

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université d'Ain-Temouchent Belhadj Bouchaib – UATBB-
Faculté des sciences et de la technologie
Département des sciences de la nature et de la vie



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

THEME

Contribution à la valorisation de sous-produit issu de l'abattage de volaille (plumes) utilisé comme élément de milieu de culture fongique

Présenté Par :

Mr. BEN TAHROUR ABDERRAHIM

Mr. MESKINE MOHAMED ILIES

Mr. MARNI SANDID AHMED MOHAMED

Devant le jury composé de :

Dr. CHIBANI HIBA RAHMAN	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. LACHACHI MERIEM	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr. MAHMOUDI FATIMA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année universitaire : 2021-2022

Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu tout puissant, qui en son nom et avec
Sa protection, nous avons réussi à réaliser ce travail.*

*Nous tenons aussi à présenter nos vifs remerciements et notre respect au jury
Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger ce mémoire :*

Dr. CHIBANI HIBA RAHMAN en tant que présidente du jury

Dr. LACHACHI MERIEM en tant qu'examinatrice

*Nos profonds remerciements et notre gratitude s'adressent à notre encadrante
Dr. MAHMOUDI FATIMA pour sa précieuse aide, ses orientations et le temps qu'elle Nous a
accordé pour notre encadrement.*

*On tient aussi à remercier les techniciens et techniciennes des laboratoires que nous avons
sollicités et qui ont répondu présents.*

*Merci également à tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la
Réalisation de ce travail,*

Dédicace

Dédicace Ce travail est dédié à :

Mes chers parents

Mes frères et mes sœurs

Mes amies - Mes collègues

*A tous ceux qui ont contribué à ma carrière depuis le primaire jusqu'à
aujourd'hui.*

Abderrahim, Ahmed et Ilies

Liste des abréviations

% : pourcentage

Ph : potentiel hydrogène

Aw : activité de l'eau

G : grossissement

H : heure

PDA : Potato dextrose agar

ARN : L'acide ribonucléique

Fig : figure

3D : trois dimensions

T : Température

rpm : rotation par minute

kDa : kilo dalton

g : gramme

ml : millilitre

°C : degré Celsius

µL : microlitre

GN : Gélose Nutritif

Liste des figures

Synthèse bibliographique

Figure 1: Représentation schématique d'une tête aspergillaire.	3
Figure 2: Principaux types des thalles des champignons	6
Figure 3: Chitine, polymère des unités de B N'acétyle glucosamine	7
Figure 4: Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée des champignons	8
Figure 5: Structure morphologique des plumes de poulet	9
Figure 6: Diagramme de procédé pour la préparation des feuilles à main de plumes de poulet et de pâte de bois.....	11
Figure 7: Schéma de la production de bio engrais à partir de plumes de poulet	12
Figure 8: Schéma de la production d'aliments pour animaux à partir de plumes de poule.....	13
Figure 9 : schématique de la production de biogaz à partir de plumes de poulet.....	13
Figure 10: Schéma de la production de bioplastiques à partir de plumes de poulet.....	14
Figure 11 : a- Représentation schématique de la protéine de Kératine en 3D.b- l'hélice α résulte de la torsion des chaînes polypeptidiques en vissage et c- La structure de la feuille β résulte de l'extension et de l'étirement maximum des chaînes polypeptidiques.....	15
Figure 12: Structure hypothétique de la kératinase (modèle 1) élucidée du programme I-TASSER basé sur la densité des grappes.....	17
Figure 13: 3D image of Alpha-amylase.....	19

Matériel et méthode

Figure 14: plumes de volaille.....	23
Figure 15: farine de plumes volaille.	23
Figure 16: milieu de farine de plumes.	23
Figure 17: Fermentation dans un milieu liquide à base de plume de poulet à 30C° ..	23
Figure 18: Surnageant des cultures récupérées après la fermentation..	24

Résultats et discussion

Figure 19: la zone hydrolyse kératolytiques par les souches sélectionnées (M1, M2, M3, M4) sur milieu à base de farine de plume à 30C°	29
Figure 20: Résultats d'activité protéolytique (caséinolytique) des souches fongiques sur milieu GN additionné de lait écrémé à 30C°	30

Liste des tableaux

Synthèse bibliographique

Tableau 1 :Propriétés principales des champignons	1
Tableau 2 : Conditions physico-chimiques.....	3
Tableau 3 : Caractéristiques des différentes classes des champignons	5
Tableau 4 : Teneur en acides aminés des fibres de kératine des plumes de poulet	10
Tableau 5 : Diversité des microorganismes kératineux et quelques propriétés biochimiques de leurs kératinases	18

Résultats et discussion

Tableau 6 : Identification macroscopique et microscopique des isolats (M1, M2, M3, M4).....	26
Tableau 7 : Résultats du test de mise en évidence de l'activité amylolytique des souches fongiques (M1, M2, M3, M4), sur milieu à base de farine de plume à 30C.....	30

Table des matières

Résumé 1

Introduction générale..... 1

Synthèse bibliographique

I: Généralités sur les champignons..... 1

1. Définition 1

2. Les moisissures 2

2.1. Les Aspergillus 2

3. Conditions physico-chimiques:..... 3

4. Mode de vie..... 4

4.1. Les champignons symbiotiques:..... 4

4.2. Les champignons phytopathogènes (Parasite)..... 4

4.3. Les champignons saprophytes 4

5. Classifications des champignons 4

5.1 Classification classique..... 4

5.2 Classification phylogénétique..... 4

6. La morphologie des champignons 5

7. Structure cellulaire 6

7.1. Noyau..... 6

7.2. Les vacuoles 6

7.3. La membrane plasmidique..... 6

7.4. La paroi..... 7

7.5. Inclusions de lipidique..... 7

8. La reproduction chez les champignons 7

8.1. Reproduction asexuée..... 7

8.2. Reproduction sexuée..... 8

II: Généralités sur les plumes..... 8

1. Les plumes de volailles 8

2.	La morphologie	8
3.	Propriétés chimiques et physique des plumes de volaille	9
3.1.	Propriétés physiques	9
3.2.	Propriétés chimiques.....	10
4.	Valorisation Les Plumes de volailles	10
4.1.	Les Plumes de volailles dans la construction	11
4.2.	Plumes de poulet dans la production de papier	11
4.3.	Les Plumes de volailles dans la production de compost	11
4.4.	Plumes de poulet dans la production de biodiesel	12
4.5.	La production d'aliments à partir de plumes de poulet	12
4.6.	Les Plumes dans la production de biogaz et bio-hydrogène	13
4.7.	Les plumes de poulet dans la production de bioplastique	14
4.8.	Plumes de poulet pour applications biomédicales	14
5.	La Kératine de plume	14
6.	La Dégradation de la kératine	15
III:	Généralités sur les enzymes.....	16
1.	Définition	16
2.	La classification des enzymes :.....	16
3.	La kératinase	16
3.1.	Les micro-organismes kératinolytiques.....	17
3.2.	Utilisation de kératinase	18
4.	L'α-amylase	19
4.1.	Organismes produisant de l'amylase	20
4.2.	Utilisation de l'alpha-amylase	20

Matériel et méthode

1.	Isolement des champignons	21
1.1	Prélèvement des échantillons.....	21

1.2 Dilution.....	21
1.3 Ensemencement	21
1.4. Purification des isolats.....	22
1.5. dentification des isolats	22
1.5.1. Identification macroscopique.....	22
1.5.2. Identification microscopique	22
2. L'activité enzymatique des champignons.....	22
2.1. Activité kératolytiques.....	22
2.1.1. Préparation du milieu de farine de plumes.....	22
2.1.2. Fermentation dans un milieu liquide.....	23
2.1.3. Préparation de la solution enzymatique	24
2.1.4. Test l'activité enzymatique sur milieu solide	24
2.2. Activité amylolytique	24
2.3. l'activité protéolytique (caséinolytique) des souches fongiques	25

Résultats et discussion

1. Résultats d'isolement des moisissures	26
2. Identification macroscopique et microscopique des isolats.....	26
3. Résultats d'activité kératolytiques des souches fongiques	28
4. Résultats d'activité amylolytique des souches fongiques	29
5. Résultats d'activité protéolytique (caséinolytique) des souches fongiques.....	30
6. Discussion :.....	31
Conclusion générale	33
Références bibliographiques	34
Annexes	39

Résumé

Le présent travail porte sur une contribution à la valorisation des plumes de volailles. L'isolement des isolats fongique se fait à partir du sol de la ferme de poulets de Daïra de Hammam Bouhdjer à la wilaya d'Ain Temouchent. Quatre (04) isolats fongiques ont été isolés et identifiés, L'identification de ces quatre isolats fongiques était basée sur les caractères morphologiques (étude macroscopique et microscopique), ces souches appartiennent au genre *Aspergillus* (*Aspergillus niger* (M1), *Aspergillus flavus* (M2), *Aspergillus fumigatus* (M3) et *Aspergillus terreus* (M4)). Et sont capable de se développer sur un milieu solide et liquide à base de la farine de plume. Le Test d'activité kératolytiques a permis de sélectionner trois souches kératolytiques ; *Aspergillus flavus* M2, *Aspergillus fumigatus* (M3) et *Aspergillus terreus* (M4). Ces souches isolées possèdent une activité kératinolytique élevée et très efficace dans la dégradation des plumes, présentant une utilisation potentielle pour les processus biotechnologiques impliquant l'hydrolyse de la kératine. Le Test d'activité amylolytique de ces quatre isolats a révélé que des 04 (M1, M2, M3 et M4) sont des souches amylolytique capable de produit l'enzyme de L' α -amylase. Par ailleurs ces 04 isolats n'ont pas une activité protéolytique (caséinolytique).

Mots clés : *Aspergillus*, kératine, farine de plume, activité kératinolytique, activité amylolytique.

Abstract

This work focuses on a contribution to the valorization of poultry feathers. The isolation of fungal isolates is done from the soil of the Daïra de Hammam Bouhdjer chicken farm in the wilaya of Ain Temouchent. Four (04) fungal isolates were isolated and identified, the identification of these four fungal isolates was based on morphological characters (macroscopic and microscopic study), these strains belong to the genus *Aspergillus* (*Aspergillus niger* (M1), *Aspergillus flavus* (M2), *Aspergillus fumigatus* (M3) and *Aspergillus terreus* (M4)). And are able to grow on a solid and liquid medium based on feather meal. the Keratolytic activity test made it possible to select three keratolytic strains; *Aspergillus flavus* M2, *Aspergillus fumigatus* (M3) and *Aspergillus terreus* (M4). These isolated strains possess high and highly effective keratinolytic activity in feather degradation, presenting potential use for biotechnological processes involving keratin hydrolysis. The amylolytic activity test of these four isolates revealed that 04 (M1, M2, M3 and M4) are amylolytic strains capable of producing the α -amylase enzyme. Moreover, these 04 isolates do not have proteolytic (caseinolytic) activity.

Key words: *Aspergillus*, keratin, feather meal, keratinolytic activity, amylolytic activity.

ملخص

يركز هذا العمل على المساهمة في تثمين ريش الدواجن. تم عزل العزلات الفطرية من تربية مزرعة دواجن دائرة حمام بوحجر بولاية عين تموشنت. تم عزل وتحديد أربع (04) عزلات فطرية ، وتم التعرف على هذه العزلات الفطرية على أساس الصفات المورفولوجية (دراسة مجهرية وميكروسكوبية) ، تنتمي هذه السلالات إلى *Aspergillus niger* (M1), *Aspergillus flavus* (M2), *Aspergillus fumigatus* (M3) et *Aspergillus terreus* (M4)). وتكون قادرة على النمو على وسط صلب يعتمد على مسحوق ريش الدجاج. مكن اختبار النشاط من اختيار ثلاث سلالات. *Aspergillus flavus* M2, *Aspergillus fumigatus* (M3) et *Aspergillus terreus* (M4). تمتلك هذه السلالات المعزولة نشاطاً كيراتينياً عالي الفعالية في تحلل الريش، مما يمثل استخداماً محتملاً لعمليات التكنولوجيا الحيوية التي تتضمن تحلل الكيراتين. أظهر اختبار نشاط الأميلوليت لهذه العزلات الأربع أن (M1, M2, M3) و (M4) هي سلالات أميلوليت قادرة على إنتاج إنزيم ألفا الأميلاز. علاوة على ذلك، لا تحتوي هذه العزلات على نشاط للبروتين (الحالة الكازينية).

الكلمات المفتاحية: *Aspergillus* ، الكيراتين، مسحوق ريش الدجاج، نشاط الكيراتين، نشاط اميلوزي.

Introduction générale

Les plumes sont produites en grandes quantités en tant que sous-produits des usines de transformation de la volaille, atteignant des millions de tonnes par an dans le monde. La plume de volaille constitue la matière kératinique la plus abondante dans la nature. Le composant principal de la plume est la kératine, une protéine mécaniquement durable et chimiquement non réactive, ce qui la rend difficile à digérer par la plupart des enzymes protéolytiques. Le recyclage des plumes est un sujet d'intérêt car il est un complément protéique alternatif et potentiellement bon marché à utiliser dans l'alimentation animale (**Bertsch *et al.*, 2005**).

Les plumes de poulet sont des ressources riches en protéines composées à 90 % de kératine. Les structures se plient et forment des structures complexes et les liaisons de la kératine confèrent à la kératine une stabilité mécanique élevée (**Larasati *et al.*, 2017**).

Le développement des méthodes simples de traitement enzymatique améliorera la valeur nutritionnelle des déchets kératiniques et pour l'hydrolyse de plumes en protéine soluble et des acides aminés (**Gousterova *et al.*, 2005**).

Les enzymes d'origine microbienne présentent des propriétés et des spécificités diverses. Ces propriétés reflètent de plus en plus leurs utilisations dans divers domaines d'applications, tels que l'industrie alimentaire humaine et animale, les détergents pour lessives, l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique. Environ 40% des enzymes industrielles sont d'origine fongique (**Botton *et al.*, 1990**). Appartenant aux enzymes de la famille des hydrolases telles que, l' α -amylase, kératinase.

Les enzymes kératinolytiques peuvent avoir des utilisations importantes en biotechnologie processus impliquant des déchets contenant de la kératine des industries de la volaille à travers le développement de procédés non polluants (**Su, 2020**).

L'objectif de ce travail a été mené pour étudier la production de kératinase et l'activité de champignons isolés à partir de fermes de poulet et utiliser les plumes de poulet comme milieu riche de carbone et azote. Ce mémoire comprend :

-Une partie bibliographique qui fournit un ensemble d'informations théoriques sur notre thème.

-Une partie expérimentale : l'isolement et purification des isolats fongique et identification macroscopique et microscopique, l'isolement des souches kératolytiques, sur milieu sélective à base de plumes des volailles, et sélectionner les souches que produit l'enzyme de kératinase. Ainsi les souches amylolytiques qui produit l'enzyme de l'alpha-amylase sur milieu gélosés.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

I : Généralités sur les champignons

1. Définition

Les champignons sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires. Dans la classification du monde vivant Les champignons constituent un règne distinct de celui des animaux et des végétaux (**Chabasse *et al.*, 2002**).

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes. Leur rôle essentiel est la biodégradation et le recyclage des matières organiques (**Mueller *et al.*, 2007**).

Ils diffèrent entre eux en termes de taille, de forme, de couleur, d'habitat et de mode de vie. Certains d'entre eux ne peuvent pas être vus à l'œil nu, certains peuvent être vus, comme la moisissure, et certains sont relativement gros, comme les champignons supérieurs (**Money, 2016**).

Tableau 1: Propriétés principales des champignons (**Delarras, 2014**).

Formes	- Structure filamenteuse. Hyphes ou filaments à parois généralement composées de chitine, septées ou siphonnées -Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité.
Croissance des hyphes	-Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphe conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle
Métabolisme général	- Chimiohétérotrophes - Source de carbone et d'énergie : molécules carbonées organiques - Suivant les espèces, peuvent lyser des polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines, des lipides...
Métabolisme spécifique	Fabrication des métabolites fongiques toxiques (exotoxines) par des moisissures saprophytes ; appelées mycotoxines, ces molécules sont toxiques pour l'homme, les animaux et même les plantes

Habitats naturels et autres	Air, eaux, sols...Vivent en saprophytes ou parasites - Champignons pathogènes pour l'homme, agents d'aspergilloses, de dermatophytoses... -Matières premières alimentaires, aliments... pouvant être contaminés par des moisissures toxigènes
-----------------------------	---

2. Les moisissures

Les moisissures sont des champignons microscopiques, filamenteux, donc ils ont fondamentalement les caractères de ces organismes (**Roquebert., 1997**). Ce sont des eucaryotes, non photosynthétiques et immobiles (**Guiraud., 2003**). L'hyphe est un élément structural dont la paroi contient souvent de la chitine et la croissance apicale des filaments est suivie d'une ramification qui conduit à la formation d'un mycélium ou thalle (**Larpen., 1997a**).

2.1 Les *Aspergillus*

Les champignons du genre *Aspergillus* sont utilisés par l'homme depuis fort longtemps dans la fabrication de certains produits alimentaires. Dont la première description date de 1729. Certaines synthèses sont effectuées à l'échelle industrielle et sont de premières importances telles celles d'enzymes et d'antibiotiques. Les champignons du genre *Aspergillus*, sont des moisissures saprophytes à filaments hyalins, cloisonnés, et sont haploïdes. Le genre *Aspergillus* appartient au groupe phylogénétique des Ascomycètes et à la famille des Trichocomaceae. Il existe environ 185 espèces d'*Aspergillus*, dont une vingtaine retrouvée en pathologie humaine. En causant des mycoses, ou l'aspergillose, une infestation des voies respiratoires, potentiellement mortelle (**Scriban, 1993 ; Desoubeaux et al., 2010**).

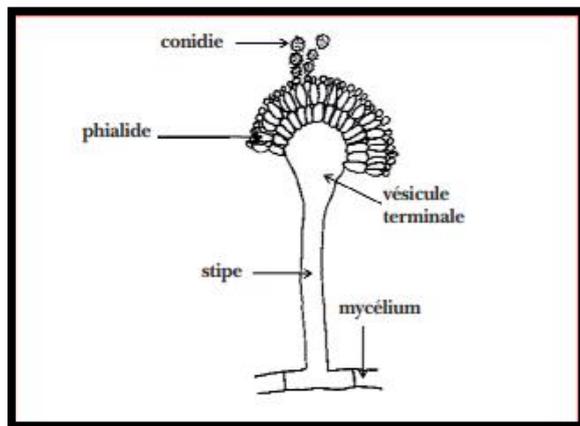


Figure 1: Représentation schématique d'une tête aspergillaire (Desoubeaux *et al.*, 2010).

3. Conditions physico-chimiques :

Le grand nombre des champignons croît en aérobiose, ne nécessite pas de lumière et supporte une large gamme de pH. La température représente le paramètre le plus variable selon les espèces. La majorité des mycètes se développent à une température inférieure ou égale à 25.

Tableau 2: Conditions physico-chimiques (Delarras, 2014).

Température	<ul style="list-style-type: none"> - Optimum de croissance de 25 à 35 °C : champignons psychotropes à mésophiles - Maximum de 60 à 62 °C : champignons thermophiles - 20 à 50 °C : champignons thermotolérants •
Ph	<ul style="list-style-type: none"> - En général pH entre 4,5 et 8,0 avec optimum entre 5,5 et 7,5 - A pH<4,5 : champignons acidophiles
Aération	<ul style="list-style-type: none"> - En général aérobies - Quelques espèces micro-aérophiles et anaérobies stricts - Nombreuses levures et moisissures fermentant les glucides
Lumière	<ul style="list-style-type: none"> -Pas d'action du spectre visible sur la croissance végétative des champignons -Action sur la sporulation chez certains champignons

Aw	- Valeur limite de 0,65 pour la disponibilité en eau
----	--

4. Mode de vie

Les champignons pouvant prendre la forme du saprophytisme, du parasitisme ou de la symbiose.

4.1 Les champignons symbiotiques : C'est une association à bénéfices réciproques entre deux organismes taxonomiquement différents et chacun des deux organismes tire profit de cette association (l'association des champignons avec les plantes) (**Bouchet *et al.*, 2005**).

4.2 Les champignons phytopathogènes (Parasite) : Ils établissent des interactions antagonistes avec d'un être vivant soit végétal, animal ou un autre champignon, certains causent diverse maladies (**Dighton, 2003**).

4.3 Les champignons saprophytes : Ils participent notamment aux processus de décomposition des matières organiques, d'immobilisation des éléments minéraux et établissent des interactions neutres avec la plante (**Bouchet *et al.*, 2005**).

5. Classifications des champignons

5.1 Classification classique

Les champignons ont été classés sur la base de leur caractères morphologie et leurs caractères phénotypiques ainsi se basé sur localisations géographiques et leurs modes de vie et aussi leurs habitats (**Fries, 1821**).

5.2 Classification phylogénétique

Le principe de Classification phylogénétique est basé sur la comparaison du matériel génétique, et en particulier par séquençage de l'ARN ribosomique 16 S ou de l'ARNr 5S Les séquences des gènes sont des outils qui permettent de construire des arbres phylogénétiques sur la base des liens de parenté moléculaire (**Camille *et al.*, 2014**). La classification actuelle des champignons est présentée dans le tableau 03.

Tableau 3: Caractéristiques des différentes classes des champignons (Goyal *et al.*, 2016).

Classes	Caractéristiques
Basidiomycètes	Ils comprennent la majorité des champignons comestibles cultivés, Leurs cellules reproductrices, les spores, sont contenues dans des « cellules-mères » ou « sac à spores » appelés « basides ».
Ascomycètes	Constituent l'un des deux plus grands embranchements de champignons, Les spores sont produites dans une structure semblable à un sac structure appelée asque.
Zygomycètes	Espèces majoritairement microscopiques, avec des hyphes cœnocytiqes.
Oomycètes	Les Oomycètes comprennent les moisissures aquatiques et certains agents pathogènes importants tels que le mildiou de la pomme de terre. Beaucoup produisent des spores mobiles pendant leur cycle de vie qui peut nager. Ce groupe est maintenant classé avec les algues brunes.
Deutéromycètes	Espèces pour lesquelles la reproduction sexuelle n'est pas connue comme les moisissures (<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i>).
Microsporidiomycètes	Parasites unicellulaires sporulés.

6. La morphologie des champignons

L'appareil végétatif des champignons forme un thalle composé de filaments microscopiques, souvent ramifiés, appelés hyphes ; l'ensemble de ces hyphes forme le mycélium, visible à l'œil nu dans les boîtes de Petri. Les hyphes sont entourés d'une paroi cellulaire protectrice, qui permet les échanges avec le milieu extérieur. Elle est en général formée de chitine associée à d'autres constituants (chitosanes, glucanes, protéines)(**champion, 1997**).

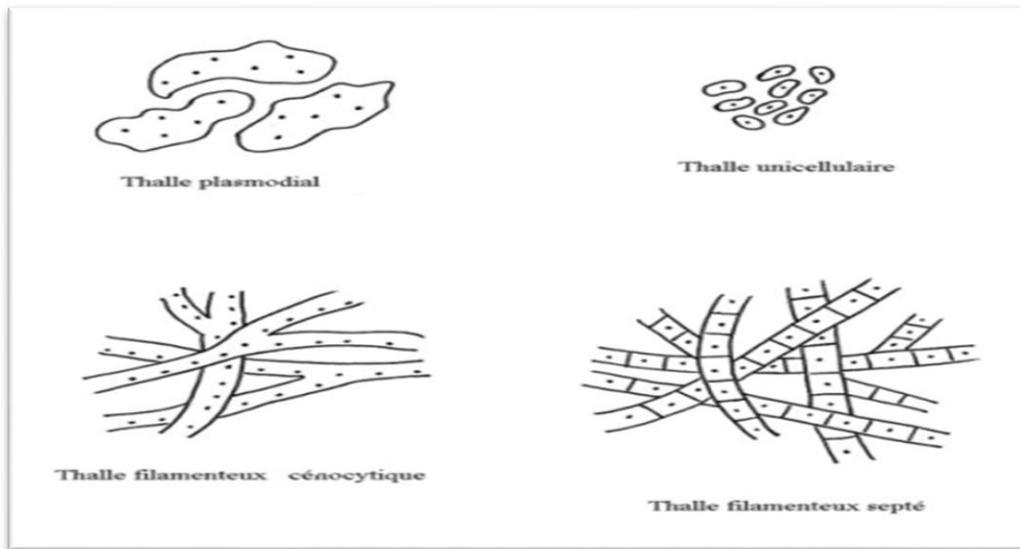


Figure 2: Principaux types des thalles des champignons (Nasraoui ,2015).

7. Structure cellulaire

7.1 Noyau

Les champignons peuvent contenir un, deux ou plusieurs noyaux. Les noyaux fongiques sont d'habitude petits comparés à ceux des animaux et des plantes et ils ont comparativement de petits chromosomes. Bien que généralement de forme sphérique à ovoïde, les noyaux ont des structures extrêmement plastiques qui sont capables de passer à travers les minuscules pores septaux. (Nasraoui, 2015).

7.2 Les vacuoles

Elles sont souvent abondantes dans les cellules fongiques, elles sont entourées d'une seule unité membranaire, les vacuoles en croissance active sont généralement petites, Cependant, les parties les plus vieilles des hyphes peuvent contenir de grandes vacuoles qui remplissent presque la totalité des cellules hyphales (Narayanasamy, 2013).

7.3 La membrane plasmidique

Les champignons ont une membrane plasmique similaire à celle des autres eucaryotes, consistant en une bicouche de phospholipides et des protéines (Nasraoui, 2015).

7.4 La paroi

Les parois des cellules fongiques contiennent 80 à 90 % de glucides, le reste étant des protéines et des lipides. Une caractéristique typique de la paroi cellulaire fongique est la présence de chitine (**Dube, 2013**).

La chitine est un polymère linéaire d'unités de glucosamine N-acétyl B, lié par des liaisons glycosidiques B14 (Fig. 03). La chitine peut être superposée ou intercalée avec d'autres glucanes, comme la callose, qui se compose de résidus de glucose liés à B 1-3 (**Dube, 2013**).

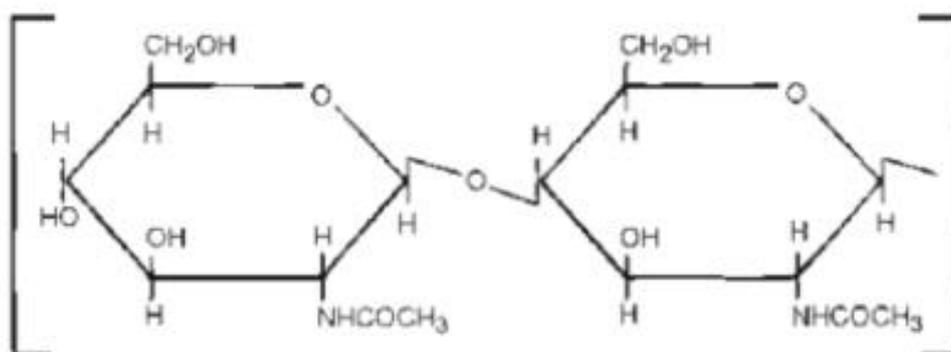


Figure 3: Chitine, polymère des unités de B N'acétyl glucosamine (**Dube, 2013**).

7.5 Inclusions de lipidique

Parmi les substances de réserves, les champignons accumulent les lipides comme réserve de carbone, sont rencontrés plus fréquemment dans les spores et les hyphes mûres. Le polysaccharide glycogène, qui se forme principalement dans les parties les plus âgées des hyphes et dans les cellules reproductives sont une autre source de carbone très courante chez les champignons (**Pérez et al., 2012**).

8 La reproduction chez les champignons

8.1 Reproduction asexuée

La reproduction asexuée se caractérise par l'absence de fusion des gamètes. Il est réalisé par la production des spores. Les spores asexuées sont produites chez un mycète par une mitose suivie d'une division cellulaire (**Prescott et al., 2003**).

8.2 Reproduction sexuée

La reproduction sexuée implique la production d'organes sexués et de gamètes, la fusion des gamètes ou des organes sexués suivie par la fusion nucléaire, La méiose et le développement des organes de fructification (**Larpente et al., 1990**).

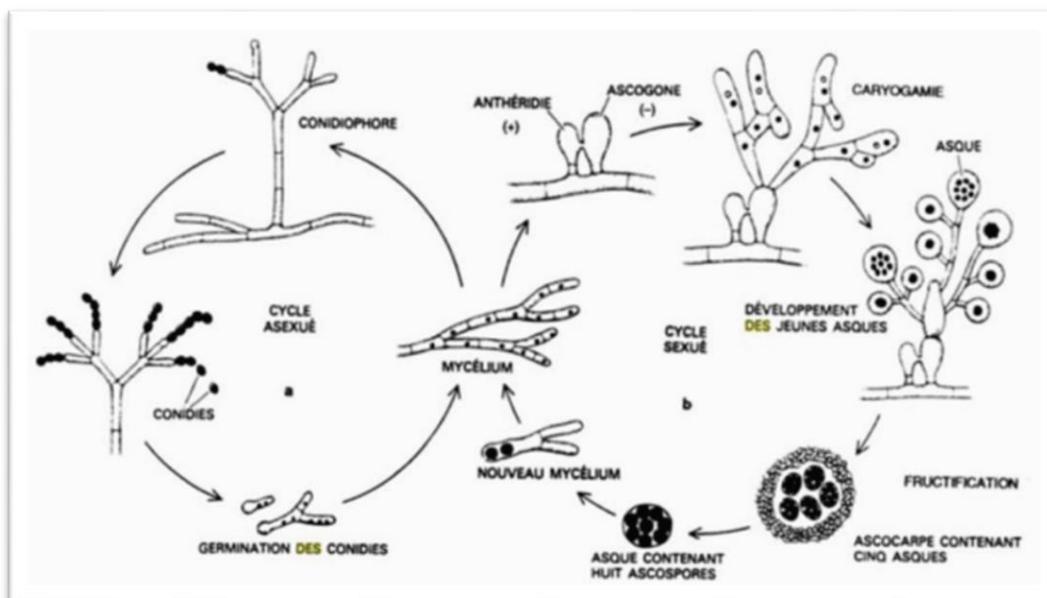


Figure 4: Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée des champignons (**Aurélié, 2013**).

II : Généralités sur les plumes

1. Les plumes de volailles

Les plumes de volailles représentent entre 4,5 et 6,2% en poids vif de l'animal. Elles sont classées dans la catégorie de déchets non dangereux selon la nomenclature française (**SAVARY et al., 2004**) Elles assurent l'isolation et l'imperméabilité chez les volailles, elles permettent également à la plupart des oiseaux de voler en formant des surfaces (**Reddy et al., 2016**). Les plumes de poulet servaient de protection contre les changements climatiques et les blessures physiques. Le modèle de couleur de plume a servi d'une aide significative pour l'identification des variétés de volaille (**COLLIN, 2019**).

2. La morphologie

La plume est formée d'un axe longitudinal, L'axe est composé par un calamus et un rachis. Le calamus est la partie tubulaire, transparent et creux, courte et non pigmentée qui

s'insère dans le follicule plumeux. Le rachis désigne la portion longue et solide de la tige, assurant la continuité du calamus.

Le rachis n'est pas creux, Le rachis consiste à alterner des couches de fibres orientées de façon opposée. Le noyau médullaire, fait de kératine, présente deux niveaux de porosité, ce qui minimise le poids des plumes, surtout parce qu'il occupe une grande partie du volume du rachis. Outre le rachis est rempli de substances mortes, pigments et protéines qui sont restés là, résultant du développement de la plume.

L'axe transversal est défini par le vexille, une structure comme une lame divisée en deux parties opposées. C'est le corps visible couvrant la plus grande zone de la plume formée par un réseau compliqué de crochets entrelacés appelées les barbicelles. La partie inférieure du rachis peut comporter une plume secondaire, appelée hyporachis (COLLIN, 2019 ; Pahua-Ramos *et al.*, 2017).

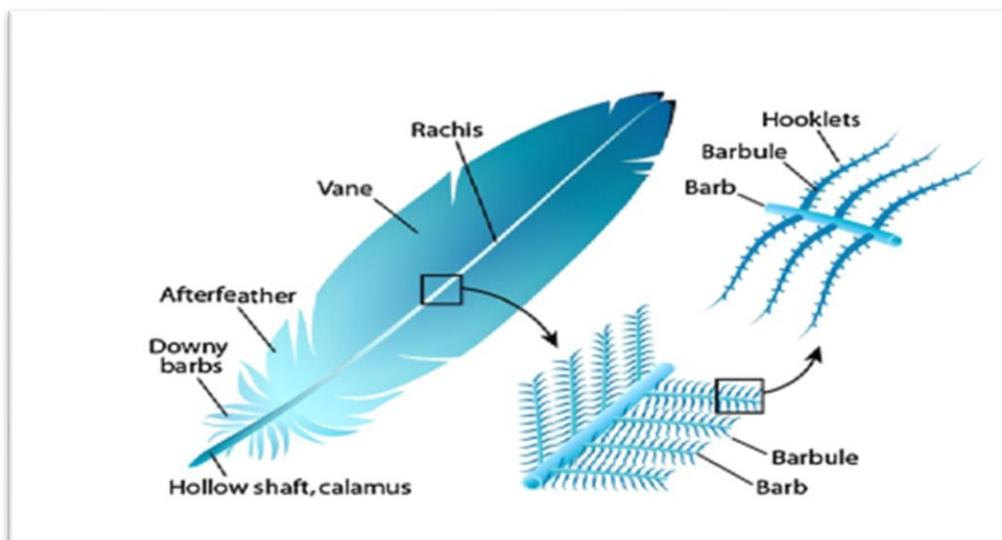


Figure 5: Structure morphologique des plumes de poulet (Stettenheim, 2000).

3. Propriétés chimiques et physique des plumes de volaille

3.1. Propriétés physiques

Les plumes ont une faible densité, une faible épaisseur, une rétention de chaleur, stupéfiant la compressibilité et la force, la capacité de tuyau structure morphologique particulière de leurs barbes les rendent fibres remarquables (Tsfaye *et al.*, 2017, Saravanan *et al.*, 2012).

3.2. Propriétés chimiques

Les plumes de volaille contiennent environ 91 % de protéines (kératine), 1% de lipides et 8% d'eau. La succession des acides aminés. L'acide amine, La séquence acide est principalement composée de cystéine, de glutamine, de proline et de sérine, comme le montre le tableau 04 (Saravanan *et al.*, 2012).

Tableau 4: Teneur en acides aminés des fibres de kératine des plumes de poulet (Saravanan *et al.*, 2012).

Groupe fonctionnel	Acides aminés	Pourcentage de contenu
Chargés positivement	Arginine	4.30
Chargé négativement	Acide aspartique	6.00
	Glutamine	7.62
Hydrophobe	Tyrosine	1.00
	Leucine	2.62
	Isoleucine	3.32
	Valine	1.61
	Cysteine	8.85
	Alanine	3.44
	Phenylalanine	0.86
	Methionine	1.02
	Hygroscopic Threonine	4.00
	Serine	16.00
Spécial	Proline	12.00
	Asparagine	4.00

4. Valorisation Les Plumes de volailles

La valorisation pourrait être qualifiée de processus à valeur ajoutée pour une certaine entité et avoir un grand impact sur la réutilisation. Ainsi, la valorisation des plumes de poulet pourrait être définie comme la conversion de plumes en produits à valeur ajoutée distincte (Kagua, 2020). Les plumes de volailles entrer dans des plusieurs secteurs :

4.1. Les Plumes de volailles dans la construction

La faible conductivité thermique des plumes les rend potentiellement idéales pour une utilisation dans des applications d'isolation thermique. L'isolation thermique est essentielle aux bâtiments et est également importante dans le secteur de l'aérospatiale et de l'automobile et dans l'emballage thermique (Dieckmann *et al.*, 2021).

4.2. Plumes de poulet dans la production de papier

Les résultats de cette étude. Il n'y avait aucune différence de signification pour l'absorption d'eau entre les plumes de poulet et les échantillons de feuilles à main de pâte de bois (Tesfaye *et al.*, 2017).



Figure 6: Diagramme de procédé pour la préparation des feuilles à main de plumes de poulet et de pâte de bois (Tesfaye *et al.*, 2017).

4.3. Les Plumes de volailles dans la production de compost

Les plumes contiennent plus de 13 % d'azote. Ainsi, les plumes sont utilisées dans les installations de culture qui nécessitent de riches pansements azotés. Donc ils sont stupéfiants à des fins de compost (Tesfaye *et al.*, 2017).

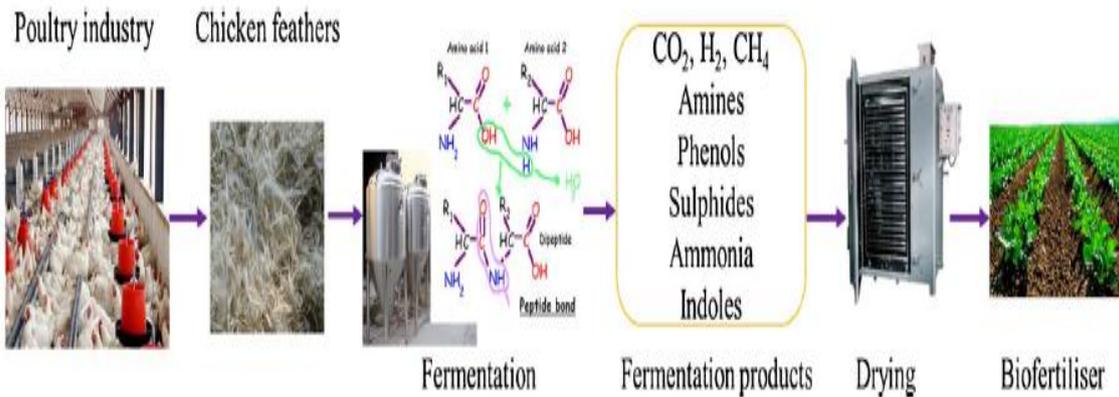


Figure 7: Schéma de la production de bio engrais à partir de plumes de poulet (Tesfaye et al., 2017).

4.4. Plumes de poulet dans la production de biodiesel

Traiter la farine de plumes de poulet à haute température. La farine avait une teneur en matières grasses de 12 % qui pouvait être extraite pour l'utilisation du biodiesel (Kagua, 2020).

4.5. La production d'aliments à partir de plumes de poulet

La transformation des plumes de poulet en aliments pour les animaux devrait apporter une valeur ajoutée financière, mais surtout significative dans la lutte contre l'environnement pollution. Donc, les plumes de poulet peuvent être recyclées à des fins alimentaires (Tesfaye et al., 2017).

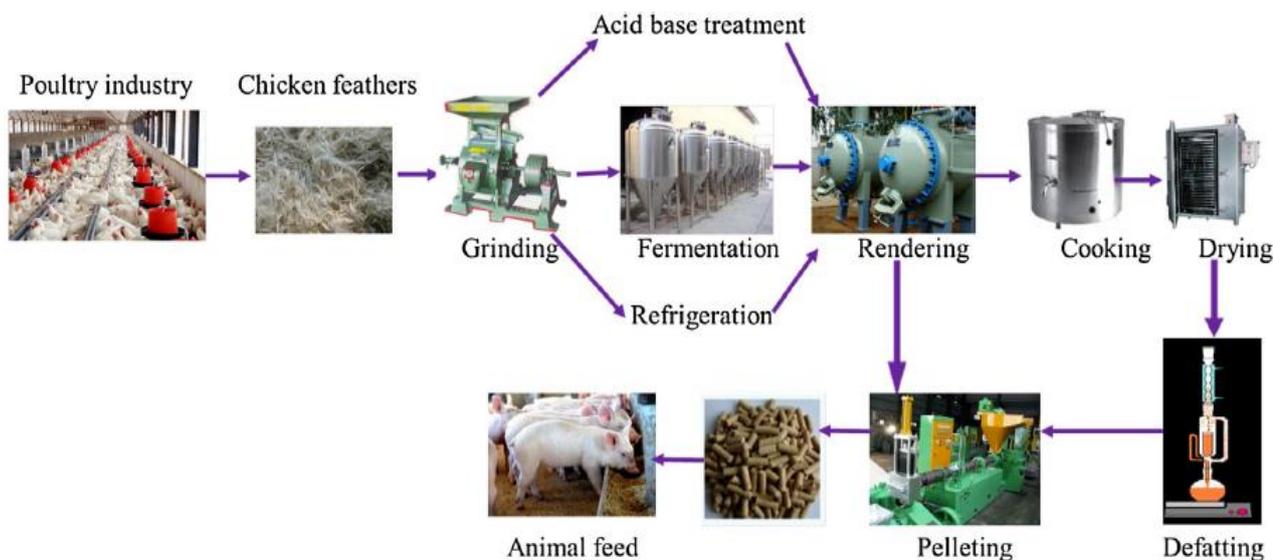


Figure 8: Schéma de la production d'aliments pour animaux à partir de plumes de poule (Tesfaye *et al.*, 2017).

4.6. Les Plumes dans la production de biogaz et bio-hydrogène

Les plumes de poulet contiennent de grandes quantités de protéines, les éléments de carbone, d'azote et d'hydrogène (Tesfaye *et al.*, 2017).

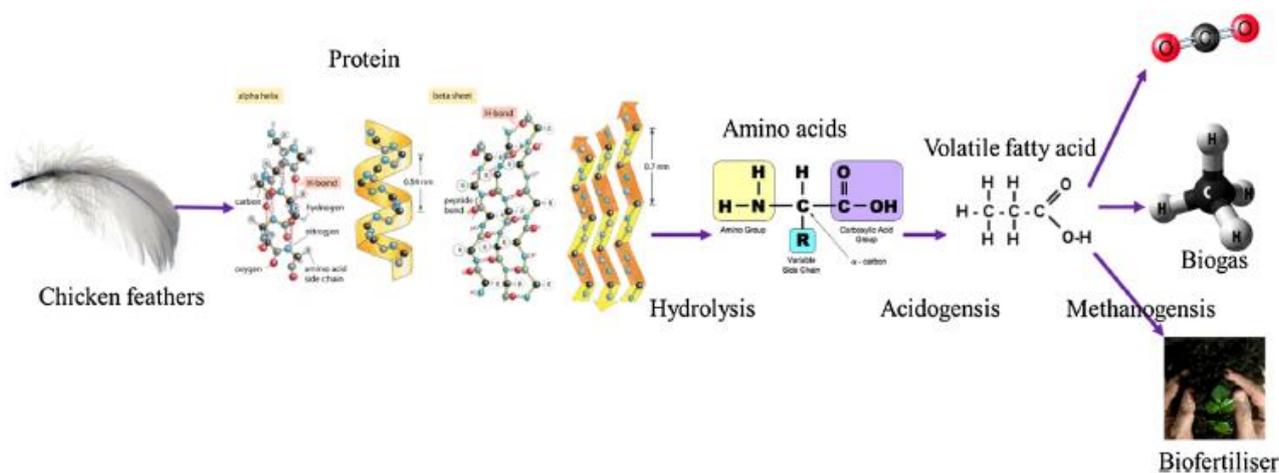


Figure 9 : schématique de la production de biogaz à partir de plumes de poulet (Tesfaye *et al.*, 2017).

4.7. Les plumes de poulet dans la production de bioplastique

L'étude a été menée pour synthétiser le bioplastique à l'aide de kératine de poulet plumes, la solution de kératine extraite a été mélangée avec les différentes concentrations telles que glycérol pour former des films plastiques. Bio plastique fait à partir de la kératine de 2% glycérol avait les meilleures propriétés mécaniques et thermiques. Ainsi, les résultats concluent que la kératine de plumes de poulet pourrait être utilisée dans la production de film plastique par rapport à son alternative de matériau à base d'huile fossile, car elle s'est avérée nocive pour l'environnement (Tesfaye *et al.*, 2017).

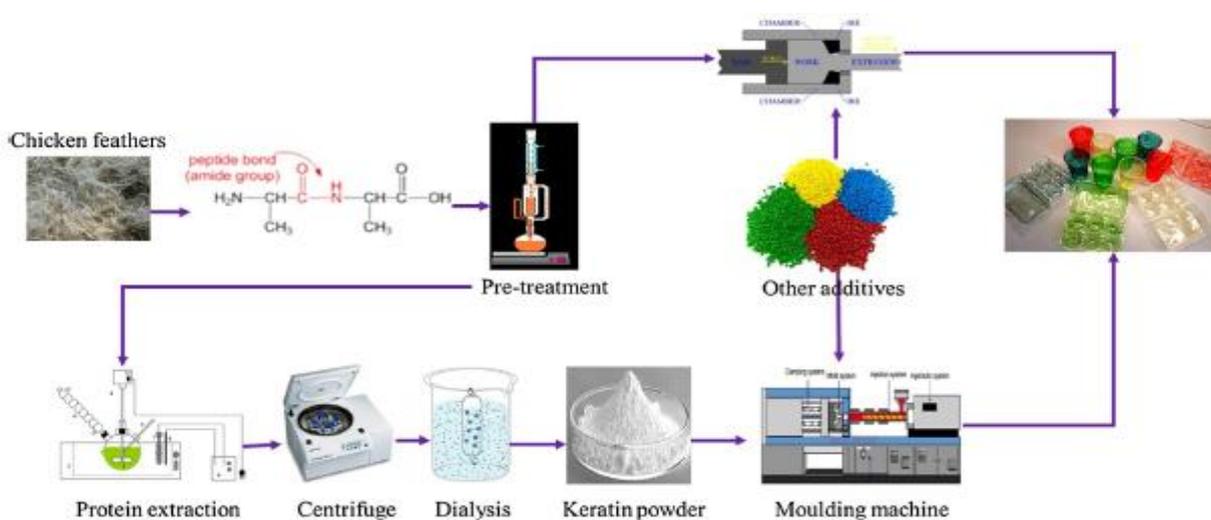


Figure 10: Schéma de la production de bioplastiques à partir de plumes de poulet (Tesfaye *et al.*, 2017).

4.8. Plumes de poulet pour applications biomédicales

L'utilisation de la génération de kératine était potentielle pour des applications biomédicales telles que les livraisons de médicaments, l'ingénierie tissulaire et la guérison des plaies. Les matériaux régénérés de kératine pourraient être d'une sorte de membranes, films, poudre, éponges et fibres. En raison du fait que la kératine pouvait être mélangée avec certains polymères comme oxyde de polythène, acide polyactique, pour supplément, il a amélioré le champ d'application (Kagua, 2020).

5. La Kératine de plume

La kératine est une protéine très stable fibreuse et insoluble en raison de la présence d'un degré élevé de liaisons croisées (S-S) disulfure et de liaisons hydrogène. Cette protéine

se compose d'une variété d'acides aminés, En tenant compte de la conformation structurale secondaire, les kératines ont été classées en α - (α -hélice de cheveux et de laine) et β -kératines (β feuilles de plumes) (**Mathison, 1964**).

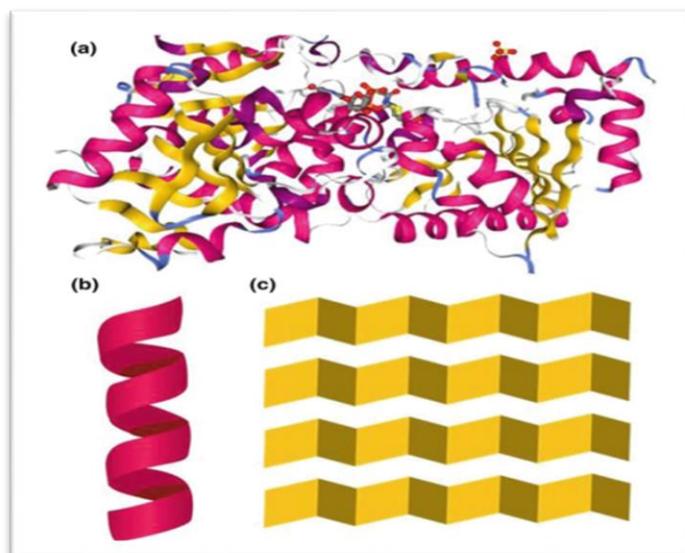


Figure 11: a- Représentation schématique de la protéine de Kératine en 3D. b- l'hélice α résulte de la torsion des chaînes polypeptidiques en vissage et c- La structure de la feuille β résulte de l'extension et de l'étirement maximum des chaînes polypeptidiques (**Shah *et al.*, 2019**).

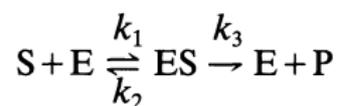
6. La Dégradation de la kératine

Les déchets riches en kératine sont de dégradation difficile puisque le polypeptide est densément emballé et fortement stabilisé par plusieurs liaisons hydrogène et hydrophobe interactions. En outre, la liaison croisée des chaînes de protéines par plusieurs liaisons disulfures confère une grande stabilité mécanique et résistance à la dégradation protéolytique des kératines par commune protéases. Malgré leur résistance élevée, les kératines sont recyclées en nature et peut être dégradé par certains micro-organismes. Les enzymes kératinolytiques sont produites par des champignons, des actinomycètes et des bactéries et ont été fréquemment isolées de sols où des matériaux kératiniques sont déposés (**Brandelli *et al.*, 2010**).

III : Généralités sur les enzymes

1. Définition

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques de nature protéique, produits par la cellule vivante. Qui assurent le déroulement de toutes les réactions métaboliques des organismes vivants en agissant sur une multitude de molécules complexes. Le résultat de ces réactions est la synthèse ou la modification des molécules organiques essentiels des cellules vivantes (**Ouedraogo, 1986**). Les deux propriétés les plus remarquables des enzymes sont leur spécificité et l'efficacité catalytique. Les réactions enzymatiques sont basées sur le concept qu'une enzyme agit en formant un complexe ou un composé avec le substrat. Le complexe d'enzyme et de substrat est instable et passe par une ou plusieurs étapes de réarrangement pour former le produit plus l'enzyme d'origine. Cette théorie de l'action enzymatique a été proposée par Michaelis et Menten (1913) et peut s'exprimer par l'équation suivante :



S est le substrat, E est l'enzyme, ES est le complexe enzyme-substrat intermédiaire, P est le produit de la réaction, et k_1 , k_2 et k_3 sont les constantes de vitesse de réaction respectives ou les constantes de vitesse des trois processus (**Tabatabai, 1983**).

2. La classification des enzymes :

Selon les propriétés des réactions catalysées par les enzymes, le système de numérotation de la Commission des enzymes (CE) a divisé les enzymes en 6 classes principales primaires en 1961 : oxydoréductases (EC1), transférases (EC2), hydrolases (EC3), lyases (EC4), isomérasés (EC5) et des ligases (EC6). Ces six catégories n'ont pas changé pendant de nombreuses années jusqu'à ce qu'une nouvelle classe, les translocases (EC7), soit ajoutée en août 2018. Différentes enzymes ont différentes propriétés de réaction catalytique, et la prédiction des classes d'enzymes est un sujet de recherche très important (**Tao et al., 2020**).

3. La kératinase

Le kératinases sont une classe particulière d'enzymes protéolytiques qui afficher la capacité de dégrader les substrats de kératine insolubles (**Brandelli et al., 2010**). Kératinases ont été salués comme enzymes critiques en raison de leur capacité unique s'attaquer aux substrats de kératine très rigides et insolubles, créant de nombreuses applications dans divers secteurs agro-industriels et biotechnologiques, tout en contribuant à la protection de l'environnement et au développement durable de la biomasse. Au cours des dernières décennies, nous avons été témoins d'énormes progrès dans l'exploitation des kératinases microbiennes pour diverses applications potentielles (**Gupta et al., 2017 ; Brandelli et al., 2010**).

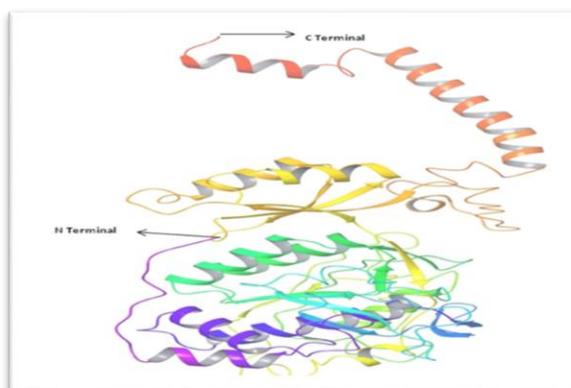


Figure 12: Structure hypothétique de la kératinase (modèle 1) élucidée du programme I-TASSER basé sur la densité des grappes (**Gupta et al., 2017**).

3.1. Les micro-organismes kératinolytiques

La kératinase peut être produite par un large éventail de microorganismes dans la nature, des procaryotes aux eucaryotes. La plupart de ces micro-organismes sont isolés dans des environnements riches en kératine, comme les plumes en décomposition, les déchets de volaille et les déchets d'abattoirs (**Su,2020**).

Tableau 5: Diversité des microorganismes kératineux et quelques propriétés biochimiques de leurs kératinases (Qiu *et al.*, 2020).

Micro-organisme	Moléculaire masse (kDa)	PH optimal	T (°C) optimal	Référence
Bacteria				
<i>Bacillus sp. SCB-3</i>	134	7	40	Lee et al. 2002
<i>Bacillus cereus DCUW</i>	80	8.5	50	Ghosh et al. 2008
<i>Bacillus pumilis</i>	65	8.0	65	Kumar et al. 2008
<i>Clostridium sporogenes</i>	28.7	8	55	Ionata et al. 2008
<i>Kocuria rosea</i>	240	10	40	Bernal et al. 2006a
<i>Kytococcus sedentarius</i>	30–50	7–7.5	40–50	Longshaw et al. 2002
<i>Streptomyces sp. S7</i>	44	11	45	Tatineni et al. 2008
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	36	8	60	De Toni et al. 2002
<i>Streptomyces albidoflavus</i>	18	6–9.5	40–70	Bressollier et al. 1999
<i>Streptomyces pactum</i>	30	7–10	40–75	Böckle et al. 1995
Fungi				
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	6.5-9	45	Santos et al. 1996
<i>Aspergillus oryzae</i>	60	8	50	Farag and Hassan 2004
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	38	5.5	50	Qin et al. 1992
<i>Paecilomyces marquandii</i>	33	8.0	60–65	Gradisar et al. 2005
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	36–39	8.0	40	Anbu et al. 2005

3.2. Utilisation de kératinase

L'application la plus importante des kératinases est le bioprocédé des déchets riches en kératine, qui sont générés et accumulés comme sous-produits du traitement agro-industriel. Ces déchets sont des ressources de qualité à haute teneur en protéines, une variété d'acides

aminés essentiels, des oligo-éléments, des vitamines et des facteurs de croissance. Les kératinases réalisent la conversion de ces déchets en produits à valeur ajoutée (Su,2020).

Les enzymes kératolytiques sont déjà appliquées industriellement, par exemple dans les détergents, dans la production de cuir et dans la bioremédiation. Les kératinases sont des détergents attrayants parce qu'ils ont une grande spécificité pour les protéines solubles et insolubles comme substrats. Un biodétergent formulé avec une kératinase alcaline peut éliminer efficacement les taches de sang et de jaune d'œuf (Qiu *et al.*, 2020).

4. L' α -amylase

L' α -amylase, comme toute enzyme, est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires, dont le rôle biologique est d'hydrolyser l'amidon (Gupta, 2003).

Les amylases sont l'une des enzymes industrielles les plus importantes qui ont une grande variété d'applications allant de la conversion de l'amidon en α -amylases (E.C. 3.2.1.1.) sont des enzymes de dégradation de l'amidon qui catalysent l'hydrolyse de α -interne Liaisons 1,4-O-glycosidiques dans les polysaccharides avec rétention de la configuration α -anomérique dans les produits de faible poids moléculaire, comme le glucose, le maltose et le maltotriose (Brayer *et al.*, 1995).

Ces enzymes représentent environ 30 % de la production mondiale d'enzymes. Vous pouvez voir une image 3D de cette enzyme à la figure 13.

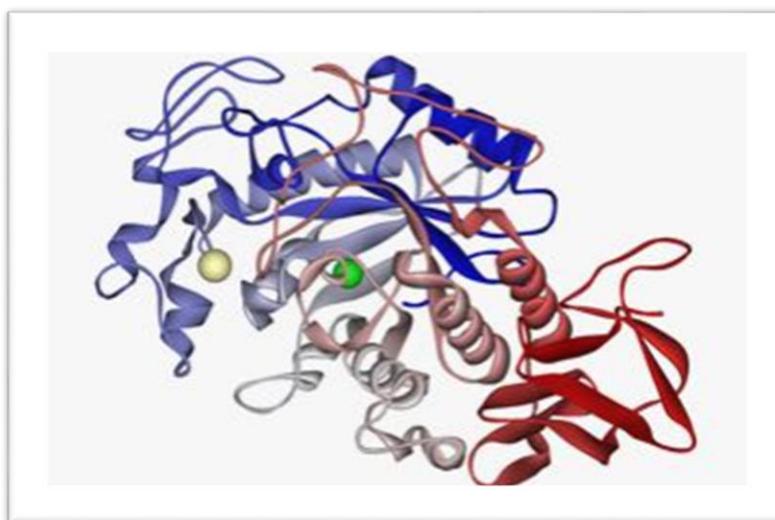


Figure 13: 3D image of Alpha-amylase (Mobini-Dehkordi *et al.*, 2012).

4.1. Organismes produisant de l'α-amylase

L'α-amylase a été dérivée de plusieurs champignons, levures, bactéries et actinomycètes, mais les enzymes de sources fongiques et bactériennes ont dominé les applications dans les secteurs industriels (**Tanyildizi et al., 2005.**). Les sources fongiques se limitent aux isolats terrestres, principalement aux espèces d'*Aspergillus* et à une seule espèce de *Penicillium* (*P.brunneum*) (**Kathiresan et al., 2006.**).

Les espèces d'*Aspergillus* produisent une grande variété d'enzymes extracellulaires, et les amylases sont celles qui ont la plus grande importance industrielle (**Hutcheon et al., 2005.**). Les champignons filamenteux, comme *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger* (**Jin et al., 1998.**).

4.2. Utilisation de l'α-amylase

Avec le développement de la biotechnologie. Le principal marché pour les α-amylases est l'industrie de l'amidon, qui est utilisé pour l'hydrolyse de l'amidon dans le processus de liquéfaction de l'amidon qui convertit l'amidon en fructose et sirops de glucose. La conversion enzymatique de tout l'amidon comprend : la gélatinisation, qui implique la dissolution des granules d'amidon, formant ainsi une suspension visqueuse, la liquéfaction, qui implique une hydrolyse partielle et une perte de viscosité et la saccharification, la production de glucose et de maltose par hydrolyse supplémentaire (**Regulapati et al., 2007.**).

Amylases sont largement utilisés dans l'industrie des aliments transformés tels que la boulangerie, le brassage, la préparation des aides digestives, la production de gâteaux, jus de fruits et sirops d'amidon (**Zeman et al., 1985.**). Ces enzymes peuvent être ajoutées à la pâte du pain pour dégrader l'amidon dans la farine en plus petites dextrans, qui sont ensuite fermentées par la levure. L'ajout de α-amylase à la pâte la texture du produit. En outre, il génère du sucre supplémentaire dans la pâte, ce qui améliore le goût, la couleur de la croûte et les qualités de grillage du pain (**Gupta et al., 2003 ; Ogasahara et al., 1970.**).

Chapitre II :

Matériel et méthode

Les producteurs industriels d'enzymes vendent des enzymes pour une grande variété d'applications. Le marché mondial des enzymes industrielles est estimé à 1,6 milliard de dollars américains, répartis entre les enzymes alimentaires (44 %) et les enzymes techniques générales (56 %) (Outtrup et al., 2002).

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie à Université Belhadj Bouchaïb Ain Temouchent.

1. Isolement des champignons

L'isolement des isolats a été effectué sur le milieu Sabouraud modifié (additionné de gentamycine) à pH 6 incubés à températures 30C° pendant 5 ou 7 jours. À partir de cette solution et à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, des isolements en stries ont été réalisés sur boîtes de Pétri contenant le milieu Sabouraud.

1.1 Prélèvement des échantillons

Le prélèvement des échantillons est effectué à partir du sol d'une ferme de Poulets localisée dans la Daïra de Hammam Bouhdjer, le prélèvement est réalisé dans les conditions stériles. Les échantillons ont été transportés au laboratoire pédagogique de l'université d'Ain Temouchent.

1.2 Dilution

A partir du sol prélevé de la ferme, on prélève 1 ml et on le mets aseptiquement dans 9 ml d'eau physiologique, et des dilutions décimales ont été réalisées (de 10^{-1} jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-4}). Une agitation avec le Vortex permet l'homogénéisation des solutions.

1.3 Ensemencement

0.1 ml de chaque dilution est déposé sur les boîtes contiennent un milieu Sabouraud additionné de Gentamicine et ensemencé en surface dans le milieu de culture Sabouraud (annexe 1), l'étalement se fait à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, puis les boîtes sont incubées à 30°C pendant 5 à 7 jour.

1.4. Purification des isolats

La purification est réalisée par un repiquage successif des colonies sur des boîtes contenant le milieu Sabouraud. Chaque isolat est repiqué, à l'aide d'un fil de platine stérile par piqure centrale. La purification est faite jusqu'à l'obtention des colonies pures, l'incubation se fait à une température 30C° pendant 5 à 7 jours (**Botton et al., 1990**).

1.5. Dentification des isolats

1.5.1. Identification macroscopique

L'identification macroscopique est basée sur l'observation des critères morphologiques à l'œil nu : couleur au recto et au verso des colonies, texture, taille, et ainsi la couleur des spores. (**Blaize et al., 2021**).

1.5.2. Identification microscopique

Les moisissures isolées et sélectionnées ont été identifiées par une observation microscopique réalisée par la méthode de lactophénol bleu puis une observation au grossissement X40 et X100.

Les caractéristiques microscopiques à étudier sont, tout d'abord, l'aspect des filaments (ou hyphes) qui constituent le mycélium (appelé thalle) : hyphes septés ou non, mélanisés ou non, larges ou fins, à bords parallèles ou plutôt froissés (en ruban) et la présence de ramifications (quantité, angle de séparation des filaments, disposition des embranchements) (**Blaize et al., 2021**).

2. L'activité enzymatique des champignons

2.1. Activité kérolytiques

2.1.1. Préparation du milieu de farine de plumes

Un milieu sélectif à base de farine de plumes de poulets est utilisé pour l'isolement des souches des protéolytiques (annexe 2), les plumes sont prélevées de l'abattoir (figure 14) de la Daïra Hammam Bouhdjer (20km l'est de Ain Temouchent), ces dernières sont lavées à l'eau de robinet plusieurs fois puis à l'eau distillée, ensuite séchées à température 50C°, après découpées en petit morceaux, puis les plumes sont broyées jusqu'à l'obtention d'une farine puis sont filtrées à l'aide d'une passoire (figure 15).



Figure 14 : plumes de volaille.



Figure 15 : farine de plumes volaille.

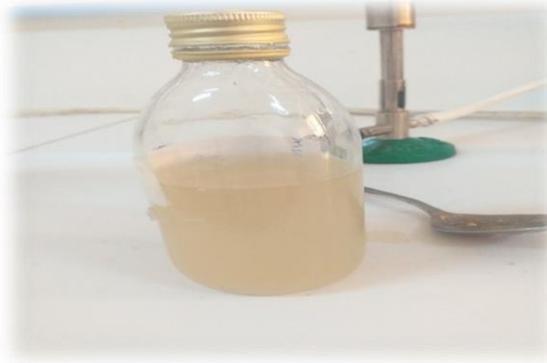


Figure 16 : milieu de farine de plumes.

2.1.2. Fermentation dans un milieu liquide

La production de kératinase par les souches obtenues, est réalisée dans un milieu liquide à base de farine de plumes (Annexe 3), Tout d'abord à l'aide d'une anse platine ensemencher chaque isolat dans d'un tube à essai stériles contenant 10 ml de, et mettre les tubes dans un agitateur, puis les incuber pendant 48-72 h (figure 17).



Figure 17 : Fermentation des isolats dans un milieu liquide à base de plume de poulet à 30C°.

2.1.3. Préparation de la solution enzymatique

La solution enzymatique ou le surnageant de culture (Fig.18) récupéré après Centrifugation à 6000 rpm pendant 20 min de la culture ensemencée. Pour tester par la suite les activités enzymatiques des souches obtenues sur milieu solide à base de farine de plume.

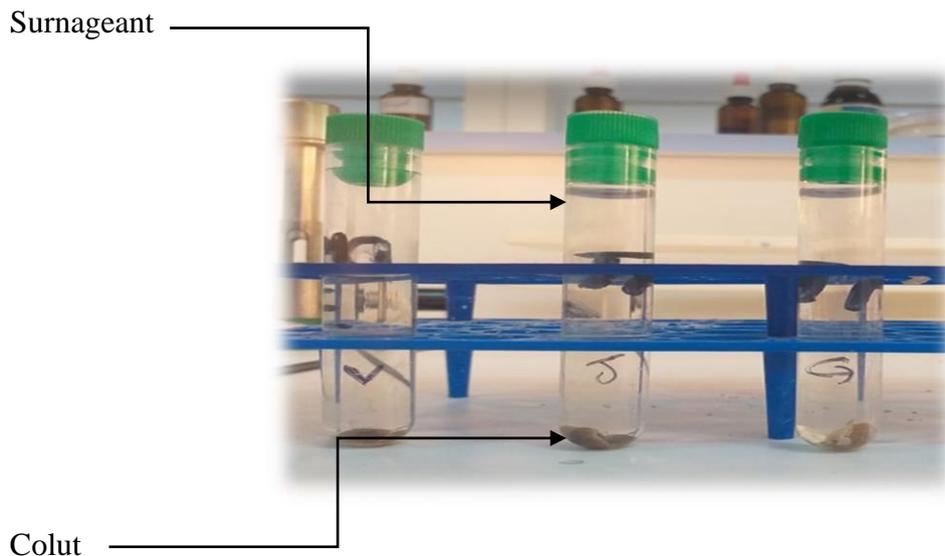


Figure 18 : Surnageant des cultures récupérées après la fermentation.

2.1.4. Test l'activité enzymatique sur milieu solide

Afin de tester la capacité de dégrader le substrat synthétique (kératine) et de produire la kératinase par nos isolats, des puits sont réalisés avec un emporte-pièce et celée par 100 μ l dans milieu solide à base de farine (Annexe 2) utilisée comme substrat. Les puits recevront 100 μ l de la solution préparée, ensuite les boites sont incubées à 30C° pendant 4 à 7 jours, le résultat positif se manifeste par l'apparition d'une zone claire autour de la souche productrice.

2.2 Activité amylolytique

La recherche de l'activité amylolytique est réalisée avec les souches sélectionnées. Ce test est effectué sur milieu PDA additionné d'amidon soluble à 1% (Annexe 4). Les boites sont incubées à 30°C pendant 7 jours. Après avoir obtenue une bonne culture, la gélose a été recouverte d'une solution de Lugol (Annexe 6), sur la surface de la boite pendant 30 secondes suivie d'un rinçage avec de l'eau distillée . L'eau iodée contenant l'iode qui se complexe avec l'amidon et donne un précipité bleu sombre. L'hydrolyse de l'amidon est ainsi mise en

évidence par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie, prenant en considération la sélection de la souche amylolytique la plus performante (**Tatsinkou *et al.*, 2005 ; Benaouida, 2008**).

2.3 L'activité protéolytique (caséinolytique) des souches fongiques

L'aptitude à la protéolyse des caséines du lait (comme substrat) des différentes espèces fongiques est recherchée sur le milieu GN additionné de lait écrémé (Annexe 5), les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 7 jours. L'appréciation de l'activité protéolytique se fait par l'apparition d'un coagulum dû à hydrolyse de la caséine.

Chapitre III :

Résultats et discussions

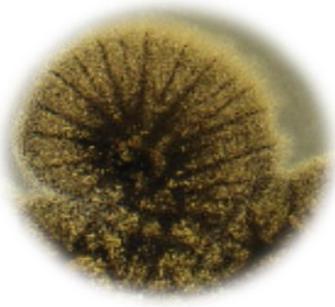
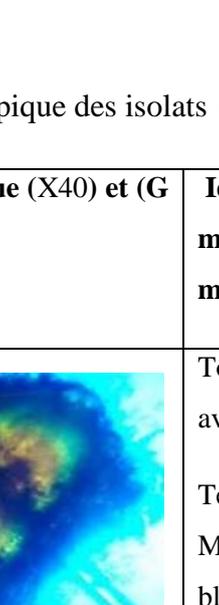
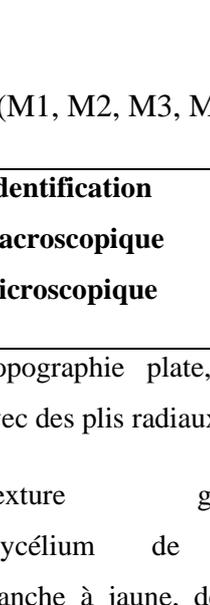
1. Résultats d'isolement des moisissures

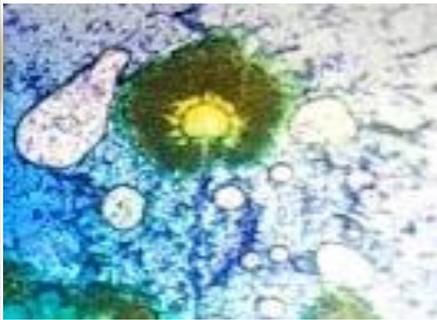
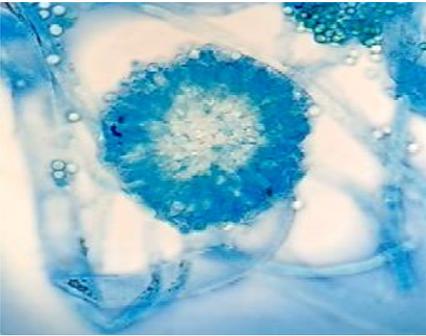
L'isolement des souches fongiques sur milieu Sabouraud a permis l'obtention de 4 souches fongiques, isolées à partir du sol de ferme de poulet situé de Hammam Bouhdjar, ces dernières ont montré une activité enzymatique, ces isolats M1, M2, M3, M4 appartiennent au genre *Aspergillus*.

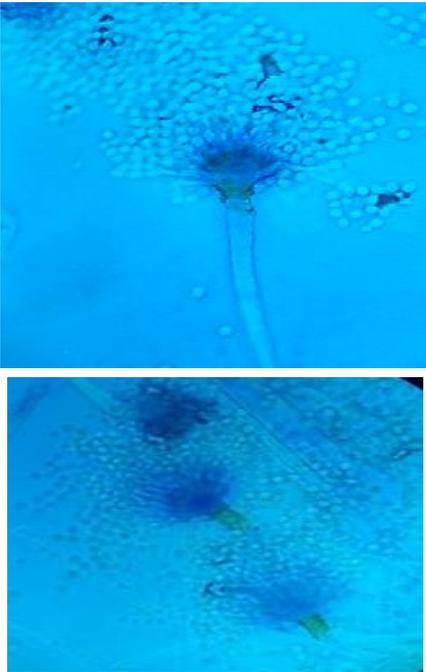
2. Identification macroscopique et microscopique des isolats

L'observation macroscopiques des quatre souches fongiques M1, M2, M3, M4 sont étudiées sur milieu Sabouraud additionné de Gentamycine, les résultats sont récapitulés dans le tableau 06, l'aspect macroscopique des mycéliums et microscopique nous permettent d'identifier le genre de ces isolats qui appartient au genre *Aspergillus* comme suit (M1 : *Aspergillus niger*, M2 : *Aspergillus flavus*, M3 : *Aspergillus fumigatus*, M4 : *Aspergillus terreus*).

Tableau 6 : Identification macroscopique et microscopique des isolats (M1, M2, M3, M4).

Isolats	Aspect macroscopique	Aspect microscopique (X40) et (G X100)	Identification macroscopique et microscopique
M1		 	Topographie plate, souvent avec des plis radiaux Texture granuleuse Mycélium de couleur blanche à jaune, développer une couverture de noir ou violet-noir ,Grosses têtes sporulées noires Conidies noires. Conidiophore à paroi épaisse, lisse, tiges incolores, grande Vésicule ronde avec phialides et métules sur toute la surface

<p>M2</p>		 	<p>Plat Texture à granuleuse Couleur jaune-vert vif, parfois jaune-brun ,Conidiophores vésicules, nombreuses conidies relativement grandes Conidiophore tiges rugueuses, vésicules globuleuses avec production de spores radiées ou cylindriques, phialides découlant directement de toute la surface de la vésicule dans certaines têtes,</p>
<p>M3</p>		 	<p>Texture poudrée à feutrée Couleur bleu-vert, souvent avec marge blanche, conidiophores vésicules, Nombreuses petites conidies, Masse de spores colonnaire ,Conidiophore tiges courtes, vésicule En forme de poire, metulae Absent, les phialides bondées, Pointant vers le haut,</p>

<p>M4</p>			<p>Granuleux à velouté</p> <p>Couleur marron cannelle</p> <p>Revers jaune à brun pâle</p> <p>Têtes de spores cylindriques brun pâle. Conidiophores vésicules à têtes caractéristiques en forme d'éventail. tiges lisses et incolores, vésicules en forme de dôme avec de longues métules cylindriques et des phialides sur les deux tiers supérieurs, à parois épaisses, ovales, hyalines.</p> <p>Des chlamydo-spores peuvent être produites sur les côtés de</p> <p>Les hyphes végétatifs submergées</p>
-----------	---	--	---

3. Résultats d'activité kératolytiques des souches fongiques

Les résultats d'activité kératinolytiques des souches fongiques obtenus sur le milieu solide de farine de plume à pH 6 incubés pendant 48 jusqu'à 72 h, ont montré que les souches isolées M1, M2, M3 ont une meilleure activité kératinolytique ces dernières sont productrices de kératinases (figure 19), tandis que la souche M4 ne possède pas la kératinase, ceci signifie que cette souche n'est pas une souche kératolytique.

Ce travail décrit la capacité des souches fongiques productrices de kératinase dans les mêmes conditions expérimentales. D'après les résultats obtenus concernant l'activité kératolytiques, seulement trois souches sur quatre isolées et testées ont la capacité de produit l'enzyme et ont développé des zones d'hydrolyses (halo claire), on déduit alors que ces 3 souches possèdent une activité kératolytique intéressante.

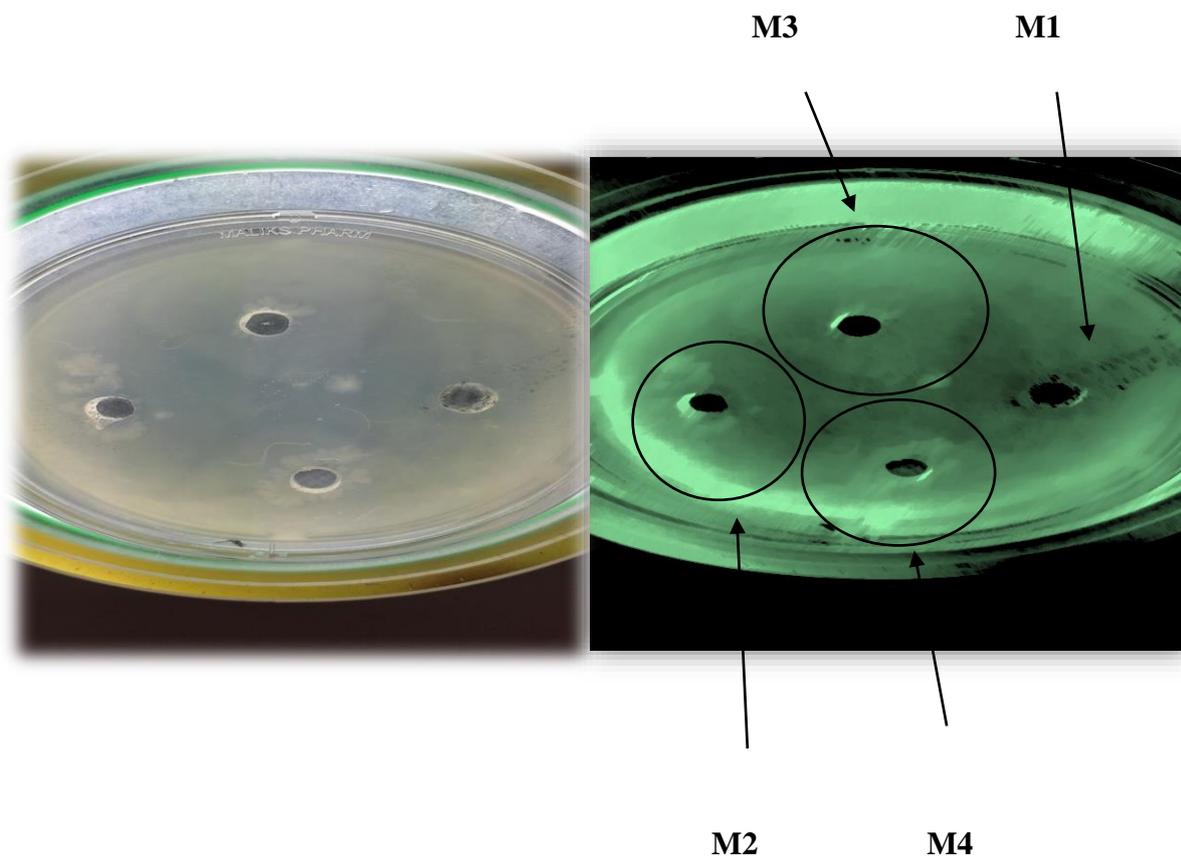


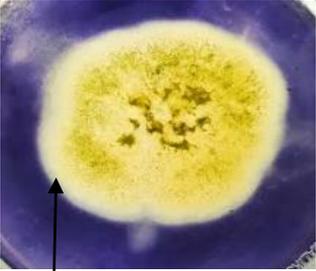
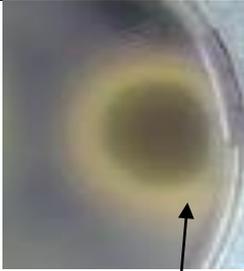
Figure 19 : la zone hydrolyse kératolytiques par les souches sélectionnées (M1, M2, M3, M4) sur milieu à base de farine de plume à 30C°.

4. Résultats d'activité amylolique des souches fongiques

D'après les résultats obtenus et présentés dans le tableau 07, les quatre souches fongiques testées sur milieu PDA à 1% amidon présentent une activité amylolytique qui se traduit par apparition des zones claires autour des colonies fongiques correspondant à l'hydrolyse d'amidon.

L'aspect des zones d'hydrolyse d'amidon et varie d'une souche à une autre suivant la forme des biomasses fongiques. Leurs dimensions diffèrent en fonction de l'intensité de l'hydrolyse enzymatique des substrats.

Tableau 7 : Résultats du test de mise en évidence de l'activité amylolytique des souches fongiques (M1, M2, M3, M4), sur milieu à base de farine de plume à 30C°.

Isolats	M1	M2	M3	M4
L'activité enzymatique				

L'étude réalisée a décrit la capacité des souches fongiques productrice de l'alpha amylase dans les mêmes conditions expérimentales. D'après les résultats obtenus de l'activité amylolytique, des quatre souches fongiques isolées et testées possèdent une activité amylolytique intéressante.

5. Résultats d'activité protéolytique (caséinolytique) des souches fongiques

Les quatre souches testées M1, M2, M3 et M4 sur milieu à base de GN additionné de lait écrémé ne possèdent pas une activité caséinolytique, ceci signifie qu'aucune de ces souches ne sont pas des souches caséinolytiques.

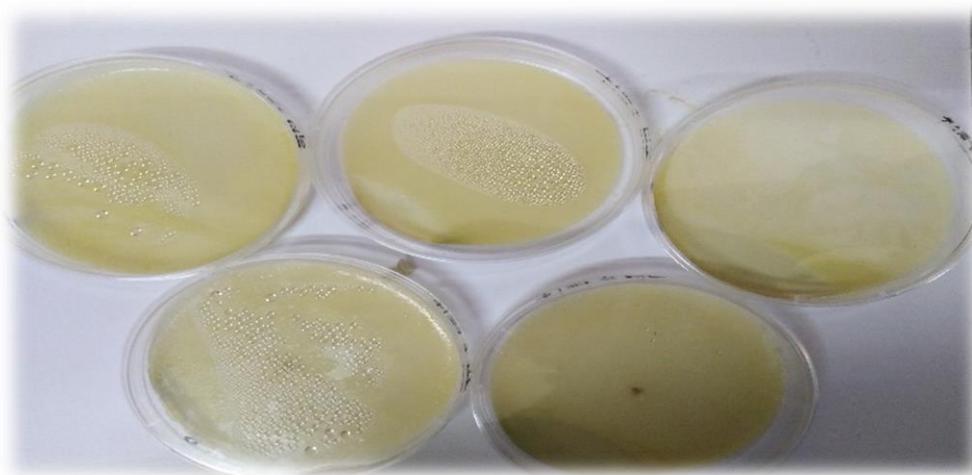


Figure 20 : Résultats d'activité protéolytique (caséinolytique) des souches fongiques sur milieu GN additionné de lait écrémé à 30C°.

6. Discussion :

Le sol des fermes de poulets est considéré comme un milieu riche en microorganismes kératinolytiques en raison de la présence de plume mélangés au sol. Les plumes est constituant principalement d'une protéine insoluble c'est la kératine, qui peut être hydrolysé par les kératinases microbienne (**Anitha et Palanivelu, 2012**).

Comme ces résultats l'indiquent, des isolats fongiques ont été isolés à partir du sol de la ferme des poulets (à Daïra de Hammam Bouhdjer), et ensemencé sur le milieu Sabouraud additionné de Gentamycine puis incubé à une température 30C° pendant 5 à 7 jours. L'identification macroscopiques et microscopiques a permis d'identifier quatre souches appartiennent au genre *Aspergillus* (*Aspergillus niger* (M1), *Aspergillus flavus* (M2), *Aspergillus fumigatus* (M3) et *Aspergillus terreus* (M4)).

Le potentiel kératinolytiques des moisissures et bactéries a été largement décrit dans la littérature (**Saha, 2009 ; Hard et al., 2011 ; Anitha et Palanivelu, 2012**).

Nos isolats fongiques ont révélé la capacité de se développer dans un milieu à base de farine de plume, comme seule source de carbone et d'azote. Le milieu utilisé pour la production de kératinases est le milieu liquide à base de farine de plume à pH 6, contenant la kératine comme seule source de carbone et d'azote.

D'autres résultats obtenus par des chercheurs en utilisant la plume comme un élément nutritif et une source d'isolement comme la bactérie *Bacillus sp* C4 a été identifié à partir de plumes de poulets (**Fellahi et al., 2014**).

Myrothecium verrucaria est un champignon non dermatophytique capable de se développer et de produire de la kératinase dans des cultures submergées et à l'état solide dans lesquelles la poudre de plumes de volaille, les résultats démontrent clairement que la kératinase de *M. verrucaria* est capable d'hydrolyser les plumes (**da Gioppo et al., 2009**).

Le genre d'*Aspergillus* est commun, plusieurs études se basent sur le potentiel kératinolytique et d'autres enzymes secrétées comme l'amylase et protéase, par les espèces de ce genre (**kim, 2003 ; Farag et Hassan, 2004 ; Kim 2007 ; Awasthi et Kushwaha, 2011**). Par ailleurs nos résultats ont révélé aussi que les quatre isolats de genre *Aspegillus* sont des souches amylolytique capable de produire l'enzyme de L' α -amylase.

Par ailleurs, l'activité enzymatique chez *Acremonium chrysogenum* NFCCI, *Scopulariopsis sterocoraria* NFCCI est moins important, d'après **Awasthi et Kushwaha, 2011**.

Selon (**Sangali et al., 2000**), la bactérie isolée des déchets de l'industrie avicole (comme *Vibrio sp*), la souche kr2 produisant une activité kératinolytique élevée lorsqu'elle est cultivée sur un bouillon contenant des plumes. La bactérie s'est développée avec un optimum à pH 6 0 et 30 C, où une activité maximale de dégradation des plumes a également été observée. Production de kératinase.

En fin dans ce travail, il s'est avéré qu'aucune souche fongique de ces 04 souches étudiées (M1, M2, M3 et M4) n'a montré une activité protéolytique (caséinolytique), par contre plusieurs bactéries ont une forte activité protéolytique (caséinolytique) du fait de la dégradation de la caséine par des microorganismes isolées à partir de plume de poulet (**Matikevičienė, et al., 2015**).

Conclusion générale

Les plumes de poulet sont produites en grande quantité comme sous-produit dans les usines de transformation de volaille. Leur élimination par l'incinération ou l'enfouissement pose de nombreux problèmes, tels que la pollution de l'environnement et la transmission des maladies dues à la contamination microbienne. Cependant, les plumes de poulet sont composés de matériaux et composants valorisables en produits et matériaux précieux. Ainsi, ils devraient être considérés comme une ressource précieuse pour l'extraction des fibres transformation en tissus et matériaux composites ; pour extraction de composites transformables en produit de haute valeur, qui proviennent normalement de produits à base de pétrole. Ainsi, l'utilisation de déchets de plumes de poulet à de telles fins minimisera la pollution de l'environnement ainsi que réduire la dépendance à l'utilisation de produits à base de pétrole.

Certaines industries ont mis au point des procédés d'élimination des déchets en les valorisant par voie microbienne, ceci permet de générer de farine de plume riches en acides aminés qui peuvent être utilisées comme aliment pour les animaux et / ou comme engrais d'une part et de la kératinases à intérêt pharmaceutique et cosmétique d'autre part.

Dans ce travail, on a isolé des souches fongiques à partir du sol de ferme de poulets. Ces plumes utilisées comme sources nutritif et de fermentation fongiques pour la production d'enzyme de keratinase, l'étude macroscopique et microscopique a montré que ces quatre isolats appartiennent aux genres *Aspergillus* : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus terreus*. On a testé l'activité kératolytiques qui a permis de sélectionner trois souches kératolytiques ; *Aspergillus flavus* (M2), *Aspergillus fumigatus* (M3) et *Aspergillus terreus* (M4). Tandis que les 04 souches *Aspergillus niger* (M1), *Aspergillus flavus* (M2), *Aspergillus fumigatus* (M3), et *Aspergillus terreus* (M4), ont une activité amylolytique remarquable. L'étude d'activité protéolytique (caséinolytique) n'a pas permis de sélectionner aucune souche sélectionnée.

A la suite de ce travail, il serait intéressant de :

- Purifier et caractériser de la kératinase ou des kératinases produites par la souche *Aspergillus*.
- Identifier moléculaire de la souche *Aspergillus*.
- étudier des domaines d'application de l'enzyme et son mécanisme d'action.
- étudier de la production de l'enzyme à l'échelle industrielle.

Références bibliographiques

- Anitha, T. S., & Palanivelu, P. (2012).** Production and characterization of keratinolytic protease (s) from the fungus, *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Research in Biological Sciences*, 2(2), 87-93.
- Aurélié, L.,(2013).**Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. MÉDIAN-Biophotonique et Technologies pour la santé, université de Reims champagne –Ardenne, FRE CNRS .3481 MEDyC, UFR de pharmacie ,51 rue Cognaq – Jay ,51096 REIMS cedex France .P :16-19.
- Awasthi, P., & Kushwaha, R. K. S. (2011).** Keratinase activity of some hyphomycetous fungi from dropped off chicken feathers. *International Journal of Pharmaceutical and Biological*, 2(6), 1745-1750.
- Berardi, U., Iannace, G. (2015):** Acoustic characterization of natural fibers for sound absorption applications. *Build. Environ.* 94, 840–852
- Blaize, M., Normand, A. C., Fekkar, A., & Piarroux, R. (2021).** Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021(529), 58-65.
- Botton B., Breton A., Febre M., Goutier S., Gay Pl., Larent J., Reymont P., Sanglier J. J., Vayssier Y., Veau P. (1990).** Moisissure utile et nuisibles, importance industrielles 2eme édition. P: 419.35.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpen J.P., Reymont P., Sanglier J.J., Vayssier Y and Veau P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies : 34-428.
- Bouchet, P., Guignard, J., Villard, J., et Pouchus, Y.-F. (2005).** Les champignons : Mycologie fondamentale et appliquée (2e éd., Vol. 191). Editions Masson, Paris.
- Brandelli, A., Daroit, D. J., & Riffel, A. (2010).** Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(6), 1735-1750.
- Brayer, G.D. Luo, Y. Withers, S.G. 1995.** The structure of human pancreatic alphaamylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes. *Protein Sci.* 4:1730- 1742.
- Camille, D. E. L. A. R. R. A. S. (2014).** *Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Lavoisier.
- Chabasse D, Bouchara J-P, Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P ;(2002)** Les moisissures d insert médicale, ouvrage réalèse par le laboratoire de parasitologie et mycologie du Chu d Angers, Paris.
- Champion, R. (1997)** Identifier les champignons transmis par les semences. Ed. Editions Quae, France.
- Collin, L. (2019).** *Evaluation de l'apport des plumes en tant que prélèvements pour le diagnostic des maladies aviaires* (Doctoral dissertation).
- da Gioppo, N. M. R., Moreira-Gasparin, F. G., Costa, A. M., Alexandrino, A. M., de Souza, C. G. M., & Peralta, R. M. (2009).** Influence of the carbon and nitrogen sources on keratinase production by *Myrothecium verrucaria* in submerged and solid state cultures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(5), 705-711.

- Delarras, C. (2014).** *PRATIQUE EN MICROBIOLOGIE DE LABORATOIRE recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Lavoisier. Paris : Celine poiteaux
- Desoubeaux, G., & Chandener, J. (2010).** Aspergillus et maladies aspergillaires. *Feuillets de Biologie*, 51(293), 53-63.
- Dieckmann, E., Onsiang, R., Nagy, B., Sheldrick, L., & Cheeseman, C. (2021).** Valorization of waste feathers in the production of new thermal insulation materials. *Waste and Biomass Valorization*, 12(2), 1119-1131.
- Dighton, J. (2003).** Fungi in Ecosystem Processes [fungi in ecosystem processes BY Dighton, John (Author) May-14-2003 (1re éd., Vol. 424). CRC Press.
- Dube, H. C. (2013).** *An introduction to fungi*. Scientific Publishers.
- Farag, A. M., & Hassan, M. A. (2004).** Purification, characterization and immobilization of a keratinase from *Aspergillus oryzae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 34(2), 85-93.
- Fellahi, S., Zaghloul, T. I., Feuk-Lagerstedt, E., & Taherzadeh, M. J. (2014).** A bacillus strain able to hydrolyze alpha- and beta-keratin. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*, 4, 7.
- Fries E., 1821.** Systema mycologicum, sistens, Fungorum, ordines, genera et species, Huc usque cognitae, quas ad normam methodi naturalis determinavit, disposuit atque descripsit. Ed. Gryphiswaldae Vol. I., Sumtribus Ernesti Maurittii, 520 p.
- Gousterova, A., Braikova, D., Goshev, I., Christov, P., Tishinov, K., Vasileva-Tonkova, E., ... & Nedkov, P. (2005).** Degradation of keratin and collagen containing wastes by newly isolated thermoactinomycetes or by alkaline hydrolysis. *Letters in applied microbiology*, 40(5), 335-340.
- GOYAL, S., RAMAWAT, K. G., & MERILLON, J. M. (2016).** Different Shades of Fungal Metabolites: An Overview. *Fungal Metabolites*, 1–29. DOI : 10.1007/978-3-319-19456-1_34-1.page 4
- Guiraud J-P. (2003).** Microbiologie alimentaire, Technique de laboratoire, Paris, Dunod, 652p.
- Gupta R, Gigras P, Mohapatra H, Goswami V.K, Chauhan B. 2003.** Microbial α amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochem*, 38:1599-1616,
- Gupta, S., Tewatia, P., Misri, J., & Singh, R. (2017).** Molecular modeling of cloned *Bacillus subtilis* keratinase and its insinuation in psoriasis treatment using docking studies. *Indian journal of microbiology*, 57(4), 485-491.
- HARD, SM ; BAJAJ, IB ; SINGHAL, RS.** Agriculture food and analytical Bacteriology. *Optimization of fermentative production of k eratinase from Bacillus subtilis NCIM 2724*. 2011. 1. 1. P54-65.
- Hutcheon, G.W. Vasisht, N. Bolhuis, A. 2005.** Characterisation of a highly stable alphaamylase from the halophilic archaeon *Haloarcula hispanica*. *Extremophiles*, 9:487-495.
- Jin, B. van Leeuwen, H.J. Patel, B. Yu, Q. 1998.** Utilisation of starch processing wastewater for production of microbial biomass protein and fungal α -amylase by *Aspergillus oryzae*. *Bioresour. Techno*, 66:201-206.

- Kagua, T. (2020).** *Establishment of chicken feathers by-products business in Tanzania; case of Shekilango bazaar, Dar es salaam* (Doctoral dissertation, Mzumbe University).
- Kathiresan, K. Manivannan, S. 2006.** α -Amylase production by *Penicillium fellutanum* isolated from mangrove rhizosphere soil. *Afr. J. Biotechnol.*, 5:829-832.
- KIM, DJ.** Microbiology. *Keratinolytic Activity of Five aspergillus Species Isolated from Poultry Farming soil in Korea.* 2003. 31. 3. p157-161.
- KIM, DJ.** Microbiology. *Purification and characterization of a kératinase from a feather-degrading-fungus, Aspergillus flavus strain K-03 .*2007 . 35. 4. P219-225.
- Larasati, D., Tsurayya, N., Koentjoro, M. P., & Prasetyo, E. N. (2017, June).** Keratinase from newly isolated strain of thermophilic *Bacillus* for chicken feed modification. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1854, No. 1, p. 020022). AIP Publishing LLC.
- Larpent J-P., Coordinateur. (1997a).** Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire, Lavoisier TEC et DOC, New York, Paris, 1073p.
- Larpent J-P., Larpent-Gouraud M., (1990)-** Mémento technique de microbiologie : Microorganismes eucaryotes et procaryotes, Structure, Métabolisme, Systématique, Applications industrielles, Milieux de culture et réactifs. 2ème édition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Mathison, G. E. (1964).** The microbiological decomposition of keratin. *Ann Soc Belg Med Trop*, 44, 767-792.
- Matikevičienė, V., Masiliūnienė, D. and Grigiškis, S. (2015)** Degradation of keratin containing wastes by bacteria with keratinolytic activity. *Environment. Technology. Resources. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference*, pp. 284–289.
- Mobini-Dehkordi, M., & Javan, F. A. (2012).** Application of alpha-amylase in biotechnology. *J. Biol. Today World*, 1(1), 39-50.
- Money, N. P. (2016).** Fungi : A Very Short Introduction (Very Short Introductions) (Illustrated éd., Vol. 144). Oxford University Press.
- Mueller, G. M., & Schmit, J. P. (2007).** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 1-5
- Narayanasamy, P. (2013).** Mechanisms of Action of Fungal Biological Control Agents. *Biological Management of Diseases of Crops*, 15, 99-200.
- Nasraoui, B. (2015).** *Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées: Biologie, Nouvelle systématique, Interaction pathologique.* Éditions universitaires européennes.
- Ogasahara, K. Imanishi, A. Isemura, T. (1970).** Studies on thermophilic amylase from *Bacillus stearothermophilus* Some general and physico-chemical properties of thermophilic α -amylase. *J Biochem*, 67:65-75.

- Ouedraogo, G. A. (1986).** Contribution à la connaissance des valeurs sériques des enzymes du zébu gobra (PAL, TGP, TGO, GGT et LDH). *Th: Méd. Vét: Dakar*, 16.
- Outtrup, H. Jorgensen, S.T. 2002.** *The importance of Bacillus species in the production of industrial enzymes. In Applications and systems of Bacillus and relatives.* Edited by R. Berkley. Blackwell Science Inc., Malden, Mass. pp. 206–218.
- Pahua-Ramos, M. E., Hernández-Melchor, D. J., Camacho-Pérez, B., & Quezada-Cruz, M. (2017).** Degradation of chicken feathers: a review. *BioTechnol: An Indian J*, 13(6), 1-24.
- Pérez, P., et Ribas, J. C. (2012).** Fungal Cell Wall Analysis. *Laboratory Protocols in Fungal Biology*, 3, 175-196.
- Prescott L. M., Harley J. P. and Klein D. A. (2003).** *Microbiologie.* De Boeck : Bruxelles. 2eme édition.
- Qiu, J., Wilkens, C., Barrett, K., & Meyer, A. S. (2020).** Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function. *Biotechnology Advances*, 44, 107607.
- Reddy, N., & Santosh, M. S. (2016).** Recovery and Applications of Feather Proteins. *Protein Byproducts*, 255-274.
- Regulapati, R. Malav, PN. Gummadi, SN. 2007.** Production of thermostable alpha amylase by solid state fermentation- A review, 2(1):1- 11.
- Roquebert M-F, Professeur - Muséum national d'histoire naturelle. (1997).** Les moisissures : nature, biologie et contamination, p: 65.
- SAHA, Subhasish.** *Exploration of Keratinolytic Actinobacteria for the bioconversion of poultry feather waste into poultry feed supplement .* Thèse de Doctoral en Microbiologie Inde Bharathidasan University.2009.142p).
- Sangali, S., & Brandelli, A. (2000).** Feather keratin hydrolysis by a *Vibrio* sp. strain kr2. *Journal of Applied Microbiology*, 89(5), 735-743
- Saravanan, K., & Dhurai, B. (2012).** Exploration on the amino acid content and morphological structure in chicken feather fiber. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*, 7(3).
- SAVARY B., VINCENT R., RODRIGUEZ C., CHOLLOT A. (2004)** Caractérisation des risques chimiques professionnels de la filière de gestion des déchets : Analyse à priori des risques potentiels ; Note Scientifique et Technique (NST) ; p 60.
- Scriban R. (1993).** *Biotechnologie.* 4ème édition. Tech. et Doc. Lavoisier. Paris. 39-42.
- Shah, A., Tyagi, S., Bharagava, R. N., Belhaj, D., Kumar, A., Saxena, G., ... & Mulla, S. I. (2019).** Keratin production and its applications: current and future perspective. *Keratin as a protein biopolymer*, 19-34.
- Stettenheim, P. R. (2000).** The integumentary morphology of modern birds—an overview. *American Zoologist*,

- Su, C., Gong, J. S., Qin, J., Li, H., Li, H., Xu, Z. H., & Shi, J. S. (2020).** The tale of a versatile enzyme: molecular insights into keratinase for its industrial dissemination. *Biotechnology Advances*, 45, 107655.
- Tabatabai, M. A. (1983).** Soil enzymes. *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*, 9, 903-947.
- Tanyildizi, M.S. Ozer, D. Elibol, M. 2005.** Optimization of α -amylase production by *Bacillus* sp. using response surface methodology *Process Biochem*, 40;2291–2296.
- Tao, Z., Dong, B., Teng, Z., & Zhao, Y. (2020).** The classification of enzymes by deep learning. *IEEE Access*, 8, 89802-89811.
- Tesfaye, T., Sithole, B., & Ramjugernath, D. (2017).** Valorisation of chicken feathers: a review on recycling and recovery route—current status and future prospects. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 19(10), 2363-2378.
- Tesfaye, T., Sithole, B., & Ramjugernath, D. (2017).** Valorisation of chicken feathers: a review on recycling and recovery route—current status and future prospects. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 19(10), 2363-2378.
- Tesfaye, T., Sithole, B., & Ramjugernath, D. (2017, October).** Valorisation of chicken feathers: Recycling and recovery routes. In *Proceedings, Sardinia*.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D., & Chunilall, V. (2017).** Valorisation of chicken feathers: Characterisation of chemical properties. *Waste Management*, 68, 626-635.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D., & Chunilall, V. (2017).** Valorisation of chicken feathers: Application in paper production. *Journal of cleaner production*, 164, 1324-1331.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D., & Chunilall, V. (2017).** Valorisation of chicken feathers: Characterisation of physical properties and morphological structure. *Journal of Cleaner Production*, 149, 349-365.
- Zeman, N. McCrea, J. 1985.** Alpha-amylase Production Using a Recombinant DNA Organism. *Cereal food world*, 30:777-78.

Annexes

Annexe 1 : Milieu Sabouraud

- Glucose.....20g
- Peptone10g
- Agar15g
- Eau distillé1000ml
- pH6
- stérilisation à 120°C pendant 20 minutes

Annexe 2 : Milieu de culture à Base de Farine de plumes (solide) (Williams et 1990)

- Farine de plume5g
- K₂HPO₄0.25g
- MgSO₄(7H₂O) 0.125g
- CaCO₃ 0.75g
- FeSO₄(7H₂O).....0.25g
- NaCl..... 0,125g
- Agar.....5g
- Eau distillée.....250ml
- pH.....7,2
- stérilisation à 120°C pendant 20 minutes

Annexe 3 : Milieu de culture à Base de Farine de plumes (liquide) (Williams et 1990)

- Farine de plume5g
- K₂HPO₄0.25g
- MgSO₄(7H₂O) 0.125g
- CaCO₃ 0.75g
- FeSO₄(7H₂O).....0.25g
- NaCl..... 0,125g

- Eau distillée.....250ml
- pH.....6
- stérilisation à 120°C pendant 20 minutes

Annexe 4 : Milieu PDA à amidon 1%

- Extrait de pomme de terre.....1000ml
- Amidon10g
- Glucose.....20g
- Agar.....20g
- pH= 5
- stérilisation à 120°C pendant 20 minutes

Annexe 5 : Milieu GN (Gélose Nutritif) au Lait

- Peptone.....5g
- Extrait de levure.....3g
- Eau distillée.....750ml
- Lait écrémé stérile250ml
- Agar..... 15g
- pH 7,2
- stérilisation à 120°C pendant 20 minutes.

Les indicateurs colorés

Annexe 6 : Eau iodée (Lugol)

- Iode1g
- Iodure de potassium 2g
- Eau distillé100ml