

# 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

كلية علوم الطبيعة والحياة  
Département de Microbiologie : قسم الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie fongique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

## Production des enzymes à partir de *Penicillium chrysogenum*

---

Présenté par : BOUKAABENE Rihem  
MEZIADI Nihed  
YAHIOUCHE Narimene

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme. ABDELAZIZOueded (Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constantine 1)

Examineur 1: Mme. MEZIANI Meriem (Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constantine 1)

Examineur 2 : Mme. ALMI Hiba (Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constantine 1)

Année universitaire  
2021 - 2022



## Remerciement

*On remercier on premier lieu notre Dieu qui nous a donné la force, la santé et la patience pour terminer ce travail*

*On adresse notre reconnaissance a Mme ABDELAZIZ Ouided Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constantine 1, qui a rédigé ce travail, de nous avoir si bien encadré, orienté et fait bénéficier de ses précieux conseil, sa riche expérience et de ses compétence*

*ON tient a remercier aussi les membres du jury de nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail.*

*A :*

*Mme la présidente Meziani Meriem Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constantine 1*

*Mlle l'examinatrice ALMI Hiba Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constantine 1*

*Nous adressons nos sincère remerciement a l'ensemble du corps enseignant, depuis l'école primaire aux études supérieures pour toutes les connaissances qu'il nous ont transmises .*

**Merci pour tout**



## **Dédicace**

*Je dédie ce travail*

*A ma mère pour son amour ses encouragements et ses sacrifices*

*A mon père pour son soutien son affection et la confiance qu'il m'a accordée*

*A mes très chères sœurs Manel Yasmine Suzi*

*A mes tantes Alima, Fouzia*

*A mon beau frère Hamza*

*A l'âme de Ma grande mère*

*A mes proches et tout ceux qui de près ou de loin, m'ont apporté leur sollicitudes pour accomplir ce travail.*

*Merci pour mes chères copines Narimen, Nihed Malak*

*Enfin, je ne peux oublier ma boule de poil et de tendresse, LUCCI .....*

*Sigmund Freud aurait dit « Time spent with cats is never wasted » c'est tellement Vrai !*

**RIHEM**



## Dédicace

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volanté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Ma mère samia , la femme exceptionnelle, forte, courageuse qui m'a protégée de toute ses forces et qui M'as aimé de tout son cœur.*

*A ma mère toi qui ma donnée la vie, je veux à mon tour de te dire mile*

*Merci, enfin je suis devenue la femme dont tu rêvais.*

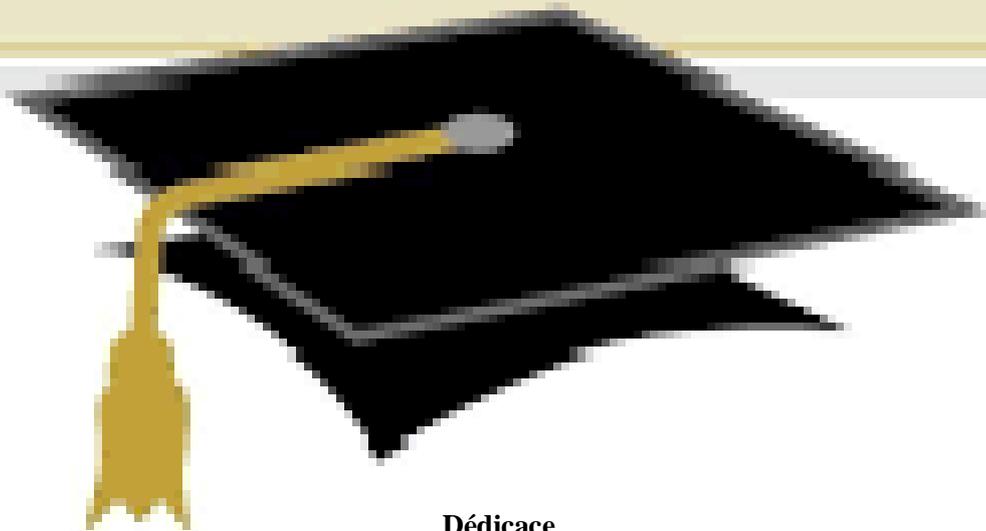
*A mon père Mohammed, tu es parti très tôt j'aimerais que tu sois à mes côté aujourd'hui.*

***Que dieu bénisse vos âmes***

*A ma sœur Imene, mon frère aissa, mes tantes souad et Souheila et mon oncle Karim qui sont toujours à mes côtes. Aux meilleurs amis Rihem et Narimene , Maroua qui sont l'étoiles de ma vie*

*A toute personne qui partage l'amour avec moi.*

***Nihed***



### **Dédicace**

*Grace à Allah et avec sa faveur, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie  
A celle qui m'a ouvert les portails et m'a donné la tendresse et le courage :*

*A mon très Cher père 'ABED ELHADI' et A ma vie et la source de Mon  
bonheur ' ma mère NADJWA' qui ma guidé vers le bon chemin, et qui a Fait le  
possible pour me voir réalisé mes rêves*

*Aux personnes qui m'ont énormément aidée et encouragée :*

*Ma chère tante 'YAMINA' et Son marie 'HASAN'*

*Ma petite fille et ma meilleure sœur 'AHLAME'*

*Mes très Chers frères 'ADAM, YASSER'*

*A mes meilleures amie 'MALAK' et 'NESRINE'*

*A Ma grand-mère 'Zahor' qui m'a soutenu par ses  
prières au long de mon parcours*

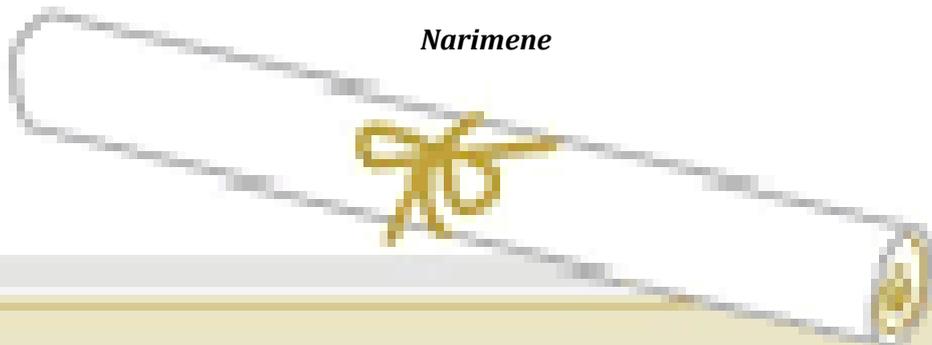
*'Repose en paix'*

*A NIHED et RIHEM, mes meilleures partenaires  
dans la réalisation de ce travail*

*Je sais très bien à quel point vous avez dû patienter pour me faire  
arriver à ce jour. Je n'oublierai jamais vos sacrifices et vos prières.  
Vos bénédictions, votre soutien moral, votre gentillesse sans égal,  
votre profond attachement m'ont été d'un grand secours pour mener à  
bien mes études.*

*Que Dieu vous garde ...*

**Narimene**



## Table Des Matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste d'abréviation	
Introduction générale .....	1

### Chapitre I : Synthèse Bibliographique

<b>1. <i>Penicillium chrysogenum</i> .....</b>	<b>4</b>
1.1. Généralité... ..	4
1.2. Reproduction .....	5
1.3. Habitat.....	6
1.4. Classification... ..	7
1.5. Importance de <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	7
<b>2. Enzymes .....</b>	<b>8</b>
2.1. Enzymes fongique .....	8
2.2.1. Xylanases.....	9
• Importance .....	9
2.2.2. Pectinases .....	10
• Importance .....	11
2.2.3. Alpha amylase.....	12
• Importance.....	12
2.2.4. Glucose oxydase .....	13
• Importance .....	14

### Chapitre II : Analyse des Articles

<b>1. Etude de la production des enzymes par <i>Penicillium chrysogenum</i>.....</b>	<b>18</b>
1.1. Production et Optimisation de xylanase par <i>Penicillium chrysogenum</i> par fermentation à l'état liquide et à l'état solide .....	18
1.1.1. Prélèvement d'échantillons... ..	18
1.1.2. Isolement et identification des champignons .....	18
1.1.3. criblage primaire des champignons pour la production dxylanase.....	19
1.1.4. criblage secondaire .....	19

1.1.5. Préparation du substrat...	19
1.1.6. Fermentation à l'état liquide...	19
1.1.7. Fermentation à l'état solide.....	20
1.1.8. Optimisation des paramètres de croissance pour la production de xylanase.....	20
1.1.9. Activité enzymatique Xylanase .....	20

## Résultats et discussion

A. Optimisation de la période d'incubation.....	22
B. Optimisation de la température .....	22
C. Optimisation du pH.....	23
D. Optimisation du substrat .....	24
E. Optimisation de la concentration des sources d'azote .....	25
F. Optimisation de l'extrait de levure .....	26

## 2. Conditions culturales pour la production maximale d'alpha amylase par *Penicillium notatum* IBGE 03 en utilisant la technique de la fiole agitée de fermentation immergée

2.1. Souches.....	29
2.2. Nombre de conidies.....	29
2.3. Hydrolyse des déchets agricoles .....	29
2.4. Optimisation des paramètres de production enzymatique.....	29
a. Médias culturels .....	29
b. Période d'incubation.....	30
c. Sources de carbone .....	30
d. Sources d'azote.....	30
e. PH initial du milieu .....	30
f. Taille de l'inoculum.....	30
g. Taux d'agitation .....	31

## Résultat et discussion

1. Effet des médias culturels .....	32
2. Effet de la période d'incubation.....	32

3. Effet des sources de carbone.....	33
4. Effets des sources d'azote.....	34
5. Effet de la température.....	35
6. Effet du pH initial.....	36
7. Effet de la taille de l'inoculum.....	37
8. Effet du taux d'agitation.....	37
<b>Conclusion des discussions</b> .....	39
<b>Conclusion générale</b> .....	41
<b>Référence bibliographique</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des figures

<b>Fig.1 :</b> <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	5
(a : Morphologie macroscopique b : microscopique)	
<b>Fig.2 :</b> Cycle de vie de <i>Penicillium</i> .....	6
<b>Fig.3 :</b> Localisation du Refuge faunique Orcha.....	18
<b>Fig. 4 :</b> <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	21
(a : Culture b : Observation microscopique)	
<b>Fig. 5 :</b> Zone d'hydrolyse.....	21
(a : Avant le test rouge du Congo b : Après le test rouge du Congo)	
<b>Fig.6 :</b> Effet du période d'incubation sur la production de xylanase.....	22
<b>Fig.7 :</b> Effet de la température sur la production de xylanase.....	23
<b>Fig. 8 :</b> Effet de pH sur la production de xylanase.....	24
<b>Fig. 9 :</b> Effet de la concentration du substrat sur la production de xylanase sous LSF.....	25
<b>Fig. 10 :</b> Effet de la concentration du substrat sur la production de xylanase sous SSF.....	25
<b>Fig. 11 :</b> Effet de la concentration des sources d'azote sur la production se xylanase.....	26
<b>Fig. 12 :</b> Effet de la concentration de l'extrait de levure sur la production de xylanase.....	27
<b>Fig. 13 :</b> Effet de période d'incubation sur de xylanase.....	28
<b>Fig. 14 :</b> Effet de la température sur l'activité de xylanase.....	28
<b>Fig. 15 :</b> Effet de la concentration du substrat sur l'activité de xylanase.....	28
<b>Fig. 16 :</b> Effet de pH sur l'activité de xylanase.....	28
<b>Fig.17 :</b> Effets de divers milieux de culture. Sur la production d' $\alpha$ amylase par <i>penicillium Notatum</i> après 24 h à une température de 30°C, PH initial de 6 taille de l'inoculum $4 \cdot 10^6$ conidies/ml et taux d'agitation de 50 tr/min.....	32
<b>Fig 18 :</b> Effets des périodes d'incubation sur la production d' $\alpha$ amylase par <i>P. notatum</i> dans M1 à 30 C pH initial de 6 taille de l'inoculum $4 \cdot 10^6$ conidies et taux d'agitation de 50rev/min.....	33
<b>Fig. 19 :</b> Effets de divers sources de carbone Sur la production d' $\alpha$ amylase par <i>Penicillium notatum</i> après 48h dans M1 de 30 C pH initial de 6 taille de l'inoculum $4 \cdot 10^6$ Conidies et vitesse d'agitation de 50 tr /min .....	34
<b>Fig. 20 :</b> Effets de diverse source d'azote sur la production d' $\alpha$ amylase par° <i>Penicillium notatum</i> après 48h dans M1 contenant de la mélasse comme source de carbone à 30 C ,pH initial 6 taille d'inoculum $4 \cdot 10^6$ conidies et vitesse d'agitation 50tr/min.....	35

**Fig. 21 :** Effets des températures d'incubation sur l' $\alpha$ -amylase production par *P. notatum* après 48h dans M1 contenant mélasse comme source de carbone, liqueur de maïs comme source d'azote, au pH initial de 6,0, taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies et vitesse d'agitation 50 tr/min.....36

**Fig. 22 :** Effets du pH initial du milieu de fermentation sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* après 48h en M1 contenant mélasse comme source de carbone, de la liqueur de maïs comme source d'azote à 30°C taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies et vitesse d'agitation 50 tr/min.....36

**Fig. 23 :** Effets de la taille des inoculum sur l' $\alpha$ -amylase production par *P. notatum* après 48 h en M1 contenant de la mélasse comme source de carbone, raide de maïs liqueur comme source d'azote à 30°C, pH initial 5,5 et vitesse d'agitation 50 tr/min.....38

**Fig. 24 :** Effets des vitesses d'agitation la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* après 48h dans M1 contenant de la mélasse comme source de carbone ,raide de maïs liqueur comme source d'azote à 30°C pH initial 5,5 et vitesse d'agitation, 50 tr/min.....39

## Liste des tableaux

**Tableau 1 :** Classification de *Penicillium chrysogenum* (Thom 1910).....7

## Liste des abréviations

**MAT** : Test de micro agglutination de souche vivante.

**PMG** : Polyméthylgalacturonase.

**PL** : Pectine lyase

**PG** : Polygalacturonase.

**RG** : Rhamnogalacturonase.

**RGL** : Rhamnogalacturonan endolyase.

**PGL** : Pectate lyase.

**PDA** : Pomme de terre, dextrose, agar.

**CYA**: Czapek Yeats agar.

**MEA** : Extrait de malt solidifié.

**SSF** : Fermentation à l'état solide

**LSF** : Fermentation à l'état liquide.

**DNS** : Dinitrosalicyclique.

**WB** : Son de blé.

**CC** : Epis de maïs.

**UI** : Unité de mesure de substance.

**NM** : Nanomètres.

**TR** : Tours.



---

# Introduction

---

Jusqu'au début des années 1970, ils ont considéré que les plantes et les animaux étaient les meilleures sources d'enzymes. Cependant, différents microorganismes tel que les bactéries et les moisissures ont été intensivement utilisés pour la biosynthèse des enzymes hydrolytiques (Fogarty et Kelly, 1980 ; Nigam et Singh, 1995).

Les enzymes d'origines microbiennes présentent des spécificités et des propriétés diverses, ces propriétés de plus en plus utilisées dans divers domaines d'application tel que l'industrie alimentaire humaine et animale, l'industrie pharmaceutique. Certaines souches de moisissures sont très connues par leur importance dans différents domaines et environ 40% des enzymes industrielles sont d'origine fongique (Botton *et al.*, 1990). Le terme de moisissure regroupe dans les champignons filamenteux microscopiques, dont quelques espèces ont un grand intérêt économique et environnemental.

Depuis 1928, le scientifique Alexandre Fleming a découvert l'antibiotique « pénicilline » par *Penicillium chrysogenum* qui est appelé aussi '*P. notatum*'. Cette moisissure responsable de la production des enzymes fongiques telle que : alpha -amylase, pectinase...ect qui appartenant aux enzymes de la famille des hydrolases sont parmi les plus importantes enzymes à l'échelle industrielle, ce qui les rendent l'un des outils-clés des biotechnologies. Toutefois, la production des enzymes par des procédés biotechnologiques (fermentations), nécessite non seulement l'identification et la sélection des microorganismes mais également le choix d'un substrat de fermentation et les paramètres favorables d'une part, et convenables en ce qui concerne la composition en éléments nutritifs nécessaires au développement des microorganismes et la production des enzymes, d'autre part.

Donc notre travail est porté sur la production des enzymes par *Penicillium chrysogenum*, et comporte les parties suivantes :

1. La première partie présente une recherche bibliographique sur *Penicillium chrysogenum* dont plusieurs caractéristiques : Macroscopiques, microscopiques, Reproduction, classification, habitat, et aussi leur importance. Et nous avons rapproché de la connaissance sur les enzymes plus précisément les enzymes fongiques produites par la souche de *P. chrysogenum* tels que xylanase, pectinase, alpha- amylase, glucose oxydase et leur intérêt industriel.
2. La seconde partie expérimentale est constituée de l'analyse de l'article : Conditions culturales pour la production maximale d'alpha amylase et xylanase par *Penicillium notatum* IBGE 03

---

# Chapitre I: Synthèse Bibliographique

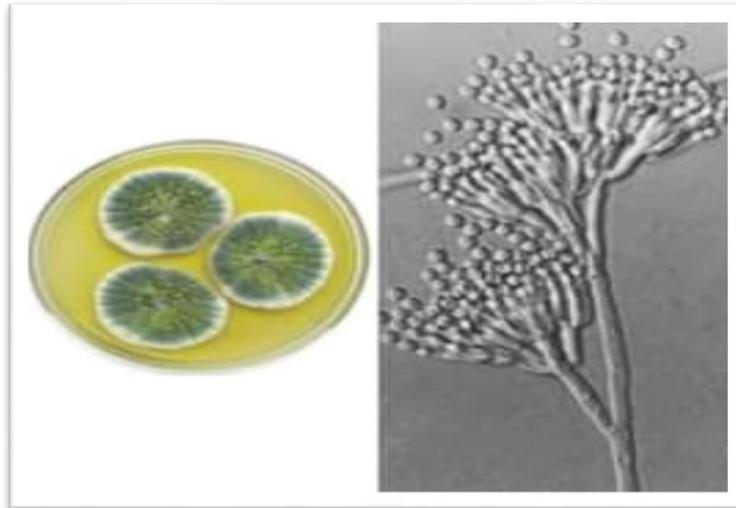
---

## ***1. Penicillium chrysogenum***

### **1.1. Généralité**

*Penicillium* est un champignon (moisissures) filamenteux appartenant au phylum des Ascomycètes. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (Pitt, 1988). Elles présentent une grande importance dans les différents milieux industriels tels que le domaine agroalimentaire et pharmaceutique (production de plusieurs antibiotiques).

*Penicillium chrysogenum* également connu sous le nom *P. notatum*, est le membre le plus étudié d'une famille de plus de 350 espèces de *Penicillium* qui constituent le genre (Guzman-Chavez *et al.*, 2018). Il est courant dans les régions tempérées et subtropicales et peut être trouvé naturellement dans le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, les céréales (Samson *et al.*, 2010). En 1928, des cultures bactériennes du chercheur Alexandre Fleming ont été souillées par les spores aéroportées d'une moisissure verte. Sir Fleming a noté que les bactéries ne se développaient pas près de la moisissure verte *P. chrysogenum*. Il a conclu que cette moisissure produisait un composé qui tuait ou empêchait la croissance des bactéries (Vaux *et al.*, 2012). *P. chrysogenum* est caractérisé par des colonies qui développent rapidement et atteignent, à 25 °C sur gélose de Czapek, un diamètre de 4-5 cm en dedans de dix jours. Les colonies sont plates et de texture veloutée; elles sont blanches ou vert-jaune pâle, puis bleues et vertes, olive grisâtre (vert-de-gris). Avec le temps, une large frange soulevée blanche de mycélium peut apparaître au pourtour de la colonie,. L'odeur qui s'en dégage est habituellement aromatique, fruitée. Le revers de la colonie est le plus souvent de blanc à jaunâtre ou blanc-jaune, Le conidiophore ramifié possède une forme ressemblant à celle d'un pinceau (Fig. 1) (Marie-Alix, 2019).



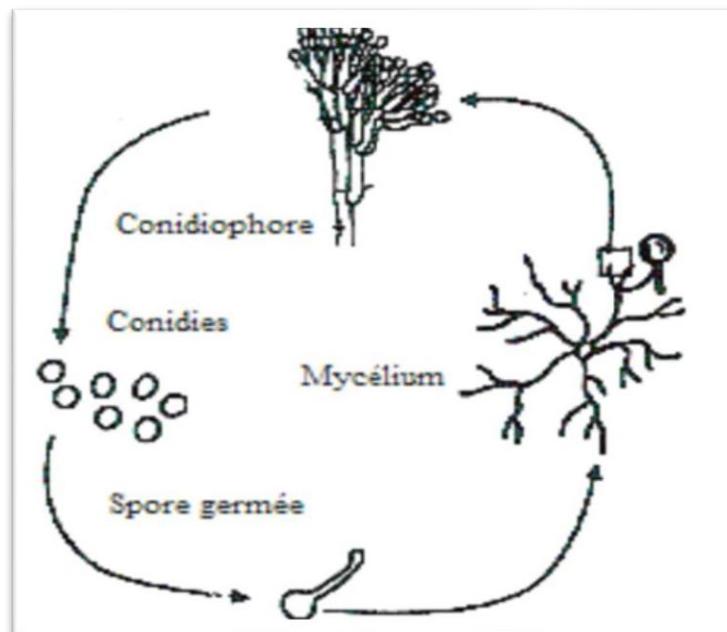
**Figure 1 :** *Penicillium chrysogenum* a : Morphologie macroscopique ([www.biorender.com](http://www.biorender.com)) ; b : microscopique (Marijke, 2006)

## 1.2. Reproduction

Bien que de nombreux eucaryotes soient capables de se reproduire sexuellement, on pensait que jusqu'à 20% des espèces fongiques se reproduisaient exclusivement par des moyens asexués (Ropars et al 2012). *Penicillium chrysogenum* est l'un des champignons filamenteux d'importance médicale et historique majeure, étant la source industrielle originale et actuelle de l'antibiotique pénicilline. Le mode de reproduction de cette espèce a été considérée comme asexuée depuis plus de 100 ans malgré des efforts concertés il n'a pas été possible d'induire une reproduction sexuée. En 2013, Böhm *et al* finalement démontré la reproduction sexuée chez *P. chrysogenum*. Ce stade sexuel de *P. chrysogenum* a été découvert par des cultures d'accouplement dans l'obscurité sur de la gélose à l'avoine additionnée de biotine, après que les types d'accouplement (MAT1-1 ou MAT1-2) des souches aient été déterminés par amplification PCR. En outre, le gène de type conjugal MAT1-1-1, connu principalement pour son rôle dans la gouvernance de l'identité sexuelle (Böhm *et al.*, 2013).

Avant 2013, *Penicillium chrysogenum* se reproduit de manière asexuée en produisant des spores asexuées appelées conidies. Les spores des conidies sont libérées par le vent, l'eau ou les animaux. Ils atterrissent ensuite sur une plate-forme avec les bonnes conditions de croissance et de nutriments, ils commencent à germer. Lors de la germination, ils forment des filaments mycéliens appelés hyphes.

À partir des hyphes, des tubes conidiophores sont ramifiés possèdent une forme ressemblant à celle d'un pinceau avec une vésicule bombée à l'extrémité supérieure (Fig.2) (Mokobi, 2021).



**Figure 2 :** Cycle de vie de *Penicillium chrysogenum* (Dantigny *et al.*, 2005)

### 1.3. Habitat

*Penicillium notatum* est une espèce très commune qui pousse bien dans les environnements intérieurs et les zones endommagées par l'eau ou humides des bâtiments sont considérées comme un excellent environnement pour la croissance de ce champignon. Il peut également se développer sur les fruits et légumes, les céréales, les produits de charcuterie, la margarine, le fromage et d'autres produits laitiers qui ont tendance à se décomposer après un certain temps (Pitt et Hocking, 2009). *P. chrysogenum* est une espèce saprophyte donc capable de décomposer la matière organique pour produire des composés simples, qu'il utilise dans alimentaire (site lifeder, 2021) Cet espèce est omniprésente c'est -à-dire « on le trouve n'importe où » (Christin, 2021).

#### 1.4. Classification

*P. chrysogenum* a été d'abord décrit dans la littérature scientifique pour la première fois par Thom 1910. La taxonomie de cette espèce a été largement étudiée par Râper et Thom et ils ont accepté quatre espèces dans le « *Penicillium chrysogenum* séries », l'une d'entre elles nommée *P. notatum*. Plus tard, plus d'espèces ont été incluses dans le *Penicillium* série Chrysogèna, bien qu'ils soient phénotypiquement différents, mais la production de pénicilline est commun microorganismes (Fierro *et al.*, 2022) .L'espèce *P. chrysogenum* est classée comme le tableau suivant :

**Tableau 1** : Classification de *Penicillium chrysogenum* (Thom 1910)

<b>Règne</b>	Fungi
<b>Division</b>	Ascomycota
<b>Sous-division</b>	Pezizomycotina
<b>Classe</b>	Eurotiomycetes
<b>Sous-classe</b>	Eurotiomycetidae
<b>Ordre</b>	Eurotiales
<b>Famille</b>	Trichocomaceae
<b>Genre</b>	<i>Penicillium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Penicillium chrysogenum</i>

#### 1.5. Importance de *P. chrysogenum*

Les scientifiques ont exploité la compétence de *Penicillium chrysogenum* dans la production d'antibiotiques. Le champignon produit un composé  $\beta$ -lactame hydrophobe connu sous le nom de pénicilline. La pénicilline, un antibiotique, a été utilisée dans le traitement des infections bactériennes à Gram positif telles que la pneumonie, la gonorrhée, les plaies, les infections staphylococciques, les fièvres bactériennes. Les variations structurelles de la pénicilline la classent en deux types, la pénicilline G et la pénicilline V. La pénicilline a également été utilisée dans le traitement des maladies des cultures des pommes, des arbres, des raisins et des tomates, induisant un mécanisme de protection contre les infections (Mokobi, 2021).

*P. chrysogenum* a été utilisé industriellement pour le traitement des infections et également la production des enzymes : polyamine oxydase, phospho-gluconate déshydrogénase, et le glucose oxydase (Raper *et al.*, ; Hoog *et al.*, 2000).

## 2. Enzymes

Tous les organismes vivants, des bactéries jusqu'à l'être humain, dépendent pour leur existence des molécules biologiques catalysent les réactions chimiques connu sous le nom enzymes, elles sont définies comme des protéines ou des polymères d'acide aminés forment dans langue chaine douées d'une activité biologique particulière. Certains enzymes sont utilisés pour les réactions de fabrication de certains composés chimiques. Tandis que d'autres enzymes jouent un rôle dans la dégradation et la modification de tels composés (Charnock et McCleary, 2005).

Ces biomolécules sont synthétisées par l'être vivant soit dans notre corps par différents organismes selon nôtre besoin soit par les bactéries qui produisent des enzymes bactériennes et aussi par les moisissures qui sont des champignons filamenteux microscopiques ayant une application étendue en biotechnologie par leur capacité à conquérir des substrats naturels grâce à un arsenal enzymatique très développée. Parmi les enzymes fongique connue il ya plusieurs enzymes utiliser dans le domaine industriel alimentaire sur tous les branches sucrière et laitière et le domaine médicale et pharmaceutique.

Les enzymes principalement utilisées sont les enzymes extracellulaires qui dégradent des polymères naturels comme les amidons, les protéines, les celluloses et aussi les pectines (Werner *et al.*, 2010).

### 2.1. Enzymes fongiques

Les enzymes fongiques sont les outils clés de la biotechnologie et reflètent de plus en plus l'importance et le rôle infini des moisissures dans les différentes applications alimentaires et pharmaceutiques (Kosikowski, 1988 ; Scriban, 1999). Actuellement, elles sont de plus en plus utilisées en boulangerie, dans l'industrie alimentaire humaine et animale, dans les détergents pour lessives, dans l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique.

*P. chrysogenum* est l'un des moisissures responsable a la production de plusieurs et différents enzymes fongiques comme les xylanases, les pectinase....

### 2.2.1. Xylanases

Les xylanases (EC 3.2.1.8) sont des protéines ou des polymères d'acide aminés, Ils sont forment d'une chaîne principale d'unités xylose liées entre elles par des liens 6-1,4. Ces enzymes extracellulaires produites par divers micro-organismes tels que des bactéries, des actinomycètes, des levures, des champignons (*P. chrysogenum*) et de nombreux autres systèmes microbiens (Richhariya *et al*, 2021). Et comme tous les enzymes ont une activité biologique particulière. Les xylanases sont un groupe crucial d'enzymes dépolymérisant hydrolytiques qui dégradent le polysaccharide naturel le xylan qui est l'un des principaux constituants de la paroi cellulaire des plantes en xylose (Richhariya *et al*, 2021). Plus précisément, ces enzymes clés endohydrolyse des liaisons (1 4)- $\beta$ -D-xylosidiques dans la squelette xylan de la biomasse (Basit *et al*, 2020).

Alors que, La dépolymérisation enzymatique des molécules de xylan en unités de pentose monomérique comprend principalement deux enzymes : endo-1,4-xylanase (1,4- $\beta$ -D-xylan xylanohydrolase ; EC 3.2.1.8) et  $\beta$ -D-xylosidase (1,4- $\beta$ -D-xylan xylohydrolase ; EC 3.2.1.37). L'endo-1,4-xylanase est la principale enzyme hydrolysante qui hydrolyse la liaison  $\beta$ -1,4-xylosidique de l'épine dorsale du xylan et libère des xylo-oligosaccharides courts et longs, tandis que la  $\beta$ -D-xylosidase libère les résidus de D-xylose par hydrolyse du xylo-xylooligosaccharide et xylobiose (Richhariya *et al*, 2021).

- **Importance**

- ✓ Les xylanases sont classées dans les familles d'hydrolase glycoside qui représentent l'un des plus grands groupes d'enzymes commerciales.
- ✓ Les xylanases microbiennes sont importantes pour leurs applications biotechnologiques dans plusieurs industries comme l'industrie alimentaire, l'industrie textile, l'industrie des aliments pour animaux et l'industrie papetière. L'utilisation la plus importante des xylanases est dans l'industrie des pâtes et papiers pour réduire l'utilisation de chlore toxique pendant le processus de blanchiment de la pâte. Ils sont également utilisés dans la clarification des jus de fruits et des vins, dans l'extraction du café et de l'amidon, dans les huiles végétales et dans la production de produits de valeur tels que le xylitol et l'éthanol (Richhariya *et al*, 2021).
- ✓ Le xylitol est utilisé dans les boissons gazeuses, les bonbons, la crème glacée, le chewing-gum et divers produits pharmaceutiques. Le xylitol joue un rôle

Clé dans l'édulcoration des produits alimentaires et est utilisé comme édulcorant naturel dans les dentifrices. Les xylanases ont une grande importance dans le bio-blanchiment de la pâte de bois et dans le biotraitement des textiles (Basit *et al*, 2020).

- ✓ La xylanase et le xylane sont peu utilisés dans l'industrie pharmaceutique : Parfois ajoutées en association avec un complexe d'enzymes (hémicellulases, protéases...) comme complément alimentaire ou pour traiter une mauvaise digestion, mais peu de médicaments se retrouvent avec cette formulation.
- ✓ La xylanase, avec d'autres enzymes hydrolytiques peut être utilisée pour la génération de carburants biologiques, tels que l'éthanol, à partir de la biomasse lignocellulosique , Le procédé de production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique comprend la délignification de la biomasse végétale et l'hydrolyse de la cellulose et de l'hémicellulose en monosaccharides.
- ✓ Dans certains cas, il a été rapporté que l'endo-1,4- $\beta$ -xylanase est une enzyme bifonctionnelle ayant une activité endo-1,4- $\beta$ -xylanase ainsi qu'une activité cellulase.

La bi-fonctionnalité de l'endo-1,4- $\beta$ -xylanase pourrait entraîner un processus de saccharification plus efficace et moins cher des résidus agricoles et des déchets municipaux et industriels utilisés pour la production de bioéthanol, car elle peut dégrader à la fois les résidus de cellulose et de xylane ([www.aquaportail.com](http://www.aquaportail.com)).

### 2.2.2.Pectinases

Les pectinases (EC3.2.1.15) sont des enzymes capable de décomposer une famille de molécules complexe appelée pectines, présente sous forme de polysaccharide sturax dans plusieurs tissus végétaux. (Ramos, 2011)

Les Pectinées sont un groupe d'enzymes qui catalyse la dégradation des substances pectiques, soit par des réactions de dépolymérisation (hydrolases et lyases) soit de dés estérification (estérases). Les estérases agissent sur la pectine et sont en outre divisées en deux catégories : (i) la pectine méthyle estérase et (ii) la pectine acétyle estérase. Les dépolymérasés qui agissent sur la pectine sont en outre classés en : (i) polyméthylgalacturonase (PMG), qui hydrolysent la pectine et (ii) la pectine lyase (PL), qui transélimine la pectine par (Endo PL) uniquement. Les dépolymérasés qui agissent sur l'acide polygalacturonique sont également classés en : (i) Polygalacturonase (PG), qui hydrolyse l'acide polygalacturonique et (ii) la pectate lyase (PGL), qui provoque la transélimination de l'acide polygalacturonique ,Les

dépolymérase qui agissent sur le rhamnogalacturonan sont en outre classées en : (i) rhamnogalacturonase (RG), qui hydrolyse le rhamnogalacturonan, et (ii) rhamnogalacturonan endolyase (RGL), qui provoque la transélimination du rhamnogalacturonan et (iii) pectate lyase (PGL), qui provoquent la transélimination de l'acide polygalacturonique (Pandey *et al*, 2019). Parmi toutes les pectinases, les pectines lyases sont les seules enzymes capables de dépolymériser une pectine hautement estérifiée en petites molécules sans action préalable d'autres enzymes. Les pectines lyases appliquent un clivage trans-éliminatoire de l'ester-méthylé de (1 → 4) - $\alpha$ - D- galacturonane pour donner des oligosaccharides avec des groupes 4-désoxy-6- O -méthyl- $\alpha$ - D -galact-4-énuronosyle à leurs extrémités non réductrices (Linhardt *et al*, 1986). La déméthylation ralentit progressivement son action ; il peut néanmoins cliver de part et d'autre d'un résidu déméthylé si le résidu à l'autre extrémité de la liaison scissile est méthylé .

- **Importance**

- ✓ Les pectinases trouvent une large application dans différentes applications industrielles, par exemple, le textile, l'alimentation, le thé, le papier et la pâte, les extractions d'huile végétale, la saccharification des restes agricoles et les boissons fermentées.
- ✓ Les pectinases sont l'une des enzymes des industries fruitières et textiles. Ces enzymes décomposent les polysaccharides complexes des tissus végétaux en molécules plus simples comme les acides galacturoniques. Le rôle des pectinases acides dans la diminution de la turbidité et de l'amertume des jus de fruits est bien établi. Récemment, il y a eu un bon nombre de rapports sur l'application des pectinases alcalines dans l'industrie textile pour le rouissage et le dégommeage des plantes à fibres, la production de papier de bonne qualité, la fermentation du café et du thé, les extractions d'huile et le traitement des eaux usées pectiques. Cette revue traite de divers types de pectinases et de leurs applications dans le secteur commercial. Dans différents déchets agricoles (écorce d'orange, écorce de banane, écorce de pomme de terre, écorce de grenade, son de blé et son de riz) ont été sélectionnés comme source de carbone, l'extraction et la clarification des jus de fruits.
- ✓ Un mélange de pectinases et d'amylases est utilisé pour clarifier les jus de fruits Les pectinases en combinaison avec d'autres enzymes, à savoir les cellulases, les arabinases e les xylanases, ont été utilisées pour augmenter l'efficacité de pressage des fruits pour l'extraction du jus (Gailing et al, 2000).

L'infusion sous vide de pectinase a une application commerciale pour ramollir la peau des agrumes en vue (Kokrajhar, 2013 ; Nehad *et al*, 2021).

### 2.2.3. Alpha amylases

Les amylases appelée aussi glycogénase, sont l'un des enzymes industrielles les plus importantes qui ont une grande variété d'applications allant de la conversion de l'amidon.

Les  $\alpha$ -amylases (EC 3.2.1.1.) sont des enzymes de dégradation de l'amidon qui catalysent l'hydrolyse des  $\alpha$ -Liaisons 1,4-O-glycosidiques dans les polysaccharides avec rétention de la configuration  $\alpha$ -anomérique dans des produits de faible poids moléculaire, comme le glucose (Scheherazed, 2016).

Ils ont la propriété de casser les liaisons glycosidiques  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) au sein des chaînes amylose et amylopectine pour produire des molécules de maltose (disaccharides  $\alpha$ -glucose). Il ne peut attaquer que l'amidon cuit. Ils possèdent un site de liaison à l'émail et participe ainsi au développement des granules exocrines acquises. Il est étroitement lié à *S. viridans* entraînant son élimination ou son adhésion selon que l'amylase est en solution ou adsorbée à la surface de la dent. L'amylase liée aux bactéries conserve environ 50 % de son activité enzymatique. Ainsi, les bactéries liées à l'amylase peuvent fermenter l'acide glutamique qu'elles produisent en un acide organique. ([www.techno-science.net](http://www.techno-science.net) )

- **Importance**

- ✓ Avec le développement de la biotechnologie moderne, l'industrie alimentaire a changé. Il existe de nombreux rapports sur les enzymes qui ont été utilisés en toute sécurité dans l'industrie alimentaire. Amylases sont largement utilisés dans l'industrie des aliments transformés tels que la cuisson, la préparation des aides digestives, la production de gâteaux, jus de fruits et sirops d'amidon. Les enzymes peuvent être ajoutées à la pâte de pain pour dégrader l'amidon dans la farine en petites dextrines, qui sont ensuite fermentées par la levure. L'ajout de  $\alpha$ -amylase à la pâte entraîne l'amélioration du taux de fermentation et la réduction de la viscosité de la pâte, ce qui améliore le volume et la texture du produit. En outre, il génère

du sucre supplémentaire dans la pâte, ce qui améliore le goût, la couleur de la croûte et les qualités de grillage du pain.

- ✓ Les industries des détergents sont les principaux consommateurs d'enzymes, tant en volume qu'en valeur. L'utilisation d'enzymes dans les formulations de détergents améliore la capacité des détergents à éliminer les taches tenaces et de rendre le détergent respectueux de l'environnement. Amylases sont le deuxième type d'enzymes utilisé dans la formulation du détergent enzymatique et 90 % de tout le liquide les détergents contiennent ces enzymes.
- ✓ Dans l'industrie textile, la solidité du textile est améliorée par la déformation de la pâte d'amidon en textile tissage. Il empêche également la perte de ficelle par friction, coupe et génération de statique l'électricité sur la corde. Après le tissage du tissu, l'amidon est enlevé et le tissu va à l'affouillement et la teinture. L'amidon sur le tissu est habituellement enlevé par l'application de  $\alpha$ - amylase (Afzalijavan et Mobini-Dehkordi, 2013).

#### 2.2.4. Glucose oxydase

Le glucose oxydase appartient à l'oxydoreductase est également appelée « glucose » aérodeshydrogenase, glucose oxydase ( $\beta$  - D -glucose:oxygène 1-oxydoréductase; EC 1.1.2.3.4) est une enzyme bien caractérisée qui catalyse l'oxydation du  $\beta$  - D -glucose en D -glucono- $\delta$ -lactone en présence d'acides moléculaires ( Aboud *et al.*, 2018). LA D -glucono- $\delta$ -lactone est ensuite hydrolysée en acide gluconique par des moyens non enzymatiques.

Cette enzyme on a la capacité polyvalente d'inhiber la croissance des microbes grâce au peroxyde d'hydrogène produit naturellement, et l'activité d'oxydation enzymatique et aussi réduit le FAD en FADH<sub>2</sub>, libérant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence d'O<sub>2</sub> l'oxygène, qui sert d'accepteur d'électrons (M,anjoum *et al.*, 2013).Il s'agit d'origine fongique en particulier les ascomycètes comme *P. notanum* et *A. niger* est généralement sont glycoprotéine et constitue de deux polypeptides identiques sous- unités de la chaîne liées par liaison disulfure donc la glucose oxydase est enzyme extracellulaire (Aboud *et al.*, 2018 )

- **Importance**

- ✓ L'application du glucose oxydase dans l'industrie alimentaire et des boissons est intéressante. Les applications du glucose oxydase dans ces industries comprennent l'utilisation comme conservateur, et stabilisant. L'enzyme en conjonction avec la catalase est souvent appliquée pour éliminer le glucose et l'oxygène résiduels dans les aliments et les boissons afin de prolonger la durée de conservation .De plus, la glucose oxydase est utilisée pour renforcer le gluten contenu dans les produits amylicés à base de farine de blé, tels que les pains et autres produits de boulangerie, améliorant ainsi la qualité. (T, konich *et al*, 2013)
- ✓ *P. notatum* sont utilisés pour la fermentation à l'échelle industrielle. Cette fermentation est utilisée pour la production de glucose oxydase depuis plusieurs années, fournissant une grande quantité d'enzymes pour des applications biologiques et des essais clinique sont signalé la production et la purification de glucose oxydase à partir d'*A. niger* et de *P. notatum*. Des bactéries pathogènes et non pathogènes ont été rapportées comme cibles de l'activité antimicrobienne de la glucose oxydase (M,Anjoum *et al.*, 2013 ).
- ✓ Les effets antimicrobiens du glucose oxydase sont utilisés pour le stockage et l'emballage des aliments, améliorant ainsi la durée de conservation des aliments humains et animaux.
- ✓ Le glucose oxydase est largement utilisé dans l'estimation du glucose à partir de fluides cliniques et biologiques d'humains et d'animaux. L'enzyme est utilisée pour le dé sucragé de la poudre d'œufs séchée et dans les produits des systèmes de santé humaine et animale (M,anjoum *et al.*, 2013).

---

# Analyse des articles

---

## Analyse d'un article

### Article 01 : Etude de la production des enzymes par *Penicillium chrysogenum*



Volume 65, Issue 1, 2021  
**Journal of Scientific Research**  
Institute of Science,  
Banaras Hindu University, Varanasi, India.



## Production and Optimization of Xylanase by *Penicillium chrysogenum* through Liquid State and Solid State Fermentation

Jyoti Richhariya<sup>1</sup>, Tirthesh K. Sharma<sup>2\*</sup> and Sippy Dassani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Botany & Industrial Microbiology, Boin Bihari College, Jhansi, U.P., India, jyotirichhariya@gmail.com

<sup>2</sup>Department of Botany & Industrial Microbiology, Bipin Bihari College, Jhansi, U.P., India, tirtheshk@gmail.com

<sup>3</sup>Department of Botany & Industrial Microbiology, Bipin Bihari College, Jhansi, U.P., India, sippydasani@gmail.com

**Abstract:** Xylanases are the hydrolytic enzymes that degrade natural polysaccharide, xylan into xylose. In natural ecosystem number of microorganisms such as bacteria, fungi and actinomycetes has been found to secrete xylanases. The present study has been undertaken with an objective to screen out xylanase producing fungi from degrading litter collected from Orchha Wildlife Sanctuary, M.P., India. Fungus *Penicillium chrysogenum* was isolated, identified and tested for its xylanase producing ability. The fungus have been found to produce a clear zone of 39 mm over malt extract agar (MEA) medium supplemented with 1% oat spelt xylan. In the present study substrates for xylanase production used were wheat bran and corn cobs. Xylanase production capability was optimized at different growth parameters under liquid as well as solid state fermentation conditions. Using wheat bran as substrate highest xylanase production was achieved on 6<sup>th</sup> & 5<sup>th</sup> day of incubation, temperature 30°C, pH 6.0 & 4.5, 180 mg/ml & 160 mg/ml wheat bran, 0.4 mg/ml & 0.2 mg/ml peptone and 0.85 mg/ml & 0.65 mg/ml yeast extract under LSF and SSF respectively. While with corn cobs as carbon source maximum xylanase produced in terms of activity was 7<sup>th</sup> & 5<sup>th</sup> day of incubation, 30°C temperature, pH 5.0 & 4.5, 160 mg/ml & 120 mg/ml corn cobs, 0.8 mg/ml & 0.2 mg/ml peptone, 0.75 mg/ml & 0.8 mg/ml yeast extract amount under LSF & SSF respectively.

**Index terms:** Litter, Liquid state fermentation, Solid state fermentation, xylanases.

### I INTRODUCTION

Enzymes are biological molecules that catalyze the chemical reactions. In natural ecosystems a large number of complex polymers are converted into their simple units with the help of enzymes. Xylanases (3.2.1.8) are the one such enzyme that brings about complete hydrolysis of xylan into simple carbohydrates. Xylanase enzyme composed of endo and exo-xylanases, these two are the major consortium of enzymes, depolymerizing xylan from lignocellulosics in nature. Xylanases are extracellular enzymes produced by various microorganisms such as bacteria, actinomycetes, yeasts, fungi and many other microbial systems (Chen *et al.*, 2018). In natural ecosystems, bio-decomposition of litter has been a key point in organic carbon recycling. This process is carried out by micro organisms (decomposers). Micro organisms especially saprophytic fungus plays a key role in degradation process by secreting extracellular enzymes. Plant litter (leaves, bark, twigs, flowers) consists of mainly three polymeric components – Cellulose (35-50%), hemicelluloses (20-35%) and lignin (10-20%) that are strongly bonded by non covalent as well as covalent cross linkages (Pérez *et al.*, 2002).

DOI: 10.37398/JSR.2022.660111

## Article 02 : Conditions culturelles pour la production maximale d'alpha amylase par *penicillium notatum* IBGE 03 en utilisant la technique de la fiole agitée de fermentation immergée.

*Pure Appl. Biol.*, 4(3): 306-312, September- 2015  
<http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2015.43005>

### Research Article

## Cultural conditions for maximum alpha-amylase production by *Penicillium notatum* IBGE 03 using shaken flask technique of submerged fermentation

Kashif Ahmed<sup>1\*</sup>, Seharish Munawar<sup>2</sup> and Muhammad Ansar Khan<sup>3</sup>

1. Department of Chemistry, N.E.D. University of Engineering & Technology, Karachi, Pakistan

2. Directorate of Fisheries Sindh, Research and Development, Karachi, Pakistan

3. Department of Chemical Engineering, N.E.D. University of Engineering and Technology, Karachi, Pakistan.

\*Corresponding author's email: [kashif25473@yahoo.com](mailto:kashif25473@yahoo.com)

#### Citation

Kashif Ahmed, Seharish Munawar and Muhammad Ansar Khan. Cultural conditions for maximum Alpha-Amylase production by *Penicillium notatum* IBGE 03 using shaken flask technique of submerged fermentation. *Pure and Applied Biology*. Vol. 4, Issue 3, 2015, pp 306-312. <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2015.43005>

Received: 25/04/2015

Revised: 18/05/2015

Accepted: 10/06/2015

#### Abstract

Ever increasing biotechnological industries require an enlarged survey of microorganisms which might be useful for industries. In the present work optimization parameters for alpha amylase production by *Penicillium notatum* IBGE 03 in submerged fermentation were studied. Various agricultural based by-products (sunflower waste, cotton stalk, rice husk, date syrup and molasses) were used as sources of carbon. Optimal conditions for the production of  $\alpha$ -amylase (6.58 U/mL) by *P. notatum* IBGE 03 were observed when the strain was grown on culture medium M1 containing corn steep liquor as a source of nitrogen, molasses as a source of carbon after 48 h of incubation at 30° C, initial pH 5.5, inoculum size of  $5 \times 10^6$  conidia in 50 mL of culture medium and agitation rate of 150 rev/min. The strain was proved thermo (up to 60° C) and pH (up to 9.0) stable so it might be a potential strain for industrial utilization.

**Key words:** Alpha-amylase; *Penicillium notatum* IBGE 03; Optimization.

#### Introduction

Alpha-amylase (Enzyme Commission No. is 3.2.1.1) is an extracellular enzyme, which splits  $\alpha$ -1, 4- glycosidic bonds of starch and produces glucose, maltose and alpha limit dextrin[1].The substrate of amylase is starch, which is a polysaccharide and composed of two types of polymers amylose and amylopectin. Starch is composed of 20-25 % amylose, which is a linear chain of glucose units joined by  $\alpha$ -1, 4- glycosidic bonds and about 75-80 % amylopectin, which is branched macro molecule of

glucose in which 1, 6- glycosidic bonds are also present [1].

Amylases are one of the most widely used commercial enzymes whose range of application has broadened in numerous areas such as food, medicinal, clinical and analytical chemistry. They are used in starch hydrolysis they also catch uses in pharmaceutical, food, baking, brewing, paper, detergent and textile industries. These are essential enzymes used in starch treating activities for hydrolysis of

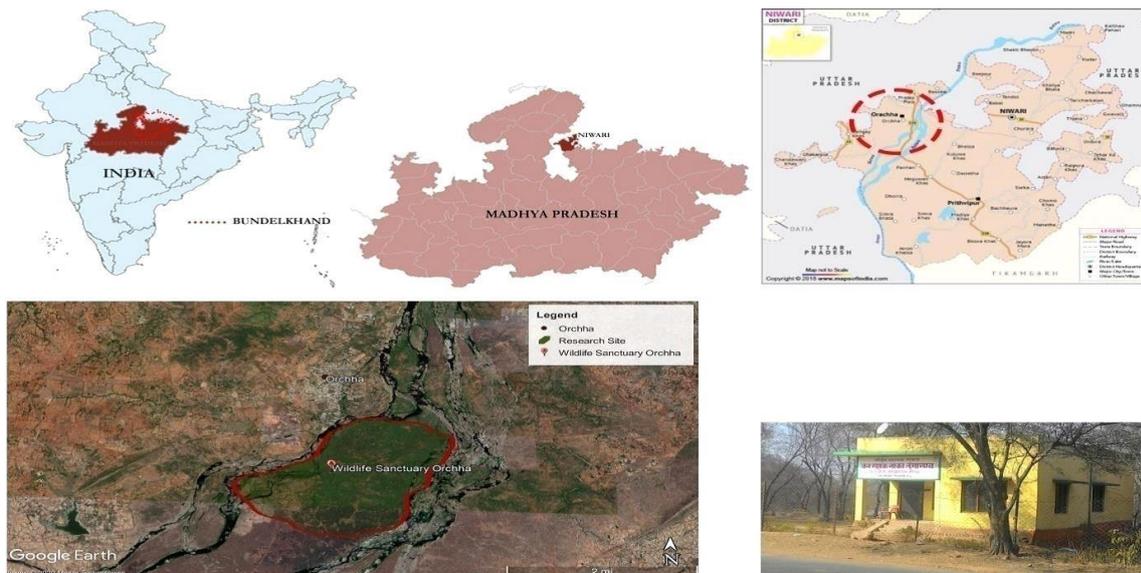
## 1. Etude de la production des enzymes par *Penicillium chrysogenum*

### 1.1. Production et Optimisation de xylanase par *Penicillium chrysogenum* par fermentation sur milieu liquide et milieu solide

Dans ce travail, nous avons suivi la méthode des chercheurs Jyoti Richhariya *et al* ( 2021). L'objectif principal de ce travail consiste à le prélèvement, l'isolement, et l'identification des moisissures (*P. Chrysogenum*) et testé pour sa capacité de production de xylanase.

#### 1.1.1. Echantillonnage

Les échantillons de litière dégradante ont été prélevés dans 2 ou 3 sites situés à 25° 21' 6.91" nord et 78° 38' 25.19" East du refuge faunique Orcha, Madhya Pradesh (Fig. 3). Des échantillons de litière ont été prélevés à l'aide d'une spatule pré-stérilisée, entreposés dans des sacs en polyéthylène et apportés au laboratoire pour une étude plus approfondie.



**Fig. 3 :** Localisation du Refuge faunique Orcha

#### 1.1.2. Isolement et identification des champignons

Pour l'isolement fongique, 1,0 g d'échantillon de litière prélevé a été suspendu dans 10 ml d'eau distillée stérile et agité sur un agitateur (REMI) avec une vitesse de 50 tr pendant 3 minutes pour obtenir une suspension homogène. La suspension a été diluée en série jusqu'à  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$ . 1 ml de chaque dilution a été strié sur des boîtes de pétrie contenant de l'agar dextrose de pomme de terre PDA (voir annexe). Toutes les plaques boîtes de gélose striées ont été incubées à 30 °C.

Des colonies fongiques sont apparues sur le milieu et ont été examinées morphologiquement et macroscopiquement.

En caractères morphologiques, le modèle de croissance, la couleur de la colonie, l'absence et la présence de mycélium aérien ont été considérés. Pour l'observation microscopique, Nous avons étudié le modèle de croissance des hyphes, la structure des conidiophores, la structure et la taille des spores. Les isolats purs ont été maintenus à 4 °C sur le milieu CYA (voir annexe) (Pitt, 1973).

### **1.1.3. Criblage primaire des champignons producteurs de xylanase**

La capacité de production de xylanase de la souche isolée a été étudiée par la technique de diffusion de puits (Nakamura *et al.*, 1993). Les puits d'agar ont été préparés sur un milieu gélosé à l'extrait de malt solidifié (MEA) (voir annexe), puis le champignon a été inoculé dans les puits et les boîtes de pétrie ont été incubés à 30 °C pendant 5 jours. L'apparition d'une zone claire indique que le champignon a la capacité de produire de la xylanase.

### **1.1.4. Criblage secondaire**

Les boîtes de pétries de l'expérience précédente (criblage primaire) ont été colorés avec 0,1% de solution de rouge Congo pendant 15 minutes. L'excès de solution rouge Congo a été éliminé et les boîtes ont été lavées avec une solution de NaCl de 1 M. La souche sélectionnée a été utilisé pour la production des Xylanase sur milieu liquide et milieu solide.

### **1.1.5. Préparation du substrat**

Le son de blé et les épis de maïs, a été utilisé comme source de carbone pour la production de xylanase. Les substrats ont été recueillis auprès des variétés locales, puis pulvérisés, lavés par l'eau courante, séchés et traités avec 4 % de Noah. Après le séchage, le son de blé traité et les épis de maïs ont été stockés dans des stocks hermétiques.

### **1.1.6. Fermentation à l'état liquide**

*Penicillium chrysogenum*, a été testée pour sa capacité à produire une xylanase extracellulaire par fermentation sur milieu liquide. Ils ont procédé la fermentation dans un erlenmeyer de 100 ml contenant 20,0 g/L de son de blé et on a utilisé comme substrat le milieu d'addition mandels (modifié) (voir annexe),

### **1.1.7. Fermentation à l'état solide**

Dans le SSF, ils ont pris 160 g/L de substrat (son de blé et épis de maïs). La composition moyenne était la même que celle de SSF. Le milieu a été autoclavé et inoculé avec 1,0 ml de suspension de spores et incubé à 30 °C. L'enzyme a été récoltée en ajoutant 50 ml de tampon de citrate de sodium (pH 5,3) dans chaque erlen et laissée pendant 1 heure. Le mélange a été agité pendant 15 min sur agitateur magnétique. La bouillie fermentée a été pressée dans un tissu de mousseline.

La biomasse de chaque erlen a été filtrée sur du papier filtre Whatman no 1 et le filtrat a été centrifugé avec une centrifugeuse de refroidissement (REMI) à 10 000 tr/min. Le surnageant clarifié a été utilisé comme source d'enzyme brute.

### **1.1.8. Optimisation des paramètres de croissance pour la production de xylanase**

Dans la présente étude, des facteurs tels que la période d'incubation, la température, le pH, la concentration des sources de carbone et d'azote affectant la production enzymatique ont été étudiés. La période d'incubation a été l'un des critères importants dans les études de fermentation. L'effet de la période d'incubation a été déterminé par la récolte des flacons à différents jours d'incubation tels que le 3ème jour, 4ème jour, 5ème jour, 6ème jour, 7ème jour, 8ème jour, 9ème jour, 10ème jour, 11ème jour et 12ème jour. L'effet de la température d'incubation sur la production de xylanase a été examiné sur différentes gammes de température allant de 20 °C à 40 °C. L'effet du pH a également été déterminé par la culture de la souche fongique dans le milieu de Mandel dans le pH varie de 3,0 à 8,0. Pour observer l'optimisation de la concentration du substrat, le son de blé et les épis de maïs ont été prélevés. De même, les effets des sources d'azote telles que la peptone et l'extrait de levure ont été étudiés en variant leurs quantités dans le milieu de culture. Après avoir obtenu l'enzyme xylanase optimisée sur les paramètres mentionnés ci-dessus, certains paramètres tels que la période d'incubation, la température, le pH et le substrat. L'épeautre d'avoine xylan a également été optimisé pour le dosage maximal de xylanase.

### **1.1.9. Activité enzymatique Xylanase**

L'activité enzymatique de la xylanase a été analysée en utilisant l'enzyme brute (1,0 ml) avec l'épeautre d'avoine xylan (1,0 % dans le tampon de citrate de sodium à pH 5,3). Le mélange réactionnel a été incubé à 55 °C pendant 10 minutes. La réaction a été arrêtée en ajoutant 3,0 ml d'acide 3,5-dinitrosalicyclique (DNS). Sucre réducteur libéré a été mesuré par

Spectrophotométrie à 540 nm. L'activité des xylanases a été exprimée en unités internationales (UI)

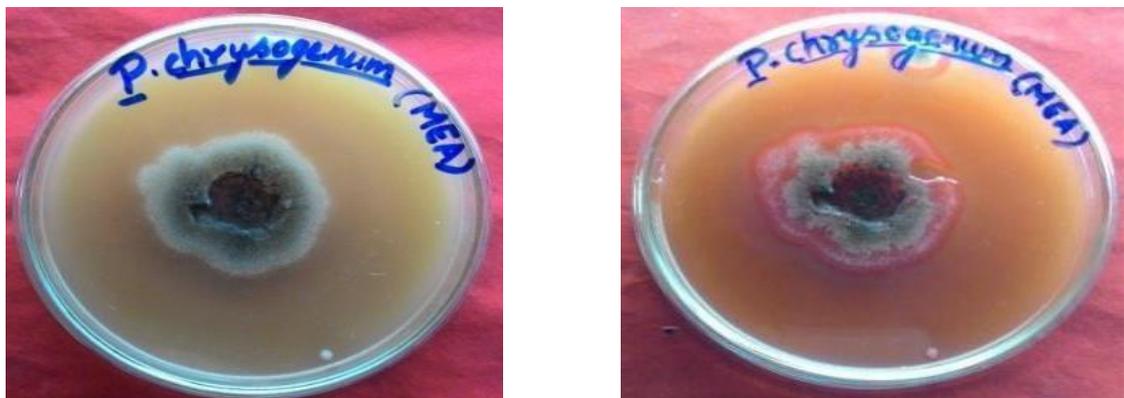
### Résultats et Discussion

Une souche fongique isolée provenant d'une litière dégradée a été identifiée comme étant du *Penicillium chrysogenum* selon la bibliographie. Le *P. chrysogenum* était caractérisé par une couleur jaune-vert ou presque bleu-vert glauque, un mycélium blanc à chamois, des phialides de 4 à 6 par verticale avec des conidies lisses ellipsoïdales (Fig.4).



**Fig. 4 :** *Penicillium chrysogenum* a : Culture b : Observation microscopique

Lorsque le champignon a été soumis pour tester sa capacité de production de xylanase, il a été cultivé sur le milieu MEA complété par 1% d'épeautre d'avoine xylan comme source de carbone unique. Après 72 heures d'incubation, une zone claire a été observée autour de la colonie sur des plaques d'agar xylane (Fig.5a). L'apparition d'une zone claire confirme que le champignon sécrète des enzymes hydrolysantes qui peuvent dégrader le xylan dans le milieu. La même chose a été confirmée avec le test rouge Congo (Fig.5, b).



**Fig. 5 :** Zone d'hydrolyse a : Avant le test rouge du Congo b : Après le test rouge du Congo

Après confirmation de l'activité xylanolytique de la souche fongique, la production de xylanase a été effectuée par des procédés de fermentation : fermentation à l'état liquide (LSF) et fermentation à l'état solide (SSF). Les déchets agricoles, le son de blé (WB) et les épis de maïs (CC), ont été utilisés comme substrat, comme source de carbone ou comme matière première pour la production d'enzymes. La production d'enzymes a également été optimisée avec plusieurs paramètres tels que le temps d'incubation, la température, le pH, le carbone et les sources d'azote.

### A. Optimisation de la période d'incubation

Pour observer l'effet de la période d'incubation sur la production enzymatique de *P. chrysogenum*, les erlens ont été incubés à 30 °C et récoltés à intervalles réguliers du 3ème au 12ème jour. Il a été constaté qu'en utilisant le son de blé comme substrat, le 6ème jour (0,19 UI/ml) et le 5ème jour (0,67 UI/ml) ont été optimisés pour le LSF et le SSF respectivement, alors que le 7ème (0,52 UI/ml) et le 5ème jour (0,84 UI/ml). L'activité enzymatique maximale a été observée dans le LSF et le SSF respectivement lorsque des épis de maïs ont été utilisés comme substrat. Les résultats obtenus ont montré qu'au début du processus de fermentation, *P. chrysogenum* produisait de l'enzyme en faible concentration, mais que la production enzymatique augmentait à mesure que le temps passait. Ceci était dû à la carence des nutriments dans le milieu et à l'accumulation de déchets toxiques.

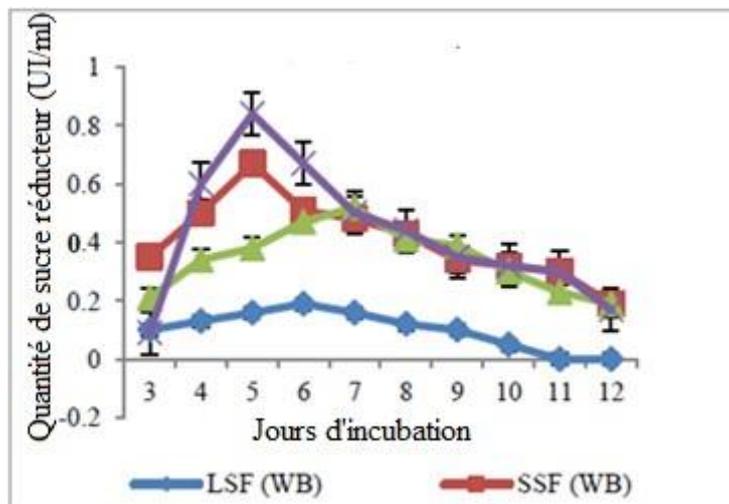


Fig. 6 : Effet de la période d'incubation sur la production de xylanase

### B. Optimisation de la température

La température est un facteur important pour la croissance des champignons ainsi que la production d'enzymes. Au cours de la présente enquête, il a été constaté que 30 °C est la

Température optimale pour le LSF et SSF. Dans le LSF, ils ont observé une production enzymatique maximale sur le son de blé – 0,67 UI/ml et les épis de maïs – 0,76 UI/ml et dans le SSF, une production enzymatique sur le son de blé – 0,8 UI/ml et sur les épis de maïs – 1,029 (Fig. 7). Ils ont constaté que la production enzymatique était inférieure et supérieure à la température optimale parce que la production enzymatique est directement proportionnelle à la croissance et à la température des champignons. Les champignons sont généralement mésophiles, ils nécessitent une température comprise entre 25 °C et 35 °C pour leur croissance maximale. Les éléments nutritifs de la matière première qui sont utilisés dans le milieu ont été détruits à une température plus élevée, ce qui influe sur la croissance fongique, ce qui réduit la production d'enzymes dans le processus de fermentation. Une production optimale de xylanase a été signalée plus tôt à 26,5 °C à partir de *Penicillium brasilianum*.

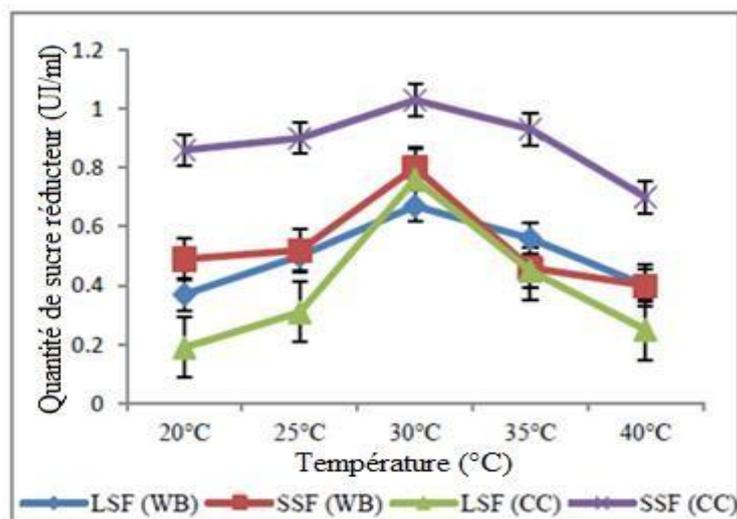


Fig. 7 : Effet de la température sur la production de xylanase

### C. Optimisation du pH

Le pH est l'un des paramètres culturels importants qui déterminent le taux de croissance des champignons et affectent remarquablement le niveau de production enzymatique. Auparavant, il avait constaté que différentes gammes de pH du milieu étaient utilisées pour étudier la production maximale d'enzymes dans le processus de fermentation.

Dans cette étude, les xylanases de *P. chrysogenum* ont montré une activité de 0,94 UI/ml avec un pH de 6,0 sous LSF tandis que l'activité de 1,2 UI/ml à un pH de 4,5 dans le SSF en utilisant le son de blé comme substrat. Lorsque les épis de maïs ont été utilisés comme matière première dans la production d'enzymes, le pH 5 (1,0 UI/ml) et le pH 4,5 (1,2 UI/ml) ont été enregistrés comme pH optimisé pour une production optimale de xylanase sous LSF et SSF respectivement (Fig. 8). D'après ces résultats, une production plus faible de xylanase a été observée lorsque le pH du milieu est passé de l'état acide à l'état alcalin à 7,0, 7,5 et 8,0. Cela indique que *P. chrysogenum* n'était pas en mesure de se développer à l'état alcalin, de sorte que la production d'enzymes a également diminué. De même, la production la plus élevée de xylanase avec des pH compris entre 4 et 7 a été observée chez *Aspergillus sp.* Un autre travail de recherche (Bakri et al., 2008 ; Nair et al., 2008) effectué avec *P. funiculosum* a révélé que le pH 6,0 était le pH optimisé pour la production de xylanase.

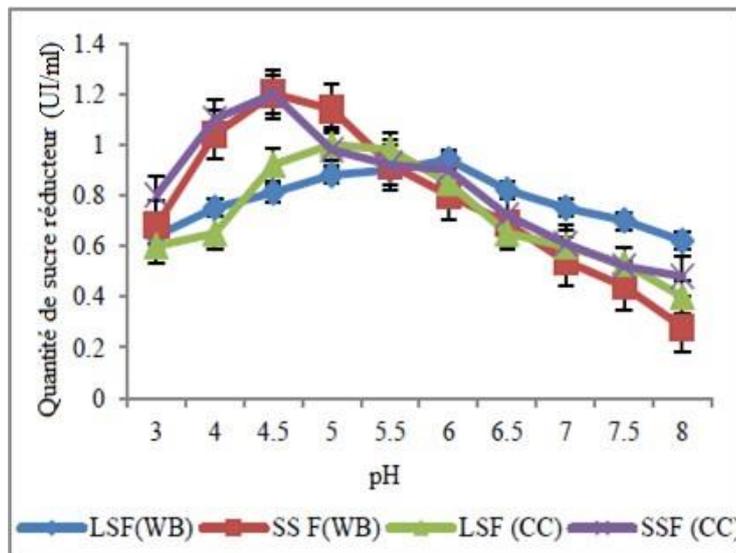


Fig. 8 : Effet de pH sur la production de xylanase

### D. Optimisation du substrat

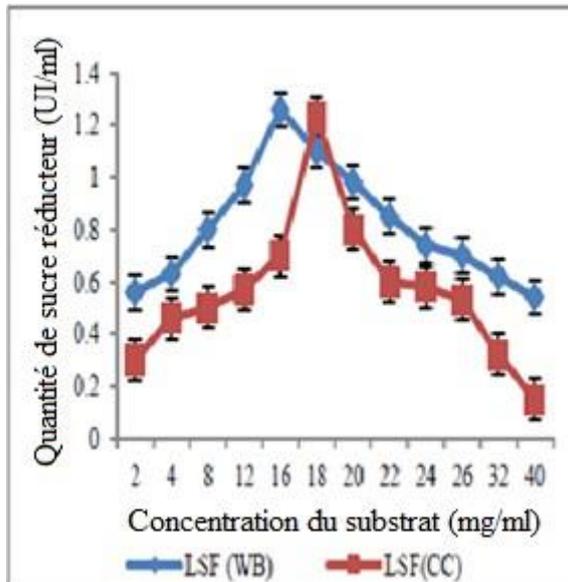
Les résultats présentés aux figures 8 et 9 montrent que la concentration du substrat (son de blé et épis de maïs) influe sur la production de xylanase dans des conditions de LSF et de SSF.

Ces substrats servent non seulement de sources de carbone pour la croissance des champignons, mais aussi de précurseur pour la production d'enzymes.

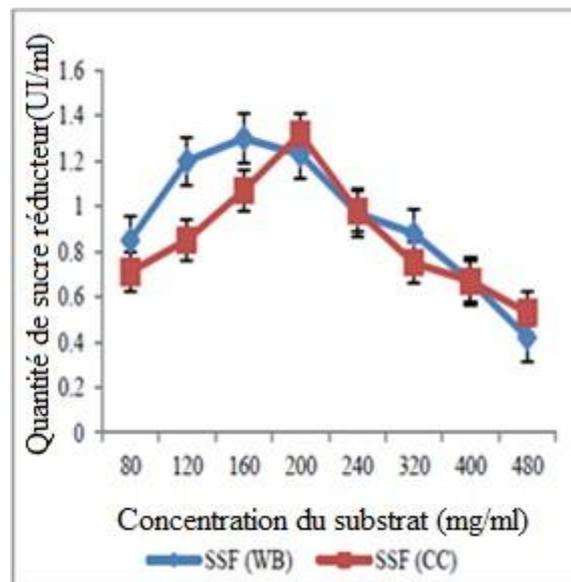
Les résultats ont montré que 16 mg/ml (1,26 UI/ml) et 18 mg/ml (1,23 UI/ml) de son de blé et d'épis de maïs soutenaient respectivement la production maximale de xylanase dans le LSF (Fig. 9)

Tandis que dans la production d'enzymes SSF, il a trouvé 160 mg/ml (1,32 UI/ml) de son de blé et 200 mg/ml (1,3 UI/ml) pour les épis de maïs. Parmi les deux sources de carbone, le blé s'est avéré être le substrat préféré pour la production de xylanase (Fig. 10).

Le résultat était semblable à celui signalé par de nombreux travailleurs (Burugu *et al.*, 2020). L'activité enzymatique la plus élevée a été obtenue dans le blé comparativement à d'autres types de blé, comme le son de riz, les épis de maïs, le son de soya, la poussière de scie, les feuilles de canne à sucre et le son de réagi, parce que le son de blé contient beaucoup de xylan comparativement aux autres.



**Fig. 9** : Effet de la concentration du Substrat sur la production de xylanase Sous LSF



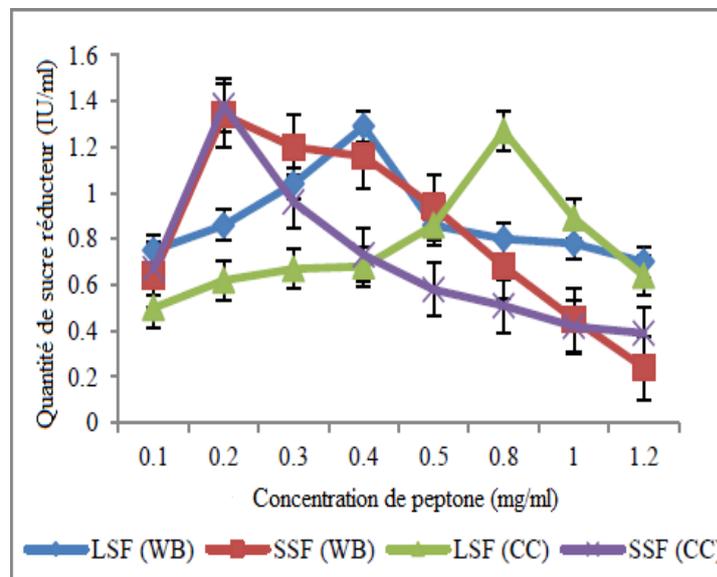
**Fig. 10** : Effet de la concentration du Substrat sur la production de xylanase Sous SSF

### E. Optimisation de la concentration des sources d'azote

La croissance microbienne optimale dépend beaucoup de la source d'azote fournie dans le milieu. Après optimisation des paramètres physiques et des sources de carbone pour la production maximale d'enzymes sources d'azote, peptone et extrait de levure ont également été optimisés pour différentes conditions de fermentation. Dans le cas du LSF, une

concentration de peptone de 0,4 mg/ml (1,29 UI/ml) et 0,8 mg/ml (1,27 UI/ml) était requise pour la production maximale de xylanase sur le son de blé et les épis de maïs, respectivement. D'autre part, il a observé que lorsque la peptone était présente dans le milieu avec une concentration de 0,2 mg/ml (1,34 UI/ml pour le son de blé et 1,38 UI/ml pour les épis de maïs), la xylanase maximale était obtenue sur les deux substrats (Fig. 11).

La synthèse enzymatique extracellulaire est affectée en présence de sources d'azote car elle est le précurseur ultime de la synthèse protéique.

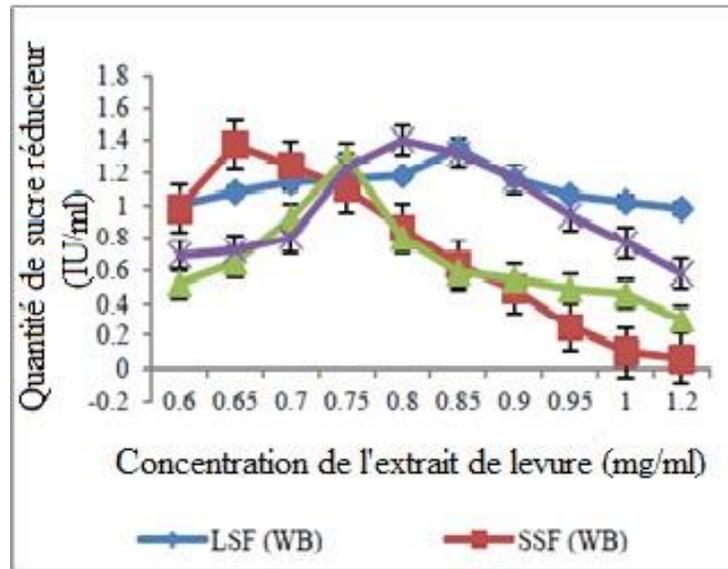


**Fig. 11 :** Effet de la concentration des sources d'azote sur la production de xylanase

### F. Optimisation de l'extrait de levure

L'extrait de levure a également été utilisé comme source d'azote dans la présente étude. Dans le LSF, 0,85 mg/ml (1,35 UI/ml) et 0,75 mg/ml (1,29 UI/ml) d'extrait de levure ont été optimisés pour le son de blé et les épis de maïs, respectivement, tandis que pour le SSF, 0,65 mg/ml (1,37 UI/ml) pour le son de blé et 0,8 mg/ml (1,4 UI/ml) ont été optimisés pour les épis de maïs (Fig. 12). Comme pour les résultats ci-dessus, les sources d'azote organique comme la peptone et l'extrait de levure ont généralement amélioré la production d'enzymes. Parmi les différentes sources d'azote (extrait de levure, tryptone, sulfate d'ammonium, urée et peptone),

L'extrait de levure c'est avéré une bonne source d'azote pour améliorer la production de xylanase.

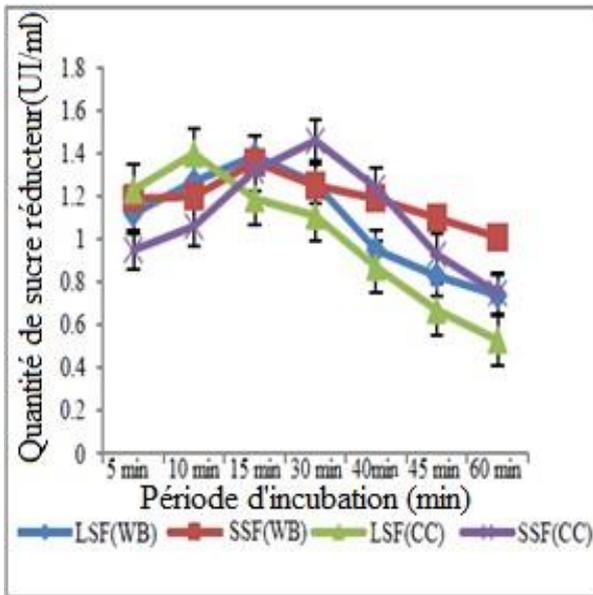


**Fig. 12 :** Effet de la concentration de l'extrait de levure sur la production de xylanase

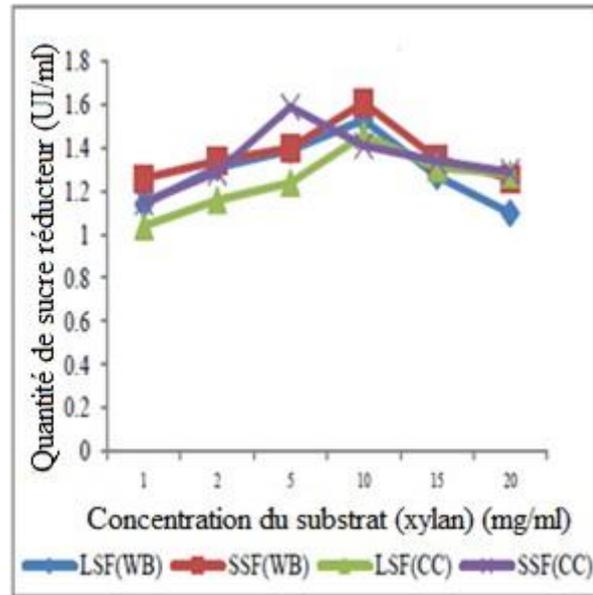
Après avoir optimisé différents paramètres physiques et chimiques pour une production maximale de xylanase, l'activité enzymatique de la xylanase a été testée dans quelques conditions, telles que la période d'incubation du mélange de réaction, la température, le pH et la concentration de xylan. D'après nos résultats, il a observé que l'essai de xylanase a été effectué pendant 15 minutes d'incubation, l'activité maximale de xylanase a été trouvée dans le LSF sur les deux substrats. Le son de blé (1,39 UI/ml) et les épis de maïs (1,36 UI/ml). Pendant la période d'incubation en SSF, 10 min et 30 min ont été optimisées pour le son de blé (1,4 UI/ml) et les épis de maïs (1,46 UI/ml) respectivement (Fig 13). La figure 12 indique la température optimale à laquelle l'essai de xylanase maximal a été observé. Le test d'activité de la xylanase a été effectué à différentes températures, comme 40 °C, 45 °C, 50 °C, 55 °C, 60 °C et 65 °C. Dans le cadre de ce travail, il a constaté que l'enzyme utilisée dans le test obtenu à partir d'une souche fongique avec du son de blé, 45 °C a été optimisée pour le LSF (1,4 UI/ml) ainsi que pour le SSF (1,47 UI/ml). Lorsque des xylanases d'épis de maïs ont été effectués par le dosage enzymatique, il a observé qu'à une température de 55 °C, l'activité enzymatique maximale a été observée sur le LSF (1,39 UI/ml) et le SSF (1,51 UI/ml). Lorsque le pH de la solution tampon variait de 4,0 à 6,0 (Fig. 13), il l'a trouvé dans le LSF, 5,5 était le pH optimal pour le son de blé (1,45 UI/ml) et 5,0 le pH était pour les épis de maïs (1,4 UI/ml), tandis que dans le SSF, l'activité enzymatique maximale était de 5,0 pour le son de blé (1,52 UI/ml) et les épis de maïs. (1,53 UI/ml). Lorsque l'épeautre xylan d'avoine a été

## Analyse d'un article

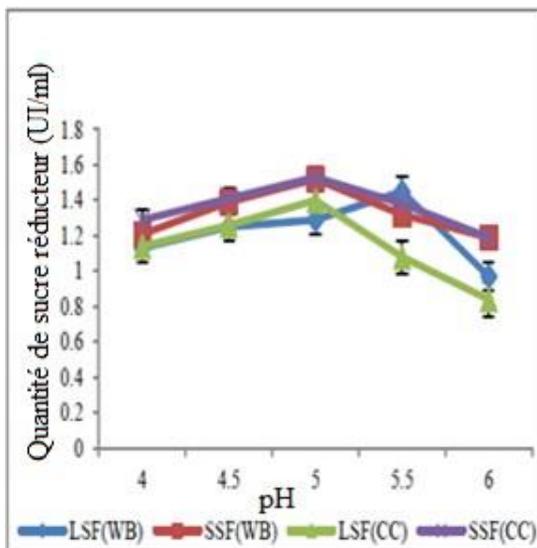
utilisé comme substrat pour l'optimisation de l'activité des xylanases (Fig. 16), il a observé que sur le son de blé, l'activité enzymatique optimale de 10 mg/ml de xylane à la concentration était observée dans les deux processus de fermentation (1,53 UI/ml et 1,61 UI/ml pour le son de blé). À partir des épis de maïs, la concentration de xylan de 10 mg/ml (1,46 UI/ml) a été optimisée pour le LSF, tandis que la concentration de 5,0 mg/ml (1,59 UI/ml) est la quantité maximale pour le SSF.



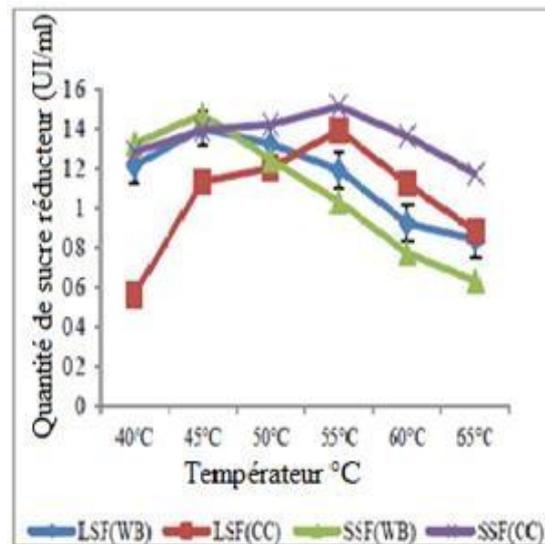
**Fig. 13 :** Effet de période d'incubation sur l'activité de xylanase



**Fig. 14 :** Effet de la température sur l'activité de xylanase



**Fig. 15 :** Effet de la concentration du substrat sur l'activité de xylanase



**Fig. 16 :** Effet de pH sur l'activité de xylanase

### **2. Conditions culturelles pour la production maximale d'alpha amylase par *penicillium notatum* IBGE 03 en utilisant la technique de la fiole agitée de fermentation immergée.**

Ce travail est une description d'un plan expérimental basé sur la production des enzymes par *Penicillium chrysogenum* par divers sous produit agricoles.

#### **2.1. Souches**

La souche de *Penicillium notatum* IBGE 03 a été obtenue de l'Institute de Biotechnologie et génétique Ingénierie Université de Sind et la culture a été maintenue, suivie de Dahot. Dans la présente d'étude, des inclinaisons de 4 jours ont été utilisées pour l'inoculation.

#### **2.2. Nombre de conidies**

Le nombre de conidies de chaque champignon a été compté par hémocytomètre (BOE 13, Boeco Allemagne). La suspension de spores a été maintenue à environ  $4 \times 10^6$  conidies/ml et a été ajoutée à 50 ml de milieu de fermentation dans un flacon de 250 ml.

#### **2.3. Hydrolyse des déchets agricoles**

Chaque sous-produit agricole (tige de coton, déchets de tournesol et enveloppe de riz) été traité comme indiqué précédemment. L'activité alpha-amylase a été déterminée par la méthode de Benfeld. Une unité d' $\alpha$ -amylase est la quantité d'enzyme qui libère 1 mg de sucre réducteur en 3 min à 50 °C et à un pH de 7,0.

#### **2.4. Optimisation des paramètres de production enzymatique**

Toutes les expériences ont été faites de telle manière que le paramètre optimisé dans une expérience a été fixé dans les expériences ultérieures pour la production maximale d'enzyme. Les paramètres suivants étaient :

##### **a. Médias culturels**

Tout d'abord, le milieu de culture le plus approprié a été déterminé. Pour L'optimisation de  $\alpha$ - La production d'amylase après les milieux de culture ont été utilisés ayant la composition (g/l).

**M1:** dextrose 10, peptone 5, sel d'Epsom 5, KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 5, sel commun 2,5, sulfate ferreux hepta hydraté 0,01, ZnSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O 0,002, MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0,001 et chlorhydrate de thiamine 0,001

**M2:** amidon soluble 20,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  10,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 14,  $\text{KCl}$ , 0,5, sel d'Epsom 0,1,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,01.

**M3:**  $\text{NaCl}$  0, 8,  $\text{KCl}$  0,8,  $\text{CaCl}_2$  0,1,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2,0,  $\text{MgSO}_4$  0,2,  $\text{FeSO}_4$  0,1, 8,0 Glucose,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2,0

**M4 :**  $\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.062,  $\text{FeSO}_4$  0.068, sulfate de cuivre penthydrate 0.0001 et son de blé 100

### **b. Période d'incubation**

Après avoir déterminé le milieu de culture le plus approprié, on a déterminé la période d'incubation optimale. Il a été fait en augmentant la pression sur M1 à différentes périodes de 24-240 h.

### **C. Sources de carbone**

Après optimisation du temps d'incubation, la source de carbone la plus appropriée a été déterminée. Il a été fait en remplaçant le glucose (témoin) du milieu de culture (M1) par divers déchets, y compris les déchets de tournesol, tige de coton, enveloppe de riz, qui ont été hydrolysés par 0,3 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  et 0,6 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Le sirop de datte et la mélasse ont été utilisés 0,5 % et 1 % à la place du glucose (témoin).

### **d. Sources d'azote**

Après la détermination de la source de carbone la plus appropriée, diverses sources d'azote ont été vérifiées pour la production maximale d'enzymes. Il a été fait en remplaçant peptone de milieu de culture (M1) par le maïs raide liqueur, caséine, nitrate de potassium, albumine, sulfate d'ammonium, urée et extrait de levure. Température d'incubation de milieu de culture M1 le plus approprié (avec la source de carbone et d'azote la plus appropriée) a été testé à des températures variant de 20 à 70 °C afin de déterminer la température d'incubation la plus appropriée pour la production d'enzymes.

### **e. PH initial du milieu**

Le pH initial d'un milieu a un effet sur la croissance et la productivité des micro-organismes Une plage de pH de 4,0 à 9,0 a été vérifiée pour la production maximale d'enzymes.

### **f. Taille de l'inoculum**

La productivité a également été vérifiée en termes de nombre de conidies dans 50 ml de milieu de culture optimisé afin d'obtenir la taille d'inoculum optimisée du milieu de culture. Le nombre de conidies a été compté par hémocytomètre (BOE 13, Boeco Allemagne).

### **g. Taux d'agitation**

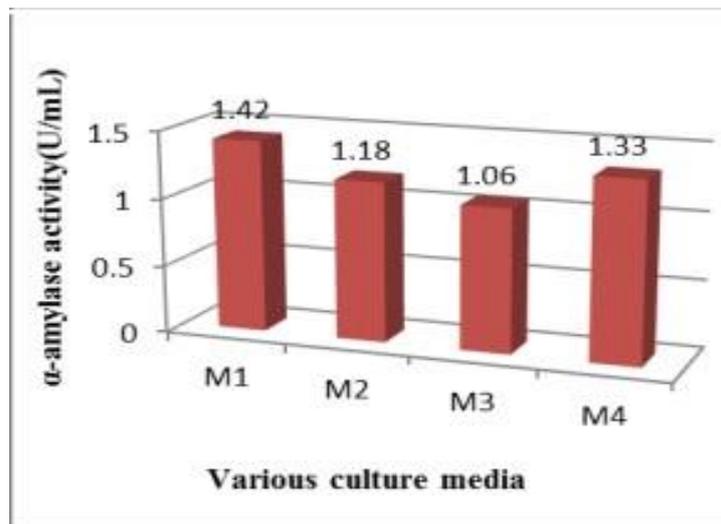
L'effet du taux d'agitation a également été vérifié pour l'optimisation à 50, 100, 150, 200, 250 et 300 tr/min dans l'incubateur d'agitation orbitale (SANYO Gallenkamp, PLC, UK).

## Résultat et discussion

### 1. Effet des médias culturels

Les effets de divers milieux de culture sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* IBGE 03 après 24 h, à une température de 30 °C, à un pH initial de 6,0, à une taille d'inoculum de  $4 \times 10^6$  conidies/ml et à un taux d'agitation de 50 tr/min sont présentés (Fig.17).

La souche a été cultivée sur quatre milieux de culture différents, M1, M2, M3 et M4. Elle était bien cultivée sur tous les types de milieux de culture, mais la production d' $\alpha$ -amylase était maximale (1,42 U/ml) sur le milieu de culture M1, qui a été sélectionné pour l'étude suivante de la production d' $\alpha$ -amylase.



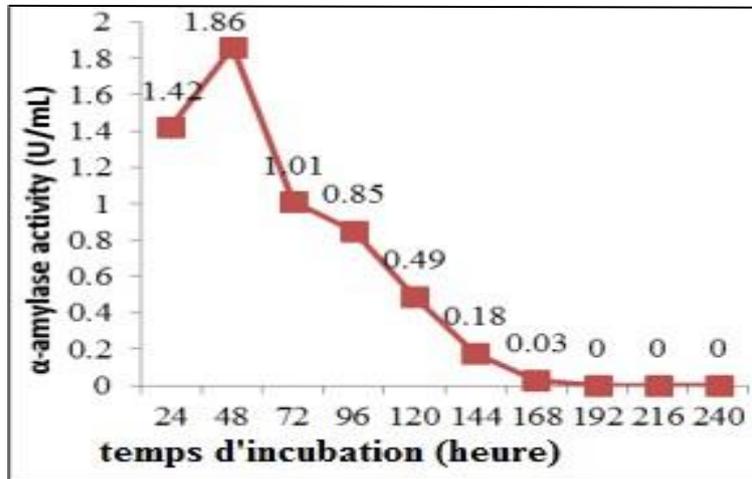
**Fig. 17** : Effets de divers milieux de culture Sur la production d' $\alpha$  amylase par *penicillium Notatum* après 24 h à une température de 30 C, PH initial de 6 taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  Conidies/ml et taux d'agitation de 50 tr/min

### 2. Effet de la période d'incubation

Effets des périodes d'incubation sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* IBGE 03 en M1 à une température de 30 °C, pH initial de 6,0, taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies/ml et agitation taux 50 tr/min sont sélectionné (Fig. 18).

L'activité de l' $\alpha$ -amylase a été mesurée à intervalles réguliers de 24 h, ils ont constaté que l'activité maximale (1,86 U/ml) a été observée après 48 h d'incubation. Lors d'une incubation prolongée, l'activité enzymatique diminuait, ce qui pouvait être dû à la dénaturation de

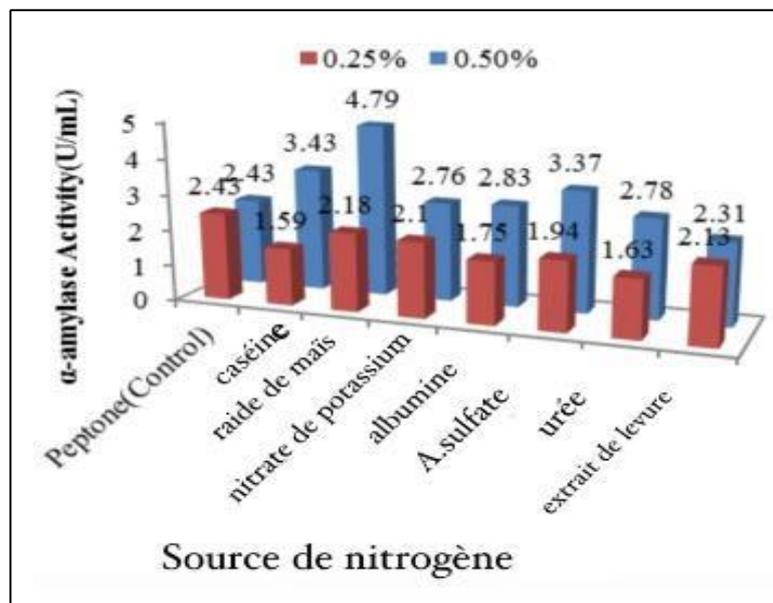
L'enzyme ou à la synthèse du métabolite inhibiteur. Khan et Yadav (2011) ont également signalé une période d'incubation de 48 h pour la production d' $\alpha$ -amylase par *Aspergillus niger*.



**Fig. 18:** Effets des périodes d'incubation sur la production d' $\alpha$  amylase par *P. notatum* dans M1 à 30 C PH initial de taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies/ml et taux d'agitation de 50 tr/min

### 3. Effet des sources de carbone

Les effets de diverses sources de carbone sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* IBGE 03 après 48 h en M1 à une température de 30 °C, pH initial de 6,0, taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies/ml et taux d'agitation de 50 tr/min sont présentés dans la Fig. 19. Ils ont observé que les activités  $\alpha$ -amylase étaient plus faibles dans le cas de déchets agricoles hydrolysés à l'acide sulfurique 0,3 N (0,86, 1,17 et 0,97 U/ml) pour la tige de coton, les déchets de tournesol et l'enveloppe de riz, respectivement) et 0,5 % de mélasse et de sirop de datte (1,57 et 1,46 U/ml, respectivement). Les activités de  $\alpha$ -Amylase étaient proches ou supérieures à celles du témoin, du glucose (1,86 U/ml) lorsque 0,6 N de déchets agricoles hydrolysés à l'acide sulfurique (1,74, 2,13 et 1,84 U/ml pour la tige de coton, les déchets de tournesol et l'enveloppe de riz, respectivement) et 1 % de mélasse (2,43 U/ml) et de sirop de datte (2,24 U/ml) ont été utilisés. Matthias (2013) a déclaré que l'amidon était la source de carbone appropriée pour la production d' $\alpha$ -amylase par les espèces *Aspergillus*, *Mucor* et *Rhizopus*.

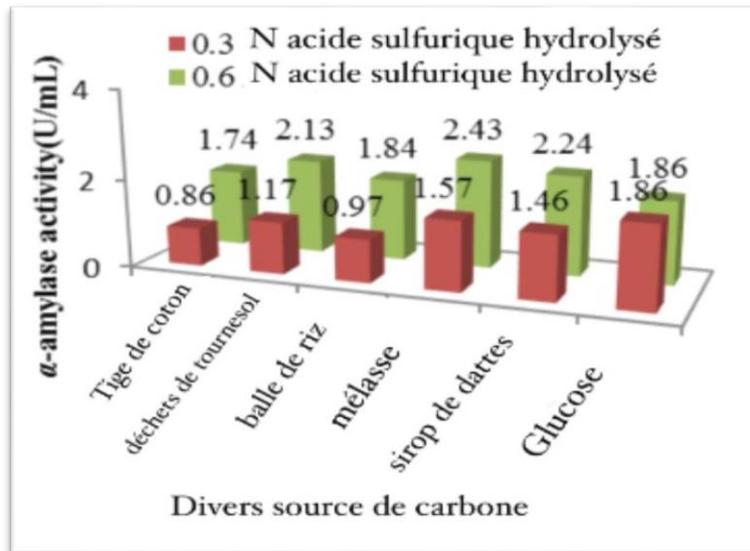


**Fig. 19 :** Effets de divers sources de carbone Sur la production d' $\alpha$  amylase par *Penicillium notatum* après 48 h dans M1 de 30°C pH initial de 6 taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies /ml Et vitesse d'agitation de 50 tr /min.

#### 4. Effets des sources d'azote

Les effets de diverses sources d'azote sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* IBGE 03 après 48 h en M1 contenant de la mélasse comme source de carbone à 30 °C, pH initial de 6,0, taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies/ml et taux d'agitation de 50 tr/min sont présentés (Fig. 20). La souche a montré la capacité d'utiliser tous les types de sources d'azote, mais la liqueur à forte pente du maïs s'est avéré la meilleure (2,18 U/ml dans 0,25 % et 4,79 U/ml dans 0,50 %).

Diverses sources d'azote ont été signalée dans la littérature pour la production d' $\alpha$ -amylase par exemple Singh et al. Le bœuf a été rapporté l'extrait par *Aspergillus fumigatus* tandis que Matthias (2013) a signalé le nitrate d'ammonium pour espèces *Aspergillus*, *Mucor* et *Rhizopus*.

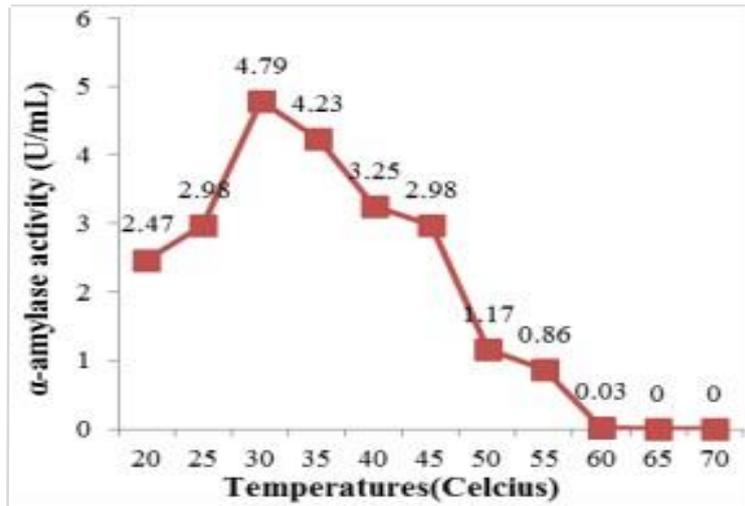


**Fig. 20 :** Effets de divers source d'azote sur la production d' $\alpha$  amylase par *Penicillium Notatum* après 48 h dans M1 contenant de la mélasse comme source de carbone à 30°C , pH initial 6 taille d'inoculum  $4 \times 10^6$  Conidies et vitesse d'agitation 50tr/min

### 5. Effet de la température

Les effets des températures d'incubation sur la production d' $\alpha$  amylase par *P. notatum* IBGE 03. Après 48 h en M1 contenant de la mélasse comme source de carbone, liqueur de maïs comme source d'azote, à pH initial 6,0, taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies/ml et vitesse d'agitation 50 tr/min. sont sélectionné (Fig. 21). Le milieu de fermentation a été incubé à une gamme de températures 20°C à 70°C.

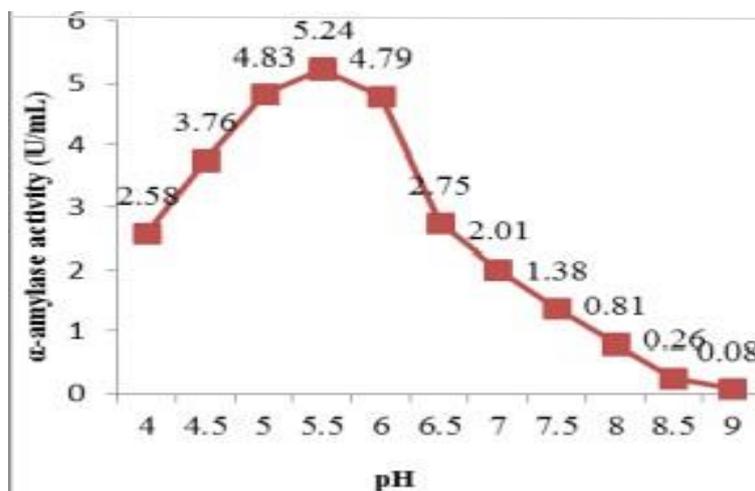
Activité de l' $\alpha$ -amylase était la plus élevée (4,79 U/ml) à environ 30°C. Saleem et Ebrahim (2014) ont rapporté des résultats similaires de température d'incubation pour la production de l' $\alpha$ -amylase par *Aspergillus niger* et *Rhizopus stolonifer*. La souche a montré une thermostabilité jusqu'à 60°C (0,03 U/ml).



**Fig. 21 :** Effets des températures d'incubation sur l' $\alpha$ -amylase production par *P. Notatum* après 48h dans M1 contenant mélasse comme source de carbone.

## 6. Effet du pH initial

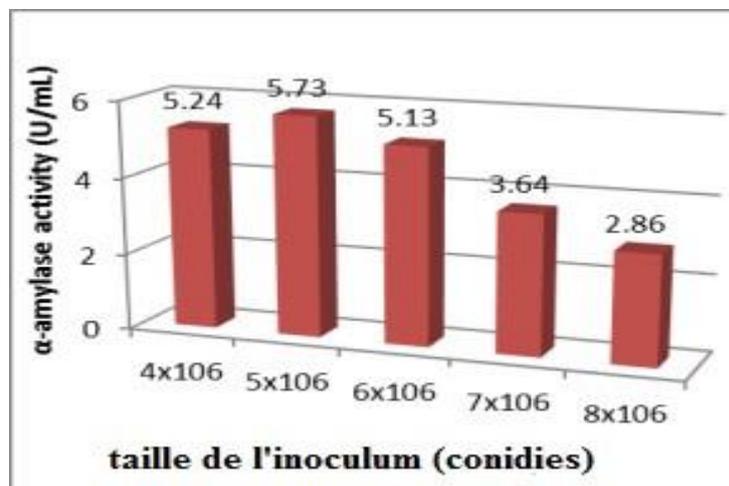
Les effets du pH initial de la fermentation milieu sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* IBGE 03 après 48 h en M1 contenant de la mélasse comme source de carbone, mais liqueur de macération comme source d'azote, température 30°C, taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies/ml et vitesse d'agitation 50 tr/min sont sélectionné (Fig. 21). La gamme de pH (4,0 à 9,0) a été étudiée et a constaté que le pH initial de 5,5 est le pH optimal pour une production maximale d'enzymes (5,24 U/ml). Après et avant le pH, la diminution de l'activité enzymatique a été observée. Saleem et Ebrahim (2014) ont rapporté le pH 6,0 comme approprié pour la production ' $\alpha$ -amylase par *Aspergillus niger* et *Rhizopus stolonifer*.



**Fig. 22 :** Effets du pH initial du milieu fermentation sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* après 48h en M1 contenant mélasse comme source de carbone, de la liqueur de maïs comme source d'azote à 30°C taille de l'inoculum  $4 \times 10^6$  conidies et vitesse d'agitation 50 tr/min

### 7. Effet de la taille de l'inoculum

Les effets de la taille des inoculums sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* IBGE 03 après 48 h dans M1 contenant de la mélasse comme carbone source, liqueur de maïs comme source d'azote, à 30°C, pH initial 5,5 et vitesse d'agitation 50 tr/min (Fig. 22). Les erlens étaient ajoutés avec  $4 \times 10^6$  -  $8 \times 10^6$  conidies/ml. L'activité d' $\alpha$ -amylase maximale (5,73 U/ml) a été observée lorsque  $5 \times 10^6$  conidies/ml ont été ajoutées au milieu. Les littératures ont révélé que les chercheurs utilisaient différentes tailles d'inoculum. Grande taille d'inoculum cause la prolifération et la nutrition déséquilibrée la production enzymatique.

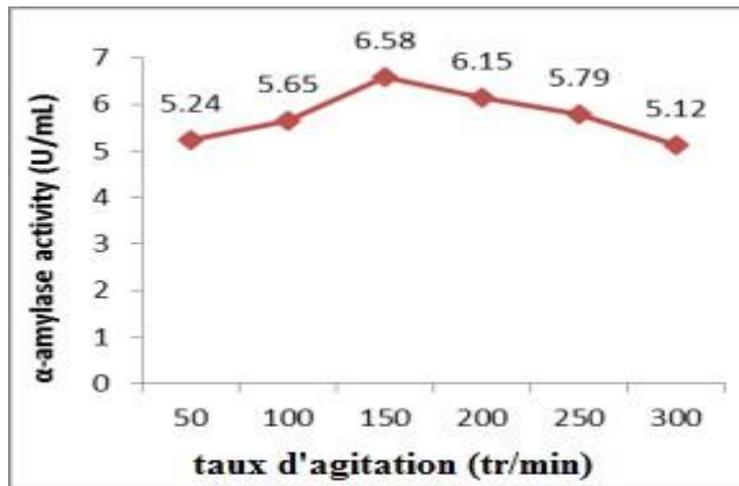


**Fig. 23 :** Effets de la taille de l'inoculum sur l' $\alpha$ -amylase production par *p. notatum* après 48 h en M1 contenant de la mélasse comme carbone, raide de maïs liqueur comme source d'azote à 30° C, pH initial 5,5 et vitesse d'agitation 50tr/min

### 8. Effet du taux d'agitation

Les effets des taux d'agitation sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P. notatum* IBGE 03 après 48 h dans M1 contenant de la mélasse comme carbone source, liqueur de maïs comme source d'azote, à 30°C, pH initial 5,5 et taille de l'inoculum  $5 \times 10^6$  conidies/ml sont présentées dans la Fig. 24. Le milieu de fermentation a été agité à 50, 100, 150, 200, 250 et 300 tr/min

L'activité  $\alpha$ -amylase était maximale (6,58 U/ml) à 150 tr/min. L'étude de la littérature a révélé que les chercheurs ont rapporté divers taux d'agitation (100-200 tr/min) pour la production d'enzymes par différents micro-organismes.



**Fig. 24 :** Effets des vitesses d'agitation sur la production d' $\alpha$ -amylase par *P.notatum* après 48 h dans M1 contenant de la mélasse comme source de carbone , raide de maïs liqueur comme source d'azote à 30°C pH initial 5,5 et vitesse d'agitation, 50 tr/min

### Conclusion des Articles :

D'après les résultats obtenus à partir de premier article de la production de xylanase par *P. chrysogenum* sur LSF et SSF, On observe que :

*Penicillium chrysogenum* a un bon potentiel pour la production de xylanase en utilisant des lignocellulosiques comme le son de blé et les épis de maïs comme source de carbone. Différents paramètres favorables tels que la période d'incubation, la température, le pH, la concentration du substrat, la peptone et la concentration de l'extrait de levure ont été optimisés pour améliorer le rendement de la production de xylanase. D'après les résultats ci-dessus, le son de blé est une meilleure source de carbone pour la production d'enzymes que les épis de maïs. Parmi les deux procédés de fermentation, on a constaté que le SSF produisait une concentration enzymatique plus élevée que le LSF. Il a été constaté qu'il y avait plus de trois fois l'amélioration de la production d'enzyme xylanase en termes d'activité enzymatique lorsque optimisée avec le son de blé comme substrat. Lorsque des épis de maïs en poudre ont été utilisés comme substrat, on a également trouvé deux fois plus d'accroissement dans la production d'enzymes sous l'état solide. L'enzyme xylanase ayant une grande stabilité et activité sera utilisée dans divers usages industriels et biotechnologiques.

Et au 2ème article on trouve que les conditions optimales pour la production d' $\alpha$ -amylase (6,58 U/ml) par *Penicillium notatum* IBGE 03 ont été observées lorsque la souche a été cultivée sur le milieu de culture M1 contenant de la liqueur de raide de maïs comme source d'azote, de la mélasse comme source de carbone après 48 h d'incubation à 30°C, pH initial 5,5, taille d'inoculum de  $5 \times 10^6$  conidies dans 50 ml de milieu de culture et vitesse d'agitation de 150 tr/min. La souche a été prouvée pH (jusqu'à 9) et thermostable (jusqu'à 60°C) et peut donc être utilisée dans les industries pour la production d'alpha-amylase.



---

# Conclusion

---

## Conclusion

---

### Conclusion

L'objectif principal de cette étude est la production d'enzyme « alpha- amylase » qui contribuent à plusieurs applications industrielle, donc elles sont outils dans la biotechnologie, cette enzymes est produite par des souches fongique *P. chrysogenum* caractérise par des colonies blanche a bleu- vert. Il est utilisée pour cette production la technique de fermentation sur un liquide agitée pour la production alpha- amylase dans la fermentation immergée, sont effectivement la plus pratique pour culture se souche , elle principalement base sur la présence de son blé et l'épis de maïs , tige de coton, le maïs raideliqueur, comme substrat solide parce que riche en nutriment , ainsi que les conditions optimale « la température, le pH et la durée de l'incubation » pour l'activité de microorganisme et le développement de ce processus qui donne un rendement maximale d' alpha- amylase.

Enfin, comme respectivement, ce travail est une amélioration de la production des enzymes, il nécessite l'application des nouvelles approches statistiques et utilisation de nouveaux résidus. L'utilisation d'alpha- amylase dans de nouvelles applications industrielles, est recommandée pour : l'industrie pharmaceutique Parfois ajoutées en association avec un complexe d'enzymes (hémicelluloses, protéases...) comme complément alimentaire ou pour traiter une mauvaise digestion

---

# Références Bibliographiques

---

## Référence Bibliographiques

---

**Ahmed K., Munawar S., Khan M.A. (2015).** Cultural conditions for maximum alpha-amylase production by *penicillium notatum* IBGE03 using shaken flask technique of submerged fermentation. Pure and applied biology, 4 (3), 306-312

**Ahmed N.A and Awad H.M. (2021).** OPTIMIZING THE PRODUCTION OF PECTINASE OF ORANGE PEEL WASTE BY *PENECILLIUM CHRYSOGENUM* MF 318506 USING REPOSE SURFACE METHODOLOGY IN SUBMERGED FERMENTATION. Journal of Microbiology, Biotechnology and food sciences JMBFS [en ligne], 11 (1) (page consultée le 15/05/2022).[https://www.researchgate.net/publication/359504534\\_OPTIMIZING\\_THE\\_PRODUCTION\\_OF\\_PECTINASE\\_OF\\_ORANGE\\_PEEL\\_WASTE\\_BY\\_PENICILLIUM\\_CHRYSOGENUM\\_MF318506\\_USING\\_RESPONSE\\_SURFACE\\_METHODOLOGY\\_IN\\_SUBMERGED\\_FERMENTATION](https://www.researchgate.net/publication/359504534_OPTIMIZING_THE_PRODUCTION_OF_PECTINASE_OF_ORANGE_PEEL_WASTE_BY_PENICILLIUM_CHRYSOGENUM_MF318506_USING_RESPONSE_SURFACE_METHODOLOGY_IN_SUBMERGED_FERMENTATION)

**Bakri Y., Al-Jazairi M. and Al-Kayat G. (2008).** Xylanase production by a newly isolated *Aspergillus niger* SS7 in submerged culture. Pol. J. Microbiol., 57(3), 249-251.

**Basit A., Jiang W., Rahim K. (2020).** Xylanase and Its Industrial Applications. Biotechnological Application of Biomass [en ligne], (page consultée le 04/05/2022). DOI: 10.5772/intechopen.92156

**Baydaa A.H., Mohammed A.J., Zahra M.A. (2018).** Purification and Characterization of the Glucose Oxidase from *Penicillium notatum*. International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance IJPQA, 9 (1), 55-63.

**Botton B., Breton A., Fevre M. et al. (1990).** Production of extracellular enzymes in mutant Isolated from *Trichoderma viridea* unable to hydrolyse cellulose. Appl envirmicrobiol, 33, P : 11-16.

**Botton B., Breton A., Fèvre M. et al. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris.

**Böhm J., Hoffa B., Wolfersa S. et al. (2013).** Sexual reproduction and mating-type-mediated strain development in the penicillin-producing fungus *Penicillium chrysogenum*. Journal of Scientific Research PNAS [En ligne], 110 (4), 1476–1481 (page consultée le 08/05/2022).<https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1217943110?fbclid=IwAR3PEsqL0ow8AyyXCcP-iAN5nThKkmGS06D50H1w0yoJSqhDqXLJHM7FBMY>

**Burugu A., Addanki M., Surepalli S., and Chanda C. (2020).** Optimization of xylanase production from *Penicillium funiculosum* using agricultural (corn cob) waste. Research Journal of Pharmacy and Technology, 13(9), 4111-4114.

## Référence Bibliographiques

---

- Charnock S.j., Mc Cleary B.V. (2005).** Enzymes industrial and analytical application (extrait de la revue oenologue) [en ligne], 116 (page consultée le 29/12/2021). <https://prod-media.megazyme.com/?fbclid=IwAR0QC5toOTjHHhsL-tC1Z0zvAL7vgV0OfvsrBbc0xbUsy2g4u3cb5L0UX8>
- Dakhmouche-Djekrif S, (2016).** Production et caractérisation de l'amylopullunase de la levure *Clvispora lucitaniae* ABS7 isolée de blé cultivé et stocké en zones arides. Thèse de doctorat : Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, France: Université de technologie Compiègne p 2011
- Dantigny P., Guilmart A., Bensoussan M. (2005).** Basis of predictive mycology. International Journal of Food Microbiology, 100(1-3), 187-96
- Equipe éditoriale. Penicillium: qué es, características, patogenia, biotecnología [en ligne].** (page consultée le 26/ 05/2022). [https:// WWW. Lifeder.com/penicillium-chrysognum/](https://WWW.Lifeder.com/penicillium-chrysognum/).
- Fierro F., Vaca I., Chávez R. et al. (2022).** *Penicillium chrysogenum*, a Vintage Model with a Cutting-Edge Profile in Biotechnology. Microorganisms [En ligne], 10 (573) (page consulté le 8/05/2022).<https://doi.org/10.3390/microorganisms10030573>
- Fisher C. (2021).** M1 *Penicillium chrysogenum* [en ligne]. (Page consultée le 25/05/2022). <https://www.thermofisher.com/diagnostic-education/hcp/wo/en/resource-center/allergen-encyclopedia/whole-allergens.html?key=m1>.
- Fogarty W.M., Kelly C.T. (1980).** Amylase, amyloglucosidase and related glucanases. In Rose (A.H.) Ed. Economic microbiology, microbial enzymes and bioconversion. London: Academic Press, Vol.5 P : 115-170.
- Gailing M.F., Guibert A and Combes D. (2000).** Fractional factorial designs applied to enzymatic sugar beet pulps pressing improvement. Institut National des Sciences Appliquées, Centre de bioingénierie Gilbert Durand, 22 (2000), 69-74
- Guzmán-Chávez F., Zwahlen R.D., Bovenberg R.A.L. et al. (2018).** Engineering of the Filamentous Fungus *Penicillium chrysogenum* as Cell Factory for Natural Products. Frontiers in Microbiology [En ligne], 9(2768) (page consulté le 18/05/2022)<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02768/full>
- Hoog G., Guarro, J., Gené J., Figueras F. (2000).** Atlas of Clinical Fungi. 2eme édition. Centraalbureau voor Schimmelcultures (Utrecht).

## Référence Bibliographiques

---

- Index Fungorum Partnership (2022).** Index Fungorum. *Penicillium chrysogenum* Thom., 1910. World Register of Marine Species WORMS (page consulté le 2022/05/10) <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=100537>
- Konishi T., Aoshima T., Mizuhashi F. et al. (2013).** Safety evaluation of glucose oxidase from *Penicillium chrysogenum*. *Regulatory Toxicology and pharmacology* 66 (1), 13-23
- Kosikowski F. V. (1988).** Dairy foods research papers. Enzyme behavior utilization in dairy technologie. *J. Dairy Sci.* 71 P : 557-573
- Marie-Alix d'Hamewyn M.Sc., Pierre Chevalier Ph. D. (2019).** *Penicillium spp.* Institut national de santé publique Québec INSPQ
- Marijke A H Luttkik.** Conidial growth of *Penicillium chrysogenum*. (2006). [Image]. CBS Fungal Diversity Centre, 2006, vol 8, n°2, P : 91-101
- Mehraj P.K., Anuradha P., Subbarao D. (2013).** Applications of Pectinases in Industrial Sector. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*; Kokrajhar, 16 (1), 89-95
- Mobini-Dehkordi M., Javan F.A. (2012).** Application of alpha- amylase in biotechnology. *Journal of biology and today's world*, 1(1), 39-50
- Mokobi F. (2021).** *Penicillium chrysogenum*-An Overview. *Microbe Notes*. [En ligne] (page consulté le 19/05/2022) [https://microbenotes.com/penicillium-chrysogenum/?fbclid=IwAR1Bre5DcoSh7grnoIv0PyxIZUk5NqmV9tIxA7\\_LeIZjWckhzRzNeyY9SmY](https://microbenotes.com/penicillium-chrysogenum/?fbclid=IwAR1Bre5DcoSh7grnoIv0PyxIZUk5NqmV9tIxA7_LeIZjWckhzRzNeyY9SmY)
- Nigam P., Singh D. (1995).** Enzymes and microbial systems involved in starch processing.- *Enzyme Microb. Technol.* 17(9), 770-778.
- Pitt J.I. (1988).** Laboratory guide to common *Penicillium* species, Academia Press editor, London
- Pitt J.I., Hoking A.D. (2009).** *Fungi and Food Spoilage* Springer. New York. p 236-237
- Ramos O.S., Malcata F.X. (2011).** Food-Grade Enzymes. *Comprehensive Biotechnology* (Second Edition) [en ligne], 3 (48), 587-603 (Page consultée le 10/05/2022).. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00213-0>
- Raper K., Thom C. (1949).** A manual of the Penicillia, Williams & Wilkin Company (Baltimore).

## Référence Bibliographiques

---

**Richhariyan J., Sharma T.K., Dassani S. (2021).** Production and Optimization of Xylanase by *Penicillium chrysogenum* through Liquid State and Solid State Fermentation. Journal of Scientific Research, 65(1), 104-11

**Ropars J., Dupont J., Fontanillas E. et al. (2012).** Sex in cheese : evidence for sexuality in the fungus *Penicillium requeforti*. PLOS ONE. 7(11)<https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1217943110?fbclid=IwAR3PEsqL0ow8AyyXCcP-iAN5nThKkmGS06D50H1w0yoJSqhDqXLJHM7FBMY>

**Samson RA., Houbraken J., Thane U. et al. (2010).** Food and Indoor Fungi. Utrecht, the Netherlands : CBS-KNAW- Fungal Biodiversity Centre, 1-398

**Scriban R. (1999).** Biotechnologie. 5ème édition. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris. P. 149-159.

**Singh R.S., Singh T., Pandey A. (2019).** Microbial Enzymes-An Overview. Advances in Enzyme Technology [en ligne], (Page consultée le 10/05/2022). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7>.

**Vaux S., Haus Cheymol R., La ruche G, Rabaud C. (2012).** Rapport Institut de Veille Sanitaire (INVS) : Surveillance de la consommation et de la résistance aux antibiotiques. France : 2012 P. 471- 493. Report No.: 42- 43

**Werner J.B., Badoud R., Loliger J. et al. (2010)** Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. Ed: Presses polytechniques et universitaires romandes. 719p.

**Zia M.A., Riaz A., Rasul S. et al. (2013).** Évaluation de l'activité antimicrobienne du glucose oxydase d'*Aspergillus niger* EBL-A et de *Penicillium notatum* [En ligne], 56(1) (page consultée le 30/05/2022). <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013005000010>

Site Web :

Web 1 : [biorender.com](http://biorender.com)

Web 2 : (AQUAPORTAIL.COM)

Web 3 : [techno-science.net](http://techno-science.net) )

### Résumé

Ce travail s'intéresse à la production des enzymes par *Penicillium chrysogenum* sur plusieurs milieux et avec différentes paramètres. Pour cela la première partie de ces travaux de recherche a porté sur une étude générale sur l'espèce *P. chrysogenum* a montré que cette souche caractérisé par des colonies plates et de texture veloutée, blanches ou vert-jaune pâle développent rapidement, à 25 °C sur gélose de Czapek de dans de dix jours. La deuxième partie a basé sur l'étude de la production de xylanase, et alpha amylase a partir de *P. chrysogenum*. La capacité de production de xylanase a été optimisée à différents paramètres de croissance dans des conditions de fermentation à l'état liquide et solide. En utilisant le son de blé comme substrat, la production de xylanase maximale a été atteinte le 6ème et le 5ème jour de l'incubation, température 30 °C, pH 6,0 et 4,5, 180 mg/ml et 160 mg/ml de son de blé, 0,4 mg/ml et 0,2 mg/ml de peptone et 0,85 mg/ml et 0,65 mg/ml d'extrait de levure sous LSF et SSF respectivement. . Par ailleurs, La capacité de production d' $\alpha$ -amylase (6,58 U/ml) ont été observées lorsque la souche a été cultivée sur un milieu de culture M1 contenant de la liqueur de raide de maïs comme source d'azote, de la mélasse comme source de carbone après 48 h d'incubation à 30°C, pH initial 5,5, taille d'inoculum de  $5 \times 10^6$  conidies / 50 ml de milieu de culture et vitesse d'agitation de 150 tr/min. La souche s'est avéré thermostable (jusqu'à 60 °C) et pH (jusqu'à 9,0) stables, de sorte qu'elle pourrait être une souche potentielle pour une utilisation industrielle.

Mots clés : *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum* IBGE 03, Xylanase, Alpha-amylase, SSF, SLF, M1

### Abstract

This work focuses on the production of fungal enzymes by the microscopic filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* on several media and with different setting . For this

the first part of this research work focused on a general study on the species *P. chrysogenum* showed that this strain characterized by flat colonies and velvety texture, white or green-pale yellow develop rapidly, at 25 ° C on Czapek's agar in ten days. The second part was based on the study of the production of xylanase, and alpha amylase from *P. chrysogenum*. Xylanase production capacity was optimized at different growth parameters under liquid and solid state fermentation conditions. Using wheat bran as a substrate, maximum xylanase production was reached on the 6th and 5th day of incubation, temperature 30°C, pH 6.0 and 4.5, 180 mg/ml and 160 mg/ml of wheat bran, 0.4 mg/ml and 0.2 mg/ml of peptone and 0.85 mg/ml and 0.65 mg/ml of yeast extract under LSF and SSF respectively. Whereas with corn cobs as the carbon source, the maximum xylanase produced in terms of activity was 7th and 5th day of incubation, temperature 30°C, pH 5.0 and 4.5, 160 mg /ml and 120 mg/ml of corn cobs, 0.8 mg/ml and 0.2 mg/ml of peptone, 0.75 mg/ml and 0.8 mg/ml of yeast extract under LSF and SSF respectively. In addition, the production of alpha amylase by *Penicillium notatum* IBGE 03 was tested in 04 media of different composition with optimization setting in submerged fermentation. Various agricultural by-products (sunflower waste, cotton stalk, rice husk, date syrup and molasses) have been used as carbon sources. Optimal conditions for  $\alpha$ -amylase production (6.58 U/ml) were observed when the strain was grown on M1 culture medium containing corn steep liquor as a nitrogen source, molasses as a carbon source after 48 h of incubation at 30° C., initial pH 5.5, inoculums size of  $5 \times 10^6$  conidia in 50 ml of culture medium and stirring speed of 150 rpm. The strain was found to be thermo (up to 60°C) and pH (up to 9.0) stable, so it could be a potential strain for industrial use.

Key words: *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum* IBGE 03, , Xylanase, Alpha-amylase, SSF, SLF, M1

في العديد من الأوساط تحت معايير مختلفة. لهذا الجزء الأول *Penicillium chrysogenum* يركز هذا العمل على إنتاج الإنزيمات بواسطة أن هذا سلالة تتميز بمستعمرات مسطحة وملمس *P. chrysogenum* من هذا العمل أظهر البحث الذي ركز على دراسة عامة للأنواع. في عشرة أيام *Czapek agar* مخملي، أبيض أو أصفر أخضر يتطور و ينمو بسرعة، عند 25 درجة مئوية على *P.chrysogenum* وألفا أميلاز من طرف *xylanase* الجزء الثاني ركز على دراسة إنتاج تحسين القدرة الإنتاجية للزيلاناز في مختلف المعايير النمو في ظروف التخمر في شكل سائل وصلب. تم استخدام نخالة القمح كركيزة، تم تحقيق أقصى إنتاج من الزيلاناز في اليوم السادس والخامس من الحضانة، ودرجة الحرارة 30 درجة مئوية، ودرجة حموضة 4,5 6,0 ملغم/مل 160 ملغم/مل من نخالة القمح، 0.4 ملغم/مل و 0.2 ملغم/مل من البيبتون و 0.85 ملغم/مل و 0.65 ملغم/مل مستخلص الخميرة 180 لوحظت عندما نمت السلالة على (U/ml على التوالي. وبالإضافة إلى ذلك، فإن القدرة الإنتاجية لألفا أميلاز (SSF 6.58 و LSF تحت التي تحتوي على خمور صلبة كمصدر للنيتروجين ودبس السكر كمصدر للكربون بعد حضانة 48 ساعة عند 30 درجة M1 وسط من مزرعة مئوية، الرقم الهيدروجيني الأولي 5.5، حجم اللقاح من 5 × 10 كونيديا/مل زراعة متوسط وسرعة هياج 150 طن/دقيقة. السلالة تصل إلى 9.0) مستقرة، لذلك يمكنها كإجهاد محتمل للاستخدام ( ثبت أنها تتحمل الحرارة (تصل إلى 60 درجة مئوية) ودرجة حموضة الصناعي

### الكلمات الرئيسية

، للزيلاناز ، *Penicillium chrysogenum* ، *alpha amylase* ، *xylanase* ، *SSF* ، *LSF* ، *M1* ، ألفا أميلاز

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BOUKAABENE Rihem  
MEZIADI Nihed  
YAHIOUCHE Narimen

## Thème : Production des enzymes à partir de *Penicillium chrysogenum*

### Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Mycologie et biotechnologie fongique

Ce travail s'intéresse à la production des enzymes par *Penicillium chrysogenum* sur plusieurs milieux et avec différentes paramètres. Pour cela la première partie de ces travaux de recherche a porté sur une étude générale sur l'espèce *P. chrysogenum* a montré que cette souche caractérisé par des colonies plates et de texture veloutée, blanches ou vert-jaune pâle développent rapidement, à 25 °C sur gélose de Czapek de dans de dix jours. La deuxième partie a basé sur l'étude de la production de xylanase, et alpha amylase a partir de *P. chrysogenum*. La capacité de production de xylanase a été optimisée à différents paramètres de croissance dans des conditions de fermentation à l'état liquide et solide. En utilisant le son de blé comme substrat, la production de xylanase maximale a été atteinte le 6ème et le 5ème jour de l'incubation, température 30 °C, pH 6,0 et 4,5, 180 mg/ml et 160 mg/ml de son de blé, 0,4 mg/ml et 0,2 mg/ml de peptone et 0,85 mg/ml et 0,65 mg/ml d'extrait de levure sous LSF et SSF respectivement. . Par ailleurs, La capacité de production d' $\alpha$ -amylase (6,58 U/ml) ont été observées lorsque la souche a été cultivée sur un milieu de culture M1 contenant de la liqueur de raide de maïs comme source d'azote, de la mélasse comme source de carbone après 48 h d'incubation à 30°C, pH initial 5,5, taille d'inoculum de  $5 \times 10^6$  conidies / 50 ml de milieu de culture et vitesse d'agitation de 150 tr/min. La souche s'est avéré thermostable (jusqu'à 60 °C) et pH (jusqu'à 9,0) stables, de sorte qu'elle pourrait être une souche potentielle pour une utilisation industrielle

**Mots-clefs :** *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum* IBGE 03, Alpha- amylase, M1

**Encadreur :** Mme. ABDELAZIZ Ouided (Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constanitne 1)  
**Examineur 1 :** Mme. MEZIANI Meriem (Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constanitne 1)  
**Examineur 2 :** Mlle. ALMI Hiba (Maitre de Conférence B, Université Frères Mentouri Constanitne 1)