

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire des microorganismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

L'utilisation de la "Plackett-Burman" comme plan statistique dans
l'optimisation de la production de la chitinase bactérienne.

Présenté par : BOUTAKA Amira
AYOUNE Nesrine
ATMANE Nourhane

Le 27/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreuse : MERIANE Ilhem (Maître Assistante A (MAA) - Université Frères Mentouri,
Constantine 1).

Examineur 1 : KITOUNI Mahmoud (Professeur (Pr) - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinatrice 2 : ABDELAZIZ Ouidad (Maître de Conférence B (MCB) - Université Frères
Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

Handwritten Arabic calligraphy in a highly stylized, cursive script. The text is arranged in a circular, overlapping pattern. The word "Sidi" is written in a smaller font on the left side of the main calligraphic structure. The overall composition is dense and intricate, with various flourishes and decorative elements.

Remerciements

On remercie Allah le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce modeste travail.

En premier lieu, nous tenons à remercier très chaleureusement notre encadreuse Mme MERIANE Ilhem pour son précieux conseil, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Merci du fond du cœur.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mr. Kitouni et Mme. Abdelaziz pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études.

Ce mémoire n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien actif des membres de notre famille, surtout nos parents qu'ils nous ont toujours encouragé moralement et matériellement et à qui on tient à les remercier.

Enfin, on tient à exprimer vivement nos remerciements avec une profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation, car un projet ne peut pas être le fruit d'une seule personne.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À ma fierté et mon honneur mon chère pays l'Algérie.

À l'homme à qui je dois ma vie, ma réussite et mon respect, mon père adoré AHMED, que Dieu le préserve.

À la femme qui a pris le poids de mes souffrances, à l'étoile qui illumine ma vie et l'a rempli d'amour et de joie, ma mère NADJEMA.

À celles qui ont vécu avec moi les bons Comme les mauvais moments, mes sœurs DJAMILA, SALSABIL et LAMISS, que Dieu vous garde pour moi.

À celle qui me pousse à poursuivre mes rêves, une force sans laquelle je ne serai pas où j'en suis aujourd'hui, ma tante FATIHA.

À ma deuxième mère qui m'a soutenu et qui est toujours disponible à mes côtés, ma tante FAHIMA.

À tous mes ami(e)s qui m'ont soutenu et qui sont fières de moi.

Sans oublier mes partenaires AMIRA et NESRINE pour leurs soutien moral, patience et leurs compréhension tout le long de ce parcours ensemble.

Nourhane.

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance. Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

À ma fierté et mon honneur mon chère pays l'Algérie.

À l'homme compatissant, respectueux et généreux qui m'a tenu la main, m'a fait sourire et m'a aidé à surmonter les pires situations, mon père SAMIR.

Je suis la personne forte et courageuse que je suis aujourd'hui à cause de tout ton amour et de tes conseils. Je suis tellement fier d'être ton fille.

À la femme que j'admire le plus dans ma vie, tout le monde est tout simplement pâle en comparaison. Mon soleil dans l'existence, ma mère KARIMA.

Quand j'abandonne tu me relèves avec patience et tu as pris le poids de mes souffrances avec la douceur de tes gestes, je suis très chanceuse d'avoir une mère si forte et courageuse. Ma source d'inspiration, tu es la splendeur des splendeurs. Maman, mon souhait le plus fort qu'Allah te garde près de moi encore longtemps.

À ceux qui ont supporté chapeureusement et encouragé tout au long de mon parcours, mes frères CHARAF, ZAKI et WASSIM.

À qui je souhaite tout le bonheur et plus de succès, mon chère amie RANIA.

Sans oublier mes partenaires NESRINE et NOURHANE qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la rédaction de ce travail.

AMIRA.

Dédicace

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce travail :

À ma fierté et mon honneur mon chère pays l'Algérie.

À ma très chère mère Nadia

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

À mon très cher père Bachir

Merci pour la confiance qu'il m'accordé, tu as toujours été à mes cotés pour me soutenir et m'encourager

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

À mes très chers frères Soufiane, Nadir, Ammar, Zaki et ma belle sœur Dounia

Puisse Allah vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

À tous les membres de ma famille

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

À mes chères amie(s)

Merci pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

Sans oublier mes partenaires Amira et Nourhane

Pour leurs soutien moral, patience et leurs compréhension tout le long de ce parcours ensemble.

Nesrine.

Sommaire

Remerciement

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des symboles

Introduction.....1

Partie théorique

Chapitre 01 : Chitinase et bactéries chitinolytiques

1. La chitine, substrat de chitinase	5
2. Chitinase.....	5
2.1 Définition	5
2.2 Bactéries productrices de chitinase.....	6
2.2.1 Les actinobactéries.....	6
2.2.2 Les protéobactéries	7
2.2.3 Les firmicutes	7
2.3 Rôle des chitinases chez les organismes et les microorganismes	9
2.4 Classification des chitinases.....	10
2.4.1 Selon le mode d'action	10
2.4.2 Selon la structure	12
2.5 Applications biotechnologiques de la chitinase.....	12
2.5.1 Dans le domaine agricole.....	12
2.5.2 Dans le domaine de biotechnologie environnementale	13
2.5.3 Dans le domaine médical	14

2.5.4 Dans le domaine alimentaire.....	14
--	----

Chapitre 02 : Les plans d'expériences

1. Méthodologie des plans d'expériences	16
2. Intérêt des plans d'expériences	16
3. Étapes principales d'un plan d'expérience.....	17
4. Types des plans d'expériences.....	17
4.1 Plans factoriels	17
4.2 Plans fractionnaires.....	18
4.2.1 Plans de Plackett-Burman.....	18
4.2.2 Plan de surface de réponse (RSM)	19
4.2.3 La conception composite centrale (CCD)	20
4.2.4 Plan Box Behnken	21
4.2.5 Plan de Taguchi.....	21
Méthodologie.....	24

Partie résultats et discussions

1. Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon la bactérie productrice de chitinase.....	26
2. Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon l'habitat de la bactérie productrice de chitinase.....	31
3. Répartition des différentes variables utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase.....	32
3.1 En fonction des sources nutritives.....	35
3.1.1 Sources de carbone	35
3.1.2 Sources d'azote.....	40
3.1.3 Sources d'énergie	43

3.1.4 Les ions métalliques et les sels minéraux	46
3.1.5 Les détergents.....	51
3.2 En fonction des paramètres physico-chimiques.....	53
4. Usage d'un second plan pour l'optimisation de la production de la chitinase bactérienne.....	55
5. Composition finale des milieux de fermentation pour une maximale production de chitinase	62
Conclusion.....	66
Références bibliographiques	68
Annexes	78

Liste des abréviations

AC : Activité de chitinase.

ARNr 16S : Acide ribonucléique ribosomique 16S.

β : Béta.

Ca⁺⁺ : Ion de calcium.

CaCl₂ : Chlorure de calcium.

CaCO₃ : Carbonate de calcium.

CCD : Conception Composite Centrale.

CELase : Cellobiohydrolase.

CMC : Carboxy Méthyle Cellulose.

CMCase : Carboxy Méthyle Cellulase.

COS : Chitooligosaccharides.

EC : Enzyme chitinolytique.

EPCL : Extrait de paroi cellulaire de levure.

Etc : Etcetera.

FeC₆H₅O₇ : Citrate ferrique.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

FePO₄ : Orthophosphate de fer.

FeSO₄ : Sulfate Ferreux.

GC% : Le pourcentage des bases azotées guanine et cytosine.

GH : Glycosides hydrolases.

g/l : Gramme par millimètre.

GlcNAc : N-acétylglucosamine.

h : Heure (s).

H₃BO₃ : Acide borique.

H₃BO₄ : Acide borique.

H₂O : Molécule d'eau.

J : Jour (s).

JMP : John's MacIntosh Product.

K : Nombre de variables.

KBr : Bromure de potassium.

KCl : Chlorure de potassium.

KDa : Kilo dalton.

KH₂PO₄ : Dihydrogène phosphate de potassium.

K₂HPO₄ : Hydrogène diphosphate de potassium.

KNO₃ : Nitrate de potassium.

LM : Liqueur de maïs (**CSL** : Corn Steep Liquor).

Mg⁺⁺ : Ion de magnésium.

MgCl₂ : Chlorure de magnésium.

MgSO₄ : Sulfate de magnésium.

MI : Millimètre.

mM : Milli molaire.

MnCl₂ : Chlorure de manganèse.

Mn₃(PO₄)₂ : Manganèse de phosphate.

N : Nombre d'essais.

NaCl : Chlorure de sodium.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaF : Fluorure de sodium.

NAGase : N-acétylglucosaminidases.

NaHCO₃ : Bicarbonate de soude.

Na₂HPO₄ : Hydrogénophosphate de sodium.

NaNO₃ : Nitrate de sodium.

Na₂SiO₃: Silicate de sodium.

Na₂SO₄: Sulfate de sodium.

NH₄Cl: Chlorure d'ammonium.

NH₄NO₃: Nitrate d'ammonium.

(NH₄)₂SO₄: Sulfate d'ammonium.

PB: Plackett-Burman.

PCC : Poudre de carapace de crevette.

PPF : Plan Factoriel Fractionnaire (**FFD**: Fractional Factorial Design).

pH : Potentiel Hydrique.

Plan B-B: Plan Box–Behnken.

18 : 2ω6 PLFA : 18 :2ω6 acide gras phospholipidique.

pNP-NAG : *p*-nitrophényl N-acétyl-D glucosamine.

P.O.U : Protéines d'organismes unicellulaires.

rpm : Rotation par minute.

RSM : Méthodologie de Surface de Réponse.

sp : Espèce.

SrCl₂ : Chlorure de strontium.

SVMT : Seul variable en même temps.

T° : Température d'incubation en degré Celsius.

Tr/min : Tour par minute. **Tween 20** : Monolaurate de polyoxyéthylène sorbitan.

Tween 80 : Monooléate de polyoxyéthylène sorbitan.

u/ml : unité par millimètre.

XX^e : Vingtième siècle.

ZnSO₄ : Sulfate de zinc.

MSA

Liste des symboles

% : Pourcent.

N° : Numéro.



Liste des figures

Figure 01: La structure moléculaire de la chitine.....	5
Figure 02: Processus de dégradation de la chitine.	6
Figure 03: L'hydrolyse de la chitine par l'endochitinase.....	11
Figure 04: L'hydrolyse de la chitine par l'exochitinase.....	11
Figure 05: Représentation dans un espace à trois facteurs d'un plan composite centré complet.....	20
Figure 06: Représentation géométrique du plan de Box Behnken.....	21
Figure 07: Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon la bactérie productrice de chitinase.	30
Figure 08: Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon l'habitat de la bactérie productrice de chitinase.	32
Figure 09: Répartition des sources de carbone utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase avec le plan d'expérience Plackett-Burman.....	36
Figure 10: Effets des sources de carbone utilisées dans le plan d'expérience Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.	37
Figure 11: Répartition des sources d'azote utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.	40
Figure 12: Effets des sources d'azote utilisés dans le plan d'expérience Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.	41
Figure 13: Répartition des sources d'énergie utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.....	44
Figure 14: Effets des sources d'énergie sur l'activité chitinolytique.....	45
Figure 15: Répartition des ions métalliques et des sels minéraux utilisés dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.....	47
Figure 16: Effets des ions métalliques et des sels minéraux utilisés dans le plan Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.	48
Figure 17: Répartition des détergents utilisés dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.	52
Figure 18: Effets des détergents utilisés dans le plan de Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.	52

Figure 19: Répartition des paramètres physico-chimiques utilisés dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.	53
Figure 20: Effet des paramètres physico-chimiques sur la production de la chitinase.	54
Figure 21: Pourcentage des différents types de plan d'expériences utilisés dans la seconde optimisation de la production de chitinase.....	55
Figure 22: Valeurs de pH qui ont permis une production maximale de la chitinase bactérienne.	65
Figure 23: Valeurs de la température qui ont permis une production maximale de la chitinase bactérienne.	65

MSA

Liste des tableaux

Tableau 01: Quelques exemples de bactéries productrices de chitinases.....	8
Tableau 02 : Articles trouvés en utilisant les divers moteurs de recherche.....	27
Tableau 03: Répartition des différentes variables utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase.	33
Tableau 04: Valeurs de l'activité chitinolytique en utilisant les méthodes classiques, le plan de Plackett-Burman et le second plan, selon la bactérie étudiée.	57
Tableau 05: Composition finale des différents milieux de fermentation optimisés pour la production de la chitinase.	62

Introduction

Les enzymes sont des biocatalyseurs qui réalisent des séries de réactions chimiques. Ce sont des macromolécules de nature protéique qui agissent à des concentrations infimes, reconnaissent spécifiquement certaines molécules et accélèrent la vitesse des réactions chimiques sans en modifier le résultat. À la fin de la réaction, la structure de l'enzyme se retrouve inchangée (**Blanco et Blanco, 2017**). Bien que les enzymes aient été isolées, purifiées et étudiées à partir de sources microbiennes, animales et végétales, les microorganismes sont les sources les plus couramment utilisés dans le domaine de la biotechnologie en raison de leur grande diversité biochimique et de la facilité de la manipulation génétique (**Thakur et al., 2019**).

Parmi la grande variété d'enzymes hydrolytiques produites par les microorganismes figurent les chitinases. Elles appartiennent à la famille des glycosides hydrolases (GH), leur taille est comprise entre 20 kDa et 90 KDa, et leur rôle est hydrolyser la chitine au niveau de la liaison β (1,4) N-acétylglucosamine (GlcNAc) pour être utilisée comme une source de carbone et d'énergie par ces microorganismes (**Naaz et al., 2021**).

Les chitinases attirent beaucoup l'attention des chercheurs dans le monde parce qu'ils ont une large gamme d'application notamment dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et des cosmétiques. Leur rôle est aussi important dans la lutte biologique contre les champignons, les agents causal de diverses maladies des plantes et sont utilisées alors comme biopesticides (**Ashour et al., 2016**).

À l'échelle industrielle, la chitinase microbienne a été produit par fermentation liquide en discontinu (batch), fermentation continue et fermentation discontinue alimentée (fed-batch). En outre, la fermentation à l'état solide a été également utilisée pour la production de chitinases (**Thakur et al., 2019**).

La planification expérimentale regroupe un ensemble de technique statistiques destinées à analyser le comportement d'un système expérimental dans le but d'en comprendre et améliorer le fonctionnement. Dans le domaine industriel en particulier, l'utilisation des plans expérimentaux est en développement constant et peut servir de support pour l'optimisation des procédés de fabrication et de contrôle ainsi que pour la formulation de produits (**Baléo et al., 2003**).

Les méthodes classiques peuvent être très coûteuses et prennent du temps et ne sont pas efficaces pour déterminer l'effet combiné de différents facteurs. Par contre les modèles expérimentaux statistiques peuvent résoudre de nombreux problèmes comme la sélection des facteurs influençant la réponse, la description des variations de la réponse en fonction du changement des facteurs. La validation expérimentale d'un modèle statistique et la détermination de la (ou des) combinaison (s) de facteurs conduisant à une optimisation de la réponse (**Baléo et al., 2003 ; Ashour et al., 2016**).

Les objectifs de notre étude sont :

- Se familiariser avec un plan statistique appelé la Plackett-Burman, connaître son principe, son mode d'utilisation et son avantage dans l'optimisation de la fermentation.
- Étudier l'influence des facteurs utilisés tels que les sources de carbone, les sources d'azote et les différents paramètres physicochimiques sur la fermentation et la production de l'enzyme chitinase.
- Connaître les facteurs qui ont permis une production maximale de l'enzyme chitinase.

Notre mémoire se divise en partie théorique, partie pratique, partie résultats et discussion, et se termine par une conclusion.

*Partie
théorique*

***Chapitre 01 :
Chitinase et
Bactéries
chitinolytiques***

1. La chitine, substrat de chitinase

La chitine est un polymère linéaire dur, blanc et inélastique, constitué des unités de β -1,4-N-acétylglucosamine (GlcNAc). La chitine est le deuxième biopolymère le plus répandu dans la nature après la cellulose. On la trouve en tant que composant structurel des parois cellulaires fongiques, des exosquelettes, d'arthropodes, des coquilles de céphalopodes, de la cuticule des insectes, des coquillages et des calmars (Naaz *et al.*, 2021).

La chitine est un substrat naturel, non-toxique, biodégradable et versatile. Elle possède plusieurs activités biologiques (hydratants, antimicrobiens...) (Gasmi, 2017).

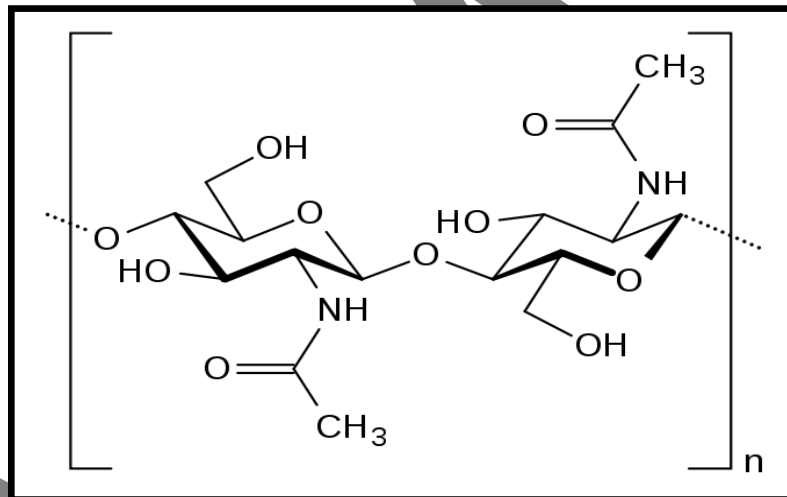


Figure 01 : Structure moléculaire de la chitine (Singh *et al.*, 2020).

2. Chitinase

2.1. Définition

La chitinase (EC.3.2.1.14) est une poly- β -1,4-(2-acétamido-2-déoxy) D-glucoside glycanohydrolase, de taille allant de 20 KDa à 90 KDa. C'est la principale enzyme de dégradation de la chitine (Brisou, 1971).

Le catabolisme de la chitine se déroule généralement en deux étapes principales qui impliquent le clivage initial du polymère de la chitine par la chitinase en oligosaccharides de chitine, puis un clivage supplémentaire en monomère de N-acétylglucosamine par les chitobiasés (Thakur *et al.*, 2019).

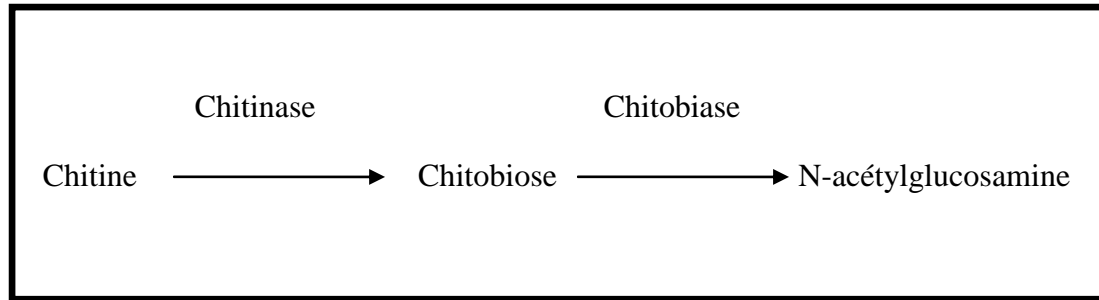


Figure 02 : Processus de dégradation de la chitine (Brisou, 1971).

2.2. Bactéries productrices de chitinase

Les chitinases sont produites par des bactéries, des champignons, des plantes et des animaux en quantités variables (Singh *et al.*, 2020) et sont aussi trouvées chez les virus, les archées et les protistes (Veliz *et al.*, 2017). La production de chitinase à partir des microorganismes est plus élevée que celle d'autres organismes supérieurs en raison de la possibilité de leur production par fermentation dans des conditions contrôlées de culture (Naaz *et al.*, 2021). Les majeures bactéries productrices de chitinase sont affiliées aux classes : actinobactéries, protéobactéries et firmicutes. Ces bactéries ont été isolées de divers habitats (Tableau 01).

2.2.1. Les actinobactéries

Les actinobactéries est un vaste groupe de bactéries à Gram-positif, possédant des génomes de grande taille souvent supérieurs à 5 mégabases, caractérisés par des teneurs élevées en G+C.

Ils sont largement distribués dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. Bien que les membres de ce grand phylum existent en tant que saprophytes libres, plusieurs d'entre eux peuvent vivre à l'intérieur des tissus ou des organes en tant que partenaires commensaux ou symbiotiques des plantes, des insectes, des animaux aquatiques ainsi que des animaux terrestres.

Le phylum est connu par la production d'antibiotiques et de métabolites secondaires et plusieurs types d'enzymes extracellulaires impliquées dans la dégradation des composés organiques et des biopolymères, y compris les aminopolysaccharides omniprésents : la chitine et le chitosane. Les actinobactéries sont reconnues comme des décomposeurs particulièrement efficaces de la matière chitineuse car elles portent des ensembles impressionnants de gènes dédiés à la dégradation de la chitine et du chitosane. La dégradation de ces polymères dans les actinobactéries dépend des hydrolases à action endo et exo ainsi que des monooxygénases polysaccharidiques lytiques. Les chitinases et les chitosanases actinobactériennes

appartiennent à neuf grandes familles de glycosyl hydrolases qui ne partagent aucune similarité de séquences (Lacombe-Harvey *et al.*, 2018). L'activité de chitinase a été principalement trouvée chez les espèces *Streptomyces* qui ont été étudiées de manière approfondie. Elles décomposent rapidement la chitine en introduisant leurs hyphes dans le substrat. C'est l'exemple de : *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces violaceusniger* et *Streptomyces thermoviolaceus* (Hamid *et al.*, 2013 ; Veliz *et al.*, 2017).

2.2.2. Les protéobactéries

Les protéobactéries, établi par Woese en 1987 sous le nom « bactéries violettes et leurs parents », sont des bactéries à Gram-négatif et constituent actuellement le plus grand phylum du domaine des bactéries. Sur la base de l'analyse phylogénétique du gène de l'ARNr 16S, le phylum des protéobactéries est divisé en six classes : Alphaprotéobactéries, Betaprotéobactéries, Gammaprotéobactéries, Deltaprotéobactéries, Epsilonprotéobactéries et Zétaprotéobactéries (Kersters *et al.*, 2006).

Nombreuses espèces appartenant à différentes familles de protéobactéries sont productrices de chitinases. *Serratia marescens* produit plusieurs types de chitinases : GH18, ChiA, ChiB, ChiC1 et ChiC2. Des espèces du genre *Enterobacter* sont aussi caractérisées et sélectionnées pour la production de chitinase, *Pseudomonas* sp a été étudié pour son activité chitinolytique antifongique. D'autres espèces ont été également étudiés pour leur production de chitinases, mais ont reçu beaucoup moins d'attention, c'est l'exemple de *Flavobacterium johnsoniae* (Veliz *et al.*, 2017).

2.2.3. Les firmicutes

Les firmicutes sont des bactéries à Gram positif, à faible GC et avec des parois cellulaires rigides ou semi-rigides contenant du peptidoglycane.

Les membres du phylum firmicutes sont des bâtonnets ou des sphères qui se reproduisent principalement par fission binaire. Ils sont abondants dans les sols et les environnements aquatiques où ils sont impliqués dans la décomposition et le recyclage de la matière organique, cependant plusieurs genres constituent une flore normale de l'intestin des mammifères ou sont pathogènes pour les humains, les animaux et les plantes.

Les firmicutes sont affiliées à trois classes : Bacilli, Clostridia et Erysipelotrichia, quatre ordres : Bacillales, Lactobacillales, Clostridiales et Erysipelotrichales, 17 familles et 54 genres (Seong *et al.*, 2018).

Les firmicutes sont bien connues par leur production d'enzymes chitinolytiques, à titre d'exemple *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus* et *Paenibacillus illinoisensis* (Veliz et al., 2017).

Tableau 01: Quelques exemples de bactéries productrices de chitinases.

Phylum de la bactérie productrice de chitinase	Les bactéries productrices de chitinase	L'habitat	Références
Actinobacteries	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Feuille, tiges et les racines des plantes.	Taechowisan et al., 2003.
	<i>Streptomyces diasitapiticus</i>	Saprophyte de l'insecte : <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> (larve et adulte).	Crawford et al., 1993.
	<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Sol et rhizosphère.	Veliz et al., 2017.
	<i>Streptomyces lydicus</i>	Rhizosphère de la plante <i>Linum usitatissimum</i> .	Brinda et Crawford, 1997.
	<i>Streptomyces rimosus</i>	Sol agricole.	Veliz et al., 2017.
Protéobacteries	<i>Achromobacter xylooxidans</i>	Déchets des crevettes marines.	Subramanian et al., 2020.
	<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>	Déchets industriels de fruits de mer.	Vaidya et al., 2003.
	<i>Brevundimonas diminuta</i> KT277492	Rhizosphère de la plante <i>Trigonella foenum-gracum L.</i>	Ashour et al., 2016.

Tableau 01 : Quelques exemples de bactéries productrices de chitinases (suite).

	<i>Chitiulyticbacter meiyuanensis</i> SYBC-H1	Sol.	Zhikui <i>et al.</i> , 2011.
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> HN1205	Sol riche en carapace de crabe.	Lee <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Serratia marcescens</i> JPP1	Déchets d'arachides.	Wang <i>et al.</i> , 2014.
Firmicutes	<i>Bacillus cereus</i> GA6	Sol.	Roohi et Kuddus, 2015.
	<i>Bacillus pumilus</i> U5	Sol.	Tasharrofi <i>et al.</i> , 2011.
	<i>Bacillus subtilis</i>	Sol de rhizosphère de la plante piment.	Narasimhan et Shivakumar, 2012.
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Racines de tomate.	Veliz <i>et al.</i> , 2017.
	<i>Paenibacillus</i> sp. AD	Sol des zones côtières.	Kumar <i>et al.</i> , 2017a.
	<i>Paenibacillus</i> sp. D1	Station d'épuration commune des industries de transformation des produits de la mer.	Singh <i>et al.</i> , 2009.
	<i>Paenibacillus illinoisensis</i>	Sol côtier.	Veliz <i>et al.</i> , 2017.

2.3. Rôle des chitinases chez les organismes et les microorganismes

Les chitinases sont produites par divers organismes y compris les virus, les animaux, les champignons, les plantes supérieures, les bactéries et les insectes. Elles assurent diverses fonctions. Chez les bactéries, les chitinases jouent différents rôles dans le parasitisme, la nutrition et le recyclage de la chitine dans la nature, alors que chez les plantes et les vertébrés elles sont impliquées dans les mécanismes de défense contre les champignons pathogènes. En

cas de champignons, des protozoaires et des invertébrés, les chitinases sont impliquées dans la morphogénèse. Certains virus comme les baculovirus produisent également l'enzyme chitinase pour assurer un rôle de pathogénéicité. En plus d'être une source de carbone et d'énergie et en dehors de la défense, les chitinases jouent un rôle structural chez certains arthropodes et champignons (**Dukariya et Kumar, 2020**).

2.4. Classification des chitinases

Les chitinases sont classifiées selon leur mode d'action et selon leur structure.

2.4.1. Selon le mode d'action

Les chitinases sont classées selon leur mode d'action enzymatique en : endochitinases et exochitinases. Les premières sont également nommées les polys [1,4-(Nacétyl- β -D-glucosaminide) glycanohydrolases (EC 3.2.1.14) et qui permettent de cliver la chitine au hasard dans des sites internes et générer des multimères de N-acétylglucosamine (GlcNAc) de faible masse moléculaire, tels que le chitotétraose, le chitotriose et le di-acétylchitobiose. Les exochitinases sont nommées les β -N-acétylhexosaminidases (EC 3.2.1.52) (**Gasmi, 2017**) et peuvent être divisées en deux sous-catégories :

- Les chitobiosidases (EC3.2.1.29) qui catalysent la libération progressive du di-acétylchitobiose à partir de l'extrémité non réductrice de la de chitine.
- Les 1-4- β -N-acétylglucosaminidases (EC3.2.1.30) qui clivent les oligomères des endochitinases et des chitobiosidases pour générer des monomères de N-acétylglucosamine (GlcNAc) (**Cohen-Kupiec et Chet, 1998**).

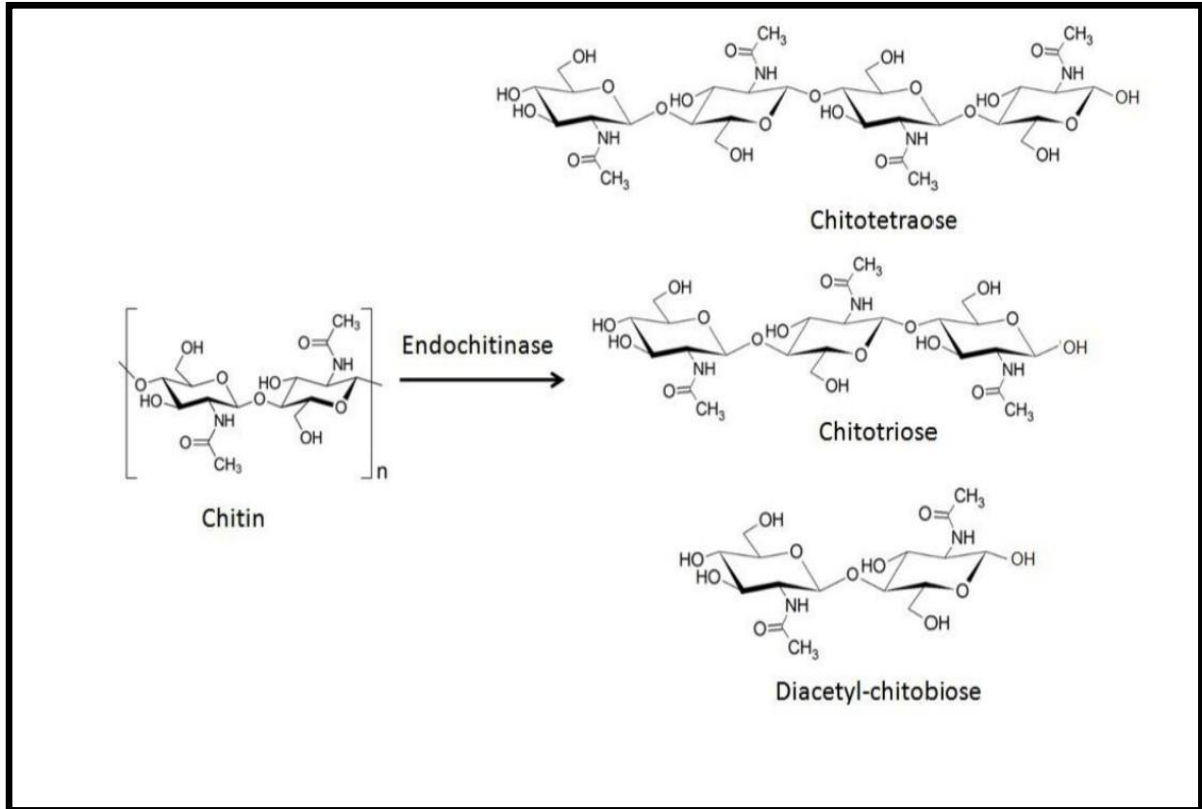


Figure 03: Hydrolyse de la chitine par l'endochitinase (Singh *et al.*, 2020).

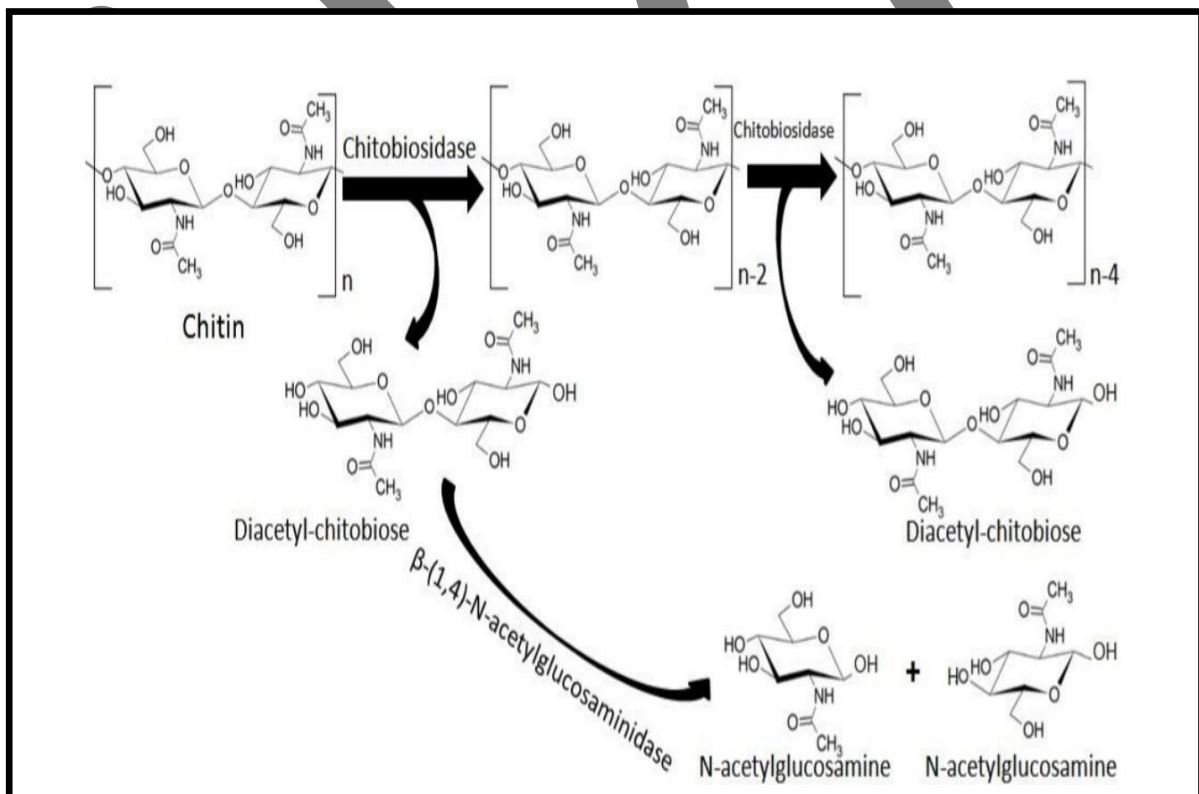


Figure 04 : Hydrolyse de la chitine par l'exochitinase (Singh *et al.*, 2020).

2.4.2. Selon la structure

Il y a six classes de chitinase en fonction de la structure de leurs séquences en acides aminés. Les chitinases de la classe I ont une séquence N-terminale riche en cystéine et un peptide signal riche en leucine ou valine. Ces chitinases sont encore divisés sur la base de leur nature acide ou basique en classe Ia et classe Ib, respectivement. Cette classe ne contient que des chitinases végétales, et la plupart d'entre elles sont des endochitinases. Les chitinases de la classe II ont une séquence similaire de la chitinase de la classe I. Elles se trouvent dans les plantes, les champignons, les bactéries et la plupart d'entre elles sont des exochitinases. La classe III n'ont pas des séquences similaires à la classe I ou la classe II. La classe IV ont des caractéristiques similaires à celles de la classe I, mais sont de petite taille que la classe I. Les chitinases de la classe V et VI ne sont pas clairement caractérisées jusqu'à ce jour (**Singh et al., 2020**).

2.5. Applications biotechnologiques de la chitinase

De nos jours, le besoin de production de chitinase microbienne a augmenté, vue leur importance dans la réduction des risques environnementaux et dans la production des molécules à valeur ajoutée importants sur le plan industriel (**Dukariya et Kumar, 2020**). Les chitinases sont utilisées pour la biodégradation de la chitine en composants bénéfiques appelés les chitooligosaccharides (COS) qui peuvent être exploitées principalement pour contrôler les insectes et les champignons phytopathogènes. Les chitinases provenant des différentes sources agissent en tant que parasitocides et beaucoup possèdent des propriétés antifongiques (**Dukariya et Kumar, 2020**).

Les chitinases peuvent être exploitées dans divers domaines :

2.5.1. Dans le domaine agricole

Même avec une utilisation intensive de fongicides chimiques, la destruction des plantes cultivées par des agents pathogènes fongiques est un problème sérieux dans le monde entier c'est la raison pour laquelle le contrôle biologique de ces maladies a été corrélé à la production de chitinase d'origine naturelle, ces dernières années (**Herrera-Estrella et Chet, 1999**).

❖ Biocontrôle des champignons phytopathogènes

Les microorganismes chitinolytiques sont utiles pour lutter contre les champignons phytopathogènes tels *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus* etc. C'est l'exemple de la moisissure

Trichoderma harzianum et de nombreuses bactéries chitinolytiques comme *Bacillus pumilus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptomyces hygroscopicus* et *Bacillus subtilis*.

Dans une étude, *Trichoderma harzianum* a pu produire une chitinase qu'agit contre la maladie du balai de sorcière du cacao (**Dukariya et Kumar, 2020**). Les chitinases peuvent être également utilisées comme fongicides dans les plantes transgéniques. Par exemple, dans une étude menée par **Yasuyuki et Subbaratnam, 2009** les plantes de tabac transgéniques en pu exprimer une enzyme chitinase du baculovirus. Cette enzyme recombinante a été accumulée dans les tissus vasculaires de la plante, et a exercé une protection significative pour les plantes transgéniques contre un agent pathogène fongique (**Dackman et al., 1989**).

❖ Potentiel de biopesticides

Les insectes et les crustacés sont des principaux ravageurs distribués partout dans les écosystèmes. En raison des effets nocifs et du coût élevé des pesticides chimiques, les biopesticides présentent des avantages importants (**Dukariya et Kumar, 2020**). Ils sont naturels, biodégradables, moins-toxiques, plus ou moins sélectifs et inoffensifs vis-à-vis des organismes non ciblés (**Korangi Alleluja et al., 2021**). Ils facilitent aussi l'absorption des éléments nutritifs du sol par les plants et favorise leur croissance (**Deravel et al., 2013**).

Les chitinases inhibent également l'éclosion des œufs meliodyne. Des chitinases fongiques ont pu détruire des œufs d'un nématode appelé *Heterodera avenae* (**Dackman et al., 1989**). Une chitinase bactérienne produite par *Bacillus thuringiensis* a été efficace contre des insectes (**Dukariya et Kumar, 2020**).

2.5.2. Dans le domaine de biotechnologie environnementale

Une des applications importantes des chitinases est l'utilisation de cette enzyme dans le domaine environnementale grâce à ses avantages écologiques.

❖ Estimation de la biomasse fongique

Il existe une corrélation entre la croissance des champignons dans le sol et l'activité enzymatique de la chitinase. Par conséquent, l'activité de la chitinase peut être utilisée comme indicateur de la croissance fongique dans le sol. La détermination de l'activité chitinase donne une mesure rapide, simple et sensible de la biomasse fongique dans le sol (**Dukariya et Kumar, 2020**). La corrélation entre l'activité de la NAGase et la teneur du sol en ergostérol et l'acide gras phospholipidique (PFLA) 18 : ω 6, en combinaison avec l'expression constitutive

de NAGase par un group diversifié de champignons, soutiennent l'utilisation de cette activité comme indicateur de la biomasse fongique dans les échantillons de sol. Comme les champignons sont considérés comme les principaux contributeurs importants au renouvellement de la chitine dans les sols, les bactéries dans ou les actinobactéries chitinolytiques ne sont pas susceptibles d'avoir un impact significatif dans l'interprétation de cette activité dans un échantillon de sol (Miller *et al.*, 1998).

2.5.3. Dans le domaine médical

Les chitinases sont utilisées comme molécules antifongiques pour le traitement des diverses infections fongiques humaines. Kzhyshkowska *et al.*, 2007 ont mentionné qu'une augmentation au niveau de l'activité de la chitotriosidase peut être utilisée comme un indicateur d'infection fongique même si la bactérie causale de l'infection est absente, aussi elle indique son rôle en tant que composant immunitaire dans la réponse de l'hôte contre les agents pathogènes contenant de la chitine.

Les chitinases peuvent être aussi utilisées comme additifs dans des lotions et crèmes dermatologiques (Dukariya et Kumar, 2020).

2.5.4. Dans le domaine alimentaire

Les déchets des crustacés peuvent être exploités pour produire des protéines d'organismes unicellulaires (P.O.U) qui sont des protéines extraites de la biomasse microbienne cultivée. Ces P.O.U peuvent être utilisés comme source de protéines pour remplacer des sources coûteuses comme la farine de soja et pour atténuer le problème de la pénurie de protéines. De plus la bioconversion des déchets agricoles et industriels en protéines présente l'avantage supplémentaire de rendre le produit final moins cher. En outre, cela rendrait la production alimentaire moins dépendante des sources végétales et réduirait la pression sur l'agriculture (Anupama et Ravindra, 2000).

Les P.O.U sont particulièrement produits par les levures comme : *Hansenula polymorpha*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Myrothecium verrucaria*. Dans une étude *Serratia marcescens* a hydrolysé des déchets chitineux et *Pichia kudriavzevii* a utilisé les substrats produits pour synthétiser des P.O.U contenant 45% de protéines et 8 à 11% d'acides nucléiques. Dans une autre étude la moisissure *Myrothecium verrucaria* a hydrolysé de la chitine et *Saccharomyces cerevisiae* a utilisé les substrats produits pour synthétiser des P.O.U contenant 61% des protéines et 3.1% d'acides nucléiques (Thakur *et al.*, 2019).

Chapitre 02 :
Les plans
d'expériences

1. Méthodologie des plans d'expériences

Cette méthodologie trouve son essor au début du XX^e siècle dans le domaine de l'agronomie. Elle est utilisée de nos jours dans des laboratoires, des usines ou des industries à grande échelle. Le plan d'expérience est une matrice d'essais; c'est-à-dire qu'il faut élaborer une combinaison de facteurs définie à l'avance et la réaliser expérimentalement pour obtenir des résultats d'essais à analyser (**Benoist et al., 1994**). Un grand nombre d'expériences est nécessaire dans la recherche, le développement et l'optimisation de tout système (**Dutta, 2016**). Cette méthodologie consiste à faire varier simultanément des paramètres selon des règles précises, plutôt que d'observer l'effet de la variation d'un seul paramètre en maintenant les autres à un niveau fixé. Ces règles précises conduisent à la construction des matrices dont la structure est conçue afin de minimiser la variance associée à une réponse expérimentale (**Baléo et al., 2003**). L'analyse statistique de la conception expérimentale consiste à créer un modèle à partir des données et à tester les hypothèses du modèle. Les résultats de l'analyse sont utilisés pour déterminer des facteurs importants et des paramètres optimaux (**Panda et al., 2016**).

2. Intérêt des plans d'expériences

Les plans d'expériences sont l'ensemble des outils qui permettent d'accroître l'efficacité d'une démarche expérimentale, en termes de qualité d'information, de temps et de coût (**Baléo et al., 2003**).

Il est intéressant de planifier les essais pour :

- Des raisons économiques : planifier les essais permet de prévoir le budget, le temps et le personnel nécessaires. Le plan étant construit en vue de répondre à un modèle donné, on sait, avant même de faire les essais, ce qui pourra être analysé au terme du plan.
- Optimiser l'outil statistique : les techniques de construction de plans consistent à sélectionner un ensemble de combinaison dont la structure garantit les propriétés statistiques recherchées pour une bonne exploitation du modèle (**Benoist et al., 1994**).
- Comprendre et améliorer le fonctionnement dans le domaine industrie : l'utilisation des plans expérimentaux peut servir de support pour l'optimisation des procédés de fabrication et de contrôle ainsi que pour la formulation de produits (**Baléo et al., 2003**).
- Réduire le nombre d'essais expérimentaux et optimiser l'utilisation des données expérimentales (**Dutta, 2016**).

- Le concept de plan d'expériences est principalement destinée aux systèmes qui ne peuvent pas être modélisés mathématiquement sur la base de concepts théoriques (**Panda et al., 2016**).

3. Étapes principales d'un plan d'expérience

Les étapes principales d'un plan d'expérience sont au nombre de cinq.

- Étape 01 : La formalisation d'un problème.
- Étape 02 : La construction d'un plan.
- Étape 03 : La réalisation des essais.
- Étape 04 : L'analyse des résultats d'essais.
- Étape 05 : L'interprétation, la conclusion et la validation des résultats d'essais (**Benoist et al., 1994**).

4. Types des plans d'expériences

Les plans d'expériences sont classées en fonction de différentes caractéristiques telles que la configuration géométrique, le niveau d'expériences etc (**Dutta, 2016**).

Parmi les multiples approches statistiques disponibles pour optimiser les systèmes, le concept de plan d'expériences est un concept populaire et technique largement utilisée, surtout en cas de systèmes biologiques. Ces systèmes exigent généralement que l'observateur mène une série d'expériences, ce qui lui permet de modéliser le système (**Panda et al., 2016**).

Il existe plusieurs façons de concevoir les expériences :

4.1. Plans factoriels

On appelle plan factoriel, ou plan complet, ou encore plan factoriel complet, le plan d'expériences regroupant toutes les combinaisons possibles entre les niveaux des facteurs. Le nombre de combinaisons est le produit des nombre de niveaux des facteurs (**Benoist et al., 1994**).

Dans le cas où les "k" facteurs présentent deux niveaux ou modalités, on est conduit à la réalisation de 2^k traitements et le plan factoriel complet est alors appelé : plan 2^k (**Baléo et al., 2003**).

4.2. Plans fractionnaires

Comme son nom l'indique, un plan fractionnaire est une « fraction » du plan factoriel. Il s'agit d'un sous-ensemble orthogonal de combinaisons du plan factoriel. Il est appelé aussi « plan factoriel fractionnaire » (**Benoist et al., 1994**).

Lorsque le nombre de facteurs augmente, le nombre d'expériences imposées par l'utilisation des plans factoriels complets conduit à des coûts importants. De plus, toute l'information extraite à partir de ces plans n'est pas nécessairement interprétable ou indispensable. Il peut alors être intéressant de sélectionner parmi les 2^k essais un sous-ensemble judicieusement choisi pour extraire les conclusions les plus pertinentes. Le fractionnement des plans factoriels constitue un moyen pour limiter le coût expérimental d'une étude tout en maîtrisant la qualité des conclusions statistiques (**Baléo et al., 2003**).

4.2.1. Plans de Plackett-Burman

❖ Définition et principe

Les plans de Plackett-Burman, appelés aussi les plans multifactoriels ont été introduits en 1946 (**Benoist et al., 1994**). La conception Plackett-Burman est une conception standard à deux niveaux au nombre 4, 8, 16, 32 essais ou plus. Lorsque le nombre de variables est grand il est primordial de choisir les variables les plus significatives pour une expérimentation ultérieure. Généralement seuls les effets principaux sont intéressants. Dans de tels cas, l'alternative la plus rentable est d'utiliser les conceptions qui ont autant d'expériences qu'il y a de paramètres.

Il s'agit d'une approche très utilisée et économique qui ne donne des informations que sur les effets de facteurs individuels, et non pas sur les interactions.

Les plans Plackett Burman sont des plans factoriels fractionnaires à deux niveaux, de formule : $k = N - 1$ variables en N nombre d'essais, où N est un multiple de 4. Pour $N = 12, 20, 24, 28$ et 36 , parfois les conceptions Plackett – Burman sont importantes, car elles comblent les lacunes de conception standard (**Dutta, 2016**).

Les points de plan ne peuvent pas être présentés sous forme de cube. Par conséquent, ce dessin est appelé un dessin non géométrique et non régulier et il est nommé alors un plan orthogonal (**Panda et al., 2016**).

❖ Construction

- Si le nombre des variables n'est pas suffisant pour former une matrice selon la conception de Plackett-Burman, les variables fictives sont ajoutées pour répondre au critère. Par exemple, dans un processus où le nombre de variables pour l'expérience est de 10. Alors $N = 10 + 1 = 11$, qui n'est pas un multiple de quatre. Pour obtenir un numéro le plus proche multiple de quatre est 12. Par conséquent, une variable fictive est nécessaire dans ce cas.
- Les variables sont codées $+1$ ou -1 . Le niveau bas d'une variable proviendra de la littérature étayée ou d'une expérience préliminaire. Niveau plus élevé de la variable peut être supérieure de 25 % au niveau bas. Cette valeur dépend sur la région d'expérimentation.
- Le nombre de positifs est $(k+1)/2$ et les négatifs est $(k-1)/2$.
- Les termes indiqués dans l'élément précédent correspondent à la composition de la première rangée.
- Les $(k-1)$ rangées suivantes proviennent de la première rangée par décalage cyclique d'une place $(k-1)$ fois, c'est-à-dire que la deuxième ligne est obtenue à partir de la première rangée en la déplaçant d'une place. La troisième ligne est obtenue à partir de la deuxième rangée en la déplaçant d'une place jusqu'à l'avant-dernière rangée.
- Enfin, les éléments de la dernière rangée sont de moins un. Nombre total de exécute = $N = (k+1)$.
- Il n'existe aucune ligne où tous les éléments sont positifs.
- Cela donne un plan orthogonal. Les termes du modèle ajusté, pour corréler les composants linéaires à la réponse, ne sont pas corrélés avec un autre. Ainsi, l'estimation des paramètres n'est pas corrélée.
- Si N est une puissance de 2 et $N > (K+1)$, alors ce plan orthogonal est modifié en plans factoriels fractionnaires. N n'est pas nécessairement une puissance de 2, mais il doit être divisible par quatre (Panda *et al.*, 2016).

4.2.2. Plan de surface de réponse (RSM)

La méthodologie de surface de réponse (RSM) est une compilation de techniques mathématiques et statistiques. C'est une méthode pour concevoir des expériences, construire des modèles, évaluer les effets de divers facteurs et atteindre des conditions optimales avec un nombre limité d'expériences planifiées. Son objectif est d'optimiser une réponse qui est influencée par diverses variables indépendantes.

La RSM a été développé pour trouver des conditions de fonctionnement optimales dans l'industrie des procédés chimiques, mais maintenant elle est utilisée dans une variété de

domaines et d'applications, non seulement dans l'ingénierie et les sciences physiques, mais aussi dans les sciences cliniques, sociales et biologiques. L'objectif principal de la RSM est l'optimisation des processus. Cela pourrait impliquer, par exemple, la minimisation des coûts d'exploitation d'un processus de production, la minimisation de la variabilité d'une caractéristique de qualité, la maximisation du rendement d'un processus chimique ou l'obtention des spécifications souhaitées pour une réponse (Dutta, 2016).

4.2.3. La conception composite centrale (CCD)

C'est un plan statistique qui n'est pas orthogonal, développé en particulier dans la méthodologie des surfaces de réponses (Benoist *et al.*, 1994). La conception composite centrale (CCD) a été largement utilisée comme conception expérimentale.

Elle aide à optimiser les paramètres effectifs avec un nombre minimum d'expériences, et à analyser l'interaction entre les paramètres (Dutta, 2016).

Le plan composite centré est en fait un plan factoriel de type 2^k (éventuellement factoriel fractionnaire 2^{k-p}) auquel on a ajouté des points dits en étoile et des points au centre. Le nombre de points au centre ainsi que la distance des points axiaux au centre sont déterminés en fonction du critère d'isovariance par rotation (l'erreur sur le modèle de prédiction doit seulement être fonction de la distance au centre du plan) à l'aide du logiciel John's MacIntosh Product (JMP).

Une visualisation de la répartition des points expérimentaux dans l'espace des facteurs pour un plan composite centré à trois facteurs est donnée en figure 05 (Vial et Jardy, 1998).

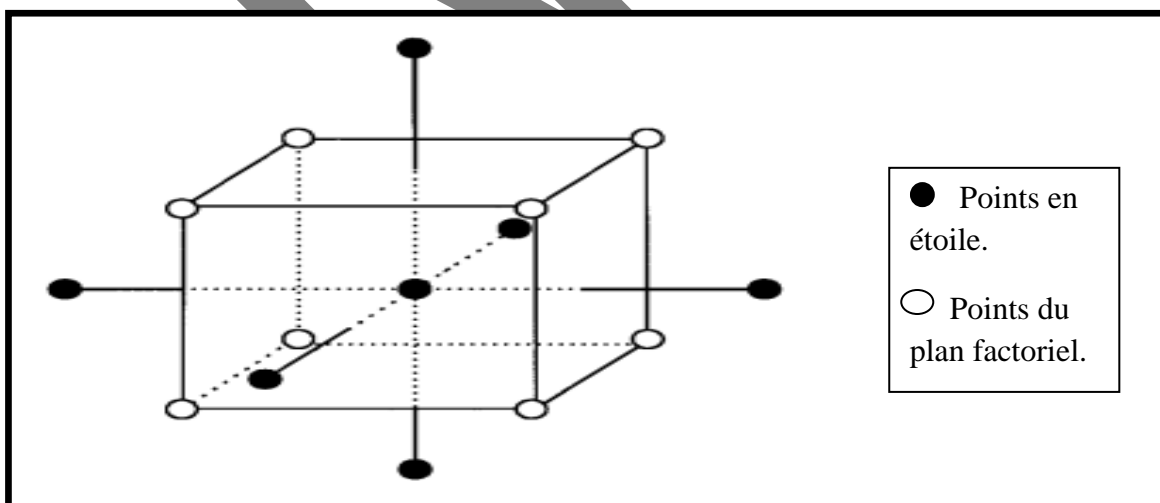


Figure 05: Représentation dans un espace à trois facteurs d'un plan composite centré complet (Vial et Jardy, 1998).

4.2.4. Plan Box Behnken

Box et Behnken (1960) ont proposé des conceptions à trois niveaux pour ajuster les surfaces de réponse. Le principal avantage de la conception Box-Behnken par rapport à le CCD est qu'elle nécessite moins de points de conception expérimentale, ce qui réduit le coût expérimental, par conséquent le coût d'un processus d'optimisation. La figure 06 montre une représentation géométrique du plan de Box–Behnken (B-B). Cette conception est de forme sphérique où tous les points reposent sur une sphère de rayon 2. Le plan B-B n'a aucun point aux sommets de la région cubique construite par les limites inférieures et supérieures de chaque variable (Dutta, 2016).

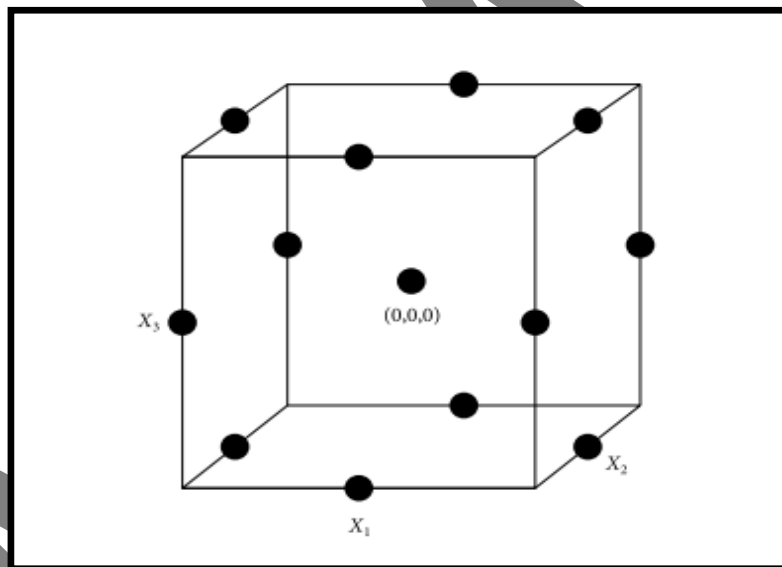


Figure 06: Représentation géométrique du plan de Box Behnken (Dutta, 2016).

4.2.5. Plan de Taguchi

La conception de Taguchi est l'une des conceptions d'expérimentation les plus robustes disponibles. C'est une conception très bien étudiée, qui a des directives très claires sur les points expérimentaux à choisir et ceux à éviter afin d'obtenir une quantité raisonnable d'informations du système en cours d'analyse. C'est une conception factorielle hautement fractionnée, orthogonale et appliquée comme méthode statistique pour résoudre des problèmes (Panda *et al.*, 2016).

La stratégie adoptée par le Docteur Taguchi consiste à identifier les combinaisons de paramètres qui réduisent les effets des causes, sans s'attaquer directement à celles-ci. Le choix correct des facteurs est l'étape la plus délicate de la démarche Taguchi (Vlachogiannise et Roy, 2005). L'approche Taguchi est basée sur :

- La définition du problème, l'identification des variables de contrôle et les interactions possibles.
- La définition des niveaux requis pour chaque variable (facteur) et la détermination de la réponse d'intérêt.
- La sélection de réseau orthogonal le plus approprié.
- La réalisation de l'expérience.
- L'exécution de l'analyse et l'interprétation des résultats pour obtenir une meilleure compréhension de la situation examinée (**Antony et Antony, 2001**).

MA

Méthodologie

Au cours de notre étude, vingt cinq articles scientifiques ont été téléchargés à partir des moteurs de recherches scientifiques suivants : Science Direct, Google Scholar, Research Gate, Scielo et Europe PMC puis analysés.

Dans la barre de recherche on a mis les mots clés suivants : Plackett-Burman, chitinase, plans statistiques, optimisation, bactéries chitinolytiques...

Lors de l'analyse de chaque article, on s'est intéressé à :

- La bactérie utilisée (genre et espèce).
- Son habitat naturel ou sa provenance.
- Les différents variables utilisés dans le plan Plackett-Burman (sources nutritives et paramètres physico-chimiques).
- Les valeurs de l'activité chitinolytiques maximale obtenues après optimisation avec le plan statistique Plackett-Burman.
- La seconde conception d'optimisation si elle existe (usage des plans : CCD, B-B, Taguchi et PFF).
- Les valeurs finales obtenues après la seconde optimisation ainsi que le taux d'optimisation (n fois).

Partie
résultats et
discussions

Tableau 02 : Articles trouvés en utilisant les divers moteurs de recherche.

Le titre d'article	Les auteurs	L'année de publication
Cold-adapted chitinases from Antarctic bacteria: Taxonomic assessment and enzyme production optimization.	Santa-Cruz Vasquez <i>et al.</i>	2021.
Bioconversion of chitin and concomitant production of chitinase and N-acetylglucosamine by novel <i>Achromobacter xylosoxidans</i> isolated from shrimp waste disposal area.	Subramanian <i>et al.</i>	2020.
Statistical optimization for coproduction of chitinase and beta 1, 4-endoglucanase by chitinolytic <i>Paenibacillus elgii</i> PB1 having antifungal activity.	Philip <i>et al.</i>	2020.
Statistical optimization of chitinase production by <i>Streptomyces rubiginosus</i> SP24 and efficacy of purified chitinase to control root-knot nematode infection in <i>Vigna radiata</i> under controlled conditions.	Jha et Modi.	2018.
A process for complete biodegradation of shrimp waste by a novel marine isolate <i>Paenibacillus</i> sp. AD with simultaneous production of chitinase and chitin oligosaccharides.	Kumar <i>et al.</i>	2017.
A Statistical Approach for the chitinase production by <i>Bacillus</i> sp. and its Antifungal Potential.	Kumar <i>et al.</i>	2017.
<i>Production of chitinase from thermophilic Humicola grisea and its application in production of bioactive chitooligosaccharides.</i>	Kumar <i>et al.</i>	2017.

Tableau 02 : Articles trouvés en utilisant les divers moteurs de recherche (suite).

Optimization of chitinase production by a new <i>Streptomyces griseorubens</i> C9 isolate using response surface methodology.	Gasmi et Kitouni.	2016.
Applications of Plackett–Burman and Central Composite Design for the Optimization of <i>Novel Brevundimonas diminuta</i> KT277492 Chitinase Production, Investigation of its Antifungal Activity.	Ashour <i>et al.</i>	2016.
Enhancement of Exochitinase Production by <i>Bacillus licheniformis</i> AT6 Strain and Improvement of N-Acetylglucosamine Production.	Aounallah <i>et al.</i>	2016.
Optimised production of chitinase from a novel mangrove isolate, <i>Bacillus pumilus</i> MCB-7 using Response Surface Methodology.	Rishad <i>et al.</i>	2016.
Statistical optimization of cold-active chitinase production by mutagenized cells of multi-enzyme producing <i>Bacillus cereus</i> GA6.	Roohi et Kuddus.	2015.
Statistical optimization of medium components for chitinase production by <i>Pseudomonas fluorescens</i> strain HN1205: role of chitinase on egg hatching inhibition of root-knot nematode.	Lee et Kim.	2015.
<i>Chitinase from a Novel Strain of Serratia marcescens</i> JPP1 for Biocontrol of Aflatoxin: Molecular Characterization and Production Optimization Using Response Surface Methodology.	Wang <i>et al.</i>	2014.
Bioprocess Optimisation for the Production of Chitinase from <i>Streptomyces</i> sp. Isolated from Coastal Environment Samples from South Kerala.	Karthik <i>et al.</i>	2013.

Tableau 02 : Articles trouvés en utilisant les divers moteurs de recherche (suite).

Optimization of nutrition factors on chitinase production from a newly isolated <i>Chitolyticbacter meiyuanensis</i> SYBC-H1.	Zhikui <i>et al.</i>	2012.
Optimization of chitinase produced by a biocontrol strain of <i>Bacillus subtilis</i> using Plackett-Burman design.	Narasimhan et Shivakumar.	2012.
Optimization of Chitinase Production by <i>Bacillus pumilus</i> Using Plackett-Burman Design and Response Surface Methodology.	Tasharrofi <i>et al.</i>	2011.
Optimization of protease and chitinase production by <i>Bacillus cereus</i> SV1 on shrimp shell waste using statistical experimental design.	Ghorbel-Bellaaj <i>et al.</i>	2011.
Optimization of cold-active chitinase production from the Antarctic bacterium, <i>Sanguibacter antarcticus</i> KOPRI 21702.	Han <i>et al.</i>	2011.
Optimization of Culture Media for Enhanced Chitinase Production from a Novel Strain of <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Using Response Surface Methodology.	Khan <i>et al.</i>	2010.
Optimization of medium constituents for improved chitinase production by <i>Paenibacillus</i> sp. D1 using statistical approach.	Singh <i>et al.</i>	2009.
Statistical optimization of medium componenets to improve the chitinase activity of <i>Streptomyces</i> sp Da11 associated with the South China Sea Sponge <i>Craniella australiensis</i> .	Yue <i>et al.</i>	2008.

Tableau 02 : Articles trouvés en utilisant les divers moteurs de recherche (suite).

Statistical screenings of medium components for the production of chitinase by the marine isolate <i>Pantoea dispersa</i> .	Gohel <i>et al.</i>	2006.
<i>Statistical optimization of medium components for the production of chitinase by Alcaligenes xylosoxydans.</i>	Vaidya <i>et al.</i>	2003.

MSA

1. Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon la bactérie productrice de chitinase

Les bactéries productrices de chitinase, utilisées dans le plan d'expérience Plackett-Burman pour optimiser la production de cet enzyme dans les divers articles analysés ont été assignées aux genres suivants: *Bacillus* (28%), *Streptomyces* (16%), *Paenibacillus* (12%), *Achromobacter* (4%), *Serratia* (4%), *Chitinolyticbacter* (4%), *Pantoea* (4%), *Arthrobacter* (4%), *Stenotrophomonas* (4%), *Sanguibacter* (4%), *Humicola* (4%), *Alcaligenes* (4%), *Pseudomonas* (4%) et *Brevundimonas* (4%) (**Figure 07**).

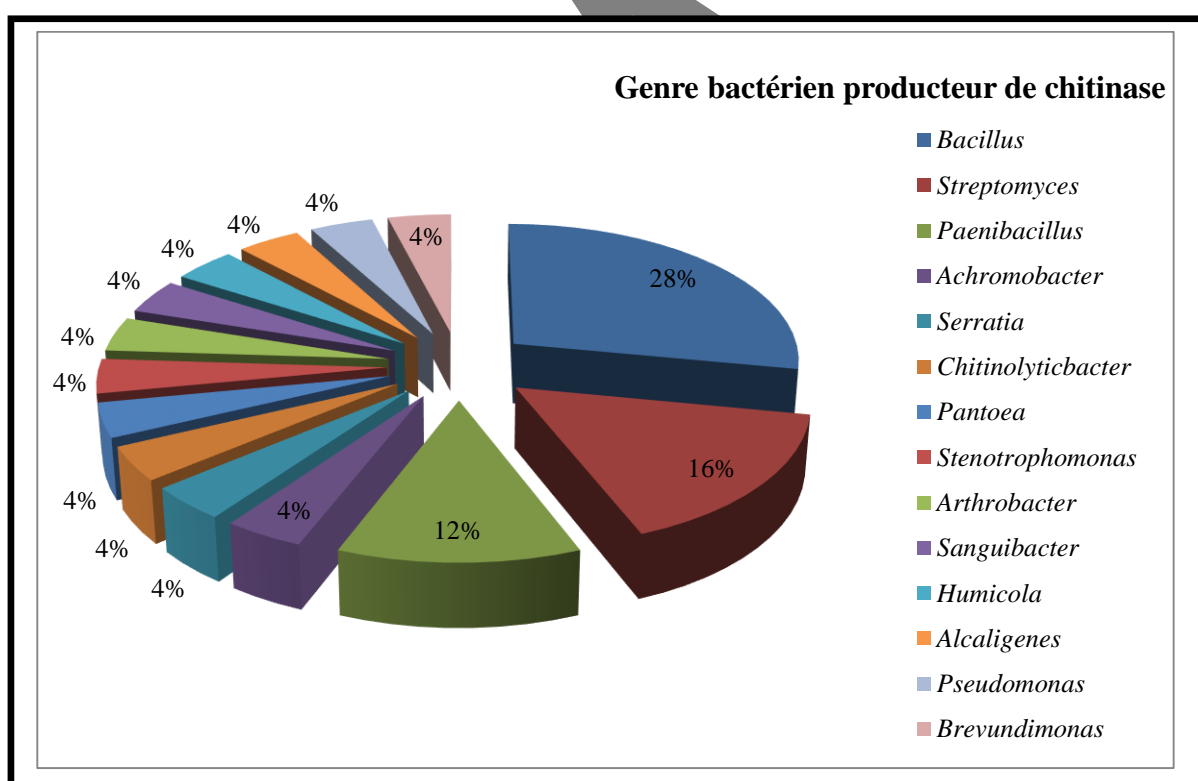


Figure 07 : Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon la bactérie productrice de chitinase.

Dans notre analyse, le genre *Bacillus* a occupé la 1^{ère} place (28%), un bacille à Gram positif qui est très résistant à de nombreuses conditions défavorables (**Holt et al., 1994**), et qui appartient à la classe des Firmicutes, ordre des Bacillales, famille des Bacillaceae. Il a été connu par sa capacité à produire plusieurs enzymes telles l'hydrolase, la CMCCase, la protéase, la xylanase, la lipase, la β -1,3-glucanase y compris la chitinase (**Thi Cam et al., 2018**). En fait divers rapports et articles ont été publiés sur la production de chitinase par le genre *Bacillus* sp, c'est l'exemple de *Bacillus amyloliquefaciens* GR53, de *Bacillus licheniformis* et *Bacillus*

thuringiensis qui ont pu utiliser diverses sources de carbone pour la production de cette enzyme (**Rishad et al., 2016**).

Le genre *Streptomyces* a occupé la seconde place, avec un pourcentage de (16%). *Streptomyces* comprend des bactéries à Gram positif, aérobies, ayant une teneur très élevée en GC (70%) et une morphologie complexe. Ce genre produit une large gamme des métabolites secondaires ayant des propriétés antibactériens, anti-tumorale et antiparasitaires (**Khushboo et al., 2022**) et plusieurs types d'enzymes hydrolytiques tel que l'amylase, la protéase, la lipase, l'estérase et le gélatinase (**Sathya et Ushadevi, 2014**).

Streptomyces est le genre le plus rapporté d'être producteur de la chitinase dans la classe des actinobactéries telles les espèces *Streptomyces viridificans*, *S. halstedii*, *S. jriseus*, *S. kurssanovii* et *S. hygroscopicus* (**Karthik et al., 2013**).

La troisième position était occupée par *Paenibacillus* (12%). Un genre qui regroupe des bactéries à Gram positif, ayant une teneur faible en GC et qui appartiennent à la classe des Bacilli, ordre des Bacillales et famille des Paenibacillaceae (**Kang et al., 2019**).

Ce genre a été largement utilisé pour la production de nombreuses enzymes exploitées pour des applications industrielles diverses (**Orencio-Trejo et al., 2016**), comme les enzymes cellulolytiques, protéolytiques, pectinolytiques ainsi que des enzymes chitinolytiques (**Budi et al., 2000**). Les espèces connues par la production de la chitinase sont : *Paenibacillus medicaginis* sp (**Lai et al., 2015**), *Paenibacillus pabuli* BM17 (**Juarez-Jimenez et al., 2008**), *Paenibacillus illinoisensis* UKCH21 (**Subbanna et al., 2016**).

1. Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon l'habitat de la bactérie productrice de chitinase

Les bactéries productrices de chitinase, mentionnées dans les différentes recherches et dont les auteurs ont utilisés la Plackett-Burman pour optimiser la production de cet enzyme occupaient plusieurs niches écologiques.

Elles ont été isolées à partir de l'environnement marin et terrestre ainsi qu'à partir d'antarctique, des plantes, des déchets d'arachides et de certains effluents industriels (**Figure 08**).

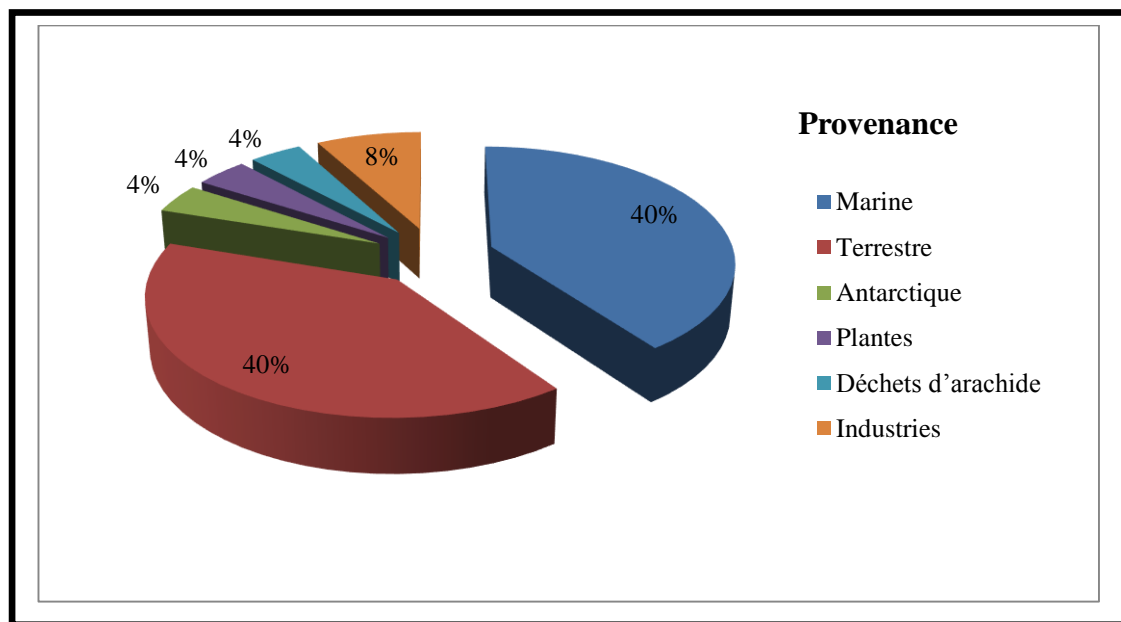


Figure 08 : Répartition de l'utilisation de la Plackett-Burman selon l'habitat de la bactérie productrice de chitinase.

D'après la **figure 08**, on constate que l'environnement marin et l'environnement terrestre sont des écosystèmes riches en bactéries productrices de chitinase avec un pourcentage similaire de 40%.

En fait la chitine, qui est le substrat de chitinase, est la molécule la plus présente dans l'écosystème marin, qui constitue 71% du globe. Dans cet écosystème on peut la trouver comme un élément constituant de la paroi des crustacés avec différents pourcentages : crabes (30% - 50%), crevettes (10% - 25%) et écrevisses (23.5%) (**No et al., 1989 ; Ghorbel-Bellaaj et al., 2012 ; Hajji et al., 2015**). Alors qu'en milieu terrestre la chitine constitue la deuxième molécule présente en abondance après la cellulose et trouvée particulièrement dans les sols (**Naaz et al., 2021**).

Ces bactéries ont été isolé à partir de différents types de sol comme : le sol près du marché du poisson qui sont riches en déchets marins, le sol de rhizosphère et sol de désert qu'ils contiennent la chitine.

2. Répartition des différentes variables utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase

Tout les articles analysés, au nombre de vingt cinq, se sont concentrés sur l'usage de différentes sources nutritives comme variables dans le plan d'expérience Plackett-Burman

(100%) quelque uns se sont intéressés, en plus des sources nutritives, aux conditions physico-chimiques (pH, T°, temps d'incubation...) de la production enzymatique avec un pourcentage de 36% (Tableau 02).

Tableau 02: Répartition des différentes variables utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase.

N° d'article	Bactéries productrices de chitinase	Variables testés dans le plan PB		Références
		Sources nutritives	Paramètres physico-chimiques	
1	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> 492	X	X	Santa - Cruz Vasquez <i>et al.</i> , 2021.
2	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	X	/	Subramanian <i>et al.</i> , 2020.
3	<i>Paenibacillus elgii</i> PB1	X	X	Philip <i>et al.</i> , 2020.
4	<i>Streptomyces rubiginosus</i> SP24	X	/	Jha et Modi, 2018.
5	<i>Paenibacillus</i> sp. AD	X	X	Kumar <i>et al.</i> , 2017a.
6	<i>Bacillus</i> sp.	X	X	Kumar <i>et al.</i> , 2017b.
7	<i>Humicola grisea</i> ITCC 10,360.16	X	/	Kumar <i>et al.</i> , 2017c.
8	<i>Streptomyces griseorubens</i> C9	X	X	Gasmi et Kitouni, 2016.
9	<i>Brevundimonas diminuta</i> KT277492	X	/	Ashour <i>et al.</i> , 2016.
10	<i>Bacillus licheniformis</i> AT6	X	X	Aounallah <i>et al.</i> , 2016.

Tableau 02 : Répartition des différentes variables utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase (suite).

11	<i>Bacillus pumilus</i> MCB-7	X	X	Rishad <i>et al.</i> , 2016.
12	<i>Bacillus cereus</i> GA6	X	/	Roohi et Kuddus, 2015.
13	<i>Pseudomonas fluorescens</i> strain HN1205	X	/	Lee et Kim, 2015.
14	<i>Serratia marcescens</i> JPP1	X	/	Wang <i>et al.</i> , 2014.
15	<i>Streptomyces</i> sp. P6B2	X	/	Karthik <i>et al.</i> , 2013.
16	<i>Chitolyticbacter meiyuanensis</i> SYBC-H1	X	/	Zhikui <i>et al.</i> , 2012.
17	<i>Bacillus subtilis</i> JN032305	X	X	Narasimhan et Shivakumar, 2012.
18	<i>Bacillus pumilus</i> U5	X	/	Tasharrofi <i>et al.</i> , 2011.
19	<i>Bacillus cereus</i> SV1	X	X	Ghorbel-Bellaaj <i>et al.</i> , 2011.
20	<i>Sanguibacter antarcticus</i> KOPRI 21702	X	/	Han <i>et al.</i> , 2011.
21	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	X	/	Khan <i>et al.</i> , 2010.
22	<i>Paenibacillus</i> sp. D1	X	/	Singh <i>et al.</i> , 2009.

Tableau 02 : Répartition des différentes variables utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase (suite).

23	<i>Streptomyces sp. Da11</i>	X	/	Yue <i>et al.</i> , 2008.
24	<i>Pantoea dispersa</i>	X	/	Gohel <i>et al.</i> , 2006.
25	<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>	X	/	Vaidya <i>et al.</i> , 2003.

2.1 En fonction des sources nutritives

Les sources nutritives qui ont été utilisées dans le plan d'expérience « Plackett-Burman » ont été divisées en sources de carbone, sources d'azote, sources d'énergie, des ions métalliques et des sels minéraux.

2.1.1 Sources de carbone

Deux articles ont été éliminés, l'article de *Serratia marcescens* JPP1 (Wang *et al.*, 2014), car les chercheurs ont utilisé trois sources de carbone et d'azote mais leur nature était non mentionnée, alors que dans l'article de *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (Han *et al.*, 2011), les chercheurs ont concentré sur l'usage des minéraux dans la Plackett-Burman.

Les sources de carbone qui ont été utilisées dans le plan « Plackett-Burman » étaient la chitine qu'elle soit naturelle (chitine, poudre de chitine, poudre de carapace de crabe, poudre de carapace de crevette, coquille de crevette et coquille d'écrevisse), ou chimique et aussi la chitine modifiée chimiquement ou enzymatiquement (chitine colloïdale, chitine gonflée à l'acide, la chitine d'éthylène glycol et le pNP-NAG). En plus des sucres simples et complexes (CMC, sirop de datte, xylose, inuline, amidon, saccharose, maltose, fructose, lactosérum, galactose et glucose), la gélatine et d'autres sources naturelles comme les champignons.

La chitine colloïdale, la chitine et le glucose ont été les sources les plus utilisés comme source de carbone dans les différentes études avec un nombre d'article de dix, neuf et six consécutivement. Ceci est logique vu que la chitine est le substrat de l'enzyme chitinase. Quoique le pourcentage de la chitine colloïdale soit légèrement supérieur car cette forme est plus accessible dans le milieu par rapport à une chitine sous forme de feuillets, flacons ou

autres (**Herdyastuti et al., 2015**) et le glucose parce que c'est un sucre simple facile à dégrader par les bactéries par rapport à d'autres sources complexes (**Figure 09**).

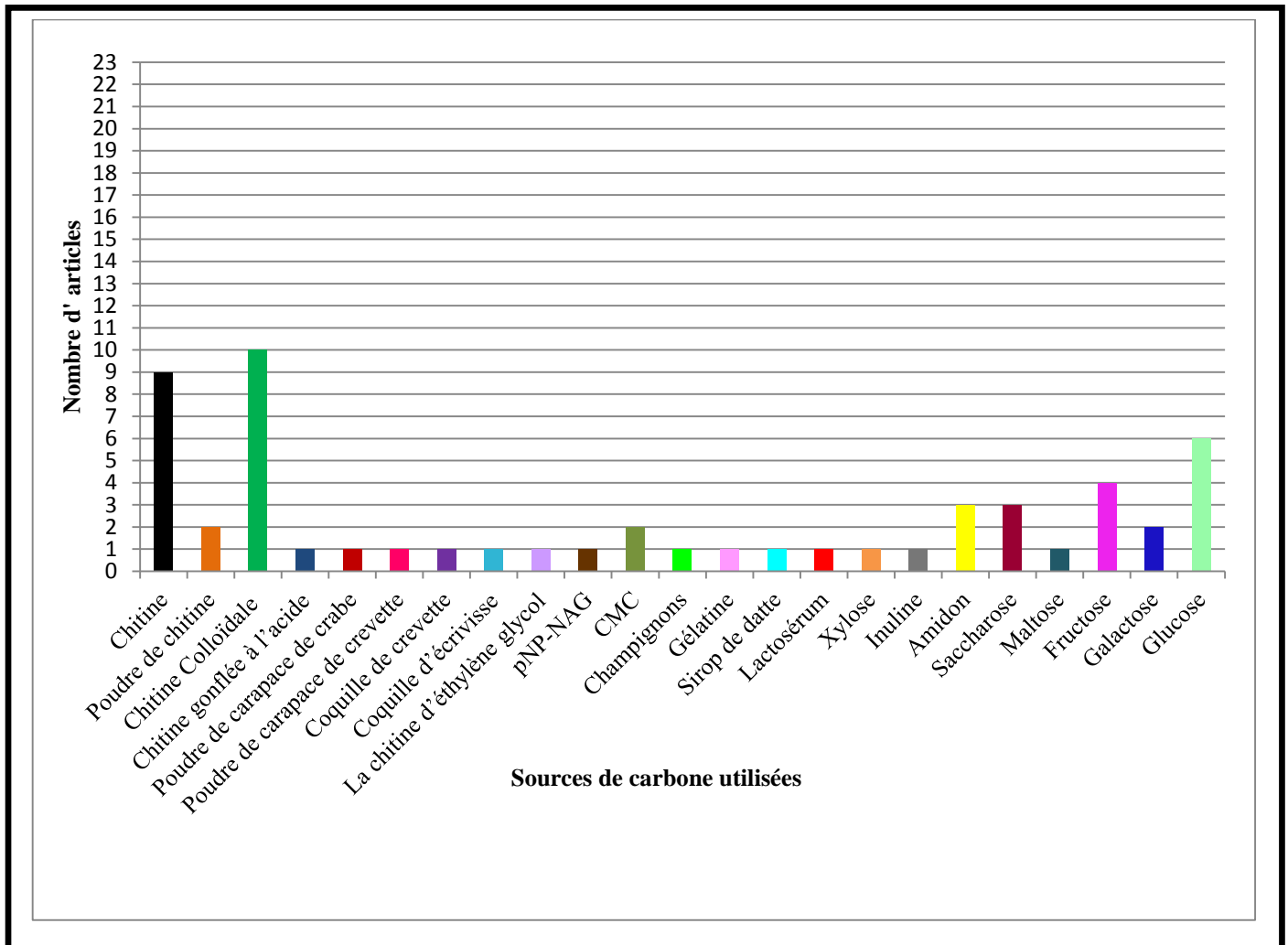


Figure 09 : Répartition des sources de carbone utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase avec le plan d'expérience Plackett-Burman.

Pour certaines bactéries la présence de chitine a été obligatoire pour la production de la chitinase dans le milieu de fermentation (chitinases inductibles) ça veut dire en absence de la chitine il n'y avait plus d'activité chitinolytique ou l'activité a été très faible en son absence comparée à son présence dans le milieu. C'est l'exemple de *Paenibacillus* sp. D1 (**Singh et al., 2009**), *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (**Han et al., 2011**), *Humicola grisea* ITCC 10,360.16 (**Kumar et al., 2017c**), *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (**Santa-Cruz Vasquez et al., 2021**). Pour d'autres la production de la chitinase ne nécessitait pas la

présence de la chitine dans le milieu comme chez *Streptomyces* sp. P6B2 (Karthik *et al.*, 2013) et *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (Zhikui *et al.*, 2012).

Dans l'étude menée par Narasimhan et Shivakumar, 2012, le carboxy methyl cellulose (CMC) a été la meilleure source de carbone pour la bactérie *Bacillus subtilis* JN032305 par rapport à la chitine et au glucose.

Dans d'autres études, la combinaison entre une source de carbone et la chitine a pu améliorer l'activité chitinolytique. Ceci a été remarquée pour la bactérie *Stenotrophomonas maltophilia* où la combinaison maltose et chitine a conduit à une importante production de chitinase (Khan *et al.*, 2010).

En ce qui concerne l'effet des sources de carbone utilisées, on a remarqué que la source peut être sans effet ou avoir un effet positif ou négatif sur la production de la chitinase par les diverses bactéries. Dans quelques articles, l'effet de certaines sources de carbone n'a pas été déterminé (Figure 10).

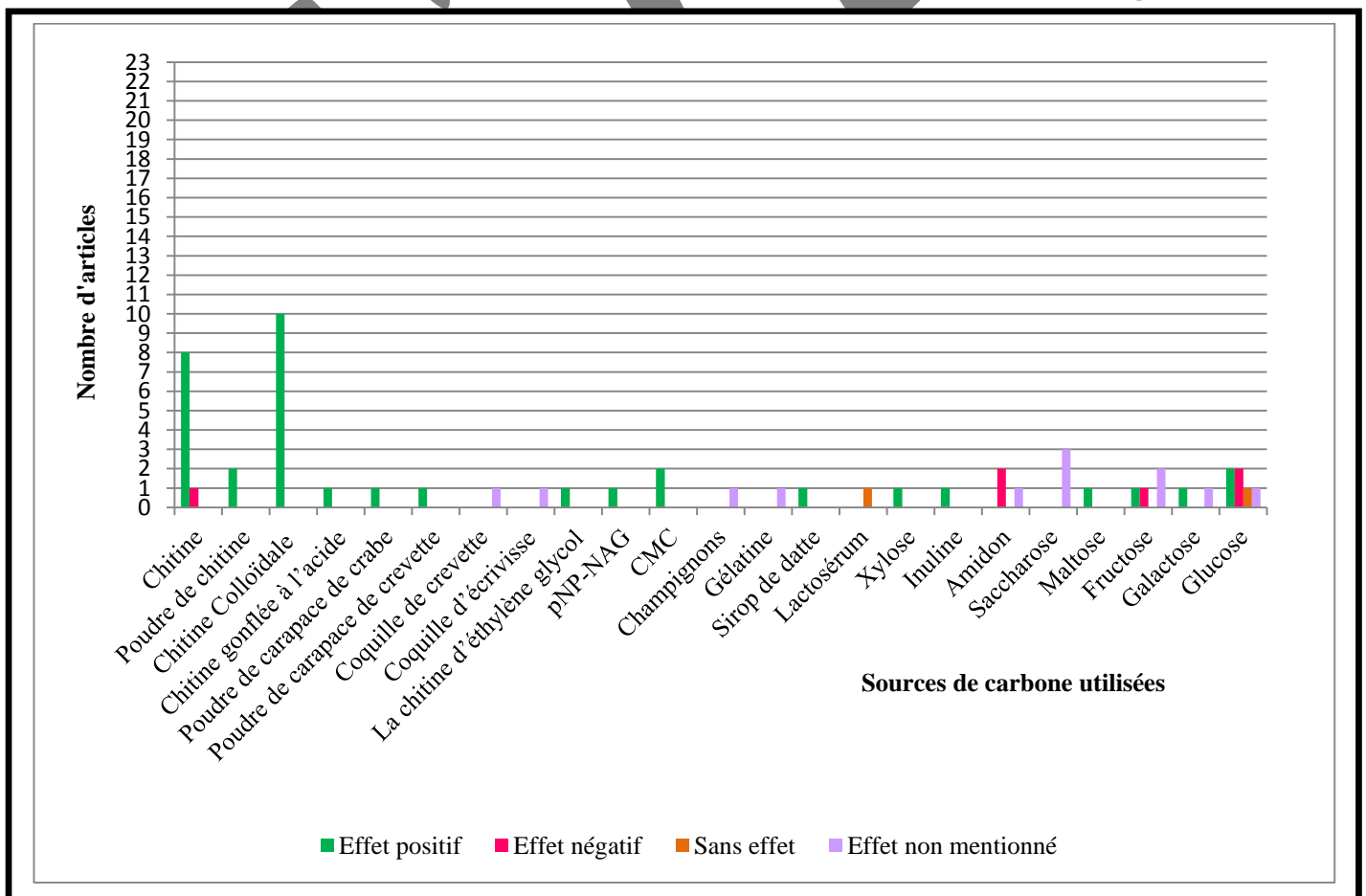


Figure 10 : Effets des sources de carbone utilisées dans le plan d'expérience Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.

En ce qui concerne la chitine colloïdale, elle a montré un effet positif dans toutes les études qui ont mentionné son utilisation dans le plan d'expérience Plackett-Burman. C'est-à-dire dans les études conduites avec les bactéries suivantes : *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021), *Achromobacter xylosoxidans* (Subramanian *et al.*, 2020), *Paenibacillus elgii* PB1 (Philip *et al.*, 2020), *Streptomyces rubiginosus* SP24 (Jha et Modi, 2018), *Humicola grisea* ITCC 10,360.16 (Kumar *et al.*, 2017c), *Streptomyces griseorubens* C9 (Gasmi et Kitouni, 2016), *Bacillus licheniformis* AT6 (Aounallah *et al.*, 2016), *Bacillus cereus* GA6 (Roohi et Kuddus, 2015), *Streptomyces* sp. P6B2 (Karthik *et al.*, 2013), *Streptomyces* sp. Da11 (Yue *et al.*, 2008).

En ce qui concerne la chitine, elle a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus* sp (Kumar *et al.*, 2017b), *Humicola grisea* ITCC 10,360.16 (Kumar *et al.*, 2017c), *Brevundimonas diminuta* KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), *Bacillus pumilus* MCB-7 (Rishad *et al.*, 2016), *Stenotrophomonas maltophilia* (Khan *et al.*, 2010), *Paenibacillus* sp. D1 (Singh *et al.*, 2009), *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006), *Alcaligenes xylosoxydans* (Vaidya *et al.*, 2003). Mais elle a montré un effet négatif chez la bactérie *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012).

En ce qui concerne le glucose, il avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Brevundimonas diminuta* KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), *Streptomyces* sp. P6B2 (Karthik *et al.*, 2013) et négatif chez *Chitioilyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (Zhikui *et al.*, 2012), *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012). Gohel *et al.*, 2006 ont rapporté que le glucose n'avait pas d'effet sur la production de chitinase chez *Pantoea dispersa* tandis que son effet n'était pas discuté chez *Paenibacillus* sp. AD (Kumar *et al.*, 2017a).

En ce qui concerne la poudre de chitine, elle a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus pumilus* U₅ (Tasharrofi *et al.*, 2011) et *Streptomyces* sp. Da11 (Yue *et al.*, 2008).

Quant à la chitine gonflée à l'acide, elle a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006).

La poudre de carapace de crabe a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Pseudomonas fluorescens* HN1205 (Lee et Kim, 2015) et la poudre de carapace de crevette a

montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus cereus* SV1 (**Ghorbel-Bellaaj et al., 2011**).

Gasmi et Kitouni, 2016 n'ont pas discuté l'effet des coquilles de crevette, d'écrevisse et de champignon mais ils ont mentionné que le sirop de datte avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Streptomyces griseorubens* C9, tandis que le lactosérum n'avait aucun effet.

En ce qui concerne la chitine d'éthylène glycol et le pNP-NAG, ils ont montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Pantoea dispersa* (**Gohel et al., 2006**).

La poudre de maïs a montré un effet négatif chez *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (**Zhikui et al., 2012**) sur la production de chitinase.

La CMC a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Paenibacillus elgii* PB1 (**Philip et al., 2020**) et chez *Bacillus subtilis* JN032305 (**Narasimhan et Shivakumar, 2012**).

Kumar et al., 2017b, n'ont pas discuté l'effet de la gélatine.

La xylose a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Streptomyces rubiginosus* SP24 (**Jha et Modi, 2018**)

L'inuline a montré un effet positif chez *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (**Zhikui et al., 2012**).

L'amidon a montré un effet négatif chez *Brevundimonas diminuta* KT277492 (**Ashour et al., 2016**) et *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (**Zhikui et al., 2012**) tandis que **Kumar et al., 2017b** n'ont pas discuté son effet chez *Bacillus* sp.

Jha et Modi, 2018, Kumar et al., 2017b, Lee et Kim, 2015 n'ont pas discuté l'effet de saccharose chez *Streptomyces rubiginosus* SP24, *Bacillus* sp, *Pseudomonas fluorescens* HN1205, respectivement.

En ce qui concerne le maltose, il avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Stenotrophomonas maltophilia* (**Khan et al., 2010**).

Le fructose avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (**Zhikui et al., 2012**), mais il a montré un effet négatif chez

Brevundimonas diminuta KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), tandis que Khan *et al.*, 2010 et Kumar *et al.*, 2017a n'ont pas discuté son effet.

Finalement, en ce qui concerne le galactose, il avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Streptomyces* sp. Da11 (Yue *et al.*, 2008), tandis que Khan *et al.*, 2010 n'ont pas discuté son effet.

2.1.2 Sources d'azote

Les sources d'azote qui ont été utilisées dans le plan « Plackett-Burman » avaient une origine organique (extrait de levure, extrait de bœuf, peptone, urée, tryptone, caséine, poudre de maïs, extrait de parois des cellules de levure (EPCL), la liqueur de maïs (LM) et L-asparagine) ou inorganique (sulfate d'ammonium ((NH₄)₂SO₄), nitrate de potassium (KNO₃), chlorure d'ammonium (NH₄Cl), nitrate de sodium (NaNO₃), nitrate d'ammonium (NH₄NO₃)) (Figure11).

L'extrait de levure, la peptone et (NH₄)₂SO₄ ont été les sources d'azote les plus utilisées dans le plan d'expérience Plackett-Burman par rapport à d'autres sources avec un nombre d'article de dix-sept, neuf et neuf respectivement.

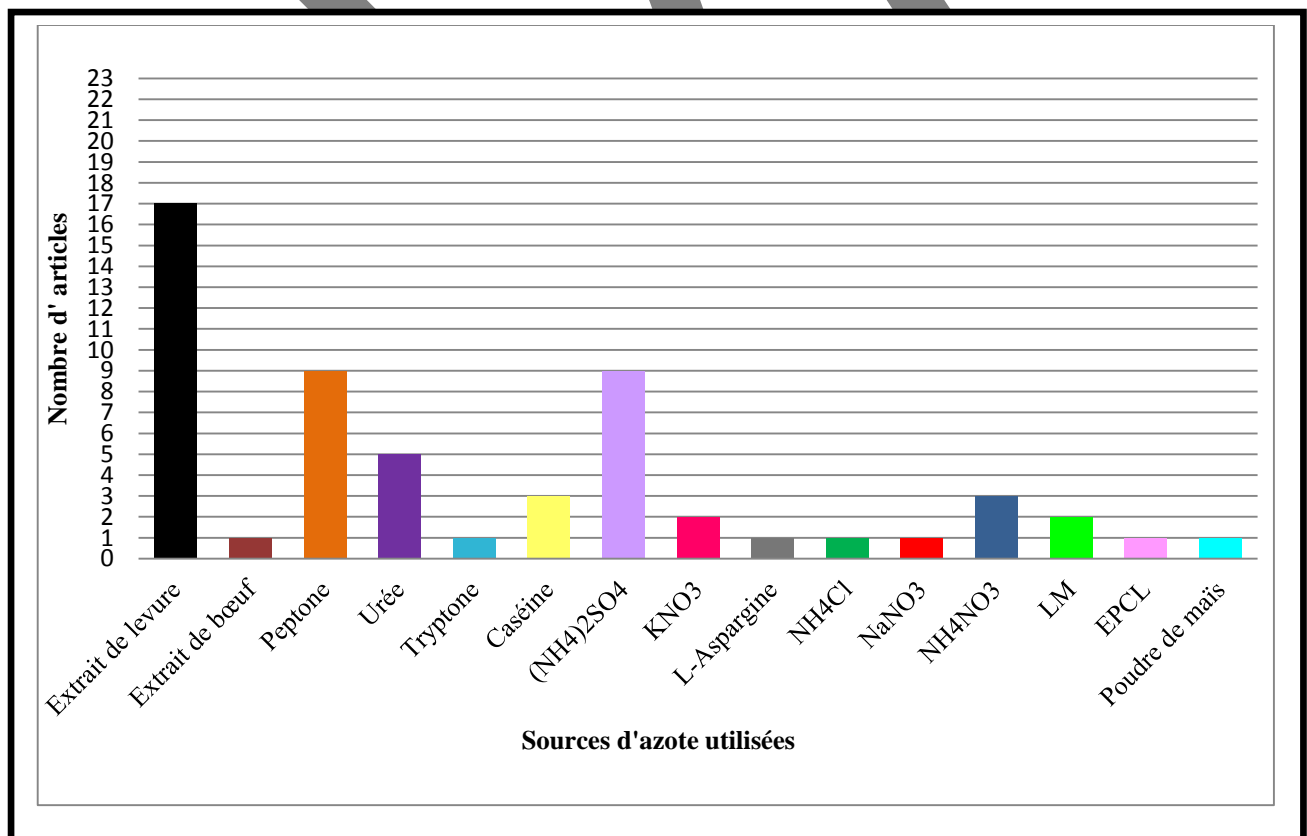


Figure 11 : Répartition des sources d'azote utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.

En effet, l'extrait de levure contient des acides aminés, des nucléotides, des sucres, des coenzymes ainsi que des macro et des micronutriments minéraux et la peptone est riche aussi en acides aminés, peptides, vitamines, glucides, nucléotides, minéraux et autres composants et répondent donc aux exigences de ces bactéries (Perrin, 2016 ; Gibco).

Selon notre analyse, l'usage de certaines sources d'azote a donné des valeurs importantes d'activité chitinolytique. C'est le cas des chlorure d'ammonium (NH_4Cl) et de l'hydrogènephosphate de potassium (K_2HPO_4) qui ont permis une production élevée de chitinase chez *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011) et de l'urée, l'extrait de levure, la chitine et K_2HPO_4 , qui ont donnée une production élevée de chitinase chez *Paenibacillus* sp. D1 (Singh *et al.*, 2009).

Rishad *et al.*, 2016, ont constaté que l'usage d'une forte concentration de peptone ou une faible concentration du dihydrogènephosphate de potassium (KH_2PO_4) en présence de la chitine augmente la production de la chitinase chez *Bacillus pumilus* MCB-7.

En ce qui concerne l'effet des sources d'azote utilisées, on a remarqué que la source peut être sans effet ou avoir un effet positif ou négatif sur la production de la chitinase par les diverses bactéries. Dans quelques articles, l'effet de certaines source n'a pas été défini (Figure 12).

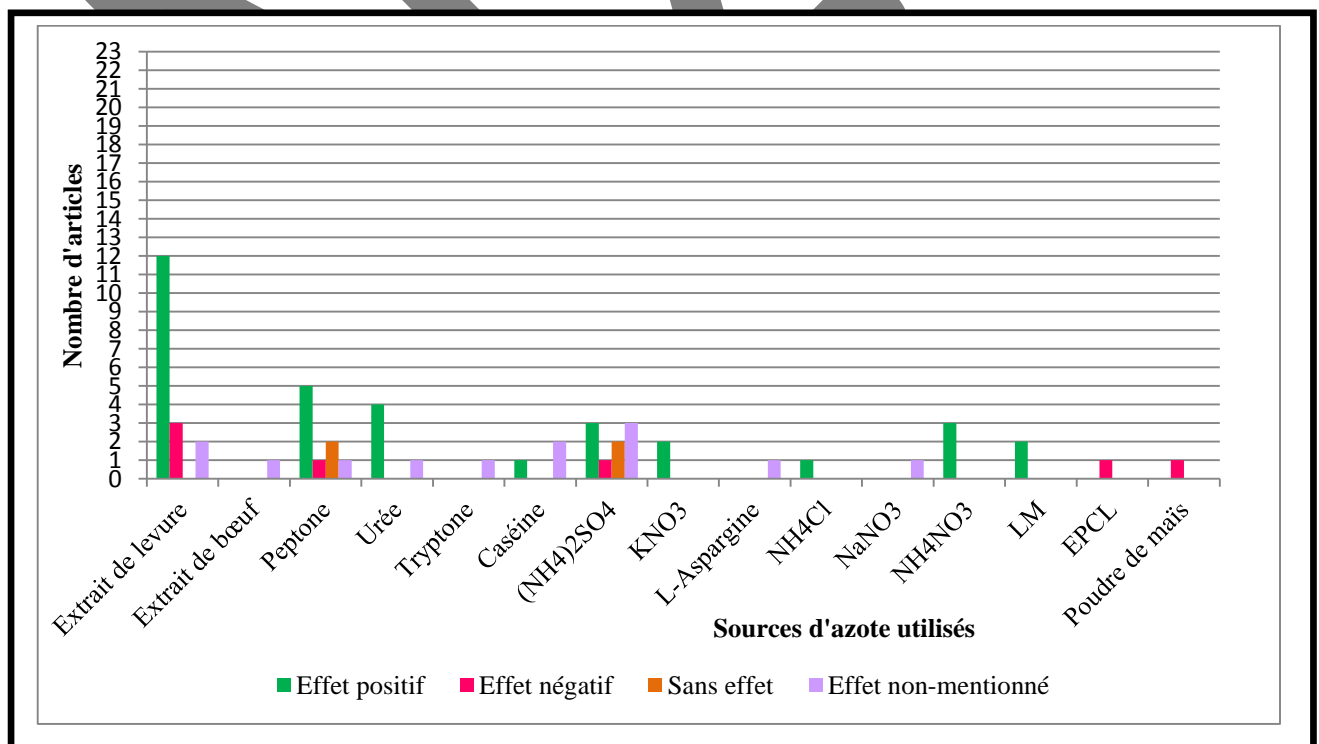


Figure 12: Effets des sources d'azote utilisés dan le plan d'expérience Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.

En ce qui concerne l'extrait de levure, elle a montré un effet positif sur la production de la chitinase chez *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021), *Humicola grisea* ITCC 10,360.16 (Kumar *et al.*, 2017c), *Streptomyces griseorubens* C9 (Gasmi et Kitouni, 2016), *Brevundimonas diminuta* KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), *Bacillus pumilus* MCB-7 (Rishad *et al.*, 2016), *Bacillus cereus* GA6 (Roohi et Kuddus, 2015), *Pseudomonas fluorescens* HN1205 (Lee et Kim, 2015), *Streptomyces* sp. P6B2 (Karthik *et al.*, 2013), *Bacillus pumilus* U5 (Tasharrofi *et al.*, 2011), *Paenibacillus* sp. D1 (Singh *et al.*, 2009), *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006) et *Alcaligenes xylosoxydans* (Vaidya *et al.*, 2003). Mais elle a montré un effet négatif chez les bactéries *Stenotrophomonas maltophilia* (Khan *et al.*, 2010), *Bacillus licheniformis* AT6 (Aounallah *et al.*, 2016) et *Achromobacter xylosoxidans* (Subramanian *et al.*, 2020), tandis que Philip *et al.*, 2020 et Kumar *et al.*, 2017a n'ont pas discuté l'effet de l'extrait de levure.

En ce qui concerne la peptone, elle a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Achromobacter xylosoxidans* (Subramanian *et al.*, 2020), *Streptomyces rubiginosus* SP24 (Jha et Modi, 2018), *Bacillus pumilus* MCB-7 (Rishad *et al.*, 2016), *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 16 (Zhikui *et al.*, 2012) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006), mais elle avait un effet négatif chez la bactérie *Brevundimonas diminuta* KT277492 (Ashour *et al.*, 2016). Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021 et Gasmi et Kitouni, 2016 ont rapporté que la peptone n'avait pas d'effet sur la production de chitinase chez *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 et *Streptomyces griseorubens* C9 respectivement. Tandis que Yue *et al.*, 2008 n'ont pas discuté l'effet de la peptone.

Le $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus licheniformis* AT6 (Aounallah *et al.*, 2016), *Paenibacillus* sp. AD (Kumar *et al.*, 2017a) et *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBCH1 16 (Zhikui *et al.*, 2012), Mais il avait un effet négatif chez *Alcaligenes xylosoxydans* 25 (Vaidya *et al.*, 2003). Gasmi et Kitouni, 2016 et Gohel *et al.*, 2006 ont rapporté que le $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ n'avait pas d'effet sur la production de chitinase chez *Streptomyces griseorubens* C9 et *Pantoea dispersa* respectivement, tandis que Philip *et al.*, 2020, Lee et Kim, 2015 et Tasharrofi *et al.*, 2011 n'ont pas discuté l'effet de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Quant à l'urée, elle avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Brevundimonas diminuta* KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (Zhikui

et al., 2012), *Paenibacillus* sp. D1 (Singh *et al.*, 2009) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006). Tandis que Philip *et al.*, 2020 n'ont pas discuté l'effet d'urée.

Jha et Modi, 2018 n'ont pas discuté l'effet de l'extrait de bœuf chez la bactérie *Streptomyces rubiginosus* SP24, Gasmi et Kitouni, 2016 n'ont pas discuté l'effet du tryptone chez la bactérie *Streptomyces griseorubens* C9, Khan *et al.*, 2010 n'ont pas discuté l'effet de la L-Asparagine et du nitrate de sodium (NaNO₃) chez la bactérie *Stenotrophomonas maltophilia*.

En ce qui concerne la caséine, elle a montré un effet positif sur la production de chitinase chez la bactérie *Bacillus* sp (Kumar *et al.*, 2017b). Tandis que Gasmi et Kitouni, 2016 et Kumar *et al.*, 2017a n'ont pas discuté l'effet chez *Streptomyces griseorubens* C9 et *Paenibacillus* sp. AD respectivement.

Le KNO₃ avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006).

Le NH₄Cl avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011).

Le nitrate d'ammonium (NH₄NO₃) avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021), *Streptomyces* sp. P6B2 (Karthik *et al.*, 2013) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006).

La liqueur de maïs a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Streptomyces* sp. P6B2 (Karthik *et al.*, 2013) et *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012).

Finalement, l'extrait de parois cellulaire de levure (EPCL) a montré un effet négatif chez la bactérie *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012).

2.1.3 Sources d'énergie

Les sources d'énergie qui ont été utilisées dans le plan « Plackett-Burman » ont été l'hydrogènodiphosphate de potassium (K₂HPO₄) et le dihydrogèno phosphate de potassium (KH₂PO₄) (Figure 13).

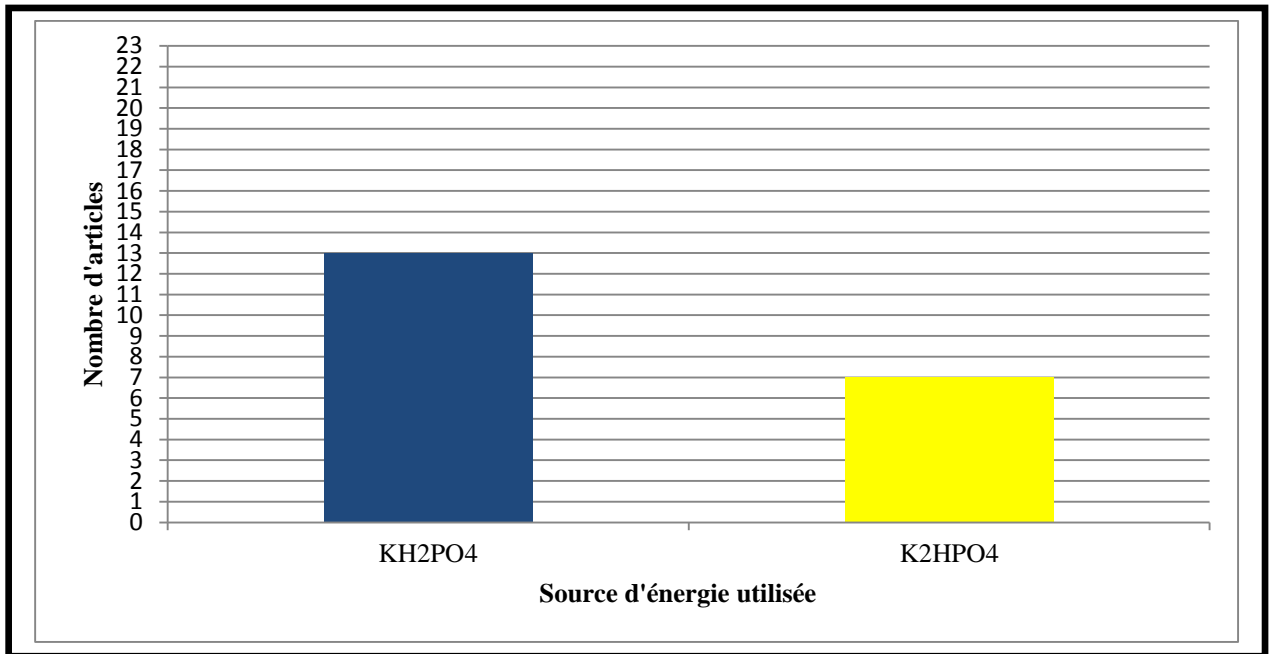


Figure 13 : Répartition des sources d'énergie utilisées dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.

Le K₂HPO₄ et le KH₂PO₄ sont des sels hautement solubles dans l'eau qui sont utilisés comme nutriments dans les cultures de microorganismes comme sources de phosphore et de potassium (Kumar et Kaur, 2012).

Ces sources ont favorisé la production de la chitinase, à faible concentration comme c'est le cas de *Streptomyces griseorubens* C9 (Gasmi et Kitouni, 2016). Mais pour d'autres bactéries, leurs concentration a été élevée comme c'est le cas pour *Achromobacter xylosoxidans* (Subramanian *et al.*, 2020) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006).

Ces deux sources d'énergie peuvent être sans effet ou avoir un effet positif ou négatif sur la production de la chitinase par les diverses bactéries étudiées. Dans quelques articles, l'effet de certaines source n'a pas été déterminé (Figure 14).

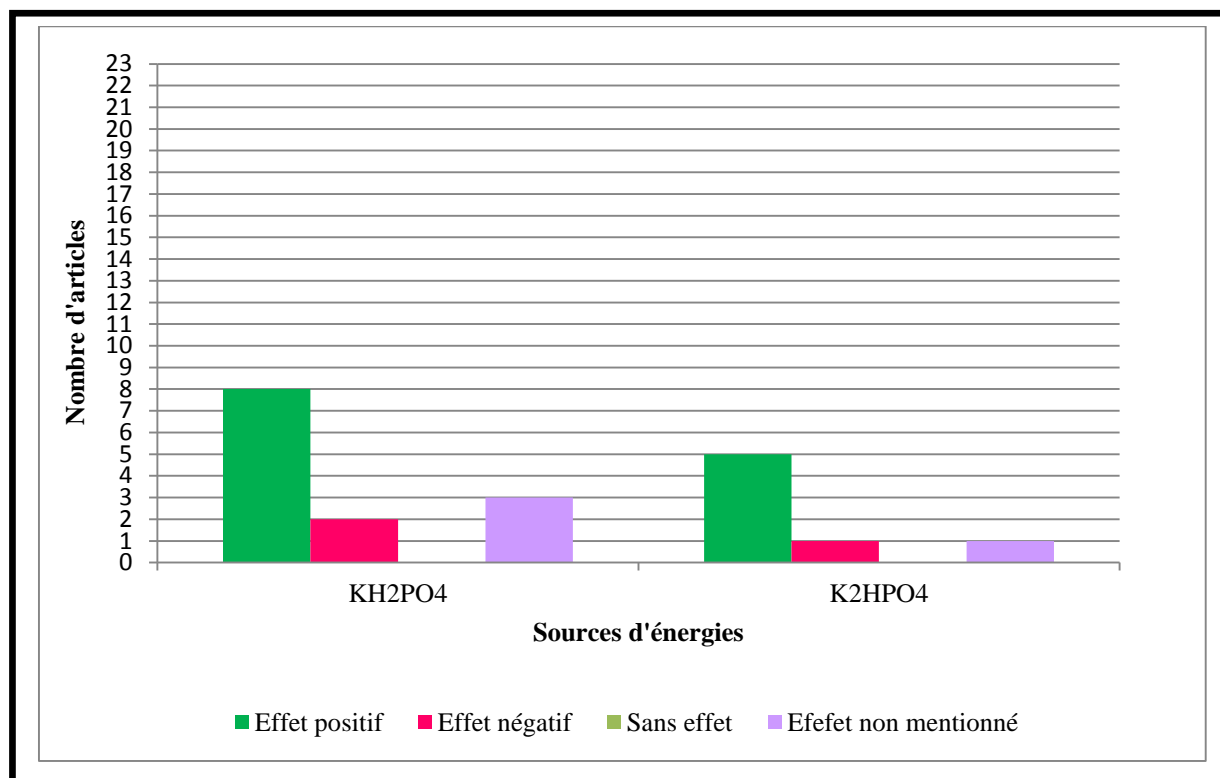


Figure 14 : Effets des sources d'énergie sur l'activité chitinolytique.

Sur les treize articles qui ont cité le KH₂PO₄ comme source d'énergie dans le plan d'expérience Plackett-Burman, huit articles ont mentionné l'effet positif sur la production de chitinase, et ceci chez les bactéries : *Achromobacter xylooxidans* (Subramanian *et al.*, 2020), *Streptomyces rubiginosus* SP24 (Jha et Modi, 2018), *Streptomyces griseorubens* C9 (Gasmi et Kitouni, 2016), *Brevundimonas diminuta* KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), *Bacillus pumilus* MCB-7 (Rishad *et al.*, 2016), *Bacillus cereus* GA6 (Roohi et Kuddus, 2015), *Stenotrophomonas maltophilia* (Khan *et al.*, 2010) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006). Deux articles ont souligné son effet négatif chez les bactéries *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021) et *Alcaligenes xylosoxydans* (Vaidya *et al.*, 2003). Tandis que pour les chitinases de *Pseudomonas fluorescens* HN1205 (Lee et Kim, 2015), *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011) et *Streptomyces* sp. Da11 (Yue *et al.*, 2008), les chercheurs n'ont pas discuté l'effet de KH₂PO₄ sur la production enzymatique.

Sur les sept articles qui ont cité le K₂HPO₄ comme source d'énergie dans le plan d'expérience Plackett-Burman, cinq articles ont mentionné l'effet positif sur la production de chitinase chez les bactéries *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021), *Streptomyces griseorubens* C9 (Gasmi et Kitouni, 2016), *Brevundimonas diminuta*

KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011) et *Paenibacillus* sp. D1 (Singh *et al.*, 2009). Un article unique a souligné son effet négatif en utilisant la bactérie *Bacillus licheniformis* AT6 (Aounallah *et al.*, 2016). Tandis que Yue *et al.*, 2008 n'ont pas discuté l'effet de K_2HPO_4 sur la production de chitinase.

2.1.4 Les ions métalliques et les sels minéraux

Les ions métalliques et les sels minéraux qui ont été utilisé dans le plan « Plackett-Burman » ont été : la chlorure de magnésium ($MgSO_4$), le chlorure de calcium ($CaCl_2$), la bromure de potassium (KBr), le chlorure de manganèse ($MnCl_2$), le sulfate de zinc ($ZnSO_4$), le sulfate de sodium (Na_2SO_4), le chlorure de fer ($FeCl_3$), le chlorure de magnésium ($MgCl_2$), le carbonate de calcium ($CaCO_3$), l'hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4), le sulfate Ferreux ($FeSO_4$), l'acide borique (H_3BO_4), le carbonate de sodium (Na_2CO_3), le manganèse de phosphate ($Mn_3(PO_4)_2$), le citrate ferrique ($FeC_6H_5O_7$), l'orthophosphate de fer ($FePO_4$), le chlorure de strontium ($SrCl_2$), l'acide borique (H_3BO_3), la silicate de sodium (Na_2SiO_3), la fluorure de sodium (NaF), le nitrate d'ammonium (NH_4NO_3), le bicarbonate de soude ($NaHCO_3$), la chlorure de sodium (NaCl), la chlorure de potassium (KCl) et des oligo-éléments (**Figure 15**).

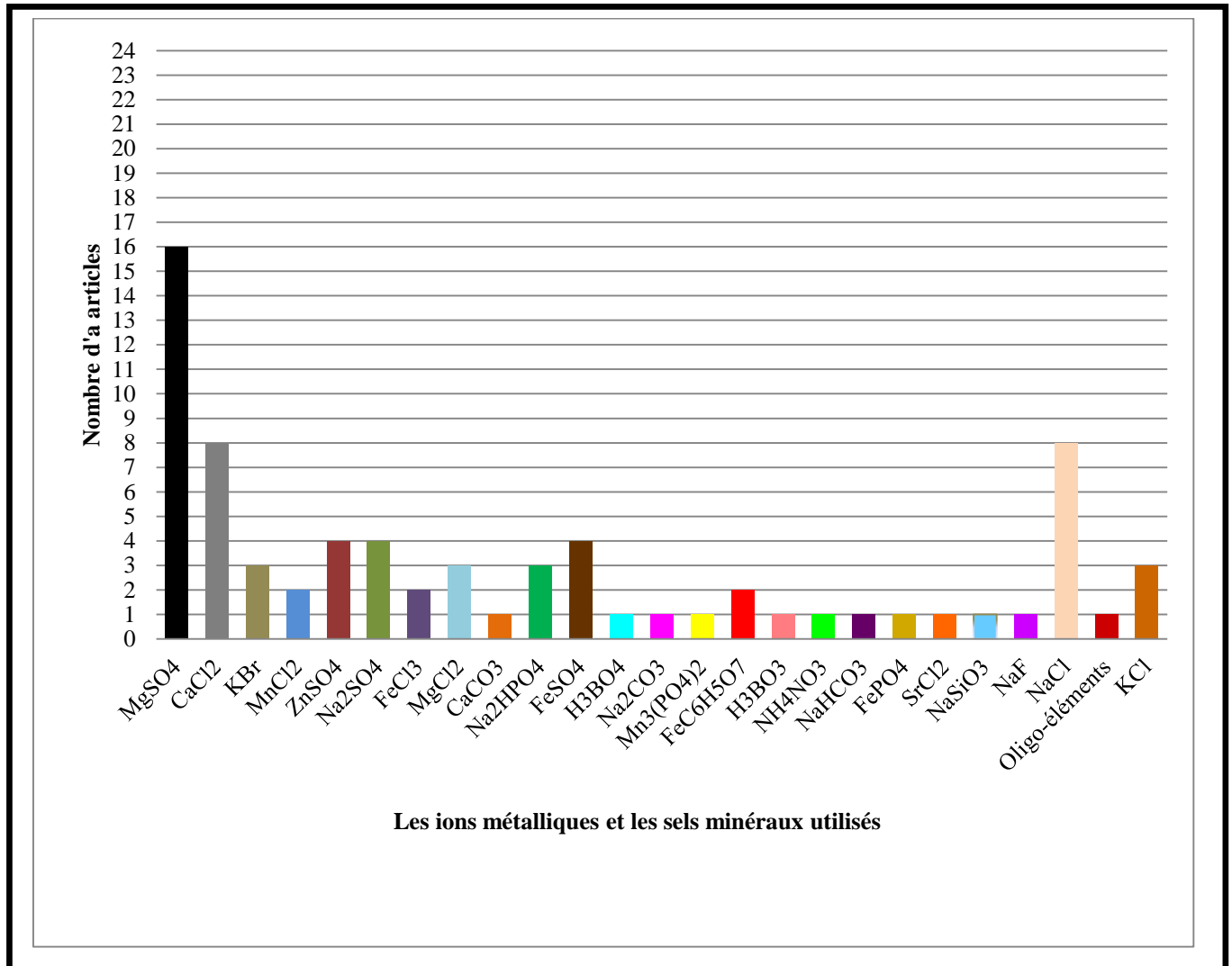


Figure 15 : Répartition des ions métalliques et des sels minéraux utilisés dans l’optimisation de la production de la chitinase dans le plan d’expérience Plackett-Burman.

L’usage de certains ions a donné des valeurs importantes d’activité chitinolytique c’est le cas du CaCl₂ utilisé en faible concentration et une forte concentration de K₂HPO₄ et qui ont permis une production élevée de chitinase chez *Bacillus cereus* SV1. Une forte agitation avec une faible concentration de CaCl₂ ont permis également d’obtenir une bonne production de chitinase (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011).

Les ions métalliques peuvent activer ou inhiber l’activité chitinolytique ou être sans aucun effet.

Les oligo-éléments sont des éléments simples, inorganiques appartenant aux métaux ou aux metalloïdes. Ont une action enzymatique (anabolisme et catabolisme) (Picaud, 2017).

Le KCl fourni les ions de potassium (K⁺) qui peut être absorbés et concentrés à l’intérieur de la cellule pour équilibrer l’augmentation de la pression osmotique externe et restaurer la

turgescence cellulaire. En tant que cation le plus courant dans le cytoplasme bactérien, le K^+ interfère moins avec l'activité métabolique intracellulaire. Pour nombreuses bactéries, il a été constaté que la concentration intracellulaire en K^+ est quasiment proportionnelle à la pression osmotique du milieu environnant (Gan *et al.*, 2021).

En ce qui concerne l'effet des ions métalliques et les sels minéraux utilisées, on a remarqué que l'ion ou le sel peut être sans effet ou avoir un effet positif ou négatif sur la production de la chitinase par les bactéries étudiées. Dans quelques articles, l'effet de certaines ion et sel n'a pas été déterminé (Figure 16).

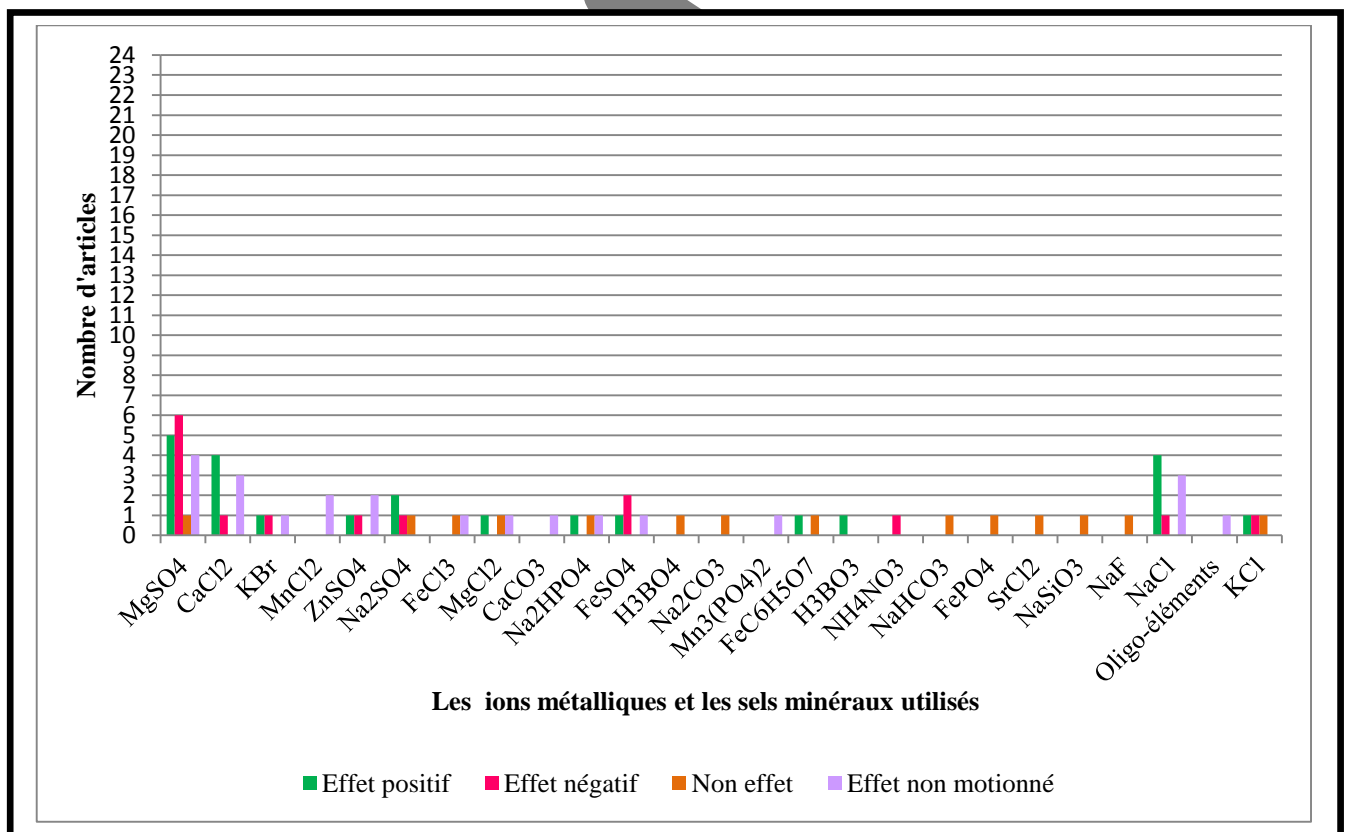


Figure 16 : Effets des ions métalliques et des sels minéraux utilisés dans le plan Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.

Han *et al.*, 2011 ont utilisé KBr, $Fe(C_6H_5O_7)$, $MgCl_2$, Na_2SO_4 , $CaCl_2$ comme des sels minéraux contrairement à d'autres chercheurs qui ont utilisé ces variables comme des ions métalliques (Gohel *et al.*, 2006 ; Narasimhan et Shivakumar, 2012 ; Karthik *et al.*, 2013 ; Kumar *et al.*, 2017c ; Santa-cruz Vasquez *et al.*, 2021).

Parmi les vingt quatre articles analysés :

Seize articles ont mentionné l'usage du $MgSO_4$ comme ion métallique dans le plan d'expérience Plackett-Burman. Cet ion a présenté un effet positif chez *Achromobacter xylooxidans* (Subramanian *et al.*, 2020), *Stenotrophomonas maltophilia* (Khan *et al.*, 2010), *Streptomyces* sp. Da11 (Yue *et al.*, 2008), *Paenibacillus* sp. AD (Kumar *et al.*, 2017a) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006), un effet négatif chez *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021), *Brevundimonas diminuta* KT277492 (Ashour *et al.*, 2016), *Bacillus cereus* GA6 (Roohi et Kuddus, 2015), *Chitiolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (Zhikui *et al.*, 2012), *Bacillus pumilus* U5 (Tasharrofi *et al.*, 2011), *Alcaligenes xylosoxydans* (Vaidya *et al.*, 2003). Singh *et al.*, 2009 ont rapporté que le $MgSO_4$ n'avait pas d'effet sur la production de chitinase chez *Paenibacillus* sp. D1. Tandis que Philip *et al.*, 2020, Jha et Modi, 2018, Lee et Kim, 2015 et Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011 n'ont pas discuté l'effet de $MgSO_4$.

Sept articles ont mentionné l'usage de $CaCl_2$, comme ion métallique et un article comme un sel minéral dans le plan d'expérience Plackett-Burman. Ce variable a présenté un effet positif chez *Pseudomonas fluorescens* strain HN1205 (Lee et Kim, 2015), *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011), *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (Han *et al.*, 2011) et *Pantoea dispersa* (Gohel *et al.*, 2006), un effet négatif chez *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012). Tandis que Philip *et al.*, 2020, Kumar *et al.*, 2017b et Tasharrofi *et al.*, 2011 n'ont pas discuté l'effet de $CaCl_2$.

Deux articles ont mentionné l'usage de KBr comme ion métallique et un article comme sel minéral dans le plan d'expérience Plackett-Burman. Chez *Pantoea dispersa* il a montré un effet positif sur la production de chitinase (Gohel *et al.*, 2006). chez *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 son effet était négatif (Han *et al.*, 2011), alors que Tasharrofi *et al.*, 2011 n'ont pas discuté son effet chez *Bacillus pumilus* U5.

Kumar *et al.*, 2017b et Tasharrofi *et al.*, 2011 n'ont pas discuté l'effet de $MnCl_2$ chez les bactéries *Bacillus* sp et *Bacillus pumilus* U5 respectivement.

Quatre articles ont mentionné l'usage de $ZnSO_4$ comme ion métallique dans le plan d'expérience Plackett-Burman. Cet ion a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Paenibacillus elgii* PB1 (Philip *et al.*, 2020) et un effet négatif chez *Achromobacter xylooxidans* (Subramanian *et al.*, 2020). Tandis que Tasharrofi *et al.*, 2011 et Yue *et al.*, 2008 n'ont pas discuté son effet.

Trois articles ont mentionné l'usage de Na_2SO_4 comme ion métallique et un article comme sel minéral dans le plan d'expérience Plackett-Burman. Ce variable avait un effet positif sur la

production de chitinase chez *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 (**Zhikui et al., 2012**) et *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (**Han et al., 2011**), un effet négatif chez *Brevundimonas diminuta* KT277492 (**Ashour et al., 2016**). **Gohel et al., 2006** ont rapporté que le Na_2SO_4 n'avait pas d'effet.

Deux articles ont mentionné l'usage de FeCl_3 comme ion métallique dans le plan d'expérience Plackett-Burman, **Singh et al., 2009** ont rapporté que l'ion n'avait pas d'effet sur la production de chitinase chez la bactérie *Paenibacillus* sp. D1. Tandis que **Kumar et al., 2017b** n'ont pas discuté son effet.

MgCl_2 a été utilisé comme ion métallique dans deux articles et comme sel minéral dans un seul article. Ce variable avait un effet négatif chez *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (**Han et al., 2011**), et sans aucun effet chez *Pantoea dispersa* (**Gohel et al., 2006**). Tandis que **Kumar et al., 2017a** n'ont pas discuté l'effet du MgCl_2 .

Jha et Modi, 2018 n'ont pas discuté l'effet de CaCO_3 sur la production de chitinase.

Deux articles ont mentionné l'usage de Na_2HPO_4 comme ion métallique et un article comme sel minéral dans le plan d'expérience Plackett-Burman, ce variable avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Paenibacillus* sp. AD (**Kumar et al., 2017a**). **Han et al., 2011** ont rapporté que le variable n'avait pas d'effet sur la production de chitinase chez *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702. Tandis que **Roohi et Kuddus, 2015** n'ont pas discuté son effet.

L'utilisation du FeSO_4 comme ion métallique dans le plan d'expérience Plackett-Burman a été mentionné dans quatre articles. Il a montré un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus pumilus* MCB-7 (**Rishad et al., 2016**), un effet négatif chez *Achromobacter xylosoxidans* (**Subramanian et al., 2020**) et *Bacillus pumilus* U5 (**Tasharrofi et al., 2011**).

Tandis que **Yue et al., 2008** n'ont pas discuté l'effet de cet ion.

En ce qui concerne le H_3BO_4 et le Na_2CO_3 mentionnés dans un seul article, ils n'avaient pas d'effet sur la production de chitinase chez la bactérie *Pantoea dispersa* (**Gohel et al., 2006**).

En ce qui concerne $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$, un article a mentionné l'usage de ce variable comme ion métallique et un autre comme sel minéral dans le plan d'expérience Plackett-Burman. Ce variable avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (**Han et al., 2011**).

Han et al., 2011, ont rapporté que le H_3BO_3 avait un effet positif et le NH_4NO_3 avait un effet négatif sur la production de chitinase chez *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702.

En ce qui concerne le NaHCO_3 , le FePO_4 , le SrCl_2 , le NaSiO_3 et le NaF **Han et al., 2011** n'ont pas discuté l'effet de ces variables chez *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702.

Philip et al., 2020 n'ont pas discuté l'effet du $\text{Mn}_2(\text{PO}_4)_2$.

Sept articles ont mentionné l'usage de NaCl comme sel minéral dans le plan d'expérience Plackett-Burman, ce variable avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Bacillus* sp (**Kumar et al., 2017b**), *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (**Han et al., 2011**) et *Pantoea dispersa* (**Gohel et al., 2006**), un effet négatif chez *Bacillus licheniformis* AT6 (**Aounallah et al., 2016**). Tandis que **Gasmi et Kitouni, 2016**, **Roohi et Kuddus, 2015**, **Tasharrofi et al., 2011** n'ont pas discuté l'effet de NaCl sur la production de chitinase.

Les oligo-éléments étaient utilisés uniquement dans l'étude menée par **Gasmi et Kitouni, 2016** en utilisant l'actinobactérie *Streptomyces griseorubens* C9 mais leur effet sur la production de la chitinase n'était pas mentionné.

Trois articles ont mentionné l'usage de KCl comme sel minéral. Il avait un effet positif sur la production de chitinase chez *Humicola grisea* ITCC 10,360.16 (**Kumar et al., 2017c**) et un effet négatif chez *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702 (**Han et al., 2011**). Tandis que **Gohel et al., 2006** ont rapporté que le sel n'avait pas d'effet sur la production de chitinase chez la bactérie *Pantoea dispersa*.

2.1.5 Les détergents

Les détergents étaient rarement utilisés dans le plan d'expérience Plackett-Burman. Ils ont été cités dans trois articles seulement le Tween 20 a été utilisé dans le cas de la bactérie *Alcaligenes xyloxydans* (**Vaidya et al., 2003**), le Tween 80 dans le cas de la bactérie *Paenibacillus* sp. D1 (**Singh et al., 2009**) et le Triton X 100 dans le cas de la bactérie *Bacillus subtilis* JN032305 (**Narasimhan et Shivakumar, 2012**) (**Figure 17**).

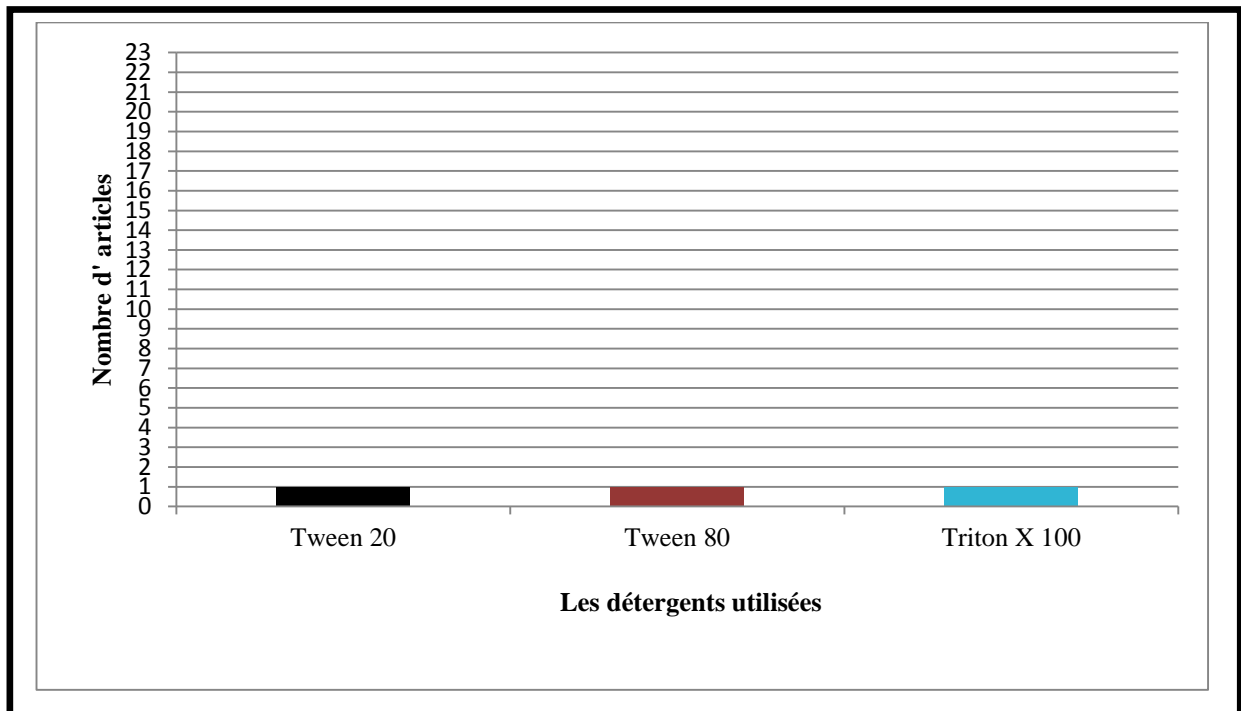


Figure 17 : Répartition des détergents utilisés dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.

Le Tween 20 et le Triton X 100 ont montré un effet positif, tandis que le Tween 80 n'avait aucun effet sur la production de la chitinase (Figure 18).



Figure 18 : Effets des détergents utilisés dans le plan de Plackett-Burman sur l'activité chitinolytique.

Le Tween 80 et le Tween sont des détergents non ioniques largement utilisés comme additifs dans le milieu de culture microbiologique, fournissant aux cellules bactériennes (par exemple des espèces de *Lactobacillus*) l'acide oléique (Reitermayer *et al.*, 2018) (Eskandani *et al.*, 2013). Le Triton X 100 est un détergent non ionique avec une concentration micellaire critique extrêmement faible (Holloway, 1973).

2.2 En fonction des paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques qui ont été utilisés dans le plan « Plackett-Burman » pour l'optimisation de la production de la chitinase par différents bactéries étudiées étaient : le pH, la température, le temps d'incubation, l'agitation et la taille d'inoculum.

Le pH a été le paramètre sur lequel la majorité des chercheurs ont concentré dans leur étude avec un nombre d'article de huit, vient ensuite la température avec un nombre d'article de trois et la taille d'inoculum avec un nombre d'article de deux, puis le temps d'incubation avec un nombre de deux également. Finalement, l'agitation avec un seul article (Figure 19).

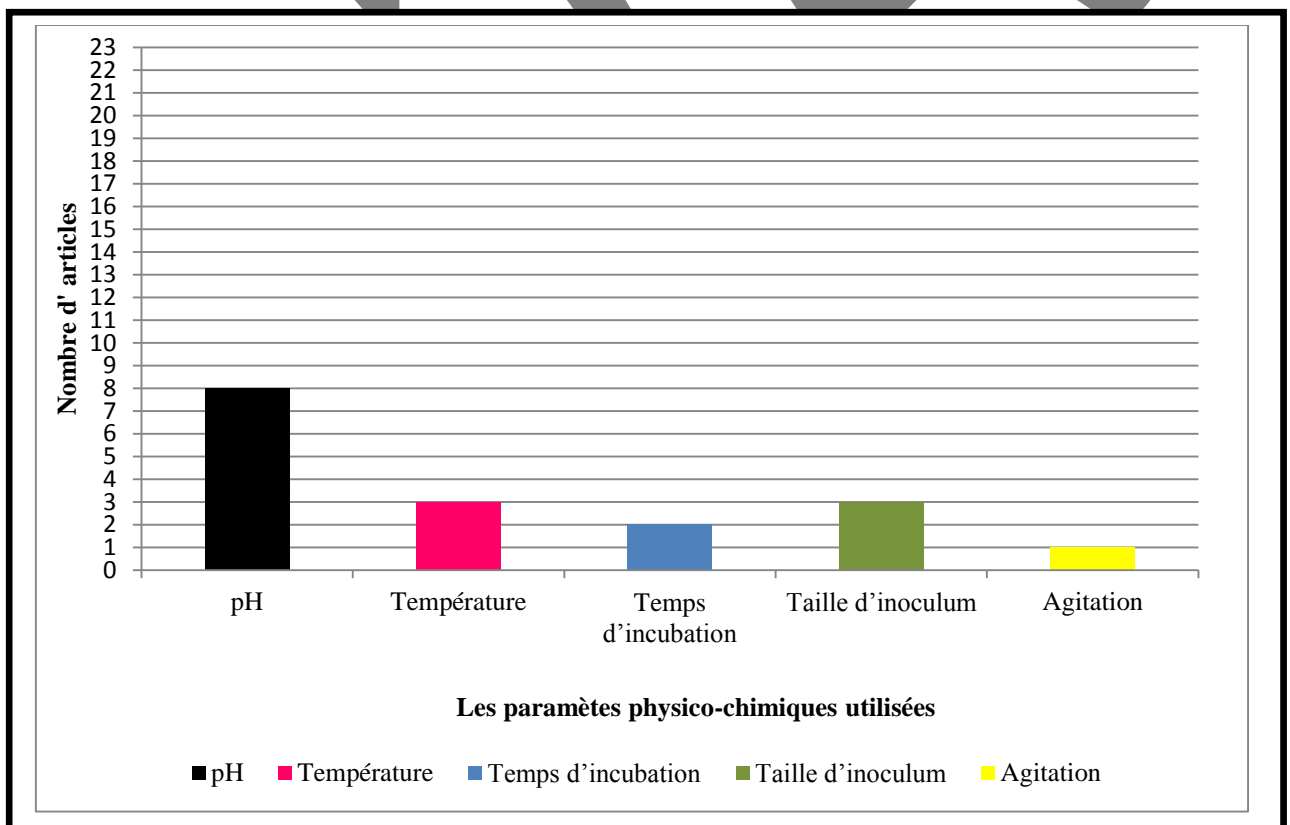


Figure 19 : Répartition des paramètres physico-chimiques utilisés dans l'optimisation de la production de la chitinase dans le plan d'expérience Plackett-Burman.

Les auteurs ont mentionné l'effet de la majorité des variables sur la production de l'enzyme chitinase, à l'exception d'un paramètre où l'effet n'a pas été mentionné (taille d'inoculum) (Figure 20).

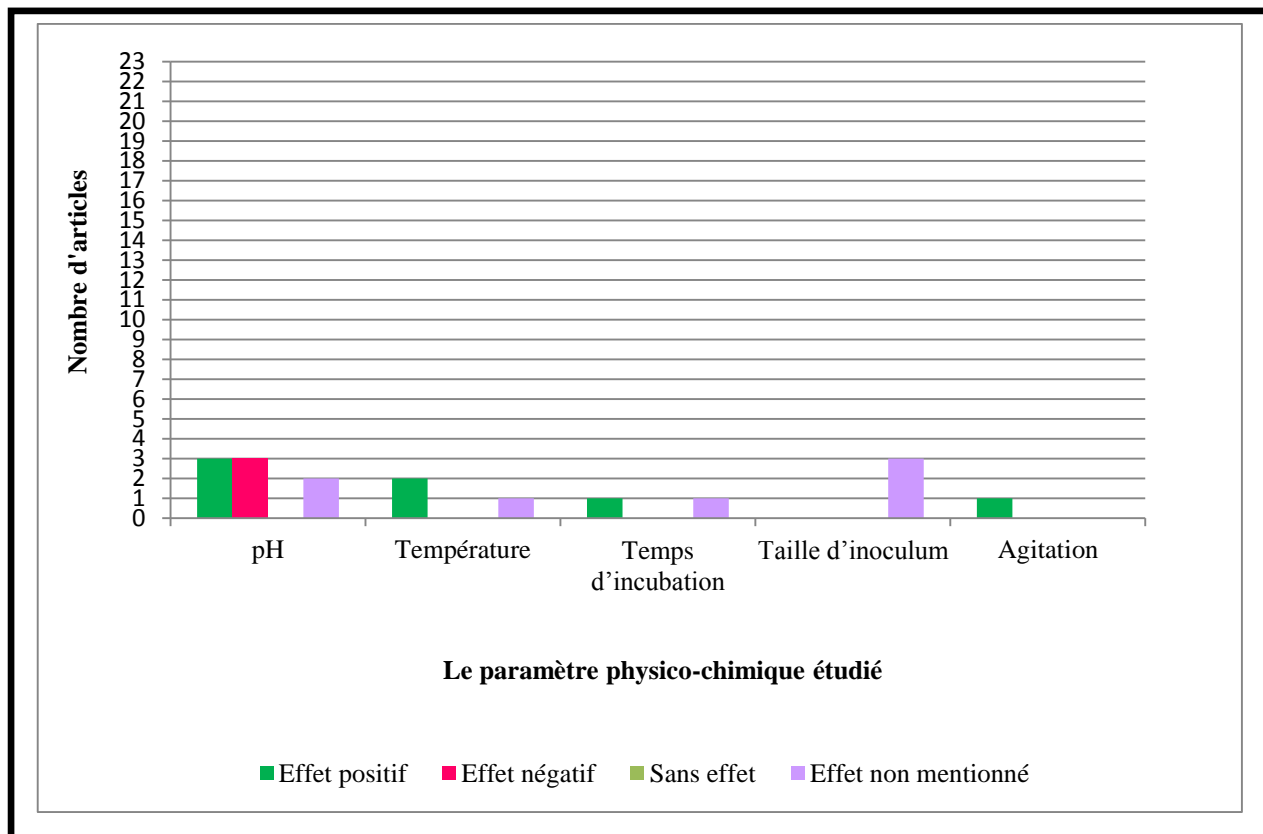


Figure 20 : Effet des paramètres physico-chimiques sur la production de la chitinase.

Huit articles parmi les vingt trois ont mentionné l'utilisation du pH comme variable dans le plan d'expérience Plackett-Burman. L'effet a été positif pour la production du chitinase chez *Bacillus* sp (Kumar *et al.*, 2017b), *Bacillus pumilus* MCB-7 (Rishad *et al.*, 2016) et *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012). Il a été négatif chez *Arthrobacter psychrochitiniphilus* 492 (Santa - Cruz Vasquez *et al.*, 2021), *Paenibacillus elgii* PB1 (Philip *et al.*, 2020) et *Bacillus licheniformis* AT6 (Aounallah *et al.*, 2016). L'effet de cet variable sur la production du chitinase n'a pas été mentionné chez *Streptomyces griseorubens* C9 (Gasmi et Kitouni, 2016) et *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011).

Trois articles parmi les vingt trois ont mentionné l'utilisation de la température comme variable dans le plan d'expérience Plackett-Burman. L'effet a été positif sur la production du chitinase chez *Bacillus licheniformis* AT6 (Aounallah *et al.*, 2016) et *Bacillus subtilis*

JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012). L'effet de ce variable sur la production du chitinase n'a pas été mentionné chez *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011).

L'utilisation de temps d'incubation comme variable dans le plan d'expérience Plackett-Burman a été mentionné dans deux articles. Son effet a été positif sur la production du chitinase chez *Bacillus subtilis* JN032305 (Narasimhan et Shivakumar, 2012), et non déterminé chez *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011).

La taille d'inoculum a été mentionnée comme variable dans le plan d'expérience Plackett-Burman dans deux articles, mais son effet sur la production du chitinase chez *Bacillus* sp (Kumar *et al.*, 2017b) et *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011) n'était pas déterminé.

Un article unique a mentionné l'utilisation de l'agitation comme variable dans le plan d'expérience Plackett-Burman. . Son effet a été positif sur la production du chitinase chez *Bacillus cereus* SV1 (Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2011).

3. Usage d'un second plan pour l'optimisation de la production de la chitinase bactérienne

Les vingt cinq auteurs ont utilisé un second plan après le plan Plackett-Burman pour l'optimisation de la production de la chitinase par les différentes bactéries étudiées. Ces plans ont été : la conception composite centrale (CCD), le plan factoriel fractionnaire (PFF), le plan Box-Behnken et le plan de Taguchi (Figure 21).

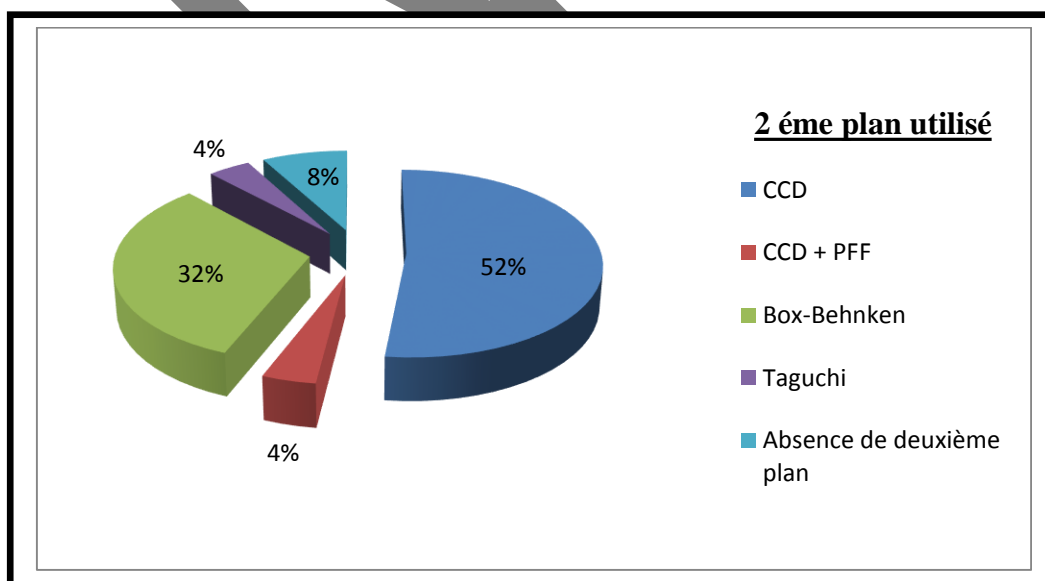


Figure 21 : Pourcentage des différents types de plan d'expériences utilisés dans la seconde optimisation de la production de chitinase.

La seconde optimisation de la production de chitinase a été accomplie en choisissant les variables qui ont donné un effet positif pour la production de la chitinase dans le premier plan de Plackett-Burman. À l'exception de **Philip *et al.*, 2020** qui ont utilisé un paramètre ayant un effet négatif : le pH. Il pourrait être que ces chercheurs ont voulu produire de la chitinase bactérienne en conditions acidiqes.

On a trouvé que l'usage de ces plans améliore l'activité chitinolytique (production maximale plus élevée que Plackett-Burman). En fait, la production finale de l'enzyme a été optimisée de 1.7 fois à 10 fois en utilisant le plan Plackett-Burman et de 1.20 fois jusqu'à 39.2 fois par en utilisant le deuxième plan (**Tableau 03**).

MSA

Tableau 03: Valeurs de l'activité chitinolytique en utilisant les méthodes classiques, le plan de Plackett-Burman et le second plan, selon la bactérie étudiée.

Bactéries productrices de chitinase	Valeurs de l'activité chitinolytique en utilisant les méthodes classiques	1 ^{ère} optimisation : usage du 1 ^{er} plan : Plackett-Burman		2 ^{ème} optimisation : usage d'un 2 ^{ème} plan		
		Taux d'optimisation (fois)	Valeur de l'activité chitinolytique	Type du plan	Valeur d'AC	Taux d'optimisation (n fois)
<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> 492	AC = 43,39U/L.	1.7 fois pour PB 16.	AC = 73 U/L.	PFF. CCD.	AC = 137.53 U/L. AC = 335.63 U/L.	3.2 fois. 7.7 fois par rapport à la condition initiale sans optimisation.
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	/	/	AC = 218U/ml.	RSM (CCD).	AC = 467 U/ml.	/

Tableau 03 : Valeurs de l'activité chitinolytique en utilisant les méthodes classiques, le plan de Plackett-Burman et le second plan, selon la bactérie étudiée (suite).

<i>Paenibacillus elgii</i> PB1	AC = 3.157 U/ml.	3.358 fois.	AC = 10.602 U/ml.	CCD.	AC = 2.157 U/ml.	7.77 fois par rapport au milieu basique.
<i>Streptomyces rubiginosus</i> SP24	AC = 0.66 IU.	/	/	Box-Behnken	/	3 fois par rapport au milieu basique.
<i>Paenibacillus</i> sp. AD	/	/	/	CCD.	/	/
<i>Bacillus</i> sp.	AC = 0.31 IU.	/	/	CCD.	AC = 9.90U/ml.	31 fois par rapport au milieu basique.
<i>Humicola grisea</i> ITCC 10,360.16	AC = 116 U/L.	/	AC = 134.68 U/L.	CCD.	AC = 182.48 U/L.	1.43 fois.
<i>Streptomyces griseorubens</i> C9	AC = 0.058 u/ml.	/	/	CCD.	AC = 1.53u/ml.	26.38 fois par rapport au milieu basique.

Tableau 03 : Valeurs de l'activité chitinolytique en utilisant les méthodes classiques, le plan de Plackett-Burman et le second plan, selon la bactérie étudiée (suite).

<i>Brevundimonas diminuta</i> KT277492	AC = 95 IU/L.	2.097 fois.	AC = 396.708 IU/L.	CCD.	AC = 832.87 IU/L.	8.76 fois par rapport au milieu basique.
<i>Bacillus licheniformis</i> AT6	AC = 50.35± 20 mu/ml.	/	AC = 272.482 mu/ml.	Box-Behnken	AC = 505.26 ± 22.223 mu/ml.	10 fois par rapport au milieu basique.
<i>Bacillus pumilus</i> MCB-7	AC = 3.36 U/ml.	/	AC = 21.27 U/ml.	Box-Behnken	AC = 23.19 U/ml.	6.9 fois.
<i>Bacillus cereus</i> GA6	/	/	/	CCD.	/	4.4 fois par rapport au milieu basique.
<i>Pseudomonas fluorescens</i> HN1205	/	2.87 fois.	/	CCD.	/	2.87 fois.
<i>Serratia marcescens</i> JPP1	/	/	/	CCD.	AC = 23.09 U/ml.	2.1 fois.

Tableau 03 : Valeurs de l'activité chitinolytique en utilisant les méthodes classiques, le plan de Plackett-Burman et le second plan, selon la bactérie étudiée (suite).

<i>Streptomyces</i> sp. P6B2	AC = 45 U.	/	AC = 56.74 U.	Taguchi.	AC = 106 U.	2.36 fois.
<i>Chitiolyticbacter meiyuanensis</i> SYBC- H1	/	/	AC = 1.32 U/ml.	RSM (CCD).	AC = 5.17 U/ml.	15.5 fois par rapport au milieu basique.
<i>Bacillus subtilis</i> JN032305	AC = 1 U/ml.	10 fois.	AC = 11.5 U/ml.	/		
<i>Bacillus pumilus</i> U5	AC = 79.8 U/100ml.	/	/	Box-Behnken	AC = 96.1 U/100ml.	1.20 fois.
<i>Bacillus cereus</i> SV1	/	/	/	RSM (CCD).	AC = 82.8 mu/ml.	/
<i>Sanguibacter antarcticus</i> KOPRI 21702	AC = 77 U/L.	/	/	Box-Behnken.	AC = 89 U/L.	

Tableau 03 : Valeurs de l'activité chitinolytique en utilisant les méthodes classiques, le plan de Plackett-Burman et le second plan, selon la bactérie étudiée (suite).

<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	/	/	AC = 0.239 U/ml.	RSM (Box- Behnken)	AC = 0.177 U/ml.	/
<i>Paenibacillus sp. D1</i>	/	2.56 fois.	AC = 92.014 U/ml.	CCD.	AC = 91.356 U/ml.	/
<i>Streptomyces sp. Da11</i>	AC = 36.43 U/ml.	/	AC = 246.6 U/g.	Box-Behnken	AC = 1559.2 U/g.	39.2 fois par rapport au milieu basique. 12.5 fois par rapport à OVAT.
<i>Pantoea dispersa</i>	AC = 108 U/ml.	4.21 fois.	AC = 452.56 U/ml.		/	/
<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>	AC = 12 U/ml.	2.41 fois.	AC = 29U/ml.	Box-Behnken	/	/

4. Composition finale des milieux de fermentation pour une maximale production de chitinase

Comme une étape finale, on a décrit la composition et les caractéristiques physico-chimiques de chaque milieu de fermentation optimisée et utilisée pour une production maximale de chitinase selon les bactéries productrices (**Tableau 04**).

Tableau 04: Composition finale des différents milieux de fermentation optimisés pour la production de la chitinase.

Bactéries productrices	Composition finale du milieu optimisée	Références
<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> 492	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 g/l extrait de levure, 2 g/l NH₄NO₃, 5% de chitine colloïdale. ✓ Le pH initial = 6, T° = 35°C, l'agitation = 150 rpm. 	Santa - Cruz Vasquez <i>et al.</i> , 2021.
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0.5545g/l Peptone, 30.6061g/l chitine, 0.50g/l KH₂PO₄, 0.2818 g/l MgSO₄. ✓ T° = 45°C, pH = 8. 	Subramanian <i>et al.</i> , 2020.
<i>Paenibacillus elgii</i> PB1	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 4.00 g/100ml Chitine colloïdale, 1.50 g/100ml CMC, 0.002 g/100ml ZnSO₄, 0.05 g/100ml urée. ✓ pH = 6. 	Philip <i>et al.</i> , 2020.
<i>Streptomyces rubiginosus</i> SP24	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1.0 u/ml chitine colloïdale, 2.0 u/ml xylose, 0.6 u/ml peptone, 0.24 u/ml KH₂PO₄. ✓ pH = 7, T° = 30°C, l'agitation = 100 Tr/min, temps d'incubation = 72h. 	Jha et Modi, 2018.
<i>Paenibacillus</i> sp. AD	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0.35% (NH₄)₂SO₄, 0.35 % NaCl, 0.075 % MgSO₄, 0.00035% KCl. ✓ pH = 7, T° = 37°C, taille d'inoculum = 1%, temps d'incubation = 72h. 	Kumar <i>et al.</i> , 2017a.
<i>Bacillus</i> sp.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0.75% caséine, 1.25% Chitine, 0.40% NaCl. ✓ pH = 6, T° = 37°C, l'agitation = 150 rpm, temps d'incubation = 96h, taille d'inoculum = 1%. 	Kumar <i>et al.</i> , 2017b.
<i>Humicola grisea</i> ITCC 10,360.16	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 7.49 g/l chitine, 4.91 g/l chitine colloïdale, 0.19 g/l KCl, 5.50 g/l extrait de levure. ✓ pH = 6.5, T° = 45°C, l'agitation = 150 rpm, temps d'incubation = 8jours. 	Kumar <i>et al.</i> , 2017c.
<i>Streptomyces griseorubens</i> C9	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2.0% chitine colloïdale, 0.47% sirop de datte, 0.25g/l extrait de levure, 1.81g/l PO₄ (K₂HPO₄, KH₂PO₄). ✓ pH = 9, T° = 40°C, l'agitation = 150 rpm, temps d'incubation = 7 jours. 	Gasmi et Kitouni, 2016.

Tableau 04 : Composition finale des différents milieux de fermentation optimisés pour la production de la chitinase (suite).

<i>Brevundimonas diminuta</i> KT277492	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 8.0g/l Chitine, 6.0g/l extrait de levure, 3.0 g/l KH₂PO₄. ✓ pH = 7, T° = 30°C, l'agitation = 200 rpm, temps d'incubation = 48h. 	Ashour <i>et al.</i> , 2016.
<i>Bacillus licheniformis</i> AT6	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 7g/l (NH₄)₂SO₄, 1g/l K₂HPO₄, 1g/l NaCl, 0.1 g/l MgSO₄·7H₂O, 0.5 g/l extrait de levure, 7.5 g/l chitine colloïdale, 0.2 g/l MnCl₂·2H₂O. ✓ T° = 35°C, pH = 7. 	Aounallah <i>et al.</i> , 2016.
<i>Bacillus pumilus</i> MCB-7	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0.5 g/l peptone, 1g/l chitine. ✓ pH = 6.5. 	Rishad <i>et al.</i> , 2016.
<i>Bacillus cereus</i> GA6	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2.0% chitine colloïdale, 6.0 g/l K₂HPO₄. ✓ pH = 9, T° = 25°C, temps d'incubation = 7j. 	Roohi et Kuddus, 2015.
<i>Pseudomonas fluorescens</i> HN1205	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1.0 g/l poudre de carapace, 0.5g/l CaCl₂, 0.5 g/l extrait de levure. ✓ pH = 7, T° = 30°C, l'agitation = 140 rpm, temps d'incubation = 4 j. 	Lee et Kim, 2015.
<i>Serratia marcescens</i> JPP1	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 12.70 g/l chitine colloïdale, 7.34 g/l glucose, 5.00 g/l peptone, 1.32 g/l (NH₄)₂SO₄, 0.7 g/l K₂HPO₄ et 0.5 g/l MgSO₄. 	Wang <i>et al.</i> , 2014.
<i>Streptomyces</i> sp. P6B2	<ul style="list-style-type: none"> ✓ L'extrait de levure comme source d'azote avec la chitine colloïdale comme inducteur de chitinase, l'utilisation de ML comme source d'azote. ✓ pH initial = 8, T° = 35°C et la production maximales de chitinase a été observée dans les 60h après l'inoculation avec l'ajout d'ions métalliques Ca⁺⁺ et Mg⁺⁺. 	Karthik <i>et al.</i> , 2013.
<i>Chitolyticbacter meiyuanensis</i> SYBC-H1	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 3g/l Inuline, 3g/l urée, 3g/l chitine, 3 mM sulfate de sodium. ✓ T° = 37°C, pH = 6.5. 	Zhikui <i>et al.</i> , 2012.
<i>Bacillus subtilis</i> JN032305	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 10g/L de CMC. ✓ T° = 30°C, temps d'incubation = 72h, pH compris entre [5-7]. 	Narasimhan et Shivakumar, 2012.
<i>Bacillus pumilus</i> U5	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 4.67 g/l chitine, 0.439 g/l extrait de levure, 0.0055 g/l MgSO₄, 0.019 g/l FeSO₄. ✓ pH = 6.5, T° = 30°C. 	Tasharrofi <i>et al.</i> , 2011.
<i>Bacillus cereus</i> SV1	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 32.96 g/l SSP, 4.82g/l NH₄Cl, 1.75g/l CaCl₂, 0.75g/l K₂HPO₄. ✓ L'agitation = 228 rpm, T° = 55°C, pH = 7. 	Ghorbel-Bellaaj <i>et al.</i> , 2011.

Tableau 04 : Composition finale des différents milieux de fermentation optimisés pour la production de la chitinase (suite).

<p><i>Sanguibacter antarcticus</i> KOPRI 21702</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ (Grammes par litre) : 2g/L Chitine gonflée, 10g/L glycérol, 5g/L peptone, 1g/l extrait de levure, 0.01 g/L Fe(C₆H₅O₇), 23 g/L NaCl, 2.5 g/L MgCl₂, 3.24 g/L Na₂SO₄, 1.8 g/l CaCl₂, 0.16 g/l NaHCO₃. ✓ (Milligrammes par litre) : FePO₄ : 10.0, SrCl₂ : 34.0, H₃BO₃ : 22.0, Na₂SiO₃ : 4.0, NaF 2.4, Na₂HPO₄ : 8.0, ✓ pH = 6.5, T° = 25°C, 30% saturation en air. 	<p>Han et al., 2011.</p>
<p><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 4.94 g/l chitine, 5.56 g/l maltose, 0.62 g/l extrait de levure, 1.33 g/l KH₂PO₄, 0.65 g/l MgSO₄.7H₂O. ✓ pH = 5, T° = 30°C, temps d'incubation = 3j (ces valeurs prédisaient 0.116 U/ml d'activité de chitinase). 	<p>Khan et al., 2010.</p>
<p><i>Paenibacillus</i> sp. D1</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0.33 g/l urée, 1.17 g/l K₂HPO₄, 0.3 g/l MgSO₄, 0.65 g/l extrait de levure, 3.75 g/l chitine. ✓ pH = 7.2, T° = 30°C, temps d'incubation = 72h, l'agitation = 180 tr/min (il conduit à la production de 93.2 U/ml de chitinase). 	<p>Singh et al., 2009.</p>
<p><i>Streptomyces</i> sp. Da11</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 5g/l Galactose, 2.62g/l chitine colloïdale, 0.10g/l MgSO₄.7H₂O, 12.5g/l peptone, 1.5g/l PO₄³⁻, (KH₂PO₄ 0.45g/l, K₂HPO₄ 1.05g/l) 12.5g/l poudre de chitine, 0.03g/l FeSO₄, 0.03g/l ZnSO₄ avec eau de mer artificielle. ✓ T° = 28°C, pH = 7, agitation = 180 rpm. 	<p>Yue et al., 2008.</p>
<p><i>Pantoea dispersa</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 5 g/l chitine, 0.5 g/l glucose, 0.5 g/l peptone, 0.05 g/l extrait de levure, 0.5 g/l urée, 0.03 g/l (NH₄)₂SO₄, 0.3 g/l NH₄NO₃, 0.1 g/l FeC₆H₅O₇, 1.95 g/l NaCl, 0.88 g/l MgCl₂.6H₂O, 3.24 g/l Na₂SO₄, 0.2 g/l CaCl₂, 0.03 g/l KCL, 0.02 g/l Na₂CO₃, 0.10 g/l KBr, 0.01 g/l H₃BO₄, 0.10 g/l MgSO₄.7H₂O, 0.1 g/l KNO₃, 0.14 g/l KH₂PO₄. ✓ pH = 7.2, T° = 30 ± 2°C, temps d'incubation = 144h, 5% d'inoculum, l'agitation = 180 rpm. 	<p>Gohel et al., 2006.</p>
<p><i>Alcaligenes xyloxydans</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1.0g/l (NH₄)₂SO₄, 1.36 g/l K₂HPO₄, 0.3 g/l MgSO₄.7H₂O, 0.12 g/l Tween 20, 0.3 g/l extrait de levure, 15 g/l chitine. ✓ pH = 8.5, T° = 30°C, l'agitation = 1800 Tr/min, temps d'incubation = 72h. 	<p>Vaidya et al., 2003.</p>

On a remarqué que la production maximale de l'enzyme chitinase a été obtenue dans des conditions de fermentation neutres à largement acides, c'est-à-dire un pH compris entre 6 et 7.2 (**Figure 22**), et une température mésophile de 30°C (**Figure 23**).

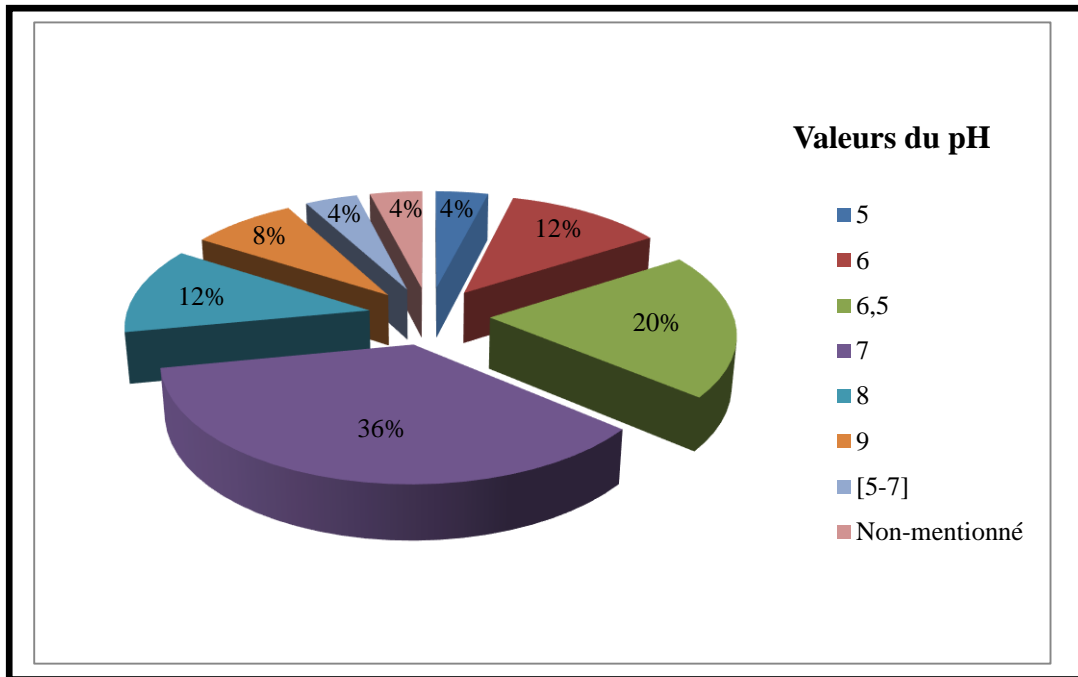


Figure 22 : Valeurs de pH qui ont permis une production maximale de la chitinase bactérienne.

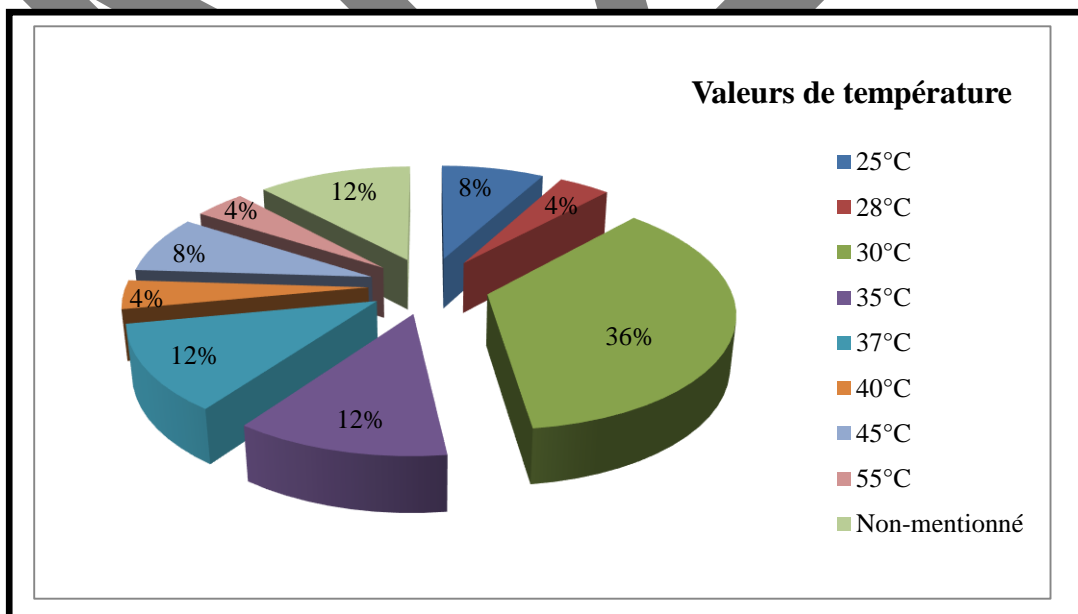



Figure 23 : Valeurs de la température qui ont permis une production maximale de la chitinase bactérienne.

Conclusion

D'après notre étude on a pu conclure que

- *Bacillus*, *Paenibacillus* et *Streptomyces* constituaient les bactéries les plus connues par leur activité chitinolytique, elles ont été largement utilisées dans le plan d'expérience Plackett-Burman, un plan qui a visé à déterminer les meilleurs variables et conditions pour la production de la chitinase par ces bactéries, ainsi que d'autres bactéries.
- Un même variable peut avoir un effet positif, négatif ou être sans effet pour la production de la chitinase selon la bactérie comme le cas du glucose qui avait un effet positif pour *Brevundimonas diminuta* KT277492 et *Streptomyces* sp. P6B2, un effet négatif pour *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 et *Bacillus subtilis* JN032305 et aucun effet pour *Pantoea dispersa*.
- La chitine et ses dérivés (chitine gonflé, chitine colloïdale,...) ont été les meilleures sources de carbone utilisées par les bactéries chitinolytiques. La chitine colloïdale occupait la 1^{ère} position et elle avait un effet positif pour douze bactéries. L'extrait de levure était la meilleure source d'azote et avait un effet positif pour divers bactéries. La présence des ions métalliques et les sels minéraux est important pour une production élevée de chitinase chez certaines bactéries.
- La production de chitinase n'était pas toujours liée à la présence de la chitine et ses formes dans le milieu de fermentation, c'est le cas de la bactérie *Chitolyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1 et *Paenibacillus* sp. AD.
- Le pH et la température ont été les paramètres physico-chimiques qui influençaient le plus production de chitinase bactérienne. D'après notre étude, on a trouvé que la majorité des bactéries produisaient la chitinase dans un pH neutre compris entre 6 et 7.2 et une température de 30°C.
- L'usage du plan d'expérience Plackett-Burman a amélioré l'optimisation de la chitinase bactérienne par rapport aux méthodes classiques. L'usage d'un deuxième plan a pu encore améliorer la production chitinolytique.
- Le plan d'expérience Plackett-Burman (PB) est un plan qui permet de déterminer les meilleurs variables qui donne un effet positif sur la production pour être utilisés ensuite dans un deuxième plan (CCD, Taguchi, etc).



Références
Bibliographiques

- Antony J, Antony F (2001). Teaching the taguchi method to industrial engineers. *Work study*, 50 (4) : 141-149.
- nupama, Ravindra P (2000). Aliment à valeur ajoutée : Protéine unicellulaire. *Progrès de la biotechnologie*, 18 (6) : 459-479.
- Aounallah MA, Ben Slimane-Debez I, Djebali K, Gharbi D, Hammami M, Azaiez S, Limam F, Tabbene O (2016). Enhancement of Exochitinase Production by *Bacillus licheniformis* AT6 Strain and Improvement of N-Acetylglucosamine Production. *Appl biochem biotechnol*, 181 (2) : 650-666.
- Ashour W, Abd El Aty A, Hamed E, Swelim M, El-Diwany A (2016). Applications of Plackett–Burman and Central Composite Design for the Optimization of *Novel Brevundimonas diminuta* KT277492 Chitinase Production, Investigation of its Antifungal Activity. *Brazilian archives of biology and technology an international journal*, 59: 1-14.

- Baléo JN, Bourges B, Courcoux PH, Faur-Brasquet C, le Cloirec P (2003). *Méthodologie expérimentale : méthodes et outils pour les expérimentations scientifique: les plan d'expériences : introduction à la planification expérimentale : objectifs*. Paris : TEC et DOC. 367p.
- Benoist D, Tourbier Y, Germain-Tourbier S (1994). *Plans d'expériences : construction et analyse*. Paris : Technique et documentation-lavoisier. 695 p.
- Blanco A, Blanco G (2017). *Medical Biochemistry : Enzymes*. KS United States : Academic Press. 153-175p.
- Brinda M, Crawford DL (1997). Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. *Enz.Microbial.tech*, 20: 489-493.
- Brisou J (1971). *Techniques d'enzymologie bactérienne*. Paris : Masson et C^{ie} editeurs. 277p.
- Budi SW, Tuinen VD, Arnould C, Dumas-Gaudot E, Gianinazzi-Pearson, Gianinazzi S (2000). Hydrolytic enzyme activity of *Paenibacillus* sp. Strain B2 and effects of the antagonistic bacterium on cell integrity of two soil-borne pathogenic fungi. *Applied Soil Ecology*, 15 (2): 191-199.

C

- Cohen-Kupiec R, Chet I (1998). The molecular biology of chitin digestion. 9 (3): 270–277.
- Crawford DL, Lynch JM, Whipps JM, Ousley MA (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. Appl. Environ. Microbiol, 59 : 3899-3905.

D

- Dackman C, Chet I, Nordbring-Hertz B (1989). Fungal parasitism of the cyst nematode *Heterodera schachtii* : infection and enzymatic activity. FEMS Microbiol Lett, 62 : 201–208.
- Deravel J, Krier F, Jacques P (2013). Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 18 (2) : 220-232.
- Dukariya G, Kumar A (2020). Distribution and Biotechnological Applications of Chitinase: A Review. International Journal of Biochemistry and Biophysics, 8 (2) : 17-29.
- Dutta S (2016). Optimization in Chemical Engineering. India: Cambridge University Press. 375 p.

E

- Eskandani M, Hamishehkar H, Dolatabadi JE (2013). Cytotoxicity Study of Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monolaurate (Tween 20). Original research article, 32 (9) : 1-6.

G

- Gan X, Zhao L, Li J, Tu J, Wang Z (2021). Effects of partial replacement of NaCl with KCl on bacterial communities and physicochemical characteristics of typical Chinese bacon. Food microbiology, 93 : 1-9.
- Gasmi M (2017). Isolement, identification et criblage d'actinomycètes à activité chitinolytique à partir du sol de la région de Laghouat. Optimisation de la production de chitinase par *Streptomyces griseorubens* C9 par la méthode des surfaces de réponse. Thèse de doctorat : Biotechnologies et Biochimie. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 164 p.
- Gasmi M, Kitouni M (2016). Optimization of chitinase production by a new *Streptomyces griseorubens* C9 isolate using response surface methodology. Ann Microbiol, (67) : 175-183.
- Ghorbel-Bellaaj O, Manni L, Jellouli K, Hmidet N, Nasri M (2011). Optimization of protease and chitinase production by *Bacillus cereus* SV1 on shrimp shell waste using

statistical experimental design. Biochemical and molecular characterization of the chitinase. Ann microbiol, 62 : 1255-1268.

- Ghorbel-Bellaaj O, Younes I, Maalej H, Hajji S, Nasri M (2012). Chitin extraction from chrimp shell waste using *Bacillus* bacteria. International journal of biological macromolecules, 51 : 1196-1201.
- Gibco peptones. Thermofisher scientific [en ligne]. (page consulté le 03/06/2022). <https://www.thermofisher.com/dz/en/home.html>.
- Gohel V, Chaudhary T, Vyas P, Chhatpar HS (2006). Statistical screenings of medium components for the production of chitinase by the marine isolate *Pantoea dispersa*. Biochemical Engineering Journal, 28: 50–56.
- Grady EN, MacDonald J, Liu L, Richman A, Yuan Z (2016). Current knowledge and perspectives of Paenibacillus: a review. Microbial Cell Factories, 15: 1-18.

H

- Hajji S, Gorbél-Bellaj O, Younes I, Jellouli K, Nasri M (2015). Chitin extraction from crab shells by *Bacillus* bacteria biological activities of fermented crab supernatants. International journal of biological macromolecules, 79: 167-173.
- Hamid R, Khan MA, Ahmad M, Ahmad MM, AbdinmMZ, Musarrat J, Javed S (2013). Chitinases: An update. Journal of Pharmacy and BioAllied Sciences, 11 (1) : 21-29.
- Han SJ, Park HY, Lee SG, Lee HK, Yim JH (2011). Optimization of cold-active chitinase production from the *Antarctic bacterium*, *Sanguibacter antarcticus* KOPRI 21702. Appl Microbiol Biotechnol, 89: 613–621.
- Herdyastuti N, Cahyaningrum SE, Tamimi M, Wirawan A (2015). Modification of chitin as substrates for chitinase. African journal of Biotechnology, 14 (18) : 1590 – 1595.
- Herrera-Estrella A, Chet I (1999). Chitinases in biological control. Chitin and Chitinases, 87: 171-184
- Holt JG, Krieg NR, Sneath HA, Staley JT, Williams ST (1994). Bergy's Manual of determinative bacteriology ninth edition .USA: library of congress cataloging-in-publication data. 787p.
- Holloway PW (1973). A simple procedure for removal of triton X-100 from protein samples. Analytical Biochemistry, 53: 304-308.

- Jayakumar R, Prabakaran M, Sudheesh Kumar P T, S.Nair SV, Tamura H (2011). Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology*, 29 (3) : 322–337.
- Jha S, Modi HA (2018). Statistical optimization of chitinase production by *Streptomyces rubiginosus* SP24 and efficacy of purified chitinase to control root-knot nematode infection in *Vigna radiata* under controlled conditions. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 5 (1) : 1-13.
- Juarez-Jimenez B, Rodelas B, Martinez-Toledo M, Gonzalez-Lopez J, Crognale S, Gallo A, Pesciaroli C, Fenice M (2008). Production d'enzymes chitinolytiques par une souche (BM17) de *Paenibacillus pabuli* isolé à partir d'échantillons de carapaces de crabs prélevés dans le secteur est de la mer tyrrhénienne centrale. *Journal international des macromolécules biologiques*, 43 (1) : 27-31.

- Kang H, Kim H, Bae J, Lee S, Kim W, Kim M, Cha C, Yi H, Im W, Kim S, Seong C, Joh K (2019). A report of 38 unrecorded bacterial species in Korea within the classes Bacilli and Deinococci isolated from various sources. *Journal of species research*, 8 (2) : 176-190.
- Karthik N, Pandey A, Binod P (2013). Bioprocess Optimisation for the Production of Chitinase from *Streptomyces* sp. Isolated from Coastal Environment Samples from South Kerala. *American Scientific Publishers*, 1: 177–185.
- Kersters K, De Vos P, Gillis M, Swings J, Vandamme P, Stackebrandt E (2006). Introduction to the Proteobacteria. *Prokaryotes*, 5: 3–37.
- Khan, Minhaj A, Rifat H, Mahboob A, Abidin MZ, Javed S (2010). Optimization of Culture Media for Enhanced Chitinase Production from a Novel Strain of *Stenotrophomonas maltophilia* Using Response Surface Methodology. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (11) : 1597–1602.
- Khushboo, Kumar P, Dubey K, Sharma M, Kumar Gupta V (2022). Biotechnological and industrial applications of *Streptomyces* metabolites. *Biofuels, Bioprod, Bioref*, 16 : 244-264.
- Korangi Alleluya V, Kubindana G, Fingu Mabola J, Sulu A, Kasereka G, Matamba A, Ndindir J (2021). Utilisation des biopesticides pour une agriculture durable en République démocratique du Congo (synthèse bibliographique). *Africaine d'environnement et d'agriculture* : 53-67.
- Kumar A, Kumar D, George N, Sharma P, Gupta N (2017). A process for complete biodegradation of shrimp waste by a novel marine isolate *Paenibacillus* sp. AD with

simultaneous production of chitinase and chitin oligosaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109: 263-272.

- Kumar A, Laksh, Angural S, Kumar D, Gupta N, Puri N (2017). A Statistical Approach for the chitinase production by *Bacillus* sp. and its Antifungal Potential. *International Journal of Engineering & Scientific Research*, 5: 1-21.
- Kumar H, Kaur K (2012). Effect of dipotassium hydrogen phosphate on thermodynamic properties of glycine and L-alanine in aqueous solutions at different temperatures. *J. Chem. Thermodynamics*, 53: 86–92.
- Kumar M, Brar A, Vivekanand V, Pareek N (2017). Production of chitinase from thermophilic *Humicola grisea* and its application in production of bioactive chitooligosaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104: 1-27.
- Kzhyshkowska J, Gratchev A, Goerdts S (2007). Human Chitinases and Chitinase-Like Proteins as Indicators for Inflammation and Cancer. *Biomarker Insights*, 2: 128–146.

L

- Lacombe-Harvey M, Brzezinski R, Beaulieu C (2018). Chitinolytic functions in actinobacteria: ecology, enzymes, and evolution. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102 (17) : 7219–7230.
- Lai W, Hameed A, Lin S, Hung M, Hsou Y, Liu Y, Shahina M, Shen F, Young C (2015). *Paenibacillus medicaginis* sp. Nov. a chitinolytic endophyte isolated from a root nodule of alfalfa. *Journal international de microbiologie systématique et évolutive*, 65 (11) : 3853-3860.
- Lee YS, Kim KY (2015). Statistical optimization of medium components for chitinase production by *Pseudomonas fluorescens* strain HN1205: role of chitinase on egg hatching inhibition of root-knot nematode. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(3): 470-478.

M

- Miller M, Palojärvi A, Rangger A, Reeslev M, Kjoller A (1998). L'utilisation de substrats fluorogènes pour mesurer la présence et l'activité fongiques dans le sol. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 64 (2) : 613-617.

N

- Naaz N, Rama Devi B, Mahmood SK (2021). Microbial chitinases: emerging trends in biotechnological applications. *Plant Archives* , 21 (1) : 1872-1899

- Narasimhan A, Shivakumar S (2012). Optimization of chitinase produced by a biocontrol strain of *Bacillus subtilis* using Plackett-Burman design. *European Journal of Experimental Biology*, 2012, 2 (4) : 861-865.
- No HK, Meyers SP, Lee KS (1989). Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *Journal of agricultural and food chemistry*, 37 (3): 1-5.
- Norberg P, Hofsten BV (1969). Proteolytic Enzymes from Extremely *Halophilic Bacteria*. *J.gen. Microbiol*, 55 (2) : 251-256.

O

- Orencio-Trejo M, Torre-Zavala D, Rodriguez-Garcia A, Avilés-Arnaut H, Gastelum-Arellanez A (2016). Assessing the performance of bacterial cellulases : the use of *Bacillus* and *Paenibacillus* strains as enzyme source for lignocellulose saccharification. *BioEnergy Research*, 9 (4) : 1023-1033.

P

- Panda T, Kumar RA, Theodore T (2016). *Statistical optimization of biological systems*. New York: CRC Press is an imprint of the Taylor & Francis Group, an informa business. 290p.
- Patowary R, Deka H (2020). *Paenibacillus*. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*: 339-361.
- Perrin FH (2016). *Biotechnologies et Bioanalyses [en ligne]*. (page consulté le 03/06/2022). <http://www.perrin33.com/index.html>.
- Philip NV, Koteshwara A, Kiran GA, Raja S, Subrahmanyam VM, Chandrashekar, H R (2020). Statistical optimization for coproduction of chitinase and beta 1, 4-endoglucanase by chitinolytic *Paenibacillus elgii* PB1 having antifungal activity. *Applied biochemistry and biotechnology*, 191 (1) : 135-150.
- Picaud C (2017). *Oligo-éléments : Excès, carences et conseil officinal. Une thèse : pharmacie*. Montluçon : Université de Limoges, 145p.

R

- Reitermayer D, Kafka TA, Lenz CA, Vogel RF (2018). Interrelation between Tween and the membrane properties and high pressure tolerance of *Lactobacillus plantarum*. *BMC Microbiology*, 18 (1) : 1-14.
- Rishad KS, Rebello S, Kumar VN, Shabanamol S, Jisha MS (2016). Optimised production of chitinase from a novel mangrove isolate, *Bacillus pumilus* MCB-7 using Response Surface Methodology. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5: 1-22.

- Roohi, Kuddus M (2015). Statistical optimization of cold-active chitinase production by mutagenized cells of multi-enzyme producing *Bacillus cereus* GA6. Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali, 26 (3) : 271-280.

S

- Santa-Cruz Vasquez YM, Gomes MB, Silva TR, Duarte AW, Rosa LH, Oliveira VM (2021). Cold-adapted chitinases from *Antarctic bacteria*: Taxonomic assessment and enzyme production optimization. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 34 (13) : 1-10.
- Sathya R, Ushadevi T (2014). Industrially important enzymes producing *Streptomyces* species from mangrove sediments. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 6 (10) : 1-6.
- Seang CN, Kang JW, Lee JH, Seo SY, Woo J, Park C, Bae KS, Kim SM (2018). Taxonomic hierarchy of the phylum Firmicutes and novel Firmicutes species originated from various environments in Korea. Journal of Microbiology, 56 (1) : 1-10.
- Singh AK, Mehta G, Chhatpar HS (2009). Optimization of medium constituents for improved chitinase production by *Paenibacillus* sp. D1 using statistical approach. Letters in Applied Microbiology : 1-7.
- Singh R , Kumar Upadhyay S, Singh M, Sharma I, Sharma P, Kamboj P, Saini A, Voraha R, Kumar AS, Kumar Upadhyay T, Khan F (2020). Chitin, Chitinases and Chitin Derivatives in Biopharmaceutical, Agricultural and Environmental Perspective. Biointerface Research in applied chemistry, 11 (03) : 9985-10005.
- Subbanna A, Khan MS, Shivashankara H (2016). Caractérisation de la source antifongique *Paenibacillus illinoisensis* UKCH21. Journal africain de recherche en microbiologie, 10 (34) : 1380-1387.
- Subramanian K, Sadaiappan B, Aruni W, Kumarappan A, Thirunavukarasu R, Srinivasan GP, Bharathi S, Nainangu P, Renuga PS, Elamaran A, Balaraman D, Subramanian M (2020). Bioconversion of chitin and concomitant production of chitinase and N-acetylglucosamine by novel *Achromobacter xylosoxidans* isolated from shrimp waste disposal area. Scientific Reports, 10 (1) : 1-14.

T

- Taechowisan T, Peberdy JF, Lumyong S (2003). Chitinase production by endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130, and its antagonism against phytopathogenic fungi. Annal. Microbiol, 53 : 447-461.
- Tasharofi N, Adrangi S, Fazeli M , Rastegar H, Khoshayand MR , Faramarzi MA (2011). Optimization of Chitinase Production by *Bacillus pumilus* Using Plackett-Burman Design and

Response Surface Methodology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10 (4) : 759-768.

- Thakur N, Nath AK, Chauhan A, Parmar SH, Pandey H, Thakur K (2019). Chitinases from microbial sources, their role as biocontrol agents and other potential applications. Journal of Entomology and Zoology Studie, 7(1) : 837-843.
- Thi Cam HD, Dang Thang N, Hoang T, Thuy Chinh N, Thi Hien T, Viet HL, Van Huynh N, Xuan Bach T, Thi Phuong TP, Truong Giang N, Quang Trung N (2018). Plastic degradation by thermophilic *Bacillus* sp. BCBT21 isolated from composting agricultural residual in Vietnam. Advances in natural sciences: Nanoscience and Nanotechnology, 9: 1-11.

V

- Vaidya R, Vyas P, Chhatpar HS (2003). Statistical optimization of medium components for the production of chitinase by *Alcaligenes xylosoxydans*. Enzyme and Microbial Technology 33: 92–96.
- Veliz EA, Martínez-Hidalgo P, Hirsch AM (2017). Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. aims microbiology, 3 (3) : 689-705.
- Vial J, Jardy A (1998). Utilisation des plans d'expériences pour évaluer la robustesse d'une méthode d'analyse quantitative par chromatographie en phase liquide. EDP sciences, Wiley-VCH, 26: 15-24.
- Vlachogiannis JG, Roy RK (2005). Robust PID controllers by Taguchi's method. The TQM magazine, 17: 456-466.

W

- Wang K, Yan PS and Cao LX (2014). *Chitinase from a Novel Strain of Serratia marcescens* JPP1 for Biocontrol of Aflatoxin: Molecular Characterization and Production Optimization Using Response Surface Methodology. Biomed research international, (3) : 1-8.

Y

- Yasuyuki A, Subbaratnam M (2009). Insect chitinase and chitinase-like proteins. Cellular and Molecular Life Sciences, 67: 201–216.
- Yue H, Zhiyong L, Xiaoling M, Fengli Z (2008). Statistical optimization of medium components to improve the chitinase activity of *Streptomyces* sp Da11 associated with the South China Sea Sponge *Craniella australiensis*. Process biochemistry, 43 (10) : 1088-1093.

- Zhikui H, Yujie C, Xaingru L, Xiaoli Z, Zhiyou F, Dabing Z (2012). Optimization of nutrition factors on chitinase production from a newly isolated *Chitiulyticbacter meiyuanensis* SYBC-H1. Brazilian journal of microbiology, 43 (1) : 177-186.

MSA

Annexes



Tableaux : Statistiques des sources de carbone, d'azote, d'énergie, des détergents, des paramètres physico-chimiques, les ions métalliques et des sels minéraux utilisés dans PBD.

Source de carbone	Articles																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Chitine						×	×		×		×						×				×	×		×	×
Poudre de chitine																			×				×		
Chitine colloïdale	×	×	×	×			×	×		×		×			×								×		
Chitine gonflée à l'acide																								×	
Poudre de carapace de crabe													×												
Poudre de carapace de crevette																				×					
Coquille de crevette																									
Coquille d'écrivisse																									
La chitine d'éthylène glycol																								×	
pNP-NAG																								×	
CMC			×															×							

Source d'azote	Articles																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Extrait de levure	x	x	x		x		x	x	x	x	x	x	x		x			x			x	x		x	x
Extrait de bœuf				x																					
Peptone	x	x		x				x	x		x					x							x	x	
Urée			x						x							x						x		x	
Tryptone								x																	
Caséine					x	x		x																	
(NH ₄) ₂ SO ₄			x		x			x		x			x			x		x						x	x
KNO ₃																	x							x	

Source d'énergie	Articles																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
KH ₂ PO ₄	×	×		×				×	×		×	×	×						×		×		×	×	×
K ₂ HPO ₄	×							×	×	×									×			×	×		

Total des sources d'énergie : 2.

Les détergents	Articles																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Tween 20																									×
Tween 80																							×		
Triton X 100																		×							

Total des détergents : 3.

Les paramètres physico-chimiques	Articles																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
ph	✗		✗			✗		✗		✗	✗						✗		✗						
Température d'incubation										✗							✗		✗						
Temps d'incubation																	✗		✗						
Taille d'inoculum					✗	✗													✗						
L'agitation																			✗						

Total des paramètres physico-chimiques : 5.

Les ions métalliques et les sels minéraux	Articles																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
MgSO ₄	✗	✗	✗	✗	✗				✗			✗	✗			✗		✗	✗		✗	✗	✗	✗	✗
CaCl ₂			✗			✗							✗				✗	✗	✗	✗					✗
KBr																		✗		✗					✗
MnCl ₂						✗												✗							
ZnSO ₄		✗	✗															✗						✗	
Na ₂ SO ₄									✗							✗				✗					✗
FeCl ₃						✗																✗			
MgCl ₂					✗																✗				✗
CaCO ₃				✗																					
Na ₂ HPO ₄					✗							✗									✗				
FeSO ₄		✗										✗						✗						✗	
H ₃ BO ₄																									✗

Résumé

D'après notre étude analytique sur l'utilisation de Plackett-Burman comme plan statistique dans l'optimisation de la production de la chitinase bactérienne on a remarqué que diverses bactéries avaient un potentiel élevé de production de la chitinase.

Plusieurs variables ont été utilisés dans ce plan statistique, majoritairement des sources nutritives et des paramètres physico-chimiques. Un même variable peut avoir un effet positif, négatif ou être sans effet sur la production de la chitinase selon la bactérie utilisée.

La production de chitinase n'était pas toujours liée à la présence de la chitine et ses formes dans le milieu de fermentation mais ces substrats ont été les meilleures sources de carbone utilisées par les bactéries chitinolytiques.

Le pH et la température ont été les paramètres physico-chimiques qui influençaient le plus la production de la chitinase bactérienne.

Finalement, le plan statistique de Plackett-Burman a pu augmenter la production de la chitinase, en fait, les valeurs de l'activité chitinolytique obtenues ont été largement supérieures à celles obtenues avec des méthodes classiques.

Mots-clés : Plackett-Burman , chitinase bactérienne, optimisation, plan statistique.

Abstract

From our analytical study on the use of Plackett-Burman as a statistical plan in the optimization of the production of bacterial chitinase, it was noticed that various bacteria had a high potential for the production of chitinase.

Several variables were used in this statistical plan, mainly nutrient sources and physico-chemical parameters. The same variable can have a positive, negative or no effect on the production of chitinase depending on the bacterium used.

Chitinase production was not always linked to the presence of chitin and its forms in the fermentation medium, but these substrates were the best carbon sources used by chitinolytic bacteria.

pH and temperature were the physicochemical parameters that most influenced the production of bacterial chitinase.

Finally, the Plackett-Burman statistical plan was able to increase the production of chitinase, in fact, the values of chitinolytic activity obtained were far superior to those obtained with classical methods.

Keywords: Plackett-Burman, bacterial chitinase, optimization, statistical design.

ملخص

من دراستنا التحليلية حول استخدام Plackett-Burman كخطة إحصائية في تحسين إنتاج chitinase البكتيري ، لوحظ أن هناك العديد من البكتيريا التي لديها إمكانات عالية لإنتاج chitinase .

تم استخدام العديد من المتغيرات في هذه الخطة الإحصائية و بشكل رئيسي مصادر المغذيات و العوامل الفيزيائية والكيميائية. يمكن أن يكون للمتغير نفسه تأثير إيجابي أو سلبي أو لا يؤثر على إنتاج chitinase اعتماداً على البكتيريا المستخدمة.

لم يكن إنتاج chitinase مرتبطاً دائماً بوجود chitine و مشتقاته في وسط التخمر ، ولكن هذه الركائز كانت من أفضل مصادر الكربون التي تستخدمها البكتيريا المحللة لل chitinase.

كان pH ودرجة الحرارة من أهم العوامل الفيزيائية والكيميائية التي أثرت في إنتاج إنزيم chitinase البكتيري.

أخيراً، تمكنت خطة Plackett-Burman الإحصائية من زيادة إنتاج chitinase ، وفي الواقع ، كانت قيم نشاط chitine التي تم الحصول عليها أعلى بكثير من تلك التي تم الحصول عليها بالطرق الكلاسيكية.

الكلمات المفتاحية: Plackett-Burman، إنزيم الكيتيناز البكتيري ، التحسين ، خطة إحصائية.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BOUTAKA Amira
AYOUNE Nesrine
ATMANE Nourhane

L'utilisation de la "Plackett Burman" comme plan statistique dans l'optimisation de la production de la chitinase bactérienne.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des Microorganismes.

Résumé

D'après notre étude analytique sur l'utilisation de Plackett-Burman comme plan statistique dans l'optimisation de la production de la chitinase bactérienne on a remarqué que diverses bactéries avaient un potentiel élevé de production de la chitinase.

Plusieurs variables ont été utilisés dans ce plan statistique, majoritairement des sources nutritives et des paramètres physico-chimiques. Un même variable peut avoir un effet positif, négatif ou être sans effet sur la production de la chitinase selon la bactérie utilisée.

La production de chitinase n'était pas toujours liée à la présence de la chitine et ses formes dans le milieu de fermentation mais ces substrats ont été les meilleures sources de carbone utilisées par les bactéries chitinolytiques.

Le pH et la température ont été les paramètres physico-chimiques qui influençaient le plus la production de la chitinase bactérienne.

Finalement, le plan statistique de Plackett-Burman a pu augmenter la production de la chitinase, en fait, les valeurs de l'activité chitinolytique obtenues ont été largement supérieures à celles obtenues avec des méthodes classiques.

Mots-clés : Plackett-Burman , chitinase bactérienne, optimisation, plan statistique.

Encadreuse : MERIANE Ilhem (Maître Assistante A (MAA) - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : KITOUNI Mahmoud (Professeur (Pr) - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinatrice 2 : ABDELAZIZ Ouided (Maître de Conférence B (MCB) - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

MAA