



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
LE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

Valorisation de quelque sous produits agroalimentaire par *Actinopolyspora* sp. en vue de la production d'enzymes d'intérêt

Présenté et soutenu par : BADACHE Radia
MAZRI Malak

Le : 27/06/2017

Jury d'évaluation :

| | | |
|---------------------|------------------------|--------------------------------|
| Président du jury : | M. <i>BENHIZIA Y.</i> | Professeur - UFM Constantine 1 |
| Rapporteur : | M. <i>KITOUNI M.</i> | Professeur - UFM Constantine 1 |
| Examineur : | M. <i>BOUDEMAGH A.</i> | Professeur - UFM Constantine 1 |

*Année universitaire
2017 - 2018*

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

| | |
|------------------------------|-----|
| Résumé..... | i |
| Abstract..... | ii |
| ملخص | iii |
| Liste des Abréviations | iv |
| Liste des tableaux..... | vi |
| Liste des figures..... | vii |

Introduction

| | |
|-------------------|---|
| Introduction..... | 1 |
|-------------------|---|

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--|----------|
| 1. Actinomycètes..... | 2 |
| 1.1 Définition des actinomycètes | 2 |
| 1.2 Propriétés générales des actinomycètes | 3 |
| 1.3 Morphologie..... | 4 |
| 1.4 Physiologie de développement..... | 5 |
| 1.4.1 L'oxygène..... | 5 |
| 1.4.2 Le pH..... | 5 |
| 1.4.3 La température..... | 6 |
| 1.4.4 L'activité de l'eau (Aw) | 6 |
| 1.4.5 Tolérance en Na Cl..... | 6 |
| 1.4.6 Cycle de développement..... | 6 |
| 1.5 Taxonomie des actinomycètes | 7 |
| 1.6 Écologie et habitat..... | 8 |
| 1.6.1 Le sol | 9 |
| 1.6.2 L'air | 9 |
| 1.6.3 Eaux douces et eaux marines..... | 9 |
| 1.6.4 Les plantes | 10 |
| 1.6.5 Les actinomycètes du compost et matériel relatif | 10 |
| 1.7 Métabolisme | 10 |
| 1.8 Importance des actinomycètes | 11 |
| 1.8.1. Dans le domaine agronomique | 11 |

| | |
|---|-----------|
| 1.8.2. La production des antibiotiques..... | 11 |
| 1.8.3. La production des enzymes | 12 |
| 2. Marc de café | 14 |
| 2.1. Propriétés du marc de café..... | 15 |
| 2.1.1 Propriétés physiques du marc de café | 15 |
| 2.1.2 Propriétés chimiques du marc de café | 15 |
| 2.2 Les utilisations possibles du marc de café | 17 |
| 2.3 Impacts environnementaux de la valorisation du marc de café | 17 |
| 2.3.1 Écotoxicité..... | 17 |
| 2.3.2 Diminution des pressions sur les ressources naturelles | 17 |
| 2.3.3 Alternative au plastique..... | 17 |
| 2.3.4 Traitement des eaux..... | 18 |
| 2.4 Impacts économiques de la valorisation du marc de café | 18 |
| 3. Noyau de dattes (ND)..... | 19 |
| 3.1 Composition chimique du ND | 19 |
| 3.2 Différentes utilisations du noyau de dattes | 20 |
| 3.2.1 Alimentation animale | 20 |
| 3.2.2 Fabrication du charbon actif..... | 20 |
| 3.2.3 Fabrication du pain | 20 |
| 3.2.4 Extraction de polysaccharides | 21 |
| 4. Les épluchures de pommes de terre | 21 |
| 4.1 Composition d'épluchures de pommes de terre | 21 |
| 4.2 valorisation d'épluchures de pomme de terre | 22 |
| 5. Plumes de volaille..... | 23 |
| 5.1 Rôle et morphologie..... | 23 |
| 5.2 Composition de plumes de volailles | 24 |
| 5.3 Valorisation des plumes de volaille | 25 |
| MATERIELS ET METHODES | |
| 1. Souche utilisée | 26 |
| 2. Revivification..... | 26 |
| 3. Etude des caractères morphologique | 26 |
| 3.1 Observation macroscopique | 26 |
| 3.2 Observation microscopique par la technique des lamelles | 26 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Aptitude biotechnologique de <i>Saccharopolyspora</i> sp. | 27 |
| 4.1 Recherche de la caséinase | 27 |
| 4.2 Recherche de la gélatinase | 27 |
| 4.3 Recherche des amylases | 27 |
| 5. Production d'enzymes à intérêt biotechnologique | 27 |
| 5.1 Préparation des milieux de cultures | 27 |
| 5.2. Préparation de l'inoculum | 30 |
| 5.3 Ensemencement des milieux et condition de culture | 30 |
| 6. Méthodes de dosages | 30 |
| 6.1 Séparation de la biomasse | 30 |
| 6.2 Dosage des sucres totaux (Dubois <i>et al.</i> , 1956) | 30 |
| 6.3 Dosage des protéines (Lowry <i>et al.</i> , 1951) | 31 |
| 6.4 Dosage de l'activité amylasique (Bernfeld, 1955) | 32 |
| 6.5 Dosage de l'activité protéolytique (protéase) | 33 |
| 6.6 Dosage de la kératinase (yamamura <i>et al.</i> , 2002) | 35 |
| 6.7 Dosage des activités cellulolytiques (activité papier filtre APF) | 35 |

RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|---|-----------|
| 1. Etude morphologique | 37 |
| 1.1 Après 7 jours d'incubation (tableau 9) | 37 |
| 1.2 Après 14 jours d'incubation (tableau 10) | 38 |
| 1.3 Après 21 jours d'incubation (tableau 11) | 38 |
| 2. Etude microscopique | 39 |
| 3. Mise en évidence des activités enzymatique | 40 |
| 3.1 Activité protéolytique | 40 |
| 3.2 Activité amylasique | 41 |
| 4. Milieux de culture | 41 |
| 4.1. Dosage des sucres totaux | 41 |
| 4.2. Dosage de protéines totales | 42 |
| 5. Aptitude biotechnologique de la souche <i>Saccharopolyspora</i> sp. | 43 |
| 5.1. L'activité amylasique | 43 |
| 5.2. L'activité protéolytique | 44 |
| 5.3. L'activités kératinolytique | 45 |
| 5.4. L'activité cellulolytique | 45 |

CONCLUSION

Conclusion 47

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques 48

ANNEXE

Annexe..... 62

Remerciements

Avant tout nous remercions "Allah" le tout puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la persistance pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous remercions tout particulièrement M. Kitouni M., qui, en tant qu'encadreur, s'est toujours montré à l'écoute, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans qui, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

A Monsieur BENHIZIA Y., nous adressons nos remerciements les plus sincères pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider ce jury.

Nous remercions également M. BOUDEMAGH A. qui nous a fait l'honneur d'avoir accepter de juger notre modeste travail.

Nos remerciements aussi vont à tous les enseignants et enseignantes qui nous ont former durant ces 5 années, en nous préparant pour cette dernière année de master. Merci pour vos encouragements et votre gentillesse.

J'associe à mes remerciements toute l'équipe du laboratoire de Génie microbologique et applications ainsi que laboratoire de Zoologie pour leur gentillesse, leur aide, et leur disponibilité ainsi que toutes nos amies pour leur solidarité.

Nos très spéciaux remerciements reviennent à nos familles pour leurs précieux encouragements et leur compréhension.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci.

Dédicaces



Je dédie ce mémoire ;

A mes très chers parents pour leurs encouragements qui n'ont jamais cessés de me soutenir durant les années d'études, je demande à Dieu de les protéger et leur réserver une longue vie.

*A ma sœur **HANENE** et mon frère **HAMZA***

A mes oncles et mes tantes paternels et maternels et leurs enfants.

*A mes très chers amis surtout **KAWTAR, LAMIA .MEISSA. AMINA***

A l'ensemble des professeurs qui m'ont suivi durant mes années d'études, de primaire jusqu'à l'université témoignage de ma reconnaissance aux efforts qu'ils ont consentis en ma faveur, j'espère qu'ils trouveront dans ce mémoire toute ma sympathie.

A toute personne qui me connaît de près ou de loin.

MALAK



Je dédie ce mémoire :

*A mes chers parents ma mère et mon père
Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur
Encouragement*

*A mon cher frère Oussama et sa petite famille
surtout mon adorable nièce SIRINE que dieu la protège
A La mémoire de mes grands parents que Dieu les accueille dans
son vaste paradis.*

*A mes chers oncles et tantes, maternels et paternels
Cousins et cousines*

*A mes chers et adorables amies Amira, Assia, Radia et malak
A tous mes collègues et mes amies en témoignage
de l'amitié qui nous unie et les souvenirs de tous
les moments que nous avons passés ensemble, je
vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie
pleine de santé et de bonheur.*

RADIA

Résumé

L'objectif de notre travail vise à la valorisation de quelque sous produits agroalimentaires (marc de café, noyaux de dattes, plumes de volailles, épluchure de pomme de terre) par voie microbiologique en utilisant l'isolat *Actinopolyspora* sp. et tester l'aptitude de l'isolat à produire différents hydrolases tel que : l'alpha amylase, la cellulase, la protéases, et la kératinase. Pour cela, la souche *Actinopolyspora* sp. subie une étude macroscopique et microscopique et une mise en évidence de ses caractéristiques protéolytiques sur les milieux gélosés à base de gélatine et de caséine ainsi que sa capacité à dégrader les glucides sur le milieu ISP4 a été réalisée. Par la suite une fermentation est conduite sur milieu liquide à base des différents déchets. Une série de dosages enzymatiques permet de sélectionner la souche *Actinopolyspora* sp. comme étant une souche performante. Les résultats de ce travail permettent l'application de ces enzymes dans différent domaine industriels.

Mots clé : *Actinopolyspora* sp., valorisation des déchets, activité enzymatique

Abstract

The objective of our study is the valorization of some of agrifood sub-products (coffee grounds, dates kernels, poultry feathers, potato peel) microbiologically using the isolate *Actinopolyspora* sp. and testing the aptitude of the isolate to produce different hydrolases such as: alpha amylase, cellulase, protease and keratinase. For it, the strain *Actinopolyspora* sp. has got a macroscopic and microscopic study and a demonstration of the proteolytic characters on agars media made of gelatin and casein as well as the capacity to degrade carbohydrates on agar media ISP4 was realized. After that a fermentation was achieved on liquid medium containing different organic waste. A series of enzymatic assays allows us to select the strain *Actinopolyspora* sp. as being a performing strain. The result of this study allow the application of these enzymes in a lot of industrial fields.

Key words: *Actinopolyspora* sp., valorization of organic waste, enzymatic assays.

الهدف من دراستنا هو رسكلة البقايا العضوية (اسس القهوة, نواة التمر, ريش الدواجن , قشور البطاطس) ميكروبيولوجيا باستعمال البكتريا *Actinopolyspora sp.* و اختبار قدرتها على انتاج مختلف الانزيمات : الالفا اميلاز, السيلولاز, البروتياز و الكيراتيناز. لهذا خضعت البكتريا *Actinopolyspora sp.* لدراسة ماكروسكوبية و ميكروسكوبية مع دراسة خصائصها لتحليل البروتينات على وسائط غذائية تحتوي على الجلوتين و الكازيين و قدرتها على تحليل الكربوهيدرات على الوسط ISP4. بعد ذلك يتم التخمر على وسط سائل يحتوي على مختلف البقايا العضوية. سلسلة من فحوصات النشاط الانزيمي تسمح لنا باستنتاج ان *Actinopolyspora sp.* بكتريا فعالة. نتائج هذه الدراسة تفتح الابواب لاستعمال هذه الانزيمات في عدة مجالات صناعية.

الكلمات المفتاحية : *Actinopolyspora sp.* , استعادة البقايا العضوية , النشاط الانزيمي.

Liste des Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARNr : Acide ribonucléique ribosomal

Aw : Activité de l'eau (Activity of Water)

C/N : Carbone/ Azote

CIPC : chlorprophame (isopropyl3 chlorophénylcarbamate)

EP : Epluchure de pomme de terre

GC : coefficient de Chargaff

H/C : hydrogène / carbone

ISP: International Streptomyces Project

M: Molaire

MC : Marc de café

Mg: Magnesium

Mn : Manganèse

ND : noyau de dattes

Nd : non déterminé

nm: nanomètre

P/V : Poids/Volume

PL : Plumes de volaille

SA : Sulfate d'ammonium

VEM/kg : Valeur énergétique moyenne / Kilogramme

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Habitats de certains actinomycètes (Grigороva et Norris,1990)..... | 9 |
| Tableau 2 : Composition élémentaire du marc de café..... | 16 |
| Tableau 3 : Les principaux composés du marc de café..... | 16 |
| Tableau 4 : Composition chimique du noyau de dattes | 19 |
| Tableau 5 : Composition chimique moyenne des co-produits de la pomme de terre.... | 21 |
| Tableau 6 : composition chimique de plumes de volailles..... | 24 |
| Tableau 7 : Procédés de valorisation des plumes de volailles | 25 |
| Tableau 8 : milieux de culture à base de déchets..... | 29 |
| Tableau 9 : Résultats de l'étude macroscopique après 7 jours d'incubation | 37 |
| Tableau 10 : Résultats de l'étude macroscopique après 14 jours d'incubation..... | 38 |
| Tableau 11 : Résultats de l'étude macroscopique après 21 jours d'incubation..... | 39 |
| Tableau 12 : Photos représentant le mycélium aérien et végétatif de la souche étudiée..... | 40 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes | 3 |
| Figure 2 : Observation au microscope électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes..... | 4 |
| Figure 3 : Cycle de développement des actinomycètes..... | 7 |
| Figure 4 : Observation microscopique d'un mycélium aérien de la souche sg3 montrant la morphologie des sporanges et des spores..... | 8 |
| Figure 5 : Répartition de production des antibiotiques entre les actinomycètes, les Champignons, et d'autres bactéries non filamenteuses..... | 12 |
| Figure 6 : Grain de marc de café commercial par microscopie électronique à balayage..... | 15 |
| Figure 7 : Différentes voies possibles de création de valeurs à partir des lipides du marc de café..... | 18 |
| Figure 8 : Différentes voies possibles de création de valeurs à partir du marc de café.. | 19 |
| Figure 9 : Différentes parties de la plume..... | 24 |
| Figure 10 : Technique de culture sur lamelle..... | 27 |
| Figure 11 : A) noyaux de dattes / B) la poudre de dattes..... | 28 |
| Figure 12 : A) les épiluchures de pomme de terre / B) la poudre des épiluchures | 28 |
| Figure 13 : A) plumes de volailles /B) farine de plume..... | 28 |
| Figure 14 : marc de café..... | 29 |
| Figure 15 : A) Filtration sur papier Wattman n°1/ B) Filtration sur porte membrane stérile | 30 |
| Figure 16 : Organigramme représentant le dosage des sucres totaux (Dubois et al., 1956)..... | 31 |
| Figure 17 : Organigramme représentant le dosage des protéines (Lowry et al.,1951).. | 32 |
| Figure 18 : Organigramme représentant le dosage de l'activité amylasique (Bernfeld, 1955)..... | 33 |
| Figure 19 : Organigramme représentant le dosage protéase (Anson, 1938)..... | 34 |
| Figure 20 : Organigramme représentant le dosage de kératinase (yamamura et al.,2002)..... | 35 |
| Figure 21 : Organigramme représentant le dosage de cellulase (Ghose, 1987)..... | 36 |
| Figure 22 : Culture de <i>Actinopolyspora</i> sp. sur le milieu gélosé à base de gélatine...41 | |
| Figure 23 : Activité amylasique de l'isolat <i>Actinopolyspora</i> sp. sur le milieu ISP4.41 | |

| | |
|---|----|
| Figure 24 : Histogramme représentant le taux des sucres totaux dans les différents milieux de culture..... | 42 |
| Figure 25 : Histogramme représentant la production des protéines par l'isolat <i>Actinopolyspora</i> sp..... | 43 |
| Figure 26 : Histogramme représentant l'activité amylasique chez l'isolat <i>Actinopolyspora</i> sp..... | 44 |
| Figure 27 : Histogramme représentant l'activité protéolytique produite par l'isolat <i>Actinopolyspora</i> sp..... | 45 |
| Figure 28 : Histogramme représentant l'activité kératinolytique de l'isolat <i>Actinopolyspora</i> sp..... | 46 |
| Figure 29 : Histogramme représentant l'activité cellulolytique de l'isolat <i>Actinopolyspora</i> sp..... | 47 |

La pollution peut être comprise comme la contamination de l'air, de l'eau ou du sol par la production industrielle. L'industrie a produit (23,8 millions de tonnes de déchets en 2008) altérant la santé de l'homme, la qualité de la vie ou le fonctionnement naturel des écosystèmes.

Le recyclage de ces déchets tel que les résidus agroalimentaire (marc de café, les épluchures de pomme de terre, les noyaux de dattes, les plumes de volaille.....etc.) participe à la dépollution de l'environnement..

Dans le domaine de la biotechnologie industrielle les microorganismes restent la source la plus importante pour la production des hydrolases tel que (les amylases, protéases, cellulase, kératinases....etc.). Ces derniers sont les enzymes les plus recherchés dans la bioindustrie et l'agroalimentaire. Parmi ses microorganismes les bactéries de la famille des actinomycètes qui sont les plus étudié dans la production et la commercialisation de ces enzymes. Ces bactéries forment un grand groupe de procaryotes, les plus important dans la nature (**Lacey, 1997**). Les enzymes après les antibiotiques sont les produits les plus important des actinomycètes (**Lopes et al., 1999**).

À ce titre, l'objectif premier de ce travail de mémoire est l'étude des caractères macroscopiques et microscopique de *Actinopolyspora* sp. ainsi que l'aptitude biotechnologique de cette souche et sa capacité à produire les hydrolases. Cette contribution s'organise autour de trois parties.

La première partie de notre travail est consacrée à la description bibliographiques concernant les actinomycètes et leurs morphologie, physiologie, taxonomie, écologie et métabolisme ainsi qu'à leurs importance dans des différents domaine.

La seconde partie dite expérimentale est structurée en deux parties. La première est consacrée à un ensemble de techniques d'étude des caractères morphologique et microscopique de la souche *Actinopolyspora* sp. La seconde à l'aptitude biotechnologique de cette souche en utilisant différents milieux différentes techniques pour le dosage des sucres totaux, des protéines totales et les différentes activités enzymatiques telles que : alpha amylase, les protéase, la kératinase et la cellulase.

1. Actinomycètes

L'histoire des actinomycètes peut être divisée en 5 grandes périodes. La première période qui va de 1877 à 1890 environ, a été nommée « période médicale » du fait que l'intérêt porté à ces microorganismes était dû presque exclusivement aux propriétés pathogènes qu'on leur attribuait (**Baldacci, 1962**). La seconde période (1900-1940) (**Mariat et Sebald, 1990**) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de **Rossi-Doria** (1890-91), **Gasparini** (1891-94), **Krainsky** (1914), **Waksman** (1919), **Lieske** (1921), **Orskov** (1925), **Jensen** (1931-33) et **Krassinikov** (1938). Elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinomycètes et les premières tentatives pour distinguer deux groupes : les pathogènes et les saprophytes.

L'époque suivante est celle de la découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en 1940 et le nom de **Waksman** lui est indiscutablement lié avec la découverte, en 1944, de la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* (**Le minor, 1989 ; Sanglier et Trujillo, 1997**). Cette période a résulté en un accroissement brusque du nombre d'espèces décrites (**Baldacci, 1962**). Ainsi, la période suivante (1940- 1970) peut être définie comme une période de développement de critères morphologiques et biochimiques pour la classification des actinomycètes, en parallèle avec la meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries de leur intérêt pour la production de métabolites secondaires et leur potentialité de biodégradation de composés organiques. Enfin, depuis les années 1960, l'essor des méthodes de génétique, initiées par Hopwood (**Chater, 1999 ; Hopwood, 1973**) puis de génomique (**Hopwood, 2003**) a révolutionné la classification des espèces (**Ventura, 2007**) puis les méthodes de découverte de métabolites secondaires (**Donadio, 2002**) et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes.

1.1 Définition des actinomycètes

Les actinomycètes, bactéries à coloration de Gram positive dont la majorité sont filamenteuses, leur croissance donne lieu à des colonies circulaires (**Eunice et Prosser, 1983**), constituées d'hyphes c'est-à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Gottlieb, 1973; Lechevalier et Lechevalier, 1985 ; Eunice et Prosser, 1983**). Cela explique leur dénomination « Actinomycetes ». Du Grec aktino, mycetes « champignons à rayons » ou champignons rayonnant. (**Gottlieb, 1973 ; Pandey et al., 2003**). Les actinomycètes

se situent dans l'ordre des actinomycétales (**Marial et Sebald, 1990**). Ces microorganismes ont longtemps été rejetés de l'ensemble des bactéries et confondus avec les champignons du fait de l'allure mycosique des maladies qu'ils provoquent (**Gazenko et al., 1998 ; Hirvonen et al., 1997**) et aussi de leur morphologie, parfois fungoïdes filaments ramifiés ainsi que de leur organes de sporulation (**Becker et al., 1965 ; Reponen et al., 1998**). Les bactériologistes considèrent les actinomycètes comme des bactéries tandis que les mycologues les considèrent comme des champignons (**Gottlieb, 1973**).

1.2 Propriétés générales des actinomycètes

Lorsque les actinomycètes croissent sur un substrat solide comme la gélose, le réseau ramifié d'hyphes formé se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier (Figure1) pour former un mycélium végétatif (**Prescott, 2010**). La plupart des actinomycètes ne sont pas mobiles, chez les quelques genres dotés de mobilité, celle-ci est limitée aux spores flagellées (**Prescott, 2010**). La composition de la paroi cellulaire varie fortement d'un groupe à l'autre et prend une importance taxinomique considérable (**Prescott, 2010**). La paroi ne renferme ni chitine ni cellulose mais du peptidoglycane, et leur cytologie est celle des bactéries. Ce sont des bactéries hétérotrophes utilisant des molécules organiques préfabriquées, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-autotrophique (**Hubert et Lechevalier, 1985**). Ils peuvent vivre dans les écosystèmes riches en matière inorganique. Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (**Beckers et al., 1982**).

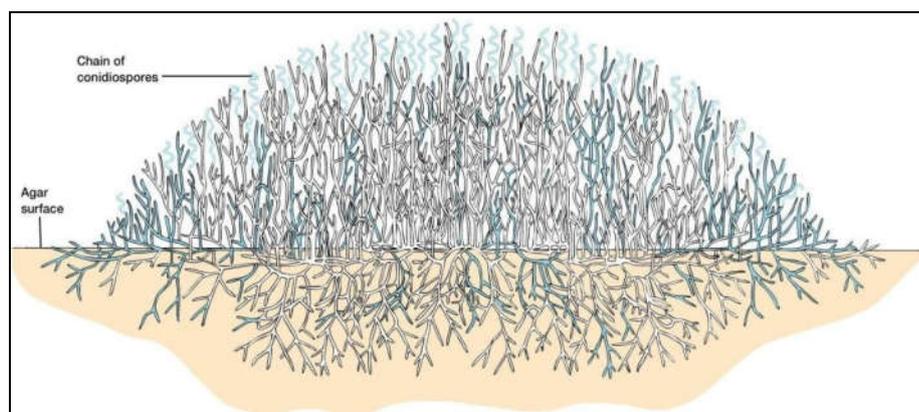


Figure 1: Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivants (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores (**Prescott, 2010**).

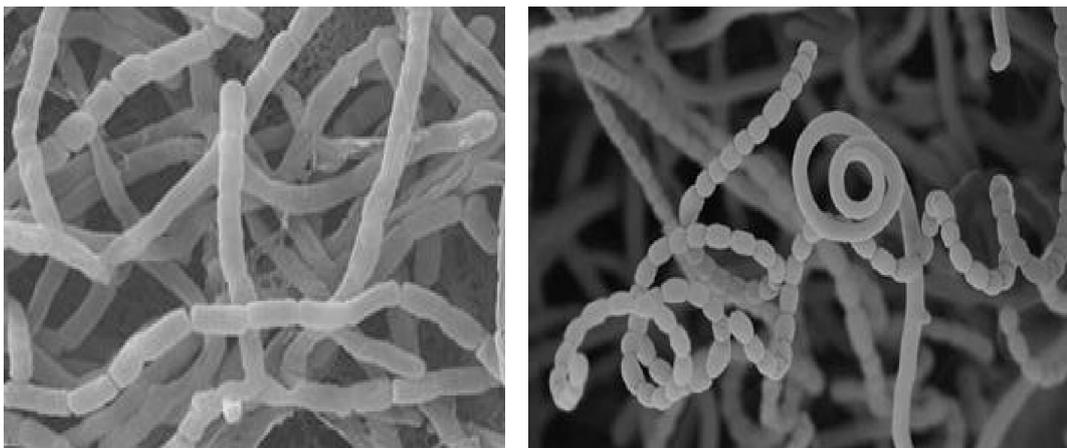
1.3 Morphologie

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Lechevalier, 1985**).

Les colonies formées sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- * Colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- * Colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- * Colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Le mycélium des actinomycètes présente une grande diversité de morphologies. On rencontre des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des *Mycobacterium*), d'autres au mycélium fugace, qui se fragmente (certaines *Nocardia*), et enfin des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *Streptomyces*. Les mycéliums fragmentaires et permanents sont illustrés sur la (figure 2).



(A) *Nocardia*

(B) *Streptomyces*

Figure 2: Observation au microscope électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation (**Belyagoubi, 2014**).

Les différents groupes d'actinomycètes peuvent se sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores hautement résistantes à la chaleur et autres adversités. Les conidies peuvent, suivant les groupes, être produites:

- isolément (*Micromonospora*)
- deux à deux longitudinalement (*Microbispora*)
- en courtes chaînes (*Actinomadura*)
- en longues chaînettes (*Streptomyces*)

Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, sinuées ou en spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores (*Streptoverticillium*).

1.4 Physiologie de développement

La croissance des actinomycètes est influencée par plusieurs paramètres physiologiques en particulier : l'oxygène, le pH, la température...etc.

1.4.1 L'oxygène

On peut diviser les actinomycètes selon leurs types respiratoires en deux groupes.

* Les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre type *Actinomyces*, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs, Ils font partie de la flore de Veillons (**Avril et al., 1992**).

* Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier dans le sol (**Avril et al., 1992**).

1.4.2 Le pH

Pour le pH, la plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8. D'autres sont capable de croître à des valeurs de pH inférieurs à 4 (**McKinney, 2004**), telle est le cas pour les souches acidophiles comme le genre *Streptacidiphilus* (**Wang et al., 2006**).

1.4.3 La température

La température optimale de croissance est entre 25 à 30°C, mais les espèces thermophiles peuvent croître à des températures entre 55 et 65°C (**Rangaswami *et al.*, 2004**).

1.4.4 L'activité de l'eau (Aw)

La germination des spores de la plupart des actinomycètes peut être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 (**Zvyagintsev *et al.*, 2005**).

1.4.5 Tolérance en Na Cl

Selon leurs exigences en Na Cl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :

* Les halophiles : ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (P/V) pour les faiblement halophiles, jusqu'à 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.

* Les halotolérants : acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolèrent de 6 à 8 % de NaCl (P/V)) ; les modérément tolérants (tolèrent de 18 à 20 % de NaCl (P/V)) et les extrêmement tolérants (se développent de 0 % jusqu'à saturation en NaCl) (**Nanjani, 2011**).

1.4.6 Cycle de développement

Les actinomycètes ont un cycle de développement complexe (Figure 3). Il débute par la germination d'une spore, qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie. Le développement du mycélium de substrat vers la partie superficielle donne le mycélium "secondaire" ou aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores, qui sont des agents de dissémination (**Kim *et al.*, 2004**).

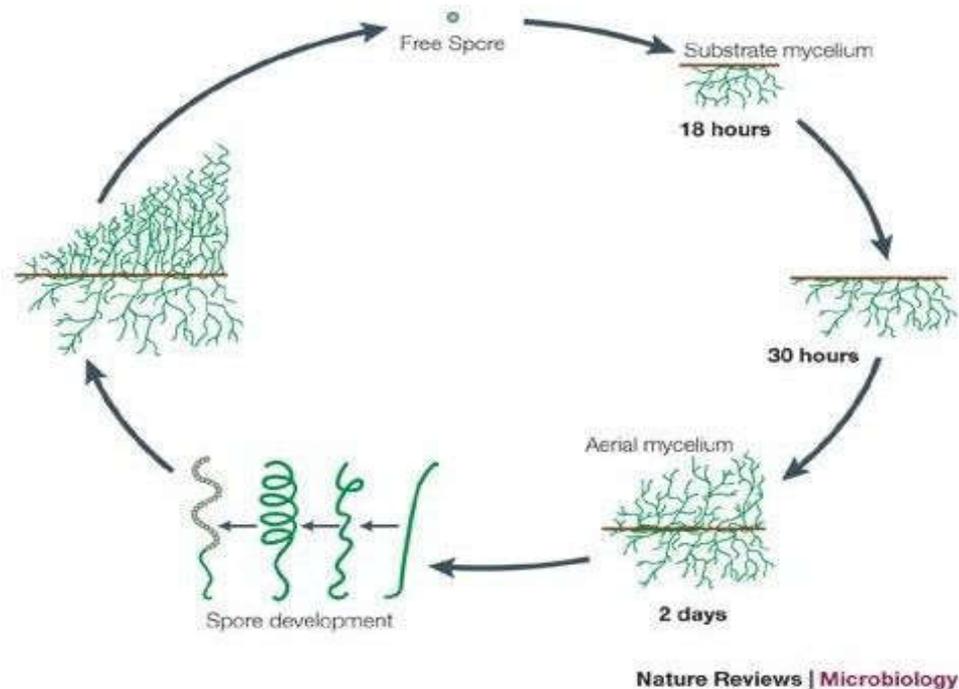


Figure 3: Cycle de développement des actinomycètes (Breton *et al.*, 1989).

1.5 Taxonomie des actinomycètes

Les critères classiques utilisés pour l'identification des actinomycètes dans les genres et des espèces ont été complètement passés en revue et discutés, y compris des aspects écologiques, morphologiques, culturels et physiologiques.

Le chimio-type, le type de sucre de cellules, type peptidoglycane, type d'acide gras, ména quinone principal, type de phospholipide et pourcentage moléculaires de GC de l'ADN sont également les outils utiles dans l'identification des actinomycètes (Goodfellow et Cross, 1984 ; Goodfellow *et al.*, 1988; Goodfellow, 1989). Récemment des techniques de biologie moléculaire basées sur l'analyse de l'ARN 16S et les techniques de DNA/DNA- hybridation sont largement utilisées (Rainey *et al.*, 1996 ; Maidak *et al.*, 1999).

La classification des actinomycètes est en remaniement continue depuis près de 40 ans. En 1964, une étude intitulée "International *Streptomyces* Project" (I.S.P) a été entreprise pour évaluer les caractères taxonomiques (Shirling et Gottlieb, 1966).

En 1989, Williams *et al.*, éditent le volume 4 de la 9^{ème} édition du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" où la taxonomie numérique tient une place relativement privilégiée. Cette technique consiste à comparer différentes souches avec le maximum de paramètres et d'établir des coefficients de similarité. Cependant, les clés

de détermination les plus couramment utilisées restent actuellement celles du Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8^{ème} édition).

Les principaux caractères utilisés pour différencier les familles et les genres sont surtout d'ordre morphologique et biochimique. Pour déterminer la famille d'appartenance d'une souche d'actinomycète, les principaux critères morphologiques pris en charge sont: la présence ou non d'un mycélium vrai, la production ou non d'un mycélium aérien, la fragmentation ou non du mycélium végétatif, la production ou non de structures spéciales comme les sporanges, les sclérotés et les zoospores. A ces critères morphologiques, s'ajoutent d'autres critères chimio-taxonomiques: l'examen de la composition en acides aminés et en glucides et les caractéristiques des enveloppes cellulaires. Les chercheurs ont classés les actinomycètes dans le règne des procaryotes, à la division des Firmicutes, à la classe des *Thalobacteria* et l'ordre des *Actinomycetales* (Goodfellow *et al.*, 1989). Le groupe des actinomycètes comprend actuellement plus de 40 genres et quelques centaines d'espèces (Kitouni, 2007).

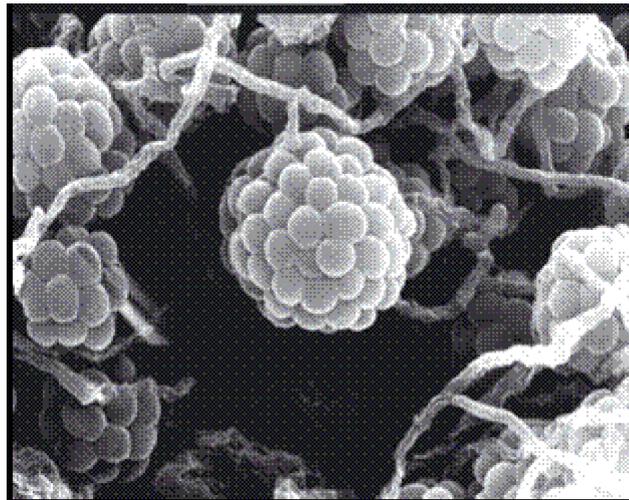


Figure 4: Observation microscopique d'un mycélium aérien de la souche d'actinomycète la morphologie des sporanges et des spores (Boudjelle *et al.*, 2007).

1.6 Écologie et habitat

Les actinomycètes sont un groupe de bactéries omniprésent qui se produisent dans la multiplicité d'environnement naturel et synthétique. Ils se trouvent dans différentes niches tels que le sol, l'air, l'eau douce, les océans et sur une variété de matériel comme l'engrais, les résidus de végétaux de compost et des produits alimentaires (Tableau 1) (kumar *et al.*, 2003).

Tableau 1 : Habitats de certains actinomycètes (Grigorova et Norris, 1990).

| Actinomycètes | Habitats |
|-------------------------------------|---|
| <i>Actinoplanes</i> | L'eau douce, la litière végétale, le sol. |
| <i>Frankia</i> | Les nodules racinaires des non légumineux. |
| <i>Micromonospora</i> | L'eau douce, les sédiments, les sols humides. |
| <i>Nocardia amarae</i> | Les boues activées. |
| <i>Rhodococcus coprophilus</i> | déjections animales, l'eau, le sol. |
| <i>Actinopolyspora rectivirgula</i> | Moisi du foin. |
| <i>Streptomyces</i> | Le sol, la litière végétale, l'eau. |
| <i>Thermoactinomyces</i> | Le compost. |

1.6.1 Le sol

Les actinomycètes du sol sont saprophytes et participent à la biodégradation de la matière organique. Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2m de profondeur c'est-à-dire dans (la rhizosphère) (Omura, 1992).

1.6.2 L'air

L'air constitue pour les actinomycètes un moyen de transport non pas un habitat (Gazenko *et al.*, 1989 ; Reponen *et al.*, 1989).

Les actinomycètes se développent et libèrent leurs spores dans l'air provoquant lorsque elles sont inhalées des maladies respiratoires (Gazenko *et al.*, 1985 ; Suntari *et al.*, 2002).

1.6.3 Eaux douces et eaux marines

Les actinomycètes ont été également isolés à partir des environnements aquatiques tels l'eau marine et les sédiments marins (Jansen *et al.*, 1991 ; Ghanem *et al.*, 2000)

L'écologie des actinomycètes marins a été discutée par Goodfellow et Williams en 1983 (Goodfellow et Williams, 1983), Il a été démontré que les actinomycètes constituent une petite partie de la flore totale marine, mais leur nombre est faible par comparaison à celui dans les eaux douces ou les sols (Kitouni *et al.*, 2005).

1.6.4 Les plantes

Certains actinomycètes sont des symbiotes des plantes (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985**). C'est l'exemple du genre *Frankia* qui forme des nodules au niveau des racines des plantes et leur procure de l'azote. L'association est appelée actinorhizienne (**Prescot et al., 2007**).

1.6.5 Les actinomycètes du compost et matériel relatif

Les microbes mésophiles y compris les actinomycètes effectuent la décomposition des substrats riches en nutriments et créent une température plus élevée qui fournissent des conditions idéales pour la croissance rapide des actinomycètes thermophiles. *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, *Micropolyspora*, *Pseudonocardia* et *Streptomyces* sp, *Thermonospora* ont été isolés à partir de tels substrats auto-chauffée. Les espèces de *Thermomonospora* se développent particulièrement bien pendant la deuxième phase de préparation d'engrais pour la culture de champignon tandis que les *Streptomyces diastaticus* et *Thermoactinomyces vulgaris* prédominent dans le compost cuit à la vapeur et sa poussière (**Kumar et al., 2003**).

1.7 Métabolisme

La croissance des actinomycètes est plus lente que celle des autres bactéries, le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (**Ottow et Glathe, 1968 ; Larpen et Sanglier, 1989**). Les actinomycètes se séparent en deux groupes physiologiques. Le plus important est composé de germes ayant un métabolisme oxydatif et habitant surtout le sol. Le second rassemble des bactéries fermentatives, hôtes des cavités naturelles de l'homme et des animaux (**Le minor, 1989**). Les formes oxydatives, aérobies, sont localisées principalement dans le sol à partir duquel elles sont disséminées. L'archétype de cette catégorie est le genre *Streptomyces* (**Reponen et al., 1998**).

Les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, sont illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (**Mariat et Sebald, 1990**).

En général, les actinomycètes sont des bactéries chimoorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères

complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

1.8 Importance des actinomycètes

Les actinomycètes possèdent une importance économique majeure et aussi possèdent des rôles importants dans le sol et dans les interactions avec les plantes (**Conn, 2005**), mais également pour la synthèse de nombreux métabolites d'intérêt biotechnologique ayant des applications dans divers domaines industriels, et en particulier pharmaceutiques (**Djinn, 2008**). Ils présentent une variété de cycles vitaux qui sont uniques parmi les procaryotes et Jouent un rôle majeur dans le recyclage de la matière organique dans l'écosystème du sol (**Hirsch et Christensen, 1983**).

1.8.1. Dans le domaine agronomique

La fonction écologique des actinomycètes au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques. Les actinomycètes, fort nombreux dans les sols, se joignent aux autres bactéries et aux champignons comme nettoyeurs de la nature et formateurs d'humus. Ils prolifèrent surtout quand l'action des bactéries ordinaires touche à sa fin, on pourrait dire qu'ils terminent leur action. Ils jouent un rôle prépondérant dans la fertilisation des sols (**Mariat et Sebald, 1990**).

1.8.2. La production des antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules issues du métabolisme secondaire qui ont été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire (**Coates et Hu, 2007**). Les antibiotiques comme les pénicillines sont des exemples de métabolites secondaires intéressants, produits par des procédés biotechnologiques (**Bill, 2007**). Sur 8100 molécules qui ont été recensées vers la fin de l'année 1999, 45,6% ont été produites par le genre *Streptomyces*, 16,0% par des actinomycètes autres que *Streptomyces*, 16,9% par d'autres bactéries et 21,5% par des champignons. En plus du nombre important de ces molécules, un autre aspect impressionnant des antibiotiques est la diversité de leurs structures chimiques (**Demain et Lancini, 2006**).

Parmi les microorganismes producteurs de métabolites secondaires possédant

une activité anticellulaire, 70% appartiennent au groupe des actinomycètes et parmi eux, on trouve 95% de *Streptomyces*. Environ 21% de ces métabolites présentent une activité antifongique se répartissant également entre substances de structure polyénique et non-polyénique (**Bastide et al., 1986**).

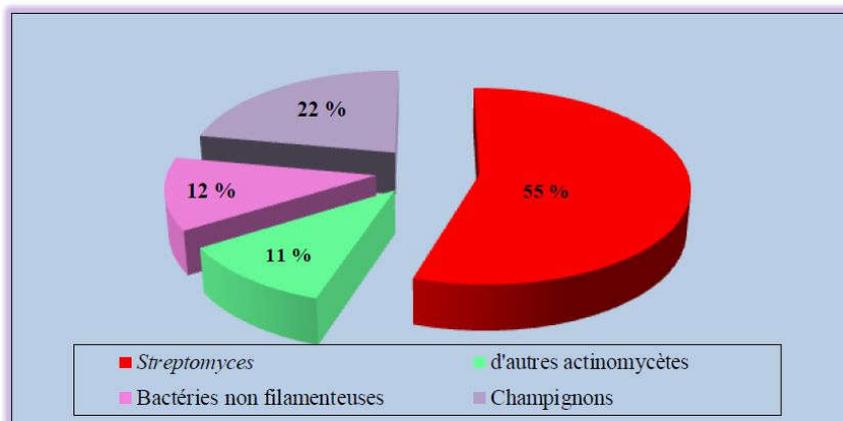


Figure 5 : Répartition de production des antibiotiques entre les actinomycètes, les champignons, et d'autres bactéries non filamenteuses (**Berdy, 2005**)

1.8.3. La production des enzymes

Après les antibiotiques, les enzymes sont les produits industriels les plus importants des actinomycètes (**Theilleux, 1993**). En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que des protéases, des chitinases (**Vonothini et al., 2008**), des amylases, des cellulases, des xylanases (**Park et al., 2002**).

Les actinomycètes produisent une large gamme d'enzymes hydrolytiques ; capable de fragmenter les peptides de la paroi ; y compris des nucléases, des lipases et des enzymes hydrolysant les polysaccharides. Les protéases d'actinomycètes sous forme libre ou immobilisées sont employées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, en tannerie et comme additifs dans les détergents (ex : pronase de *S.griseus*) (**Theilleux, 1993**). Par ailleurs, les actinomycètes produisent de fortes quantités de chitinases et de β -1-3-glucanase et causent des plasmolyses et des lyses des parois cellulaires des germes pathogènes (**Conn, 2005**). Les enzymes peuvent avoir des applications médicales, en Biologie moléculaire, en industrie alimentaire ou celle des détergents, ...etc. (**Loucif, 2010**).

- ***Les cellulases***

Les actinomycètes, en particulier les espèces thermophiles et les *Streptomyces*, excrètent des enzymes qui dégradent la cellulose (**Sanglier et al., 1993 ; Mason et al., 2001**). D'autres espèces d'actinomycètes produisent des enzymes qui dégradent l'hémicellulose (**Rivas et al., 2003**).

- ***Les ligninases***

Beaucoup d'espèces d'actinomycètes telles que *Streptomyces thermoviolaceus*, *Streptomyces viridosporus*, *Streptomyces fusca* ont une activité lignocellulolytique et sont capables de produire l'hémoperoxydase, enzyme qui dégrade la lignine (**Mason et al., 2001**).

- ***Les pectinases***

La production d'enzymes pectolytiques est élaborée par différents genres d'actinomycètes tels que : *Micromonospora*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* et les *Streptomyces* (**Demain et Solomon, 1985 ; Sanglier et al., 1993**).

- ***Les xylanases***

Elles sont élaborées par des espèces thermophiles du genre *Streptomyces* et des souches du genre *Promicromonospora*, ainsi que par différentes espèces de *Microbispora*, *Micromonospora* et *thermomonospora* (**Demain et Solomon, 1985 ; Rivas et al., 2003 ; Petrosyan et al., 2003**).

- ***Les amylases***

Elles sont produites par la majorité des actinomycètes, les plus intéressantes sont celles produites par les espèces thermophiles comme *Thermoactinomyces vulgaris*, *Thermomonospora curvata*, *Saccharomonospora viridis* (**Demain et Solomon, 1985 ; Sanglier et al., 1993**) et les espèces du genre *Streptomyces* comme *Streptomyces* sp20r (**Oussadi et Kitouni, 2015**).

- ***Les dextrinases***

Elles sont excrétées par de nombreuses souches d'*Oerskovia xanthineolytica* et *Actinomyces israeli* (Demain et Solomon, 1985).

- ***Les chitinases***

Elles sont produites par de nombreux genres d'actinomycètes tels que *Streptomyces griseorubens* C9 (Gasmî et Kitouni, 2017) ainsi que les genres *Microbispora*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Planobispora* *Planomonospora*, *Thermoactinomyces*, *Thermomonospora* et par les espèces *Nocardia mediterranei*, *Actinomadura pelletierii* (Hsu et Lockwood, 1975 ; Demain et Solomon, 1985).

- ***Les lipases***

Les lipases endo et exocellulaires sont isolées à partir de l'espèce *Thermoactinomyces vulgaris*. Des phospholipases sont également isolées avec un taux élevé à partir des espèces du genre *Streptoverticillium* et de l'espèce *Micromonospora chalcea* (Demain et Solomon, 1985).

- ***Les protéases***

Des protéases alcalines thermostables sont produites par les espèces thermophiles du genre *Micropolyspora*, d'autres protéases résistantes à la majorité des inhibiteurs de protéases, sont isolées à partir du genre *Oerskovia*, d'autres genres d'actinomycètes tel que les genres *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Planomonospora*, *Planobispora* sont capables de produire des kératinases. Les élastinases sont élaborées par plusieurs souches appartenant à 14 genres d'actinomycètes (Demain et Solomon, 1985 ; Chitte *et al.*, 1999).

2. Marc de café

L'Algérie importe des quantités importantes de café. Pour la wilaya de Tizi-Ouzou seule, la Direction Commerciale a estimé, pour l'année 1994, à 3285 tonnes, la consommation de café. Sachant que le marc représente les 3/5ème du café vert (Barbera, 1965), 196 tonnes de ce résidu ont été donc gaspillées et jetées dans la nature alors qu'elles pourraient être valorisées ?. Le marc de café présente plusieurs propriétés physiques et chimiques. De ces propriétés découlent des possibilités de valorisation et d'utilisation de cette matière. Au regard des différentes utilisations possibles du marc

de café, les impacts environnementaux, économiques et sociaux sont étudiés afin de pouvoir juger de la pertinence de récupérer le marc de café de manière spécifique.

2.1. Propriétés du marc de café

Le marc de café possède plusieurs propriétés, physiques, chimiques et également bioactives.

2.1.1 Propriétés physiques du marc de café

Le marc de café possède un haut taux d'humidité variant entre 55 et 80 %. (Gomez-de la Cruz *et al.*, 2015) Plus l'humidité est grande plus la croissance microbienne est favorisée, donc des stratégies de conservations optimales sont nécessaire afin de récupérer une matière de qualité. Ces stratégies peuvent représenter des coûts économiques supplémentaires pour le transport. (Cruz *et al.*, 2009). En ce qui concerne la morphologie des grains de marc de café, la figure 6 illustre un grain de marc de café issu des commerces et prise par microscopie électronique à balayage.

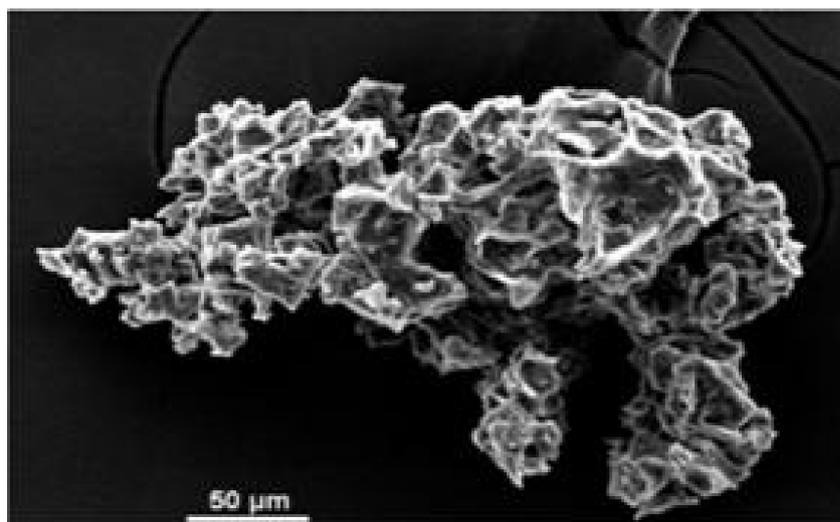


Figure 6: Grain de marc de café commercial par microscopie électronique à balayage (Chen *et al.*, 2013, p. 82)

2.1.2 Propriétés chimiques du marc de café

Le carbone est l'élément majoritaire du marc de café. Le tableau 2 présente la composition élémentaire du marc de café malgré que cette dernière peut changer d'une variété à une autre.

Tableau 2 : Composition élémentaire du marc de café (**Limousy *et al.*, 2013, p. 325**)

| Éléments | Quantités |
|---------------|-----------|
| Carbone (C) | 49.7% |
| Hydrogène (H) | s.d. |
| Azote (N) | 2.3% |
| Oxygène (O) | s.d. |
| Ratio H/C | s.d. |
| C/N | 22% |

Le marc de café est composé essentiellement de polysaccharides, de lipides, de protéines, de polyphénols et de minéraux (**Zamora *et al.*, 2015**). Le tableau 3 présente la proportion des principaux composés retrouvés dans le marc de café.

Tableau 3 : Les principaux composés du marc de café (**Limousy *et al.*, 2013, p. 326 ; Musatto *et al.*, 2011b, p. 371 ; Mantell, 1975, p. 367**)

| Éléments | Quantités |
|-------------|-----------------------------|
| Glucides | 45,3 % |
| Lipides | 9,3-16,2 % |
| Protéines | 14 % |
| Minéraux | 6800 mg/kg de matière sèche |
| Polyphénols | 13-18 mg acide gallique éq |

2.2 Les utilisations possibles du marc de café

De multiples voies de valorisation et d'utilisations sont possibles avec le marc de café. Parmi celles-ci se retrouvent les productions d'éthanol, de biodiesel, de combustibles pour les fours industriels et de granules de combustion pour les fours résidentiels. Le marc de café peut aussi être utilisé comme substrat pour la culture de micro-organismes, comme compost, peut être utilisé dans l'industrie alimentaire, dans la production de biomatériaux, dans la production de charbon actif, dans le traitement des eaux usées des industries et de l'eau potable, etc. Pour toutes les voies de valorisation qui sont discutées, l'utilisation du marc de café arabica ou robusta est possible, aucune distinction n'a été faite par les études.

2.3 Impacts environnementaux de la valorisation du marc de café

La récupération du marc de café a des impacts sur l'environnement. Aussi, en fonction de la valorisation effectuée, celle-ci a également des impacts sur l'environnement, notamment la diminution des pressions sur le territoire, sur certaines ressources naturelles, et sur la qualité des eaux.

2.3.1 Écotoxicité

Le marc de café présente une certaine écotoxicité à cause de la présence de caféine, de polyphénols et de tanins. De plus, cette matière possède une forte demande biologique en oxygène et ne peut être rejetée dans la nature telle quelle.

2.3.2 Diminution des pressions sur les ressources naturelles

La récupération spécifique du marc de café et sa valorisation diminuerait les pressions mises sur les ressources naturelles dépendamment de la mise en valeur effectuée. Par exemple, La production de papier et de granules de combustion avec 50 % de marc de café diminuerait la quantité de bois qui devrait être utilisée pour répondre aux mêmes besoins. (Québec, 2015).

2.3.3 Alternative au plastique

Dans l'industrie du cosmétique, l'utilisation du marc de café en remplacement des microbilles de plastiques dans les gels douche, diminuerait les pressions sur

l'environnement, notamment sur la biosphère aquatique qui mange ces microbilles. De plus, ces microbilles accumulent certaines toxines. (Castañeda *et al.*, 2014).

2.3.4 Traitement des eaux

Certains produits, dont le bleu de méthylène, sont difficiles à enlever des eaux usées avec les techniques habituelles, dont les traitements biologiques et les précipitations chimiques. En parallèle, d'autres méthodes comme l'utilisation de charbon activé sont efficaces, mais coûteuses. Ainsi, il a été montré que le marc de café est un candidat de choix dans l'adsorption de colorant cationique de telles industries. (Franca *et al.*, 2009)

2.4 Impacts économiques de la valorisation du marc de café

Le marc de café possède de nombreuses voies de mise en valeur. Plusieurs produits peuvent être créés en valorisant cette matière. Les figures 7 et 8 résument, de manière non exhaustive, les différentes voies possibles de production de produits à forte valeur ajoutée.



Figure 7 : Différentes voies possibles de création de valeurs à partir des lipides du marc de café (Barbero et Flore, 2015)



Figure 8 : Différentes voies possibles de création de valeurs à partir du marc de café (Barbero et Flore, 2015)

3. Noyau de dattes (ND)

Le noyau est entouré d'un endocarpe parcheminé ; il est de forme allongée, plus ou moins volumineux, lisse ou pourvu de protubérances latérales en arêtes ou ailettes, avec un sillon ventral; l'embryon est dorsal, sa consistance est dure et cornée (Dammak *et al.*, 2007). Le noyau possède un albumen (endosperme) dur et corné dont l'embryon dorsal est toujours très petit par rapport à l'albumen (2 à 3 mm) (Darleen *et al.*, 1985).

3.1 Composition chimique du ND

Le tableau suivant représente la composition chimique moyenne du noyau de datte selon différents auteurs .

Tableau 4 : Composition chimique du noyau de dattes

| Composition chimiques | Teneur | Références |
|-----------------------------------|-----------------|--|
| Teneur en eau en % | 7 à 19 | Boudechiche <i>et al.</i> , 2009 |
| Matière protéique (Shahal) (% MS) | 2,29 | Al-Farsi <i>et al.</i> , 2007 (Variété Shahal) |
| Matière grasse en % | 13,2 | Amellal, 2008 ; Djouab, 2007 |
| Sucres en % | 4,4 à 4,6 | Lecheb, 2010 |
| Fibres en % | 70 | Almana <i>et al.</i> , 1994 |
| Polyphénols (% MS) | 0,0215 à 0,0526 | Besbes (2004b) |

3.2 Différentes utilisations du noyau de dattes

3.2.1 Alimentation animale

Pour augmenter le taux de croissance chez les animaux, la poudre du noyau de datte est additionnée à l'alimentation de bétail, elle a une action qui contribue à une augmentation des œstrogènes et/ou testostérone dans le plasma (**Jassim et Naji, 2007**). De son côté, **Osman et al. (1999)** ont signalé les effets semblables des noyaux et des pulpes de dattes dans l'alimentation des poissons et des animaux laitiers. Actuellement, les noyaux de différentes variétés de dattes sont principalement utilisés dans l'alimentation du bétail (bovin, mouton, chameaux, et les volailles) (**Al-Farsi, 2008 ; Rahman et al., 2007**).

3.2.2 Fabrication du charbon actif

Les déchets agricoles lignocellulosiques (substances organiques et inorganiques) contiennent des valeurs élevées en carbone (**Banat et al., 2003**), ils sont considérés comme une bonne source de production du charbon actif (**Haimour et Emeish, 2006**). Les travaux d'**Addoun et al., (2000)** montrent que la carbonisation du noyau de dattes peuvent conduire à l'obtention de charbon actif, et peuvent avoir des applications diverses comme la purification des gaz, élimination des phénols, traitement des eaux polluées et dans la pharmacologie (**Alhamed, 2009 ; Bouchelta et al., 2008**). Les résultats d'**El Nemer (2007)** et ses collaborateurs montrent que Le charbon actif produit par les noyaux de dattes a une capacité d'adsorption élevée qui permet d'éliminer le chrome (Cr) toxique de différentes solutions.

3.2.3 Fabrication du pain

La richesse des noyaux de dattes en fibres diététiques totale est une caractéristique très recherchée pour la fabrication du pain. Avec un taux de 10%, la poudre de noyau de datte peut remplacer les autres sources de fibres non céréalières comme le son de blé par exemple, surtout dans les pays dont les conditions climatiques ne permettent pas de cultiver ce type de céréales et dont la production de datte est importante (**Almana et al., 1994**).

3.2.4 Extraction de polysaccharides

Les noyaux de dattes ont une fraction polysaccharidique très importante et ce qui peut être exploitée. Un travail consistant à valoriser la fraction polysaccharidique du noyau de datte variété Degla Baïda algérienne a donné des résultats encourageants (Bouanani *et al.*, 2007). Les polysaccharides végétaux sont des macromolécules qui forment au contact de l'eau des solutions colloïdales ou des gels, ces propriétés permettent d'obtenir des gélifiants.

4. Les épiluchures de pommes de terre

Les pelures (14 % de la pomme de terre environ) sont systématiquement jetées à la poubelle alors qu'elles contiennent cent fois plus d'apports sur le plan nutritif que la pulpe elle-même (antioxydants, vitamine B6, fer, cuivre, potassium...)

4.1 Composition d'épiluchures de pommes de terre

Tableau 5 : Composition chimique moyenne des co-produits de la pomme de terre (Decruyenaere *et al.*, 1998).

| Co-produits | MS (%) | MAT (%) | Cellulose (%) | Amidon (%) | Calcium (%) | Phosphore (%) | Potassium (%) |
|--------------------------|--------|---------|---------------|------------|-------------|---------------|---------------|
| Ecart de triage | 19,4 | 11,0 | 2,7 | 64,2 | 0,04 | 0,21 | 2,40 |
| Dépistage | 20,3 | 10,3 | 3,0 | 72,3 | 0,12 | 0,24 | / |
| Pulpes | 19,0 | 5,5 | 18,6 | 40,6 | 0,46 | 0,13 | 1,00 |
| Protéines (CPPT) | 90,0 | 85 | 1 | 0,2 | 0,09 | 0,28 | 0,92 |
| Amidon | 87,8 | 0,6 | 0,6 | 91,2 | 0,11 | 0,23 | 0,57 |
| Epluchures vapeur | 13,7 | 17,4 | 9,0 | 20,6 | 0,30 | 0,24 | / |
| Purées solides | 26,0 | 8,0 | 3,0 | 72,5 | 0,06 | 0,06 | 0,9 |
| Chips(38%MG) | 95,5 | 5,9 | 2,5 | 44,8 | 0,04 | 0,14 | 0,70 |

MS = matière sèche

MAT = matières azotées totales

MG = matière grasse

5.2 valorisation d'épluchures de pomme de terre

- *Chez le ruminant*

C'est en complément des rations que les co-produits de la pomme de terre sont le mieux valorisés. Ils peuvent remplacer au moins en partie les concentrés de la ration sans entraîner une diminution de la densité énergétique de cette dernière (**Vanabelle et al., 2000**). Aliments appétants, ils sont très appréciés par les animaux. Lors de leur incorporation dans les rations, une transition alimentaire de deux à trois semaines est souvent nécessaire. Avec le développement des mélangeuses distributrices, l'incorporation dans les rations de tels produits ne pose généralement pas de problèmes.

La valeur énergétique des co-produits de la pomme de terre contenant plus de 40 % d'amidon (tubercules et screenings, pulpe de féculerie, purée, frites précuites...) est comparable à celle d'un concentré et dépasse généralement les 1000 VEM par kg de matière sèche. Dans les rations, ce type d'aliment nécessitera donc un complément protéique. Un apport extérieur de fibres (paille, foin ensilage d'herbe) sera également indispensable pour assurer un bon fonctionnement du rumen.

Les épluchures à la vapeur ont une valeur alimentaire comparable à celle d'un bon ensilage de maïs soit 900 à 950 VEM par kg de matière sèche. La valeur protéique de ce co-produit est variable, plus les épluchures sont enrichies en purée, plus elles seront énergétiques et inversement.

- *Chez les monogastriques*

Les pommes de terre crues sont rarement distribuées aux monogastriques (porcs ou volailles) qui leur préfèrent des produits cuits (pommes de terre cuites ou cuites ensilées, purées...). Dans les rations, les pommes de terre et leurs sous-produits peuvent avantageusement remplacer en partie les céréales. Comme pour les ruminants, une complémentarité protéique doit être assurée.

- *Inhibiteurs de germination et glycoalcaloïdes dans les co-produits de la pomme de terre, impact sur les animaux et leurs produits (viande et lait)*

Lors de travaux menés en France, le CIPC a été recherché dans les co-produits proposés aux animaux, dans le lait et dans la viande. Les analyses réalisées ont montré que la teneur en CIPC variait dans de larges proportions et était la plus élevée dans les épluchures à la vapeur (**Cabon et al., 1998**). Néanmoins, quel que soit le protocole

expérimental suivi et la dose de CIPC ingérée par l'animal, aucun résidu n'a été détecté dans le lait (seuil de détection : 0.005 mg/kg) (**Cabon *et al.*, 1998 ; Morel d'Arleux *et al.*, 2000**).

5. Plumes de volaille

L'industrie mondiale de la volaille est énorme et elle est considérée parmi les plus polluantes en raison des grandes quantités de déchets générés. En effet, la viande destinée à l'alimentation humaine ne représente que 68 à 72 % et 78 % de chaque poulet et de chaque dinde, respectivement alors que le reste devient des déchets après sa transformation (**Haines, 2004**). Il est à noter qu'environ 4 millions de tonnes de déchet de plumes de volaille sont produits par an dans le monde entier (**Saha, 2009**).

5.1 Rôle et morphologie

Les plumes distinguent les oiseaux, d'autres vertébrés et jouent un rôle important dans de nombreux processus physiologiques et fonctionnels. La plupart des oiseaux adultes sont entièrement couverts par des plumes, sauf sur le bec, les yeux et les pieds. Les plumes ne confèrent pas seulement la capacité de vol, mais ils sont essentiels pour la régulation de la température, la protection, l'isolation, etc. La figure 9 illustre la morphologie des plumes qui se caractérisent par la présence d'une gaine épidermique qui se développe pour former un tube court de la base (calamus) et l'arbre principal (rachis). Les barbes s'étendent à un angle suivies par des barbules (**Tseng, 2011**).

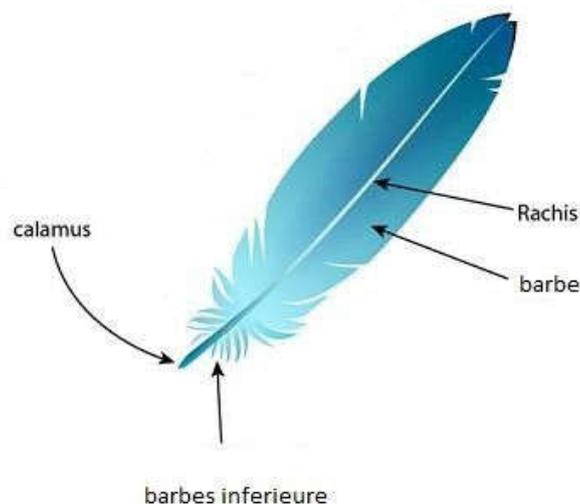


Figure 9 : Différentes parties de la plume (**Saha, 2009**).

5.2 Composition de plumes de volailles

Les plumes de volailles se composent approximativement de 91% de protéines (kératine), 1% de lipides, et 8% d'eau. La séquence d'acides aminés d'une plume de volaille est très similaire à celle d'autres plumes. La séquence est composée en grande partie de la cystéine, la glycine, la proline, et la sérine, et ne contient presque aucune histidine, lysine, ou méthionine **(Kannappan, 2012)**.

Le tableau suivant représente la composition chimique du plumes de volailles

Tableau 6 : composition chimique de plumes de volailles

| Composition | Teneur | références |
|-------------------------------|---------|---------------------|
| le soufre | (2,57%) | (Saha, 2009) |
| le chlore | (0,53%) | |
| phosphore (pentoxyde) | (0,34%) | |
| le silicium (Acide silicique) | (0,22%) | |
| le calcium (oxyde) | (0,10%) | |

5.3 Valorisation des plumes de volaille

A l'instar de la laine et du cuir, les plumes et duvets sont des co-produits de l'industrie alimentaire. Ces deux matières naturelles ont des caractéristiques physiques spécifiques. En effet, leur pouvoir isolant et leur légèreté leur donne la propriété d'être utilisées dans de nombreuses applications courantes **(Nouad, 2011)**.

Les plumes et duvets ne doivent donc pas, sauf cas particuliers, être considérés comme des déchets au sens habituel du terme, mais plutôt comme une matière première naturelle traditionnelle, au même titre que le cuir, la laine, les peaux de lapins. etc **(Nouad, 2011)**.

Les procédés identifiés comme voie potentielle de valorisation matière ou de valorisation organique des plumes sont résumés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Procédés de valorisation des plumes de volailles (Nouad, 2011)

| Valorisation matière | Valorisation organique |
|---|---|
| <p>-Extraction kératinique pour la fabrication de peinture résistante à la lumière (projet européen Polymérisation des fibres de plumes)</p> <p>-Filage de la matière kératinique (applications textiles)</p> <p>-Fabrication de textile non tissé avec nappage de plumes</p> | <p>-Fabricatio d'amendement organique (compost) à partir de plumes sèches (déchets de l'industrie d'anoblissement) ou humides (déchets d'abattage d'oiseaux terrestres) ou de farines de plumes hydrolysées</p> |

1. Souche utilisée

L'isolat *Actinopolyspora* sp. utilisé dans le présent travail nous a été fournie par la doctorante Smati Maria du laboratoire de Biotechnologie et valorisation des écosystèmes extrêmes du Génie microbiologique et application.

2. Revivification

L'isolat *Actinopolyspora* sp. conservé par congélation à -18 °C est revivifié. Une öse de la suspension bactérienne est ensemencée en surface dans les boites de Pétri contenant les différents milieux préparés: ISP1, ISP2, ISP4, ISP5, milieu à base de Caséine, milieu à base de Gélatine. Tous les milieux sont additionnés de 10% NaCl (Annexe). Les boites de Pétri sont ensuite incubées à 30 °C pendant 21 jours.

3. Etude des caractères morphologique

3.1 Observation macroscopique

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies de *Actinopolyspora* sp. permet d'effectuer une première caractérisation des actinomycètes. Selon (**Singleton, 1999**), les éléments d'identifications macroscopiques des actinomycètes sont:

- La forme des colonies : rondes, irrégulières,...etc.
- La taille des colonies par la mesure du diamètre.
- La chromogénèse: couleur de la colonie.
- La surface: lisse, rugueuse, sèche, dentelée,...etc.
- la sporulation.
- L'abondance des colonies.

3.2 Observation microscopique par la technique des lamelles

La technique de culture sur lamelle (**Williams et Cross, 1971 ; Holt et al., 1994**) consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans un milieu gélosé (Figure 10) de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec celui-ci. Une goutte de l'inoculum est déposée contre la lamelle en contact avec le milieu nutritif. Après 7, 15 et 21 jours d'incubation à 30°C , la lamelle est retirée soigneusement de la gélose entraînant quelques fragments du mycélium, elle est ensuite déposée sur la lame avec une goutte

de Lactophénol préalablement déposée et examinée au microscope optique (grossissement X40).



Figure 10 : Technique de culture sur lamelle

4. Aptitude biotechnologique de *Actinopolyspora* sp.

4.1 Recherche de la caséinase

L'hydrolyse de la caséine a été étudiée sur milieu gélosé à base de caséine comme seule source de carbone avec 10% de NaCl (Annexe). Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétriensemencées en surface puis incubées à 30 °C pendant 21 jours avec des lectures chaque 7 jours. **(Reponen *et al.*, 1998)**

4.2 Recherche de la gélatinase

L'hydrolyse de la gélatine a été effectuée sur un milieu gélosé avec de la gélatine comme seule source de carbone avec 10% de NaCl (Annexe). Le milieu est ensuite coulé dans des boîtes de Pétri puisensemencées en surface et incubées à 30 °C pendant 21 jours avec des lectures chaque 7 jours. **(Reponen *et al.*, 1998)**

4.3 Recherche des amylases

L'activité amylolytique a été testée sur le milieu ISP4 avec 10% de NaCl (Annexe). Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétriensemencées en surface puis incubées à 30 °C pendant 21 jours avec des lectures chaque 7 jours. **(Reponen *et al.*, 1998).**

5. Production d'enzymes à intérêt biotechnologique

5.1 Préparation des milieux de cultures

La fermentation a été réalisée dans des milieux liquides à base de glucose (10g/l) dans du tampon phosphate à pH 7,4 (Annexe) complétés par différents déchets

selon le tableau 8 : les noyaux de dattes (ND), les épluchures de pommes de terre (EP), les plumes de volaille (PL) et le marc de café (MC).

➤ **les noyaux de dattes (ND)**



Figure 11 : (A) noyaux de dattes, (B) la poudre des noyaux de dattes.

➤ **Epluchure de pomme de terre (EP)**

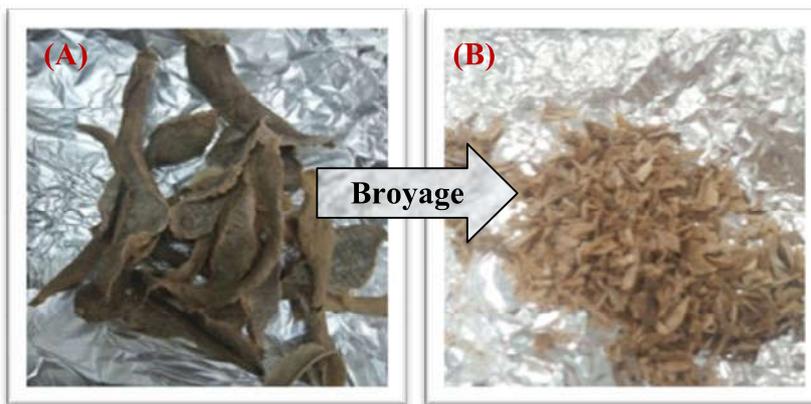


Figure 12 : (A) les épluchures de pomme de terre (B) la poudre des épluchures

➤ **Les plumes de volaille (PL) :**

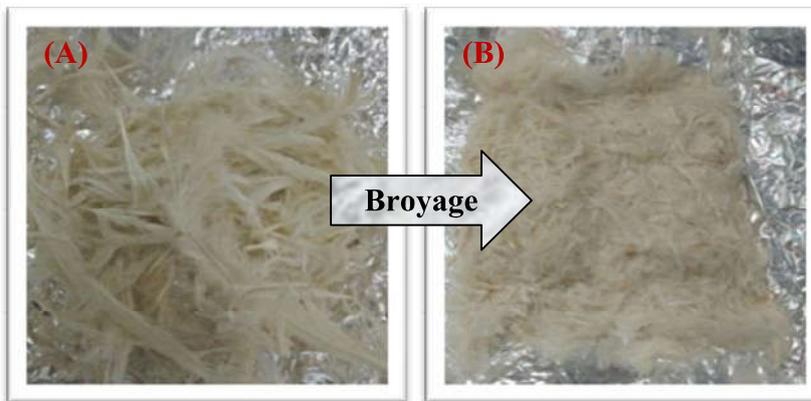


Figure 13 : (A) plumes de volailles, (B) farine de plume.

➤ **Le marc de café (MC)**



Figure 14 : marc de café

Tableau 8 : la composition des différents milieux de cultures.

| Flacon | Marc de café en (g) | Plumes de volaille en (g) | Epluchures de pomme de terre en (g) | Noyaux de dattes en (g) | Solution saline 1 en (ml) | Solution saline 2 en (ml) | Sulfate d'ammonium en (g) | NaCl en (g) |
|---------------|----------------------------|----------------------------------|--|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0,1 | 10 |
| 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0,1 | 0 | 15 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| 4 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0,1 | 15 |
| 5 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0,1 | 0 | 10 |
| 6 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0,1 | 15 |
| 7 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0,1 | 0,1 | 0 | 15 |
| 8 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0,1 | 0,1 | 0 | 15 |
| 9 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0,1 | 0 | 0 | 10 |
| 10 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,1 | 0 | 0 | 15 |
| 11 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 10 |
| 12 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0,1 | 0 | 0,1 | 10 |

Les milieux de cultures préparés sont ensuite stérilisés à 120°C pendant 20 min.

5.2. Préparation de l'inoculum

Après sporulation de la souche *Actinopolyspora* sp. les spores sont mises en suspension et subissent une agitation au vortex. Un millilitre de la suspension sporale est inoculé dans le milieu (ISP5) liquide (Annexe). L'incubation dure 4 jours à 30°C.

5.3 Ensemencement des milieux et condition de culture

Après autoclavages les milieux sont inoculés avec l'inoculum préparé à raison de 10%. L'incubation est réalisée à 30 °C pendant cinq jours.

6. Méthodes de dosages

6.1 Séparation de la biomasse

Après cinq jours d'incubations les 12 flacons subissent une filtration sur papier Wattman n°1 pour séparer la biomasse, une deuxième filtration se fait par des systèmes de filtrations stériles pour récupérer l'extrait brute.

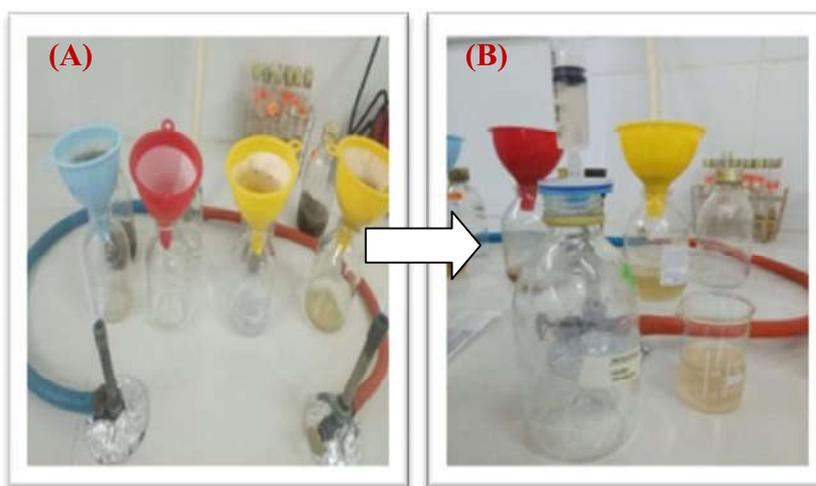


Figure 15 : (A) Filtration sur papier Wattman n°1, (B) Filtration sur porte membrane stérile

6.2 Dosage des sucres totaux (Dubois *et al.*, 1956)

L'acide sulfurique concentré provoque à chaud la déshydratation des oses avec la formation d'hydroxy-méthyl furfural (cas d'un hexose) et d'un furfural (cas d'un pentose). Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des composés colorés dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en oses.

➤ dosage

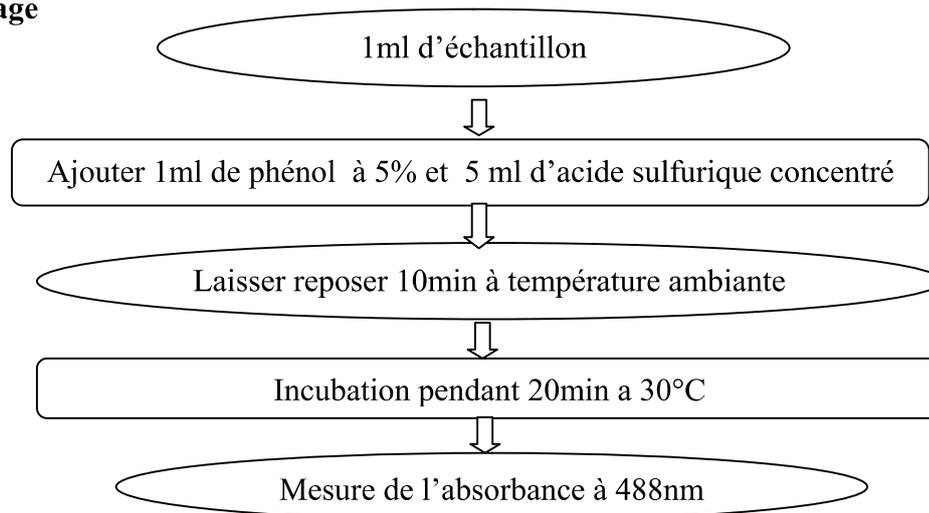


Figure 16 : Organigramme représentant le dosage des sucres totaux (**Dubois *et al.*, 1956**).

L'absorbance de la coloration jaune développée est lue à 488 nm, l'activité est calculée par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe) établie préalablement dans les mêmes conditions en utilisant le glucose comme standard.

6.3 Dosage des protéines (Lowry *et al.*, 1951)

Cette méthode se base sur le fait que le réactif de Folin-ciocalteu mis en présence d'une protéine est réduit en un complexe bleu. Elle est la résultante de deux réactions:

- Réaction de Biuret qui, en présence de sulfate de cuivre et en milieu alcalin, permet le dosage des liaisons peptidiques des protéines.
- Réaction du réactif de Folin sur la tyrosine, le tryptophane et dans une moindre mesure la cystine, la cystéine et l'histidine, qui entraînent une réduction par perte d'un à trois atomes d'oxygène, et la fixation du cuivre par chélation faciliteront le transfert d'électrons vers ce réactif.

➤ Solutions nécessaires

- Solution A : 2% de Na_2CO_3 dans de NaOH 0,1N.
- Solution B : 1% de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dans l'eau distillée.
- Solution C : 2% tartrate double de sodium et de potassium dans l'eau distillée.
- Solution M : c'est un mélange de :

- 20ml de la solution A
- 1ml de la solution B
- 1ml de la solution C

- Solution E : le réactif de Folin- Ciocalteu dilué au 1/10.

➤ **Dosage**

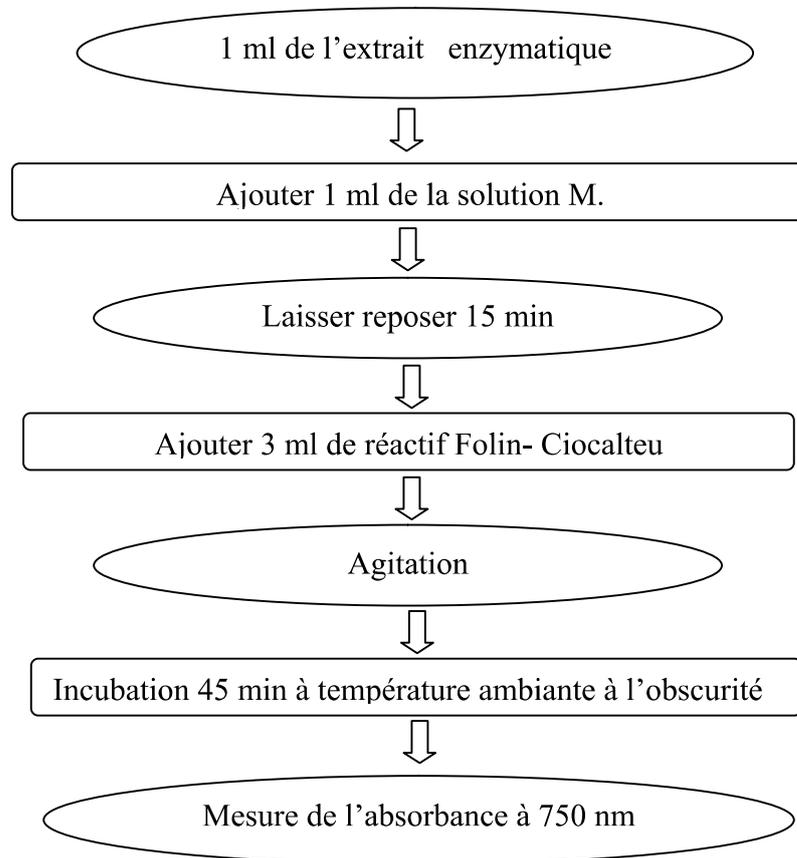


Figure 17 : Organigramme représentant le dosage des protéines (**Lowry et al., 1951**)

L'absorbance est lue à 750 nm, l'activité est calculée par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe) établie préalablement dans les mêmes conditions en utilisant la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard.

6.4 Dosage de l'activité amylasique (Bernfeld, 1955)

L'activité α -amylasique est mesurée selon la méthode de Bernfeld (1955); dont le principe est basé sur la mesure du pouvoir réducteur lors de l'hydrolyse de l'amidon.

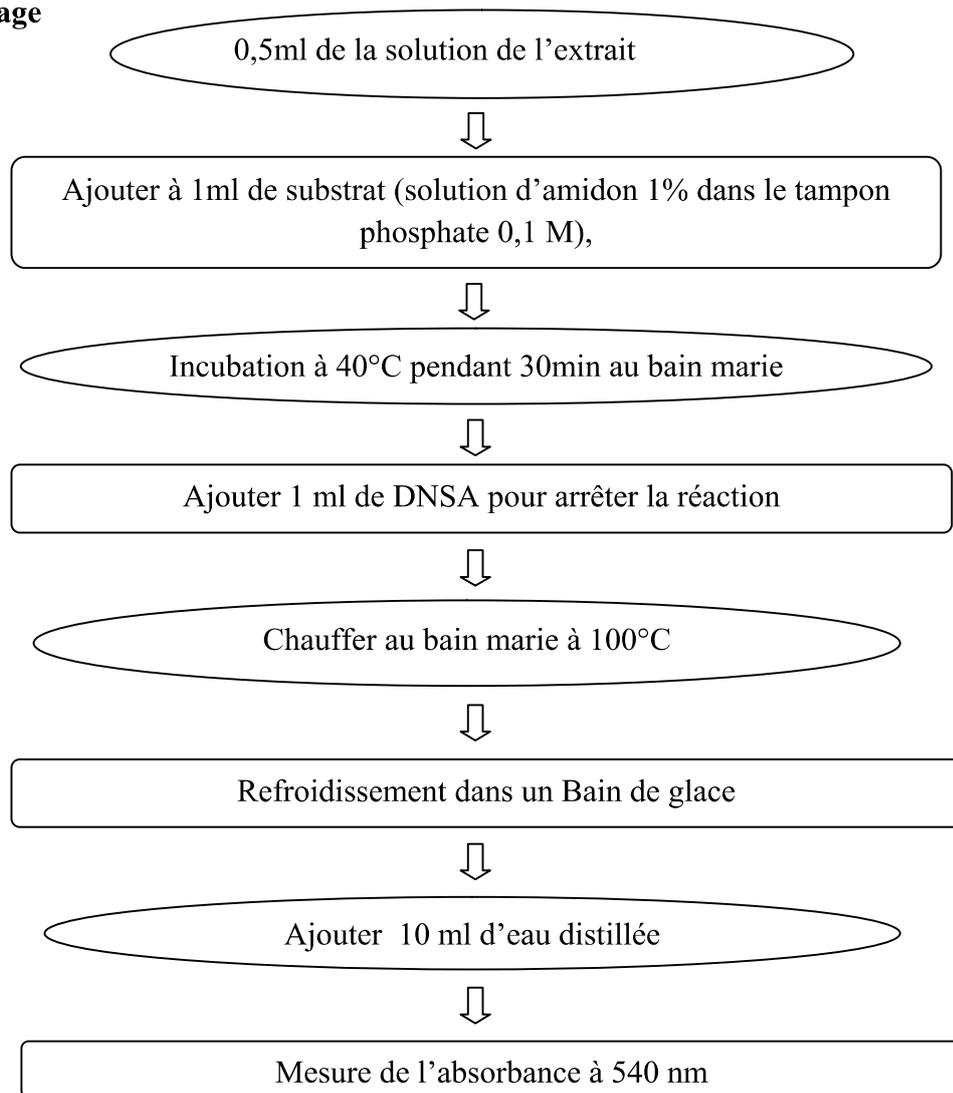
➤ **Dosage**

Figure 18 : Organigramme représentant le dosage de l'activité amylasique (**Bernfeld, 1955**).

L'absorbance est lue à 540 nm, l'activité est calculée par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe) établie préalablement dans les mêmes conditions en utilisant le maltose comme standard. L'activité enzymatique est exprimée par l'unité internationale (U) correspondant à 1 μ mole de maltose libéré par minute à 40 °C.

6.5 Dosage de l'activité protéolytique (protéase)

L'activité de la métalloprotéase est mesurée à pH7 sur caséine selon la méthode d'Anson, (1938). Elle est réalisée en deux étapes.

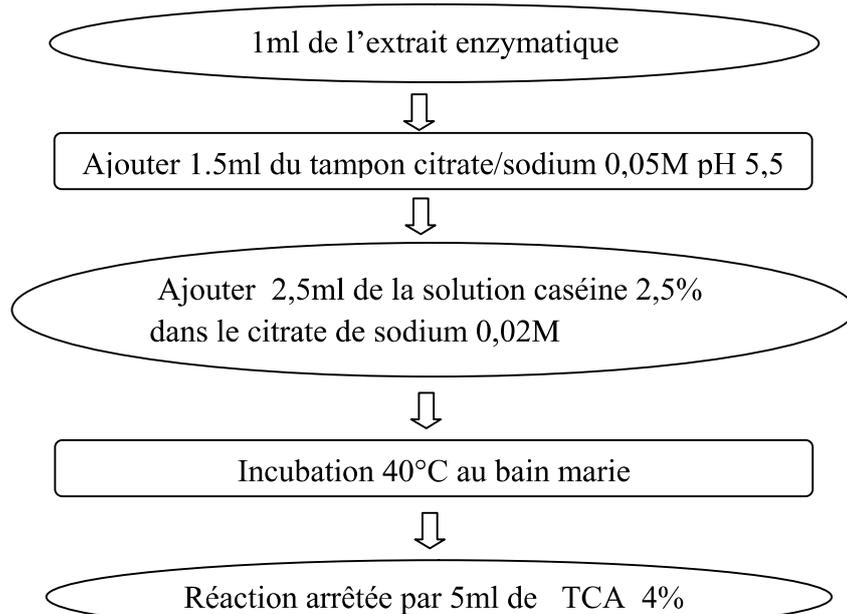
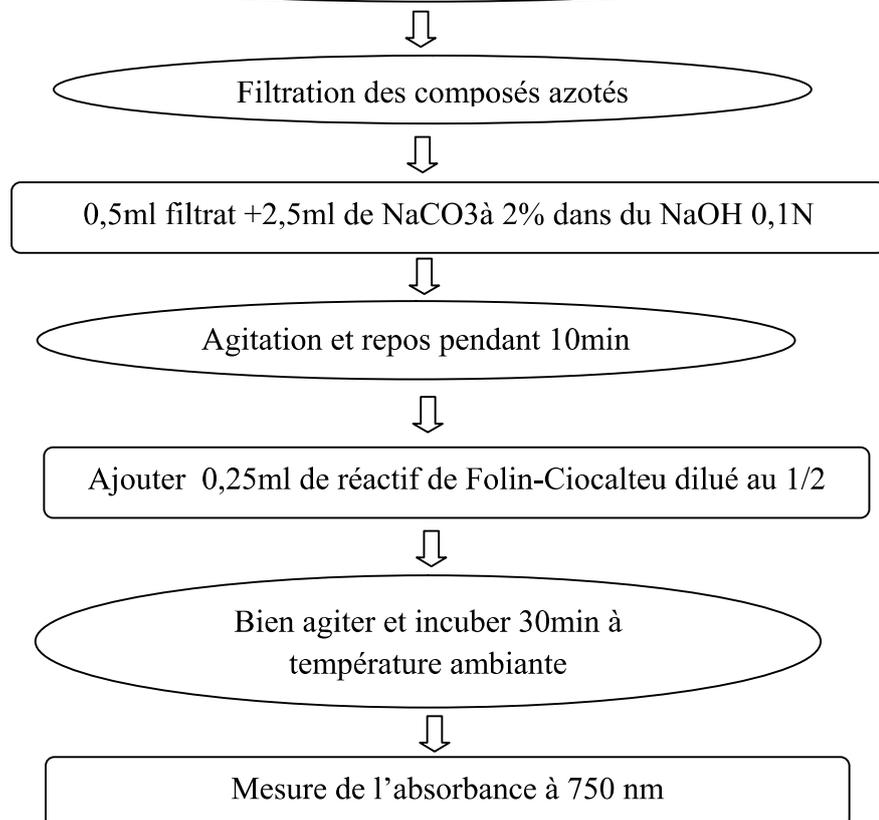
➤ **Étape N°1**➤ **Étape N°2**

Figure 19 : Organigramme représentant le dosage protéase (Anson, 1938).

L'absorbance est lue à 750 nm, l'activité est calculée par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe) établie préalablement dans les mêmes conditions en utilisant la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard.

6.6 Dosage de la kératinase (yamamura *et al.*, 2002)

➤ Dosage

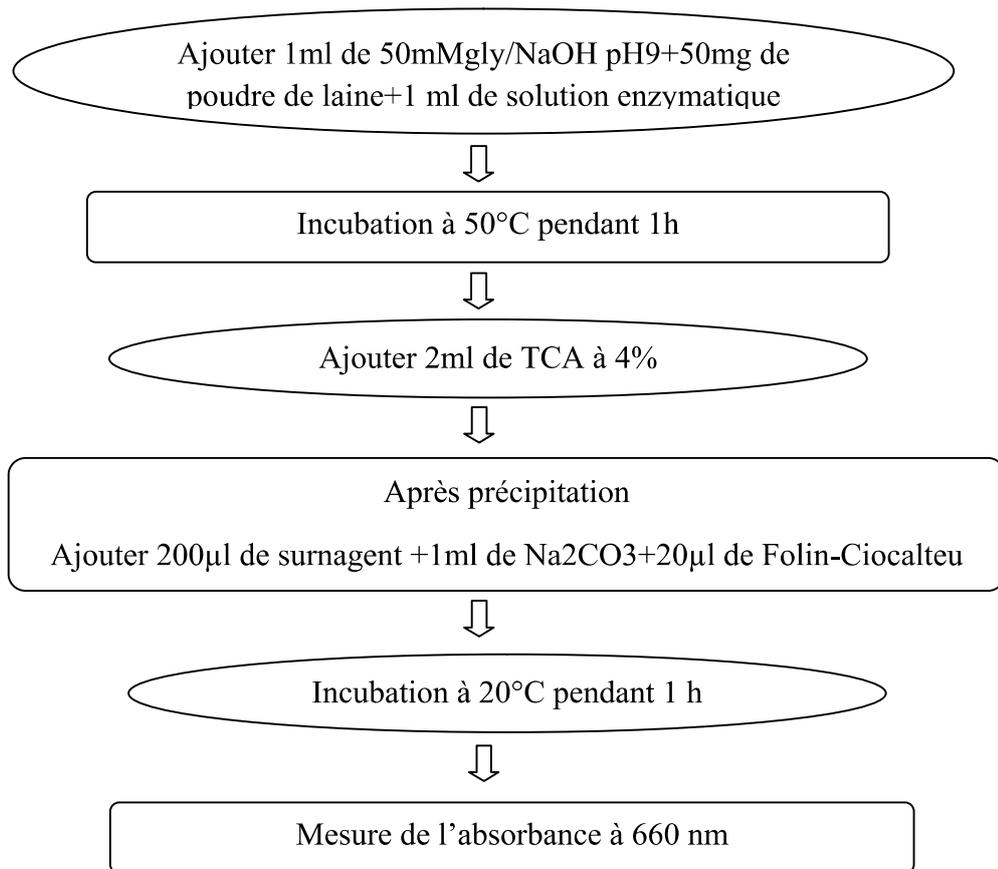


Figure 20 : Organigramme représentant le dosage de kératinase (yamamura *et al.*, 2002).

L'absorbance est lue à 660 nm, l'activité est calculée par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe) établie préalablement dans les mêmes conditions en utilisant la tyrosine comme standard. Une unité d'activité kératinolytique a été définie comme 1 µmol de tyrosine libérée par heure.

6.7 Dosage des activités cellulolytiques (activité papier filtre APF)

L'activité papier filtre (APF) est utilisée pour déterminer l'activité totale dans un complexe cellulastique selon la méthode de Ghose (Ghose, 1987) dont le principe est basé sur la mesure du pouvoir réducteur des sucres libérés (lors de l'hydrolyse d'un substrat cellulosique).

➤ Dosage

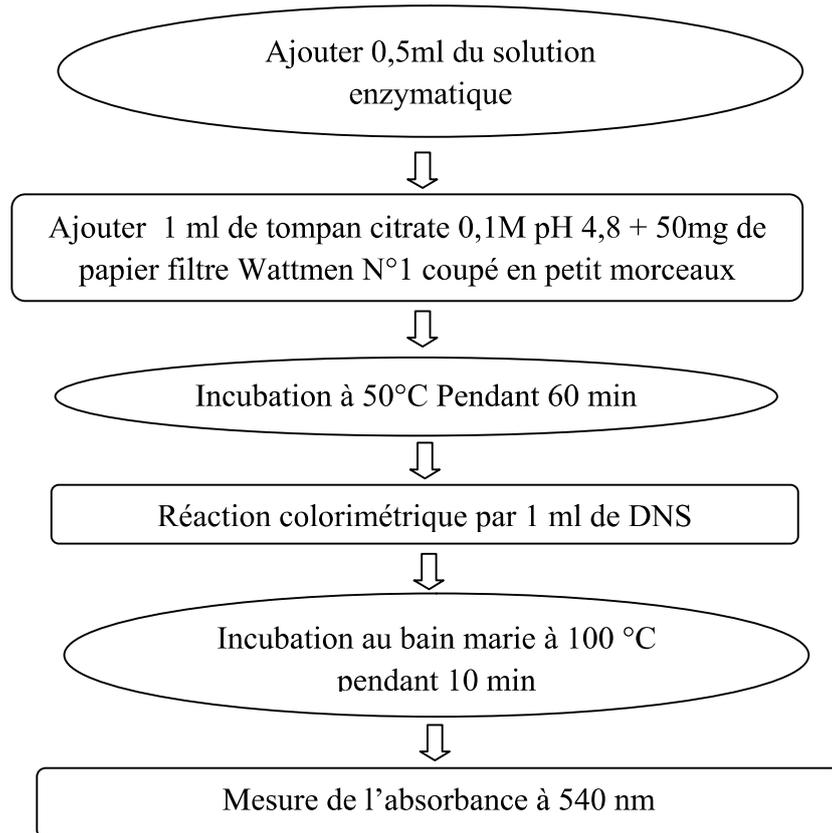


Figure 21 : Organigramme représentant le dosage de cellulase (Ghose, 1987).

L'absorbance est lue à 540 nm, l'activité est calculée par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe) établie préalablement dans les mêmes conditions en utilisant le glucose comme standard. L'activité enzymatique est calculé en unité internationale par ml (UI/ml). Une unité de l'activité enzymatique est définie par la quantité d'enzyme qui libère une micromole d'équivalent glucose par minute et par ml d'enzyme à 50°C, pH 4,8.

1. Etude morphologique

L'étude des caractères morphologique nous permet de caractériser les groupe des actinomycètes et même dans certains cas les genres .

Après ensemencement sur les milieux de culture gélosés , les colonies de la souche étudiée apparaissent au bout de 7 jours d'incubation à 30°C avec différents degrés de croissance allant d'une croissance faible à une croissance abondante .

L'aspect des colonies, la sporulation ainsi que l'abondance sont rassemblés dans les tableaux (9,10 et 11)

1.1 Après 7 jours d'incubation (tableau 9)

Les colonies de la souche *Actinopolyspora* sp. apparaissent au bous de 7 jours d'incubation à 30 °C. Les premiers signes de croissance consistent en l'apparition de colonies pâteuses, avec un aspect poudreux ainsi qu'une croissance abondante sur les milieux (ISP4 et ISP5)et crémeux avec une croissance moyenne sur les milieux (ISP1 et ISP2) et une faible sporulation sur le milieu ISP2.

Tableau 9 : Résultats de l'étude macroscopique après 7 jours d'incubation

| Observation | ISP1 | ISP2 | ISP4 | ISP5 |
|--------------------|---|---|--|---|
| Colonie : | | | | |
| - Aspect | Muqueux | Muqueux | Poudreux | Muqueux |
| - Taille | Petite | Moyenne | Petite | Petite |
| - Couleur | Beige | Beige | Blanche | Beige |
| - Forme | Ronde | Ronde | Ronde | Ronde |
| - Contour | irrégulier | ND | ND | ND |
| Sporulation | + | + | + | + |
| Abondance | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Photo |  |  |  |  |

(+): faible (++) : moyenne

1.2 Après 14 jours d'incubation (tableau 10)

Après 14 jours l'isolat *Actinopolyspora* sp. donne sur la majorité des milieux des colonies poudreuses ou granuleuses avec différentes couleurs du mycélium aérien (blanc, beige), opaques et adhèrent fermement au milieu de culture.

Les colonies sont de différentes taille (petites, moyennes) avec une forme ronde de contour régulier et d'un aspect poudreux, une croissance abondante et une sporulation importante sur les milieux (**ISP4** et **ISP5**) par contre sur les 2 autre milieux (**ISP1** et **ISP2**) la croissance est moins abondante avec une faible sporulation.

Tableau 10 : Résultats de l'étude macroscopique après 14 jours d'incubation

| Observation | ISP1 | ISP2 | ISP4 | ISP5 |
|--------------------|---|---|--|---|
| Colonie : | | | | |
| -Aspect | Poudreux | Tapis de colonie | Tapis de colonie | Tapis de colonie |
| - Taille | Moyenne | Moyenne | Moyenne | Moyenne |
| - Couleur | Blanche | Beige / blanche | Blanche | Blanche |
| - Forme | Ronde | Ronde | Ronde | Ronde |
| - Contour | Régulier | Régulier | Régulier | Régulier |
| Sporulation | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Abondance | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Photo |  |  |  |  |

(+): faible (++) : moyenne (+++) : concentré (++++): très concentré

1.3 Après 21 jours d'incubation (tableau 11)

Après 21 jours de culture de l'isolat *Actinopolyspora* sp. on observe une sporulation abondante sur la majorité des milieux (**ISP1**, **ISP4** et **ISP5**). Les colonies sont d'aspect poudreux de couleur blanche. Le milieu **ISP2** est toujours caractérisé par une faible croissance.

Tableau 11 : Résultats de l'étude macroscopique après 21 jours d'incubation

| Observation | ISP1 | ISP2 | ISP4 | ISP5 |
|--------------------|--|--|---|--|
| Colonie : | | | | |
| -Aspect | Poudreux | Tapis de colonie | Tapis de colonie | Tapis de colonie |
| - Taille | Moyenne | Moyenne | Moyenne | Moyenne |
| - Couleur | Blanche | Beige / blanche | Blanche | Blanche |
| - Forme | Ronde | Ronde | Ronde | Ronde |
| - Contour | Régulier | Régulier | Régulier | Régulier |
| Sporulation | ++ | +++ | ++++ | ++++ |
| Abondance | +++ | +++ | ++++ | ++++ |
| Photo |  |  |  |  |

(+): faible (++) : moyenne (+++) : concentré (++++) : très concentré

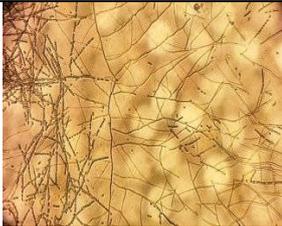
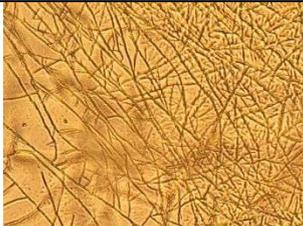
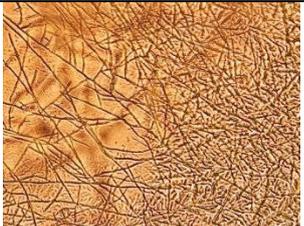
2. Etude microscopique

L'étude microscopique indique que l'isolat *Actinopolyspora* sp. a un aspect filamenteux ramifié, segmenté ou non et parfois fragmenté .

La technique de culture sur lamelle nous a permis d'obtenir des photo microscopique du mycélium aérien et végétatif .

Les observations sont effectuées après 7,14 et 21 jours d'incubation au microscope optique au grossissement (X40). Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Photos représentant le mycélium aérien et végétatif de la souche étudiée

| Observation | 7 jours | 14 jours | 21 jours |
|-------------------------------------|---|--|---|
| Mycélium aérien |  |  |  |
| Mycélium du Substrat |  |  |  |

Les observations microscopiques montrent que les hyphes du mycélium du substrat de l'isolat *Actinopolyspora* sp. sont fins non fragmentés, non sporulés et peu ramifiés (photos tableau 12). Ils se développent en surface et pénètrent dans la gélose, puis donnent naissance à un mycélium aérien. Ce dernier se présente sous forme d'hyphes fins, ramifiées, non septés. Les chaînes de spores portées à l'extrémité des hyphes sont droites de type rectiflexible. Les spores sont cylindriques et ne présentent aucune mobilité (photo tableau 12).

Il est important de signaler l'importance de l'utilisation de plusieurs milieux de culture dans l'étude de la morphologie des actinomycètes. Puisque l'observation des chaînes de spores ne s'effectue que sur les milieux donnant une bonne croissance (maturation complète) (**Shirling et Gottlieb, 1966**). Ainsi, on a remarqué qu'une bonne croissance après une période suffisante d'incubation permet une meilleure observation du mycélium aérien et de la forme des spores des souches.

3. Mise en évidence des activités enzymatique

3.1 Activité protéolytique

Pour la mise en évidence de l'activité protéolytique (caséinase et gélatinase) chez l'isolat *Actinopolyspora* sp. nous avons utilisé des milieux gélosés à base de caséine et de gélatine comme seule source de carbone avec 10% de NaCl. La figures

suivante montre le résultat qu'on a obtenu après 21 jours d'incubation à 30°C sur le milieu gélosé à base de gélatine.



Figure 22 : Culture de *Actinopolyspora* sp. sur le milieu gélosé à base de gélatine.

Après incubation pendant 21 jours à 30°C nous observons une bonne croissance de l'isolat *Actinopolyspora* sp. sur le milieu à base de gélatine par rapport à celle observée sur le milieu à base de caséine, l'isolat est capable donc de produire la gélatinase en quantité plus importante que la caséinase.

Activité amylasique

L'activité amylasique chez l'isolat *Actinopolyspora* sp. a été testée sur le milieu ISP4 à 10% de NaCl (Figure 23).



Figure 23 : Activité amylasique de l'isolat *Actinopolyspora* sp. sur le milieu ISP4.

Une bonne croissance sur le milieu ISP4 montre que l'isolat *Actinopolyspora* sp. est capable d'hydrolyser l'amidon, et témoigne de la présence d'une activité amylasique.

4. Milieux de culture

4.1. Dosage des sucres totaux

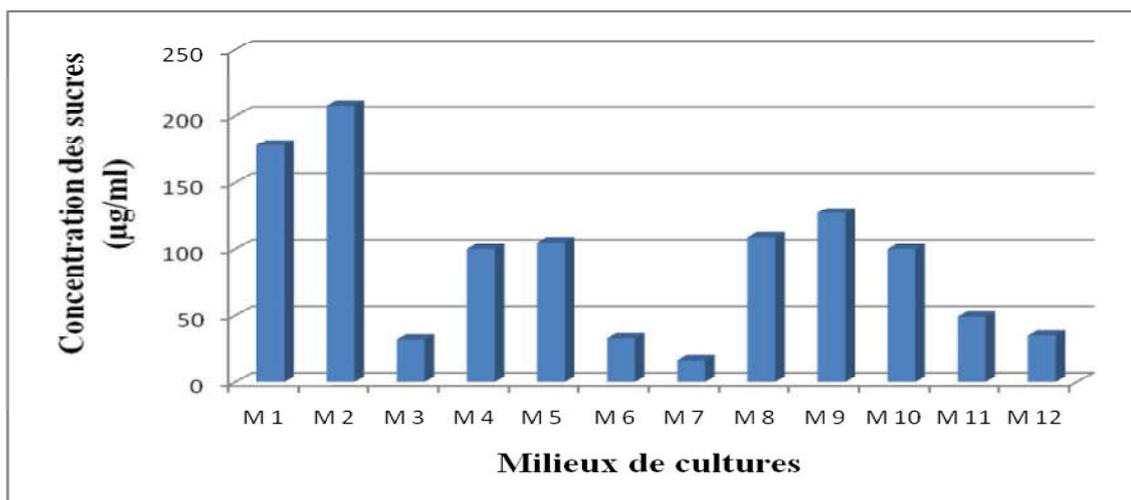


Figure 24 : Histogramme représentant le taux des sucres totaux dans les différents milieux de culture.

D'après la figure 24 on remarque que la teneur en sucre est variable en fonction des différents milieux de cultures où on remarque que dans le milieu 2 le taux est plus élevé de l'ordre de 208 µg/ml par rapport au milieu 7 où on a une faible concentration de l'ordre de 16 µg/ml. La teneur du sucre des autres milieux de cultures est comprise dans un intervalle de <32 à 178> µg/ml. La différence des taux des sucres peut être expliquée par la composition des déchets utilisés.

4.2. Dosage de protéines totales

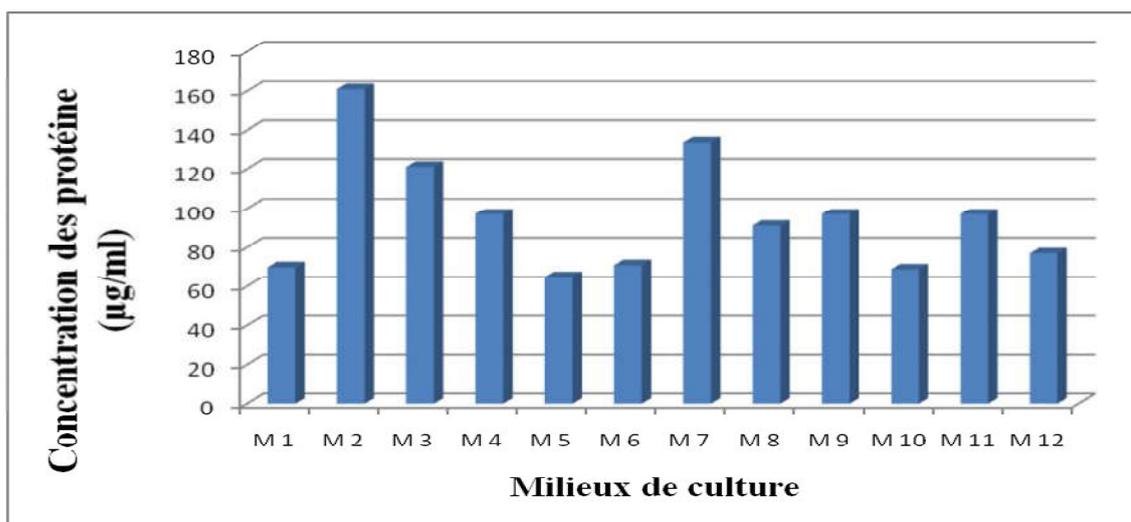


Figure 25 : Histogramme représentant le taux des protéines totales dans les différents milieux de culture.

Dans la figure 25 les résultats montrant le taux des protéines dans tous les milieux avec des teneurs élevées et qui se rapproche dans la plupart des milieux. Les teneur les plus faibles sont dans les milieux (1,5, 6 et 10). La valeur la plus élevée est celle du milieu 2 qui est de l'ordre de $161\mu\text{g/ml}$. la concentration plus faible est observée dans le milieu 5 de l'ordre $65\mu\text{g/ml}$. le taux élevé dans les différents milieux s'expliquent par la présence de plusieurs déchets comme source de protéines.

5. Aptitude biotechnologique de la souche *Actinopolyspora* sp.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme d'histogrammes.

5.1. L'activité amylasique

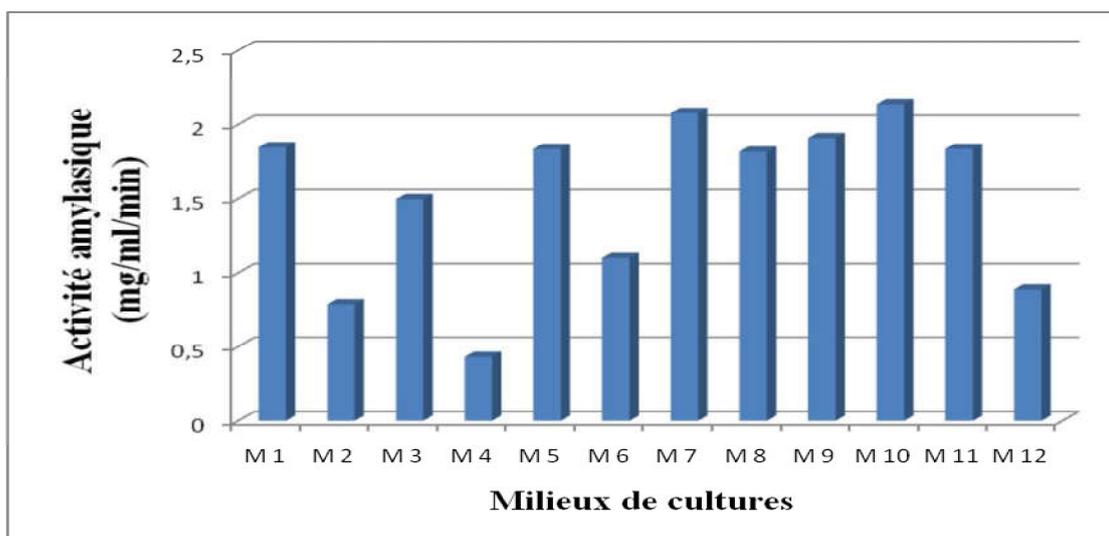


Figure 26 : Histogramme représentant l'activité amylasique chez l'isolat *Actinopolyspora* sp.

Les résultats de la figure 26 montrent que l'isolat *Actinopolyspora* sp. est capable de produire l'alpha amylase dans les différents milieux de cultures à base de déchets avec des teneurs différentes. On remarque que le taux le plus élevé est dans le milieu 10 qui est composé de tous les déchets. Le taux le plus faible est obtenu avec le milieu 4 composé du marc de café et des épluchures de pomme de terre, cela peut être expliquée par la présence d'inhibiteurs surtout dans le marc de café. La présence de l'activité amylasique dans le milieu 3 à base de glucose comme seul source de carbone, nous permet de conclure que l'alpha amylase de l'isolat *Actinopolyspora* sp. est une enzyme constitutive.

5.2. L'activité protéolytique

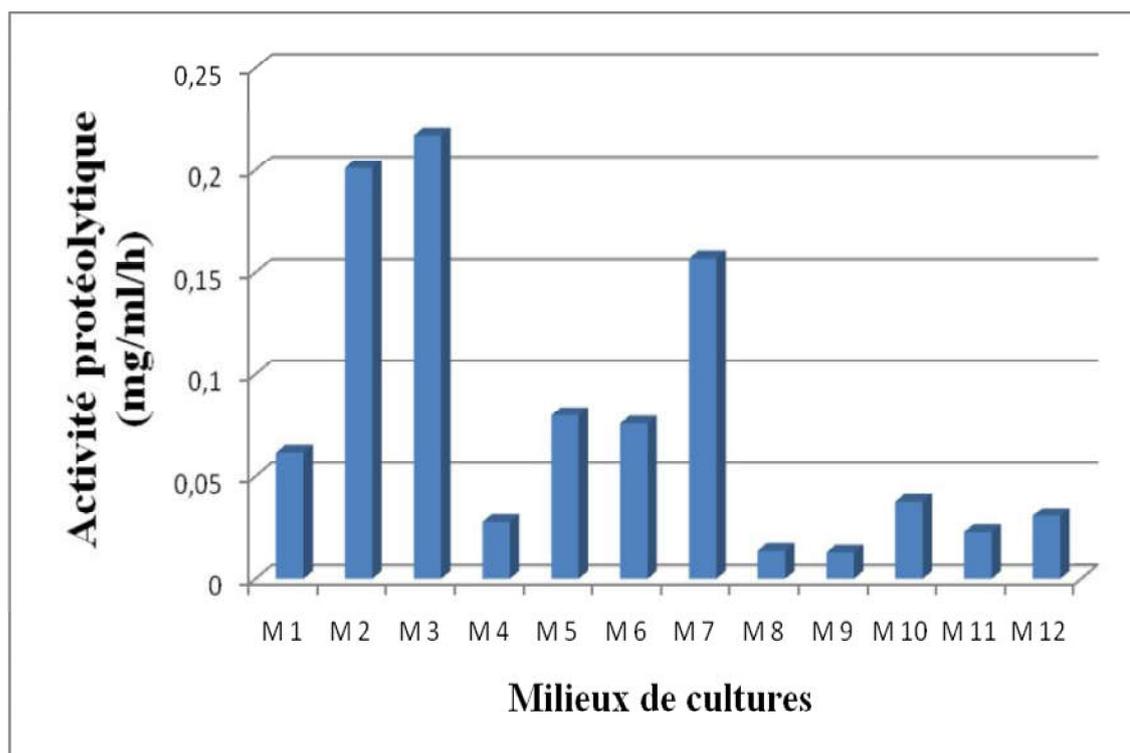


Figure 27 : Histogramme représentant l'activité protéolytique produite par l'isolat *Actinopolyspora* sp.

D'après la figure 27 l'activité protéolytique est assez variable dans les milieux de cultures. L'activité la plus importante est obtenue dans les milieux 2 et 3 tandis que la plus faible activité est celle des milieux 8 et 9. Ceci peut être expliquée par le fait que la production des protéases par l'isolat *Actinopolyspora* sp. est influencée par la composition des milieux et l'interaction entre les différents constituants des déchets. En effet la meilleure activité est celle du milieu 3 constitué de glucose comme seule source de carbone par rapport aux autres milieux constitués par plusieurs déchets ce qui explique le caractère constitutif des protéases de l'isolat d'une part et la préférence de l'utilisation de l'isolat de source de carbone facile à assimiler d'autre part.

5.3. L'activités kératinolytique

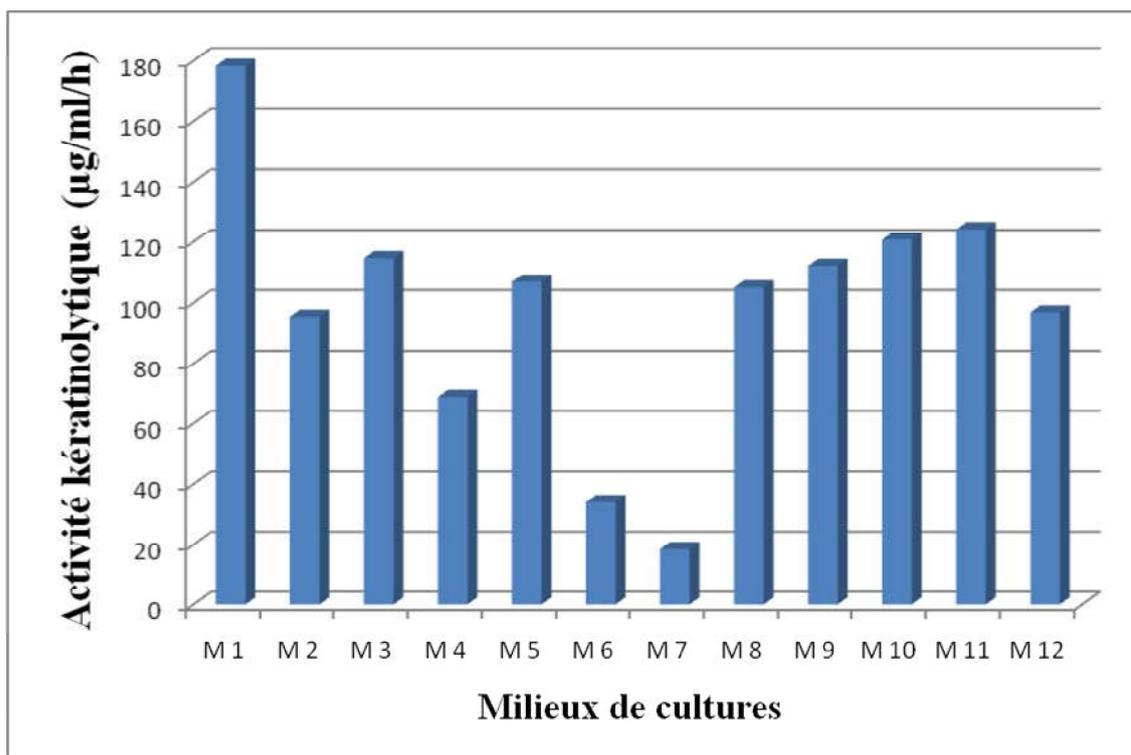


Figure 28 : Histogramme représentant l'activité kératinolytique de l'isolat *Actinopolyspora* sp.

D'après la figure 28 on remarque que l'isolat *Actinopolyspora* sp. Produit la kératinase en quantités variable et importante dans la majorité des milieux de cultures. Le taux le plus élevé est dans le milieu 1 où on remarque la présence du sulfate d'ammonium tandis que le plus faible est dans le milieu 7 où on remarque l'absence du sulfate d'ammonium. Dans les milieux (3, 5, 8, 9 et 10) on a des teneur plus faible et assez proche où le sulfate d'ammonium est absent cela peut être confirmé par le milieu 11 dont la présence du sulfate d'ammonium a augmentée l'activité kératinolytique où il est utilisé comme source d'azote. On conclut que le sulfate d'ammonium favorise l'activité kératinolytique de l'isolat *Actinopolyspora* sp.

5.4.L'activité cellulolytique

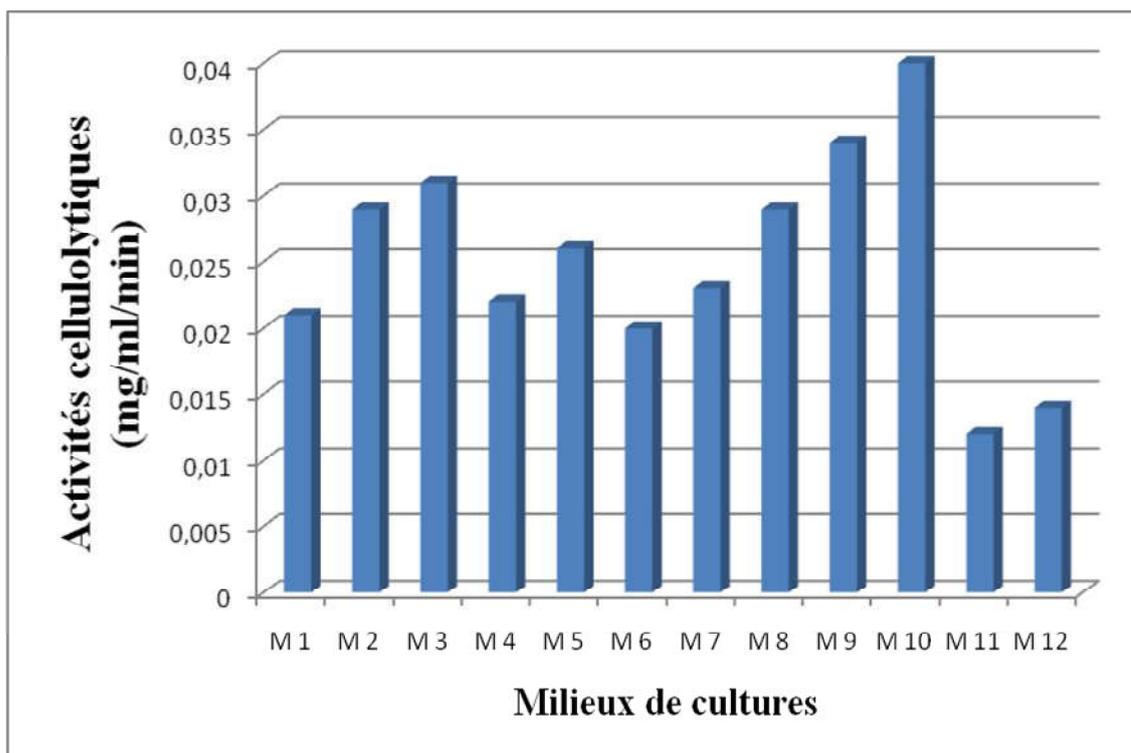


Figure 29 : Histogramme représentant l'activité cellulolytique de l'isolat *Actinopolyspora* sp.

Dans la figure 29 les résultats nous montrent des fortes concentrations dans les différents milieux de cultures à base des déchets. Les taux les plus élevés sont dans les milieux 9 et 10 où le sulfate d'ammonium est absent tandis que sa présence dans les milieux 11 et 12 a permis une diminution de l'activité cellulosique de l'isolat *Actinopolyspora* sp. En conclusion le sulfate d'ammonium peut avoir un effet négatif sur l'activité cellulosique de l'isolat *Actinopolyspora* sp.

Dans ce contexte, le présent travail a pour principaux objectifs une contribution à la valorisation des différents sous-produits agroalimentaires (marc de café, épluchure de pomme de terre, plumes de volaille, noyaux de datte).

La composition biochimique de ces sous-produits nous a incité à les utiliser comme substrats de fermentation, on a le marc de café riche en cellulose (glucose) et hémicellulose, Noyaux de datte (huile, amidon, protéines), plume de volaille est considérée comme une très riche source de protéine surtout le bêta kératine qui constitue 91% des plumes (**Godheja et al., 2014**), les épluchures de pomme de terre riche en (protéine, glucide et lipides).

Dans notre étude, on a mis en œuvre l'aptitude biotechnologique de la souche *Actinopolyspora* sp. qui est la capacité de cette souche à dégrader ces déchets pour la production des différentes enzymes : alpha amylase, cellulase, kératinase et protéase.

Après l'analyse des résultats du dosage des activités enzymatique nous avons conclu que *Actinopolyspora* sp. a donné des activités enzymatiques importantes surtout l'activité amyliasique et cellulosique. De plus étant donné que *Actinopolyspora* sp. est capable de produire ces enzymes sans l'induction du substrat, ce sont donc des enzymes constitutives.

En conclusion, les résultats finaux permettent la sélection de *Actinopolyspora* sp. comme étant une souche performante tout en donnant un bon rendement en activité enzymatique.

D'après les résultats obtenus de nouvelles perspectives sont insufflées :

- ✓ Une étude moléculaire approfondie de la souche *Actinopolyspora* sp.
- ✓ Testé l'application des enzymes produites par *Actinopolyspora* sp. dans des domaines industriels tels que la fabrication des détergents.
- ✓ L'utilisation de ces déchets organiques comme milieux de cultures pour les actinobactéries.

A

- **Addoun A., Merzougui Z. et Belhachemi M., (2000).** Préparation et caractérisation de matériaux a grand pouvoir adsorbant. Thèse Magistère.
- **Al-Farsi A.M., Lee C.Y., 2008.** Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, vol.108, pp. 977-985.
- **Al-Farsi M., Alasalvar C., Al-Abid C.M., Al-Shoaily K., Mansorah Al-Amry., AlRawahy F., (2007).** Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry*, vol. 104, pp.943–947.
- **Alhamed Y.A., (2009).** Adsorption kinetics and performance of packed bed adsorber for phenol removal using activated carbon from dates' stones. *J. Hazard. Mater.* 10.1016/j.05.002.
- **Almana H.A., Mahmoud R.M., (1994).** Palme date seeds as an alternative source of dietary fibre in saudi bread. *Ecology of food and nutrition*, vol. 32, pp. 261-270
- **Amellal H., (2008).** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes: formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de Doctorat Génie Alimentaire. Université de Boumerdès: 127p.
- **Avril, J, L., et al., (1992).** Bactériologie clinique.2 éd. Paris : ellipses. Pp. 511.

B

- **Baldacci, E. (1962).** Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Annal de la Societe Belge de Médecine Tropical*, 4 : 633–646.
- **Banat F., Sameer Al-Asheh, Leema Al-Makhadmeh., 2003.** Evaluation of the use of raw and activated date pits as potential adsorbents for dye containing waters. *Process Biochemistry*, vol. 39, pp. 193-202.
- **Barbera C.E., (1965).** L'utilisation du marc de café. Revue « *Café, Cacao, Thé* » . Vol. IK n°3; 206-217.
- **Barbero, S. et Flore, E. (2015)** The flavours of coffee grounds: the coffee waste as accelerator of new local businesses. *Annals of Faculty Engineering*

Hunedoara— International Journal of Engineering, tome 3.
<http://annals.fih.upt.ro> (Page consultée le 12 juin 2018)

- **Bastide A. ; de Méo M. ; Andriantsoa M. ; Laget M. ; Duménil G., (1986).** Isolement et sélection de souches d'actinomycète tes productrices de substances antifongiques de structure non-polyéniques. *Mircen. Journal*, 2, 453-466.
- **Becker B., Lechevalier M. P., Lechevalier H.A., (1965).** Chemical composition of cell wall preparation from strains of various from genera of aerobies actinomycetes. *Applied Microbiology*. 13, 236-243.
- **Beckers.h. J. A. Van Der Hoeven. J.S. (1982).** Growth Rates of *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus mutans* During Early Colonization of Tooth Surfaces in. Gnotobiotic Rats. *Infection and immunity*. Vol. 35. N°. 2. Pp: 583-587.
- **Belyagoubi Larbi. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, P 143.
- **Berdy J., (2005).** Bioactive microbiol metabolites. *Antibiotics.*, (58):1-26.
- **Bernfeld, P., & Kaplan, N.(1955).** α and β amylases. In: Colowick S.P. In : *Methods in enzymology* (Vol. 1). Academic Press.
- **Besbes S, Christophe Blecker, Claude Deroanne, Neila bahloull, Georges Lognay, Noureddine Drira et Hamadi Attia., (2004) b.** Date seed oil phenolic, tocopherol and Sterol profiles'. *Food Lipids*, vol. 11, pp. 251–265.
- **Bill I., (2007).** La biologie de A à Z. Ed. Dunod, Paris, 344P.
- **Bouanani, S; Zeggar, M ; Alouadi, S., (2007).** Valorisation des noyaux de dates (*Phoenix dactylifera*) variété Degla Baida par fractionnement des polysaccharides. *Revue des régions arides*, 2007, pp. 40-45.
- **Bouchelta C., Mohamed S.M., Odile B., Jean-Pierre B., (2008).** Preparation and characrerization of activaed carbon from date stones by physical activation with steam. *Analitycal and Applied Pyrolysis* 82, 70-77.
- **Boudjellal H., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N., (2006).** Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil. 161(4): 288-298.
- **Breton A. • Theilleux J., Viobis G.Larpent J.P. et Sanglier J.J., Mason., (1989)** Organismes producteurs : biologie, taxonomie et écologie. *Biotechnologie des Antibiotique*. Paris, 33-70.

C

- **Cabon G.; Poupard F., Morel d'Arleux F., Weiss P. (1997).** Intérêt zootechnique de l'utilisation de pelure-vapeur de pomme de terre par les vaches laitières. *C.R ITCF la Jaillière* VL 97.2.
- **Castañeda, R.A., Avlijas, S., Simard, M.A. et Ricciardi , A. (2014)** Microplastic pollution in St. Lawrence Riversediments. *Canadien des sciences halieutiques et aquatiques*, vol. 71, p. 1767-1771. <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/cjfas-2014-0281#.VZ1mUY10vUk> (Page consult2 le 17 juin 2018)
- **Chater, K. (1999).** David Hopwood and the emergence of *Streptomyces* genetics. *International Microbiology*, 2(2): 61–68.
- **Chen, K.I., Lo, Y.C., Liu, C.W., Chou,C.C. et Cheng, K.C. (2013)** Enrichment of two isoflavone aglycones in black soymilk by using spent coffee grounds as an immobiliser for b-glucosidase. *Food Chemistry*, vol. 139, p. 79-85. www.elsevier.com/locate/foodchem (Page consultée le 12 juin 2018).
- **Chitte R. R., Nalawade V. K. et Dey S. (1999).** Keratinolytic activity from the broth of a featherdegrading thermophilic *Streptomyces thermoviolaceus* strain SD8. *Letters in Applied Microbiology*. 28, 131-136
- **Coates A.; Hu Y., (2007).** Novel approaches to developing new antibiotics forbacterial infections. *British Journal of Pharmacology*, 152, 1147–1154.
- **Conn V. M., (2005).** Molecular Interactions of Endophytic *Actinobacteria* in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 297.
- **Cruz, R., Cardoso, M.M., Fernandes, L. et Oliveira, M.. (2009).** Espresso Coffee Residues: A Valuable Source of Unextracted Compounds. *Agricultural and food chemistry*, vol. 60, p. 7777- 7784. . <http://pubs.acs.org/journal/jafcau> (Page consultée le 6 juin 2018).

D

- **Dammak I., Ben Abdallah F., Boudaya S., Besbes S., Keskes L., El Gaied A., Turki H., Attia H., Hentati B., (2007).** Date seed oil limit oxidative injuries induced by hydrogen peroxide in human skin organ. *BioFactors*, vol. 29, pp. 137-145
- **Danson M., Hough D. (1998).** Les enzymes de l'extrême. *Biofutur*. [https://doi.org/10.1016/s02943506\(98\)80014-8](https://doi.org/10.1016/s02943506(98)80014-8)
- **Darleen a., Demson R., Sexton M., Gorman . , Reid J.S.G., (1985).** Structure and biochemistry of Endosperm Breakdown in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Seeds. *Protoplasma*. 126:159-167.
- **Decruyenaere V., Fabry J., Lecomte Ph. (1998).** La finition de la vache de réforme. *Agricontact* 307 : 13-16.
- **Demain A. L.; Dykhuizen L., (2006).** Ecology and industrial microbiology. Editorial Overview. *Current Opinion in Microbiology* .(9): 237-239.
- **Demain A. L.; Solomon N. A., (1985).** Biology of industrial microorganisms. The Benjamin/cummings publishing company, INC. California.
- **Djinni I., (2008).** Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia. P 16.
- **Djouab A., (2007).** Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dattes des variétés sèches. Mémoire de magistère, Université M'hamed Bougara-Boumerdes.
- **Donadio, S., Sosio, M., Lancini, G. (2002).** Impact of the first *Streptomyces* genome sequence on the discovery and production of bioactive substances. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(4) : 377–80.
- **Dubois, M., Gills K., A., Hamilton J., K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry* ,28, 350.

- **Eunice J. A. et Prosser J. I. (1983).** Mycelial growth and branching of *Streptomyces coelicolor*. A3 (2) on solid medium. *General Microbiology*. 129, 2029-2036.

F

- **Franca, A.S., Oliveira, L.S. et Ferreira, M.E. (2009)** Kinetics and equilibrium studies of methylene blue adsorption by spent coffee grounds. *Desalination*, vol. 50, p. 610-616. www.elsevier.com/locate/desal (Page consultée le 6 juin 2018).

G

- **Gazenko S. V., Reponen T. A., Grinshpan S. A., Willeke IC, (1989).** Analysis of airborne actinomyete spores with flurogenic substrates. *Applied and Environmental Microbiology*. 64:4410-4415.
- **Ghanem, N.B., Sabry, S.A, El-Sherif, Z.M., Abu El-Elal, G.A. (2000).** Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *General and Applied Microbiology*, 46(3): 105–111
- **Ghose, T.K. (1987).** Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry* , vol. 59, n°2, P: 257-268.
- **Godheja J., Shekhar S.K., (2014).** Biodegradation of Keratin from Chicken Feathers by Fungal Species as a Means of Sustainable Development. *Bioremediation and Biodegradation*, 5 : 232.
- **Gomez-de la Cruz, F.J.,Cruz-Peragon, F., Casanova-Pelaez, P.J. et Palomar-Carnicero, J.M. (2015)** A vital stage in the large-scale production of biofuels from spent coffee grounds: The drying kinetics. *Fuel Processing Technology*, vol. 130, p. 188-196. www.elsevier.com/locate/fuproc (Page consultée le 6 juin 2018).
- **Goodfellow M and Williams ST (1983).** Ecology of actinomycetes. -Ann. *Microbiology*. 37.p 189-216.
- **Goodfellow M., (1989).** Suprageneric classification of actinomycetes. *In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 4. Williams ST, Sharpe ME and Holt JG (Eds.) Williams & Wilkins, Baltimore. pp 2333-2339.

- **Goodfellow M., Cross T., (1984).** Classification. *In: The Biology of the actinomycetes*
- **Goodfellow M., Stackebrandt E., Kroppenstedt R.M., (1988).** Chemotaxonomy *In actinomycete systematics*. In: Okami, Y., Beppu, T., Ogawara, H. (Eds.), *Biology of Actinomycetes* 88. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan, pp. 233–238.
- **Gottlieb D., (1973).** Général considération and implication of the *Actinomycetales*. In: *actinomycetales characteristics and practical importance*. Edited by G. Sykes and F. A. Skinner. Academic Press, London, New York.
- **Grigorova, R., Norris, J.R. (Editors) (1990).** Techniques in microbial ecology. *Methods in Microbiology*, Vol. 22. Academic Press, London, pp. 627.

H

- **Haimour N.M., Emeish S., (2006).** Utilization of date stones for production of activated carbon using phosphoric acid. *Waste Management*, vol.26, pp. 651–660
- **Haines, Roland J , (2004).** Ferme à la fourchette une stratégie intégrale pour la salubrité des viandes en ontario. Toronto, Imprimeur de la Reine pour l'Ontario. 654p. ISBN : 0- 7794- 6428- 1.
- **Hirsch C. F.; Christensen L., (1983).** Novel method for selective isolation of actinomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 46 (4), 925-929.
- **Hirvonen M. R., Nevalainen A., Makkonen M., Monkkonen J. and Savolainen K., (1997).** *Streptomyces* spores from modly houses induce nitrocoxide, TNF α and IL-6 secretion from AW264.7 macrophage cell line without causing subsequent cell death. *Environ. Toxicology and applied Pharmacology*, 3:57-63.
- **Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J. et Williams S.T. (1994)** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams & Wilkins, USA: 611-703.
- **Hopwood, D.A. (1973).** Genetics of the Actinomycetales. *Society for Applied Bacteriology Symposium Series*, 2: 131–53.

- **Hopwood, D.A. (2003).** *Streptomyces* genes: from Waksman to Sanger. *Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(8): 468–471.
- **Hsu S. C. et Lockwood J. L. (1975).** Powdred chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Applied Microbiology*. 29(3), 422-426.

J

- **Jassim S.A. A., Naji M.A., (2007).** In vitro Evaluation of the Antiviral Activity of an Extract of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Pits on a *Pseudomonas* Phage. General Authority for Health Services for the Emirate of Abu Dhabi.
- **Jensen, P.R., Dwight, R., Fenical, W. (1991).** Distribution of actinomycetes in near- shore tropical marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(4):1102–1108.

K

- **Kannappan, S; baahrathi, D, (2012).** Technology and management. Exploration on amino acid content and morphological structure in chicken feather fiber. *Journal of textile and apparel*. 7. 3. p1-6.
- **Kim S.B., Seong C.N., Jeon S.J., Bae K.S., et Goodfellow M., (2004).** Taxonomic study of neurotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil and description of *Streptomyces yeochonensis* sp.nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 211-214.
- **Kitouni M. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire de substances élaborées. Thèse de Doctorat d'Etat en Microbiologie appliquée. Université Mentouri-Constantine, Algérie. 170p.
- **Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., Boiron, P. (2005).** Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *Medical Mycology*, 15(1) : 45–51.

- **Kumar.A, Bohra.C, singh.C.K. (2003).** Environment pollution and management. India: New delhi-110035(Ed), Pp532-534.

L

- **L. Boudechiche, A. Araba, A. Tahar A, R. Ouzrout, (2009).** Etude de la composition chimique des noyaux de dattes en vue d'une incorporation en alimentation animale, *Live Stock Research for Rural Development*, vol 21, N° 5, pp: 1-11
- **Lacey J. (1997).** Actinomycetes in composts. *Annals of agricultural and Environmental Medecine.* 4, 113-121.
- **Larpent, J.-P., Larpent-Gourgaud, M. (1985).** Éléments de Microbiologie. Hermann. Paris. 264 p.
- **Larpent, J.P., Sanglier, J.J. (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Ed. Masson. Paris, 481p.
- **Le Minor, L., Veron, M. (1989).** Bacteriologie medicale. 2ème édition. Medecine. Sciences Flammarion
- **Lecheb F., (2010).** Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. Université M'hamed Bougara-Boumerdes
- **Lechevalier M. P., Lechevalier H., (1985).** Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* in : Biology of industrial microorganisms. The Benjamin Cummings Publishing Company, INC. pp. 315-360.
- **Lechevalier, H. (1985).** Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamin Cummings Publishing Company, INC. pp 315–360.
- **Limousy, L., Jeguirim, M., Dutournié, P., Kraiem, N., Lajili, M et Said, R. (2013)** Gaseous products and particulate matter emissions of biomass residential boiler fired with spent coffee grounds pellets. *Fuel*, vol. 107, p. 323-329. www.elsevier.com/locate/fuel (Page consultée le 12 juin 2018).
- **Lopes A., Coelho R. R., Meirelles M. N. I., Branquinha M. H. et Vermalho A. B. (1999).** Extracellular serine-proteinases isolated from *Streptomyces*

alboniger. Partial characterization and effect of aprotinin on cellular structure. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. 94, 763-770.

- **Loucif K., (2010)**. Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomyètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. P 22.
- **Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951)**. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193–265.

M

- **Maidak, B.L., Cole, J.R., Parker Jr., C.T., Garrity, G.M., Larsen, N., Li, B., Lilburn, T.G., McCaughey, M.J., Olsen, G.J., Overbeek, R., Pramanik, S., Schmidt, T.M., Tiedje, J.M., Woese, C.R., (1999)**. A new version of the RDP (ribosomal database project). *Nucleic Acids Research* 27, 171–173.
- **Mantell, C.L. (1975)**. **Solid waste: origin, collection, processing, and disposal., s.d., John Wiley et Sons Inc., 1127 p.** (A Wiley-Interscience publication).
- **Mariat, F., Sebald M. (1990)**. Les actinomyètes. Dans : Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.
- **Mason M. G., Ishizawa K., Silkstone G., Nicholls P. et Wilson M. T. (2001)**. Extracellular heme peroxidases in actinomyètes : A case of Mistaken identity. *Applied and Environmental Microbiol.* 67(10), 4512-4519.
- **McKinney. R.E. 2004**. Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press: New York. Pp: 448.
- **Morel d'Arleux F. (2000)** Les co-produits de l'industrie de la pomme de terre : une solution intéressante pour l'alimentation des ruminants. Document de synthèse, *Arvalis-Institut du végétal – GIPT*, 38p
- **Mussatto, S.I., Machado, E.M.S., Maritns, S. et Teixeira, J.A.(2011b)** Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *LWT - Food Bioprocess and Technology*, vol. 4, p. 661-672

N

- **Nanjani. S. G & Soni. H. P. (2011).** Isolation and characterization of extremely halotolerant and halophilic organisms from dwarka and veraval. *Bioinformatica* .Vol: 1. N°: 1. Pp: 1-15.
- **Nouad, M. (2011).** Étude technicoéconomique de projets de valorisation/gestion de déchets liés à la filière avicole en Algérie. *Gtz-REME*. 58 p.

O

- **Omura, S. (1992).** The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer, Verlag, New York
- **Osman m. F., Ben zayed a. A., Alhadrami g. A., (1999).** Sulfuric acid treated date pits as dietary ingredients in tilapia (*oreochromis niloticus*) diets. *Bioresource Technology* 620-627.
- **Owen, P.L., Johns, T., (1999).** *Xanthine oxidase* inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *Ethnopharmacology*, vol.64, pp. 149-160.
- **Ottow, J.C.G., Glathe, H. (1968).** Rose Bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Applied Microbiology*, 16(1): 170–171.

P

- **Pandey B., Ghimire P., Agrawal V.P., (2003).** Studies on the antibacterial activity of the actinomycetes isolated from Khumbu Region of Nepal. *Academy of Science and Technology*. 4pp.
- **Park J.O.; El-Tarabily K.A.; Ghisalberti E.L.; Sivasithamparam K., (2002).** Pathogenesis of *Streptoverticillium albireticuli* on *Caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 35, 361–365.

- **Petrosyan P., Garci'a-Varela M., Luz-Madrigal A., Huito'n C. and Flores M. E. (2003).** *Streptomyces mexicanus* sp. Nov., a xylanolytic micro-organism isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53. 269-273.
- **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein D.A. (2007).** Microbiologie. De Boeck & Larcier, Bruxelles: 805–825.
- **Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A. (2010).** Microbiologie. De Boeck :Bruxelles. 2eme edition Pp 589.

Q

- **Québec. Bureau du Forestier en chef (2015)** Bilan d'aménagement forestier durable 2000-2008. *In* Gouvernement du Québec. Documents. <http://forestierenchef.gouv.qc.ca/documents/bilan-damenagement-forestier-durable-2000-2008/> (Page consultée le 15 juin 2018)

R

- **Rahman M.S, Kasapis S, Al-Kharusi N.S.Z, Al-Marhubi I.M, Khan A.J., (2007).** Composition characterisation and thermal transition of date pits powders. *Food Engineering*, vol.80, pp.1– 10.
- **Rainey F.A., Ward-Rainey N., Kroppenstedt R.M., Stackebrandt E., (1996).** The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Bacteriology*, 46: 1088-1092.
- **Rangaswami. G. Bagyaraj. D. J. Bagyaraj D.G. (2004).** Agricultural Microbiology. PHI: New Delhi. Pp: 440.
- **Reponen, T.A., Gazonko, S.V., Grinshpun, S.A., Willeke, K., Cole, E.C. (1998).** Characteristics of Airborne *Actinomycete* Spores. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (10): 3807–3812.
- **Rivas R., Sanchez M., Trujillo M. E., Zurdo-pineiro J. L., Mateos P. F., MartinezMolina E. et Velazquez E. (2003).** *Xylanimonas cellulosityca* gen. Nov., sp. Nov., a xylanolytic bacterium isolated from a decayed tree (UImus

nigra). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 53, 99-103.

S

- **Saha, Subhasish** , (2009). Exploration of Keratinolytic Actinobacteria for the Bioconversion of Poultry Feather Waste into Poultry Feed Supplement. Thèse de doctorat en microbiologie. Inde : Bharathiadasan university. 142p.
- **Sanglier J. J., Wellington E. M. H., Kamoun A., Kelly C., Mercer D. K., Prinzi S. and Trigo C. (1993).** Novel bioactive compounds from actinomycetes. *Research in Microbiology*. 144, 661-663.
- **Sanglier J.J. et TrujilloM. (1997)** Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. *Bull Soc Fr Microbiol*. 12: 13.
- **Shirling E. B. et Gottlieb D. (1966)** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 16(3): 313-340.
- **Singleton P., (1999).** Bactériologie, Edition Duodod 4ème édition Paris. P: 415
- **Suntari M., Lignell U., Hyvarinen A. and Nevalailen A., (2002).** Media for cultivation of indoor streptomycetes. *Microbiology Methods*. 1668-1674.

T

- **Theilleux J., (1993).** - les actinomycètes in Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier *Tech et Doc, Apria*, V 612p, pp 425.
- **Tseng, Fan-chen j, (2011).** *Biofibre Production from Chicken Feather*. These de master en Engineering in Materials and Process Engineering. New Zealand : The University of Waikato. 107p.

V

- **Vanabelle B., Poupard F., Besancenot J.M., Morel d'Arleux F., Weiss P., Larondelle Y. (2000).** Valeur énergétique des co-produits de la pomme de terre chez le ruminant. *Annales de Zootechnie* (49) 399404 .
- **Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G.F., Chater, K.F., van Sinderen, D. (2007).** Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3): 495–548.
- **Vonothini G.; Murugan M.; Sivakumar K.; Sudha S., (2008).** Optimization of protease production by an actinomycete Strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. *African Journal of Biotechnology*, 7 (18), 3225-3230.

W

- **Wang L; Huang. Y; Liu. Z; Goodfellow. M & Rodriguez. C. (2006).** *Sreptacidiphilus oryzae sp. Nov.* an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. *Sys. Ev. Microbiology*. Vol 56. Pp: 1257-1261
- **Williams S.T. et Cross T. (1971)** actinomycetes, *Methods in microbiology*. Academic Press, London: 295-334.

Y

- **Yamamura, S., Mosita, Y., Hasan, Q., Yokoyama, K., Tamiya, E., (2002).** Keratin degradation: a cooperative action of two enzymes from *Stenotrophomonas sp.* *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 294, 1138–1143.

Z

- **Zamora, A.J., Pastoriza, S. et Henares, J.A.R (2015)** Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, vol. 61, p. 12-18. www.elsevier.com/locate/lwt (Page consultée le 12 juin 2018)
- **Zvyagintsev. D. G; Zenova. G. M; Sudnizin. I. I; Doroshenko. E. A. (2005).** The Ability of Soil actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol: 405. Pp 461-463.
- **Godheja J., Shekhar S.K., (2014).** Biodegradation of Keratin from Chicken Feathers by Fungal Species as a Means of Sustainable Development. *Bioremediation and Biodegradation*, 5 : 232.

Composition des milieux de culture utilisés

➤ Milieu ISP1 (Tryptone Yeast Extract Broth) à 10% NaCl

| | |
|-------------------|--------|
| Tryptone | 5g |
| Extrait de levure | 3g |
| Agar | 20g |
| Eau distillée | 1000ml |
| NaCl | 100g |

pH = 7_7.1

➤ Milieu ISP2 (International Streptomyces Project 2) à 10% NaCl

| | |
|-------------------|---------|
| Extrait de levure | 4g |
| Extrait de Malt | 10g |
| Glucose | 4g |
| Agar | 20g |
| Eau distillée | 1000 ml |
| NaCl | 100g |

pH = 7.3

➤ Milieu ISP4 (Inorganic Salt Starch Agar) à 10% NaCl

| | |
|---|--------|
| Amidon soluble | 10g |
| K ₂ HPO ₄ | 1g |
| NaCl | 1g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 1g |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 1g |
| CaCO ₃ | 2g |
| Solution saline 1 | 1g |
| Agar | 20g |
| Eau distillée | 1000ml |
| NaCl | 100g |

pH = 7_7.4

➤ Milieu ISP5 (Glycerol Asparagine Agar Base)à 10% NaCl

| | |
|---------------------------------|--------|
| Glycerol | 10g |
| L-asparagine | 1g |
| K ₂ HPO ₄ | 1g |
| Solution saline 1 | 1 ml |
| Agar | 20g |
| Eau distillée | 1000ml |
| NaCl | 100g |

pH = 7_7.4

➤ Milieu à base de Caséine

| | |
|---------------------------------|---------|
| Caséine | 5g |
| K ₂ HPO ₄ | 0.1g |
| Agar | 15g |
| Eau distillée | 1000 ml |
| NaCl | 100g |

pH = 7_7.5

➤ Milieu à base de Gélatine

| | |
|----------|----|
| Gélatine | 5g |
|----------|----|

| | |
|---------------------------------|---------|
| K ₂ HPO ₄ | 0.1g |
| Agar | 15g |
| Eau distillée | 1000 ml |
| NaCl | 100g |

pH = 7_7.5

➤ **Milieu ISP5 (Glycerol Asparagine Agar Base)à 10% NaCl liquide**

| | |
|---------------------------------|--------|
| Glycerol | 10g |
| L-asparagine | 1g |
| K ₂ HPO ₄ | 1g |
| Solution saline 1 | 1 ml |
| Eau distillée | 1000ml |
| NaCl | 100g |

pH = 7_7.4

Composition des solutions utilisées

➤ **Solution saline1**

| | |
|--------------------------------------|-------|
| Fe SO ₄ 7H ₂ O | 0.1g |
| Mn Cl ₂ 4H ₂ O | 0.1g |
| Zn SO ₄ 7H ₂ O | 0.1g |
| Eau distillée | 100ml |

➤ **Solution saline 2**

| | |
|--------------------------------------|-------|
| Cu SO ₄ 5H ₂ O | 0.64g |
| Fe SO ₄ 7H ₂ O | 0.11g |
| Mn Cl ₂ H ₂ O | 0.79g |
| Zn SO ₄ 7H ₂ O | 0.15g |
| Eau distillée | 100ml |

➤ **Tampon phosphate Ph 7,4**

NaH₂PO₄ (A) 0.2MNa₂HPO₄ (B) 0.2M

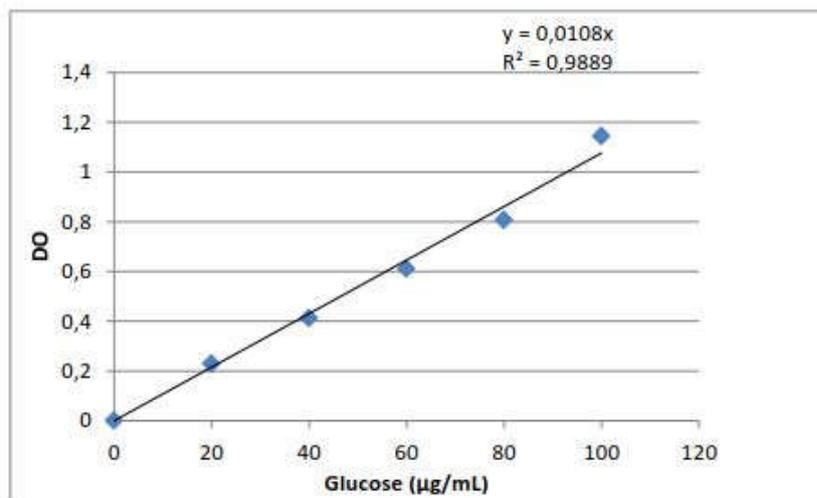
Mélanger les volumes appropriés de stock et ajouter un volume égal d'eau distillée pour faire une concentration finale de 0.1M

(A) = 19.0 ml

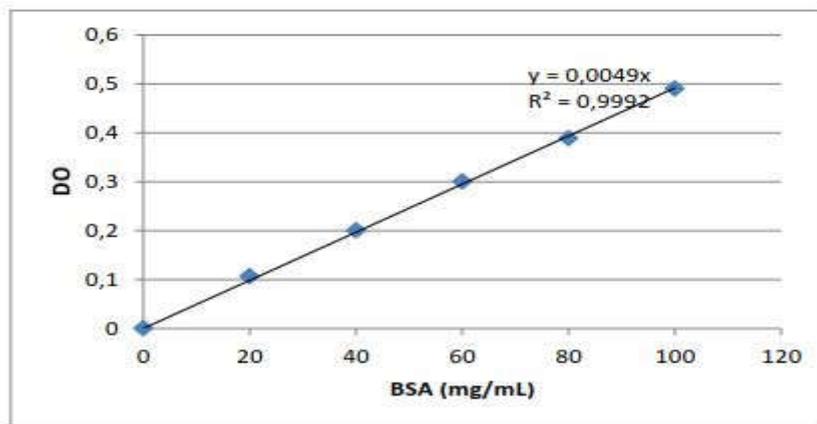
(B) = 81.0 ml

Les courbes d'étalonnages

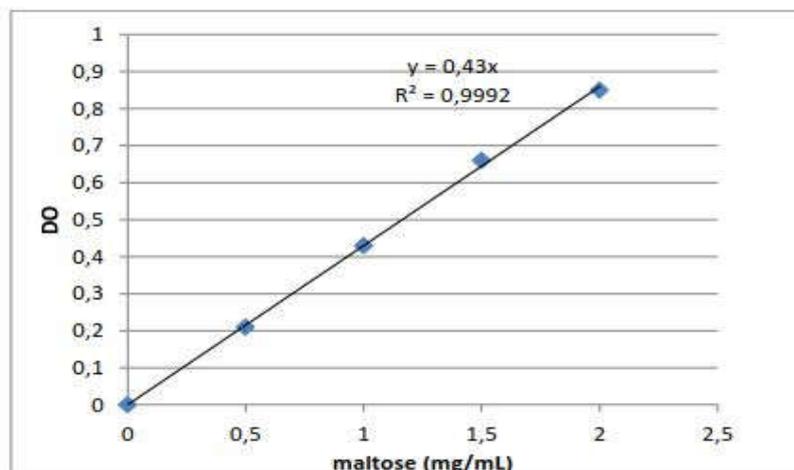
➤ Courbe étalon de glucose (sucres totaux)



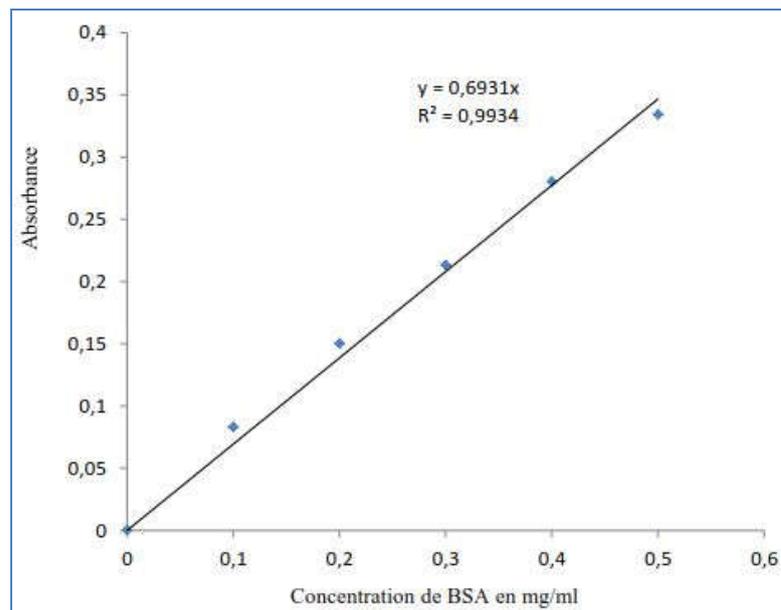
➤ Courbe étalon de la BCA (protéines)



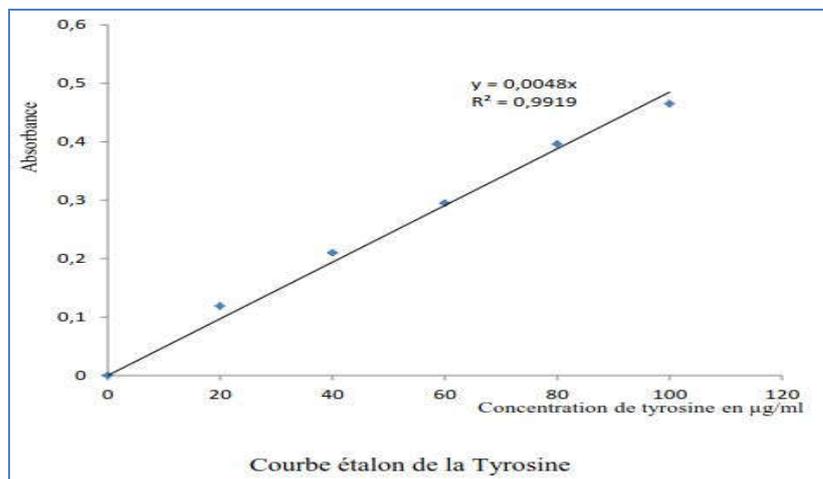
➤ Courbe étalon Du maltose (activité amylasique)



➤ Courbe étalon De la BCA (activités protéolytiques)

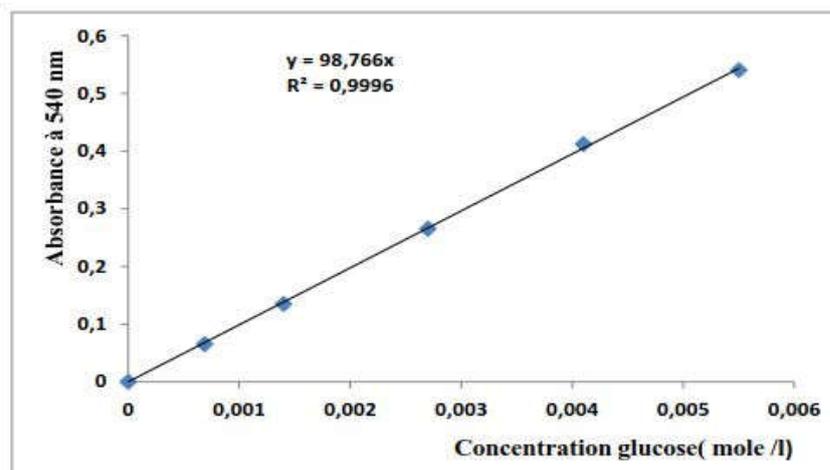


➤ **Courbe étalon de la tyrosine (activité kératinolytique)**



Courbe étalon de la Tyrosine

➤ **Courbe étalon du glucose pour le dosage des activités papier filtre**



Valorisation de quelque sous produits agroalimentaire par *Actinopolyspora* sp. en vue de la production d'enzymes d'intérêt

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **Ecologie Microbienne**

Résumé

L'objectif de notre travail vise à la valorisation de quelque sous produits agroalimentaires (marc de café, noyaux de dattes, plumes de volailles, épluchure de pomme de terre) par voie microbiologique en utilisant l'isolat *Actinopolyspora* sp. et tester l'aptitude de l'isolat à produire différents hydrolases tel que : l'alpha amylase, la cellulase, la protéases, et la kératinase. Pour cela, la souche *Actinopolyspora* sp. subie une étude macroscopique et microscopique et une mise en évidence de ses caractéristiques protéolytiques sur les milieux gélosés à base de gélatine et de caséine ainsi que sa capacité à dégrader les glucides sur le milieu ISP4 a été réalisée. Par la suite une fermentation est conduite sur milieu liquide à base des différents déchets. Une série de dosages enzymatiques permet de sélectionner la souche *Actinopolyspora* sp. comme étant une souche performante. Les résultats de ce travail permettent l'application de ces enzymes dans différent domaine industriels.

Abstract

The objective of our study is the valorization of some of agrifood sub-products (coffee grounds, dates kernels, poultry feathers, potato peel) microbiologically using the isolate *Actinopolyspora* sp. and testing the aptitude of the isolate to produce different hydrolases such as: alpha amylase, cellulase, protease and keratinase. For it, the strain *Actinopolyspora* sp. has got a macroscopic and microscopic study and a demonstration of the proteolytic characters on agars media made of gelatin and casein as well as the capacity to degrade carbohydrates on agar media ISP4 was realized. After that a fermentation was achieved on liquid medium containing different organic waste. A series of enzymatic assays allows us to select the strain *Actinopolyspora* sp. as being a performing strain. The result of this study allow the application of these enzymes in a lot of industrial fields.

ملخص

الهدف من دراستنا هو رسكلة البقايا العضوية (اسس القهوة, نواة التمر, ريش الدواجن, قشور البطاطس) ميكروبولوجيا باستعمال البكتريا *Actinopolyspora* sp. و اختبار قدرتها على انتاج مختلف الانزيمات: الالفا اميلاز, السيلولاز, البروتياز و الكيراتيناز. لهذا خضعت البكتريا *Actinopolyspora* sp. لدراسة ماكروسكوبية و ميكروسكوبية مع دراسة خصائصها لتحليل البروتينات على وسائط غذائية تحتوي على الجلوتين و الكازيين و قدرتها على تحليل الكربوهيدرات على الوسط ISP4. بعد ذلك يتم التخمر على وسط سائل يحتوي على مختلف البقايا العضوية. سلسلة من فحوصات النشاط الانزيمي تسمح لنا باستنتاج ان *Actinopolyspora* sp. بكتريا فعالة. نتائج هذه الدراسة تفتح الابواب لاستعمال هذه الانزيمات في عدة مجالات صناعية.

Mots clés : *Actinopolyspora* sp., valorisation des déchets, activité enzymatique

Laboratoire de recherche : Génie microbiologique et applications

Jury d'évaluation :

| | | |
|----------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Président du jury : | M. <i>BENHIZIA Y.</i> | Professeur - UFM Constantine. |
| Rapporteur : | M. <i>KITOUNI M.</i> | Professeur - UFM Constantine. |
| Examineur : | M. <i>BOUDEMAGH A.</i> | Professeur - UFM Constantine. |

Date de soutenance : 27/06/2018