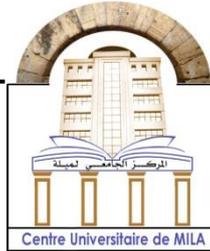


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Les enzymes d'origines fongiques et leurs
emplois dans la biotechnologie**

Présenté par :

- ATROUZ Khaoula
- BENNOUR Ghouzlan
- BOUSBIA Manel

Devant le jury :

Présidente :	AMARI. S	M.C.B	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila
Examinatrice :	MENN ALLAH	M.C.B	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila
Promoteur :	BENSERRADJ. O	M.C.A	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement

Nous tenons tout d'abord et avant tout à remercier "ALLAH" de tout puissant qui nous a données durant toutes ces années le courage, la volonté, la patience et la foi en nous pour arriver à ce jour.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre directrice de mémoire madame Mme **Benserredj ouafa**.

Nous la remercions de nous avoir encadrées, orientées, aidées et conseillées. Sa présence indéfectible à nos écoutes et sa chaleur humaine.

Aussi nous ne manquons pas de présenter nos remerciements à madame **Menn allah** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Également nous n'omettons pas, à remercier madame **Amari** d'avoir présidé ce jury.

Nous adressons nos sincères, remerciements à tous les enseignants qui ont assuré notre formation durant les cinq ans et toutes les personnes par leur conseils et critiques tout au long nos études.

Nous remercions infiniment nos très chers parents lesquels grâce à dieu et à eux nous sommes ici ; ils ont toujours été là pour nous, merci pour tout ce que vous avez fait et entrain de faire pour nous.

Nous remercions nos chers frères et sœurs pour leur encouragement. En fins nos remercions nos collègues et nos chers amis pour leur soutien inconditionnel.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur encouragement et leur soutien tout au long de mes études, que Allah les bénisse.

A mon très chère encadreur: Mme Benserradje ouafa.

A mes chères sœurs: Ahlem, Nessrine, soundous

A mon chère frère: Djihad.

A tous mes amies et mes collègues.

Bennour Ghouzlan.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur encourage et leur soutien tout au long de mes études, que Allah les bénisse.

A ma très chère encadreuse : Mme Benserradje ouafa.

A mes chères sœurs : khaddija,hassina

A mes here frères: Ahmed, yaccine, fakher Eddin

A tous mes amies et mes collègues.

Atrouz khaoula.

Dédicace

Au nom d'ALLAH le Clément et le Miséricordieux, je dédie ce modeste travail

A La source de tendresse, le symbole de sacrifice, la flamme de mon cœur, ceux qui sans leurs soutiens indéfectibles et sans limite, ce mémoire n'aura jamais pu voir le jour ; mes très chers parents, qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Mon cher papa : Naaman, ma chère maman : Kharfia

, Que dieu vous protège, préserve et vous bénisse. Je prie dieu que la réussite sera toujours à ma portée pour que je puisse vous combler que du bonheur

A mes très chères sœurs Iman ;Hadjer ;Ibtissam ; et Doha

A mes collègues Gouzlan et Khaoula

A tous mes amis et tous ceux qui m'estiment.

Manel bousbia.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Les enzymes

1. Enzymes 3

1.1. Définition des enzymes..... 3

1.2. Classification des enzymes 3

2. Enzymes importantes à l'échelle industrielle 4

2.1. Protéase 4

2.1.1. Définition 4

2.1.2. Classification des protéases..... 4

2.1.3. Mode d'action : 5

2.1.4. Sources microbiennes des protéases 5

2.1.5. applications industrielles des protéases 6

2.2. Alpha-amylase 7

2.2.1. Définition 7

2.2.2. Mode d'action 7

2.2.3. Sources microbiennes de l'alpha amylase..... 8

2.2.4. Applications industrielles des amylases 9

2.3. Cellulases 11

2.3.1. Définition des cellulases..... 11

2.3.2. Mode d'action des cellulases..... 11

2.3.3. Sources microbiennes de cellulase 12

2.3.4. Applications industrielles des cellulases 13

Table des matières

2.4. Lipases	14
2.4.1. Définition	14
2.4.2. Mode d'action des lipases	15
2.4.3. Types des lipases	15
2.4.4. sources microbiennes	16
2.4.4.1. Source bactérienne.....	16
2.4.4.2. Source fongique de la lipase.....	17
2.4.5. Intérêt industriel des lipases	17

Chapitre II : les champignons

1.champignons.....	21
1.1. moisissures.....	21
1.1.1. Généralités.....	21
1.1.2. mode de vie des moisissures	22
1.1.3. Facteurs environnementaux et conditions de croissances	22
1.1.3.1. Conditions de croissances.....	22
1.1.4. Dissémination.....	25
1.1.5. Classification.....	25
1.1.6. Développement et reproduction	26
1.1.7. Intérêts industriels des moisissures	27
1.2.levures	29
1.2.1. Généralités.....	29
1.2.2. Habitat	30
1.2.3. Reproduction	30
1.2.4. facteurs environnementaux et Les conditions de développements des Levures	31
1.2.4.1. Conditions de développements.....	31
1.2.4.2. facteurs environnementaux.....	32

Table des matières

1.2.5. Classification.....	33
1.2.6. Intérêt industriel des levures	33
1.2.7. Applications des levures en biotechnologie	34

Chapitre III : Préparation industrielle des enzymes

1. Introduction	Erreur ! Signet non défini.
2. Production industrielle d'enzymes	37
2.1. Définition de l'enzyme recherchée	37
3. Production d'enzyme par fermentation	38
4. Extraction	38
5. Purification	39
Conclusion.....	42
Références bibliographiques.....	44
Abstract:	54
:ملخص.....	54
Résumé :	55

Liste des figures

Figure 1 : Mécanisme d'action des protéase	5
Figure 2 : Mode de d'action de l' α -amylase.....	8
Figure 3 : Mode d'action de divers composants de la cellulase	12
Figure 4 : Structure de l'hyphe chez les moisissure : (a) mycélium non septé, (b) mycélium septé.....	21
Figure 5 : Schématisation de la structure de la paroi fongique.	22
Figure 6 : Différents modes de sporulation et les différents types de spores associées	27
Figure 7 : Division de cellules levuriennes par bourgeonnement	30
Figure 8 : Division d'une cellule de levure par bourgeonnement	31
Figure 9 : Schéma simplifié d'un processus d'extraction d'une enzyme.	39
Figure 10 : Purification de lipase à l'aide d'un système d'affinité.	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des enzymes..... 3

Tableau 2 : les applications des levures dans la biotechnologie. 34

Introduction

Introduction

Au cours des dernières décennies, le développement de la microbiologie a abouti à l'obtention de matériels biologiques très divers, modifiés génétiquement ou non et susceptibles d'être utilisés dans des procédés de production de vitamines, d'hormones, de vaccins et d'enzymes (Scriban, 1999).

Les enzymes d'origine microbienne présentent des propriétés et des spécificités diverses. Ces propriétés reflètent de plus en plus leurs utilisations dans divers domaines d'applications, tels que l'industrie alimentaire humaine et animale, les détergents pour lessives, l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique.

Environ 40% des enzymes industrielles sont d'origine fongique (Botton et al., 1990). Appartenant aux enzymes de la famille des hydrolases telles que, l' α -amylase, la cellulase, la protéase sont parmi les plus importantes enzymes à l'échelle industrielle, ce qui les rendent l'un des outils-clés des biotechnologies (Little, 2004).

Les moisissures disposent des potentialités d'applications biotechnologiques très étendues, grâce à une dissémination efficace, une croissance rapide et un arsenal enzymatique très développé (Leveau et Bouix, 1993). Ces microorganismes peuvent cohabiter dans des environnements extrêmes où les conditions de vie sont particulières : température et pression élevées, pH acides, représentent une importante source à exploiter pour développer des procédés biotechnologiques nouveaux (Bhat, 2000 ; Peciulyte, 2007).

Notre travail est divisé en trois chapitres dont le premier présentera un bref aperçu des enzymes d'origine fongique, de leurs propriétés et leurs applications en biotechnologie, le second traitera le règne fongique et ses activités biologiques, tandis que le troisième chapitre représentera la production des enzymes

Chapitre I : Les enzymes

1. Les Enzymes

1.1. Définition des enzymes

Les enzymes sont des macromolécules protéiques de haute masse moléculaire (10 à 100 kDa). Elles catalysent les réactions chimiques en augmentant leurs vitesses d'au moins 10⁶ fois, par rapport à la réaction en leur absence (Granner, 2008). En effet, les enzymes sont présentes dans les cellules de tous les organismes vivants où elles jouent un rôle essentiel en contrôlant les procédés métaboliques permettant aux nutriments d'être transformés en énergie et en matériaux cellulaires (Bergmeyer *et al.*, 1979 ; Amaud *et al.*, 1993 ; Pelmont, 1995 ; Drouin, 2005).

En 2005, plus de 3000 activités enzymatiques différentes ont été isolées et identifiées (Patel *et al.*, 2005), la structure d'environ 1300 d'entre elles a été déterminée (Leisola *et al.*, 2001).

1.2. Classification des enzymes

La commission des enzymes de l'union internationale de biochimie classe les enzymes en six grandes classes, selon leur activité catalytique (Tableau 1) (Vincent, 1996).

Environ 75% des enzymes industrielles sont des hydrolases (Rao *et al.*, 1998 ; Assamoiet *al.*, 2009).

Tableau 1 : Classification des enzymes (Vincent, 1996).

E.C(classé)	Classification	Type de réaction catalysée
E.C.1	Oxydoréductases	Oxydo-réduction
E.C.2	Transférases	Transfert de groupements fonctionnels
E.C.3	Hydrolases	Hydrolyse(coupe les liens chimiques par addition d'une molécule d'eau)
E.C.4	Lyase	Casser différentes liaisons par des procédés autres que l'hydrolyse et l'oxydation.
E.C.5	Isomérase	Isomérisation
E.C.6	Ligases	Elimination de groupement et formation de double liaisons

--	--	--

E.C(Enzyme Commission)

2. Enzymes importantes à l'échelle industrielle

2.1. Protéase

Définition

Les enzymes protéolytiques (protéases ou protéinases) font partie de la classe des hydrolases, ce sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines dans des sites bien spécifiques en scindant la liaison peptidique qui lie deux acides aminés dans une chaîne peptidique. Elles sont produites extracellulairement comme intracellulairement (Kumar *et al.*, 2008). Ces enzymes sont généralement synthétisées sous forme de zymogènes inactifs, ce qui permet de protéger la cellule contre tout effet désastreux. Elles ont beaucoup de fonctions physiologiques, variant de la digestion générale des protéines à des processus régulateurs plus spécifiques (Kumar *et al.*, 2008). La concentration élevée de cette enzyme extracellulaire est un indice de la capacité biologique présente dans le sol pour dégrader les différents substrats azotés et libérer de l'azote minéral (Petit et Jobin, 2005).

Classification des protéases

Les protéases sont classées selon la gamme du pH dans laquelle leur activité est optimale, en protéases acides, neutres et alcalines (Kumar *et al.*, 2008).

Elles se différencient également selon leur site d'action en deux groupes :

- **Les exopeptidases** qui agissent seulement sur les liens peptidiques présents des extrémités de la chaîne peptidique. En se basant sur la nature de l'extrémité N ou C terminale, ces exopeptidases sont classées en amino et carboxypeptidases, respectivement.

- **Les endopeptidases**, elles sont caractérisées par leur action spécifique à l'intérieur de la chaîne peptidique. La plupart des enzymes utilisées industriellement sont des endopeptidases. Celles-ci sont divisées en quatre familles en se basant sur le mécanisme catalytique ; les protéases sérines, les protéases cystéines, les protéases aspartiques, et les métalloprotéases. Ces dernières forment le groupe de protéases le plus varié (Kumar *et al.*, 2008)

Mode d'action :

Le mode d'action des protéases diffère d'une enzyme à l'autre par la nature de leur site actif, bien qu'elles aient toutes le même principe de base. Ce processus catalytique est résumé dans trois étapes : Dans les deux premières étapes, l'enzyme déforme la liaison peptidique et renforce-la polarité du carbonyle, qui facilite son attaque nucléophile conduisant à la formation d'une liaison covalente transitoire entre le morceau portant le carbonyle du substrat et l'enzyme avec la libération de l'autre morceau (le premier produit) protoné par un proton cédé d'un résidu enzymatique. Dans la troisième étape, une nouvelle substitution nucléophile est exercée par le OH⁻ d'une molécule d'eau et libère le deuxième produit de la réaction, où le site actif de l'enzyme se trouve régénérer par un proton (de l'H₂O) (Pelmont, 1995).

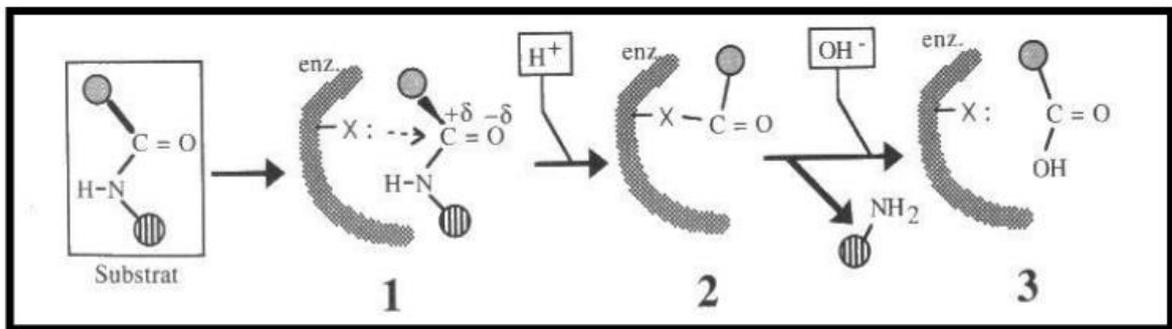


Figure 1 : Mécanisme d'action des protéases (Pelmont, 1995).

Sources microbiennes des protéases

Les protéases microbiennes sont préférées à celles des autres sources car elles possèdent presque toutes les caractéristiques désirées pour leurs applications industrielles (Sandhya *et al.*, 2005). Elles sont produites par une grande variété de bactéries dont, les actinomycètes, de moisissures et de levures (Devi *et al.*, 2008). Elles représentent 40% des enzymes du marché mondial (Sandhya *et al.*, 2005).

Quelques exemples de microorganismes producteurs de protéases :

- Bactéries: *Bacillus licheniformis* (Ferrero *et al.*, 1996).
- Moisissures: *Aspergillus oryzae* (García-Gómez *et al.*, 2009).
- Levures: *Aureobasidium pullulans* (Chi *et al.*, 2007).

Les applications industrielles des protéases

Les protéases occupent une grande part du marché des enzymes industrielles ; les principaux secteurs industriels employant des protéases sont :

A. Industrie alimentaire

Les principales industries alimentaires utilisant les protéases sont :

- ✓ **Fromageries:** L'application majeure des protéases dans l'industrie alimentaire est dans la fabrication des fromages (Rao *et al.*, 1998); Les protéases utilisées à cette fin sont produites par des microorganismes tels que *Mucor miehei*, *Bacillus subtilis* et *Endothia parasitica*. Les protéases fongiques acides, alcalines et neutres produites par *Aspergillus oryzae* ont également été utilisées en industrie laitière (Aguilar *et al.*, 2008).
- ✓ **Boulangeries :** Les endo et les exoprotéinases d'*Aspergillus oryzae* sont utilisées pour modifier le gluten du blé par une protéolyse limitée selon les caractéristiques désirées de la pâte; un tel traitement enzymatique permet de réduire le temps de pétrissage (Aguilar *et al.*, 2008).

B. Industrie pharmaceutique et médicale

La grande diversité et spécificité des protéases est un avantage qui permet à ces enzymes d'être utilisées dans le développement des agents thérapeutiques efficaces. Par exemple, des protéases d'*Aspergillus oryzae* (Luizim et Nortase) sont utilisées comme aide à la digestion ; des collagénases provenant de *Clostridium sp.* ou des subtilisines sont utilisées en combinaison avec des antibiotiques dans le traitement des brûlés, plaies et des ulcères dermiques (Rao *et al.*, 1998).

C. Détergents

A l'heure actuelle, les protéases sont ajoutées comme des ingrédients clé dans la formulation des détergents pour usage domestique (détergents à lessive, détergents à vaisselles), les produits de nettoyage pour usage industriel et les produits de nettoyage pour les lentilles cornéennes et les appareils dentaires. Cependant, le marché le plus important au niveau des détergents est de loin celui des détergents à lessive (Kumar *et al.*, 2008).

2.2. Alpha-amylase

Définition

L' α -amylase, comme toute enzyme, est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires, dont le rôle biologique est d'hydrolyser l'amidon (Mercier, 1985).

L' α -amylase [α -(1-4)-D-glucanoglucanohydrolase (E.C.3.2.1.1)] est une endoamylase qui hydrolyse au hasard les liaisons osidiques de (1-4) l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et de du glycogène à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaînes (Mercier, 1985 et Keating *et al.*, 1998).

Les amylases sont classées en deux catégories, endoamylases et exoamylases. Les endoamylases catalysent l'hydrolyse à l'intérieur de la molécule d'amidon d'une manière aléatoire. Cette action provoque la formation d'oligosaccharides linéaires et ramifiés de diverses longueurs de chaîne. Les exoamylases hydrolysent l'extrémité non réductrice, pour donner successivement des produits finaux plus courts (Gupta *et al.*, 2003).

Mode d'action

L'amidon est un composé glucidique abondant et peu coûteux, dont la fonctionnalité et la valeur ajoutée peuvent être améliorées par un ensemble de modifications physiques, chimiques et/ou enzymatiques, afin de répondre à des besoins technologiques ou nutritionnels spécifiques (Buelon *et al.*, 1990). L' α -amylase par sa capacité à modifier un certain nombre des propriétés de l'amidon, participe à de nombreuses applications, permettant de fabriquer des sucres adaptés aux demandes spécifiques des utilisateurs en industrie alimentaire (Palmer, 1975). L' α -amylase agit sur les polysaccharides (amidon, glycogène) et les oligosaccharides (figure 2). Elle hydrolyse les liaisons glucosidiques (α -1,4) de l'amidon et des substrats relatifs (Heslot, 1996). Son action peut se faire de différentes façons :

- Attaque aléatoire, en coupant les liaisons (α -1,4) à partir de l'extrémité non réductrice. Il en résultera, principalement, la formation de glucose, de maltose et surtout d' α -dextrines (Scriban, 1999).
- Mécanisme uni-chaîne où l' α -amylase dégrade une chaîne avant de passer à l'autre. Cette action est due à la formation du complexe actif avec le premier substrat.

L'enzyme catalyse la réaction et ne forme pas de complexes actifs, jusqu' à l'achèvement de la dégradation de la première chaîne (Berry et Paterson, 1990).

- Mécanisme multi-chaîne, la dégradation des chaînes est simultanée (Pazur et Marchetti, 1992).
- Attaque multiple ou répétitive, le déplacement de l'enzyme, fixée tout au long de la chaîne, conduit à plusieurs hydrolyses avant la dissociation du complexe enzyme-substrat (Nakatani, 1996 ; Kandra *et al.*, 1997).

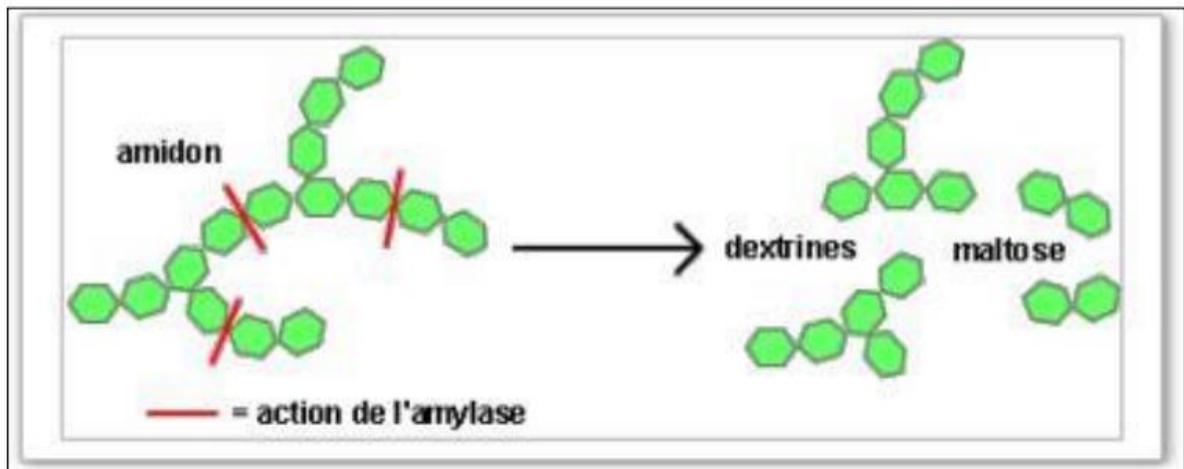


Figure 2 : Mode de d'action de l' α -amylase (Florimont, 2013).

Sources microbiennes de l'alpha amylase

A. L'amylase fongique : La production industrielle de l'enzyme à partir des microorganismes fongiques, parmi les genres *Aspergillus* et *Penicillium*, existe depuis longtemps du fait que la première production d' α -amylase a été réussie par Takamine en 1894. L' α -amylase fongique est d'une thermostabilité assez faible, son optimum d'action se situe entre 50°C et 55°C (Fogarty *et al.*, 1994).

B. L'amylase bactérienne : Ce type d'enzyme est obtenu principalement par des fermentations des Bacillacées. *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* ont été caractérisées comme souches productrices d' α -amylase (Bousseboua, 2002). De nombreuses amylases de propriétés industrielles ont été découvertes chez des bactéries acidophiles, alcalinophiles et thermophiles. Ces enzymes interviennent dans la transformation de l'amidon par fragmentation rapide en clivant les liaisons α (1 \rightarrow 4) (Nadirman *et al.*, 2006).

Applications industrielles des amylases

Les amylases sont parmi les enzymes les plus importantes en biotechnologie (Gupta *et al.*, 2003). Elles représentent environ 25 à 33% du marché mondial des enzymes (Saxena *et al.*, 2007). En effet, les amylases possèdent une gamme étendue d'applications tels que les industries de la saccharification d'amidon, le textile, les aliments, la boulangerie, le brassage et la distillation (Gupta *et al.*, 2003). En raison de l'importance industrielle de cette enzyme, un intérêt est porté à l'isolement de nouvelles amylases appropriées à applications industrielles nouvelles (Burhan *et al.*, 2003).

En raison de leur productivité et leur thermostabilité, les amylases sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique, textile, papeterie, et détergent (Prakash et Jaiswal, 2009).

A. En bioconversion de l'amidon

Les α -amylases sont largement utilisées dans l'industrie boulangère, elles interviennent dans l'hydrolyse de cette macromolécule en sirops de glucose et fructose dans les procédés de liquéfaction (Nielsen et Borchert, 2000).

B. En panification et biscuiterie

L'usage de l'alpha amylase « améliorant de panification » est devenu une pratique de fabrication machinale dans l'industrie panair, non seulement pour améliorer la qualité du pain mais aussi pour contrôler le processus de fabrication. Cette industrie utilise les α amylases pour la régulation des activités diastasiques des farines par hydrolyse de l'amidon en maltose. Cette opération favorise la formation de la mie souple en boulangerie et améliore la texture des gâteaux pâtisseries et des biscuits (Malhotra *et al.*, 2002).

C. En sucrerie

Parfois, les sirops de canne peuvent se trouver perturbés par la présence de contaminations amyliques augmentant aussi leur viscosité et de nuire ensuite au processus de cristallisation. Cet inconvénient est éliminé par l'introduction d'une petite quantité d'amylase bactérienne immobilisée à une température égale ou supérieure à 80°C (Reddy *et al.*, 2003).

D. En Désencollage des textiles

Les procédés modernes de production de textiles exigent souvent l'application de fortes pressions entraînant le cassage des fils, notamment pendant le tissage. Une couche

de protection temporaire peut être appliquée sur les fils, dont l'amidon constitue un des matériaux attrayant par son faible coût et sa disponibilité. A cause de leurs stabilités à la chaleur, les amylases bactériennes conviennent très bien à l'industrie du textile, par dégradation de l'apprêt amylicé lors du désencollage (Ahlawat, 2009).

E. En industrie des détergents

L'industrie des détergents est la première consommatrice d'enzymes, tant en termes de volume que de valeur. L'utilisation des enzymes dans la formulation des détergents améliore leur capacité à enlever les taches difficiles et la lessive, toute en respectant l'environnement.

Les amylases viennent en seconde position dans la formulation de détergents enzymatiques, et elles sont représentées dans 90% de tous les détergents liquides (Hmidet, 2009; Mitidieri, 2006).

F. Domaine médical et pharmaceutique

Dans le domaine pharmaceutique, les amylases sont utilisées comme agent anti inflammatoire et aussi comme aide digestif pour éviter les dyspepsies et les fermentations intestinales. Dans le domaine médical, le taux de l' α -amylase dans les liquides biologiques peut être utilisé pour détecter certaines maladies: insuffisance cardiaque, oreillons, cancer du pancréas (Pandey *et al.*, 2000).

G. Production d'alcool et du biocarburant

La commercialisation d'amylases est fortement stimulée par le développement des biocarburants de première génération, en particulier pour la production de bioéthanol.

L'amidon est le substrat le plus souvent utilisé en raison de son faible prix et de sa disponibilité (Chi *et al.*, 2009). La production de l'éthanol par les levures fermentaire joue un rôle colossal dans l'économie du Brésil.

Parmi les bactéries amylolytiques utilisées dans ce domaine, on citera *Bacillus licheniformis* ou bien des souches de *Escherichia coli* modifiées génétiquement ou de *Bacillus subtilis* (Pandey *et al.*, 2004).

2.3. Cellulases

Définition des cellulases

Les cellulases [1,4-(1,3 ; 1,4)- β -D-Glucanohydrolase] se rapportent à un groupe d'enzymes qui, agissant ensemble, hydrolysent la cellulose en sucres simples (Kader et al., 1999; Korish, 2003). Elle est l'une des principaux membres de la famille des glycosidases. C'est un système enzymatique complexe, composé de trois types principaux d'enzymes: Endo β (1-4)-glucanase ou endocellulase (EC 3.2.1.4), Exo β (1-4)-glucanase ou cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91), β (1-4)-glucosidase ou cellobiase (EC 3.2.1.21) (Xu, 2002) :

- **L'endo-cellulase (EC 3.2.1.4)** casse les liaisons internes pour perturber la structure cristalline de la cellulose et pour exposer différentes chaînes de polysaccharide de cellulose, en diminuant rapidement le degré de polymérisation du substrat (KlemanLeyer *et al.*, 1994; Davies et Hanrissat, 1995; Harjunpaa *et al.*, 1996; Warren, 1996; Xu *et al.*, 2000). Les endoglucanases coupent la cellulose aléatoirement au niveau des zones amorphes de la cellulose, générant de nouvelles extrémités de chaînes.
- **L'exoglucanase (EC 3.2.1.91)** attaque les liaisons β (1-4) glycosidiques des chaînes de cellulose par les extrémités non réductrices et libère exclusivement du cellobiose (Teeri, 1997; Xu, 2002).
- **La cellobiase (EC 3.2.1.21)** hydrolyse les liaisons β (1-4) glycosidiques de la cellobiose, donner deux molécules de glucose (Onsori *et al.*, 2005)

Mode d'action des cellulases

Les trois principaux types d'enzymes constituant le complexe cellulasique, peuvent présenter différents modes d'action (figure 3) :

La première enzyme (endocellulase) rompt les liaisons internes de la chaîne cellulosique, d'une façon aléatoire et entraîne la libération de cellodextrines, du cellobiose et du glucose. Elle est très active sur les celluloses solubles. L'attaque «au hasard» de l'endocellulase a pour effet de créer de nouvelles extrémités nonréductrices qui sont des sites réactifs pour la cellobiohydrolase (Hasper *et al.*, 2002).

- La deuxième enzyme (cellobiohydrolase) (EC 3.2.1.91), attaque les polymères de cellulose par les extrémités non réductrices et libère des résidus cellobiose.

L'enzyme seule n'est active, ni sur la cellulose cristalline, ni sur les celluloses solubles(carboxyméthylcellulose). Par contre, elle attaque les celluloses partiellement dégradées. Le rôle essentiel de cette enzyme est de permettre l'action de l'endocellulase sur la cellulose cristalline (Scriban, 1993).

- La cellobiase peut être active sur les β (1-4) oligoglucosides, mais l'activité diminue rapidement quand la longueur de la chaîne augmente (Scriban, 1993, Jossefsson,2006).

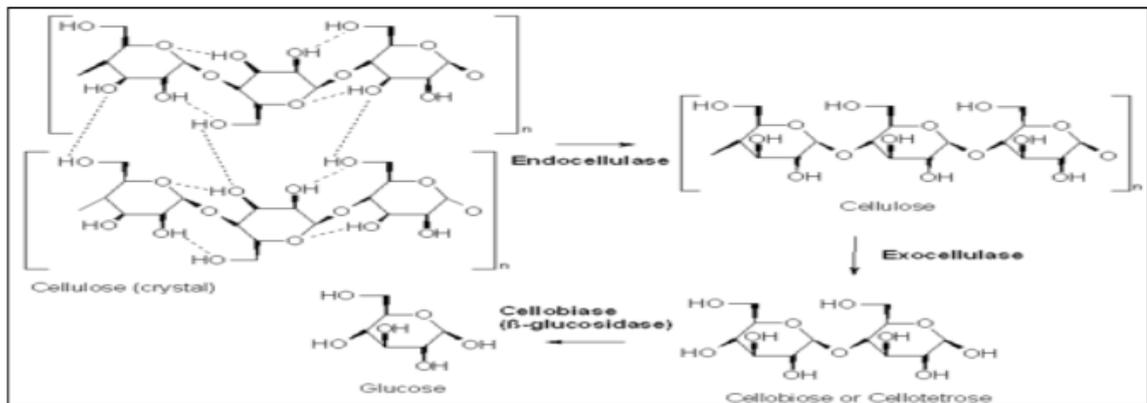


Figure 3 : Mode d'action de divers composants de la cellulase (Karmakar et Ray2011).

Les Sources microbiennes de cellulase

Les bactéries et les moisissures utilisent la cellulose pour la production de quantités substantielles d'enzymes extracellulaires qui sont alors facilement récupérées du milieu de culture après fermentation, bien que ces enzymes, peuvent être présentes sur la surface des cellules (Rapp et Beerman, 1991).

A. Les bactéries cellulolytiques

De nombreuses bactéries sont capables de se développer sur un substrat cellulosique dans la nature (Vidaud, 1984). Le système cellulastique des bactéries est plus simple que celui des champignons ; il se compose uniquement des activités endo-glucanase et β -glucosidase (Bekhouché *et al.*, 1991). Parmi les bactéries cellulolytiques, certaines sont aérobies (*Baccillus subtilis*, *et Pseudomonas*), d'autres sont anaérobies strictes (*Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*) (Vidaud, 1984) ou encore des anaérobies facultatives (*Erwinia chrysantharum*). Cette dernière et le *Clostridium sp* ont été étudiés du fait de leur potentialité à transformer la cellulose en éthanol (Nevalainen et Palva, 1978).

B. Les champignons cellulolytiques

De nombreux champignons sont cellulolytiques. Ils produisent des endoglucanases, des exoglucanases et des β -glucosidases. *Trichoderma reesei* est le champignon le plus étudié, il produit au moins 2 exoglucanases, 5 endoglucanases et 2 β -glucosidases (Barnett *et al.*, 1991; Takashima *et al.*, 1999). Tous ces microorganismes sont capables de dégrader la cellulose native. Chez les levures, les genres pouvant présenter une activité cellulasique sont beaucoup plus rares, néanmoins on peut citer le genre *Trichosporon*, *Candida wickerhamii* dont l'activité cellulasique est uniquement du type β -glucosidase (Scriban, 1999).

Applications industrielles des cellulases

La biotechnologie des cellulases a débuté vers les années 1980 dans l'alimentation animale (Chesson, 1987) et ensuite dans l'industrie du textile, de la lessive et du papier. Actuellement, elle occupe environ 20 % du marché mondial des enzymes (Bhat, 2000, Lekchiri *et al.*, 2006).

Les performances élevées atteintes leur ouvrent des perspectives, intéressantes pour différentes applications industrielles (Scriban, 1993), dans les industries de transformation de l'amidon, de brasserie, l'extraction de jus de fruits et légumes (Gao *et al.*, 2008). L'une des applications potentielles des cellulases est la production d'éthanol-carburant à partir de la biomasse lignocellulosique.

A. Production de biocarburants (pour la couverture énergétique)

Les combustibles fossiles, tels que le pétrole et le charbon, sont une source principale d'énergie. Cependant, cette source d'énergie a de nombreux effets néfastes sur l'environnement (pollution atmosphérique, réchauffement de la planète et l'émission de gaz à effet de serre). Dans un effort de réduire ces effets néfastes sur l'environnement, des sources énergétiques alternatives sont mises en évidence (Smeets *et al.*, 2004). Le bioéthanol est l'éthanol élaboré à partir de la biomasse végétale, son rendement énergétique est voisin de celui de l'essence, il est obtenu à partir de substrats fermentescibles (canne à sucre, betterave sucrière, maïs, orge, blé, pomme de terre...), ce biocarburant est appelé carburant de première génération (Thérien, 2006), le carburant de deuxième génération est obtenu à partir de la cellulose (résidus agricoles : la paille ou les cannes de maïs, résidus forestiers) (Pimentel et Patzek, 2005).

B. Industrie agro-alimentaire

En industrie agro-alimentaire, les cellulases sont utilisées pour faciliter la filtration des diverses suspensions riches en fibres cellulosiques manipulées par ce type d'industrie (Scriban, 1993). Les cellulases sont employées avec d'autres enzymes dégradant la paroi végétale, dans le traitement des fruits et de légumes et dans l'industrie des boissons.

C. Industrie du textile et des détergents

Depuis 1990, les textiles et les détergents constituent les plus grands marchés mondiaux pour l'utilisation des cellulases. Les cellulases sont employées dans l'industrie du textile pour donner l'aspect aux vêtements en jean après lavage (Gusakov *et al.*, 2000), pour ramollir des tissus, pour enlever les nœuds (constituent des défauts de colorant), et dans les détergents de blanchisserie afin d'améliorer l'apparence et la brillance des couleurs (Bhat, 2000 ; Levy *et al.*, 2002).

D. Industrie du papier ou papetière

L'addition de cellulases aux suspensions de pâtes (en cours de lavage) ou en suspension de pâtes de papiers de recyclage, améliore significativement leur filtrabilité et conduit à des économies importantes de consommation d'eau (Scriban, 1999).

E. Domaine thérapeutique

L'utilisation quasi confidentielle de certaines cellulases dans des formules médicamenteuses à vocation d'aide digestive (Odier et Rouau, 1985 ; Scriban, 1999). Ainsi, des cellulases de *Trichoderma viride* sont utilisées en association avec des α -amylases fongiques, pour éviter les dyspepsies et les fermentations intestinales (Rivière, 1975).

2.4. Lipases

Définition

Les lipases (EC.3.1.1.3) appartiennent à la famille des hydrolases d'esters carboxylique ; leur rôle physiologique est d'hydrolyser les triglycérides en diglycérides monoglycérides, et acides gras et glycérol (Chaib, 2013 ; Mtibaa *et al.*, 2002). La structure des lipases a été déterminée par cristallogénèse et diffraction des rayons x (Najjar, 2010). Toutes les lipases connues à ce jour présentent une organisation tridimensionnelle

commune composée d'un feuillet bêta centrale formée de huit brins parallèles connectés entre eux par des hélices alpha (Najjar, 2010).

Mode d'action des lipases

Le site actif des lipases est généralement recouvert d'une boucle peptidique formée par une hélice à amphiphile et d'une quinzaine d'acide aminés qui agit comme un volet ; lorsque l'hélice alpha recouvre le site actif l'enzyme, il est donc dans sa forme fermée ou inactive (Fickers *et al.*, 2008).

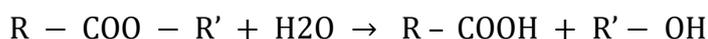
Dans la forme active ou ouverte de l'enzyme, suite au mécanisme d'activation interfaciale, il y'a un déplacement de l'hélice constituant le volet, la face hydrophobe de l'hélice orientée au pare avant vers l'intérieur du site actif s'expose au solvant créé une surface hydrophobe supposée interagir avec l'interface eau/corps gras. Le site actif de l'enzyme est dès lors accessible aux substrats (Reis *et al.*, 2008). Les analyses cristallographiques ont mis en évidence l'absence d'hélice amphiphile recouvrant le site actif ; ces lipases sont classées comme étant des estérases bien qu'étant capables d'hydrolyser des triglycérides à longues chaînes d'acides gras insolubles en phase aqueuse (Scharg et Cygler, 1993).

Types des lipases

Les lipases possèdent plusieurs types catalysant un grand nombre de réaction allant de l'hydrolyse à l'estérification sans oublier les réactions d'alcoololyse et d'acidolyse (Rihani, 2012 ; Allowe *et al.*, 2008a).

- **Réaction d'hydrolyse**

L'hydrolyse des triglycérides en glycérol et acides gras permet la conversion de ces derniers en alcool gras (Jaeger *et al.*, 1999). Par exemple la lipase de *Penicillium requefortii* est spécifique des acides gras à courte chaîne (Rihani, 2012).



- **Réaction de synthèse**

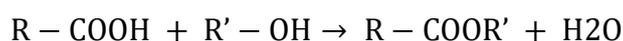
Les lipases possèdent également la capacité de synthétiser des esters dont la quantité d'eau du milieu détermine le type de la réaction favorisée, par exemple la lipase de *Geotrichum candidum* est spécifique des acides cis-9 insaturés et ceci quel que soit leur position (Rihani, 2012).

- **La transestérification :**

Elle implique la réaction d'un groupe acyle avec un alcool (alcoolyse) ou avec le glycérol (glycérolyse) ; ou par l'interestérification (Reis, 2008 ; Alloue *et al.*, 2008a).

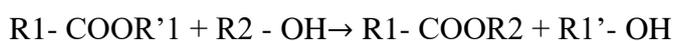
- **Interstérification :**

Lors de la réaction, un groupe acyle est transféré à un acide gras ou à un ester d'acide gras (Jaeger *et al.*, 1999). Comme le cas de la lipase de *Rhizomucor miehei* (Alloue *et al.*, 2008a).



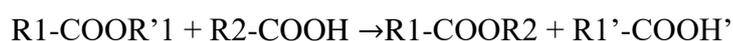
- **Alcoolyse :**

C'est une réaction d'un ester avec un alcool monovalent (l'éthanol et butanol) ou un alcool polyvalent (la glycérine) pour produire un ester avec des différentes groupes d'alkyl (Alloue, 2008 ; Gunstone, 1999). L'action de la lipase de *Rhizopus arrhizus* vis-à-vis des esters d'alcools primaires en position sn1 et sn3 des triglycérides (Rihani, 2012).



- **Acidolyse :**

C'est une réaction d'un ester avec un acide qui mène un changement de groupe acyle transféré à un acide gras ; par exemple la lipase de *Candida antarctica* agit sur le groupement acyle (Gunstone, 1999).



Les sources microbiennes

Les lipases sont largement répandues chez les bactéries, les levures et les champignons filamenteux ; L'intérêt des lipases microbiennes n'a cessé de s'accroître au cours de ces dernières années principalement en raison du grand nombre d'applications qu'elles offrent dans les domaines très variés (Rihani, 2012). Ces lipases possèdent des procédés de fabrication simples avec une grande stabilité vis-à-vis la température, les détergents et les enzymes protéolytiques (Jaeger *et al.*, 1994).

Source bactérienne

Les bactéries répandues dans la production de lipases sont plusieurs, et vu que la classification des microorganismes peut changer à l'issue de nouvelles découvertes

taxonomique ; le nom des lipases microbiennes souvent été modifié à titre d'exemple la lipase de *Pseudomonas fluorescens* est devenue lipase de *Pseudomonas cepaci* .

La lipase de *Serratia marcescens* est utilisée pour la production de Méthyl-glycidate, employée dans la synthèse d'un antagoniste du calcium (Rihani, 2012).

Dans le domaine laitier, on utilise *Pseudomonas fluorescens* pour la variation des goûts et de l'odeurs qu'elle donne au lait (Alifax, 1972).

Source fongique de la lipase

Le corps gras ; s'ils se trouvent en contact avec des moisissures, quand il s'agit d'espèces lipolytiques peuvent être l'objet d'altération de diverses natures ; ces moisissures possèdent dans leur équipement enzymatique une lipoxygénase des liaisons éthyléniques des acides gras insaturée. (Alifaxe, 1975).

Les cutinases sont des enzymes qui peuvent être apparentées aux lipases et estérases produit par *Fusarium solani* qui responsable de la formation de Mycétome chez l'homme (Hasen et al., 2006; Fickers *et al.*, 2008).

La lipase de *Yarrowia lipolytica* est en cours de développement au centre wallon de biologie industrielle et son application qui intéresse le secteur clinique (Alloue *et al.*, 2008 b). La lipase de *Mucor javanicus*, utilisée dans l'extraction et le fractionnement des huiles marines extraites à partir des poissons et des algues, conduit à une diversité de molécule d'acylglycéroles et trouvent de nombreuses applications dans le domaine agroalimentaire et de la santé (Linder *et al.*, 2004)

Intérêt industriel des lipases

Les lipases sont souvent perçues comme une des plus importantes classes d'enzymes pour le monde industriel, cet intérêt provient principalement du fait que les lipases possèdent des propriétés catalytiques atypique d'une part, et que d'autre part les technologies à mettre en œuvre par les produits relativement simple ; leurs domaines d'application sont donc très vastes et variés. (Rihani, 2012).

A. Application dans les détergents

L'utilisation des lipases dans les détergents est le champ d'application le plus important de ces enzymes. La lipase produite par *Pseudomonas mendocina* appelée 'lumafast' possède un large spectre de substrat et elle est capable de tolérer les conditions de lavage, telle que les valeurs de pH 10 et 11, température de 30 à 60°C ; une fois que les

lipides sont partiellement ou totalement hydrolysée par l'enzyme, ils deviennent plus facile à extraire du tissu lavé (Najjar, 2010).

B. Application dans l'industrie alimentaire

Un grand nombre d'applications hydrolytique additionnelle ont été décrites pour les lipases microbiennes y compris le développement de stem pour les produits laitiers (fromage, beurre, margarine, boissons alcooliques), réalisé par l'hydrolyse sélective de gros triglycérides pour libérer des acide gras, ceux-ci peuvent agir en tant que saveurs ou précurseurs de saveur, dans l'industrie agro-alimentaire. Les lipases sont couramment utilisées en boulangerie, en biscuiterie, en chocolaterie (Boukaa, 2015). Elles ont aussi une application dans le domaine de développement des arômes par les lipases exogènes (lipase pré gastrique ou microbienne), comme les lipases de *Candida antarctica* et de *Rhizomucor miehei* synthétise des arômes par réaction de transestérification comme pour le 3,7-dimethyl-4,7 octadien-1-ol qui présente un arôme de Rose (Fickers *et al.*, 2008). Les lipases sont aussi utilisées dans le secteur des farines de blé pour renforcer les pâtes et dans le beurre de cacao (Jaeger *et al.*, 1994 ; Jeager et Reetz, 1998 ; Sherma *et al.*, 2001)

C. Application en l'oléo-chimie

La transformation des corps gras est encore majoritairement réalisée par des procédés chimiques consom mant beaucoup d'énergie (Vulfson, 1994). Ce qui a conduit à de nombreux procédés utilisant des lipases qui ont été développés pour pouvoir travailler dans des conditions moins drastiques et plus spécifique en utilisant par exemple la lipase produite par *Candida ruyosa* (Najjar, 2010).

D. Application dans l'industrie du papier

A l'heure actuelle le premier ennemi dans l'industrie est la poix, mélange mou et collant à base de résine et de goudron végétale, qui nuit à la qualité du papier ; le développement d'un procédé d'hydrolyse de ces esters par additions de lipases, comme le cas de la lipase de *Bacillus subtilus*, limite le problème posé ce qui constitue un moyen facile et efficace pour le contrôle de la poix et donc pour améliorer la qualité du papier (Najjar, 2010).

E. Application dans l'environnement

Les lipases sont également utilisées en environnement dans le domaine de la bioremédiation qui est devenue la méthode la plus utilisée pour restaurer des

environnements pollués à l'exemple de lipases végétales utilisées contre les effluents des industries agroalimentaire riche en lipides et en graisses ; ces dernières entraînent le colmatage des canalisations. Les lipases sont également utilisées lors de traitement de sols contaminés par des hydrocarbures (Boukaa, 2015).

Chapitre II : les champignons

1. Les champignons

1.1. Les moisissures

Généralités

Les moisissures sont des eucaryotes à noyaux minuscules. Elles sont des champignons filamenteux hétérotrophes dépourvues de chlorophylle et de pigments assimilateurs et présentent des parois cellulaires composées de la chitine et non de la cellulose, la principale forme de stockage des glucides est le polysaccharide glycogène (Indge, 2004 ; Nicklin *et al.*, 2000). Ces organismes sont des thallophytes ; donc ne possédant pas de racines, ni de tiges, ni de feuilles, se caractérisant par la formation de filaments (hyphes) libres ou entrelacés dont l'ensemble est désigné sous le nom de mycélium (Figure 2). Celui-ci peut être coenocytique (non cloisonné, c'est-à-dire hyphe résultant de divisions nucléaires répétées, sans divisions cellulaires concomitantes), ou bien septé (cloisonné) (Genevès, 1990 ; Genevès, 1992 ; Bouchet *et al.*, 1999 ; Boiron, 2005).

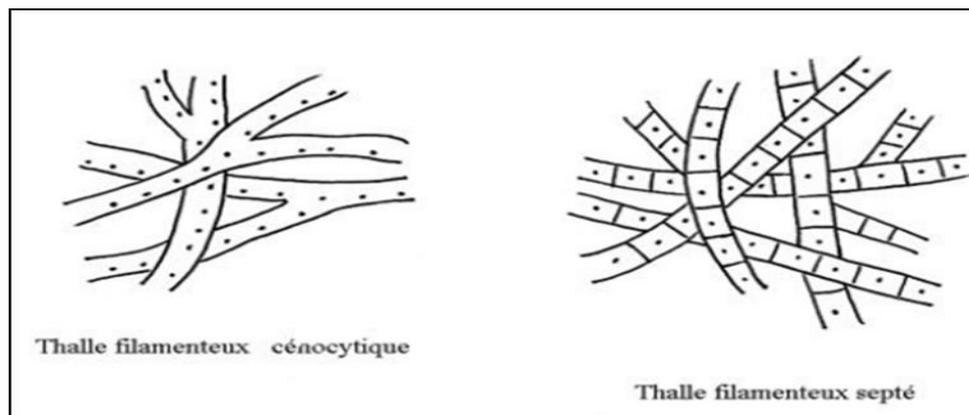


Figure 4 : Structure de l'hyphe chez les moisissures : (a) mycélium non septé, (b) mycélium septé (Botton *et al.*, 1990)

La paroi de champignons filamenteux est constituée de : glycoprotéines qui jouent un rôle dans l'adhérence ; mannoprotéines qui forment une matrice autour de la paroi et essentiellement de polysaccharides qui sont majoritairement la chitine, un polymère linéaire de polysaccharide azoté, la N-acétylglucosamine ; les sous-unités étant liées par des ponts β -1,4-glycosidiques et les glucanes, polymères de molécules de D-glucose liées entre elles par des liaisons β .

Ces deux polysaccharides assurent la protection des moisissures vis-à-vis des agressions du milieu extérieur. La chitine joue un rôle dans la rigidité de la paroi cellulaire. (Nwe et Stevens, 2008)

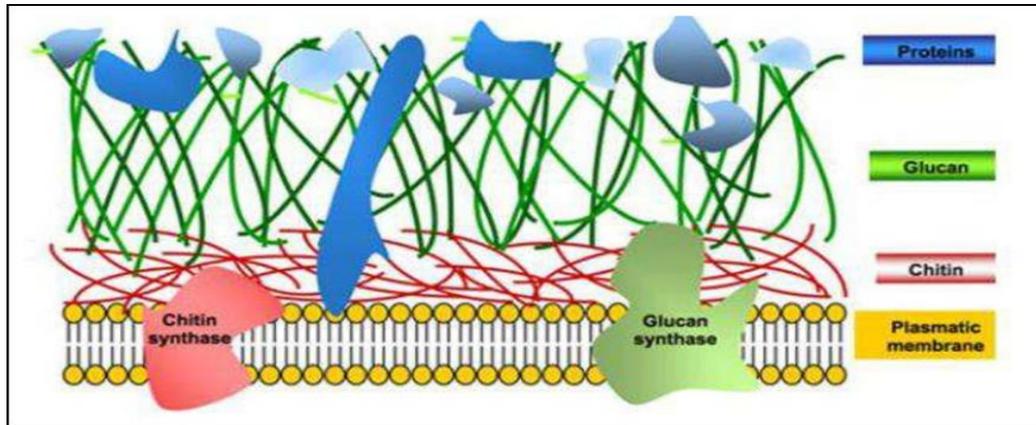


Figure 5 : Schématisation de la structure de la paroi fongique (Nwe et Stevens, 2008).

Le mode de vie des moisissures

- **Saprophytes**

La quasi-totalité des moisissures vivent aux dépens de la matière organique en décomposition ce sont des agents de recyclage de la matière minérale dans la nature.

- **Parasites**

Exploitent la matière organique vivante, qu'il s'agisse des végétaux, ou animaux, ou même d'autres mycètes (Lutzoni *et al.*, 2004).

- **Symbiose**

Les associations symbiotiques entre champignons et végétaux supérieurs (mycorhize) constituent la forme de symbiose la plus répandue à l'échelle planétaire (Jennings&Lysek, 1996). Chacun des deux organismes tire le bénéfice de l'autre

Facteurs environnementaux et conditions de croissances

Conditions de croissances

Contrairement aux plantes, les champignons n'ont pas de chlorophylle permettant de fabriquer leurs aliments. Ils dépendent d'autres organismes pour leur source de carbone ; ce sont des hétérotrophes. Ces organismes exigent des composés organiques comme source d'énergie et de carbone. Les molécules simples (monosaccharides, acide aminés ou acides

organiques traversent facilement la barrière membranaire. Les molécules complexes doivent auparavant être dégradées en monomères par des enzymes excrétées ou liées à la paroi (BOTTON *et al*, 1990).

❖ **Source de carbone et d'énergie**

Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les moisissures. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose. (Boiron, 1996 Nicklin *et al.*, 2000). Certaines d'entre elles produisent des lipases extracellulaires capables d'hydrolyser les lipides en glycérol et acides gras qui peuvent être assimilés par beaucoup d'espèces fongiques, alors que seulement certaines espèces utilisent les acides organiques et l'éthanol (Boiron, 1996).

❖ **Source d'azote**

La plupart des moisissures assimilent l'ammoniaque sous forme de sels (NH₄⁺) dont la présence réprime l'utilisation d'autres sources azotées (nitrate, acides aminés, protéines). L'ammoniaque est transformée en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination (Boiron, 1996), alors que seules certaines espèces utilisent le nitrate, d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique et aucune moisissure ne peut fixer l'azote atmosphérique (Punt *et al.*, 2002).

❖ **Eléments minéraux**

La présence des ions minéraux et métaux dans le milieu de culture est nécessaire pour la croissance et la reproduction de plusieurs espèces fongiques, il s'agit essentiellement de sulfate, de magnésium, de potassium, de sodium et de phosphore avec des concentrations plus au moins différentes selon l'espèce (Uchicoba *et al.*, 2001). Des traces d'éléments tels que le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène, sont nécessaires à la plupart des moisissures pour la production des cytochromes, des pigments, des acides organiques, etc. (Boiron, 1996).

3.4.2. Les facteurs environnementaux

Ce sont les principaux facteurs qui influencent toutes les activités fongiques qui sont la disponibilité de l'eau, la température, le pH (concentration en ions hydrogène), l'aération et la lumière. (NASRAOUI, 2006).

❖ **L'eau**

Elle assure, pour les champignons la diffusion des substances nutritives dans les cellules, la libération des enzymes extracellulaires et la maintenance de leur cytoplasme. La disponibilité en eau était définie par l'équilibre de l'humidité relative (HR) que doivent être 70%.(NASRAOUI, 2006).

❖ La Température

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (Bourgeois, 1989). La plupart des moisissures sont mésophiles avec des optima de croissance de 25 à 35°C (Botton *et al.*, 1999 ; Julien, 2002). Quelques espèces sont thermotolérantes ou thermophiles et peuvent croître à haute température (au dessus de 50°C) avec une croissance optimale aux environ de 20 à 25°C, *Aspergillus fumigatus* est un bon exemple (Botton *et al.*, 1999 ; Nicklin *et al.*, 2000). D'autres sont des psychrophiles ou psychrotolérantes se développant à basses températures (entre -5 et 10°C) tels que *Helicostylum pulchrum*, *Chrysosporium pannorum* et *Cladosporium herbarum*, ces espèces peuvent survivre même à -60°C, on les rencontre dans des entrepôts frigorifiques (Davet, 1996 ; Botton *et al.*, 1999).

❖ Le pH

La grande majorité des champignons filamenteux se développent dans une zone de pH de 4.5 – 8.0 (Botton *et al.*, 1999), bien qu'ils soient capables de croître dans une large gamme de pH avec une tendance à croître dans des milieux légèrement acides. C'est le cas de *Fusarium culmorum* , *Trichoderma harzianum* et *Aspergillus oryzae*. (Urbanek *et al.*, 1984 ; Delgado-Jarana *et al.*, 2002). Cependant, les enzymes extracellulaires produites dans des milieux complexes peuvent avoir des optima de pH d'activité très différents (plus acides ou plus basiques) (Botton *et al.*, 1999). Le pH influe sur la croissance de ces microorganismes soit indirectement en agissant sur la disponibilité des éléments nutritifs (à pH acide, le fer reste sous forme d'ions ferreux assimilable), soit directement par action sur la membrane cellulaire. Par ailleurs, les champignons modifient souvent le pH du milieu par absorption sélective et échange d'ions, production de CO₂ ou de NH₃ ou par production d'acides (Boiron, 1996).

❖ La Lumière

La croissance de la plupart des champignons est apparemment non affectée par la lumière visible (longueurs d'onde environ 380-720 nm), bien qu'elle peut causer une zonation de plusieurs cultures fongique sur milieu nutritif. (NASRAOUI, 2006)

❖ L'Oxygène

La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. La plupart sont aérobies, les plus exigeantes vivent dans les régions périphériques des substrats, les moins exigeants peuvent se développer en profondeur comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus*. Certaines peuvent même supporter une anaérobiose très stricte comme *Neocallimastix* (Bourgeois, 1989 ; Botton *et al.*, 1999).

Dissémination

Les champignons se propagent sur différents substrats, par l'intermédiaire de spores qui sont des corpuscules de 2 à 250 µm de diamètre. Les spores sont disséminées principalement par l'air ambiant ou par le contact de l'homme. Lorsqu'elles se déposent sur un substrat organique, tel que le support papier, elles germent si les conditions d'humidité et de température y sont favorables. Elles y pénètrent par voie chimique (production d'enzymes, de toxines) ou par voie mécanique en exerçant une pression sur le substrat (Boudih, 2011).

Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène mais se situent en diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée aussi bien sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) que sur le mode de leur reproduction (Davet, 1996).

Les Eumycètes ou les vrais champignons forment un groupe très vaste incluant les classes principales des moisissures (Bourgeois, 1989) à savoir les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes.

- **Zygomycètes**

Ces moisissures possèdent un mycélium non cloisonné et des organes de reproduction sexuée (Guiraud, 1998). La famille la plus importante dans cette classe est celle de Mucorales qui comprend un grand nombre de moisissures saprophytes mais aussi quelques espèces parasites des champignons, des animaux et des hommes (mucormycoses)

et surtout des contaminants de nombreux produits alimentaires (Leveau et Bouix, 1993 ; Boiron, 1996).

Certaines Mucorales sont parfois utilisées industriellement en raison de leurs activités enzymatiques (amylase, protéase,...) comme *Rhizopus* et *Mucor* (Guiraud, 1998).

- **Ascomycètes**

Les Ascomycètes sont définis comme des champignons à thalle mycélien cloisonné, dont le mode de reproduction est sexué avec des spores endogènes (ascospores). Cette classe regroupe de nombreux parasites des végétaux mais aussi de nombreuses moisissures (Guiraud, 1998). Elles sont cependant plus particulièrement nombreuses dans l'ordre des Eurotiales, des Microscelales et des Sphaeriales. Dans cette classe, le genre le plus connu est *Endothia* et *Neurospora* (Bourgeois, 1998).

- **Basidiomycètes**

Elles regroupent seulement certaines moisissures parasites. Elles sont caractérisées par un thalle à mycélium septé et une reproduction sexuée avec la formation de spores exogènes (basidiospores), c'est le cas de *Agaricus* et *Coprinus* (Botton *et al.*, 1999).

Développement et reproduction

Le développement des moisissures comprend deux phases : une phase végétative et une phase reproductive. Pendant la phase végétative, qui correspond à la phase de croissance, l'appareil végétatif colonise le substrat par extension et ramification des hyphes (Davidson *et al.*, 1996).

Cette phase correspond également à la phase de nutrition, les hyphes absorbant à travers leur paroi, l'eau ainsi que les éléments nutritifs contenus au sein du substrat tout en dégradant le substrat par émission d'enzymes et d'acides. La forme mycelienne en expansion, qui constitue une phase active de développement, est responsable de la dégradation et de l'altération du substrat (Zyska, 1997). La phase reproductive comprend deux types de reproduction : la reproduction asexuée, correspondant à la forme anamorphe, et la reproduction sexuée, correspondant à la forme téléomorphe. La reproduction asexuée correspond majoritairement à la dispersion de spores asexuées, permettant la propagation des moisissures afin de coloniser d'autres substrats. Cette forme de reproduction asexuée est appelée la sporulation (Adams *et al.*, 1998). Il existe différentes formes de reproduction asexuée et différents types de spores (Figure 4). Les spores peuvent être le résultat de la

fragmentation. Dans ce cas, un nouvel organisme se développe à partir d'un fragment parent de mycélium (arthrospores). Les spores peuvent aussi être produites de manière endogène à l'intérieur du sporocyste (sporocystiospores), ou de manière exogène en continu à l'extrémité des structures spécialisées appelées phialides (conidiospores). Ensuite, les spores se détachent du mycélium sous l'effet d'un petit choc mécanique, d'un frôlement ou d'un courant d'air (Barnett et Hunter, 1998).

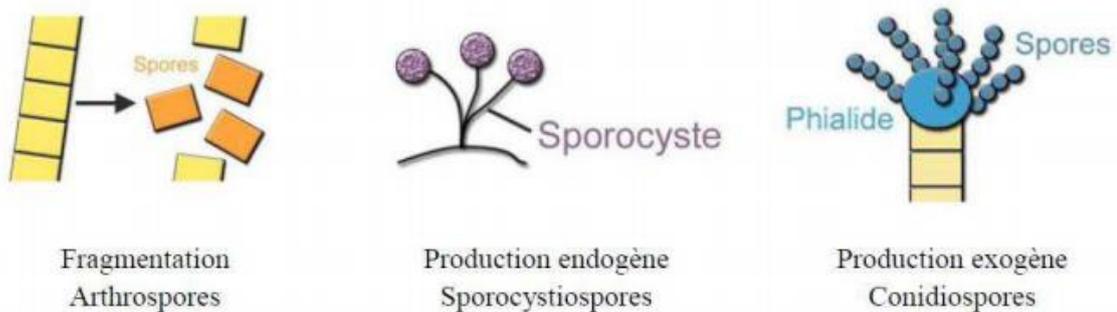


Figure 6 : Différents modes de sporulation et les différents types de spores associées (Barnett et Hunter 1998).

Intérêts industriels des moisissures

Actuellement, les moisissures jouent un rôle primordial dans divers domaines d'applications dans l'industrie. Cependant cette dernière n'exploite commercialement qu'un petit nombre de métabolites de quelques espèces seulement (Boiron, 1996).

➤ Intérêt alimentaire

Les champignons filamenteux sont des producteurs importants d'acides organiques tels que l'acide gluconique, l'acide malique, l'acide acétique et l'acide citrique (Leveau et Bouix, 1993 ; Boiron, 1996). Ce dernier est notamment produit par *Aspergillus niger*, où 60% de sa production est destinée au secteur alimentaire (Botton *et al.*, 1999).

La production de biomasse peut être une source importante pour l'alimentation animale et même humaine, en servant de complémentation des produits céréaliers. Quelques espèces fongiques ont un grand usage, c'est le cas d'*Aspergillus niger*, de *Fusarium graminearum* et de *Trichoderma harzianum* (Botton *et al.*, 1999; Larpent-Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Delgado-Jarana *et al.*, 2002).

Par ailleurs, *Aspergillus niger* produit la cellulase, l'amylase, l'invertase et la pectinase, employées principalement comme des catalyseurs biologiques en glucoserie, brasserie et pour la fabrication des boissons. Cette moisissure secrète aussi des protéases, des lipases et des estérases utilisées dans différentes applications alimentaires (Kosikowski, 1988 ; Scriban, 1999).

➤ **Intérêt chimique**

Il s'agit essentiellement de l'utilisation des protéases alcalines d'*Aspergillus oryzae* et de *Stachybotrys chartarum* dans les détergents (Miller, 2002).

La production de cellulase par *Aspergillus niger* et *Trichoderma harzianum* présente une diversité d'applications industrielles, où 48% de sa production par ces deux espèces fongiques et le genre *Penicillium* est utilisée pour l'industrialisation des papiers et les textiles (DelgadoJarana *et al.*, 2002). Certains genres fongiques tels que *Aspergillus*, *Mucor* et *Penicillium* sont capables de produire des lipides en quantités importantes et constituent une source potentielle d'utilisation chimique (Botton *et al.*, 1999).

Cependant, certaines moisissures possèdent d'intéressantes propriétés ; *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium funiculosum* et *Rhizopus arrhizus* sont capables d'absorber de l'uranium du minerai.

En biotransformation les moisissures ont une zone étroite d'application. Un exemple remarquable est l'hydrolyse enzymatique de la pénicilline V par *Penicillium chrysogenum* et *Fusarium* entraînant la formation d'acide amino-6-pénicillanique qui est un intermédiaire important de la production de pénicillines semi synthétiques telles que l'ampicilline et l'amoxicilline (Durand et Monson, 1988).

➤ **Intérêt pharmaceutique et médical**

Les champignons filamenteux sont des grands producteurs d'antibiotiques tel que la pénicilline produite par le genre *Penicillium* et la céphalosporine produite par *Cephalosporium* (LarpendGourgau et Sanglier, 1992 ; Botton *et al.*, 1999).

La production industrielle en vitamines se limite à une partie de la synthèse de la riboflavine produite spécialement par *Eemothecium ashbyii* cultivé en milieu agité et supplémenté en lipides. La vitamine A pourrait faire l'objet d'une production microbiologique par les champignons notamment les espèces de l'ordre des Mucorales (Botton *et al.*, 1999).

Les premiers produits d'origine fongique en médecine sont les alcaloïdes de l'ergot de seigle (ergotamine), utilisés en gynécologie et pour diverses autres indications (Boiron, 1996 ; Botton *et al.*, 1999). La découverte de la cyclosporine, puissant agent immunodépresseur, puis la mise en évidence de corrélation entre l'activité de certaines enzymes et diverses pathologies ont permis de donner un grand essor aux sciences médicales et pharmaceutiques (Botton *et al.*, 1999 ; Richard, 2005).

1.2. Les levures

Généralités

Le mot levure, selon Phaff *et al.* (1968), provient du mot latin « **levare** » qui se traduit par «soulever», type de cellules de champignons. Au sens propre, les levures sont des cellules capables de produire du dioxyde de carbone faisant «lever» les pâtes par fermentation oxydative des glucides (Oteng-Gyang, 1984). Elles ont la particularité d'émettre des bourgeons polaires ou latéraux, générateurs d'autres cellules, identiques à la cellule mère (Euzeby, 2008). Les levures sont des eucaryotes unicellulaires, ayant la capacité de se multiplier rapidement car elles sont moins exigeantes en nutriments (Lammi, 2011). Elles sont facilement mises en œuvre dans d'autres exploitations (culture, recherche et applications industrielles) par rapport aux procaryotes (Pol, 1996 ; Benaouida, 2008).

Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes faisant partie du groupe de champignons unicellulaires (Meyer *et al.*, 2004); dont certaines forment des bourgeons non détachables sous forme de courte chaîne de cellules, immobiles, appelée pseudohyphe (Guiraud, 1998 ; Tortora *et al.*, 2003). Les cellules de levures ont des formes plus au moins sphériques ou ovoïdes, parfois cylindriques ou de formes plus spécifiques (Perscott *et al.*, 2007 ; Larpent, 1991). Elles sont généralement plus grandes que celles des bactéries et présentent une structure plus complexe, notamment par la présence de noyau et d'organites divers. Elles se trouvent isolées, en paires, en chaînes ou en petits amas; leur taille est très variable suivant les espèces: 2,5-10,5µm de largeur contre 4,5-21µm de longueur. Ces

dimensions et aspects dépendent fréquemment des conditions de culture et l'âge des cellules (Scherr et Weaver, 1953).

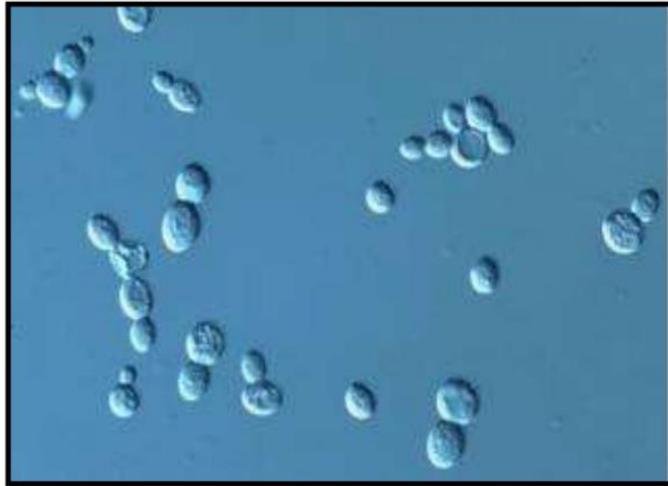


Figure 7 : Division de cellules levuriennes par bourgeonnement (Kwon-Chung et Bennett, 1992).

Habitat

Les levures sont très répandues dans les milieux riches en glucides, se présentent sous forme de poudre blanche sur les fruits et les feuilles et sont saprophytes du nectar de fleurs (Larpent, 1992 ; Scriban, 2003).

Certaines levures se développent abondamment dans des eaux douces et profondes associées au plancton, certaines espèces sont présentes dans le tube digestif des animaux et des insectes ; comme elles peuvent persister libres dans le sol (Ahearn, 1973 ; Van Uden et Fell, 1986 ; Mangenot, 1966 ; Phaff et Starmer, 1987).

Reproduction

Les levures se reproduisent aussi bien par un cycle asexué (végétatif) que par un cycle sexué, selon les conditions nutritionnelles disponibles. La reproduction végétative se fait par bourgeonnement ou fission (Larpent, 1992) (Figure 2), dans certaines conditions de cultures les levures sporogènes peuvent se reproduire par voie sexuée (Bourgeois et Larpent, 1996).

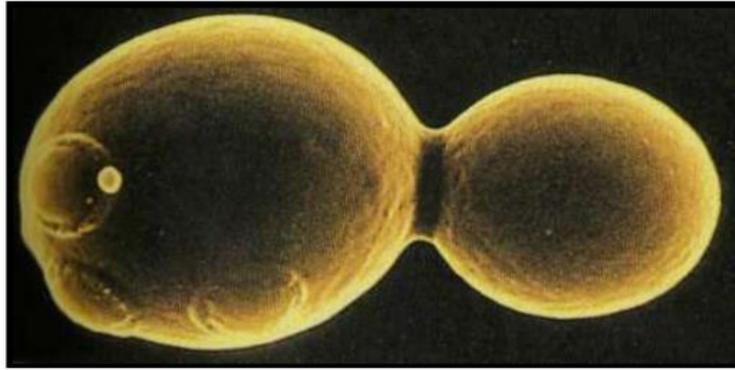


Figure 8 : Division d'une cellule de levure par bourgeonnement

(Madigan et Martinko, 2007).

Les facteurs environnementaux et Les conditions de développements des Levures

Conditions de développements

Les levures présentent une diversité métabolique dans la façon de production et de consommation de l'énergie des substrats dégradés. La connaissance des mécanismes de régulation fondamentaux est non seulement valable dans la compréhension des principes généraux du métabolisme, mais également elle est d'une grande importance en biotechnologie (Ostergaard *et al.*, 2000).

❖ Source de carbone

Il est maintenant bien établi que la plupart des levures utilisent des sucres comme source principale de carbone et par conséquent d'énergie. D'autres levures particulières utilisent des sources de carbone non conventionnelles (éthanol, glycérol) (Barnett, 1976 et Tamaki et Hama, 1982). Cependant, leur croissance sur des substrats non-glucidiques les oblige à synthétiser des sucres exigés pour la biosynthèse macromoléculaire, en particulier celle des polysaccharides complexes (Walker *et al.*, 1997)

❖ Source d'azote

Comme les levures ne peuvent pas fixer l'azote libre, elles dépendent de ses formes oxydées ou réduites pour la synthèse des composés azotés structuraux et fonctionnels de la cellule (Babjeva *et al.*, 1977). La plupart des levures sont capables d'assimiler différentes sources d'azote organiques et inorganiques dans la biosynthèse des acides aminés, des protéines, des acides nucléiques et des vitamines (Guiraud, 1998). L'assimilation des ions d'ammonium (fournis dans le milieu ou dérivés du catabolisme d'autres composés azotés) est largement répandue chez les levures. Cependant, d'autres espèces levuriennes se

caractérisent par une capacité à utiliser les nitrates et d'autres composés, comme source d'azote (Walker *et al.*, 1997).

❖ Oligoéléments et facteurs de croissance

Comme la plupart des microorganismes, les levures ont besoin d'éléments nutritifs pour assurer un développement adéquat. Ils'agit de sels minéraux et d'oligoéléments nécessaires à de très faibles concentrations (Larpen et Sanglier, 1992 et Boiron, 1996). De plus, d'autres facteurs leur sont essentiels, comme les vitamines (la biotine, la thiamine et l'acide pantothénique). Ces facteurs interviennent lors des réactions enzymatiques, comme éléments constitutifs de coenzymes variés (Rivière, 1975 et Botton *et al.*, 1990)

Les facteurs environnementaux

❖ La température

Les températures d'incubation, sont généralement proches de celles qui permettent la propagation des levures dans leurs environnements naturels et se situent entre 25°C et 30°C. Toutefois, ces températures ne sont pas rigoureusement les températures optimales de croissance que les levures trouvent dans certains habitats, à savoir les régions à températures constamment basses ou élevées (Vishniac et Hempfling, 1979).

❖ Le pH

Les levures présentent une tolérance élevée aux pH extrêmes. Elles tolèrent des gammes très larges allant de 2.4 à 8.6. Entre ces valeurs, le pH intracellulaire est compris entre 5.8 et 6.8 (Bouix et Leveau, 1991). Cependant, Phaff et ses collaborateurs (1978) ont noté que la plupart des levures connues, ont une bonne croissance à des pH proches de 3.

❖ L'aération

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

Classification

Les levures sont classées selon leur forme, leur possibilité de former un voile, de fermenter les sucres et de les assimiler (glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose, raffinose). Toute souche incapable de fermenter le glucose est également incapable de fermenter un autre sucre. Tandis que, toute souche capable de fermenter le glucose, peut également fermenter le fructose, le mannose et la raffinose. L'assimilation des nitrates, l'utilisation de l'éthanol, la production de pigments sont aussi des critères de classification. En particulier, de nouveaux critères taxonomiques sont pris en considération pour permettre des études plus précises.

La classification utilisée est celle établie par Kreger-Van (1984) qui présente des changements sensibles. Il s'agit d'un groupe hétérogène, qui d'un point de vue taxonomique, comprend une soixantaine de genres et près de 500 espèces (Benaouida, 2008)

Les levures se divisent en 3 grandes classes :

- ✓ **Les ascomycètes** : appelées levures ascosporigènes, forment dans certaines conditions des ascospores à l'intérieure de la cellule.
- ✓ **Les basidiomycètes** : capables d'élaborer des spores externes apparentées aux basidiospores.
- ✓ **Les deutéromycètes** ou levures imparfaites : genres asexués et se multiplient par reproduction végétative

Intérêt industriel des levures

Les levures présentent des éléments favorables par rapport aux bactéries quant à leur utilisation en biotechnologie. Elles offrent donc une meilleure résistance aux conditions de stress, en particulier la possibilité à des pH acides. Leur utilisation dans l'alimentation a fait de sorte que les levures soient globalement plus connues par leur efficacité en fermentation industrielle que d'autres micro-organismes.

Les levures ont de grandes activités métaboliques et sont donc très utilisées dans le domaine agricole et alimentaire. Elles ne sont pas attaquées par des virus (phages), elles sont facilement récupérables grâce à leur grosseur (Lagzouli *et al.*, 2007). Leur stabilité génétique permet aussi une très bonne fidélité du procédé et la connaissance de leur physiologie cellulaire facilite leur utilisation (Labrecque, 2003).

Enfin, les bonnes connaissances de la biologie moléculaire des levures et la mise au point de techniques de génie génétique, permettant de programmer les levures de façon qu'elles expriment des protéines humaines et animales recombinantes ; constituent une grande réussite des biotechnologies surtout d'intérêt médical (par la production d'enzymes, d'hormones peptidiques, de facteurs de croissance, d'hémoglobines, de ferritines, l'érythropoïétine, etc.) (Lammi, 2011).

Applications des levures en biotechnologie

Les levures sont largement utilisées dans la production des pains et la fabrication des boissons alcoolisées (Bouix et Leveau, 1991) (Tableau 2).

Tableau 2 : les applications des levures dans la biotechnologie.

Types d'enzymes	Levures utilisées	Utilisations
Amylases	Lipomyces Starkey Schwanniomycetes Castelli	Sacchrification de l'amidon, boulangerie, textile, Papetrie
invertases	Saccharomyces carlbergensie Saccharomyces cerevisiae	Confiserie
lipases	Candida lipolytica	Fromagerie, laiterie .
lactases	Candida pseudotropicalis Kluyveromyces fragilis Kluyveromyces lactis	Crèmes glacée

➤ Panification

Durant le processus de la préparation du pain, la levure se développe dans des conditions aérobioses et augmente la production de CO₂ et diminue considérablement l'accumulation d'alcool, ce qui favorise la formation d'une légère texture de nombreux pains et les traces de fermentation contribuent au goût final des pains (Prescott *et al.*, 2007). Par ailleurs, dans des conditions anoxiques, les levures dirigent leur métabolisme vers une fermentation, accompagnée avec une production considérable de l'alcool (Madigan et Martinko, 2007).

➤ **Affinage des fromages**

Les levures sont aussi capables d'utiliser les acides organiques comme source d'énergies et de carbone (Larpent, 1991). Elles participent à l'affinage des fromages ; en consommant l'acide lactique produit par les bactéries lactiques à partir des composants du lait. Elles contribuent aussi à réduire l'acidité du caillé (Leveau & Bouix , 1993) .

De nombreuses espèces se rencontrent en fromagerie, les plus fréquentes appartenant aux genres *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* et *Rhodotorula*(Larpent, 1991).

➤ **Production de protéines**

Les levures constituent une source précieuse de protéines car elles sont le siège d'une biosynthèse protéique très active. Elles sont utilisées à la production de protéines d'organismes unicellulaires (POU) ou "single cell protéins" (SCP), qui sont souvent incorporées à l'alimentation animale et humaine. Cette production peut s'effectuer sur des substrats considérés comme des déchets tels que le lactosérum et les résidus de pâte à papier (Pol, 1996).

➤ **Autres utilisations**

Aujourd'hui, les levures constituent une des importantes sources d'enzymes produites commercialement en raison de leurs capacités polyvalentes et de la frugalité de leurs exigences permettant d'obtenir une biomasse importante à bas prix (Pol, 1996). En effet, l'invertase ou saccharase sécrétée par diverses levures est utilisée industriellement pour produire du glucose et du fructose à partir de mélasses de betterave ou de cannes à sucre (Simon & Meunier, 1970)

Chapitre III :
Préparation industrielle des
enzymes

1. Généralités:

Au XXe siècle, on a commencé à isoler les enzymes des cellules vivantes, ce qui a conduit à leur production commerciale à grande échelle et à leur plus large utilisation dans l'industrie alimentaire. Aujourd'hui, les microorganismes constituent la principale source d'enzymes commerciales. Même si les microorganismes ne contiennent pas les mêmes enzymes que celles des végétaux ou des animaux, on peut habituellement trouver un microorganisme qui produira une enzyme associée, laquelle catalysera la réaction désirée. Les fabricants d'enzymes ont optimisé les microorganismes en vue de la production d'enzymes grâce à la sélection naturelle et aux méthodes classiques de reproduction.

La modification génétique directe (biotechnologie) englobe les méthodes les plus précises pour optimiser les microorganismes en vue de la production d'enzymes. Ces méthodes sont utilisées pour obtenir des organismes producteurs à haut rendement. La biotechnologie donne également les outils pour transférer une séquence génétique d'un végétal, d'un animal ou d'un microorganisme à partir de laquelle la production à l'échelle commerciale n'est pas adéquate vers un microorganisme qui a un historique sécuritaire de production d'enzymes à des fins alimentaires.

Les cellules microbiennes sont les plus largement utilisées pour obtenir une bonne sécrétion d'enzyme. La production industrielle d'enzyme est orientée vers la fermentation, les principaux avantages des enzymes sont les suivants :

- Une production indépendante des contraintes saisonnières et géographiques
- Une possibilité d'utilisation de matière première bon marché
- Des rendements de production pouvant être augmentés de façon importante par l'amélioration des conditions de fermentation

2. Production industrielle d'enzymes

La production industrielle d'enzymes suppose donc un certain nombre d'étapes

2.1. Définition de l'enzyme recherchée

Il est nécessaire de déterminer les propriétés que cette enzyme devra posséder :

- **Spécificité** : bien que dans l'industrie, les enzymes soient souvent utilisés pour hydrolyser des macromolécules complexes, dont les sites de coupure nécessitent généralement l'utilisation d'un type d'enzyme précis.

- **L'optimum de pH** : ce facteur a une influence variable selon les enzymes, chaque enzyme est activée à un intervalle de pH précis.

- **L'optimum de température** : Généralement, les utilisations souhaitent disposer d'enzyme supportant des températures élevées, de telles températures préservent la stérilité du milieu de réaction.

- Sélection de la souche microbienne

Les plus importantes méthodes d'isolements utilisées étant les cultures d'enrichissement suivi d'une subculture sur milieu sélectif.

La souche isolée pour être définitivement retenue doit présenter un certain nombre de caractéristiques :

- Se développe dans un milieu simple et bon marché ;
- Produire le moins possible de métabolites secondaires ;
- Excréter l'enzyme de façon à ce que celui-ci soit facilement séparée et purifiée ;
- Ne pas conduire aux différents polluants ;
- Ne pas être pathogène ou produire des produits toxiques

3. Production d'enzyme par fermentation

Traditionnellement, les enzymes microbiennes étaient produites par culture en surface, en couche mince sur milieu liquide ou milieu semi –solide, cette technique est encore utilisée pour certaines productions (enzyme d'origine fongique). Mais cette technique présente des difficultés au niveau de contrôle de température d'aération et d'humidité. C'est pourquoi les cultures submergées (fermées) sont maintenant préférées aux cultures de surface.

Les cultures en milieu liquide agité sont mieux adaptées au différent contrôle par des méthodes modernes et réduisent les risques de contamination. De plus elles se prêtent mieux aux opérations d'extrapolation et d'optimisation pour ce passage de fermenteur pilote de laboratoire au fermenteur industriel.

4. Extraction

Après la fermentation les enzymes doivent être séparées des cultures et de milieu par les opérations simples telle que ; Centrifugation, filtration, précipitation. L'extraction

consiste en la libération des enzymes des cellules ou constituants cellulaires nécessitent un éclatement de la paroi ou de la membrane cellulaire par des procédés mécaniques, physiques ou chimiques.

Dans le cas des enzymes endocellulaires leur récupération exigent une étape supplémentaire de broyage ou de la lyse des cellules microbiennes, puis ces enzymes sont purifiées comme les enzymes exocellulaire (Moutounet, 2014).

Dans le cas des enzymes intracellulaires des microorganismes, une opération supplémentaire est au moins nécessaire pour rompre les barrières cellulaires. Le choix de la procédure d'extraction dépend de la localisation de l'enzyme (Figure 9)

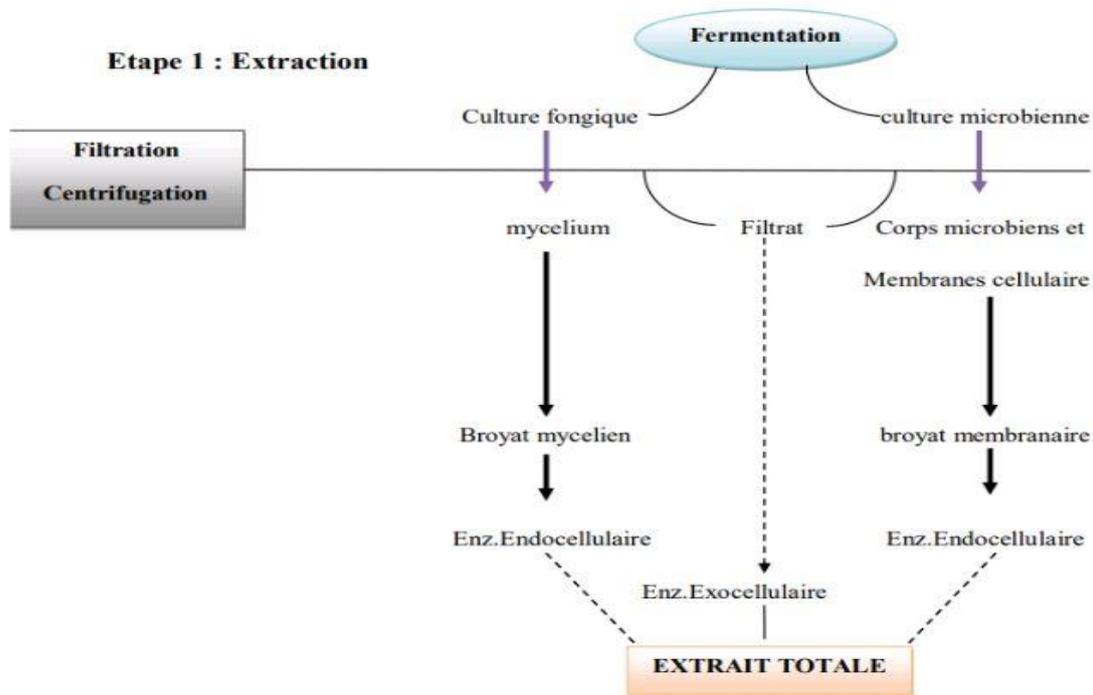


Figure 9 : Schéma simplifié d'un processus d'extraction d'une enzyme.

5. Purification

L'objectif de la progression de la purification est d'atteindre un rendement maximal, une activité maximale et une pureté maximale de l'enzyme. Il est très important d'éliminer les molécules contaminées à partir du mélange complexe pour exclure l'enzyme pure en utilisant une méthode appropriée (Robina, 2020).

Les méthodes de purification utilisées sont généralement des techniques impliquent différentes étapes en fonction de l'intracellulaire ou la nature extracellulaire de l'enzyme, telles que la précipitation par le sulfate d'ammonium (70% de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ ont été utilisés pour la lipase fongique) (Bharathi et Rajalakshmi, 2019 et Sharma et al., 2001), plus loin la protéine précipitée est soumise à des techniques de dialyse et de chromatographie. Le choix des techniques de chromatographie diffèrent en fonction de la source des microorganismes et de la taille des protéines.

Enfin les fractions brutes ainsi obtenus sont analysées pour la présence d'enzyme par plusieurs protocoles d'essai, et appliqués d'autres techniques de séparation telles que l'échange d'ions, le DEAE-sépharose et la filtration sur gel chromatographie (Bharathi et Rajalakshmi, 2019). La chromatographie d'affinité a été aussi utilisée dans certains cas pour réduire le nombre des étapes de purification individuelles nécessaires (Figure 10) (Robina, 2020 et Sharma *et al.*, 2001).

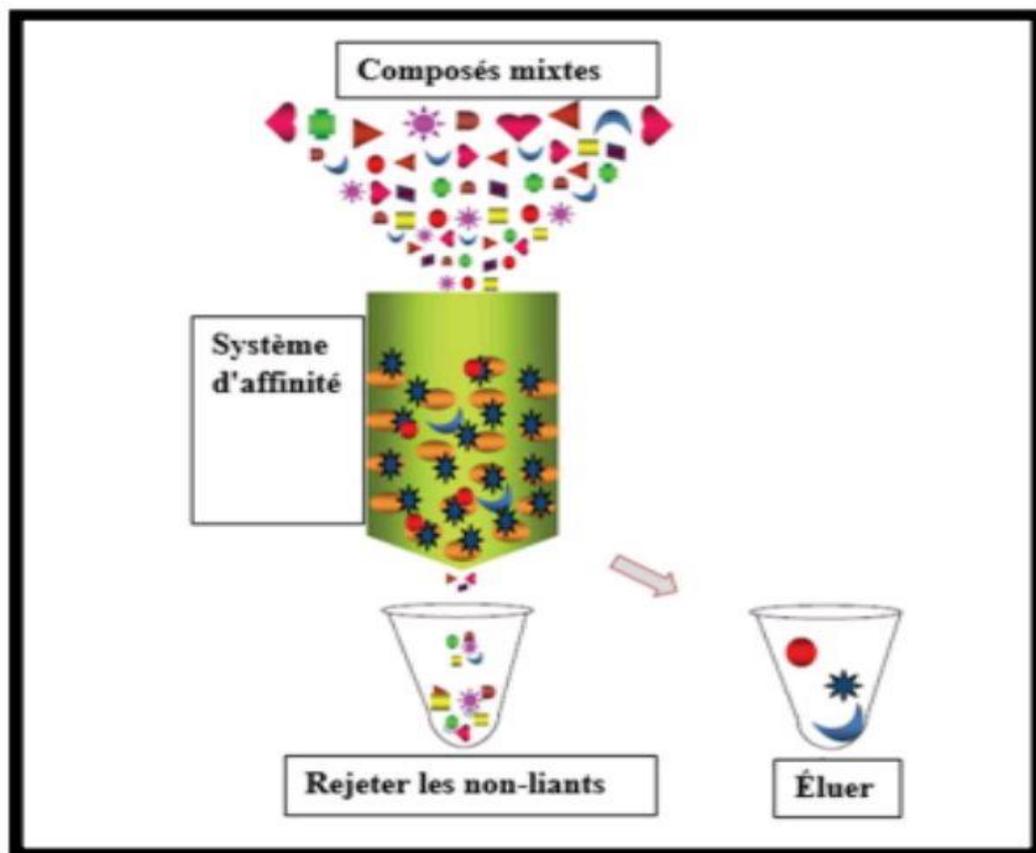


Figure 10 : Purification de lipase à l'aide d'un système d'affinité. Séparation de lipase à partir de composés mixtes est indiquée. L'enzyme liée peut être éluée en créant des conditions strictes (Gopinath *et al.*, 2013)

Conclusion

Conclusion

L'analyse de la littérature actuelle montre que les enzymes sont de plus en plus utilisées en applications industrielles. Elles permettent notamment de remplacer les produits chimiques. Par ailleurs, l'emploi des enzymes connaît un succès remarquable et entrouvre des perspectives nouvelles. En effet, le marché mondial des enzymes industrielles dépasse 1,5 milliard de dollars et enregistre une croissance annuelle de 6,5 %.

Les enzymes d'origine microbiennes sont l'une des enzymes les plus produites. Les microorganismes constituent la principale source d'enzymes industrielles : 50% proviennent des champignons et des levures, 35% des bactéries, alors que 15% sont d'origine végétale ou animale.

Ces champignons constituent des sources des enzymes plus facilement exploitables tandis que ces enzymes fongiques restent les outils clés de la biotechnologie et reflètent de plus en plus l'importance et le rôle infini des moisissures dans différentes applications.

En fait, les données littéraires ont rapporté que les champignons sont capables de produire un grand nombre d'enzymes, qui sont d'une valeur commerciale élevée. Ce résultat justifie aussi l'intérêt que portent les chercheurs sur ce type de microorganismes, un intérêt qui n'a cessé de s'accroître au cours de ces dernières années, principalement en raison du grand nombre d'applications que les enzymes offrent dans des domaines très variés.

La présente étude ouvre des perspectives :

Etude des activités enzymatiques des souches fongiques sur milieux gélosés, afin de sélectionner les souches la plus performante dans la production des enzymes ;

Optimisation des paramètres de production des enzymes : pH du milieu, Température et substrat.

Purification recommandée des enzymes pour une éventuelle utilisation en industrie alimentaire ou pharmaceutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 2050. Report NWSE2004109, ISBN 9039339090, enzymes in detergent science series. 69. P: 175-202.
- -Aguilar C.N., Gutiérrez-Sánchez G., Rado-Barragán P. A., Rodríguez-Herrera R., Martínez-Hernandez J.L., Contreras-Esquível J.C. (2008): Perspectives of solid state fermentation for production of food enzymes. *American J. Biochem. Biotechnol.* 4:354-366p
- Ahlawat S., Dhiman S., Battan B., Mandhan R. P., Sharma J. (2009): Pectinase production by *Bacillus subtilis* and its potential application in biopreparation of cotton and micropoly fabric. *Process Biochemistry*.44: 521-526p.
- Alifax, R. (1972). Activité lipolytique de quelques micro-organismes (1 bactéries). *Le lait* inra Edition, 52 (515-516), P 283-296.
- Alifax, R. (1975). Activité lipolytique de quelques microorganismes II moisissures. *Le lait* INRA Editions 1975, 55 (541-542), p 41-5
- Alloue, W.A.M. (2008). Formulation et immobilisation de la lipase de *Yarrowia lipolytica* : Thèse de Doctorat. Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux. Belgique, 165p.
- Alloue, W; Destain, J; Ongena, M; Blecker, C; and Thonart, P. (2008b). Effects of monopropylene glycol and gamma irradiation on *Yarrowia lipolytica* lipase stabilization. *Prep Biochem. Biotechnol* 38 : 217-228
- Alloue, W; Aguedo, M; Destain, J; Ghalfi; Blecker, C; Wathélet, J.P; et Thomart, P. (2008a). Les lipases immobilisées et leurs applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 12(1), 57-68.
- Amaud A., Berset C., Bocquet J., Bouix M., Cerisie Y., Cuvelier EG.F., De Nettancourt D., Engasser J.M., GaW P., Goursaud J., Cnrenini M., Guiraud J.P., Richard, H., Steenbrugge, H., Teoule, E., Thomas, D. et Vandecasteele, J.P. (1993). *Biotechnologies*. 4ième ed., Scriban R. (éd), Technique et Documentation Lavoisier Paris, France, 904 p.

Références bibliographiques

- Assamoi A.A., Destain 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*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13(2), 281–294.
- Barnett C.C., Berka R.M., Fowler T. (1991): Cloning and amplification of the gene encoding an extracellular β -glucosidase from *Trichoderma reesei*: evidence for improved rates of saccharification of cellulosic substrates. *Bio/Technology*.9: 562-567p.
- Bekhouche F. (1991) : Recherche de champignons cellulolytiques du sol des zones arides du Sahara algérien. Etude comparée des cellulases de *Lasiobolium Orbiculoides* et *Aspergillus Terreus*. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaire. Constantine.235-237p.
- Bergmeyer H.U., Gawekn K., *et al.* (1979). Principes de l'analyse enzymatique. Tech. et Doc. Lavoisier. Paris. 17p.
- Berry D . R and Paterson A. (1990). Enzymes in food industry In: Sucking C.J. (éd.), Enzyme chemistry impact and application. Editions Chapman and Hall London, 2nd edition. P: 306-351
- Bhat M K. (2000). Cellulases and related enzymes in Biotechnology. *Biotechnol Adv.* 18: 355-383.
- Boukaa, M. (2015). Isolement des microorganismes producteurs de lipases à intérêt biotechnologique. Mémoire Master : Biotechnologie Microbienne. Fès, Maroc : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. 37p.
- Bousseboua H. (2002): Eléments de Microbiologie Générale. Programmes de graduation. Editions de l'Université Mentouri. Constantine Algérie .230-231p.
- Buelon A ., Colonna P et Leloup V. (1990). Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Industries Alimentaires et Agricoles.* 6, P: 515-532
- Burhan A., Unaldi N., Coral G., Colak O., Aygan A., Gülnaz O. (2003). Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic, alkaline and chelator resistant

Références bibliographiques

amylase from an alkaliphilic *Bacillus* sp. Isolate ANT-6. *Process Biochem*, 38: 1397-1403

- Chaib, R ; Slimane, H.N. (2013). Etude des paramètres influant la production de lipases par deux souches levurienne. Mémoire Master en Microbiologie. Université Constantine 1
- -Chi Z., Ma C., Wang P., Li H.F. (2007). Optimization of medium and cultivation conditions for alkaline protease production by the marine yeast *Aureobasidium pullulans*. *Bioresour. Technol.*, 98; 534–538.
- Davies G., Henrissat B. (1995). Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. *Structure*. 3: 853-859.
- Devi M.K., Banu A.R., Gnanaprabhal G.R., Pradeep B.V., Planiswamy M. (2008). Purification, characterization of alkaline protease enzyme from native isolate *Aspergillus niger* and its compatibility with commercial detergents. *Indian J. Sci. Technol.*, 1(7) : 1-6
- Drouin M. (2005). Etude de production de protéases alcalines par *Bacillus licheniformis* en utilisant des boues d'épuration municipales comme substrat. Mémoire de Maître ès sciences(M.Sc.). Canada.
- Ferrero M.A., Castro G.R., Abate C.M., Baigori M.D., Sineriz F. (1996). Thermostable alkaline proteases of *Bacillus licheniformis* MIR 29: isolation, production and characterization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 45; 327–32.
- Fickers P., Destain J., Thonart P. (2008): Les lipases sont des hydrolases atypiques : Principales caractéristiques et application. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 119-130p
- Fogarty W. M., Kelly C.T. (1994): *Microbial Enzymes and Biotechnology Applied Science*, London, New York. (43):71-132p.
- Gao J., Weng H., Zhou D., Yuan M., Guan F., Xi Y. (2008). Production and characterization of cellulolytic enzymes from the thermoacidophilic fungal *Aspergillus*

Références bibliographiques

terreus M11 under solide state cultivation of corn stover. *Bioressour Technol.* 99: 7623-7629

- García-Gómez M.J., Huerta-Ochoa S., Loera-Corral O., Prado-Barragán L.A. (2009). Advantages of a proteolytic extract by *Aspergillus oryzae* from fish flour over a commercial proteolytic preparation. *Food Chem.*, 112; 604–608.
- Granner D.K., Murray R.K., Rodwell V.W. (2008). *Biochimie de HARPER*. 3ème édition. De Boeck. Bruxelles., 47. pp. 49-51, 483.
- Gunstone, F.D. (1999). Enzymes as biocatalysts in the modification of natural lipides. *Journal of the science of food and agriculture* .79: 1535-1549
- Gupta R., Gigras P., Mohapatran H., Goswami K.V., Chauhan B. (2003). Microbial α - amylase: a biotechnological perspective. *Process Biochem* 38: 1599-1616.
- Gupta R., Gigras P., Mohapatran H., Goswami K.V., Chauhan B. (2003). Microbial α - amylase: a biotechnological perspective. *Process Biochem* 38: 1599-1616
- Gusakov A V., Sinitsyn A P., Markov A V., Skomarovsky A A., Sinitsyna O A., Berlin AG., Ankudimova N V. (2000). Indigo-binding domain in cellulase molecule. *Biocatalysis fundamantals and applications*. 11 (6): 77-80.
- Harjunpaa V., Teleman A., Koivula A., Ruohonen L., Teeri T T., Teleman O.,Drakenderg T. (1996). Cello-oligosaccharides hydrolysis by cellobiohydrolase II from *Trichoderma reesei* – Association and rate constants derived from an analysis of progress curves. *Eur J Biochem*. 240: 584-591.
- Hasan, F; Alishah, A; Hameed, A. (2006). Industrial application of microbial lipases. *Enzyme and microbial technology* 39.235-251.
- Hasper A A., Dekkers E., Mil M V., Van de Vondervoort P J I., De Graaff L H. (2002).Egl C, a new endoglucanase from *Aspergillus niger* with major activity towards xyloglucan.*Appl.Environ.Microbiol.*68 (4): 1556-1560
- Hmidet N., El Hadj A, N., Haddar A., Kanoun S., Alya S., Nasri M. (2009):Alkaline proteases and thermostable α - amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1:

Références bibliographiques

Characterization and potential application as detergent additive. *Biochemical Engineering Journal*. 47: 71-79p.

- Jeager, K.E ; Dijkstra, B.W ; etreetz, M.T. (1999). Bacterial biocatalysts: Molécular biology three dimensional structure and biotechnological applications of lipases annu.Ret. *Microbiol* 53: 315-351.
- Jeager, K.E; Ransac, S; Dijkstra, B.W. *et al.* (1994). Bacterial lipases. *FEMS Microbiol Rev* 15(1): 29-63.
- Jeager, K.E; Reetz, M.T. (1998). Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. *Trends biotechnol* 16(9) : 396-403
- Josefsson P. (2006). Biochemical modification of wood components. KTH, the royal institute of Technology, Department of Fiber and Polymer technology, Stockholm.
- Kader A J., Omar O., Feng L S. (1999). Isolation of cellulolytic fungi from the barrio Highlands, Sarawak. University of Kebangsaan, Malaysia. *Review of Biodiversity and Environmental Conservation*.
- Karmakar M. et Ray R.R. (2011). Tendances actuelles de la recherche et de l'application des cellulases microbiennes. *Research Journal of Microbiology*, 6, P: 41-53
- Keating L., Kelly C., Forgary W. (1998). Mechanism of action and the substrate dependant pH maximum shift of the- amylase of *Bacillus coagulans*. *Carbohydrate Research*. P: 311-318.
- Kleman-Leyer K M., Gilkes N R., Miller R C., Kirk T K. (1994). Changes in the molecular size distribution of insoluble cellulose by the action of recombinant *Cellulomonas fimi* cellulases. *Biochem J*. 302: 463-469
- -Korish M. (2003): Production, Purification, Properties and Application of the Cellulase from a Wild type Strain of a Yeast isolate. Faculty of Biology, Johannes Gutenberg- University, Mainz, Germany.

Références bibliographiques

- Kumar A.G., Nagesh N., Prabhakar T.G., Sekaran G. (2008a). Purification of extracellular acid protease and analysis of fermentation metabolites by *Synergistes* sp. Utilizing proteinaceous solid waste from tanneries. *Bioresour. Technol.*, 99; 2364–2372
- Leisola M., Jokela J., Pastinen O., Turunen O. (2001). Industrial use of enzymes. Laboratory Bioproc. Eng., Helsinki University of Technology, Finland, nd Hans Schoemker, DMS Reserch, MD Geleen, The Netherlnds.
- Lekchiri S., Moueqqit M., Lekchiri A. (2006). Mise en évidence d'une activité cellulasechez *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* induite par une nouvelle forme d'hydrocellulosepurifiée. Faculté des Sciences, Département de Biologie, Faculté des Sciences, UniversitéMohamed Ier, Oujda, Maroc
- -Levy I., Shani Z., Shoseyov O. (2002). Modification of polysaccharides and plant cell wallby endo-1, 4- β -glucanase and cellulose binding domains. *Biomolecular Engineering*. 19: 17-30.
- Linder, M ; Fanni, J ; Parmentier, M. (2004). Extraction, fractionnement et concentration des huiles marines. oliseeds and fats crops and lipides. Vol 11 (2) 123-130.
- Malhotra N. S. M., Satyanarayana T. (2002): Production and partial characterization of thermostable and calcium-independent alpha-amylase of an extreme thermophile *Bacillus thermooleovorans* NP54. *Letter of Applied.Microbiology*. 31(5):378-384p.
- Mitidieri S., Souza M., Schrank A. H., Vainstein M.H. (2006): Enzymatic detergent formulation containing amylase from *Aspergillus niger*: a comparative study with commercial detergent formulations. *Bioresour Technol*. 97: 1217-1224p
- Mtibaa, H ; Fendri, A ; Sayari, A ; Ben salouh, A ; Majdoub, H ; Gergouri, Y. (2002). La lipase de *candida rugosa* : Caractérisation biochimique. *Oléagineux ; lorpras ; lipases*, vol 9 (1)49-53
- Nadirman H., Yoshiyuki O. (2006):Mechanism of Hydrolysis of the Treated Starch Granules by Raw Starch Digesting Amylase from *Penicillium brunneum*, *Journal Starch Starke*. 7: 25-28p.

Références bibliographiques

- Najjar A. (2010): Etude quantitative de la sécrétion de lipase, de la lipolyse et du stockage de lipides chez *Yarrowia lipolytica* lors de sa croissance en présence d'huile d'olive. Thèse. Microbiologie et Biotechnologies.
- Nakatani H. (1996). Rontecarlo stimulation of multiple attack mechanism of α -amylase. *Biopolymers*.39 (5), P: 665-669.
- Nevalainen K.M.H., Palva E.J. (1978): Production of extracellular enzymes in mutant isolated from *Trichoderma viride* unable to hydrolyse cellulose. *Appl Envir Microbiol*. 33: 11-16p.
- Nielsen J. E. and Borchet T. V. (2000): *Biochim. Biophys. Acta*. 1543: 253-274p.
- Odier E., Rouau X. (1985). Les cellulases et les enzymes de dépolymérisation de la lignine.In: Mouranche A., Costes C. (ed.), *Hydrolases et dépolymérasés. Enzymes d'intérêt industriel*.
- Onsoni H., Zamani M R., Motallbei M., Zarghami N. (2005). Identification of over producing strain of endo- β -1, 4-glucanase in *Aspergillus* species: characterization of crude carboxymethyl cellulose. *African.Jour. Biotechnol*. 4 (1): 26-30
- Pandey A. (2004): Alpha amylase from a fungal culture grown on oil cakes and its properties. *Braz. arch. biol. technol*. (2): 47p.
- Pandey A., Nigam P., Soccol C. R., Soccol V. T., Singh D., Mohan R. (2000): Advances in microbial amylases. *Biotechnol Appl Biochem*. 31:135-52p.
- Patel R., Dodia M., Singh S.P. (2005). Extracellular alkaline protease from a newly isolated haloalkaliphilic *Bacillus* sp. : Production and optimization. *Proc. Biochem.*, 40; 3569– 3575.
- Pazur J. H and Marchetti N.T. (1992). Action patterns of amylolytic enzymes as determined by the [1-14 C] malto-oligosaccharides mappingmethod. *Carbohydr. Res*. 227, P: 215-225.*Process Biochem.*, 40, P: 2931-2944.
- Pelmont J. (1995). *Enzymes : Catalyseurs du monde vivant*. Presse Universitaire de Grenoble. 7; 621. 652-654.

Références bibliographiques

- Petit J. and Jobin P. (2005): La fertilisation organique des cultures Les bases. Fédération d'agriculture biologique du Québec . PGPR: Biocontrol and Biofertilization. 1–38p.
- Pimentel D., Patzek T. (2005). Ethanol production using corn switchgrass, and wood;biodiesel production using soybean and sunflower. *Natural Resources Research*. 14 (1): 65-76.
- Prakash B., Vidyasagar M., Madhukumar M.S., Muralikrishna G.,Sreeramulu K. (2010): Production, purification, and characterization of twoextremely halotolerant, thermostable, and alkali-stable α -amylases from *Chromohalobacter* sp. TVSP 101. *Process Biochem*. 44:210–215p.
- Rao M.B., Tanksale A.M., Ghatge M.S., Deshpande V.V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62; 597-635.
- Rapp P., and Beerman A. (1991): Bacterial cellulases. In C. H. Haigler and P. J. Weimer (ed.), *Biosynthesis and biodegradation of cellulose*. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 535-595p.
- Reddy N. S., Nimmagadda A., Sambasiva Rao K.R.S. (2003): An overview of the microbial alpha-amylase family.*Afr. J. Biotechnol*. 2: 645-648.
- Reis, P; Holmberg, K; Liser, M.E; Miller, R. (2008). Lipases at interfaces: A review advances in colloid and interface science.
- Rihani, A. (2012). Screening de microorganismes producteurs de lipases : application dans la biodécontamination de surface. Magister : Microbiologie. Annaba : Université Badji mokhtar, 55P.
- Rivière J. (1975). Les applications industrielles de la microbiologie. p : 31-195. *Collectionsciences agronomiques*. Masson et Cie (éd.)
- Sandhya C., Sumantha A., Szakacs G. and Pandey A. (2005). Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 40: 2689-2694

Références bibliographiques

- Saxena S., Shukla S., Thakur A., & Gupta R. (2008). Immobilization of polygalacturonase from *Aspergillus niger* onto activated polyethylene and its application in apple juice clarification. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 55(1) :33-51
- Scharg, J.D; and Cygler, M. (1993). 1.8 A refined structure of the lipase from *Geotrichum candidum* *J.Mol. Biol* 230: 575-591.
- Scriban R. (1993). *Biotechnologie*. 4^{ème} édition. Technique et Documentation – Lavoisier,Paris. P: 40.
- Scriban R. (1993). *Trichoderma reesei* exhibits true reversion and a high exchange rate on crystalline cellulose. *Biotechnologie*. P : 32-690,4^{ème} édition
- Scriban R. (1999). *Biotechnology*. 5^{ème} édition. Technique et Documentation – Lavoisier,Paris. P: 149-156-157
- Sharma, R; Chisti, Y; Benerjee, UC. (2001). Production purification characterization and application of lipases. *Biotechnol Adv* 19(8): 627-662
- Smeets E., Faaij A., Lewandowski I. (2004). A quickscan of global bioenergy potentials to
- -Teeri T T. (1997). Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases. *Tibtech*. 15: 160-165.
- Thérien Y. (2006). Natural resources, mais pour l'éthanol. *Le bulletin des agriculteurs* www.lebulletin.com/abonnement2/0611/0611g.cfm
- Vidaud C. (1984): Contribution à l'étude de l'introduction du système cellulosique de *Trichoderma* sp par utilisation d'analogie de substrat thiosaccharidique. Thèse de 3^{ème} Cycle. Université de Grenoble.9.
- Vincent M. (1996). Blood glucose: Its measurement and clinical importance. *Clinica Chimica*.
- Vulfson, E.N. (1994). Industrial application of lipases in P wooley SBP (eds) lipase: Their structure biochemistry and application. Cambridge universitypress 271-286

Références bibliographiques

- -Warren R A J. (1996). Microbial hydrolysis of polysaccharides. *Annu Rev Microbiol.* 50: 183-212.
- Xu B., Hellman U., Ersson B., Janson J C. (2000). Purification, characterization and aminoacid sequence analysis of a thermostable, low molecular mass endo- β -1,4-glucanase from Blue Mussel, *Mytilus edulis*. *Euro J Biochem.* 267: 4970-4977.
- Xu B., Hellman U., Ersson B., Janson J C. (2000). Purification, characterization and aminoacid sequence analysis of a thermostable, low molecular mass endo- β -1,4-glucanase from Blue Mussel, *Mytilus edulis*. *Euro J Biochem.* 267: 4970-4977.

Abstract:

Enzymes have been part of our daily lives for a very long time, they are present in all cells and are essential for the survival of all living species. Indeed, enzymes are able to break down and transform various compounds present in the living environment. A functionality that some industries can use in different fields

Indeed, industries are among the first to recognize and exploit the enormous potential of enzymes, because they understood that if it was possible to accelerate the reactions, the production processes could be realized in much less time, with cheaper raw materials.

They come from different origins, but the enzymes of microbial origin are the most produced. Microorganisms are the main source of industrial enzymes: 50% come from fungi and yeasts, 35% from bacteria, while 15% are of plant or animal origin.

There are countless ways of using enzymes. Indeed, microbial enzymes can be used in many ways to achieve goals often very different from each other. Because of their low cost, high productivity, environmental protection, plasticity and high availability. they are widely used in industrial processes. they are used in the pulp and paper industry, in textiles, in detergents, in tanneries, in the food industry, in the alcohol industry, in bakeries, in confectionery, in the dairy industry as well as in pharmaceuticals. It is then possible to develop large global markets for enzyme production.

key words:Enzyme,Mold,Biotechnology,Industry .

ملخص:

لفترة طويلة جدًا ، كانت الإنزيمات جزءًا من حياتنا اليومية ، وهي موجودة في جميع الخلايا وهي ضرورية لبقاء جميع الأنواع الحية. في الواقع ، الإنزيمات قادرة على تحطيم وتحويل المركبات المختلفة الموجودة في البيئة المعيشية. ميزة يمكن أن تستخدمها صناعات معينة في مناطق مختلفة

في الواقع ، كانت الصناعات من بين أول من أدرك واستغلال الإمكانيات الهائلة للإنزيمات ، لأنهم أدركوا أنه إذا كان من الممكن تسريع التفاعلات ، يمكن تنفيذ عمليات الإنتاج في وقت أقل بكثير ، باستخدام مواد خام أرخص.

تأتي من أصول مختلفة ، ولكن الإنزيمات من أصل جرثومي هي الأكثر إنتاجًا. الكائنات الدقيقة هي المصدر الرئيسي للإنزيمات الصناعية: 50% من الفطريات والخمائر ، 35% من البكتيريا ، و 15% من أصل نباتي أو حيواني.

هناك طرق لا حصر لها لاستخدام الإنزيمات. في الواقع ، يمكن استخدام الإنزيمات الميكروبية بعدة طرق من أجل تحقيق أهداف غالبًا ما تكون مختلفة تمامًا عن بعضها البعض. نظرًا لتكلفتها المنخفضة ، وإنتاجيتها العالية ، وحماية البيئة ، واللدونة ، والتوافر الواسع. وهي تستخدم على نطاق واسع في العمليات الصناعية. وتستخدم في صناعة اللب والورق ، وفي المنسوجات ، وفي المنظفات ، وفي المدايع ، وفي صناعة الأغذية ، وفي صناعة الكحول ، في المخابز ، في صناعة الحلويات ، في صناعة الألبان وكذلك في صناعة الأدوية. ومن ثم يمكن تطوير أسواق عالمية كبيرة لإنتاج الإنزيم.

الكلمات المفتاحية: إنزيم، فطر، التكنولوجيا الحيوية، الصناعة.

Résumé :

Depuis très longtemps, les enzymes font partie de notre quotidien, Ils sont présents dans toutes les cellules et sont essentiels à la survie de toutes les espèces vivantes. En effet, les enzymes sont capables de décomposer et de transformer divers composés présents dans le milieu vivant. Une fonctionnalité que certaines industries peuvent utiliser dans différents domaines.

En effet les industries se trouvent parmi les premières à reconnaître et exploiter l'énorme potentiel des enzymes, car ils ont compris que s'il était possible d'accélérer les réactions, les procédés de production pourraient être réalisés en beaucoup moins de temps, avec des matières premières moins chères.

Ils sont provenus de différentes origines, mais Les enzymes d'origine microbiennes sont les plus produites. Les microorganismes constituent la principale source d'enzymes industrielles : 50% proviennent des champignons et des levures, 35% des bactéries, alors que 15% sont d'origine végétale ou animale.

Il existe d'innombrables voies d'utilisation des enzymes. En effet, les enzymes microbiennes peuvent être utilisées de bien des façons afin d'atteindre des buts souvent très différents les uns des autres. En raison de leur faible coût, grande productivité, protection de l'environnement, la plasticité et la grande disponibilité. ils sont largement utilisés dans les procédés industriels. elles sont utilisées dans l'industrie des pâtes et papiers, dans les textiles, dans les détergents, dans les tanneries, dans l'industrie alimentaire, dans celle des alcools, dans les boulangeries, dans les confiseries, dans l'industrie laitière ainsi que pharmaceutique. Il est alors possible de développer de grands marchés mondiaux de production d'enzymes.

Mots clés :Enzyme,Moisissure ,Biotechnologie,Industrie.