production de xylanase par *Bacillus*sp. En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h) (Muhammad *et al.*, 2015).

Sr.#	Sources d'azote inorganique	Activité xylanase (UI/ml)		Sources d'azote organique	Activité xylanase (UI/ml)	
		<i>B. subtilis</i>	<i>B. megaterium</i>		<i>B. subtilis</i>	<i>B. megaterium</i>
1	Control	3.07±0.058 ^a	3.56±0.15 ^a	Control	11.70±0.30 ^a	10.10±0.10 ^b
2	KNO ₃	21.33±0.15 ^d	34.5±0.25 ^f	Peptone	48.93±0.90 ^e	16.50±0.20 ^d
3	NaNO ₃	17.63±0.15 ^c	18.66±0.25 ^e	Extraie de levure	39.90±0.85 ^d	12.43±0.23 ^c
4	(NH ₄) ₂ SO ₄	38.03±0.06 ^e	21.33±0.15 ^d	Tryptone	55.66±0.41 ^f	21.30±0.30 ^e
5	NH ₄ Cl	20.27±0.15 ^d	24.03±0.6 ^e	Extrait de malt	23.40±0.72 ^e	43.66±0.06 ^f
6	Citrate d'ammonium	14.11±1.72 ^b	12.56±0.15 ^b	Urée	20.13±1.02 ^b	8.50±0.30 ^a

Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes de manière significative atp<0,05

3.2.7. Effet de différentes concentrations de NaCl

Différentes concentrations de sel allant de 0,2 à 1,0% ont été testées pour la production de xylanase. *B. subtilis* BS04 a montré production maximale de xylanase (48,1±1,00 UI/ml) à 0,2 % de concentration de NaCl et une augmentation supplémentaire de la concentration a entraîné la production d'enzyme a diminué jusqu'à 12,20±0,35 UI/ml à 1% de NaCl, comme le montre la **figure 12**.L'autre souche *B. megaterium*BM07a présenté une activité maximale (45,93±0,11 UI/ml) avec une concentration de 0,8 % de NaCl ce qui montre son caractère halophile (Muhammad *et al.*, 2015).

Sajitha et al. (2011) ont isolé une souche de *B. megaterium* qui présente une bonne croissance dans un milieu contenant 0,3% de NaCl et a donné un rendement maximal d'amylase. **Shaheen et al. (2008)** ont travaillé sur la production de protéase par *B. subtilis*. 1, 5 % de NaCl était la meilleure concentration pour la production maximale de protéase en fermentation submergée.

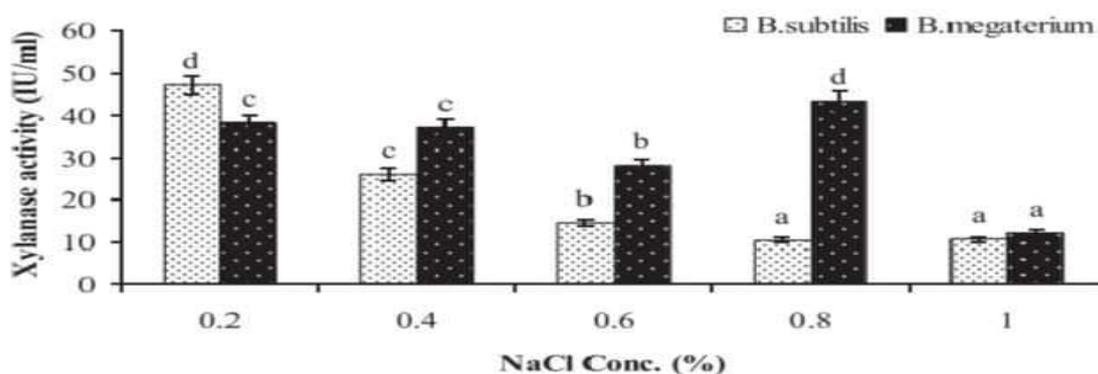


Figure 12. Effet de différentes concentrations de NaCl sur la production de xylanase par *Bacillus sp.* En fermentation submergée (pH initial 8, période de 48 h). Les valeurs présentées sont les moyennes des triplicats et les lettres différentes significativement à $p < 0,05$ (**Muhammad et al., 2015**).

3.2.8. Effet de la période d'incubation sur l'activité xylanase

Le substrat utilisé dans la présente étude était de la sciure de bois et, lorsqu'elle était cultivée sur de la sciure de bois, la production maximale d'enzymes observée était de 96 heures (117,6 U/mL) toutes les 24 heures à 540 nm. Seules de petites quantités de xylanase ont été produites au cours des premières 24 heures (8,4 U/mL) de fermentation, mais la production de xylanase a rapidement augmenté entre 48 et 96 heures (**Figure13**).

Aspergillus niger, lorsqu'il est cultivé sur de la paille de riz sous fermentation à l'état solide, a montré une production maximale de xylanase après 120 heures d'incubation (**Kang et al., 2004**). *Penicillium oxalicum*, lorsqu'il est cultivé sur du son de blé sous fermentation à l'état solide, a montré une production maximale après 144 heures (**Muthechilan et al., 2007**).

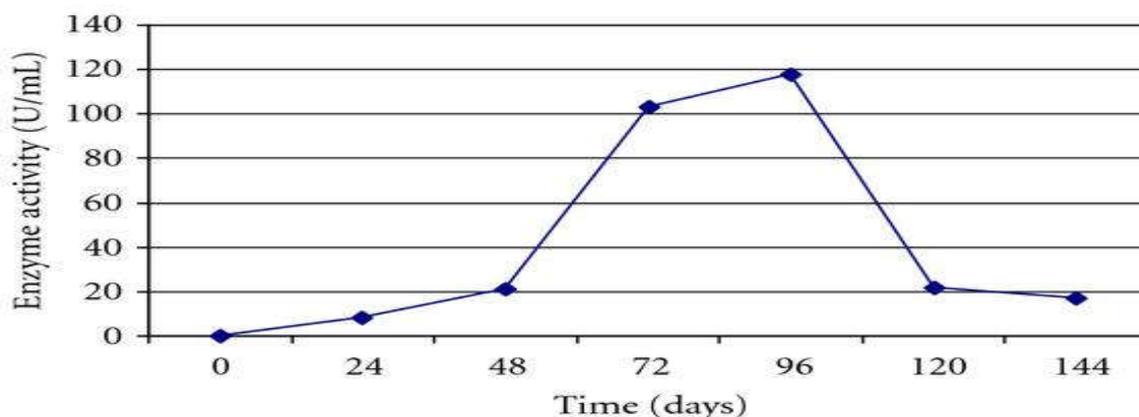


Figure 13. Effet de la période d'incubation sur l'activité xylanase d'*Arthrobacter sp* MTCC 6915 En utilisant de la sciure de bois comme substrat (Sevanan *et al.*, 2011).

3.2.9. Effet des sources de carbone sur l'activité xylanase d'*Arthrobacter sp* :

L'impact de la supplémentation en source de carbone externe à une concentration de 1 % à 5 % sur l'activité de la xylanase a été étudié, dans lesquelles quatre sources de carbone différentes ont été examinées et les résultats sont présentés à la figure 14. Toutes les sources de carbone ont diminué l'activité xylanase à 5 %. Les diminutions peuvent également être causées par les sources de carbone complexes présentes dans les milieux de production. Sur la base de l'analyse des résultats, on peut conclure que les micro-organismes nécessitent un faible niveau de carbone pour produire des enzymes, car ils sont le facteur limitant.

Parmi les quatre sources sélectionnées, 4 % de carboxyméthylcellulose (176,4 U/mL) ont montré l'activité enzymatique maximale. De même, 4 % de dextrose (126,0 U/mL) ont également montré des résultats relativement plus élevés, mais inférieurs à ceux de la carboxyméthylcellulose. Le saccharose et le lactose ont montré une très faible activité enzymatique. Dans la présente étude, il a été constaté que 4% de carboxyméthylcellulose et de dextrose sont les bonnes sources pour la production d'enzyme xylanase (Figure 14). L'effet des sources de carbone sur la production de xylanase par *P. oxalicum* a montré une activité enzymatique plus élevée pour la carboxyméthylcellulose, par rapport au saccharose, au lactose et au glucose (Muttechilan *et al.*, 2007).

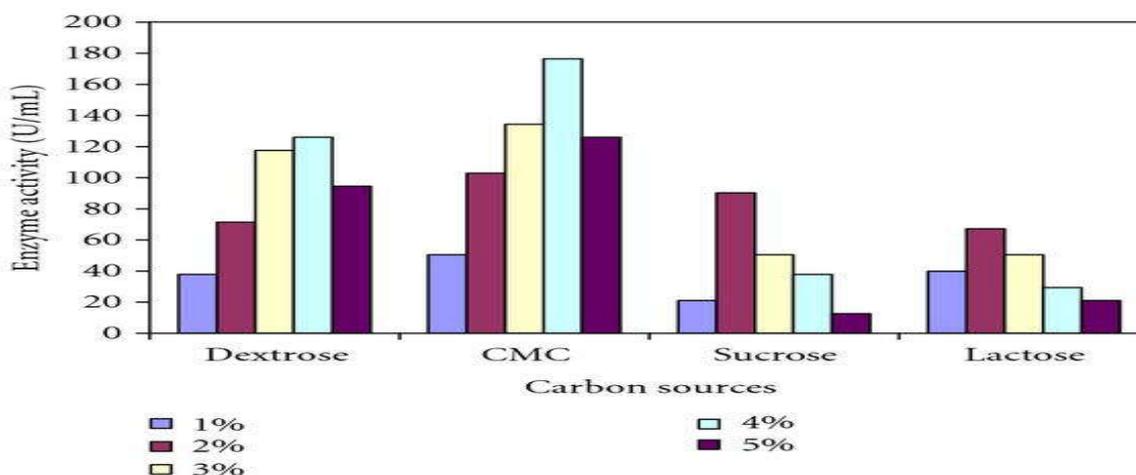


Figure 14. Effet des sources de carbone sur l'activité xylanase d'*Arthrobacter sp. MTCC 6915* utilisant de la sciure de bois comme substrat (Sevanan *et al.*, 2011).

3.2.10. Effet des sources d'azote

Parmi les quatre sources d'azote testées, la peptone à 1 % (170,1 U/mL) s'est avérée présenter l'activité enzymatique maximale (**Figure 15**). De même, l'extrait de bœuf à 1 % (161,7U/mL) a également montré une activité relativement plus élevée, cependant inférieure à celle de la peptone. Le sulfate d'ammonium et le nitrate d'ammonium ont montré une très faible activité enzymatique. Dans la présente étude, il a été constaté que 1% de peptone et d'extrait de bœuf sont de bons compléments pour la production d'enzyme xylanase (**Figure 15**). *Enterobacter sp MTCC 5112* a montré la production de xylanase la plus élevée lorsque le milieu de croissance a été complété avec de la peptone (Khandeparkar et Bhosle, 2005). Effet des sources d'azote surproduction de xylanase par *Penicillium*.

Oxalicumont montré une activité enzymatique plus élevée pour la peptone par rapport à l'extrait de bœuf, au sulfate d'ammonium et au nitrate d'ammonium (Muttechilan *et al.*, 2007).

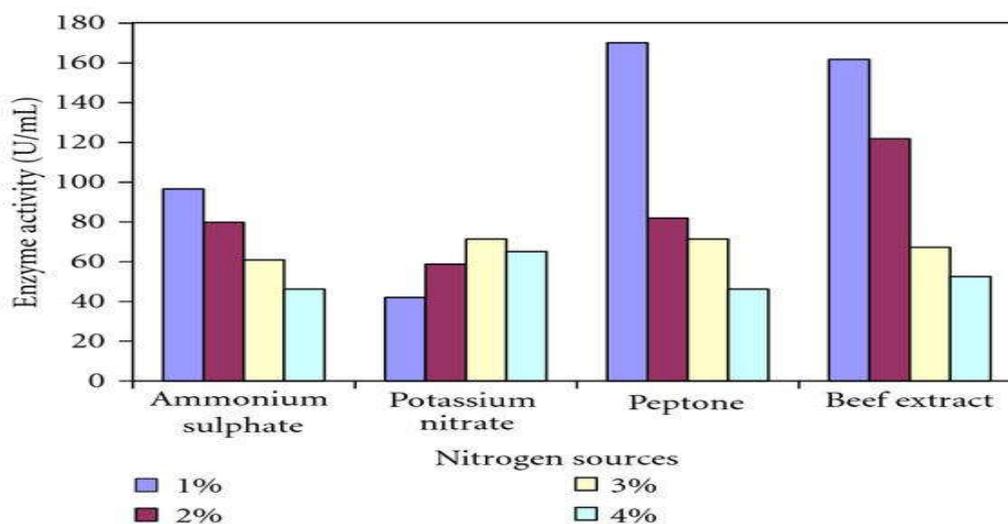


Figure 15. Effet des sources d'azote sur l'activité xylanase d'*Arthrobacter sp. MTCC 6915* utilisant de la sciure de bois comme substrat (Sevanan *et al.*, 2011).

- *Aspergillus niger* et *Trichoderma viride* :

3.2.11. Effet de différents substrats

L'effet de différents substrats lignocellulosiques sur la production de xylanase par *A. niger* et *T. viride* a été étudié. Les résultats (Tableau 4) ont montré une variation significative entre *A. niger* et *T. viride* dans leurs capacités de production de xylanase, la valeur de variation a été atteinte à 18,0 %. En outre, *A. niger* s'est avéré être le producteur de xylanase le plus actif sur tous les substrats utilisés, à l'exception du son de blé, par rapport à *T. viride*. La variation (63,4%) entre les différents substrats et son utilisation comme inducteurs de xylanase étaient significatives. Ce résultat peut être attribué à la valeur du xylane ou des ratios cellulose : xylane dans chaque substrat (Haltrichet *al.*, 1994 ; Ghanemet *al.*, 2000). Les résultats ont également indiqué que le son d'orge (BB) possède l'inducteur de xylanase le plus potentiel par rapport aux autres substrats utilisés. Le son d'orge a été augmenté l'enzyme à environ 12,5 et 11,0 Ug de substrat⁻¹ par *A. niger* et *T. viride*, respectivement.

Tableau 3. Effet de différents substrats sur la production de xylanase (**Hoda et al., 2012**).

Different substrates	Xylanase activity (Ug substrate ⁻¹)	
	<i>A. niger</i>	<i>T. viride</i>
Rice straw	03.8±0.05	03.2±0.11
Wheat straw	08.7±0.14	08.1±0.21
Bagasse	02.0±0.11	00.7±0.05
Wheat bran	02.0±0.17	05.8±0.24
Rice straw+wheat bran (3:1)	10.2±0.27	05.6±0.14
Rice straw+wheat bran (1:1)	08.1±0.15	02.5±0.17
Rice bran	12.1±0.13	04.0±0.03
Barley bran	12.5±0.13	11.0±0.13
Corn bran	08.0±0.20	01.7±0.22
Corn straw	06.5±0.21	03.7±0.30
Corn cob	11.7±0.25	06.5±0.06
Soy bean	05.0±0.12	00.9±0.09

Avec ce résultat, le son d'orge a été sélectionné comme substrat le plus approprié pour d'autres expériences.

3.2.12. Effet de différentes périodes d'incubation

Dans cette expérience, la production de xylanase par *A. niger* et *T. viride* a été étudiée pendant 8 jours d'incubation lorsqu'ils sont cultivés sur BB. Les résultats de la figure 16 indiquent que les activités de xylanase ont commencé après le premier jour d'incubation. Une diminution significative des activités de la xylanase a été observée à partir du quatrième jour. Pour les deux champignons, une incubation de 2,0 jours était l'optimum pour une production de xylanase plus élevée (**Hoda et al., 2012**).

Les taux les plus élevés de xylanase étaient de 26,25 et 24,22 Ug de substrat⁻¹ pour *A. niger* et *T. viride*, respectivement. Notre période d'incubation optimale pour la production de xylanase sur du son à peine est très courte par rapport à la plupart des autres études sur différents substrats. Le court temps d'incubation offre des avantages significatifs tels que; réduisant le risque de contamination et diminuant les coûts de production d'enzymes. Ce résultat est en bon accord avec celui obtenu par Fadel (2001) Généralement, la période de fermentation optimale pour une production maximale de xylanase pendant la SSF dépendait de la nature du substrat, de l'organisme, des nutriments additifs et de nombreuses autres conditions de fermentation (**Dekker, 1983 ; Mishra et al., 1985**).

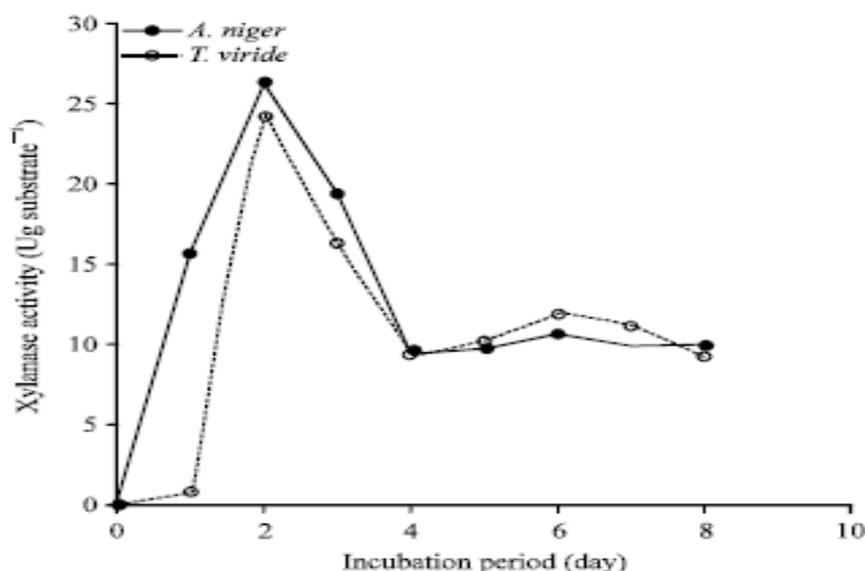


Figure 16. Effet de différentes périodes d'incubation sur la production de xylanase (**Hoda et al., 2012**).

3.2.13. Effet de différents niveaux de pH :

Les résultats (**Fig.17**) ont montré que les xylanases maximales ont été montrées à une plage de pH de 4,5 à 6,5 pour les deux champignons. Cependant, la xylanase a diminué à un pH faible (inférieur à pH 0,4) et à un pH élevé (supérieur à pH 6,5). pH 5,5 était l'optimum pour la production de xylanase par *A. niger* (substrat 22,53 Ug⁻¹) et *T. viride* (substrat 19,42 Ug⁻¹). Les effets du pH initial sur la production de xylanase ont un effet synergique et un effet antagoniste. Le micro-organisme détient une plage de pH pour sa croissance et son activité avec des valeurs optimales, entre ces plages, le pH initial influence le système enzymatique et le transport de l'enzyme à travers la membrane cellulaire (**Poorna et Prema, 2007 ; Mohanaet al ., 2008**).

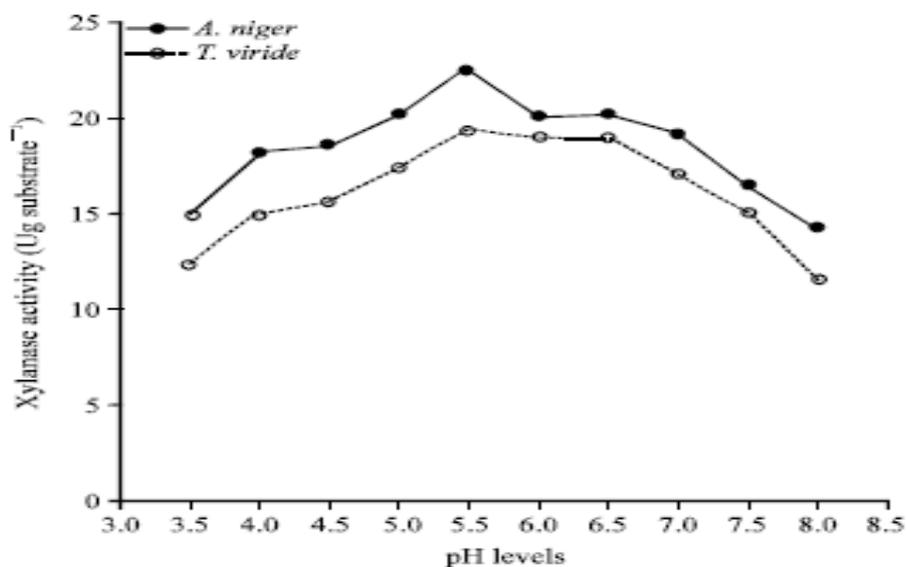


Figure 17. Effet de différents niveaux de pH sur la production de xylanase (**Hoda *et al.*, 2012**).

3.2.14. Effet de différents niveaux d'humidité

Les résultats (Figure 18) indiquent que les activités de la xylanase ont augmenté à des niveaux d'humidité modérés (75-80 %); Alors que, diminué sous des teneurs en humidité inférieures (33-66%) et supérieures (83-88%). 75 % était l'humidité initiale optimale pour la production de xylanase par *A. niger* (21,32 Ug de substrat⁻¹) et *T. viride* (17,9 Ug de substrat⁻¹). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Smits *et al.* (1996)**.

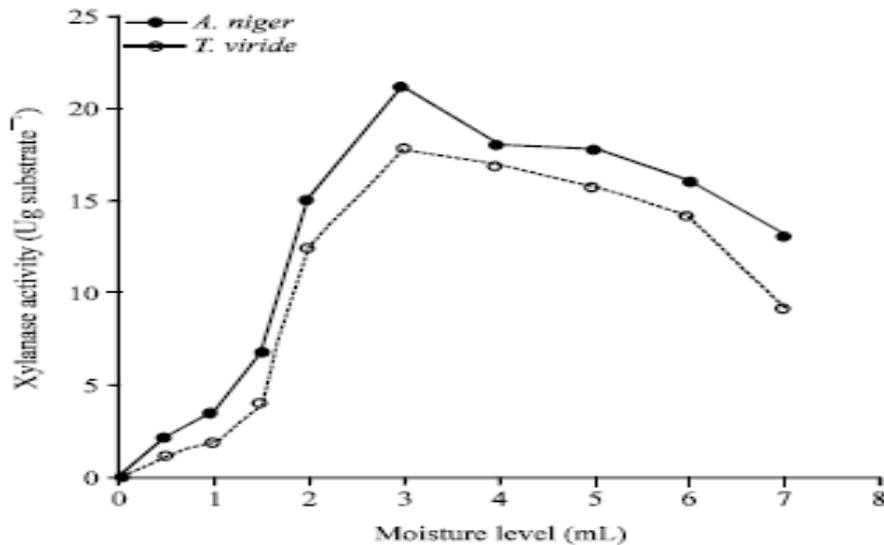


Figure 18. Effet de différents niveaux d'humidité sur la production de xylanase (**Hoda et al., 2012**).

3.2.15. Effet des différentes températures :

La température d'incubation est l'un des facteurs les plus importants qui ont fortement affecté la production d'enzyme. Le type de déchets fermentescibles peut également affecter la valeur de la température d'incubation. Les résultats (Figure 19) ont montré des xylanases maximales à une température comprise entre 30 et 40°C. Cependant, 35 °C était l'optimum pour la xylanase d'*A. niger* (25,32 Ug de substrat⁻¹) et de *T. viride* (19,55 Ug de substrat⁻¹). Des résultats plus ou moins similaires pour les xylanases ont déjà été rapportés (**Fadel, 2001 ; Lu et al., 2003**). En revanche, **Suh et al. (1988)** ont signalé une double réduction de la xylanase RL-P37 mutante de *T. reesei* lorsque la température augmentait de 25 °C à 37 °C.

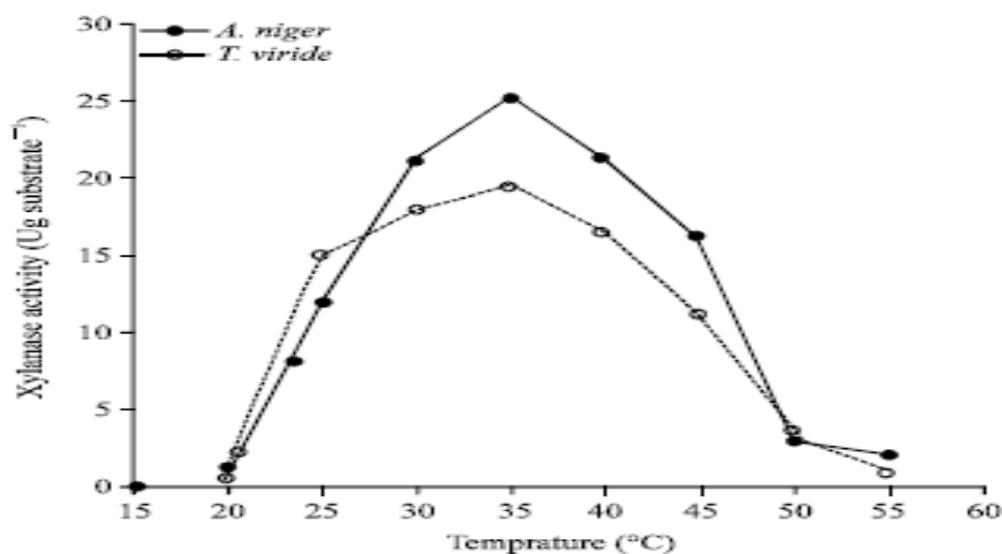


Figure 19. Effet de différentes températures sur la production de xylanase (**Hoda *et al.*, 2012**).

3.2.16. Effet de différentes sources d'azote

Les effets de la supplémentation de différentes sources d'azote inorganiques et organiques sur la production de xylanase sont évalués. Les résultats du tableau 5 indiquent qu'à peine le son seul convient mieux à la production de xylanase. *A. niger* atteint l'activité xylanase maximale (substrat de 42,1 Ug⁻¹) en l'absence d'azote additif au milieu BB ; tandis que le niveau le plus élevé de xylanase de *T. viride* a été détecté en présence de NH₄NO₃ (31,2 Ug substrat⁻¹) et (NH₄)₂SO₄ (29,7 Ug substrat⁻¹), respectivement. La richesse du son d'orge naturel avec certaines sources d'azote telles que les hordéines, les glutélines, les acides aminés et les vitamines (**Kulp et Ponte, 2000**) peuvent être suffisants pour stimuler la croissance et améliorer la production de xylanase. Généralement, ce résultat est en bon accord avec celui obtenu par Bailey et Poutanen (1989) et Purkarthofer *et al.* (1993) , ils ont rapporté que le son de blé et l'épi de maïs seuls sont efficaces pour induire des niveaux élevés de xylanase pendant la SSF.

Tableau 4. Effet de différentes sources d'azote sur la production de xylanase (**Hoda et al., 2012**).

Different nitrogen sources	Xylanase activity (Ug substrate ⁻¹)	
	<i>A. niger</i>	<i>T. viride</i>
Control	42.1±0.60	23.9±0.25
NH ₄ NO ₃	20.2±0.17	31.2±1.28
NH ₄ Cl	26.5±0.21	21.9±3.01
NaNO ₃	23.8±0.13	19.9±0.27
KNO ₃	11.9±0.22	21.9±0.16
(NH ₄) ₂ SO ₄	17.1±0.17	29.7±0.30
Tryptone	19.9±0.26	27.6±0.14
L-Glutamine	17.3±0.13	23.6±0.15
L-Asparagine	20.2±0.17	17.2±0.12
Urea	15.9±0.11	14.6±0.18

D'autre part, certains champignons ont besoin de composés azotés additifs pour stimuler la production de xylanase (**Haltrich et al., 1994**) comme dans le cas de *T. viride*. À cet égard, le résidu NH₄ était nécessaire pour une augmentation de 1,7 fois de la production de xylanase par *A. terreus* cultivé sur de la paille de blé (**Ghanem et al., 2000**).

3.2.17. Effet de différentes sources minérales

Dans cette expérience, les résultats (**tableau.6**) ont indiqué que la production de xylanase est fortement affectée par différents sels minéraux additifs. Le KCl est la source minérale la plus appropriée pour une production maximale de xylanase à la fois par *A. niger* (substrat de 43,0 Ug¹) et *T. viride* (substrat de 25,1 Ug⁻¹). Ce résultat est en accord avec celui obtenu par **Kunamneni et al. (2005)**, qui ont signalé l'impuissance des minéraux au cours du processus SSF sur plusieurs résidus agricoles. de plus, **Krishna (2005)** ont rapporté que la supplémentation du milieu de fermentation avec un mélange de solutions salines telles que Na⁺, Ca⁺⁺, Ni⁺, Cu⁺, Fe⁺⁺, Mn⁺⁺, K⁺, Zn⁺⁺, Mg⁺⁺ et Mo⁺⁺, etc. stimulent la croissance et le rendement de production d'enzymes.

Tableau 5. Effet de différentes sources minérales sur la production de xylanase (**Hoda et al., 2012**).

Different mineral sources	Xylanase activity (Ug substrate ⁻¹)	
	<i>A. niger</i>	<i>T. viride</i>
Control	29.6±0.38	12.5±0.17
Tap water	39.5±0.16	22.4±0.14
Kcl	43.0±0.12	25.1±0.12
NaCl	22.1±0.13	14.2±0.23
CaCl ₂	33.2±0.12	18.9±0.19
FeSO ₄	12.5±0.15	11.1±0.12
CUSO ₄	13.7±0.21	10.5±0.15
MnSO ₄	24.6±0.20	20.8±0.70

2.18. Effet des différents niveaux de substrat du son d'orge

Le niveau de substrat est un facteur vital chez SSF. Il a beaucoup d'influences sur d'autres facteurs de fermentation de culture ; tels que la profondeur du substrat, l'aération, le transfert de chaleur, la teneur en humidité, la taille de l'inoculum, le taux de croissance microbienne, etc. Le niveau approprié dépend fortement du type de substrat, de la taille du substrat, de l'organisme et de l'enzyme étudiée (**Fadel, 2000**). Les résultats (**Figure 20**) ont indiqué que 1,0 g de son D'orge est optimal en termes de profondeur, de niveau d'humidité et de taille d'inoculum. Il était optimal de rendre le substrat adapté à la production optimale de xylanase à partir D'*A. niger* (substrat de 42,02 Ug⁻¹) et de *T. viride* (substrat de 22,02 Ug⁻¹).

La diminution de l'activité de la xylanase à des niveaux de substrat inférieurs allant de 0, 25 à 0, 75 g de flacon peut être attribuée à une faible profondeur, à une forte teneur en humidité, à une taille d'inoculum élevée et à l'augmentation de la quantité de protéines solubles(**Figure 20**). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Fadel (2000) et Kumar et Satyanarayana (2004)**. D'autre part, la réduction de l'activité de la xylanase à des niveaux plus élevés de son d'orge (flacon de 2,0 à 5,0 g⁻¹) peut être attribuée à une plus grande profondeur du substrat, à une diminution de la teneur en humidité, à une diminution de la taille de l'inoculum, à une réduction du gonflement du substrat et de la diffusion des nutriments et à une diminution de la quantité de protéines solubles. Des résultats similaires ont été rapportés par **Lonsane et al. (1985) et Fadel(2000)**.

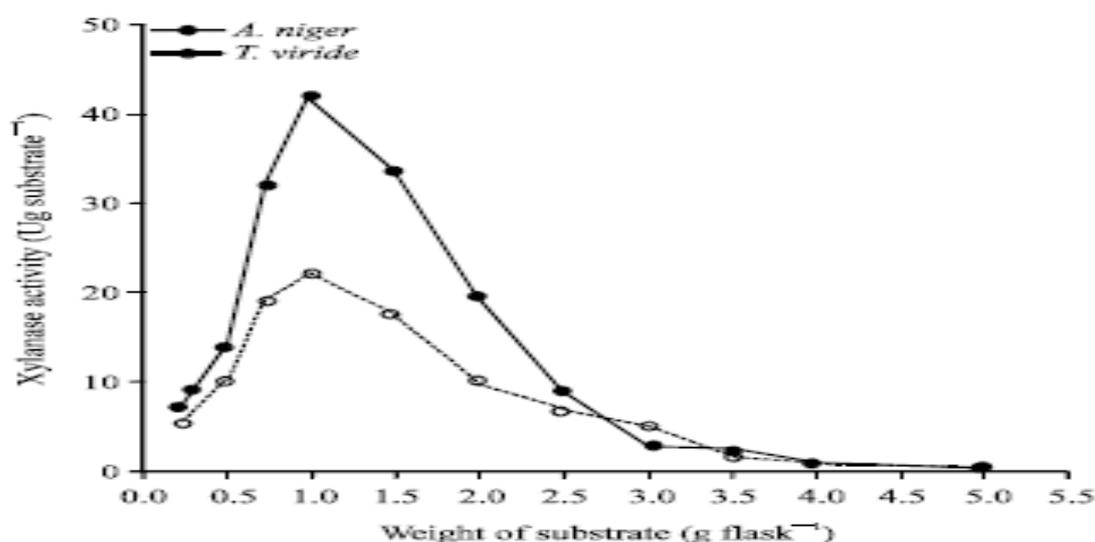


Figure 20. Effet de différents niveaux de substrats sur la production de protéines (**Hoda et al., 2012**).

L'optimisation de la production de xylanase a révélé qu'elle augmentait d'environ 11,1 et 6,9 fois pour *A. niger* et *T. viride* respectivement lorsque les champignons cultivés sur du son d'orge au lieu de la paille de riz utilisée comme premier substrat dans l'enquête. Il s'agissait également d'une augmentation de 3,36 et 2,00 fois pour *A. niger* et *T. viride*, respectivement (**Tableau 7**) après l'optimisation de différentes conditions de culture sur un milieu à peine de son (**Hoda et al., 2012**).

Tableau 6. Résumé de la production de xylanase de *A. niger* et *T. viride* sur paille de riz et après optimisation sur son d'orge (**Hoda et al., 2012**).

Fungi	Xylanase activity (Ug substrate ⁻¹)			Xylanase fold increasing	
	Xylanase activity on RS	Xylanase activity on BB before optimization	Xylanase activity after optimization on BB	Fold increase due to optimization on BB	Fold increase against RS
<i>A. niger</i>	03.8±0.05	12.5±0.13	42.0±0.22	3.36	11.1
<i>T. viride</i>	03.2±0.11	11.0±0.13	22.1±0.12	2.00	6.9

Ceux-ci peuvent être attribués à l'adéquation et à la richesse du son d'orge ainsi qu'à l'adéquation d'autres conditions SSF qui augmentent le rendement de production de xylanase par les champignons utilisés.

A. niger et *T. viride* en tant que deux isolats locaux pourraient être utilisés pour la dégradation de plusieurs résidus agricoles et les producteurs de xylanase. Le son d'orge était le substrat le plus approprié pour la production d'enzymes par rapport aux autres substrats utilisés. *A. niger* est la souche fongique la plus potentielle dans la production de xylanase par rapport à *T. viride*. Il produit environ 42,5 Ug de substrat⁻¹ d'enzyme sur 1,0 g de son d'orge après 2,0 jours d'incubation à température (35°C), niveau de pH (5,5), niveau d'humidité (75%) et KCl sous forme de sel minéral sans sources d'azote additives. L'optimisation a augmenté de 11,1 et 6,9 fois l'activité de la xylanase dans le cas d'*A. niger* et de *T. viride* respectivement sur le son d'orge par rapport à leurs niveaux sur la paille de riz (**Hoda et al., 2012**).

Conclusion

Conclusion

L'objectif de notre travail était d'optimiser la production des xylanases par certaines espèces des bactéries et des champignons, la majorité vivant dans le sol salin et montré l'importance de l'optimisation des conditions pour une meilleure production de xylanase. Les conditions de la culture telle que : le pH, la température, les sources de carbone et les sources d'azote ont été optimisés.

Parmi les bactéries étudiés dans ce mémoire : *Bacillus* (*B. subtilis* et *B. Megaterium*) et *Arthobacter sp* et les champignons ont choisi : *Aspergillus niger* et *Trichoderma viride*.

Les souches *A. niger* et *T. viride* en tant que deux isolats locaux pourraient être utilisés pour la dégradation de plusieurs résidus agricoles et les producteurs de xylanase. Le son d'orge était le substrat le plus approprié pour la production d'enzymes par rapport aux autres substrats utilisés. *A. niger* est la souche fongique la plus potentielle dans la production de xylanase par rapport à *T. viride*. Il produit environ 42,5 U_g de substrat⁻¹ d'enzyme sur 1,0 g de son d'orge après 2,0 jours d'incubation à température (35°C), niveau de pH (5,5), niveau d'humidité (75%) et KCl sous forme de sel minéral sans sources d'azote additives. L'optimisation a augmenté de 11,1 et 6,9 fois l'activité de la xylanase dans le cas d'*A. niger* et de *T. viride* respectivement sur le son d'orge par rapport à leurs niveaux sur la paille de riz.

Les résultats d'*Arthobacter sp* indiquent fortement que le système SSF utilisant la sciure de bois comme substrat est une méthode économique pour la production de xylanase à un coût opérationnel extrêmement faible, car des déchets bon marché et abondants sont générés dans les industries du bois. Une production optimale de xylanase est obtenue à la température 30°C et à pH 9.

Pour *B. subtilis* et *B. Megaterium*, les résultats de la présente étude ont révélé que *B. Megaterium* peut produire l'enzyme xylanase en utilisant la bagasse de canne à sucre comme substrat dans une fermentation submergée qui n'a pas été rapportée plus tôt obtenue une optimale production de xylanase à température entre 40°C à 60°C, et PH optimale est 5 à *B. subtilis*, 5,5 chez *B. Megaterium*.

En conclusion, la production de xylanases doit être améliorée en trouvant des souches fongiques ou bactériennes plus puissantes ou en induisant des souches mutantes à excréter de plus grandes quantités d'enzymes. De plus, le niveau de production d'enzymes microbiennes est influencé par une variété de facteurs nutritionnels et physiologiques, tels que l'apport de carbone et d'azote, les circonstances physiques et les conditions chimiques.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. Acuña-Argüelles M.E., Gutiérrez-Rojas M., Viniegra-González G., Favela-Torres E. 1995. Production and properties of three pectinolytic activities produced by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 43:808–814.
2. Agnihotri S., Dutt D., Tyagi C. H., Kumar A., Upadhyaya J. S. 2010. Production and biochemical characterization of a novel cellulase-poor alkali-thermo-tolerant xylanase from *Coprinellus disseminatus* SW-1 NTCC 1165. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26: 1349–1359.
3. Annamalai N., Thavasi R., Jayalakshmi S., Blasubramanian T. 2009. Thermostable and alkaline tolerant xylanase production by *Bacillus subtilis* isolated from marine environment. *Indian Journal of Biotechnology* 9(1): 63- 72.
4. Assamoi A.A., D'Estaing J., Thonart P. 2009. Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- β -1,4-xylanases de moisissures : le cas de *Penicillium canescens*. *Biotechnology Agronomy Soc Environment* 13(2): 281-294.
5. Azeri C., Tamer A.U., Oskay M. 2010. Thermoactive cellulase-free xylanase production from alkaliphilic *Bacillus* strains using various agro-residues and their potential in bioleaching of kraft pulp. *African Journal of Biotechnology* 9(1): 63.
6. Babu K.R., Satyanarayana T. 1996. Production of bacterial enzymes by solid-state fermentation, *Journal of Scientific and Industrial Research* 55: 464–467.
7. Badhan A.K., Chadha B.S., Kaur J., Saini H.S., Bhat M.K. 2007. Production of multiple Xylanolytic and cellulolytic enzymes by thermophilic fungus *Myceliophthora* IMI 387099. *Bioresource Technology* 98:504–510.
8. Bailey M.J., Poutanen K. 1989. Production d'enzymes xylanolytiques par des Souches d'*Aspergillus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 30: 5-10.
9. Balan V., Jin M., Culbertson A., Uppugundla N. 2013. The saccharification step: *Trichoderma Reesei* cellulase hyper producer strains, in: lignocellulose conversion. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 65–91.
10. Barry V., Dillon T. 1940. Occurrence of xylanes in marine algae. *Nature* 146: 620-620.

11. Battan B., Sharma J., Dhiman S.S., Kuhad R.C. 2007. Enhanced production of cellulase-free thermostable by *Bacillus pumilus* ASH and its potential application in Paper industry. *Enzyme Microbial. Technology* 41:733–739.
12. Battan B., Dhiman S.S., Ahlawat S., Mahajan R., Sharma J. 2012. Application of thermostable xylanase of *Bacillus pumilus* in textile processing. *Indian J Microbiology* 52: 222–229.
13. Beg Q.K., Kapoor M., Mahajan L., Hoondal G.S. 2001. Microbial xylanases and Their industrial applications: a review. *Applied. Microbiology. Biotechnology* 56:326–338.
14. Béguin P., Aubert J.P. 1994. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Reviews* 13: 25–58.
15. Bernier R., Desrochers M., Jurasek L., Paice M. G. 1983. Isolation and characterization of a xylanase from *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology* 46(2): 511-514.
16. Biely P. 1985. Microbial xylanolytic systems. *Trends Biotechnology* 3:86–90.
17. Bilgrami K. S., Pandey A.K. 1992. In E.S.K. Jain (Ed.) *Industry and fermentation Introduction to biotechnology*, pp. 149-165.
18. Braaksma M., Berg R.A., Werf M.J., Punt P.J. 2010. A top-down systems biology approach for the identification of targets for fungal strain and process development. In; Borkovich. k.a., Ebbole. *Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fung.* Ed; ASM Press. Washington. U.S.A. 25-35.
19. Carvalho A.F.A., Neto O., Silva D.D., Pastore G.M. 2013. Xylo-oligosaccharides from Lignocellulosic materials: chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Research International* 51(1): 75-85.
20. Castilho L.R., Alves T.L.M., Medronho R.A. 2000. Production and extraction of pectinase obtained by solid state fermentation of agro industrial residues with *Aspergillus niger*. *Bioresource. Technology* 71:45–50.
21. Chanda S. K., Hirst E. L., Jones J. K. N., Percival E. G .V. 1950. The constitution of xylan from esparto grass. *J. Chem. Soc* 12889–12897.
22. Chakrit T., Khin L. K., Khanok R. 2006. Purification of xylanase from alkaliphilic *Bacillus sp.* K-8 by using corn husk column. *Process Biochemistry* 41(12): 2441-2445.

23. Collins T., Gerday C., Feller G. 2005. Xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology. Rev* 29: 3–23.
24. Considine P.J., Coughlan M.P. 1989. Enzyme System for lignocellulose degradation, in: M.P. Coughlan (Ed.), *Enzyme System for Lignocellulose Degradation*, Elsevier Applied Science, London.
25. Corral O. L. 2006. *Advances in Agricultural and food biotechnology* 305-322.
26. Dashtban M., Schraft H., Qin W. 2009. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities perspectives. *International Journal of Biological Sciences* 578–595.
27. Dekker R.F.H. 1983. Bioconversion de l'hémicellulose : Aspects de la production d'hémicellulase par *Trichoderma reesei* QM 9414 et saccharification enzymatique de l'hémicellulose. *Biotechnologie. Bioénergie* 25: 1127-1146.
28. Dhiman S.S., Sharma J., Battan B .2008. Pre-treatment process of fabrics by Alkalothermophilic xylanase from *Bacillus stearothermophilus SDX*. *Enzyme Microbiology Technology* 43:262–269.
29. Diaz A.B., Caro I., dory I., Blandino A. 2007. Evaluation of the conditions for The extraction of hydrolytic enzymes obtained by solid state fermentation from grape Pomace. *Enzyme Microbial. Technology* 41:302–306.
30. Dodd D., Cann I.K.O. 2009. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. *GCB Bioenergy* 1: 2–17.
31. Eda S., Ohnishi A., Kato K.1976. Xylan isolated from the stalk of nicotiana tabacum. *Agricol. Biology. Chemistry* 40: 359–364.
32. Elad Y., Chet I., Henis Y. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma Harzianum*. *Can. J. Microbiologie.* 28: 719–725.
33. Fadel M. 2000. Production d'enzyme amylolytique thermostable par *Aspergillus niger* F-909 sous fermentation à l'état solide. *Egypte. J. Microbiologie* 35 : 487-505.
34. Fadel M. 2001. Production de haut niveau de xylanase à partir de farine de sorgho par un nouvel isolat de *Trichoderma harzianum* cultivé sous fermentation à l'état solide. *Ann. Microbiologie* 51: 61-78.
35. Georis J., Giannotta F., Buyl E.D., Granier B., Frere J.M. 2000. Purification and properties of three endo- β -1,4-xylanases produced by *Streptomyces sp.* strain S38 which

- differ in their ability to enhance the bleaching of kraft pulps. *Enzyme and Microbial Technology* 9.
36. Ghanem N.B., Yusef H.H., Mahrouse H.K. 2000. Production de xylanase d'*Aspergillus terreus* dans des cultures à l'état solide : application du plan expérimental de Plackett-Burman pour évaluer les besoins nutritionnels. *Bioressource. Technologie* 73 : 113-121.
 37. Gupta U., Kar R. 2008. Optimization and scale up of cellulase free endo xylanase production by solid state fermentation on corn cob and by immobilized cells of a thermo tolerant bacterial isolate. *Jordan Journal of biological Science* 1(3):129-134.
 38. Gupta U., Kar R. 2009. Xylanase production by a thermo tolerant *Bacillus* species under solide state and submerged fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52(6): 1363-1371
 39. Gupta V.K., Gaur R., Gautam N., Yadav S.R., Singh N. 2009. Optimization of xylanase production from free cells of *Fusarium solani* F7. *Bioresource* 4:932-945.
 40. Haberre S. 2014. Production, optimisation et étude de xylanases chez une nouvelle souche d'*Actinomycète* thermophile isolée du compost de poulet.
 41. Haltrich D., Nidetzky B., Kulbe K.D., Steine W., Zupancic S. 1996. Production de xylanases fongiques. *Bioresource. Technologie* 58 : 137-161.
 42. Haltrich D., Press M., Steiner W. 1994. Formation de xylanase par *Schizophyllum commune* : effet des composants du milieu. *TechnologieMicrobienne Enzymatique* 16: 229-235.
 43. Harris A.D., Ramalingam C. 2010. Xylanases and its application in food Industry: A Review 1, 11.
 44. Heck J.X., Plinho F., Marco H., Ayub A. Z. 2002. Cellulase and xylanase production by isolated Amazon *Bacillus strains* using soybean industrial residue based solide- state cultivation *Brazilian Journal of Microbiology* 33:213-218.
 45. Immanuel G., Dhanusha R., Prema P., Palavesam A. 2006. Effete of different growth parameters on endoglucanase enzyme activity by bacteria isolated from coir retting effluents of estuarine Environment. *International Journal of Environment Science and technology* 3(1): 25-34.

46. Ismail A.S.1996. Utilization of orange peels for the production of multienzyme complexes by some fungal strains. *Process Biochemical* 31:645–650.
47. Kang S. W., Park Y. S., Lee J. S., Hong S. I., Kim S. W. 2004.Production of cellulases and hemicellulase by *Aspergillus niger* KK2 from lignocellulosic biomass,” *Bioresource Technology*, vol. 91, no. 2, pp. 153–156
48. Kamble R. D., Jadhav A. R. 2012.Isolation, purification, and characterization of xylanase produced by a new species of *Bacillus* in solid state fermentation. *International Journal of Microbiology*.
49. Kapoor M., Nair L.M., Kuhad R. C. 2008.Cost-effective xylanase production from free and immobilized *Bacillus pumilus* strain MK001 and its application in saccharification of prosopis juliflora. *Biochemical Engineering Journal*38(1) :88-97.
50. KENZA D., Sara D.2018.Étude de la production de xylanase par une souche d'*Aspergillus sp* (S3). Mémoire de Master, Université Frère Mentouri Constantine 1, 49p.
51. Khandeparkar R., Bhosle N.B.2005.Purification and characterization of thermoalkalophilic xylanase isolated from the *Enterobacter sp. MTCC 5112*, *Research in Microbiology*, vol. 157, no. 4, pp. 315–325
52. Kholi U., Nigam P., Singh D., Chaudhary K. 2001. Thermostable, alkaliphilic and cellulose free xylanase production by thermoactinomycetsthalophilus subgroup C.*Enzyme Microbial Technology* 28: 606-610.
53. Kiddinamoorthy J., Alfredo J., Gulelat D.H., Rakshit S.K.V .2008.Production, purification and characterization of *Bacillus sp. GRE7* xylanase and its application in eucalyptus Kraft pulp bioleaching. *World J MicrobiologyBiotechnology* 24:605–612.
54. Knob A., Terrasan C.R.F., Carmona E.C. 2010,β-Xylosidases from filamentous fungi: an overview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26 : 389–407.
55. Krishna C., 2005.Systèmes de fermentation à l'état solide - un aperçu. *Crit. Rev. Biotechnology* 25: 1-30.
56. Kulp K., Ponte J .G. 2000.Manuel de science et technologie céréalières. 2^{ème} édition, Marcel Dekker, New York, États-Unis., ISBN-13 : 9780824782948. 790 p.
57. Kumar D., Kumar S.S., Kumar J., Kumar O., Mishra S.V., Kumar R., Malyan S.K. 2017.Xylanases and Their Industrial Application:aReview9.

58. Kumar L., Kumar D., Nagar S., Gupta R., Garg N., Kuhad R.C., Gupta V.K. 2014. Modulation of xylanase production from alkaliphilic *Bacillus pumilus* Vlk-1 through process optimization and temperature shift operation. *Biotechnology*. 4: 345–356.
59. Kumar S., Satyanarayana T. 2004. Optimisation statistique d'une production de glucoamylase thermostable et neutre par une moisissure thermophile *Thermomucor indicae-seudaticae* en fermentation à l'état solide. *Monde J. Microbiology. Biotechnology* 20 : 895-902.
60. Kunamneni A., Permaul K., Singh S. 2005. Production d'amylase en fermentation à l'état solide par le champignon thermophile *Thermomyces lanuginosus*. *J. Bioscience. Bioenergie* 100: 168-171.
61. Lansing M., Prescott. John P., Harley. Donald A., Klein. 2003. *Microbiologie. De Boeck Supérieur* p. 1137.
62. Létourneau D. 2006. Evaluation de l'influence de la température de traitement sur les propriétés du Pin Gris *Pinus Banksiana* Lamb, Université du Québec, pp.12-16.
63. Li K.C., Azadi P., Collins R., Tolan J., Kim J.S., Eriksson K.E.L. 2000. Relation between activities of xylanases and xylan structures. *Enzyme Microbial. Technology* 27 : 89–94.
64. Lonsane B.K., Ghildyal N.P., Budiartman S., Ramakrishna S.V. 1985. Aspects techniques de la fermentation à l'état solide. *Enzyme Microbiologie. Technologie* 7 : 258-265.
65. Lu W., Li D., Wu Y. 2003. Influence de l'activité de l'eau et de la température sur la biosynthèse de la xylanase dans la fermentation à l'état solide à l'échelle pilote par *Aspergillus sulphurous*. *Enzymatique Microbienne. Technologie*. 32 : 305-311.
66. Maarouf A. 2020. Production de bioéthanol à partir d'une biomasse lignocellulosique multi-ressources locale par prétraitement organosolv et hydrolyse enzymatique. Thèse de Doctorat, Université Clermont Auvergne, 170 pages.
67. Manimaran A., Santhosh K.K., Permaul K., Singh S. 2009. Hyper production of Cellulase-free xylanase by *Thermomyces lanuginosus* SSBP on bagasse pulp and its application in bioleaching. *Applied Microbiology Biotechnology* 81:887–893
68. Mathew G.M., Sukumaran R.K., Singhania R.R., Pandey A. 2008. Progress in research on fungal cellulases for lignocellulose degradation 11.

69. Mirande C. 2009. Dégradation des fibres pariétales et système xylanolytique de *Bacteroides xylanisolvens* XB1AT et *Roseburia intestinalis* XB6B4, espèces bactériennes du microbiote intestinal humain. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 250p.
70. Mishra C., Seeta R., Rao M. 1985. Production d'enzymes xylanolytiques en association avec les activités cellulolytiques de *Penicillium funiculosum*. *Enzyme Microbiologie Technologie* 7: 295-299.
71. Mohammad J., Keikhosro K. 2007. Acid-Based hydrolysis processes for Ethanol from lignocellulosic materials: A review, *Bioresource* 472-499.
72. Mohana S., Shah A., Divecha J., Madamwar D. 2008. La production de xylanase par *Burkholderia* sp. souche DMAX sous fermentation à l'état solide à l'aide d'un lavage usé de distillerie. *Bioresource. Technologie* 99: 7553-7564.
73. Monisha R., Uma M. V., Murthy V.K. 2009. Partial purification and characterization of *Bacillus pumilus* xylanase from soil source. *Kathmandu University Journal of Science Engineering and Technology* 5(2): 137-148.
74. Mrudula S., Shyam N. 2012. Immobilization of *Bacillus megaterium* MTCC 2444 by Calcium alginate entrapment method for enhanced alkaline protease production. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 55(1): 135-144.
75. Murugan S., Arnold D., Pongiya U. D., Narayanan P. M. 2011. Production of xylanase from *Arthrobacter* sp. MTCC 6915 using saw dust as substrate under solid state fermentation.
76. Muthechilan R., Ashok R., Jayalakshmi S. 2007. Production and optimization of thermostable alkaline xylanase by *Penicillium oxalicum* in solid-state fermentation, *African Journal of Microbiology Research*, pp. 20–28.
77. Novaes E., Kirst M., Chiang V., Winter-Seder H., Sederhoff R. 2010. Lignin and biomass: a negative correlation for wood formation and lignin content in trees 1, *Plant Physiology*, vol. 154, no 2, p. 555-561.
78. Nunn J. R., Parolis H., Russell I. 1973. Polysaccharides of the red algae *Chaetangium erinaceus*. Part I: isolation and characterization of the water-soluble xylan. *Carbohydrate Research* 26: 169–180.

79. O'Donohue M.J. 2008. La production de carburants à partir de biomasse lignocellulosique par voie biologique : état de l'art et perspectives. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 15 : 172–177.
80. Padilha I.Q.M., Valenzuela S.V., Grisi C.S.L., Diaz P., Araújo D.A.M., Pastor F.I.J. 2014. A glucurono xylan-specific xylanase from a new *Paenibacillus favisporus* strain isolated from tropical soil of Brazil. In *Microbiology* 171: 75-184.
81. Pandey A. 2003. Solid-state fermentation. *Biochemical. Engineering* 13:81–84.
82. Pandey A., Selvakumar P., Soccol C .R., Nigam P. 1999. Solid state fermentation For the production of industrial enzymes. *Current Science* 77: 149–162.
83. Patil S.R., Dayanand A. 2006. Production of pectinase from deseeded sunflower Headby *Aspergillus niger* in submerged and solid-state conditions. *Bioresource. Technology* 97:2054–2058.
84. Percival E. G .V. Chanda S. K. 1950. The xylan of *Rhodymenia palmate*, *Nature* 166: 787–788.
85. Polizeli M .L.T.M., Rizzatti A.C.S., Monti R., Terenzi H.F., Jorge J.A., Amorim D.S. 2005. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. *Applied Microbiology Biotechnology* 67: 577–591.
86. Poorna C. A., Prema P. 2006. Production and partial characterization of endoxylanases By *Bacillus pumilus* using agro industrial residues. *Biochemical Engineering Journal* 33(2):106-112.
87. Poorna C.A ., Prema P. 2007. Production d'endoxylanases sans cellulase à partir d'un Nouveau *Bacillus pumilus* alcalophile thermotolérant par fermentation à l'état solide et Son application au recyclage des vieux papiers. *Bioresource. Technologie* 98 : 485-490.
88. Purkarthofer H., Sinner M., Steiner W. 1993. Xylanase sans cellulase de *Thermomyces lanuginosus* : optimisation de la production en culture immergée Et à l'état solide. *Enzyme Microbienne. Technologie* 15: 677-682.
89. Raimbault M., Alazard D. 1980. Culture method to study fungal growth in solid Fermentation. *European J. Applied. Microbiology. Biotechnology* 9: 199–209.
90. Reis S. D., Costa M.A.F., Peralta R.M. 2003. Xylanase production by a wild Strain of *Aspergillus nidulans*. *Acta Scientiarum: Biological Sciences. Maringá* 25: 221-225.
91. Rodriguez-Couto S., Sanromán M.A. 2006. Application of solid-state fermentation to

- Food industry-A review. *J. Food Engineering* 76:291–302.
92. Rowell R. M. 2005. Handbook of wood chemistry and wood composites. Florida, USA. CRC Press, pp.487.
93. Roy N., Rowshanul H.M. 2009. Isolation and characterization of xylanase producing strain of *Bacillus cereus* from soil. *Iranien Journal of Microbiology* 1:49-53.
94. Ryabova O., Vršanská M., Kaneko S., van Z.Y.I., Biely P. 2009. A novel family of hemicellulolytic α -glucuronidase. *FEBS Lett* 583:1457–1462.
95. Ryu K.G., Kim Y.G. 1997. Effects of surfactants on the enzymatic bleaching of Kraft pulp by xylanase. *Biotechnology. Bioprocess Engineering* 2: 94–96.
96. Silva D.R., Lago E.S., Merheb C.W., Macchione M.M., Park Y.K., Gomes E. 2005. Production of xylanase and cmcase on solid state fermentation in different residues By *Thermoascus aurantiacus* miehe. *Braz. J. Microbiology* 36:235–241
97. Saidi A. 2011. La biomasse lignocellulosique et la bioénergie 4–5.
98. Saleem M., Akhtar M.S., Jamil S. 2002. Production of xylanase on natural substrates by *Bacillus subtilis*. *International Journal of Agricultural Biology* 4(2):211-213.
99. Sanghi A., Garg N., Gupta V. K., Mittal A., Kuhad R.C. 2010. One-step purification and characterization of cellulase-free xylanase produced by alkaliphilic *Bacillus subtilis* ASH. *Brazilian Journal of Microbiology* 41:467-476.
100. Sa' -Pereira P., Costa Ferreira M., Aires-Barros M.R. 2002. Enzymatic properties of a Neutral endo-1, 3(4)-B-xylanase Xyl from *Bacillus subtilis*. *Journal of Biotechnology* 94: 265-275.
101. Seiboth B., Metz B. 2011. Fungal Arabian and l-arabinose metabolism. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89: 1665–1673.
102. Sepahy A. A., Ghazi S., Sepahy M. A. 2011. Cost-effective production and optimization of alkaline xylanase by indigenous *Bacillus mojavensis* AG137 fermented on agricultural waste. *Enzyme Research*, 9.
103. Sharma B., Bajaj B. K. 2005. Production and partial characterization of alkali-Tolerant xylanase from an alkaliphilic *Streptomyces sp.* CD3. *Journal of Scientific and Industrial Research* 64:688-697.
104. Silva D., Martins E.S., Silva R. 2002. Gomes E. Pectinase production By *Penicillium viridicatum* RFC3 by solid state fermentation using agricultural wastes

- And agro-industrial by-products. *Braz. J. Microbiology* 33:318–324.
- 105.** Simphiwe P., Ademola B., Olaniran O., Pillay B .2011. Sawdust and digestive Bran as cheap alternate substrates for xylanase production. *African Journal of Microbiology Research* 5(7):742-752.
- 106.** Singh S., Madlala A .M., Prior B. A.2003. *Thermomyces lanuginosus*: properties of strains and their hemicellulase. *FEMS Microbiology Reviews* 27: 3–16.
- 107.** Smits J.P., Rinzema A., Tramper J., Sonsbeek H.M., Knol W.1996. Fermentation À l'état solide du son de blé par *Trichoderma reesei* QM9414 : Modifications de la Composition du substrat, bilan C, production d'enzymes, croissance et cinétique. *Microbiologie appliquée. Biotechnologie*46: 489-496.
- 108.** Subramaniyan S., Prema P. 2002. Biotechnology of microbial xylanases: Enzymology, molecular biology, and application. *Critical Reviews in Biotechnology*. 22(1):33-64.
- 109.** Subramaniyam R., Vimala R. 2012. Solid state and submerged fermentation For the production of bioactive substances: a comparative study 480–486.
- 110.** Suh D.H., Becker T.C., Sands J.A ., Montenecourt B.S. 1988. Effets de la Température sur la sécrétion de xylanase par *Trichoderma reesei*. *Biotechnologies. Bioenergie*32: 821-825.
- 111.** Sunna A., Antranikian G.1997. Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology* 17: 39–67.
- 112.** Walia., Abhishek., Mehta., Preeti., Chauhan., Anjali., Shirked., Karan C. 2013. Optimization of cellulase-free xylanase production by alkaliphilic *Cellulosimicrobium sp.* CKMX1 in solid-state fermentation of apple pomace using central composite design and response surface methodology. *Ann Microbiology* 63:187–198.
- 113.** Wong K.K.Y., Tan L.U., Saddler J.N. 1988. Multiplicity of β -1,4-xylanase in Microorganisms: functions and applications. *Microbiological Reviews* 52(3): 305-317.
- 114.** Wong K.K.Y., Saddler J.N., Coughlan M.P., Hazelwood G.P., Eds., Portland Press. 1993. Applications of hemicelluloses in a food, feed, and pulp and paper Industries. In: *Hemicelluloses and Hemicellulase*, pp. 27–43.
- 115.** Yang S.Q., Yan Q.J, Jiang Z.Q., Li L.T., Tian H.M., Wang Y.Z. 2006. High-level

of Xylanase production by the thermophilic *Paecilomyces thermophila* J18 on wheat Straw in solid-state fermentation. *Bioresource Technology* 97(15) :1794-1800.

Annexes

Annexe1

Tableau 1. Comparaison entre fermentation solide et liquide (Raimbault et Alazard, 1980; Assamoi *et al.* 2009).

Facteur	Fermentation solide (SSF)	Fermentation liquide (FL)
Substrat	Polymère insolubles	Substrats solubles (sucres)
Eau	Consommation limitée de l'eau (aw faible)	Des grands volumes d'eau sont consommés (aw élevée)
pH et Température	Contrôle aléatoire et transfert difficile de la chaleur	Contrôle facile
Aération (O ₂)	Aération facile et diffusion rapide de l'oxygène	Faible solubilité de l'(O ₂) dans l'eau
Contamination	Des espèces de moisissures	Elevée par les espèces microbiennes
Demande énergétique	Faible	Elevée
Biomasse	Inséparable du substrat	Facilement séparable
Produit	Concentré	Très dilué

ملخص

أهداف هذا العمل هي إنتاج xylanase بواسطة أنواع مختلفة من البكتيريا والفطريات تحت الحالة الصلبة أو التخمر المغمر وأيضا تحديد وتحسين العوامل المؤثرة على إنتاج xylanase للحصول على عائد إنزيمي أفضل. بشكل عام، يكون *A. niger* أكثر نشاطا في إنتاج xylanase من *T. viride* عندما ينمو على 1.0 جرام من نخالة الشعير عند درجة حموضة 5,5 و35 درجة مئوية بعد 2 يوم من الحضانه. تبين أن إنتاج xylanase بواسطة *Arthrobacter sp* هو الأمثل في فترة حضانه 96 ساعة، عند درجة حرارة 30 درجة مئوية وعند درجة حموضة 9. ثبتت *Bacillus subtilis* الحد الأقصى من إنتاج xylanase عند درجة حموضة أولية 8 عند 35 درجة مئوية خلال 48 ساعة من التخمر. أظهرت السلالة الأخرى *Bacillus megaterium*، أقصى إنتاج لها من xylanase عند درجة حموضة متوسطة أولية قدرها 8، عند درجة حرارة حضانه 40 درجة مئوية لمدة 72 ساعة من التخمر. كانت درجة الحرارة المثلى ل xylanase هي 50 درجة مئوية وكان الرقم الهيدروجيني 5 و5,5 بواسطة *B. subtilisBS04* و *B. MegateriumBM07* على التوالي.

الكلمات المفتاحية: التحسين، إنتاج xylanase، البكتيريا، الفطريات، درجة الحموضة.

Résumé

Les objectifs de ce travail étaient de produire de la xylanase à partir différentes espèces des bactéries et des champignons sous fermentation à l'état solide ou submergée et aussi la détermination et l'optimisation des paramètres influençant la production de xylanases pour obtenir un meilleur rendement enzymatique. Généralement, *A. niger* est plus actif dans La production de xylanase que *T. viride* lorsqu'il est cultivé sur 1,0 g de son d'orge à pH 5,5 et 35°C après 2,0 jours d'incubation. La production de xylanase par *Arthrobacter sp* s'est Avérée optimale à une période d'incubation de 96 heures, à une température de 30 °C et à un pH de 9, 0. *Bacillus subtil* a inhibé la production maximale de xylanase à un pH initial de 8 à 35°C Pendant 48 heures de fermentation. L'autre souche, *Bacillus megaterium*, a montré sa production maximale de xylanase à un pH initial du milieu de 8, à une température d'incubation de 40°C pendant 72 heures de fermentation. La température optimale de la xylanase était de 50°C et Le pH était de 5 et 5,5 par *B. subtilisBS04* et *B. MegateriumBM07* respectivement.

Mots clé : optimisation, production xylanase, bactéries, champignons, pH.

Abstract

The objectives of this work were to produce xylanase from different species of bacteria and fungi under solid state or submerged fermentation and also the determination and optimization of the parameters influencing the production of xylanases to obtain a better enzymatic yield. Generally, *A. niger* is more active in xylanase production than *T. viride* when grown on 1.0 g of barley bran at pH 5.5 and 35°C. After 2.0 days of incubation. Xylanase production by *Arthrobacter sp* was found to be optimal at an incubation period of 96 hours, at a temperature of 30°C and a pH of 9.0. *Bacillus subtilis* inhibited maximum xylanase production at an initial pH of 8 at 35°C during 48 hours of fermentation. The other strain, *Bacillus megaterium*, showed maximum xylanase production at an initial pH of the medium of 8, at an incubation temperature of 40°C for 72 hours of fermentation. The optimal temperature for xylanase was 50°C and the pH was 5 and 5.5 by *B. subtilisBS04* and *B. MegateriumBM07* respectively.

Keyword: optimization, xylanase production, bacteria, fungi, pH.