

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ de BLIDA 1
Faculté de Technologie
Département De Génie Des Procédés



MEMOIRE DE MASTER
Spécialité : Génie d'environnement

Thème

**Valorisation des plumes de volaille par préparation de
kératine et hydrolyse kératinique par des souches kératinolytique
: Application fabrication des crèmes dépilatoire**

Présentés par :

Boubekeur Soumia

Amrouche Khaoula

Encadré par :

Pr. BADIS Abdelmalek

2019/2020

Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes très chers parents qui
m'ont menée pas à pas à la réussite et à la
concrétisation de mes objectifs*

*A ce qui est proche de mon cœur, ma adorable sœur
Khadidja*

Et à toute ma famille maternelle et paternelle.

Mon binôme Khaoula

*Ainsi que tous mes amis Khadidja, Hanane,
Meriem et tous ceux qui me sont très chers*

Soumia

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A MES CHERS ET ADORABLE FRÈRES ET SŒURS

***Meroua**, la prunelle de mes yeux, **Meriem**, la douce au cœur, **Ahcene** l'aimable, **Mohamed Amine** le généreux, **Badr-eddine** mon petit frère que j'adore.*

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

A MON BINOME

En souvenir de notre amitié et parcours académique.

A MES AMIS DE TOUJOURS

Khadidja, Hanane, Warda, Nadia, Sihem, Bouchra, Meriem.

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Khaoula

Remerciements

الحمد لله رب العالمين

Avant tout développement nous tenons à remercier le Bon DIEU le tout puissant de nous avoir éclairés de son savoir et de nous avoir guidés tout au long de ce travail.

*Egalement, nous tenons à remercier le professeur **BADIS Abdelmalek**, pour l'aide offerte lors des différentes étapes de la réalisation de ce travail.*

Nos vifs remerciements s'adressent également à tous les enseignants qui ont contribué à nos formations tout au long de nos études.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des abréviations

| abréviation | signification |
|--------------------|---|
| ADEME | Agence de la transition écologique |
| BCF | société Bretagne Chimie Fine |
| DFP | di-isopropyl fluorophosphate |
| EC | Enzyme Commission |
| EDTA | acide éthylène diamine tétracétique |
| FAO | Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture |
| IRTF | Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier |
| L'OCDE | Organisation de coopération et de développement économiques |
| MEB | Microscopie électronique à balayage |
| ONAB | Office national des aliments du bétail |
| PAGE-SDS | Electrophorèse en Gel de polyacrylamide contenant du Dodécylsulfate de Sodium |
| PCMB | P-chloro mercuri benzonate |
| PMSF | Florure de phényl méthyl sulphonyl |
| UAB | Unités d'aliments du bétail |
| IUBMB | Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire |

Liste des figures

| figure | Titre | page |
|--------|---|------|
| 1 | Distribution mondial des ventes d'enzymes | 5 |
| 2 | Structure en ruban d'une protéase à cystéine « la Papaine » | 8 |
| 3 | (a) Structure tridimensionnelle d'un métallo enzyme. (b) Présentation schématique du site active de cette enzyme avec le Glu384, His387, His383, Glu411 et Zn | 8 |
| 4 | Structure en ruban d'une peptidase aspartique : la rénine et présentation de sont site actif avec les deux résidus d'Acides aspartiques | 9 |
| 5 | Structure de la protéase à sérine « la chymotripsine » : Le groupe réactif au site actif est constitué d'une triade catalytique; la Ser 195 (l'acide aminé qui réagit avec le substrat), alors que l'His 57 et l'acide Asp 102 contribuent à rendre la sérine particulièrement réactive | 10 |
| 6 | Présentation du cycle catalytique des protéases à sérine (chymotrypsine) qui se décompose en quatre étapes majeures | 10 |
| 7 | Structure en rubon des kératinases complexes | 14 |
| 8 | Schéma représentant le mode d'action des kératinase sur les substrats kératiniques par clivage des ponts disulfures, (b) Représentation schématique des ponts disulfures entre les résidus de cystéines | 14 |
| 9 | Structure du filament intermédiaire de l' α -kératine: (a) modèle à billes et à bâtonnets de la chaîne polypeptidique, et hélice α montrant la localisation des liaisons hydrogène (ellipse rouge) et le pas de 0,51 nm de l'hélice (Mcmurry et fay, 2003); (b) dessin schématique de la formation de filaments l'intermédiaire reproduite d'après (lodishetal., 2000 ;Voet et al.,2008): les chaînes en hélice α se tordent pour former les Dimères, qui s'assemblent pour former le protofilament. Quatre protofilaments s'organisent dans le filament intermédiaire | 19 |
| 10 | Structure des filaments de β -kératine: (a) modèle à billes et à bâtonnets de la chaîne polypeptidique, et illustration du plissé feuille bêta (Mcmurry et Fay, 2003); (b) dessin schématique de la formation du filament bêta-kératine (adapté de (Fraser et al, 1972): unechaîne polypeptidique se plie pour former quatre brins β qui se tordent pour former la feuille β déformée. Deux feuilles s'assemblent pour former un filament bêta-kératine | 20 |
| 11 | Principales sources de protéines kératiniques (A) Bec d'oiseau;(B) les poils d'animaux; (C) l'ongle humain; (D) corne; (E) cheveux humains; (F)sabot; (G) clou; (H) plume de poulet | 21 |

| | | |
|----|---|----|
| 12 | : photo d'une plume de poulet montrant les différentes parties d'une plume | 23 |
| 13 | Micrographie de la structure secondaire et tertiaire de la plume | 24 |
| 14 | L'accumulation des déchets de plumes issus de l'industrie de la volaille | 26 |
| 15 | Image SEM de la kératine : (a) 26,534x grossissement, (b) 14,467x grossissement et (c) 2789x grossissement | 29 |
| 16 | Spectre IRTF de la kératine en poudre | 30 |
| 17 | Dégradation de différentes plumes d'oiseaux par Bacillus sp. MBRL 575 à 48 h, 30 °C. Une plume de poulet (contrôle), plume de poulet (incubation de 48 h) | 31 |
| 18 | Montrant efficacement les plumes des organismes dégradant | 32 |
| 19 | Dégradation complète d'une plume par B.safensis LAU 13 | 32 |
| 20 | Décomposition complète des plumes par Bacillus cereus SKH1 | 33 |
| 21 | A. Contrôle : Bacillus subtilis AMR en milieu contenant des plumes (temps0) et B. après 5 jours de croissance en milieu en plumes | 33 |
| 22 | Biodégradation de plume de poulet par Bacillus sp. FPF-1 | 34 |
| 23 | Dégradation de la kératine (plume) par la souche Cpt29 d'A. Keratinilytica Les plumes ont été incubées pendant 72 h à 45 C sous agitation | 35 |
| 24 | La capacité de B. licheniformis ALW1 à hydrolyser la plume dans le milieu optimisé | 36 |
| 25 | Image représentative de l'hydrolysate de kératine | 38 |
| 26 | SDS-PAGE de l'hydrolysate de kératine et des standards protéiques | 38 |
| 27 | IRTF de l'hydrolysate de kératine comparé à celui de la farine de plumes | 39 |

Liste des tableaux

| tableau | titre | page |
|---------|--|------|
| 1 | Principales classes d'enzymes selon Meunier | 5 |
| 2 | Classification des protéases | 7 |
| 3 | Caractéristiques biochimiques des microorganismes kératinolytiques | 15 |
| 4 | Production de volailles en 2016 et perspectives d'évolution à 5ans d'après l'OCDE et la FAO | 22 |
| 5 | Nombre de têtes de poulets dans les différents pays du grand Maghreb, de 2001 à 2007, selon les données statistiques de la FAO, 2007 | 23 |
| 6 | contenu en acides aminés des fibres kératiniques de plumes de poulet | 25 |
| 7 | Procédés de valorisation matière et organique des plumes | 27 |
| 8 | Dégradation bactériennes de la plume de volaille et de la production de kératinase. | 38 |

ملخص

ينتج عن تكثيف إنتاج لحوم الدواجن في الجزائر نفايات متنوعة. يجب أن تسير بشكل جيد وأن يتم تثمينها، وإلا فإنها تولد آثارًا سلبية على البيئة المستقبلية، والتي قد تشكل ضررًا على صحة الإنسان، بشكل مباشر أو غير مباشر. يندرج هذا العمل بالمساهمة في تثمين ريش الدواجن بالوسائل الميكروبيولوجية، وذلك باستخدام سلالات مختلفة لإنتاج إنزيم الكيراتيناز وهو إنزيم ذو أهمية صناعية كصناعة الأعلاف الحيوانية، الأدوية ومستحضرات التجميل.

خلال عملنا، قمنا بمقارنة ظروف الاستزراع لتدهور الكيراتين (درجة حرارة الحضانة، ودرجة الحموضة وتركيز وجبة الريش) بواسطة السلالات المؤلفة التي تمت دراستها مع التركيز بشكل كبير على نشاط الكيراتين، معيار الاختيار في التطبيق الصناعي.

من وجهة نظر الدراسات، يمكن استخدام الإنزيمات ذات الخصائص البيوكيميائية بنجاح في تطبيقات التكنولوجيا الحيوية، وخاصة في إعادة تحويل الريش في علاج الجلود، وإنتاج البيبتيدات والمنظفات.

الكلمات المفتاحية: البروتياز، تثمين، ريش الدواجن، سلالة الكيراتين، الكيراتيناز، تحلل الكيراتين

Résumé

L'intensification de la production de viande de poulet en Algérie, génère une grande variété de déchets. Ce dernier doit être bien gérés, autrement, ils entraînent des impacts négatifs sur le milieu récepteur, pouvant aller jusqu'à porter préjudice de manière directe ou indirecte à la santé humaine. Le présent travail porte sur une contribution à la valorisation des plumes de volaille par voie microbiologique, en utilisant des différentes souches pour la production de kératinase, une enzyme d'intérêt industriel à savoir: alimentation animale industrie pharmaceutique et cosmétique.

Au cours de notre travail, nous avons comparé les conditions de culture de la dégradation de la kératine (température d'incubation, pH et concentration de la farine de plumes) par les différentes souches étudiées par beaucoup d'importance sur l'activité kératinolytique, critère de choix en application industrielle

Du point de vue des études, les enzymes aux des caractéristiques biochimiques peuvent être utilisées avec succès dans des applications biotechnologiques notamment dans la valorisation des déchets de plumes, le traitement de cuirs, la synthèse des peptides et la détergence.

Mots-clés: valorisation, plume de volaille, protéase, souche kératinolytique; Kératinases; Hydrolyse kératinique.

Abstract

The intensification of the production of chicken meat in Algeria generates a wide variety of waste. The latter must be well managed, otherwise they lead to negative impacts on the receiving environment, which can go as far as directly or indirectly damaging human health. The present work relates to a contribution to the valorization of poultry feathers by microbiological means, by using different strains for the production of keratinase, an enzyme of industrial interest namely: animal feed, pharmaceutical and cosmetic industry.

During our work, we compared the culture conditions for the degradation of keratin (incubation temperature, pH and concentration of feather meal) by the different strains studied by a great deal of importance on keratinolytic activity, selection criterion in industrial application

From the point of view of studies, enzymes with biochemical characteristics can be used successfully in biotechnological applications in particular in the valuation of feather waste, leather treatment, peptide synthesis and detergency.

Keywords: valorization, poultry feather, protease, keratinolytic strain; Keratinases; Keratin hydrolysis

SOMMAIRE

| | | |
|------|--|----|
| ■ | Liste des abréviations | |
| ■ | Liste des figures | |
| ■ | Liste des tableaux | |
| ■ | المخلص | |
| ■ | Résumé | |
| ■ | Abscrat | |
| ■ | Introduction générale..... | 1 |
| ■ | ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| I. | Lesprotéases..... | 4 |
| I. | 1. Généralité..... | 4 |
| I. | 2. Classification des protéases. | 4 |
| I. | 2. 1.Selon la localisation cellulaire..... | 4 |
| I. | 2.2. Selon la nature du site catalytique..... | 6 |
| I. | 3. Origine des protéases..... | 11 |
| I. | 4. Application des protéases en biotechnologie..... | 12 |
| I. | 4. 1. Industrie des détergents | 12 |
| I. | 4. 2. Industrie agroalimentaire | 12 |
| I. | 4.3. Industrie de tannerie | 12 |
| I. | 4.4. Autres applications..... | 13 |
| II. | les kératinases..... | 13 |
| II. | 1. Définition et mode d'action des kératinase..... | 13 |
| II. | 2. Origine des kératinases..... | 15 |
| II. | 3. Propriété physico-chimique des kératinases | 16 |
| II. | 4. Application de kératinases en biotechnologie..... | 16 |
| II. | 4. 1. Traitement et nettoyage des peaux d'animaux - industrie du cuir..... | 16 |
| II. | 4.2. Industrie de détergents..... | 16 |
| II. | 4.3. Traitement des déchets kératiniques..... | 17 |
| II. | 4.4. D'autres applications..... | 17 |
| III. | les substrats kératiniques..... | 18 |
| III. | 1. Structure des kératines | 18 |
| III. | 2. Classification des kératines..... | 18 |

| | |
|---|----|
| III. 2.1. Alpha kératine (α -kératine)..... | 18 |
| III. 2.2. Beta kératine (β -kératine)..... | 20 |
| III. 3. Principale Source des kératines..... | 21 |
| ❖ Cas des plumes de volaille..... | 21 |
| 1. Production mondiale de volaille..... | 21 |
| 2. Production volaille en Algérie | 22 |
| 3. Structure et composition de plume de volaille..... | 23 |
| 4. origine et production des plumes..... | 24 |
| 5. valorisation de plume de volaille | 25 |
| 5.1. Valorisation..... | 26 |
| 5.2. Les procédés de valorisation..... | 27 |
| 5.2.1. Transformation des plumes..... | 27 |
| 5.2.2. Recyclage matière : production d'acides aminés..... | 27 |
| 5.2.3. La fabrication d'acides aminés à partir de plumes..... | 27 |
| ■ Discussion générale | |
| IV. Caractérisation structurale de kératine | 29 |
| IV. 1. Microscopie électronique à balayage (MEB) | 29 |
| IV. 2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) | 30 |
| V. la production de kératinase | 31 |
| V. 1. La souche <i>Bacillus sp.</i> MBRL 575 | 31 |
| V. 2. La souche <i>Bacillus sp.</i> JB 99 | 32 |
| V. 3. La souche <i>Bacillus safensis</i> LAU 13..... | 32 |
| V. 4. La souche <i>Bacillus cereus</i> SKH1 | 33 |
| V. 5. La souche <i>Bacillus subtilis</i> AMR :..... | 33 |
| V. 6. La souche <i>Bacillus sp.</i> FPF-1 | 34 |
| V. 7. Souche <i>Streptomyces sp.</i> AB1 :..... | 34 |
| V. 8. Souche d' <i>Actinomycète thermophile</i> Cpt29..... | 35 |
| V. 9. Souche <i>Bacillus licheniformis</i> ALW1..... | 35 |
| V. 10. <i>Elizabethkingiameningoseptica</i> KB042..... | 36 |
| VI. L'hydrolysate de kératine | 38 |
| VI. 1. Caractérisation de la kératinase..... | 38 |
| ■ Conclusion générale..... | 40 |
| ■ Références bibliographique | |

Introduction Générale :

Dans le contexte de la croissance démographique mondiale le développement industriel rapide a engendré une société de consommation et de dissipation qui vient grossir le stock de déchets déjà présents dans l'environnement dont la protection devient de plus en plus préoccupante. De là, est née toute une législation pour encourager une filière de gestion et de valorisation des déchets.

Un déchet est un résidu que les hommes jugent inutile dans un contexte donné. Les déchets organiques sont des éléments du cycle de la vie. La valorisation de ces déchets permet d'en retirer des produits utiles ou de l'énergie. C'est pour cette raison la notion de déchet est remplacé par le terme de coproduit.

Les plumes sont des coproduits des usines de transformation de la volaille, atteignant des millions de tonnes par an avec un impact potentiel sur l'environnement [1]. Grâce à des traitements physiques et chimiques, les plumes sont actuellement transformées en farine de plumes. Ces méthodes peuvent détruire certains acides aminés et diminuer la qualité et la digestibilité des protéines (Riffel et Brandelli, 2006).Leurs teneur en β - kératine est en grande partie responsable de leurs haut degré de résistance aux processus de dégradation [2]. Ce qui conduit à une contamination du sol, de l'air et de l'eau. Donc une solution par une approche innovante de ces problèmes est nécessaire de toute urgence (Suzuki *et al.* 2006).

Les kératinase sont les protéine les plus abondantes dans les cellules épithéliales des vertébrés et représentent les principaux constituants de la peau et sont des appendices tels que les ongles, les cheveux, les plumes et la laine. La dégradation des matières kératiniques a des effets importances agricoles (Shih 1993, Matsumoto 1996).

Les protéases sont parmi les enzymes hydrolytiques les plus vitales, qui sont principalement synthétisées par un groupe diversifié de microorganismes (à savoir, des bactéries, des levures et des moisissures) et se trouvent également dans les tissus végétaux et animaux. Les protéases représentent 60% des ventes totales des enzymes dans le marché mondial, qui sont utilisées dans plusieurs industries : alimentaire, tannerie, laitière, pharmaceutique et gestion de déchets [3].

Un groupe d'enzyme protéolytique capable d'hydrolyser les kératines insolubles plus efficacement que les autres protéases sont appelés kératinases.

L'utilisation de kératinases microbiennes pour la dégradation de la kératine des plumes en entités peptidiques plus petites, offre une approche alternative plus viable, plus respectueuse de l'environnement et moins coûteuse, ainsi que la mise à niveau de la valeur nutritive de la farine de plumes [4] [5]. Les kératinases peuvent être aussi utilisées dans diverses applications telles que : les détergents, la récupération de l'argent, le traitement du cuir ainsi que dans l'industrie pharmaceutique.

Un nombre de des microorganismes ont été utilisés pour la production de kératinase, y compris les champignons mésophiles et actinobactéries qui sont les principaux producteurs de kératinases [6] [7] [8].

Dans ce contexte, notre travail s'inscrit afin de viser une valorisation des plumes de volailles par voie microbiologique dans l'objectif principal de produire des hydrolysats riches en acides aminés essentiels par des bactéries kératinolytiques.

La première partie porte sur la kératine et les kératinases et donne un aperçu sur le genre *Bacillus* producteur de kératinases.

La deuxième partie de ce travail nous allons produire un hydrolysate enzymatique riche en acide aminés essentiels qui servira pour la formulation d'une crème épilatoire.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les protéases :

I. 1. Généralités :

Les enzymes peuvent être divisées en plusieurs classes selon leur action spécifique. Chacune des ces classes principales est décrite dans le (**Tableau1**). Au niveau industriel, la classe d'enzyme la plus importante est la classe des hydrolases [9]. Parmi ces dernières, Les protéases représentent la classe des enzymes qui occupent une position pivot en ce qui concerne leurs rôles physiologiques ainsi que leurs applications commerciales (**figure01**) [10]. En effet, les protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines, en scindant la liaison peptidique avec différents degrés de spécificités [9]. Ces enzymes sont ubiquitaires et se trouvent dans une grande diversité de sources telles que les plantes, les animaux et les micro-organismes [10].

Les protéases microbiennes sont les plus importantes, par rapport aux protéases animales et végétales. En effet, beaucoup de ces protéases microbiennes sont produites à l'échelle industrielle grâce à leurs propriétés physicochimiques [11].

I. 2. Classification des protéases :

Selon le comité de nomenclature de l'Union internationale de biochimie et de biologie moléculaire (IUBMB), les protéases sont classées dans le sous-groupe 4 du groupe 3 (hydrolases). Actuellement, les protéases sont classées en fonction de trois critères principaux : type de réaction catalysée, nature chimique du site catalytique, et relation évolutive en référence à la structure [10].

I. 2. 1. Selon la localisation cellulaire :

Les protéases sont divisées en deux groupes selon leurs sites d'action dans la cellule, soit les protéases intracellulaires et extracellulaires, les différents sous-groupes sont présentés dans le Tableau 2 [10].

❖ **Les protéases intracellulaires :** Ces protéases jouent un rôle essentiel dans l'élaboration et la régulation des processus cellulaires et métaboliques, ce type de protéases est moins intéressant à l'utilisation industrielle car ces enzymes nécessitent une étape de lyse cellulaire pour en faire l'extraction.

❖ **Les protéases extracellulaires :** Ces enzymes catalysent l'hydrolyse des protéines en petits peptides assimilables par les cellules. Ces enzymes sont plus intéressantes pour utilisation en industrie car elles ne nécessitent pas d'étapes de lyse cellulaire pour en faire l'extraction.

Tableau 1 : Principales classe d'enzymes selon Meunier [9].

| Classes | Réactions catalytiques |
|-----------------|--|
| Oxydoréductases | Réactions de transfert d'électrons (ou d'atomes d'hydrogène). |
| Transférases | Transfert de radicaux (Groupements phosphates, amines, méthyle, etc.). |
| Hydrolases | Réactions d'hydrolyse (bris d'un lien chimique par addition d'une molécule d'eau). |
| Lyases | Addition de doubles liaisons à une molécule et enlèvement de groupements chimiques sans hydrolyse. |
| Isomérases | Réactions d'isomérisation (réaction où un composé est transformé en un de ses isomères). |
| Ligases | Formation de liens chimiques couplés avec la rupture d'ATP |

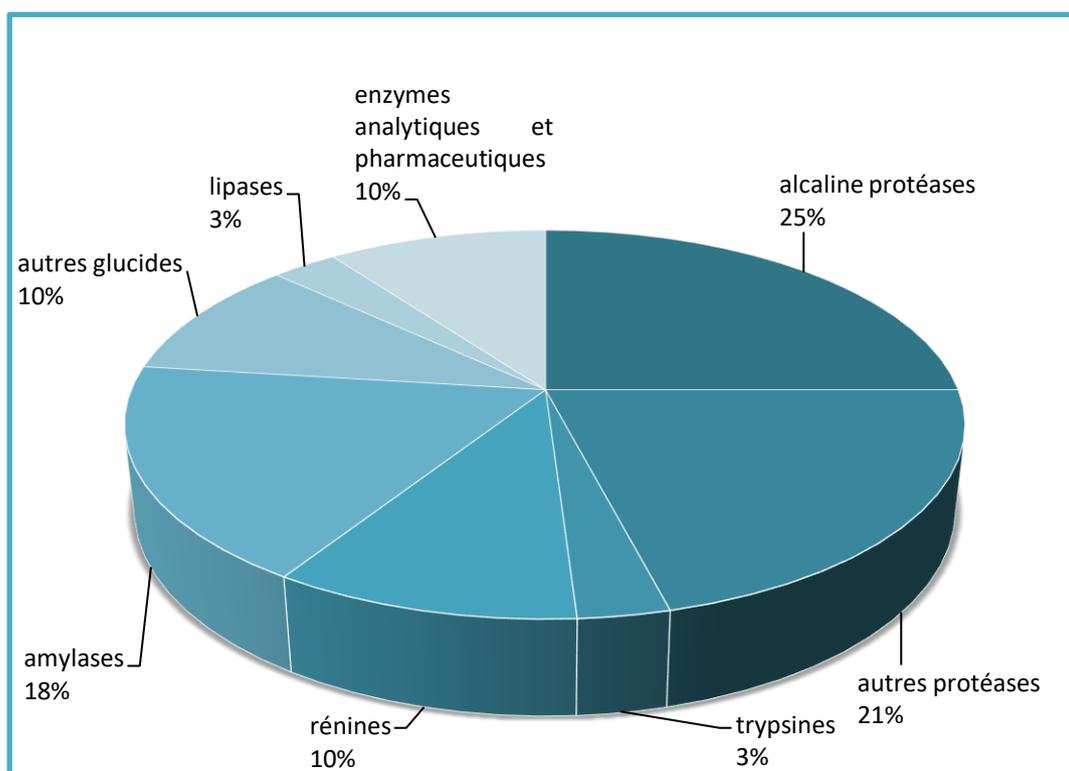


Figure 1 : Distribution mondiale des ventes d'enzymes [10].

I. 2.2. Selon la nature du site catalytique :

Les protéases se différencient également selon leur mode d'action: les endopeptidases et les exopeptidases. Les deux types de protéases sont divisés en plusieurs classes et sous-classes (**Tableau 2**) [10].

Les exopeptidases :

Sont des protéases qui hydrolysent les liens peptidiques près des extrémités N ou C terminales des protéines. Il existe deux classes d'exopeptidases: les aminopeptidases et les carboxypeptidases. Ces enzymes sont très peu utilisées en industrie.

- ❖ **Les aminopeptidases :** sont des exopeptidases qui agissent près de l'extrémité N-terminal des protéines et libèrent un seul résidu d'acide aminé, un dipeptide ou un tripeptide. Beaucoup d'aminopeptidases sont spécifiques aux protéines ayant un résidu méthionine en position N-terminale [10].
- ❖ **Les carboxypeptidases :** sont des exopeptidases qui agissent près de l'extrémité C-terminale des protéines et libèrent un seul acide aminé ou un dipeptide. Les carboxypeptidases sont divisées en trois sous-classes, les sérines carboxypeptidases, les métallo-carboxypeptidases et les cystéines carboxypeptidases, selon la nature des acides aminés présents au site actif de l'enzyme [10].

Les endopeptidases :

Ces enzymes sont les plus utilisées en industrie, elles sont caractérisées par leur action hydrolytique à un site spécifique de la chaîne polypeptidique loin des extrémités N et C-terminales. La présence d'un groupement amino ou carboxyl libre peut avoir un effet répressur sur l'activité de ces protéases. Les endopeptidases sont divisées en 4 classes selon leur mécanisme catalytique : les protéases cystéines, les métallo-protéases, les protéases aspartiques et les protéases sérines [9].

- ❖ **Protéases cystéines :** Les protéases cystéines, ou thiols, sont très peu utilisées en industrie. Ces protéases sont présentes autant chez les procaryotes que chez les eucaryotes. La plupart des protéases de cette classe sont activées seulement en présence d'agents réducteurs comme la cystéine ou l'acide cyanhydrique (**Figure 2**) [9]. Ces protéases ont un pH optimal neutre, bien que certaines d'entre elles, par exemple les protéases lysosomales, soient maximales actives à pH acide. Ils sont sensibles aux agents sulfhydryle tels que le PCMB mais ne sont pas affectés par le DFP et les agents chélatants des métaux. Leur activité n'est pas affectée en présence de Di-isopropylfluorophosphate (DFP) et d'agent chélatant, mais elle est inhibée par la présence d'agents sulfhydryles comme le p-chloromercuribenzone (PCMB), La

papaïne d'origine végétale, est la seule protéase de cette famille employée de façon significative en industrie [10].

❖ **Les Métallo-protéases** : Les métallo-protéases forment un groupe de protéases très variées. Ces enzymes contiennent un ion métallique divalent, le plus souvent le zn^{2+} , nécessaire à leur activité catalytique (**Figure 3**). Les métallo-protéases sont habituellement des protéases dites neutres, ayant un pH optimum se situant près de 7,0. Toutefois, certaines métallo-protéases sont des protéases alcalines, avec un pH optimum autour de 10.

Les mêmes travaux de recherche ont montré que la stabilité de ces protéases augmente considérablement si des ions ca^{2+} sont ajoutés au milieu et diminue lorsque des agents séquestrant sont ajoutés. Ainsi, ces protéases sont inactivées en présence d'agents chélateurs forts (ex: EDTA), qui enlèvent le zn^{2+} . Les métallo-protéases sont formées par plusieurs espèces du genre Bacillus Elles sont également produites par des moisissures comme Aspergillus oryzae [9].

Tableau 2 : Classification des protéases [10].

| Types de protéases | Classes et sous-classes |
|---------------------------|--|
| Exopeptidases | Amino-peptidases |
| | Peptidyle peptidases |
| | Dipeptidyle peptidases |
| | Tripeptidyle peptidases |
| | Carboxypeptidases |
| Sérine carboxypeptidases | |
| Metallo-carboxypeptidase | |
| Cystéine carboxypeptidase | |
| Endopeptidases | Protéases sérines |
| | Protéases cystéine ou protéases thiols |
| | Protéases aspartique ou protéases acides |
| | Métallo-protéases |
| | Protéases thréonique |
| Protéases glutamique | |

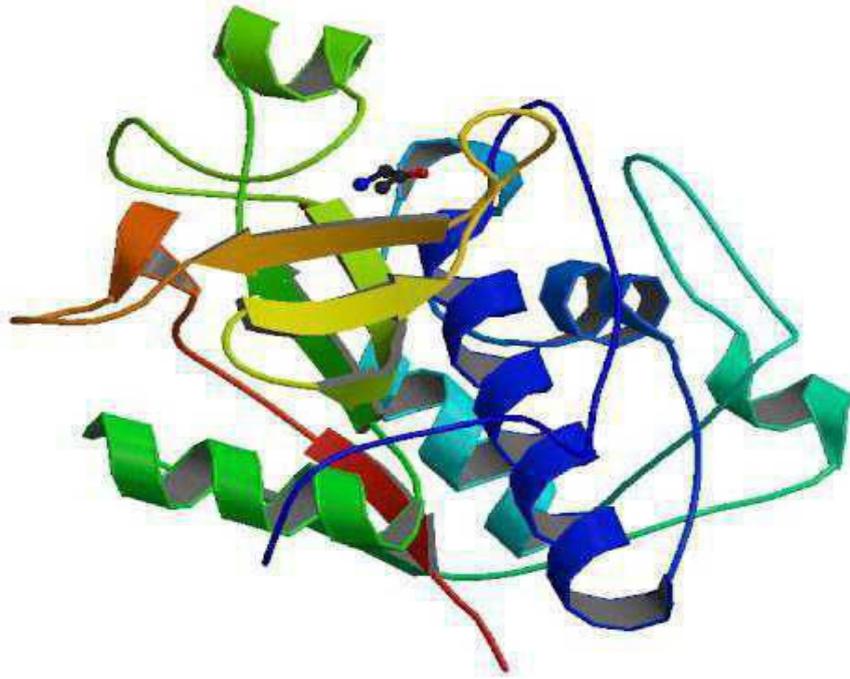


Figure 2 : Structure en ruban d'une protéase à cystéine « la Papaine » [12].

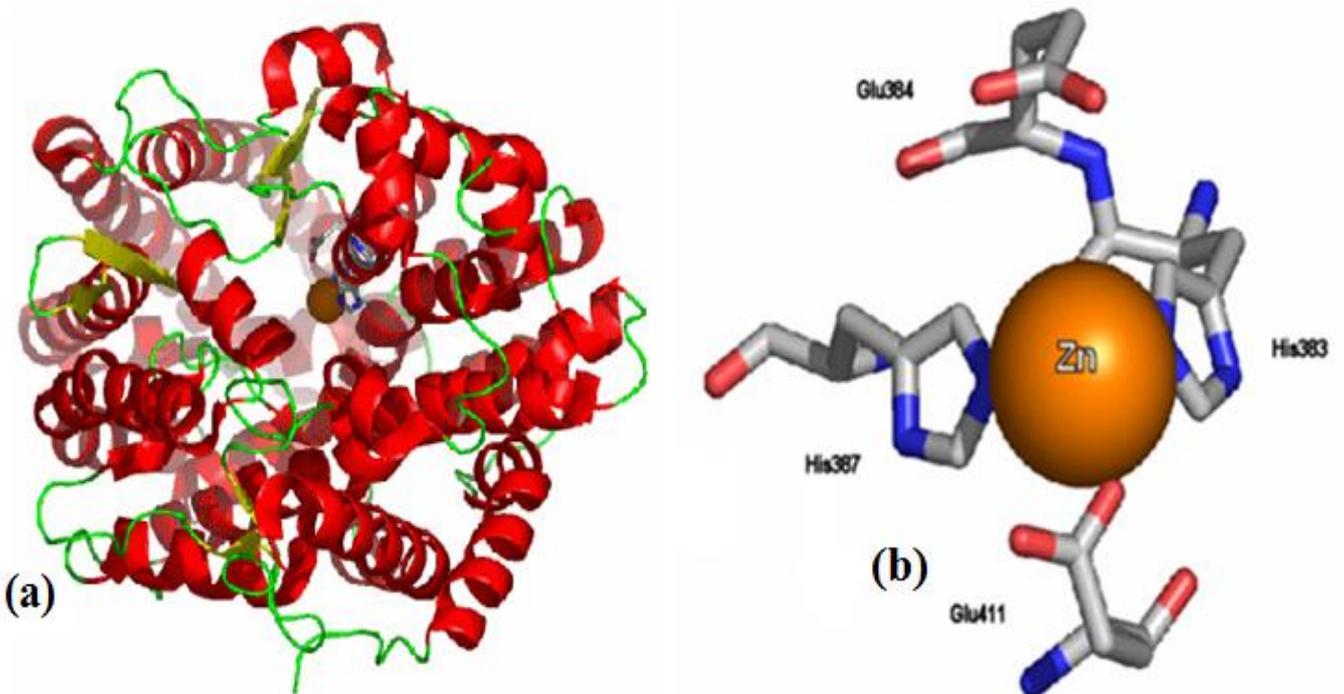


Figure 3 : (a) Structure tridimensionnelle d'un métallo enzyme.

(b) Présentation schématique du site active de cette enzyme avec le Glu384, His387, His383, Glu411 et Zn [12].

- ❖ **Protéases aspartiques** : Les protéases aspartiques, appelées protéases acides, sont des protéases dont l'activité catalytique dépend d'un résidu acide aspartique présent au site actif de l'enzyme (**Figure 4**). La plupart des protéases aspartiques ont une activité maximale à de faible pH, généralement entre (pH 3 à 4). Leurs masses moléculaires sont comprises entre 30 et 45 kDa [2]. Ces protéases acides ne sont pas inhibées par le DFP et le fluorure de phénylméthylsulphonyl (PMSF), ni par les réactifs avec des groupements thiols, comme le PCMB. Ces enzymes présentent un intérêt industriel dans les secteurs où l'hydrolyse des protéines à faible pH est désirée [9].
- ❖ **Les protéases sérines** : Ces enzymes sont d'une grande importance au niveau industriel. La très grande majorité des protéases alcalines, sont des protéases de type sérine. Ces protéases sont caractérisées par la présence d'un résidu sérine au niveau de leur site actif, ainsi que deux résidus aspartate et histidine formant le complexe actif avec le résidu sérine (**Figure 5**). Elles sont présentes chez les virus, les bactéries et les eucaryotes. Ces protéases ont généralement un pH optimal de 10, mais il peut varier entre 7 et 12. Ces enzymes sont inhibées par le DFP et le PMSF. Certaines protéases sérines sont aussi inhibées par des agents thiols, comme le PCMB, à cause de la présence d'un résidu cystéine près du site actif. Leur masse moléculaire se situe généralement entre 18 et 35 kDa. Certaines protéases sérines dépendent du Ca^{2+} pour leur stabilité [9].

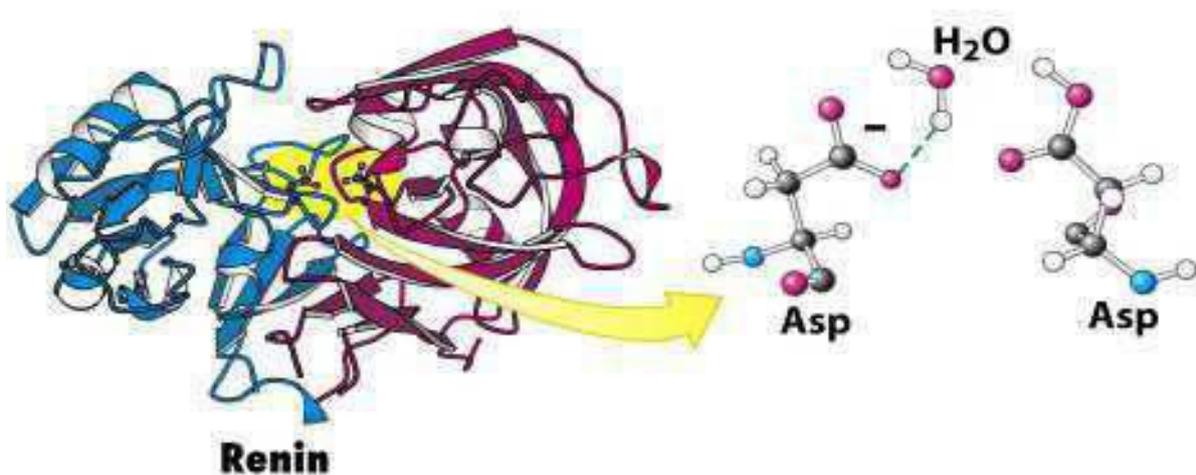


Figure 4 : Structure en ruban d'une peptidase aspartique : la rénine et présentation de son site actif avec les deux résidus d'Acides aspartiques [12].

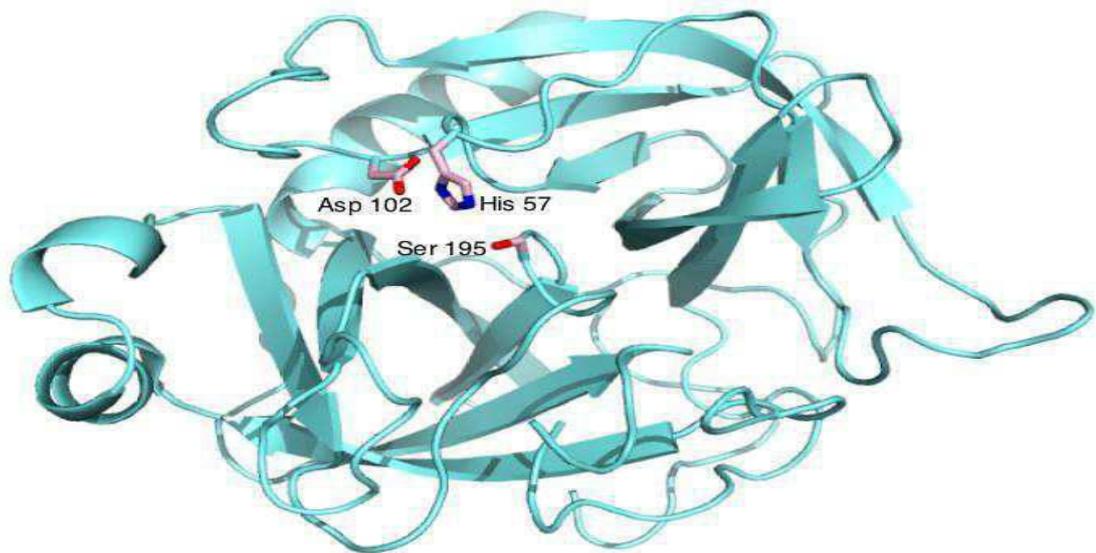


Figure 5 : Structure de la protéase à sérine « la chymotripsine » : Le groupe réactif au site actif est constitué d'une triade catalytique; la Ser 195 (l'acide aminé qui réagit avec le substrat), alors que l'His 57 et l'acide Asp 102 contribuent à rendre la sérine particulièrement réactive [12].

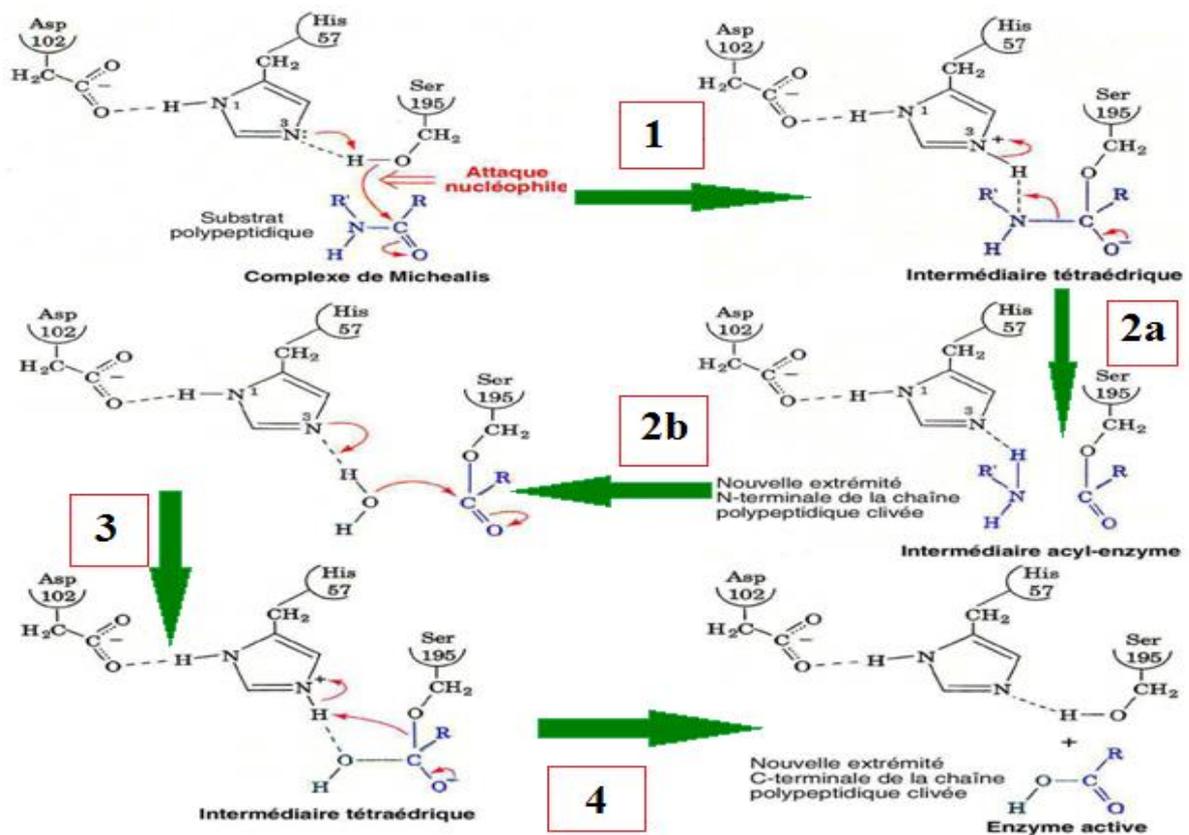


Figure 6 : Présentation du cycle catalytique des protéases à sérine (chymotripsine) qui se décompose en quatre étapes majeures [12].

- **Réaction 1** : La sérine 195 attaque de façon nucléophile l'atome de carbone du carbonyle de la liaison pour former un intermédiaire tétraédrique (covalent).
- **Réaction 2 (a)** : Le tétraèdre se décompose dû à l'instabilité de la charge négative sur l'oxygène du carbonyle alors lorsqu'il capte un proton de l'His 57. L'intermédiaire acyle-enzyme se forme par catalyse générale acide grâce à His 57 polarisé par Asp 102 du site actif.
- **Réaction 2(b)** : Ceci est suivi par la libération du produit amine et son remplacement par une molécule d'eau.
- **Réaction 3** : Un deuxième intermédiaire tétraédrique se produit.
- **Réaction 4** : La décomposition de l'intermédiaire tétraédrique en sens inverse de la réaction 1 donne le produit carboxylique et l'enzyme active [13].

I. 3. Origine des protéases :

Les protéases microbiennes représentent environ 40% des ventes mondiales d'enzymes. Les protéases d'origine microbienne sont préférées aux enzymes d'origine végétale et animale car elles possèdent presque toutes les caractéristiques recherchées pour leurs applications biotechnologiques [10].

- ❖ **Les protéases bactériennes** : La plupart des protéases commerciales, principalement neutres et alcalines, sont produites par des organismes appartenant au genre *Bacillus* [10]. Les protéases les plus connues sont : la subtilisine (Carlsberg) produite par *B. licheniformis* utilisée dans les détergents, La subtilisine commerciale (BPN) produite par *B. amyloliquefaciens*. Les protéases bactériennes neutres sont actives à des pH allant de 5 à 8, elles sont faiblement thermo tolérantes et grâce à leur faible vitesse de réaction, ces protéases génèrent moins de coproduits amères lors de l'hydrolyse des protéines alimentaires, comparées à celles d'origine animale, d'où leur utilisation dans l'industrie alimentaire. D'autre part, les protéases alcalines bactériennes telles que les kératinases, sont caractérisées par leur importante activité à des pH alcalins, dans une zone de pH de 8 à 12 et présentent une température optimale d'activité autour de 60°C, elles sont caractérisées par leur large spécificité vis-à-vis des substrats. Ces différentes propriétés les rendent plus recherchées au niveau industriel [13].
- ❖ **Les protéases fongiques** : Les champignons produisent un spectre plus large d'hydrolases que les bactéries. Par exemple, *Aspergillus oryzae* produit des protéases acides, neutres et alcalines. En fait, les protéases fongiques sont actives dans une large gamme de pH (entre 4 et 11) et montrent une large spécificité vis-à-vis des substrats.

Cependant, elles ont un rendement réactionnel et une thermo tolérance plus faible que les protéases bactériennes.

Les protéases fongiques acides présentent un optimum d'activité compris entre 4 et 4,5 et sont stables entre pH 2,5 et 6,0. Ils sont particulièrement utiles dans l'industrie fromagère en raison de leurs spécificités de pH et de température étroites. Les protéases fongiques neutres sont des métalloprotéases actives à un pH voisin de 7 et sont inhibées par les agents chélatants comme EDTA. Elles sont utilisées pour compléter l'action des protéases végétales, animales et bactériennes et pour réduire le goût amer des hydrolysats protéiques alimentaires [10].

I. 4. Application des protéases en biotechnologie :

Les protéases occupent une grande part du marché des enzymes industrielles. Comptent pour environ 60-65% des ventes totales dans le monde entier des enzymes en raison de leurs applications dans plusieurs secteurs industriels.

I. 4. 1. Industrie des détergents : Les protéases représentent environ 60 % des ventes mondiales d'enzymes pour les détergents ménagers et environ 50 % des enzymes pour les détergents pour lave vaisselle automatique. Ces enzymes possèdent des propriétés nettoyantes croissantes et une grande stabilité face aux oxydants, Elles facilitent l'élimination des taches comme l'herbe, le sang, l'œuf et la sueur. Dans les détergents pour les vaisselles, elles aident à supprimer les films d'aliments protéiques comme l'œuf et le jus de viande [14].

I. 4. 2. Industrie agroalimentaire : Les protéases microbiennes ont été exploitées dans les industries alimentaires de diverses manières. Les protéases ont principalement été utilisées dans les industries alimentaires pour la préparation d'hydrolysats de protéines à haute valeur hydrolysats protéiques de haute valeur nutritionnelle. Ces hydrolysats protéiques peuvent jouer un rôle important dans la régulation de la pression sanguine, ils sont introduits aussi dans la formulation des produits alimentaires pour nourrissons, dans des produits thérapeutiques spécifiques des régimes alimentaires et dans la fortification des jus de fruit et des boissons non alcoolisées [15].

I. 4. 3. Industrie de tannerie : Dans la tannerie, le délainage enzymatique est utilisé depuis le début du siècle dernier et plusieurs souches microbiennes et diverses méthodes ont été suggérées. Les protéases sont utilisées pour leur capacité à libérer les poils et la laine des peaux. Cette opération se fait à des pH élevés, et nécessite donc des protéases alcalines, comme celles produites par *Bacillus licheniformis*. Après l'enlèvement des poils, les peaux subissent le reverdissage, étape essentielle

afin de rendre la peau douce et élastique. Les préparations enzymatiques servant pour le reverdissage peuvent contenir des protéases d'*A. oryzae*. Jusqu'à présent, l'usage des protéases a été limité car leur emploi est souvent plus coûteux que l'utilisation de produits chimiques [9].

I. 4. 4. Autres applications :

Certaines protéases sont utilisées aussi pour :

- Synthèse de peptides ;
- Traitement des rejets industriels ;
- Traitement de la soie ;
- Panification : Amélioration de l'élasticité de la pâte (les protéases fongiques) ;
- Industries laitière et fromagerie : Coagulation des protéines du lait et son aromatisation ;
- Brasserie : Prévention du trouble au froid de la bière par action de la papaine ;
- Préparation des hydrolysats de protéines à usage microbiologique telles que la peptone et tryptone.

II. Les kératinases :

II. 1. Définition et mode d'action des kératinase :

Les kératinases, nommées aussi enzymes kératinolytiques représentent l'un des plus importants groupes d'enzymes protéolytiques qui ont un grand intérêt industriel et des applications dans différents secteurs, ces enzymes ont la capacité d'hydrolyser les kératines efficacement que d'autres protéases. Elles ont été classées comme des protéinases de mécanisme inconnu tel que recommandé par l'IUBMB «International Union of Biochemistry and MolecularBiology» (1978) avec le numéro [EC 3.4.21/24/99.11]. Des recherches récentes ont indiqué que les kératinases sont comme les protéases à sérine en raison de leurs 97% d'homologie avec les protéases alcalines (**Figure 7**), et leur inhibition se fait par les mêmes inhibiteurs des protéases à sérine, et elles peuvent être aussi des métallo-protéases. Ce sont des enzymes qui dégradent facilement la kératine des plumes, de laine et des cheveux ainsi que d'autres protéines fibreuses (l'élastine et le collagène) et d'autre non fibreuses (la caséine, la gélatine et l'albumine) avec un haut degré de spécificité [13].

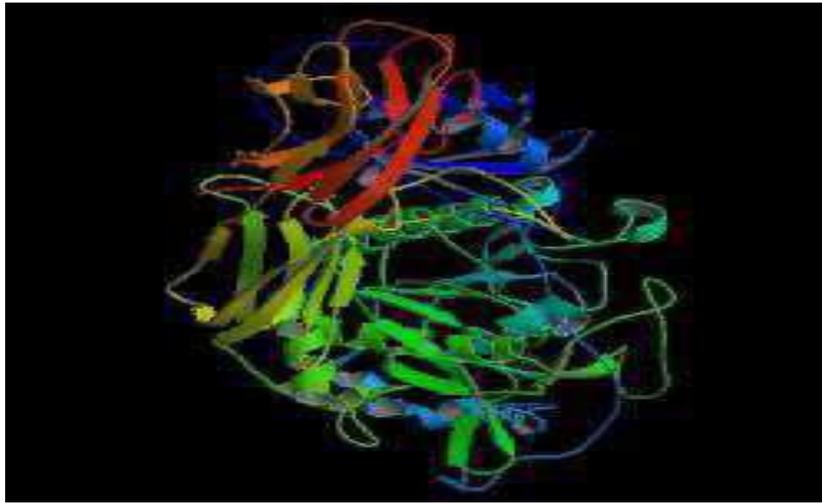


Figure 7 : Structure en rubon des kératinases complexes [13].

Ces enzymes kératinolytiques attaquent principalement les ponts disulfures du substrat non soluble par clivage de ces derniers ce qui permet l'attaque des protéases extracellulaires et donne une accumulation de sulfocysteine, l'excès de soufre est oxydé en sulfite et en sulfate ou en thiosulfate qui se concentre dans le milieu réactionnel [16] (**Figure.8**). Des études utilisant des substrats synthétiques ont montré que ces enzymes ont tendance à hydrolyser les liaisons peptidiques au niveau de lamine des acides aminés aromatiques et hydrophobes.

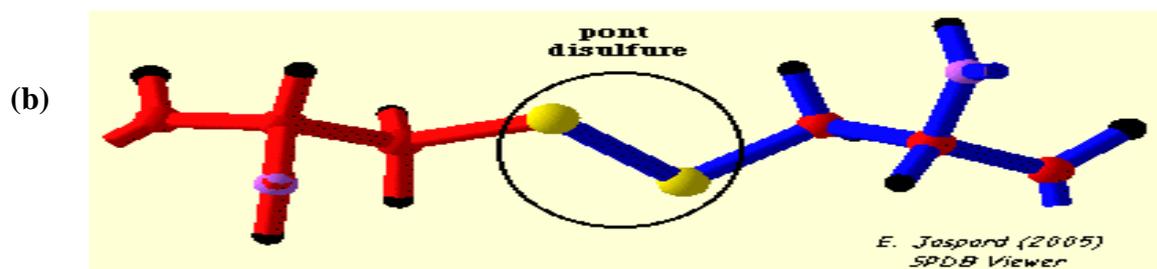
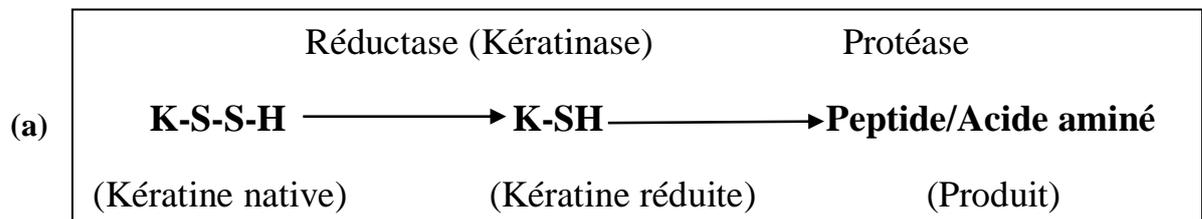


Figure 8: (a) Schéma représentant le mode d'action des kératinase sur les substrats kératiniques par clivage des ponts disulfures, (b) Représentation schématique des Ponts disulfures entre les résidus de cystéines [17].

II. 2. Origine des kératinases :

Les enzymes kératinolytiques sont très répandues dans la nature et sont produites par un ensemble de micro-organismes qui se développent sous différentes conditions écologiques et environnementales, Les kératinases ont été purifiées à partir de différents micro-organismes à savoir les champignons, tels que *Microsporium* [18] et *Chryseobacterium indologènes* TKU014 [19] et bactéries, comme *Bacillus* spp. [20] et *Streptomyces*.

Les kératinases microbiennes présentent une grande diversité dans leurs propriétés biochimiques et biophysiques. Les caractéristiques de certaines kératinases microbiennes sont résumées dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : Caractéristiques biochimiques des microorganismes kératinolytiques [21].

| Microorganismes | type | Mol.wt. (kDa) | Optimum pH | Optimum Temps (° C) | Référence |
|--|------------|------------------|---------------|------------------------|----------------------------|
| Bactéries | | | | | |
| <i>Bacillus spp</i> | metallo | 134 | 7 | 40 | Lee et al, (2002). |
| <i>Bacillus cereus</i> DCOW | serine | 80 | 8.5 | 50 | Ghosh et al,(2008). |
| <i>Fervidobacterium islandicu</i> <i>m AW-1</i> | - | 40 | 7.0 | 80 | Lee et al,(2015) |
| <i>Bacillus pumilus</i> | Subtilisin | 35 | - | 37 | Fellahi et al, (2016). |
| <i>kocuriarosea</i> | serine | 240 | 10 | 40 | Bernal et al, (2006). |
| champignons | | | | | |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | serine | - | 6.5-9 | 45 | Santos et al, (1996). |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | metallo | 60 | 8 | 50 | Faraget hassan, (2004). |
| <i>paecilomyces marquandii</i> | serine | 33 | 8 | 60-65 | Gradisar et al. (2005). |
| <i>Fusarium solani</i> | - | - | 7 | 35 | Sharma et al, (2016). |

II. 3. Propriété physicochimiques des kératinases :

Les kératinases sont des métallo enzymes qui appartiennent à la famille des protéases à sérine où les groupements –SH sont impliqués dans le maintien de l'activité enzymatique. Les poids moléculaires des kératinases sont entre 18 et 200 KDa. À titre d'exemple *streptomyces albidoflavus* (SK1-02) [22] et *fervidobacterium islandicum* [23] produisent des kératinases dont les poids moléculaires équivalent à 18KDa et 200KDa respectivement. Cependant, le poids moléculaire peut dépasser les 440KDa dans le cas de certains champignons pathogènes [24].

Les kératinases sont généralement actives et stables sur une gamme de pH (5 à 13). En effet, la plus faible valeur de pH 4 a été observée dans le cas de *streptomyces pactum* DSM 40530 et la plus élevée, pH 13 chez *Bacillus halodurans* AH-101. La température optimale d'activité des kératinases s'étend de 30 à 80°C, de plus les kératinases de *Chyso sporium keratinophilum* et *Fervidobacterium islandicum* A W-1 présentent respectivement des températures optimales exceptionnelles de 90 et 100°C [25].

II. 4. Application de kératinases en biotechnologie :

Les kératinases ont diverses utilisations industrielles, citons les plus connues :

II. 4.1. Traitement et nettoyage des peaux d'animaux - industrie du cuir :

L'industrie du cuir est l'une des plus anciennes et des plus dynamiques au monde et joue un rôle important dans l'économie d'aujourd'hui. En même temps, il est considéré comme l'une des plus grandes sources de pollution au monde, car la transformation du cuir comprend l'utilisation de substances toxiques.

Le traitement des peaux fait intervenir une série de procédés, parmi lesquels le pré-tannage. Les enzymes protéolytiques sont utilisées pour améliorer la souplesse des peaux et de les préparer au processus de tannage. Diverses préparations d'enzymes kératinolytiques pour l'épilation des poils d'animaux sans endommager la peau (collagène) sont également utilisées.

L'application de kératinases dans l'industrie du cuir améliore la qualité du produit final et réduit la pollution de l'environnement par les produits chimiques, offrant un environnement de travail plus sûr [26].

II. 4.2. Industrie de détergents :

Les enzymes protéolytiques dominent le marché des détergents depuis les anciens temps. Les protéases alcalines représentent 89% des enzymes protéolytiques utilisées dans l'industrie des détergents. Les enzymes appropriées pour être utilisées dans les

détergents doivent être compatibles avec d'autres composants des agents de lavage et présenter une activité et une stabilité à des valeurs de pH et des températures plus élevées. La kératinase alcaline de *Paenibacillus woosongensis* TKB2 est l'une des enzymes ayant une application potentielle dans l'industrie de la blanchisserie pour éliminer les taches composites sans affecter la texture du tissu, les fibres et la résistance des vêtements [11].

II. 4. 3. Traitement des déchets kératiniques :

II. 4. 3. 1. Production de farine de plumes pour l'alimentation animale :

Les principaux déchets de l'industrie avicole sont les plumes, qui représentent 7 à 10% de la masse des poulets .l'accumulation de ces derniers mène non pas seulement à la pollution de l'environnement mais aussi au gaspillage de ses protéines. L'une des options de valorisation des déchets de plumes implique leur transformation en farine de plumes, qui peut être utilisée comme matière première dans la production de biodiesel, comme ingrédient dans les bioplastiques ou comme alimentation animale. Le traitement traditionnel des plumes comprend une température et une pression élevées, qui sont à l'origine des coûts élevés et de la destruction de certains acides aminés essentiels (méthionine, lysine et tryptophane). Par conséquent, les produits finaux peuvent être mal digestibles et avoir une valeur nutritionnelle variable. De telles lacunes peuvent être évitées par l'hydrolyse enzymatique des plumes par les kératinases, ce qui entraîne la production d'acides aminés de meilleure qualité [11].

II. 4. 3. 2. Production de farine de plumes pour engrais :

Les plumes hydrolysées peuvent être converties en bio-hydrogène, ou utilisées comme engrais pour l'agriculture biologique qui permet une libération lente d'azote, améliore la croissance des plantes, favorise l'activité microbienne du sol, structure le sol et augmente sa capacité de rétention d'eau [11].

II. 2. 4. 4. D'autres applications :

Les kératinases sont également utilisées dans diverses autres applications, y compris pour la décontamination des instruments médicaux, de matériel de laboratoire et des éléments interchangeables tels que les lentilles de contact et des outils dentaires. En médecine et synthèse de produits pharmaceutiques pour éliminer des acnés ou le psoriasis, éliminer les cals humaines pour la préparation des vaccins contre les dermatophytoses et des additifs dans des agents d'éclairage de la peau car ils stimulent la dégradation de la kératine. L'utilisation dans la digestion anaérobie des déchets de volailles pour produire du gaz naturel utilisé comme carburant.

III. Les substrats kératiniques :

Le mot « kératine » est apparu dans la littérature aux environs de l'année 1850 .la kératine vient du mot « kéra » en grec qui signifié une corne [27]. Les kératines sont classées comme des protéines fibreuses appelées scléroprotéines qui appartiennent à la famille la plus grande et la plus complexe de protéines filamenteuses intermédiaires des cellules animales, en particulier les épithéliums [28].

En fonction de leurs teneurs en soufre, les kératines sont regroupées en kératines dures (ongles, plumes, poils et sabots) et en kératines molles (peau et calcs) [29]. Le rôle de la kératine est d'assurer une protection de l'animal (ou de l'homme) contre son environnement naturel. C'est pourquoi elle montre une grande résistance aux attaques chimiques et enzymatiques. Cette résistance est due à sa forte teneur en cystéine [30].

III. 1. Structure des kératines :

La durabilité des kératines est une conséquence directe de leur architecture complexe. Les kératines forme des structures fibreuses d'ordre élevé par le biais de liaisons disulfure, de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes, Cela rend la construction de la kératine plus durable et résiliente que quelques autres peptides [29].

D'un tissu à l'autre, les séquences primaires des kératines varient en particulier du nombre de résidus cystéines et en conséquence du nombre de pontages possible, ainsi, leur augmentation conduit à la formation de tissus durs et coriaces tels que les ongles, les sabots des animaux et les carapaces des tortues [31]. En raison de leurs structures extrêmement rigides, les kératines résistent à l'attaque physico-chimiques des facteurs environnementaux, elles sont insolubles dans l'eau, les acides faibles, les milieux alcalins et les solvants organiques. En outre, ces protéines fibreuses sont non dégradables par les enzymes protéolytiques, tels que la trypsine, la pepsine et la papaine [32].

III. 2. Classification des kératines :

Les kératines sont des protéines dont les chaines se présentent en hélice- α (α -kératine) ou en feuillet- β (β -kératine), qui se replie en forme tridimensionnelle.

III. 2. 1. Alpha kératine (α -kératine) :

Les alpha kératines, un sous-type de filaments intermédiaires trouvés dans l'épithélium de tous les vertébrés, se sont développés et se sont diversifiés fonctionnellement chez les amniotes par duplication de gènes, Elle a une structure hélicoïdale simple, de longs segments de 311-314 acides aminés en hélice α entourées

d'extrémités N- et C-terminales non hélicoïdales forment un pas à droite (**Figure 9**) . La résistance de cette protéine est amplifiée par l'enroulement de multiples brins hélicoïdaux en une super-hélice appelée proto-fibrille. L'enroulement hélicoïdal des super-enroulements possède un pas à gauche dans un sens opposé à celui de l'enroulement des hélices polypeptidiques individuelles. Cette conformation permet le tassement le plus serré possible des multiples chaînes polypeptidiques. . La résistance de ces fibres est augmentée par la richesse en résidus hydrophobes (Phénylalanine, leucine, Valine, Méthionine et Alanine) et par des liaisons covalentes entre les chaînes polypeptidiques.

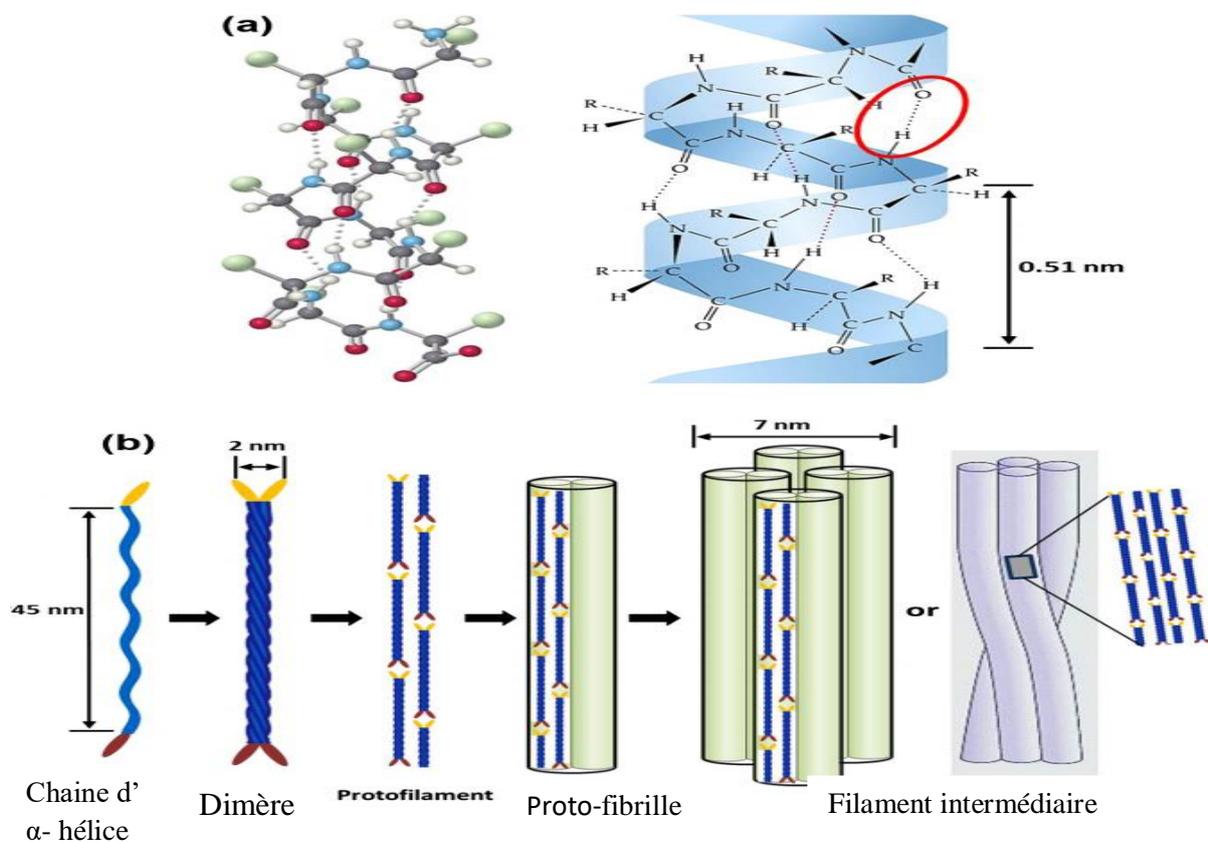


Figure 9 : Structure du filament intermédiaire de l' α -kératine: (a) modèle à billes et à bâtonnets de la chaîne polypeptidique, et hélice α montrant la localisation des liaisons hydrogène (ellipse rouge) et le pas de 0,51 nm de l'hélice ; (b) dessin schématique de la formation de filaments l'intermédiaire reproduite d'après : les chaînes en hélice α se tordent pour former les Dimères, qui s'assemblent pour former le proto-filament. Quatre proto-filaments s'organisent dans le filament intermédiaire [33].

III. 2. 2. Beta kératine (β -kératine) :

Les β -kératines se trouvent exclusivement chez les reptiles et les oiseaux et se sont également développées et diversifiées en particulier dans les lignées aviaire et chélonienne. L'organisation structurale de cette forme de kératine est dans une conformation β et le squelette de la chaîne polypeptidique s'étend-en zigzag (**Figure 10**). Dans la fibroïne, par exemple, les chaînes polypeptidiques en zigzag sont disposées côte à côte pour former une structure qui ressemble à une série de plis (appelée feuillet β plissé). Des liaisons hydrogènes peuvent être soit intra- ou inter-chaînes entre les liaisons peptidiques de chaînes polypeptidiques adjacentes.

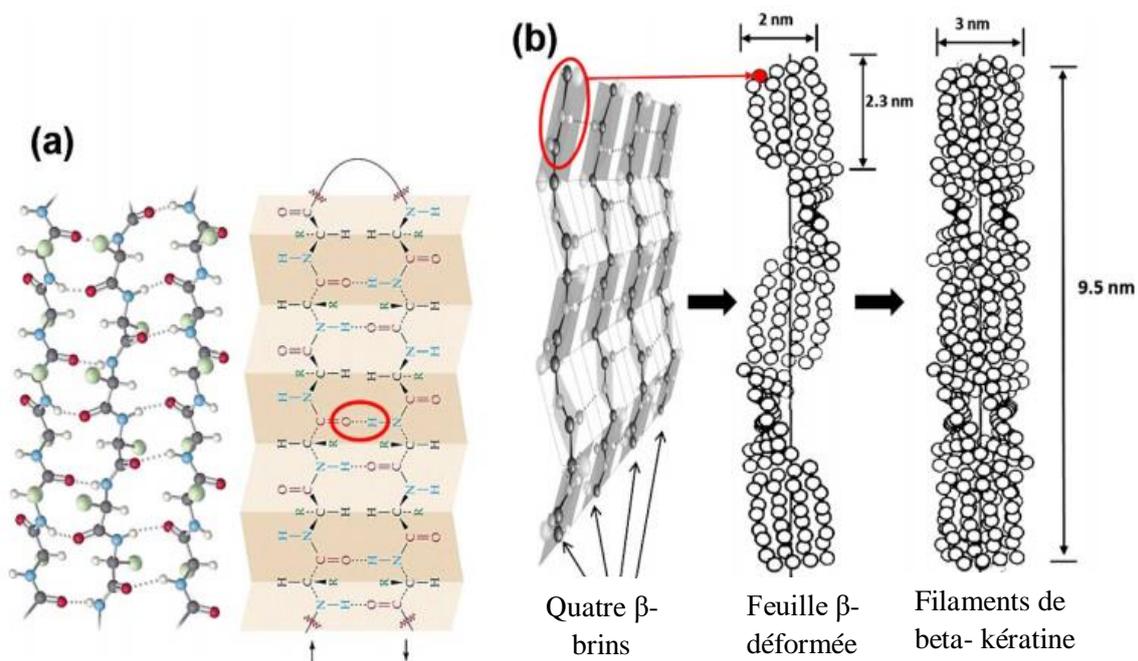


Figure10 : Structure des filaments de β -kératine: (a) modèle à billes et à bâtonnets de la chaîne polypeptidique, et illustration du plissé feuillet bêta ; (b) dessin schématique de la formation du filament bêta-kératine : une chaîne polypeptidique se plie pour former quatre brins β qui se tordent pour former la feuille β déformée. Deux feuilles s'assemblent pour former un filament bêta-kératine [26].

III. 3. Principale source de kératines :

La kératine peut avoir différentes sources qu'elle soit animale ou humaine, Le plus riche les sources de kératine sont les plumes, la laine, les cheveux, les sabots, les écailles et la couche cornée, environ 80% de la protéine de kératine est présente dans les cheveux humains et offre souplesse, résistance et durabilité aux cheveux. La plume d'oiseau est composée de plus de 90% de protéines de kératine [34].



Figure 11: Principales sources de protéines kératiniques (A) Bec d'oiseau;(B) les poils d'animaux; (C) l'ongle humain; (D) corne; (E) cheveux humains; (F)sabot; (G) clou; (H) plume de poulet [28].

❖ **Cas des plumes de volaille :**

1. Production mondiale de volaille :

La production mondiale de viande de volaille affiche la plus forte croissance au sein des productions de viandes. Depuis les années 2000, son taux de croissance annuel moyen est de 3,4 %. En 2017, la volaille devient la première viande produite dans le monde avec 118 millions de tonnes (Mt) devant la viande bovine (70 Mt) et la viande ovine (14 Mt).

En 2016, les principales régions productrices sont l'Asie (33 %), l'Amérique latine (22 %), l'Amérique du Nord (19 %) et l'Europe (18 %). Les Etats-Unis sont les premiers producteurs (20,5 Mt) suivis de la Chine (18,8 Mt), de l'Union européenne (14,3 Mt) et du Brésil (13,8 Mt).

Au cours des dix prochaines années, la production de volaille devrait représenter près de la moitié de la croissance totale de la production de viande, avec cependant un ralentissement de la croissance annuelle. Ainsi, les perspectives de croissance de l'OCDE et de la FAO vont dans le sens d'un maintien de la croissance de la production mondiale de volaille à 1,2 % par an. **(Tableau4)**

Tableau4 : Production de volailles en 2016 et perspectives d'évolution à 5ans d'après l'OCDE et la FAO [35].

| | Production 2016 | Perspectives de croissance annuelle à 5 ans |
|------------|-----------------|---|
| États-Unis | 21.0 | + 1,0 % |
| Chine | 18.9 | + 1,6 % |
| UE-28 | 14,3 | + 0,8 % |
| Brésil | 13,9 | + 0,9 % |
| MONDE | 116,8 | + 1,2 % |

Source : OCDE/FAO

2. Production volaille en Algérie :

En Algérie, la filière avicole a connu, depuis les années 1980, un développement notable. La croissance démographique et le changement des habitudes d'alimentation qui ont accompagné l'urbanisation de la société algérienne sont les principaux déterminants de ce développement. Cet essor de la filière avicole contribue à la création d'emplois et à la réduction du déficit en protéines animales [36]. En 2007, la filière avicole intensive réalisait un chiffre d'affaires de 86 milliards de dinars (1,780 milliards d'euros) et une valeur ajoutée brute de 410 millions d'euros, ce qui représente une partie importante de la richesse agricole (environ 10 %).

La filière avicole a connu, depuis 1997, une restructuration profonde dans le sens de l'émergence d'entreprises et de groupes intégrés (Office national des aliments du bétail [ONAB] et Groupes avicoles régionaux, Unités d'aliments du bétail [UAB] et accouveurs privés, abattoirs modernes).

L'Algérie figure dans les toutes premières places de l'élevage des pays de la région du Grand Maghreb réunissant l'Algérie, Le Maroc, la Tunisie, la Mauritanie et la Lybie, en termes de nombre de têtes avec 20 à 35% du cheptel de la région selon les espèces, comme l'atteste les statistiques de la FAO sur les dernières années. Selon ces statistiques (Moyenne 2001/2003), l'Algérie à 574 000 tonnes par an est derrière le Maroc, le deuxième pays producteur (33,27% de la production) et consommateur en volume (34,09% de la consommation) de viande de la région. Son cheptel de poulet à 124 000 000 têtes en 2007 est en 2ème place de la région du Grand Maghreb derrière le Maroc toujours (140 000 000 têtes), il représente 34,71 % du cheptel de la région.

Tableau5 : Nombre de têtes de poulets dans les différents pays du grand Maghreb, de 2001 à 2007, selon les données statistiques de la FAO, 2007 [37].

| (1000) | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|------------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|
| Algérie | 110000 | 120000 | 125000 | 125000 | 125000 | 125000 | 124000 |
| Libye | 25000 | 25000 | 25000 | 25000 | 25000 | 25000 | 25000 |
| Maroc | 137000 | 137000 | 137000 | 137000 | 137000 | 140000 | 140000 |
| Mauritanie | 4100 | 4200 | 4200 | 4200 | 4200 | 4200 | 4200 |
| Tunisie | 61417 | 62000 | 62000 | 64000 | 64000 | 62000 | 64000 |
| totale | 337517 | 348200 | 353200 | 355200 | 3552005 | 356200 | 357200 |
| %Algérie | 32.59% | 34.46% | 35.39% | 35.19% | 35.19% | 35.09% | 34.71% |

Source : FAOSTAT - Données Statistiques de la F.A.O

3. Structure et composition de plume de volaille :

La fibre de plumes de poulet, composée principalement de trois unités séparées. Un axe central (rachis jusqu'à 7 cm longueur) qui sont attachés au calamus, le secondaire les structures (les bardes de 1 à 4,5 cm en fonction de son emplacement dans le rachis, (**figure 12**). le troisième (barbules d'une longueur comprise entre 0,3 et 0,5 mm) est connecté aux barbes et a des crochets à ses extrémités, qui sont mieux visualisés par microscopie électronique à balayage (MEB) (**figure 13**) [38].

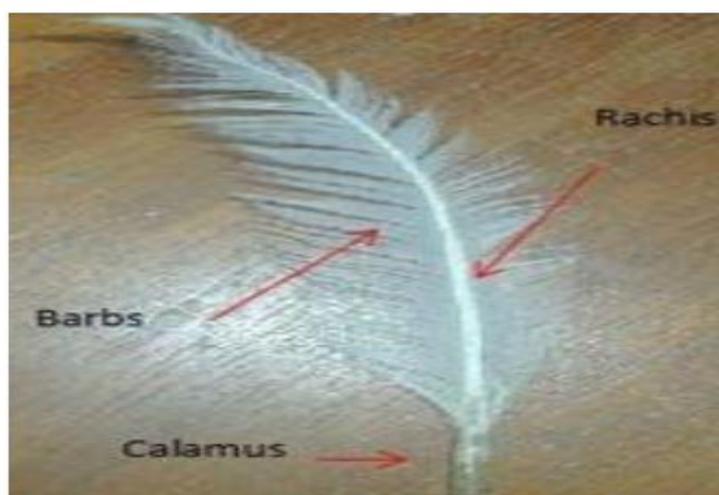


Figure12 : photo d'une plume de poulet montrant les différentes parties d'une plume [28].

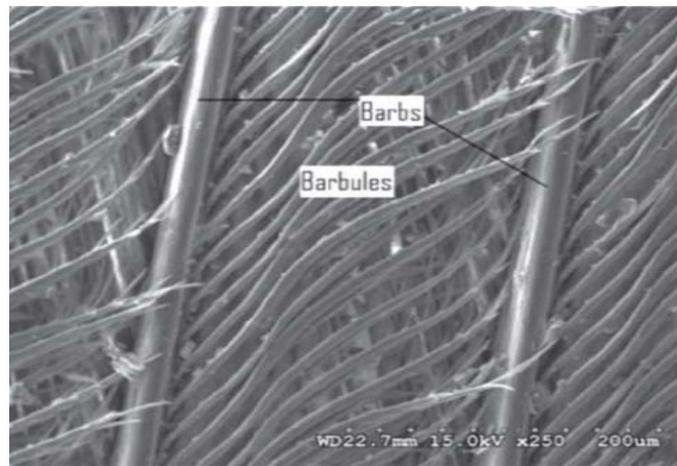


Figure 13 : Micrographie de la structure secondaire et tertiaire de la plume [28].

4. Origine et production des plumes :

Les plumes et duvets ont deux origines distinctes, suivant qu'il s'agit de « plumes neuves » ou de « plumes de récupération ».

Les plumes neuves : proviennent de l'élevage et de l'abattage des palmipèdes (canards et oies) ou des oiseaux terrestres (poulets, dindes, pintades principalement) elles sont collectées auprès des abattoirs industriels ou artisanaux.

Les plumes de récupération : proviennent d'articles textiles contenant des plumes (Oreillers, coussins, couettes, anoraks, etc.) Récupérés lors des collectes de vêtements usagés [37].

La plume c'est une source très riche en protéines surtout la β - kératine qui constitue 91% de la plume. La présence de kératine rend les plumes récalcitrantes à la plupart des protéases courantes comme la trypsine, la pepsine, la papaïne, ce qui ralentit son processus de dégradation dans la nature [39].

Les kératines de plumes sont composées d'environ 20 sortes de protéines, qui ne diffèrent que par quelques acides aminés. La répartition des acides aminés est fortement non uniforme avec les résidus basiques et acides. Les résidus cystine sont concentrés dans les régions N- et C-terminales. La partie centrale est riche en résidus hydrophobes [40].

Tableau6 : contenu en acides aminés des fibres kératiniques de plumes de poulet [32].

| Acide aminé | Pourcentage (%) |
|------------------|-----------------|
| Arginine | 4.30 |
| Acide aspartique | 6.00 |
| Glutamine | 7.62 |
| Thréonine | 4.00 |
| Serine | 16.00 |
| Tyrosine | 1.00 |
| Leucine | 2.62 |
| Isoleucine | 3.32 |
| Valine | 1.61 |
| Cystine | 8.85 |
| Alanine | 3.44 |
| Phénylalanine | 0.86 |
| Méthionine | 1.02 |
| Proline | 12.00 |
| Asparagine | 4.00 |

La kératine de plumes est une protéine spéciale, elle a une teneur élevée en cystine (8,85), un acide aminé soufré, qui est à l'origine de la formation de ponts disulfure (cystine) qui créent un réseau tridimensionnel compact engendrant une grande stabilité. La présence de ces liaisons en grand nombre confère une grande insolubilité dans les solvants classiques et une résistance aux attaques chimiques. De ce fait, la kératine est une protéine particulière, résistante et stable [30].

5. Valorisation de plume de volaille :

Le règlement européen CE 1774/2002 autorise et encourage la valorisation de ces sous-produits qui présentent une source de pollution et influencent profondément l'environnement (**figure 14**). Ces sous-produits peuvent donc, être valorisés par différentes voies et utilisés dans le compostage et l'alimentation animale.

Ils sont utilisés aussi dans la fabrication de farine de plumes utilisée dans les milieux de cultures de plusieurs microorganismes capables de produire différents métabolites. La proportion de la kératine présente au niveau des plumes et sa richesse en acides aminés justifie également leur utilisation comme matière pour la récupération des acides aminés.



Figure 14:L'accumulation des déchets de plumes issus de l'industrie de la volaille [13].

5. 1. Valorisation :

L'agence de transition écologique (ADEME) définit la valorisation comme "le ré-emploi, le recyclage ou toute autre action visant à obtenir, à partir de déchets, des matériaux réutilisables ou de l'énergie".

Chaque procédé de valorisation permet de réaliser des économies de matières premières et contribue de façon directe au respect et à la sauvegarde de l'environnement. Le concept de valorisation des déchets est né de l'idée que l'entreprise doit considérer ses déchets comme une ressource à exploiter et non comme des rebus dont il faut se débarrasser! En effet beaucoup de matériaux sont réutilisables dans diverses applications après leur fin de vie attribuée.

5. 2. Les procédés de valorisation :

5. 2. 1. Transformation des plumes :

La première étape de la transformation de plumes est l'hydrolyse, qui libère la kératine. La kératine est une protéine indigestible. Une fois hydrolysée, la matière est séchée pour produire une farine digestible riche en protéines.

5. 2. 2. Recyclage matière : production d'acides aminés :

La production d'Acides aminés à partir de plumes repose sur un procédé particulier nécessitant un outil dédié (opération d'hydrolyse de la kératine à l'aide d'une solution de HCl puis de NaOH). Cette opération permet d'obtenir 3 produits :

- Cystine : principe actif de l'industrie pharmaceutique.
- Tyrosine : principe actif utilisé dans la nutrition infantile et sportive.
- Kéramine : (solution d'AA, constituée de 70% d'eau, de 16% d'AA et de 14% de NaCl).

Il faut près de 10 tonnes de plumes séchées pour produire 400 à 500 Kg de cystine.

5. 2. 3. La fabrication d'acides aminés à partir de plumes :

Depuis 1986, la société Bretagne Chimie Fine (BCF) produit, à partir de plumes, des acides aminés utilisés dans des domaines tels que l'industrie chimique et l'industrie agroalimentaire. Ces plumes sont pour la plupart des déchets d'abattoirs [39].

Tableau 7 : Procédés de valorisation matière et organique des plumes [41].

Valorisation matière

- Extraction kératinique pour la fabrication de peinture résistante à la lumière (projet européen).
- Polymérisation des fibres de plumes.
- Filage de la matière kératinique (applications textiles).
- Fabrication de textile non tissé avec nappage de plumes – Naptural Fabrication de papier à base de plumes hydrolysées.
- Hydrolyse enzymatique des plumes pour fabrication de farines propre à l'alimentation animale.

Valorisation organique

- Fabrication 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.
- Fabrication d'engrais à partir de farines de plumes hydrolysées.
- Hydrolyse enzymatique des plumes pour fabrication de farines propre à l'alimentation animale.

Discussion générale

Discussion générale :

En raison de l'augmentation des déchets des plumes de l'industrie de la volaille est généré en quantité énorme qui est problème de pollution [42]. Le traitement chimique des déchets de kératine est proclamé comme une approche éco destructrice par divers chercheurs car il génère des polluants secondaires. La dégradation microbienne des déchets de kératine est une approche émergente et respectueuse de l'environnement et offre un double avantage, c'est-à-dire le traitement du polluant récalcitrant (kératine) et l'acquisition d'une enzyme commercialement importante (kératinase) [43].

Nous nous sommes intéressés de faire une étude comparative de certaines espèces bactériennes utilisées pour la dégradation des plumes et la production de kératinase.

Cette étude comparative concerne trois volets, la structure de la kératine en tant qu'une protéine d'origine animale, la dégradation de cette protéine par voie microbienne en produisant à la fois, la kératinases trop recherchée en industrie et l'hydrolysats kératiniques riche en acide aminés également fortement demandée par plusieurs secteurs industriels.

IV. Caractérisation structurale de kératine :

IV. 1. Microscopie électronique à balayage (MEB) :

L'observation de la morphologie de la kératine par MEB (**figure 15**), a révélé la une surface lisse avec le granulat et la texture hétérogène [44].

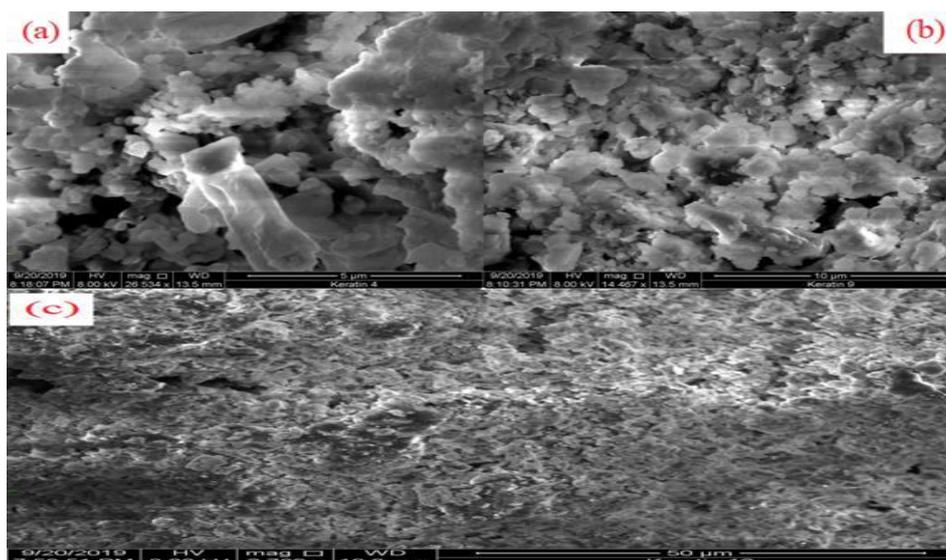


Figure 15 : Photo par le MEB sur la kératine : (a) 26,534x grossissement, (b) 14,467x grossissement et (c) 2789x grossissement [44].

- ✓ L'image MEB des fibres kératiniques a montré une section transversale ronde et possédait de nombreux micropores. Cette nature de microstructure pourrait être formée sous forme de filament de kératine à double diffusion sévère et de petites particules sous forme de poussière [44].

IV. 2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) :

Le spectre IRTF obtenu pour trois échantillons de kératine correspondait au spectre typique d'échantillons de protéines kératiniques provenant de plumes (**figure 16**).

Les résultats de IRTF montrent en particulier la présence de pics caractéristiques comme les fonctionnalités amide $-N-H$, $-C=O$, $-C-N-$ et $-CNH$ qui confirment les acides aminés, éléments essentiels de construction formant des groupes peptidiques de la protéine de kératine [44].

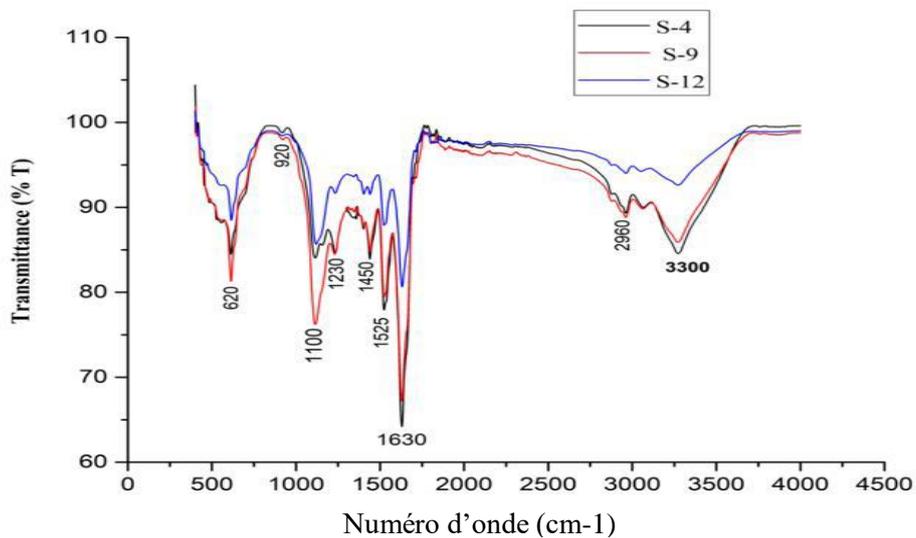


Figure 16 : Spectre IRTF de la kératine en poudre [44].

- ✓ Le pic relativement large de l'ordre de 3300 cm^{-1} correspond à $-N-H$ et $-O-H$ à liaison hydrogène mouvement d'étirement hors de la fonctionnalité amide et de l'eau absorbée.
- ✓ Le pic le moins intense de la région de 2900-3100 cm^{-1} signifie des groupes $-C-H$ et $-N-H$ étirant les vibrations.
- ✓ Le carbonyle le groupe de fonctionnalité amide se produit dans la région de 1600-1700 cm^{-1} .
- ✓ Le observé pic à 1230 cm^{-1} correspond au groupe $-CNH$ comprenant les groupes $-C-N-$ et $-C-C-$ étirés vibrations et vibrations flexion du groupe $-N-H$.
- ✓ La vibration de flexion du groupe $-CH_2$ s'est produite à 1450 cm^{-1} .

- ✓ . Le pic acéré intense à 1525 cm⁻¹ correspond à la flexion du groupe -C-N-H vibration.
- ✓ Les pics pointus moyennement intenses à 1100 et 920 cm⁻¹ correspondent au groupe -C-N- étirement des vibrations [44].

V. la production de kératinase :

Dans notre recherche, nous tenons en compte certaines souches déjà étudiées et sélectionnées comme à fort potentiel de dégradation.

V. 1. Par la souche *Bacillus sp.* MBRL 575 :

D'après l'étude de Pintubala et al. [45], qui ont trouvé les résultats suivants :

La dégradation des plumes de poulet par la souche MBRL 575 est indiquée dans la figure 17.

La dégradation des barbules de plume a été obtenue et bien apparaitre à partir de 12 h d'incubation. Cependant, la dégradation complète (perte de poids de 98 %) a été observée après 48 h à 30 °C [45].

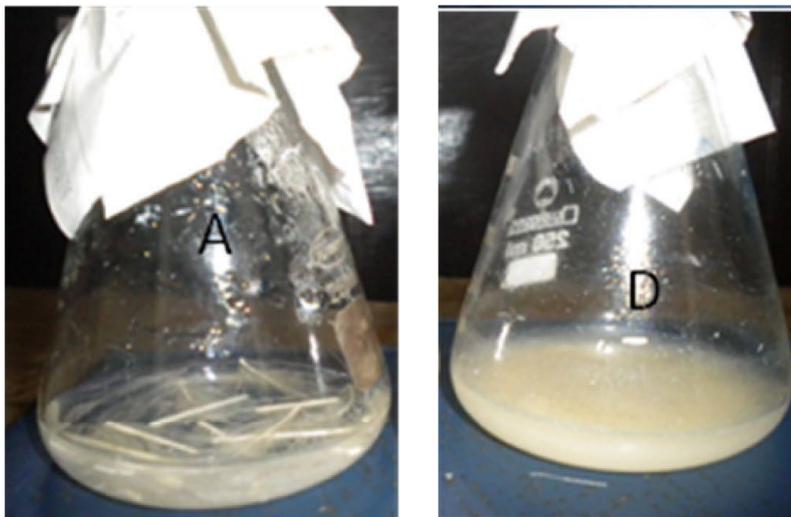


Figure 17 : Dégradation de différentes plumes d'oiseaux par *Bacillus sp.* MBRL 575 à 48 h, 30 °C. A) Une plume de poulet (contrôle), D) plume de poulet (incubation de 48 h) [45].

V. 2. La souche *Bacillus sp.*JB 99 :

D'après l'étude de Kainoor et Naik [46], qui montrée les résultats suivantes :

La dégradation des plumes de volaille par *Bacillus sp.*JB 99 est indiquée dans la figure 18. La dégradation a été obtenue après 36 h d'incubation à 40 °C dans un milieu de plume à 1%.



Figure 18 : Montrant efficacement les plumes des organismes dégradant.

A) plume de poulet à Temps 0 ; B) plume de poulet après 36 h d'incubation [46].

V. 3. La souche *Bacillus safensis* LAU 13:

A partir l'étude faite par Lateef et al [47], nous pouvons dire que la dégradation de plume par *Bacillus safensis* LAU 13 a été lente et obtenue qu'après 6 et 9 jours d'incubation à 30 °C. Dans la photo, on observe bien que les barbules et le rachis ont été complètement dégradés (**figure 19**) [47].

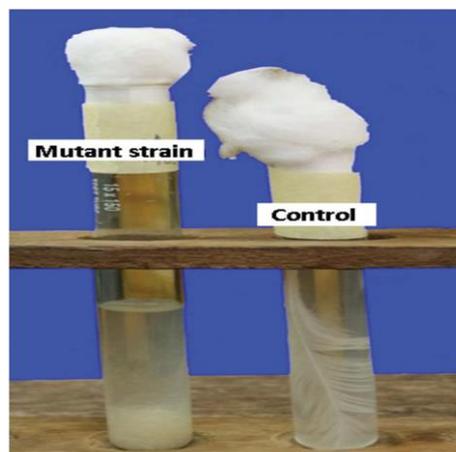


Figure19 : Dégradation complète d'une plume par *B.safensis* LAU 13 [47].

V. 4. La souche *Bacillus cereus* SKH1 :

Khodayari et Kafilzadeh [48] montrent que la dégradation de plume par *Bacillus cereus* SKH1 a été observée après 72 h d'incubation à 35°C (**Figure 20**) [48].



Figure 20 : Décomposition complète des plumes par *Bacillus cereus* SKH1.

A) plume de volaille à Temps 0, B) plume de volaille après 72h d'incubation [48].

V. 5. La souche *Bacillus subtilis* AMR :

Selon Villa et al. [49] ont montré que la dégradation de plume de volaille par *Bacillus subtilis* AMR a été obtenue après 5 jours d'incubation à 28 °C (**Figure 21**).

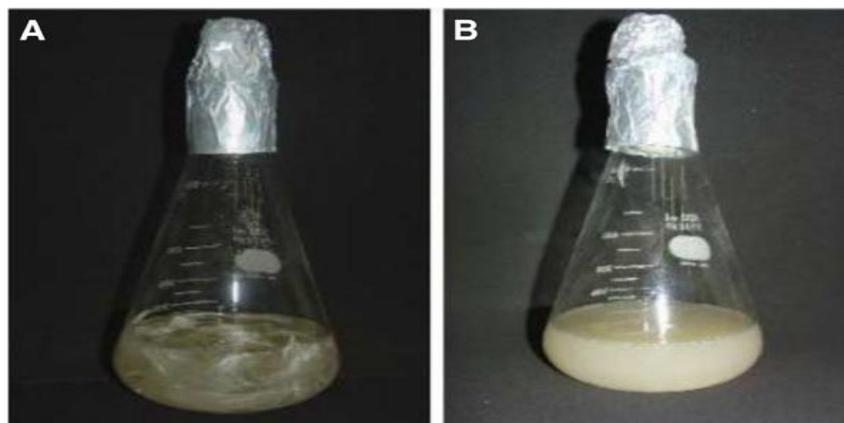


Figure 21 : A. Contrôle : *Bacillus subtilis* AMR en milieu contenant des plumes (temps0) et B. après 5 jours de croissance en milieu en plumes [49].

V. 6. La souche *Bacillus sp.* FPF-1 :

D'après Nnolim et al. [50], qui ont observé que la dégradation de plume de poulet a été complètement achevée après 96 h d'incubation à 25 °C (**Figure 22**).

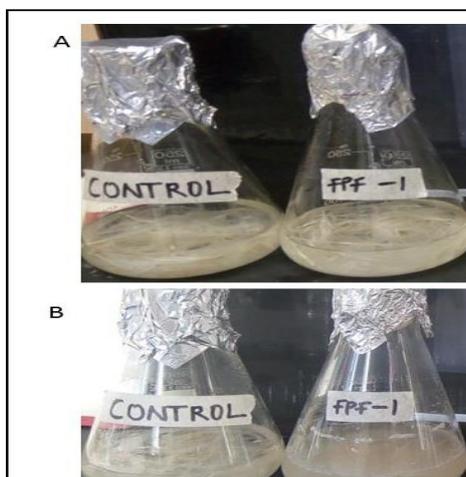


Figure 22 : Biodégradation de plume de poulet par *Bacillus sp.* FPF-1.

A). plume de poulet à Temps 0, B). Plume de poulet après 96 h d'incubation [50].

V. 7. Souche *Streptomyces sp.* AB1 :

Selon l'étude de jaouadi et al. [20], qui portait sur l'isolement protéinase alcaline kératolytique (KERAB) de la souche *Streptomyces sp.* AB1 et d'après une incubation de plume avec la souche AB1 pendant 72h à 30 °C sous agitation dans un sel minéral moyen. Ils ont montré les résultats suivants :

- ✓ Une activité intense de dégradation des plumes a été obtenue à 30 °C et un pH initial de 9, la dégradation a été réalisée (une plume presque complète) y compris le délaminage du rachis.
- ✓ D'après l'incubation de KERAB avec les plumes, une dégradation totale a été observée après 24 h avec une augmentation simultanée de la concentration en protéines et formation de groupes sulfhydryle [20].

V. 8. Souche d'*Actinomyète thermophile* Cpt29 :

Habbeche et al [51], ils ont montré les résultats suivants :

- ✓ La souche Cpt29 était capable de croître après 72 h de culture dans un milieu de sel minéral contenant 40 g / l de plumes de poulet intactes au lieu de 15 g / l de farine de plumes (**Figure 23**).
- ✓ Une activité intense de dégradation des plumes a été obtenue à 45°C et un pH initial de 9, la dégradation a été réalisée (une plume presque complète) y compris le délaminage du rachis.
- ✓ Augmentation de la concentration de protéines et de la formation de groupes sulfhydryle, suivi d'une activité de réduction des liaisons disulfure plus élevée [51].



Figure 23 : Dégradation de la kératine (plume) par la souche Cpt29 d'A.

Keratinolytica Les plumes ont été incubées pendant 72 h à 45 °C sous agitation [51].

V. 9. Souche *Bacillus licheniformis* ALW1 :

Selon l'étude Azza M et al. [52], Après l'incubation de 24h avec PH 8 la dégradation des plumes est très efficace, avec utilisation de la température à 50 °C Pour endommager les plumes (**Figure 24**).

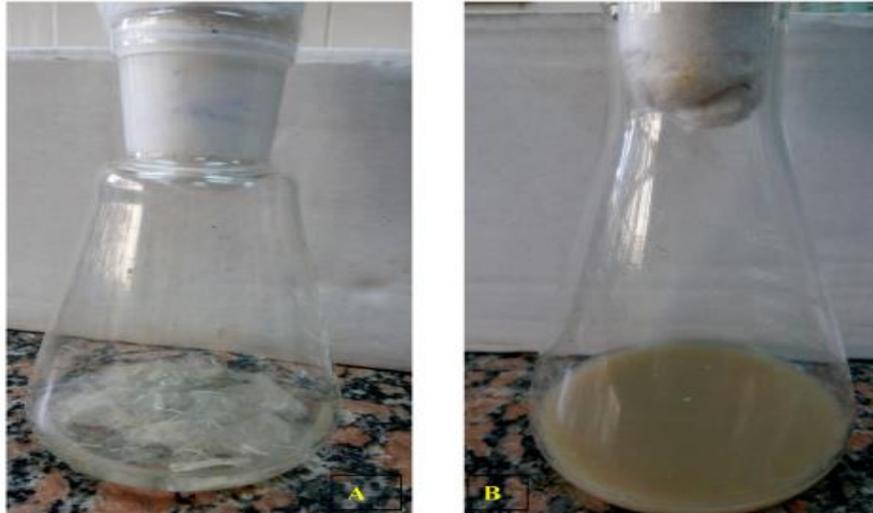


Figure24 : La capacité de *B. licheniformis* ALW1 à hydrolyser la plume dans le milieu optimisé A) plume à Temps 0, B) plume après 24 h d'incubation [52].

V. 10. *Elizabethkingia meningoseptica* KB042 :

Selon l'étude de Swetlana et al. [53], après l'incubation de 6 jours avec pH 7 à 37°C, sous agitation de 150 tr / min, la dégradation des plumes était très efficace. En outre, l'hydrolysat s'est avéré riche en amines essentielles (valine, tryptophane, thréonine, lysine et cystéine) en plus d'une petite quantité de méthionine et d'arginine [53].

Dans le tableau qui suit, nous comparons les conditions de culture de la dégradation de la kératine par les différentes souches étudiées par beaucoup d'importance sur l'activité kératinolytique, critère de choix en application industrielle.

Tableau 8 : Dégradation bactériennes de la plume de volaille et de la production de kératinase.

| Micro-organisme | Température (°C) | pH | Activité kératinase | Temps (h) | Références |
|---|------------------|------|---------------------|-----------|------------|
| <i>Bacillus sp.</i> MBRL 575 | 30 | – | 305 ± 12 U/ml | 48 | [45] |
| <i>Bacillus sp.</i> JB 99 | 45 | 10 | 52,6 ± 1 µg/ml/ min | 36 | [46] |
| <i>Bacillus safensis</i> LAU | 30 | 7,5 | 108.5 U/ml | 120 | [47] |
| <i>Bacillus cereus</i> SKH1 | 35 | 8 | 17.12 U/ml | 72 | [48] |
| <i>Bacillus subtilis</i> AMR | 28 | 8 | 350 – 400 U/ml | 120 | [49] |
| <i>Bacillus sp.</i> FPF-1 | 25 | 8.09 | 440.01 ± 20,5 U/ml | 96 | [50] |
| <i>Streptomyces sp.</i> AB1 | 30 | 9 | 550 U/ml | 72 | [20] |
| <i>Actinomycète thermophile</i> Cpt29 | 45 | 9 | 24 U/ml | 72 | [51] |
| <i>Bacillus licheniformis</i> ALW1 | 50 | 8 | 25,3 U/ml | 24 | [52] |
| <i>Elizabethkingia meningoseptica</i> KB042 | 37 | 7 | 82,50 ± 0.3 U/ml | 144 | [53] |

VI. L'hydrolysat de kératine :

L'hydrolysat de kératine des plumes brute a été obtenu par centrifugation pendant 20 min à 2000 g [54].

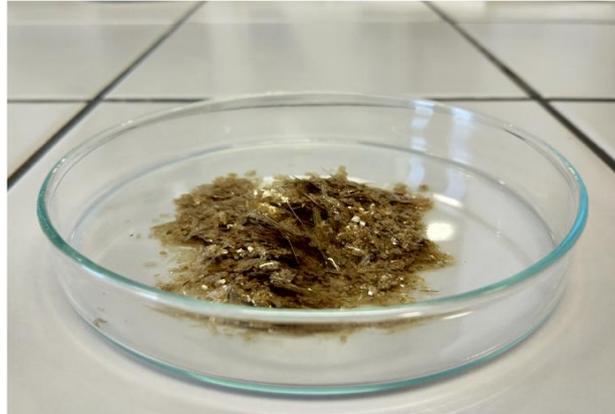


Figure 25 : Image représentative de l'hydrolysat de kératine [54].

VI. 1. Caractérisation de la kératinase :

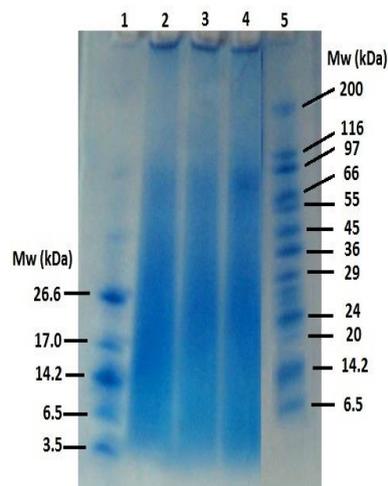


Figure 26 : SDS-PAGE de l'hydrolysat de kératine et des standards protéiques [50].

Selon (**figure 26**) on remarque :

- ✓ Piste 1 : marquer de poids moléculaire à plage ultra-basse (3,5 – 26,6 kDa).
- ✓ Les voies 2, 3 et 4 : hydrolysats de kératine préparés en 3 lots. 120 µg de KH remis en suspension dans 20 µL de tampon de chargement ont été chargés dans chaque puits.
- ✓ Voie 5 : large marquer de poids moléculaire de plage (6,5 – 200 kDa).

Les hydrolysats de kératine obtenus enzymatique-ment sont des peptides de masse moléculaire de 800 à 1079 Daltons et l'hydrolysat commercial était de l'ordre de 900 à 1400 Daltons [49].

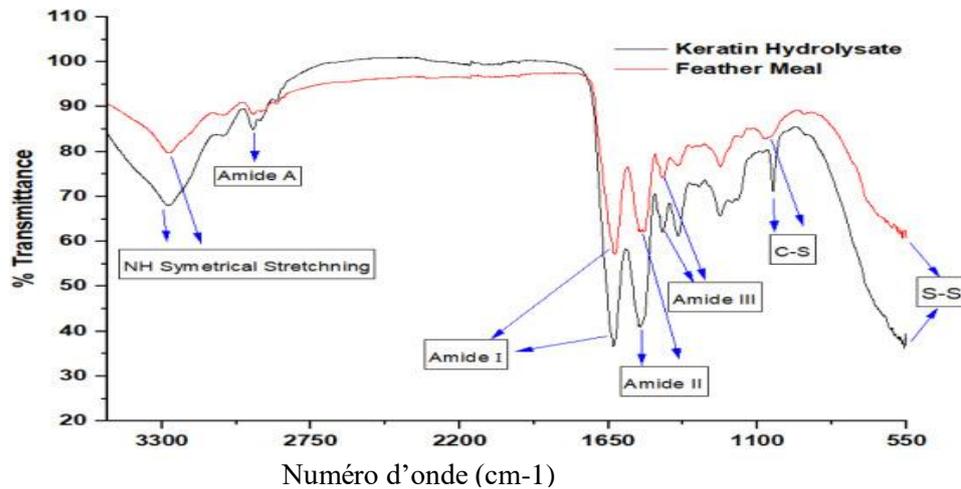


Figure 27 : Spectre IRTF de l'hydrolysate de kératine comparé à celui de la farine de plumes [50].

Le nombre de longueur d'onde allant de 4000 à 550 cm^{-1} . Ces bandes sont utilisées pour confirmer la présence de la matière protéique. Donc :

- Les fortes bandes de transmission dans la région (1700cm^{-1} à 1600cm^{-1}) correspondent à l'amide I.
- Les bandes de transmission dans la région (1600cm^{-1} à 1480cm^{-1}) correspondent à l'amide II.
- Les bandes faibles dans la région (1210cm^{-1} à 1300cm^{-1}) correspondent à l'amide III.
- Une large bande de transmission dans la région (3500cm^{-1} à 3200cm^{-1}) correspond à l'amide A.

Conclusion :

En raison d'une mauvaise gestion, les déchets de volaille en particulier les plumes sont devenus l'un des principaux polluants. La biodégradation des plumes est une méthode efficace et respectueuse de l'environnement pour la bioconversion des déchets des plumes en produits utiles.

L'utilisation des micro-organismes kératolytiques pour dégrader la plume de volaille s'est imposée comme un outil durable et alternatif pour y répondre défi.

L'hydrolyse enzymatique est une méthode applications biotechnologiques dans l'industrie cosmétique, compte tenue respectueuse de l'environnement sur durabilité et dans le biotransformation d'une biomasse riche en protéines.

La production bactérienne de kératinase peut être un important agent d'épilation qui n'a présenté aucun effet néfaste sur la peau, alors que les produits chimique ont causé des effets nocifs. Ainsi, les déchets de volaille proposée l'enzyme kératinase dégradant fournit une meilleure épilation que les produits chimiques. De plus, l'épilation enzymatique minimise la dépendance sur les produits chimiques nocifs (sulfure et chaux ...etc.) pour sauver la santé humaine.

Références bibliographiques

- [1] Brandelli A., Daroit D. J, Riffel A. Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications Appl Microbiol Biotechnol 2010 Feb;85(6):1735-50. doi: 10.1007/s00253-009-2398-5.
- [2] Mariana C. ; Diana C. ; Elvira A. ; Iuliana R. ; Mihaela B. D. ; Arsence M. L. ; Florin O. ; Luiza J. ; Veronica L. ; Degradation of keratin substrates by keratinolytic fungi / Electronic Journal of Biotechnology 28 (2017) 101–112
- [3] Rai, A., Kulshreshtha, K., Srivastava, P. K., Mohanty, C. S., 2010. Leaf surface structure alterations due to particulate pollution in some common plants. Environmentalist 30:18–23.
- [4] Gupta M.R, Ramnani P (2006) Microbial keratinases and their prospective applications: an overview. Appl Microbiol Biotechnol 70:21–33
- [5] Chhimpa, S., Shekhar Yadav, C., John, P.J. (2016). Isolation and identification of keratin degrading (keratinolytic) bacteria from poultry feather dumping sites. J Biodiver Enviro Sci., 8(6): 109- 119.
- [6] Cedrola S. M. L ; Nogueira de Melo A ; Mazotto A ; Lins U ; Zingali R.B ; Alexandre Soares Rosado A.S ; Peixoto R.S ; Vermelho A.B ; Keratinases and sulfide from Bacillus subtilis SLC to recycle feather waste World J Microbiol Biotechnol (2012) 28:1259–1269
- [7] Laba T. L ; Brien J. ; Arlene Fransen A ; Stephen J. Patient preferences for adherence to treatment for osteoarthritis: the MEDication Decisions in Osteoarthritis Study (MEDOS) BMC Musculoskeletal Disorders 2013, 14:160 <http://www.biomedcentral.com/1471-2474/14/160>.
- [8] Sivakumar N. ; Raveendran S. Keratin degradation by bacteria and fungi isolated from a poultry farm and plumage British Poultry Science, 2015 Vol. 56, No. 2, 210–217, <http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2014.996119>
- [9] Mathieu D. 2005. Etude de la production des protéases alcalines par Bacillus licheniformis en utilisant des boues d'épuration municipales comme substrat Mémoire de Métrise. INRS-Eau Université du Québec, Canada.

- [10] Mala B. R., Tanksale A. M., Mohini S. Gh. and Vasanti V. D. 1988 Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases Microbiol Mol Biol Rev.
- [11] Wellington C. A. do Nascimento; Meire L. L. M. 2004. Production and properties of an extracellular protease from thermophilic Bacillus sp. Braz J Microbiol.
- [12] Université d'Angers. Biochimie (les Protéases).France Adresse URL : <http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/7RelStructFonction/6Proteases/2Proteases/1Proteases.htm>
- [13] HABBECHÉ A. ; Purification et caractérisation d'une kératinase thermostable KERAK-29 chez une nouvelle souche d'ActinomycèteThèse de Doctorat LMD (3ème Cycle) Université Badji Mokhtar Annaba
- [14] Nardello-Rataj V., Ho Tan Tai L., Aubry J.M. **2003**. Les lessives en poudre: Un siècle d'innovations pour éliminer les taches
- [15] Singh, S., Bajaj, B.K. Potential application spectrum of microbial proteases for clean and green industrial production. *Energ. Ecol. Environ.* **2**, 370–386 (2017). <https://doi.org/10.1007/s40974-017-0076-5>
- [16] Suh K. Y.; Kim Y. S.; Lee H. H.; Capillary Force Lithography [https://doi.org/10.1002/1521-4095\(200109\)13:18<1386::AID-ADMA1386>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/1521-4095(200109)13:18<1386::AID-ADMA1386>3.0.CO;2-X)
- [17] Université d'Angers. Biochimie (Position des ponts disulfures dans un peptide).France Adresse <http://biochimej.univangers.fr/Page2/TexteTD/7ModuleS6BG3/ZSuite/7PositionPontDiul/1PosPontDisul.htm>
- [18] Essien J. P ; Umoh A. A ; Akpan E. J ; Eduok S. I. and Umoyoho A. ; Growth, keratinolytic proteinase activity and thermotolerance of dermatophytes associated with alopecia in uyo, Nigeria Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 56 (1), pp. 61–69 (2009) DOI: 10.1556/AMicr.56.2009.1.4
- [19] Wang X. ; Xu H. ; Ju D. and Xie Y. Disruption of Rpn4-Induced Proteasome Expression in Saccharomyces cerevisiae Reduces Cell Viability Under Stressed Conditions Copyright 2008 by the Genetics Society of America DOI: 10.1534/genetics.108.094524

- [20] Jaouadi B ; Badis A., Fodil Dj, Ferradji F. Z. ; Rekik H., Zaraî N. ; Bejar S. Purification and characterization of a thermostable keratinolytic serine alkaline proteinase from *Streptomyces* sp. strain AB1 with high stability in organic solvents *Bioresource Technology*
- [21] Sharma R. et Devi S. ;Versatility and commercial status of microbial keratinases a review. *Rev Environnement Science Biotechnol* 17, 19–45 (2018). <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9454-x>
- [22] Chitte R.R. and Dey S. ; Potent fibrinolytic enzyme from a thermophilic *Streptomyces megasporus* strain SD5. *Letters in Applied Microbiology* 2000, 31, 405–410
- [23] Nam S, Jin YH, Li QL, Lee KY, Jeong GB, Ito Y, Lee J, & Bae SC (2002). Expression pattern, regulation, and biological role of runt domain transcription factor, runt, in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Cell Biol*, 22, 547–554. doi:10.1128/MCB.22.2.547-554.2002
- [24] Mokrejš, P., Huřta, M., Pavlačková, J., Egner, P. Preparation of Keratin Hydrolysate from Chicken Feathers and Its Application in Cosmetics. *J. Vis. Exp.* (129), e56254, doi:10.3791/56254 (2017).
- [25] Selvam K, Vishnupriya B (2012) Biochemical and molecular characterization of microbial keratinase and its remarkable applications. *Int J Pharm Biol Arch* 3(2):267–275
- [26] Vidmar B. and Vodovnik M. Microbial Keratinases: Enzymes with Promising Biotechnological Applications *Food Technol Biotechnol*. 2018 Sep
- [27] Jillian G. Rouse and Mark E. Van Dyke A Review of Keratin-Based Biomaterials for Biomedical Applications *Materials* 2010, 3, 999-1014; doi:10.3390/ma3020999 www.mdpi.com/journal/materials
- [28] Hassan, Mohamed A et al. “Production and characterization of keratinolytic protease from new wool-degrading *Bacillus* species isolated from Egyptian ecosystem.” *BioMed research international* vol. 2013 (2013): 175012. doi:10.1155/2013/175012.
- [29] J. A. SCOTT*,§ & W. A. UNTEREINER Determination of keratin degradation by fungi using keratin azure 15

- [30] Jacques C. (2003). Etude de la valorisation des déchets d'origine kératinique par voie thermo-mécano-chimique en vue de l'obtention de filaments continus : cas spécifique de la laine. Thèse de doctorat en Sciences des Agroressources. Toulouse, L'institut national polytechnique de Toulouse.
- [31] Robert D., Vian B, élément de biologie cellulaire, sciences de la vie 3^e édition
- [32] Li Q (2019) Progress in Microbial Degradation of Feather Waste. *Front. Microbiol.* 10:2717. doi: 10.3389/fmicb.2019.02717
- [33] Bin Wang, Wen Yang, Joanna McKittrick, Marc André Meyers Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration Progress in Materials Science
- [34] Tarun K. K., Sharma A., Sharma V. and Chandra S. ; Keratin Waste: The Biodegradable Polymers
- [35] Service économie ITAVI, Novembre 2017. Situation du marché des volailles de chair
- [36] Kaci A. La filière avicole algérienne à l'ère de la libéralisation économique Cah Agric, vol. 24, n8 3, mai-juin 2015 <http://dx.doi.org/10.1684/agr.2015.0751>
- [37] Nouad M.A., M. (2011). Étude technico-économique de projets de valorisation/gestion de déchets liés à la filière avicole en Algérie. Gtz-REME 26
- [38] Belarmino D., Ladchumananandasivam R., Belarmino L., Pimentel J., da Rocha B., Galvão A. and Andrade S., "Physical and Morphological Structure of Chicken Feathers (Keratin Biofiber) in Natural, Chemically and Thermally Modified Forms," *Materials Sciences and Applications*, Vol. 3 No. 12, 2012, pp. 887-893. doi: [10.4236/msa.2012.312129](https://doi.org/10.4236/msa.2012.312129)
- [39] Godheja J, Shekhar SK (2014) Biodegradation of Keratin from Chicken Feathers by Fungal Species as a Means of Sustainable Development. *J Bioremed Biodeg* 5:232 doi:10.4172/2155-6199.1000232
- [40] Kannappan, S., baahrathi, D. technology and management. Exploration on amino acid content and morphological structure in chicken feather fiber. *Journal of Textile and Apparel*. (2012)

[41] Boucherba N. Valorisation des résidus agro-industriels Université Abderrahmane Mira de Béjaïa Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie 2014 /2015

[42] Mehwish I, Javed I Q, Nudrat B, Saima SH M, Roheena A, Afshan K, Shagufta N, Bioconversion of agro-industrial feather waste utilizing thermophilic *Bacillus megatarium* D1. Romanian Biotechnological Letters, Vol. 22, No. 1,(2017) 12239

[43] Imania G, Aqsa I, Ali H, Arshad J, Faiza J, Muhammad A, Javad I Q, (2018) microbial production and industrial applications of keratinases : an overview. Int microbial 21 :163-174

[44] Kidus T W, Surafel M B, Subramanian B et Habatamu A, Chicken Feathers Based Keratin Extraction Process Data Analysis Using Response Surface-Box-Behnken Design Method and Characterization of Keratin Product. Current Applied Science and Technology Vol. 20 No. 2 (May-August 2020).

[45] Pintubala K, Debananda S. N, Keratinolytic activities of alkaliphilic *Bacillus sp.* MBRL 575 from a novel habitat, limestone deposit site in Manipur, India. Kshetri and Ningthoujam SpringerPlus (2016) 5:595

[46] Pushpalata S K, G R Naik (2010) production and characterization of feather degrading keratinase from *Bacillus sp.* JB 99. Indian Journal of Biotechnology Vol 9, October 2010, pp 384-390

[47] Agbaje L, Isiaka A A, et Evariste B Gueguim-Kanac, *Bacillus safensis* LAU 13: a new source of keratinase and its multi-functional biocatalytic applications Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2015 Vol. 29, No. 1, 54_63, <http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2014.98636>

[48] Khodayari S, Kafilzadeh F (2018) Separating Keratinase Producer Bacteria from the Soil of Poultry Farms and Optimization of the Conditions for Maximum Enzyme Production. Eur Exp Biol Vol. 8 No. 6:35.

[49] Villa A, Márcia R S A, Elisabete P d S, Mazotto A M, Russolina B Z, Edilma P and Alane B V, Feather keratin hydrolysates obtained from microbial keratinases: effect on hair fiber BMC Biotechnology 2013, 13:15 <http://www.biomedcentral.com/1472-6750/13/15>

- [50] Nonso E. N, Anthony I. O et Uchechukwu U. N. *Bacillus* sp. FPF-1 Produced Keratinase with High Potential for Chicken Feather Degradation. *Molecules* **2020**, *25*, 1505, www.mdpi.com/journal/molecules
- [51] Habbeche A., Saoudi B. ; Jaouadi B. Haberra S. ; Kerouaz B., Boudelaa M. Badis A. ; and Ladjama A., Purification and biochemical characterization of a detergent-stable keratinase from a newly thermophilic actinomycete *Actinomadura keratinilytica* strain Cpt29 isolated from poultry compost, 2013
- [52] Azza M. A., Mamdouh S. E., Siham A. Ismail, Emran M. A. ; Hashem A. M. Biodegradation of feather waste by keratinase produced from newly isolated *Bacillus licheniformis* ALW1, 2018
- [53] Swetlana Nagal · P. C. Jain Production of feather hydrolysate by *Elizabethkingia meningoseptica* KB042 (MTCC 8360) in submerged fermentation, 2010
- [54] Olajumoke D. F, Bruce S, Tamrat T, Optimization of keratin protein extraction from waste chicken feathers using hybrid pre-treatment. *Sustainable chemistry and pharmacy* vol 17 (2020) 100267.