

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Saad Dahlab Blida 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : BIOCHIMIE

Thème :

Etude des profils enzymatiques d'une collection de
souches bactériennes pour des perspectives
d'applications en biotechnologies, environnement et
santé.

Présenté par :

Soutenu le : **07/07/2025**

BOULNADJAT Meriem

DENDANI Randa

Devant le Jury :

Mme SAIDI F.

Professeur/USDB1

Présidente

Mme TALEB M.

MCA/USDB1

Examinatrice

Mme TOBAL S.

MAA/USDB1

Promotrice

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous souhaitons adresser nos sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury, qui nous ont fait l'honneur d'évaluer notre travail de fin d'études.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre promotrice, Madame **TOBAL SEGHIR**, pour son accompagnement offert tout au long de cette recherche, pour sa transmission du savoir, sa rigueur scientifique, ses conseils avisés et sa confiance ont été essentiels à la réalisation de ce mémoire. Sa patience et son soutien tant humain que scientifique, ont été pour nous d'un grand réconfort et d'une aide précieuse.

Nous remercions chaleureusement **Madame SAIDI F.** présidente du jury, pour sa disponibilité, son écoute attentive et l'intérêt accordé à notre travail.

Nos remerciements vont également à **Madame TALEB M.** qui nous a fait l'honneur de participer à cette soutenance, en partageant ses remarques constructives et sa bienveillance.

Enfin, Nous tenons à remercier toutes celles et ceux qui ont contribué, directement ou indirectement, à la réalisation de ce mémoire.

Alhamdulillah, first and foremost, for allowing me to reach this day, a day I have been working toward with hope, effort, and patience. I am grateful for myself to have had the strength and health to complete this journey and to see this work come to life after months and years of dedication.

This project is the result of hard work, patience and persistence, and I was fortunate to share this experience with my dear teammate. **Meriem**, thank you for walking alongside me from day one, for your commitment, and your trust throughout this process.

I would like to express my deepest gratitude to my **parents**. After Allah, the most graceful, your sacrifices, prayers, and encouragement have always been my source of strength. Thank you for pushing me to make my dreams come true, and reach this point.

To my dear sisters, **Imene, Sara, and Roumaïssa**, thank you for always being there with your kindness, advice, and presence. You have been a blessing, a constant support and motivation for me as your younger sister.

To my sweet nieces, **Neïla and Eline**, thank you for being a true source of joy in my life. Your smiles and innocence helped me more than you know during these days that sometimes have been stressful.

To **Mimi and Popsi**, that have been my comfort, especially in the moments when I needed peace the most.

To my **friends**, thank you for the laughter, and mutual support. This journey would have been much harder without you.

For the teachers and professor, Mme **BOUDOUR**, Mr. **MAHFOUDI**, and mostly our supervisor Mme **TOBAL**, thank you for believing in me since day one.

This thesis is more than just a requirement. It is the closing of an important chapter in my life. I will always look back at this time with gratitude for the people who stood by me, believed in me, and made this journey possible. For everyone that supported me in a way or another.

Thank you

Randa.

Avant tout, je remercie **Dieu** de m'avoir accordé la santé, la patience et la détermination nécessaires pour avancer, même dans les moments de stress, de doute et de fatigue.

À ma chère binôme, **Randa**, ton soutien, ta bienveillance et ta complicité ont illuminé ce parcours et l'ont rendu inoubliable.

À mes **parents**, Merci du fond du cœur. Votre amour, vos sacrifices et vos encouragements constants ont été le socle de tout ce que j'ai pu accomplir. Aucun mot ne suffira jamais à exprimer toute ma reconnaissance.

À ma chère sœur **Asmaa** et mon cher frère **Alaeddine** votre soutien et votre présence m'ont toujours réconfortée et motivée. Merci d'avoir été là, chacun à votre manière.

A ma **famille**, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son support et amour ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Aussi à mes **amis** qui m'ont permis d'oublier les moments de stress et de découragement.

Un grand merci à notre encadrante, madame **TOBAL**, pour son soutien constant et la confiance qu'elle nous a accordée du début à la fin de ce projet.

Ce projet représente bien plus que la fin de nos études, il reflète tout ce que nous avons appris, traversé et accompli. Je suis fière de ce que nous avons réalisé, et reconnaissante envers tous ceux qui ont contribué à ce chemin.

Merci à vous tous.

Meriem.

Résumé

Ce travail vise à explorer et à valoriser la fraction microscopique de bioressources aquatiques locales à travers la recherche d'activités enzymatiques d'intérêt en biotechnologies, environnement et santé. Une collection de souches bactériennes, préalablement isolées et purifiées, a été examinée pour la production de neuf enzymes cibles, à savoir: l'amylase, la caséinase, l'esterase, la gélatinase, la lécithinase, la lipase, la lipoprotéinase, la pectinase et la xanthanase.

Les activités enzymatiques ont été évaluées à l'aide de méthodes microbiologiques classiques. Les souches ont étéensemencées sur des milieux solides spécifiques, préparés par nos soins à base des substrats correspondant à chaque enzyme recherchée.

Les résultats révèlent que **73,68 %** des souches possèdent une activité caséinase, suivie par l'esterase (**57,89 %**) et la lipase (**36,84 %**). L'amylase est exprimée par **34,21 %** des souches, tandis que la pectinase et la gélatinase sont détectées respectivement chez **26,31 %** et **23,68 %** des souches. Les activités xanthanase (**13,16 %**) et lécithinase (**5,26 %**) sont moins fréquentes, et la lipoprotéinase est l'enzyme la moins représentée, avec seulement **2.63 %** des souches positives.

Sur un total de **38** souches bactériennes, **65,79 %** sont des souches présentant un profil enzymatique restreint, avec une à trois activités enzymatiques. Seulement **10,53 %** sont polyvalentes avec un profil enzymatique élargi, présentant cinq à six activités enzymatiques.

Ces résultats suggèrent que cette collection bactérienne possède un potentiel enzymatique notable, justifiant des études approfondies en vue de sa valorisation dans diverses applications industrielles.

Mots clés : Enzymes, bactéries hydriques, criblage enzymatique, bioressources, micro-organismes, biotechnologies, environnement, santé.

Abstract

This study aims to explore and valorize the microscopic fraction of local aquatic bioresources through the investigation of enzymatic activities of interest in the fields of biotechnology, environmental science, and health. A collection of bacterial strains, previously isolated and purified, was examined for the production of nine target enzymes, namely: amylase, caseinase, esterase, gelatinase, lecithinase, lipase, lipoproteinase, pectinase, and xanthanase.

Enzymatic activities were assessed using conventional microbiological methods. The strains were inoculated onto specific solid media, prepared in-house with substrates corresponding to each targeted enzyme.

The results reveal that **73,68 %** of the strains exhibit caseinase activity, followed by esterase (**57,89 %**) and lipase (**36,84 %**). Amylase is expressed by **34,21 %** of the strains, while pectinase and gelatinase activities are detected in **26,31 %** and **23,68 %** of the strains, respectively. Xanthanase (**13,16 %**) and lecithinase (**5,26 %**) activities are less frequent, and lipoproteinase is the least represented enzyme, detected in only **2,63 %** of the strains.

Out of a total of **38** bacterial strains, **65,79 %** exhibit a restricted enzymatic profile, with only one to three enzymatic activities. In contrast, only **10,53 %** are considered versatile, displaying an expanded enzymatic profile with five to six enzymatic activities.

These findings suggest that this bacterial collection holds significant enzymatic potential, warranting further in-depth studies for its valorization in various industrial applications.

Keywords: Enzymes, waterborne bacteria, enzymatic screening, bioresources, microorganisms, biotechnology, environment, health.

ملخص

هدف هذا العمل إلى استكشاف وتأمين الكسر المجهرى للموارد البيولوجية المائية المحلية من خلال البحث عن أنشطة إنزيمية ذات أهمية في مجالات التكنولوجيا الحيوية، البيئة، والصحة. وقد تم فحص مجموعة من السلالات البكتيرية، التي عُزلت وثُقيت مسبقاً، من أجل إنتاج تسعة إنزيمات مستهدفة، وهي: الأميلاز، الكازيناز، الإستيراز، الجيلاتيناز، الليسيثيناز، الليباز، الليبوبروتيناز، البكتيناز، والزانثاناز.

تم تقييم الأنشطة الإنزيمية باستخدام طرق ميكروبيولوجية تقليدية. حيث تم تلقيح السلالات على أوساط صلبة خاصة، أعدت داخلياً باستخدام ركائز تتوافق مع كل إنزيم مستهدف.

تكشف النتائج أن 73,68% من السلالات تُظهر نشاط الكازيناز، تليها الإستيراز (57,89 %) ثم الليباز (36,84 %). ويُعبّر عن الأميلاز في 34,21 % من السلالات، في حين تم الكشف عن نشاطي البكتيناز والجلياتيناز في 26,31 % و 23,68 % من السلالات على التوالي. وتُعد أنشطة الزانثاناز (13,16 %) والليسيثيناز (5,26 %) أقل شيوعاً، بينما يُعتبر الليبوبروتيناز الإنزيم الأقل تمثيلاً، حيث لم يُرصد إلا في 2.63 % فقط من السلالات الإيجابية.

من بين مجموع 38 سلالة بكتيرية، تبين أن 65,79 % منها تتمتع بملف إنزيمي محدود، حيث تظهر نشاطاً إنزيمياً يتراوح بين نشاط واحد إلى ثلاثة فقط. في المقابل، تمثل السلالات متعددة الوظائف نسبة 10,53 % فقط، حيث تُظهر ملفاً إنزيمياً موسعاً يحتوي على خمسة إلى ستة أنشطة إنزيمية.

تشير هذه النتائج إلى أن هذه المجموعة البكتيرية تمتلك قدرة إنزيمية ملحوظة، مما يبرر إجراء دراسات معمقة تهدف إلى تمييزها في مختلف التطبيقات الصناعية.

الكلمات المفتاحية: إنزيمات، بكتيريا مائية، كشف إنزيمي، مصادر طبيعية، كائنات مجهرية، تكنولوجيا حيوية، بيئة، صحة.

Liste des tableaux

Tableau I: Principales classes d'enzymes et leurs réactions.....	4
Tableau II: Souche ayant exprimé 6 activités enzymatiques.....	42
Tableau III: Souches ayant exprimé 5 activités enzymatiques.....	43
Tableau IV: Souches ayant exprimé 4 activités enzymatiques.	44
Tableau V: Souches ayant exprimé 3 activités enzymatiques.....	45
Tableau VI: Souches ayant exprimé 2 activités enzymatiques.....	47
Tableau VII: Substrats enzymatiques.....	59
Tableau VIII: Résultats des activités : Amylase, caséinase, estérase, lécithinase, lipase, lipoprotéinase, pectinase et xanthanase.	64

Liste des figures

Figure 1: Mode opératoire pour la recherche d'une amylase.	11
Figure 2: Révélation de l'activité amylolytique.	12
Figure 3: Mode opératoire pour la recherche d'une caséinase.....	13
Figure 4: Lecture de l'activité caséinasique.....	14
Figure 5: Mode opératoire pour la recherche d'une estérase.....	15
Figure 6: Lecture de l'activité estérasique.	15
Figure 7: Mode opératoire pour la recherche d'une gélatinase.....	16
Figure 8: Lecture de l'activité gélatinasiq.	17
Figure 9: Mode opératoire pour la recherche d'une lécithinase, une lipase et une lipoprotéinase.	18
Figure 10: Lecture de l'activité lécithinasique.....	19
Figure 11: Lecture de l'activité lipasique.	19
Figure 12: Lecture de l'activité lipoprotéinasique.	19
Figure 13: Mode opératoire pour la recherche d'une pectinase.....	20
Figure 14: Révélation de l'activité pectinolytique.	21
Figure 15: Mode opératoire pour la recherche d'une xanthanase.	22
Figure 16: Révélation de l'activité xanthanase.	23
Figure 17: Nombre de souches bactériennes exprimant des activités enzymatiques.	25
Figure 18: Fréquence des activités enzymatiques au sein de la collection de souches bactériennes.....	26
Figure 19 : Résultat de l'activité caséinase observée chez les souches S13 et S19.....	27
Figure 20: Diamètres des zones d'activité caséinase chez la collection de souches bactériennes.	28
Figure 21: Résultat de l'hydrolyse de l'amylase par les souches S09, S19, S24, S25.....	29
Figure 22: Diamètres des zones d'activité amylolytique chez la collection de souches bactériennes.....	30
Figure 23: Distribution des souches bactériennes selon leur niveau d'activité gélatinasiq.	31
Figure 24: Résultats d'hydrolyse de la gélatine par les souches S15, S16 et S37 après 7 J.	32
Figure 25 : Résultat des activités lipolytiques des souches S10, S14, S15, S18, S20, S23, S24, S25, S26, S29 et S30.	33
Figure 26: Diamètres des zones d'activités lipolytiques chez la collection de souches bactériennes.....	33

Figure 27: Résultat de la dégradation de Tween 80 par la souche S28	36
Figure 28: Diamètres des zones des activités estérasiques exprimées par souches bactériennes étudiées.	37
Figure 29: Résultat de l'hydrolyse de la pectine par les souches S08 et S12	38
Figure 30: Diamètres des zones des activités pectinolytiques chez les souches pectinase positives.	38
Figure 31: Résultat de l'hydrolyse de xanthane par la souche S22	40
Figure 32: Diamètres des zones de dégradation du xanthane par les souches xanthanase positives.	40
Figure 33: Répartition des souches en fonction du nombre d'activités enzymatiques détectées.	42
Figure 34: Résultats d'activité d'activité caséinase des souches bactériennes.	65
Figure 35: Résultats d'activité d'activité estérase des souches bactériennes	66
Figure 36: Résultats d'activité d'activité xanthanase des souches bactériennes	67
Figure 37: Résultats d'activité d'activité amylase des souches bactériennes	67
Figure 38: Résultats d'activité d'activité pectinase des souches bactériennes	68
Figure 39: Résultats des activités lipolytiques des souches bactériennes.....	68
Figure 40: Résultats d'activité gélatinase des souches bactériennes.	69
Figure 41: Résultats d'hydrolyse de la gélatine par les souches S12 , S13 , S28 et S37 après 3 J	70

Liste des abréviations

- % : Pourcentage
- °C : Degré Celsius
- **ADP** : Adénosine Diphosphate
- **ATP** : Adénosine Triphosphate
- **CAGR** : Compound Annual Growth Rate
- **cm** : Centimètre
- **EC** : Enzymes Commission
- **g** : gramme
- **g/l** : gramme par litre
- **GN** : gélose nutritive
- **h** : Heures
- **J** : Jours
- **M** : Molaire
- **ml** : Millilitre
- **NaCl** : Chlorure de Sodium
- **NC-IUBMB** : Comité de Nomenclature de l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire
- **PDB ID** : Protein Data Bank Identifier
- **S** : Souche
- **Sp** : Species
- **T** : Témoin
- **Tween 80** : Polysorbate 80
- **UHT** : Ultra Haute Température

Sommaire

Introduction.....1

I. Rappel bibliographique 3

I.1. Les enzymes3

I.1.1. Définition3

I.1.2. Structure des enzymes.....3

I.1.3. Classification des enzymes.....4

I.1.4. Origine des enzymes5

I.2. Applications biotechnologiques des enzymes microbiennes5

I.2.1. Les protéases5

I.2.2. Enzymes lipolytiques6

I.2.2.1. Les lipases6

I.2.2.2. Les estérases6

I.2.3. Les amylases.....7

I.2.4. Les gélatinase7

I.2.5. Les pectinases8

I.2.6. Les xanthanases8

II. Matériel et méthodes..... 10

II.1. Matériel10

II.1.1. Matériel biologique.....10

II.1.1.1. Souches bactériennes10

II.1.1.2. Substrats enzymatiques10

II.1.2. Matériel non biologique10

II.2. Méthodes10

II.2.1. Recherche d'activités enzymatiques10

II.2.1.1. Recherche d'une amylase.....11

II.2.1.2. Recherche d'une caséinase.....12

II.2.1.3. Recherche d'une estérase14

II.2.1.4. Recherche d'une gélatinase16

II.2.1.5. Recherche d'une lécithinase, une lipase et une lipoprotéinase17

II.2.1.6. Recherche d'une pectinase.....20

II.2.1.7. Recherche d'une xanthanase21

III. Résultats et discussion.....24

III.1. Recherche d'activités enzymatiques24

III.1.1. Recherche d'une caséinase.....27

III.1.2. Recherche d'une amylase.....	29
III.1.3. Recherche d'une gélatinase	31
III.1.4. Recherche d'activités lipolytiques	32
III.1.4.1. Recherche d'une Lécithinase	34
III.1.4.2. Recherche d'une Lipase	34
III.1.4.3. Recherche d'une lipoprotéinase	35
III.1.5. Recherche d'une estérase	35
III.1.6. Recherche d'une pectinase	37
III.1.7. Recherche d'une xanthanase	39
III.2. Profils enzymatiques	42
Conclusion.....	47
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Les écosystèmes aquatiques constituent l'habitat de différents micro-organismes aux caractéristiques multiples. Comparés aux micro-organismes terrestres, ils représentent un réservoir énorme de composés bioactifs, loin d'être complètement exploré (**Maldonado-Ruiz et al., 2024**). Ces micro-organismes hydriques sont une source importante d'enzymes, dont beaucoup présentent une activité hydrolytique déjà valorisée industriellement (**Sharma et al., 2025 ; Alves et al., 2014**).

Les bactéries d'origine aquatique ont suscité un intérêt croissant en raison de la diversité des enzymes qu'elles produisent. Nombreuses sont celles qui libèrent des enzymes extracellulaires permettant l'hydrolyse de matières organiques complexes, ce qui les rend intéressantes pour divers domaines tels que la bioremédiation des sols, le traitement des eaux usées ou encore les industries chimiques et/ou pharmaceutiques (**Dvořák et al., 2017**). Ces bactéries peuvent, par exemple, non seulement utiliser des substances provenant de dépôts géologiques mais aussi de la pollution anthropique, tels que les hydrocarbures, les métaux lourds ainsi que divers xénobiotiques. Leur potentiel génomique pour la biosynthèse de nouveaux produits bioactifs est immense, néanmoins il reste encore très peu exploité (**Dvořák et al., 2017**).

Ce potentiel s'inscrit dans le domaine de la biotechnologie industrielle, également appelée la biotechnologie blanche, qui est la "troisième vague" de biotechnologies, aux côtés des biotechnologies médicale (rouge) et agricole (verte) (**Sharma et al., 2025**). Il s'agit de faire appel à des micro-organismes ou des enzymes pour fabriquer, sur la base de ressources renouvelables, des molécules chimiques, des carburants ou des matériaux, tout en essayant de minimiser la consommation d'énergie et la génération de déchets (**Sharma et al., 2025**).

Cette dynamique se reflète également dans la croissance rapide du marché des enzymes microbiennes. **Future Market Insight (2024)** estime que le marché mondial de la lipase microbienne est de **652,5 millions de dollar en 2025** et qu'il pourrait atteindre **1,266 milliards de dollars en 2035**, avec un taux de croissance annuel composé (CAGR) de **6,8 %**. En parallèle, le marché algérien des protéases connaît une expansion régulière, principalement stimulée par la demande croissante d'enzymes dans la transformation alimentaire et les applications industrielles (**6Wresearch, 2024**), raison pour laquelle la recherche de nouvelles bactéries capables d'hydrolyser différents nouveaux substrats pour des applications industrielles attire de plus en plus d'intérêt.

Par ailleurs, la biotechnologie bleue, qui a émergé dès les années 1940, s'intéresse aux spécificités des organismes aquatiques et marins dans une visée également biotechnologique. Les micro-organismes aquatiques, en raison des conditions extrêmes de leur habitat, possèdent un potentiel enzymatique supérieures à celles des enzymes produites par les organismes terrestres (**Jain et Tailor, 2020 ; Barzkar et Sohail, 2020**).

De plus, ces enzymes bactériennes se caractérisent par une meilleure stabilité face aux conditions physico-chimiques, ce qui fait d'elles d'excellentes candidates pour des applications industrielles. Elles peuvent être isolées par des méthodes microbiologiques classiques telles que la culture ciblée et la sélection à l'aide de milieux spécifiques (**Kamble et Vavilala, 2018**). Cependant, d'autres méthodes existent notamment, la métagénomique (**Kamble et Vavilala, 2018**) la microfluidique et les biocapteurs (**Robinson et al., 2021**).

Pour contribuer à l'exploration de ce potentiel fort intéressant, Notre étude s'est intéressée à la mise en évidence de neuf activités enzymatiques clés chez **38** souches bactériennes, préalablement isolées et purifiées, appartenant au souchier de Madame TOBAL (Laboratoire de Biotechnologies, Environnement et Santé, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Blida 1) en ciblant, à juste titre, des applications prioritaires en Biotechnologie, environnement et santé. Il s'agit des enzymes suivantes : Amylase, caséinase, estérase, gélatinase, lécithinase, lipase, lipoprotéinase, pectinase et xanthanase.

La recherche de ces enzymes a été réalisée par des méthodes microbiologiques classiques en utilisant des milieux de cultures contenant le substrat enzymatique de l'enzyme en question.

L'objectif de ce travail est de valoriser les bioressources aquatiques en étudiant les profils enzymatiques d'une collection de **38** souches bactériennes isolées à partir d'eaux de source issues de notre patrimoine biologique, afin d'évaluer leur potentiel pour des applications en biotechnologie, en environnement et en santé.

I. Rappel bibliographique

I.1. Les enzymes

I.1.1. Définition

Le terme « enzyme » vient du grec et signifie « dans le levain ». Il a été proposé pour la première fois par Wilhelm Friedrich Kühne en 1877, bien que la connaissance et l'utilisation des enzymes remontent à l'Antiquité (**Thapa *et al.*, 2019**).

Les enzymes sont des macromolécules biologiques produites par des organismes vivants. Elles jouent le rôle de catalyseurs, accélérant des réactions biochimiques spécifiques (**Gurung *et al.*, 2013**). Aussi connues sous le nom biocatalyseurs performants, elles sont indispensables pour augmenter simultanément la vitesse et la spécificité de diverses réactions biochimiques et processus métaboliques (**Thapa *et al.*, 2020**).

I.1.2. Structure des enzymes

Les enzymes constituées d'acides aminés sont des protéines globulaires dont la taille varie de moins de 100 à plus de 2 000 résidus (**Robinson, 2015**). Ces acides aminés s'organisent en une ou plusieurs chaînes polypeptidiques, repliées de manière à former une structure tridimensionnelle spécifique. Cette structure comprend une petite région appelée site actif, où se fixe le substrat. Ce site actif fait généralement intervenir un nombre restreint d'acides aminés, souvent moins de dix (**Robinson, 2015**).

Les enzymes exercent leur activité en se liant d'abord aux molécules impliquées dans les réactions biochimiques à catalyser, appelées substrats enzymatiques. Certaines présentent une spécificité stricte, n'agissant que sur un seul type de substrat, tandis que d'autres sont capables de reconnaître et de transformer des substrats de structures variées (**Élie, 2022**).

Bien que seul le site actif interagisse directement avec le substrat, le reste de la structure de l'enzyme est essentiel pour maintenir sa forme et assurer son bon fonctionnement. Sans cet environnement protéique, l'activité catalytique est perdue (**Robinson, 2015**).

Même si de nombreuses enzymes sont constituées uniquement de protéines, certaines nécessitent la présence d'un composant non protéique, appelé cofacteur, pour assurer leur activité catalytique. Ce cofacteur peut être une molécule organique, dite coenzyme, ou un ion métallique inorganique comme le fer, le zinc ou le cuivre. Lorsqu'une coenzyme est fixée de manière permanente à l'enzyme, on parle alors de groupe prosthétique (**Robinson, 2015**).

I.1.3. Classification des enzymes

En 1961, le Comité de Nomenclature de l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (NC-IUBMB) a établi une classification des enzymes en six grandes classes, selon le type de réaction catalysée : oxydoréductases (EC1), transférases (EC2), hydrolases (EC3), lyases (EC4), isomérases (EC5) et ligases (EC6). Cette classification est restée inchangée pendant une longue période, jusqu'à l'ajout, en août 2018, d'une septième classe : les translocases (EC7) (Thapa *et al.*, 2019 ; McDonald *et Tipton*, 2021).

Tableau I: Principales classes d'enzymes et leurs réactions.

Numéro de la Commission des Enzymes	Classe d'enzyme	Réactions	Exemples
EC1	Oxidoreductases	Participe aux réactions d'oxydo-réduction entre les molécules.	Catalases Glucoseoxidasés Laccases ID (Protein Data Bank Identifier) : 3T9W)
EC2	Transférases	Intervient dans le transfert de groupes fonctionnels d'une molécule à une autre, tels que des groupes amine ou phosphate.	Fructosyltransférases Glucosyltransférases
EC3	Hydrolases	Catalysent l'hydrolyse d'un substrat durant la réaction.	Amylases (ID : 1B0I) Lipases (ID : 1ISP), Pectinases (ID : 3LYC), Estérases (ID : 5CML)
EC4	Lyases	Catalysent l'ajout ou l'élimination d'eau, d'ammoniac ou de dioxyde de carbone vers ou depuis les doubles liaisons.	Pectate lyases (ID: 1EE6) Alpha-acetolactate decarboxylases
EC5	Isomérases	Catalysent le réarrangement géométrique ou structurel des atomes au sein d'une même molécule	Glucose isomérases Epimérases Mutases (ID: 7TL8) Lyases Topoisomérases
EC6	Ligases	Joignent deux molécules en hydrolysant un diphosphate de l'ATP ou d'autres triphosphates similaires	Argininosuccinate (ID: 1K92) Glutathionésynthase
EC7	Translocases	Facilitent le transfert d'ions ou de molécules à travers les membranes cellulaires en catalysant leur passage.	La carnitine-acylcarnitine translocase L'ADP/ATP translocase

(Gurung *et al.*, 2013 ; Thapa *et al.*, 2019 ; McDonald et Tipton, 2021 ; Okpara, 2022).

Les identifiants : ID cités dans le tableau ci-dessus représentent les codes d'accès aux structures tridimensionnelles des enzymes disponibles dans la base de données Protein Data Bank (PDB), permettant ainsi une analyse structurale précise de leurs caractéristiques fonctionnelles.

I.1.4. Origine des enzymes

Les enzymes se trouvent chez les animaux, les plantes et les micro-organismes. Toutefois, leur présence en faible concentration dans les plantes et les animaux restreint leur utilisation industrielle. En revanche, les micro-organismes sont préférés en tant que source d'enzymes, car ils offrent une production simple et rapide tout en proposant des enzymes spécifiques qui sont stables et inoffensives (**Singh *et al.*, 2019**). Cette préférence s'explique aussi par leur large diversité catalytique, leur rendement élevé ainsi que leur bonne stabilité (**Chandra *et al.*, 2020**).

Les micro-organismes représentent la source la plus avantageuse d'enzymes, car ils permettent le développement de procédés économiques, peu consommateurs de ressources et à faibles émissions, tout en évitant les enjeux sociaux et politiques liés à l'exploitation de sources animales ou végétales (**Ghazala *et al.*, 2016**). De plus, ils offrent un large potentiel enzymatique et une production indépendante des variations saisonnières (**Saxena, 2015**). Leur rentabilité et leur compatibilité avec des procédés écologiques renforcent encore leur intérêt industriel (**Hoondal *et al.*, 2002**). En tant que catalyseurs métaboliques, les enzymes microbiennes occupent une place centrale dans de nombreux secteurs d'application, ce qui explique leur usage étendu (**Adrio *et Demain*, 2014**).

I.2. Applications biotechnologiques des enzymes microbiennes

Le domaine des biotechnologies vise à produire des produits chimiques en vrac, y compris des matériaux polymériques et des biocarburants, à partir de produits agricoles durables tels que l'amidon et les acides gras (**Chen *et Jiang*, 2018**). De nombreuses enzymes d'origine microbienne sont déjà utilisées:

I.2.1. Les protéases

Ce sont des enzymes appartenant à la famille des hydrolases, est l'une des plus largement utilisées sur le plan commercial (**Saggu *et al.*, 2019**). Les protéases subtilisées (EC 3.4.21.62),

une grande classe de protéases à sérine microbienne, jouent un rôle central dans le développement des enzymes industrielles (**Dworkin, 2006**).

Parmi ces enzymes, la caséinase joue un rôle particulier. Elle s'agit d'une exo-enzyme naturelle produite par diverses bactéries, dont la fonction principale est d'hydrolyser la caséine, une protéine complexe représentant environ **90 %** des protéines présentes dans le lait, est reconnue pour sa haute valeur nutritionnelle. Ce processus permet de transformer la caséine en une forme plus simple et soluble (**Abdul Hussein et al., 2020**).

Cette classe trouve de nombreuses applications dans divers processus biotechnologiques (**Tavano et al., 2018**), notamment dans la gestion des déchets, l'industrie du cuir, l'industrie des détergents, l'industrie alimentaire et de l'alimentation animale, l'industrie chimique, ainsi que dans le secteur médical (**Razzaq et al., 2019**).

I.2.2. Enzymes lipolytiques

I.2.2.1. Les lipases

Les lipases (EC 3.1.1.3), également appelées triacylglycerol acylhydrolases, sont des enzymes appartenant à la famille des hydrolases. Elles catalysent spécifiquement l'hydrolyse des liaisons ester carboxyliques (**Kapoor et gupta, 2012 ; Fetzner et Steiner, 2010**).

Selon **Chandra et al. (2020)**, la lipase est largement utilisée dans diverses applications, telles que le traitement des eaux usées huileuses, le lavage de la vaisselle et la lessive pour l'élimination des taches de graisse, la production d'esters de saveur, le traitement du cuir, l'industrie pharmaceutique, la transformation des aliments et la fabrication d'huile, ainsi que dans l'industrie boulangère.

I.2.2.2. Les estérases

Les estérases sont des enzymes appartenant à la classe des hydrolases, elles catalysent principalement la rupture des liaisons ester pour produire un acide et un alcool (**Rabbani et Ahn, 2018**). Elles peuvent aussi catalyser trois types de réactions : l'estérification, l'interestérification et la transestérification, tout en présentant une excellente sélectivité chimique, régiosélective et/ou énantiosélective (**Sayali et al., 2013**).

Les estérases jouent un rôle essentiel dans la synthèse de médicaments chiraux, largement utilisés dans le traitement de nombreuses pathologies (**Bornscheuer, 2002**). Très utilisées dans les procédés industriels, elles trouvent des applications dans les secteurs agroalimentaire et papetier, ainsi que dans la dégradation des plastiques et des pesticides, ou

encore dans la synthèse de composés optiquement purs (**Sharma *et al.*, 2021**). Elles interviennent également dans la dégradation des polyuréthanes polyesters (**Cunha *et al.*, 2010**).

I.2.3. Les amylases

Les enzymes amylolytiques catalysent l'hydrolyse de l'amidon ainsi que de ses dérivés oligo- et polysaccharidiques (**Nigam, 2013**). Parmi elles, les amylases dégradent spécifiquement l'amidon en divers composés, tels que les dextrines et des polymères de plus petite taille composés d'unités de glucose (**Windish *et al.*, 1965**).

Les amylases se déclinent en trois types principaux : l' α -amylase (E.C. 3.2.1.1), une hydrolase qui catalyse la rupture des liaisons α -1,4-glycosidiques internes de l'amidon, produisant des composés tels que le maltose et le glucose ; la β -amylase (E.C. 3.2.1.2), une exo-hydrolase qui agit à partir de l'extrémité non réductrice des chaînes polysaccharidiques pour libérer des unités de maltose en hydrolysant successivement les liaisons α -1,4-glycosidiques ; et enfin la γ -amylase (E.C. 3.2.1.3), qui se distingue par sa capacité à hydrolyser à la fois les liaisons α -1,4-glycosidiques terminales et les liaisons α -1,6-glycosidiques (**Sundarram *et al.*, 2014**).

L' α -amylase a suscité un intérêt de plus en plus grand grâce à sa fonction d'hydrolyse de l'amidon, qui la fait passer comme une enzyme cruciale dans plusieurs secteurs. Elle est utilisée notamment en industrie des détergents (**Hmidet *et al.*, 2009**), industrie des biocarburants au sens où l'amidon est décomposé en sucres fermentescibles (**Fasiku *et al.*, 2020**), et industrie agroalimentaire (jus de fruits, pâtisseries, sirops, brassage), papetière et textile (ensimage des fibres) (**Nigam, 2013**).

I.2.4. Les gélatinase

La gélatinase est une enzyme extracellulaire produite par certaines bactéries, capable d'hydrolyser la gélatine (**Dela Cruz *et al.*, 2016**). Cette dernière est une protéine issue du collagène, principal constituant des tissus conjonctifs des vertébrés (**Dela Cruz *et al.*, 2016**).

La gélatinase est une enzyme majeure qui suscite un vif intérêt en tant que cible thérapeutique, en raison de son implication dans la dégradation des tissus conjonctifs associée au processus de métastase tumorale (**Sathya *et Ushadevi*, 2014**).

Elle trouve également des applications dans l'industrie alimentaire, notamment pour la clarification des boissons, la fabrication de produits gélifiés et la transformation des produits carnés. De plus, elle participe dans la bioremédiation des déchets riches en gélatine provenant de différentes industries, contribuant ainsi à la réduction de la pollution (**Pathade et al., 2024**).

I.2.5. Les pectinases

Les pectinases, également appelées enzymes pectinolytiques, sont un ensemble diversifié d'enzymes qui peuvent hydrolyser les composés pectiques des plantes (**Jayani et al., 2005**). En 1930, Kertesz a signalé la première application commerciale des pectinases, en l'occurrence pour la clarification du jus de pomme (**Garg et al., 2016**).

Les pectinases occupent aujourd'hui une place importante parmi les enzymes utilisées dans l'industrie (**Rebello et al., 2017**). Leurs applications sont variées et couvrent plusieurs secteurs, tels que le textile, la nutrition animale, l'extraction d'huiles végétales, la transformation du thé et du café, le blanchiment biologique de la pâte kraft, le recyclage du papier, ainsi que le traitement des fruits et légumes (**Garg et al., 2016**).

I.2.6. Les xanthanases

Les xanthanases désignent un groupe d'enzymes capables d'hydrolyser à la fois le squelette principal et les chaînes latérales du xanthane, un hétéropolysaccharide produit par *Xanthomonas campestris* (**Zhurishkina et al., 2023**). Parmi elles, la xanthan-lyase élimine les résidus terminaux de mannose présents sur les chaînes latérales du polymère (**Ashraf et al., 2017**).

Ces enzymes catalysent spécifiquement l'hydrolyse des liaisons β -1,4-glucosidiques du squelette du xanthane, une activité influencée par la structure ordonnée que le polymère adopte en solution aqueuse (**Yang et al., 2019**).

Les xanthanases trouvent des applications dans de nombreux secteurs industriels. Elles sont utilisées dans l'agroalimentaire pour réduire la viscosité des épaississants à base de xanthane (**Berezina et al., 2024 ; Hou et Barnabe, 1987**), dans l'industrie pétrolière pour fluidifier les boues de forage à base de xanthane (**Cadmus et al., 1989**), ainsi que dans les domaines pharmaceutique et cosmétique pour produire des composites biocompatibles et des films comestibles (**Berezina et al., 2024 ; Hou et Barnabe, 1987**).

De plus, elles sont employées pour la dépollution environnementale et la bioremédiation des effluents industriels contenant du xanthane (**Ashraf *et al.*, 2017**).

II. Matériel et méthodes

La partie expérimentale de cette étude ainsi que l'ensemble des manipulations ont été réalisés dans le laboratoire des projets de fin d'études (PFE), du département de Biotechnologie et d'Agronomie, de l'université Saad Dahlab Blida 1, durant la période allant du **25 février 2025** au **31 mai 2025**.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Souches bactériennes

Les **trente-huit** souches bactériennes pures utilisées dans notre étude appartiennent au soucheur de notre promotrice Mme **TOBAL**. Bien qu'elles aient déjà des noms attribués elles sont codées de **S01** à **S38** pour faciliter leur identification dans le cadre de ce travail.

II.1.1.2. Substrats enzymatiques

Les substrats enzymatiques utilisés dans ce travail à savoir : l'amidon, le lait totalement écrémé, le jaune d'œuf, la gélatine bovine, la pectine et le xanthane (**annexe 01**).

II.1.2. Matériel non biologique

Les manipulations réalisées dans ce travail ont nécessité l'utilisation de divers équipements habituellement trouvés dans un laboratoire de microbiologie comprenant entre autres la verrerie aussi bien que les réactifs utilisés dans la phase de révélations pour certaines activités enzymatiques.

La composition détaillée des milieux, la liste complète des réactifs, ainsi que les instruments et équipements utilisés sont présentés dans l'**annexe 02**.

II.2. Méthodes

Ce travail est réalisé afin d'évaluer le potentiel enzymatique de notre collection de souches bactériennes en les ensemençant par spot ou par pique centrale sur des milieux spécifiques contenant le substrat enzymatique comme source de carbone et d'énergie selon l'activité cherchée.

Toutes les manipulations ont été réalisées au moins deux fois, dans le but de confirmer la reproductibilité des résultats et d'écarter toute possibilité de contamination dans le cas de tests positifs.

II.2.1. Recherche d'activités enzymatiques

Afin de faciliter la compréhension des protocoles expérimentaux et de l'interprétation des résultats, nous avons créé des illustrations explicatives en utilisant logiciel **BioRender**.

II.2.1.1. Recherche d'une amylase

- **Principe:**

L'activité amylolytique est évaluée par l'hydrolyse de l'amidon. Le principe repose sur l'utilisation de l'amidon comme seule source de carbone et d'énergie par les bactéries amylolytiques, permettant ainsi de détecter leur capacité à dégrader cet élément. L'amylase catalyse la réaction d'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques des polysaccharides comme l'amidon (1) (Tiwari *et al.*, 2015).



- **Méthode:**

Les souches bactériennes sont ensemencées par spots sur un milieu gélosé additionné à 1% d'amidon, puis incubées à 37 °C pendant 24 h (Benammar *et al.*, 2020). (Figure 1)

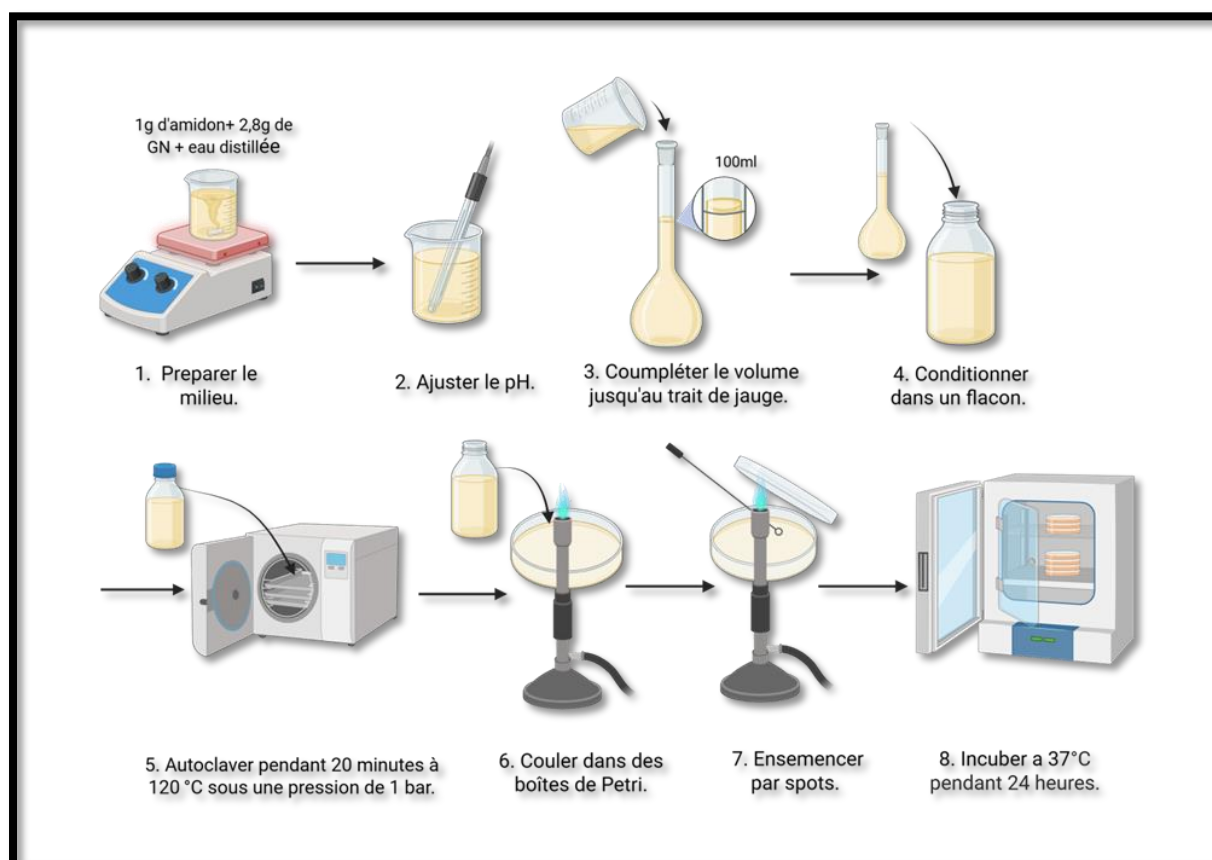


Figure 1: Mode opératoire pour la recherche d'une amylase.

- **Lecture des résultats:**

Après l'incubation, l'activité est révélée grâce à l'ajout de lugol : l'apparition d'une zone claire autour de la colonie indique la présence de cette activité, tandis qu'une coloration du milieu totalement en bleu-violet signifie son absence (**Benammar *et al.*, 2020**). (**Figure 2**)

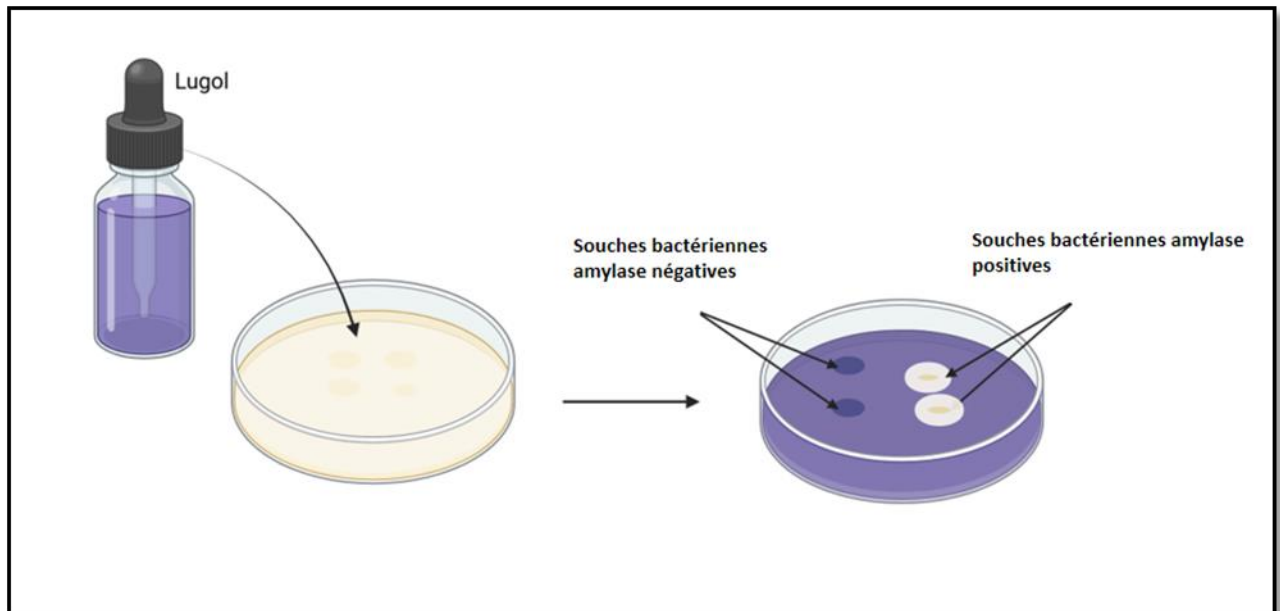
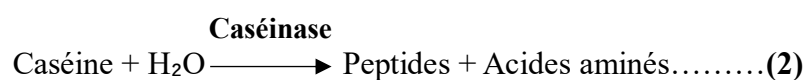


Figure 2: Révélation de l'activité amylolytique.

II.2.1.2. Recherche d'une caséinase

- **Principe:**

La révélation d'une activité Caséinase, repose sur l'utilisation d'un milieu à base de lait écrémé. Le lait écrémé est préféré à d'autres types de lait afin d'éviter les interférences liées à d'autres composants, notamment les matières grasses, qui pourraient perturber l'interprétation des résultats ou interagir avec d'autres activités enzymatiques. Cette enzyme est capable de transformer la caséine en une forme plus simple et soluble (2) (**Kurbanova *et Maslennikova.*, 2014**).



- **Méthode:**

Afin de déterminer si les souches bactériennes sont capables de dégrader la caséine, un milieu gélosé additionné de **10 %** de lait UHT **100 %** écrémé est préparé. Les souches sont ensemencées par spots, puis incubées à **37 °C** pendant **48 h** (Saggu *et al.*, 2019). (Figure 3)

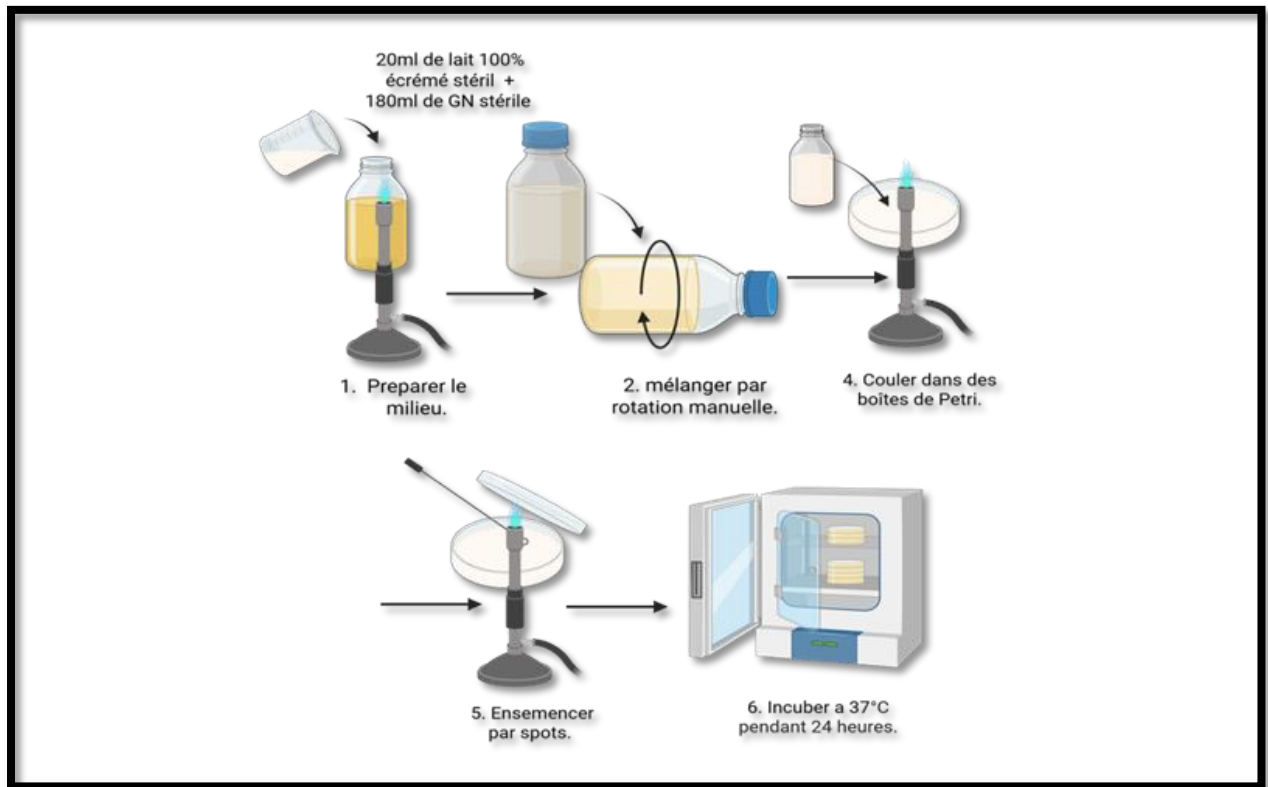


Figure 3: Mode opératoire pour la recherche d'une caséinase.

- **Lecture des résultats:**

L'observation d'une zone claire autour d'une colonie indique que la souche bactérienne est dotée d'une caséinase (Saggu *et al.*, 2019). (Figure 4)

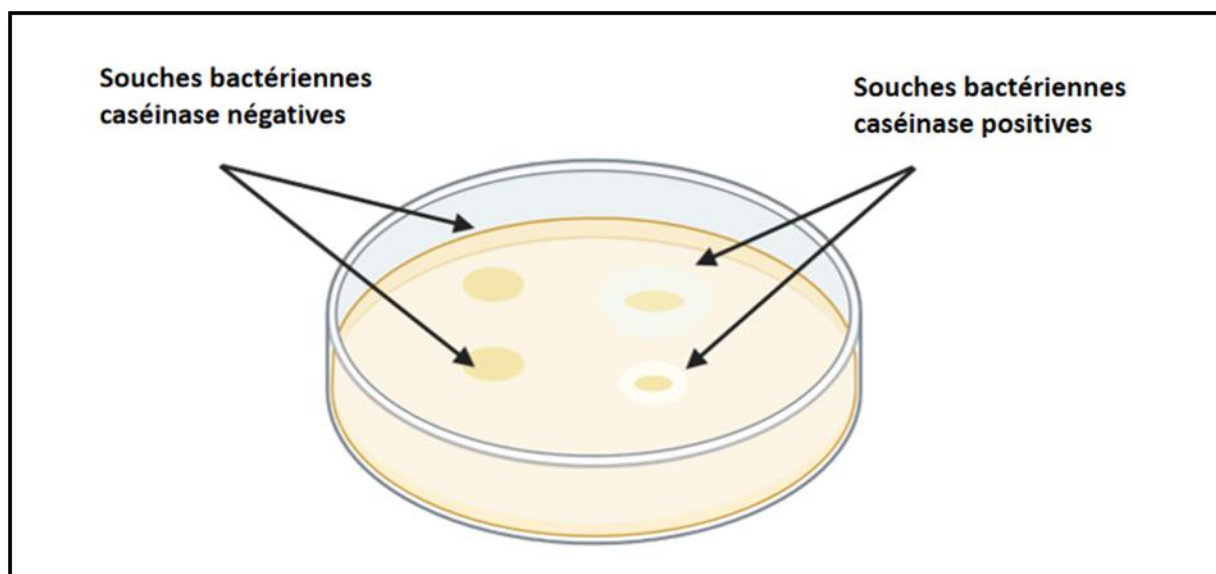
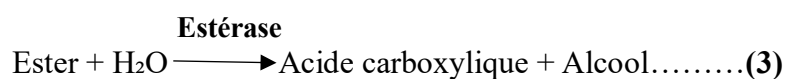


Figure 4: Lecture de l'activité caséinasique.

II.2.1.3. Recherche d'une estérase

- **Principe:**

L'estérase est une enzyme capable d'hydrolyser des esters en acide et alcool (3) (kapoor et gupta, 2012) sur un milieu contenant du **Tween 80**, un composé couramment utilisé en microbiologie pour détecter l'activité estérasique.



- **Méthode:**

Un milieu contenant **1 %** de **Tween 80** est préparé, préalablement stérilisé. Les souches sont ensuite ensemencées par spots sur ce milieu, puis incubées à **37 °C** pendant **24 h** (Grivalsky *et al.*, 2016). (Figure 5)

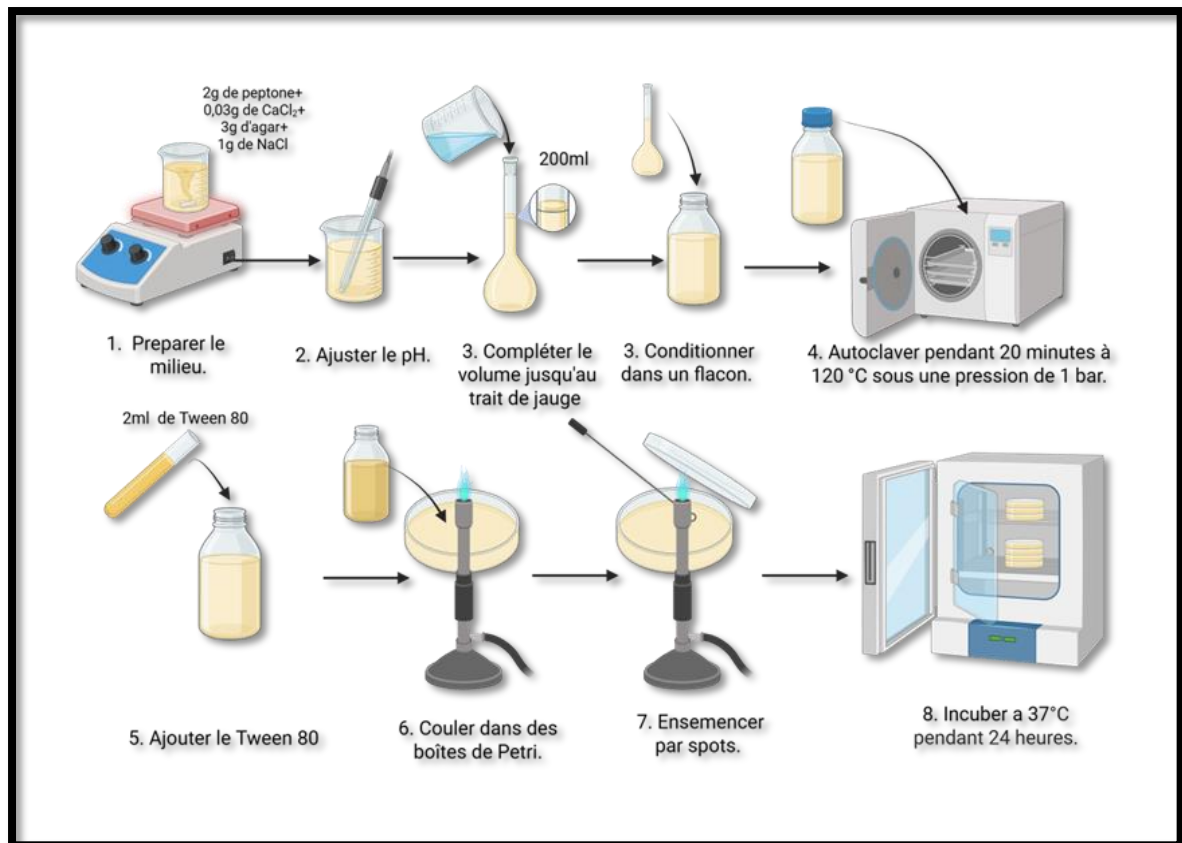


Figure 5: Mode opératoire pour la recherche d'une estérase.

- Lecture des résultats:**

La formation d'un précipité de sels de calcium et d'acides gras autour de la colonie signale une activité estérasique positive (Grivalsky *et al.*, 2016). (Figure 6)

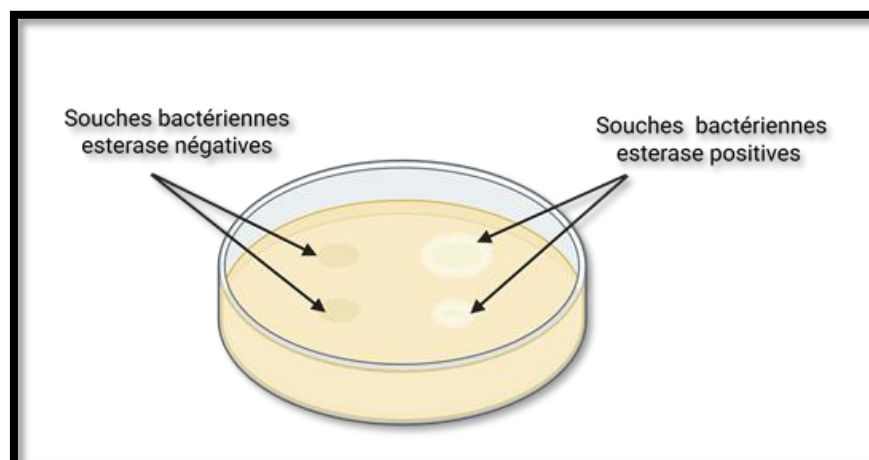
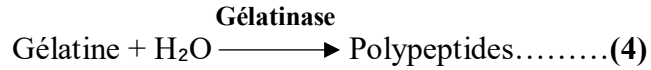


Figure 6: Lecture de l'activité estérasique.

II.2.1.4. Recherche d'une gélatinase

- **Principe:**

L'évaluation qualitative de l'activité gélatinase des souches testées repose sur la capacité de ces dernières à liquéfier la gélatine présente dans le milieu, en la dégradant en peptides et acides aminés (4) (dela Cruz et Torres, 2016).



- **Méthode:**

D'après la méthode de **dela Cruz et Torres. (2016)**, un milieu contenant **24 %** de gélatine, conditionné dans des tubes à essai, est préparé en mélangeant **24 g** de gélatine bovine, **0,5 g** de peptone et **0,3 g** d'extrait de levure avec **100 ml** d'eau distillée. Les souches sont ensemencées par piqûre centrale, puis incubées à **37 °C** pendant **7 J.** (**Figure 7**)

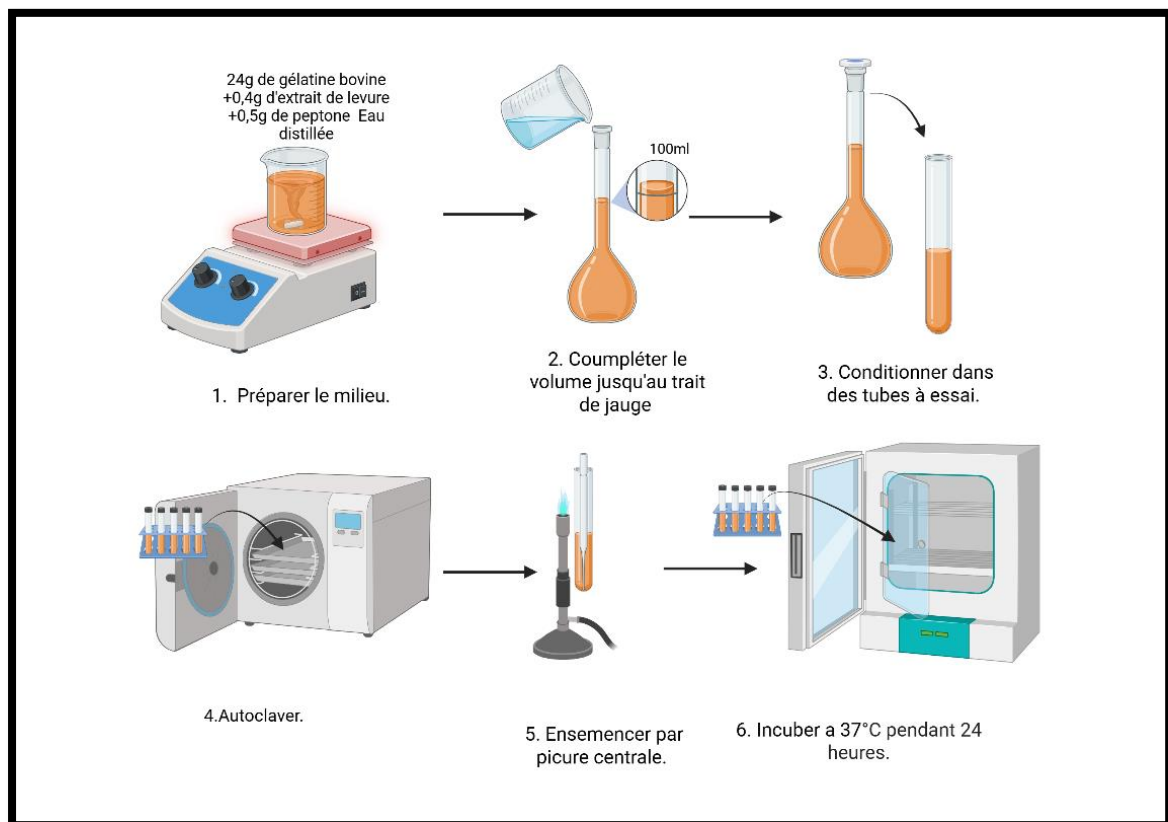


Figure 7: Mode opératoire pour la recherche d'une gélatinase.

- **Lecture des résultats:**

La lecture des résultats est effectuée toutes les **24 h** pendant **7 J**, en plongeant, à chaque fois et au préalable les tubes dans un bain de glace pendant **15 à 30 minutes**, puis en les inclinant afin de vérifier la liquéfaction du milieu, signe d'hydrolyse de la gélatine. La liquéfaction est toujours appréciée par comparaison avec le tube témoin (dela Cruz *et* Torres, 2016). (Figure 8)

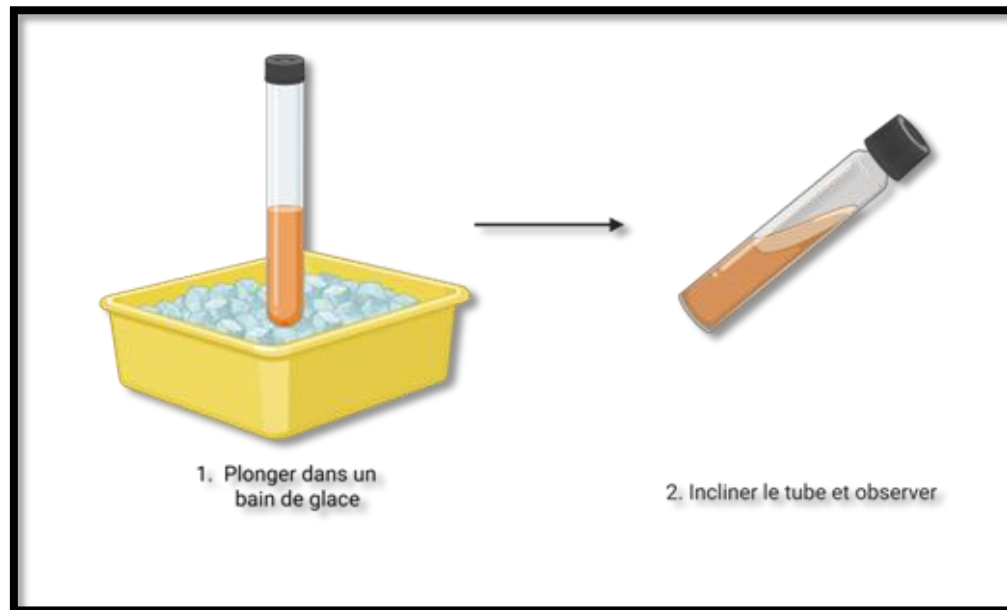


Figure 8: Lecture de l'activité gélatinase.

II.2.1.5. Recherche d'une lécithinase, une lipase et une lipoprotéinase

- **Principe:**

Le jaune d'œuf est riche en triglycérides, lipoprotéines et lécithines. En raison de cette composition, il est utilisé comme substrat pour la mise en évidence des activités lipase, lipoprotéinase et lécithinase.

- **Méthode:**

Un milieu contenant **5 %** de jaune d'œuf émulsionné est préparé. Les souches sont ensemencées par spots, puis incubées à **37 °C** pendant **24 h** (Benammar *et al.*, 2020). (Figure 9)

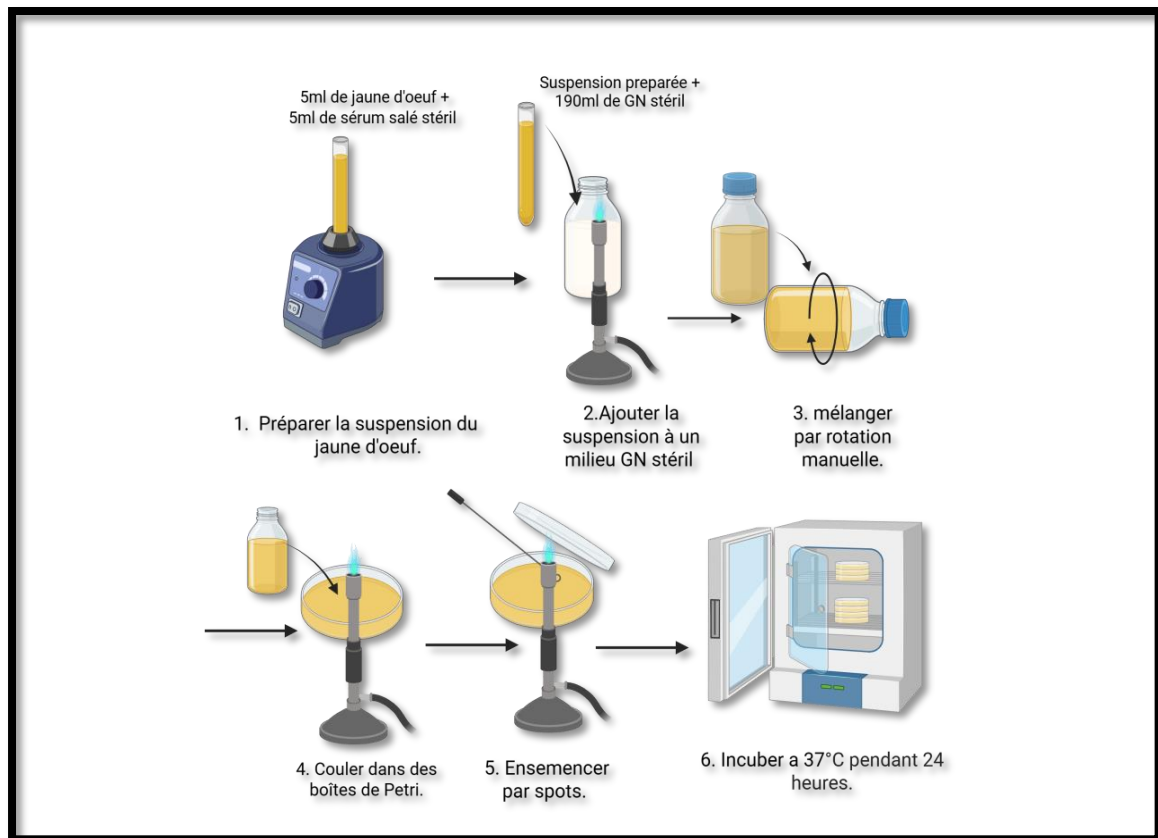


Figure 9: Mode opératoire pour la recherche d'une lécithinase, une lipase et une lipoprotéinase.

- **Lecture des résultats:**

- ❖ Un halo opaque autour de la colonie indique la présence d'une lécithinase (**Benammar *et al.*, 2020**) (**Figure 10**).
- ❖ Une zone opaque floue autour de la colonie indique la présence de lipase (**Figure 11**).
- ❖ Un halo d'éclaircissement autour de la colonie indique la présence d'une Lipoprotéinase (**Figure 12**).

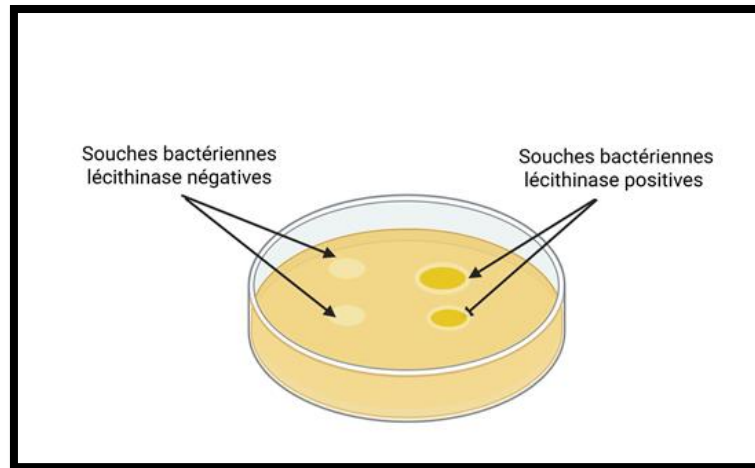


Figure 10: Lecture de l'activité lécithinasique.

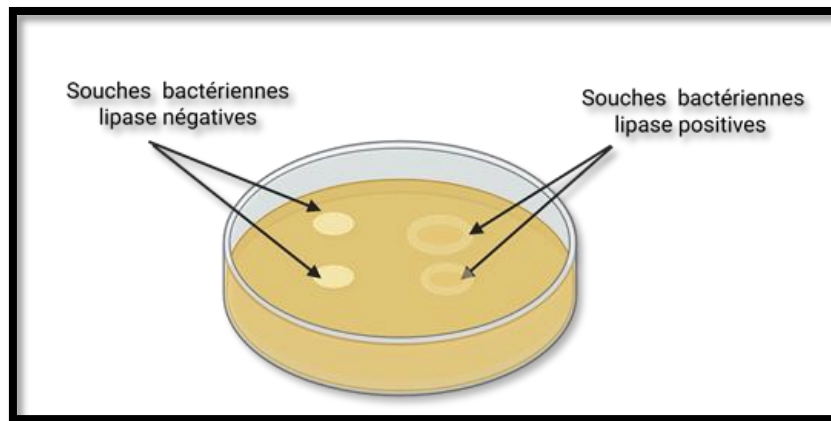


Figure 11: Lecture de l'activité lipasique.

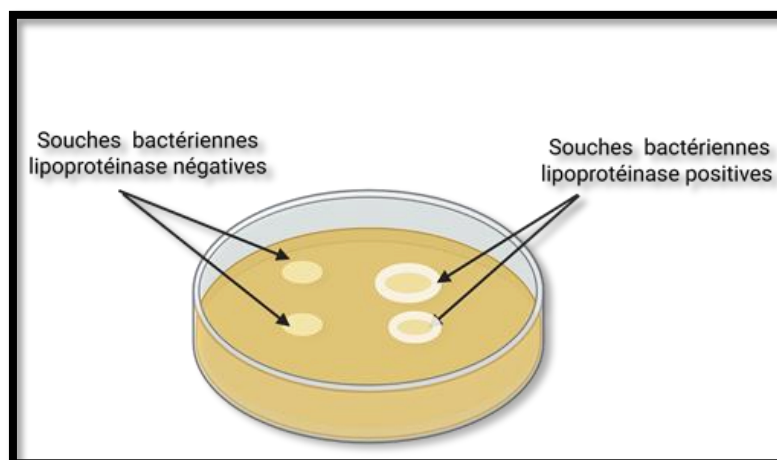


Figure 12: Lecture de l'activité lipoprotéinasique.

II.2.1.6. Recherche d'une pectinase

- **Principe:**

La pectinase est une enzyme qui hydrolyse la pectine, un polysaccharide présent dans les parois cellulaires des plantes, en acides uroniques (6) (Jayani *et al.*, 2005). Cette enzyme est déterminée sur un milieu pectiné.



- **Méthode:**

Un milieu gélosé additionné de **1 %** de pectine est préparé, puis ensemencé par spots et enfin incubé à **37 °C** pendant **24 h** (Ghazala *et al.*, 2016). (Figure 13)

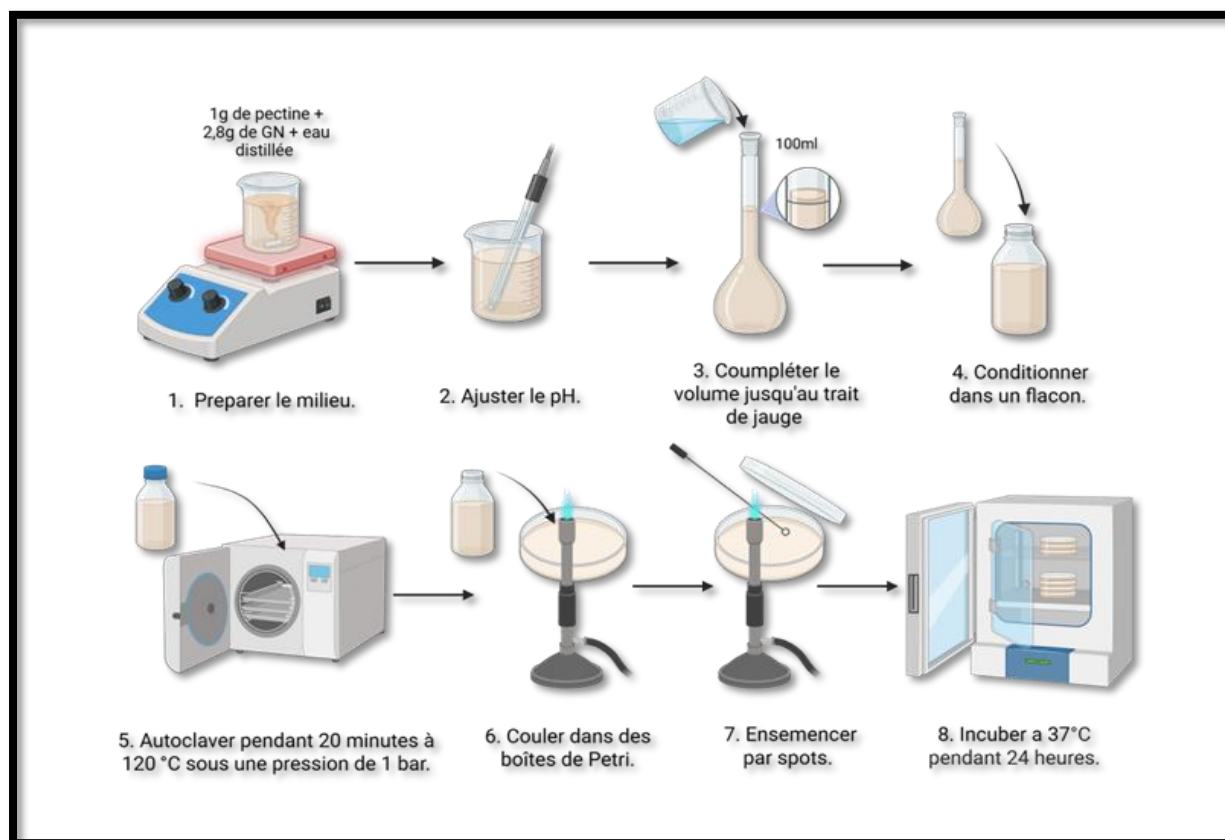


Figure 13: Mode opératoire pour la recherche d'une pectinase.

- **Lecture des résultats:**

Pour révéler l'activité pectinolytique, une solution de rouge Congo à **0,02 %** est ajoutée, suivie par un rinçage avec du NaCl (**1M**) (Ghazala *et al.*, 2016).

La formation d'un halo clair autour de la colonie indique que la bactérie est pectinase positive (Ghazala *et al.*, 2016). (Figure 14)

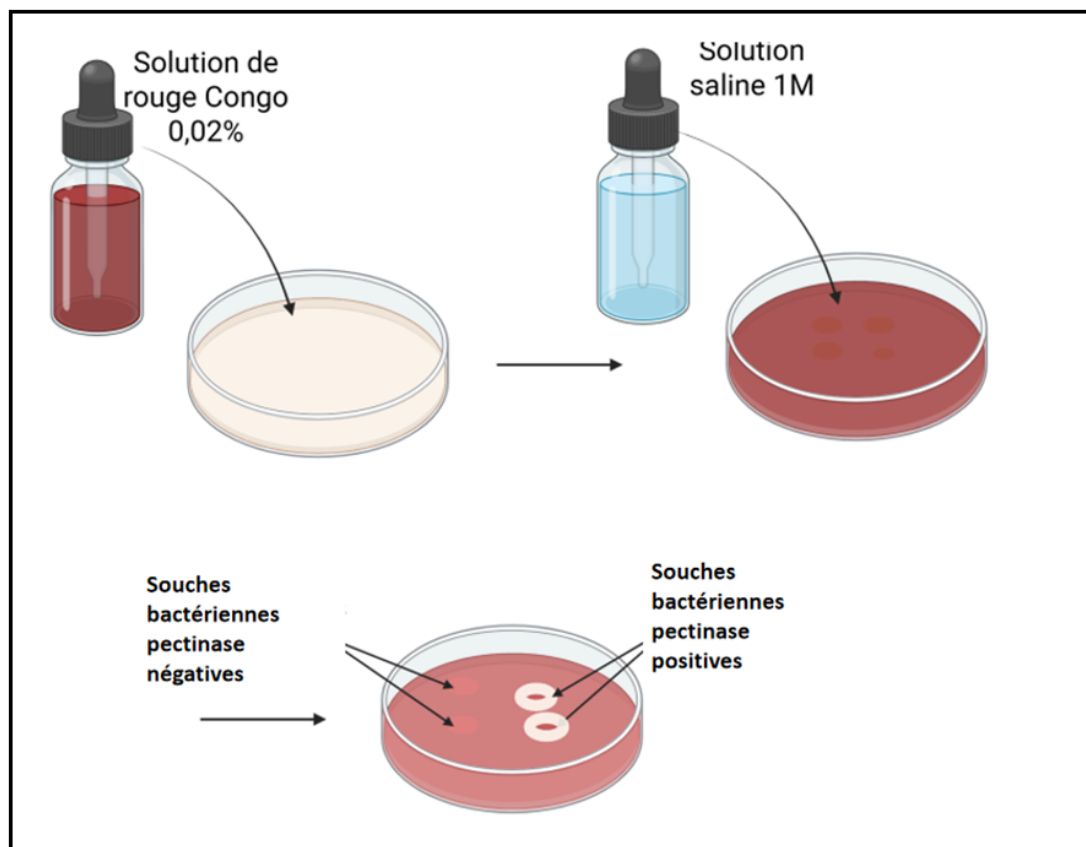


Figure 14: Révélation de l'activité pectinolytique.

II.2.1.7. Recherche d'une xanthanase

- Principe :

L'activité xanthanase désigne la capacité de certaines bactéries à dégrader la gomme xanthane, un polysaccharide complexe produit par *Xanthomonas sp* en oligosaccharides (7) (Hou *et al.*, 1986), à l'aide d'un complexe enzymatique spécifique.



- Méthode :

La détection de l'activité xanthanase a été réalisée selon la méthode décrite par Ashraf *et al.* (2017) (modifiée). Les souches bactériennes sontensemencées par spots sur un milieu solide composé de 0,6 % de gomme xanthane (au lieu de 0.3 %), puis incubées à 30 °C pendant 24 h. (Figure 15)

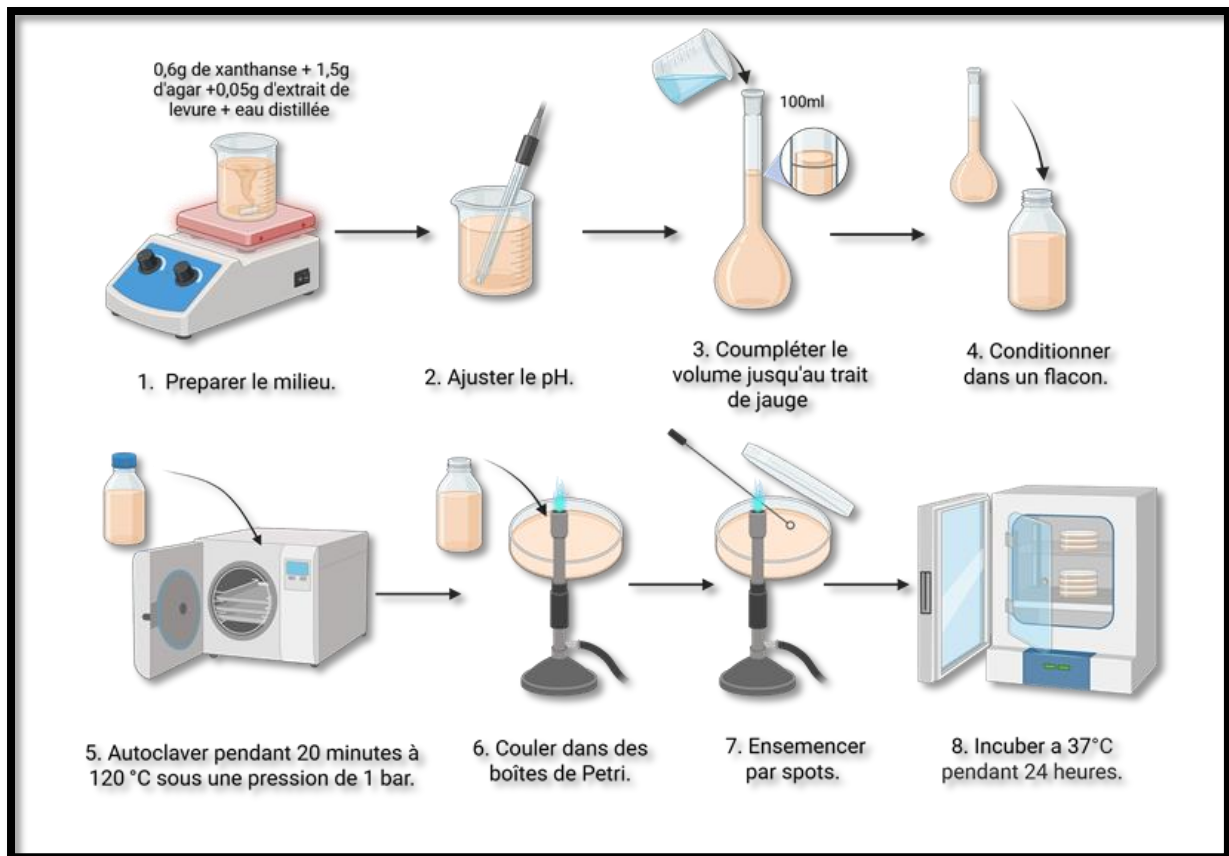


Figure 15: Mode opératoire pour la recherche d'une xanthanase.

- **Lecture des résultats :**

La révélation est réalisée par l'ajout de rouge Congo (**Ghazala *et al.*, 2016**). Cette étape de révélation diffère de celle décrite dans la méthode originale, afin de faciliter l'observation.

La formation d'un halo transparent autour des colonies témoigne d'une activité xanthanase positive, traduisant la dégradation de la gomme xanthane par l'enzyme sécrétée dans le milieu. (**Figure 16**)

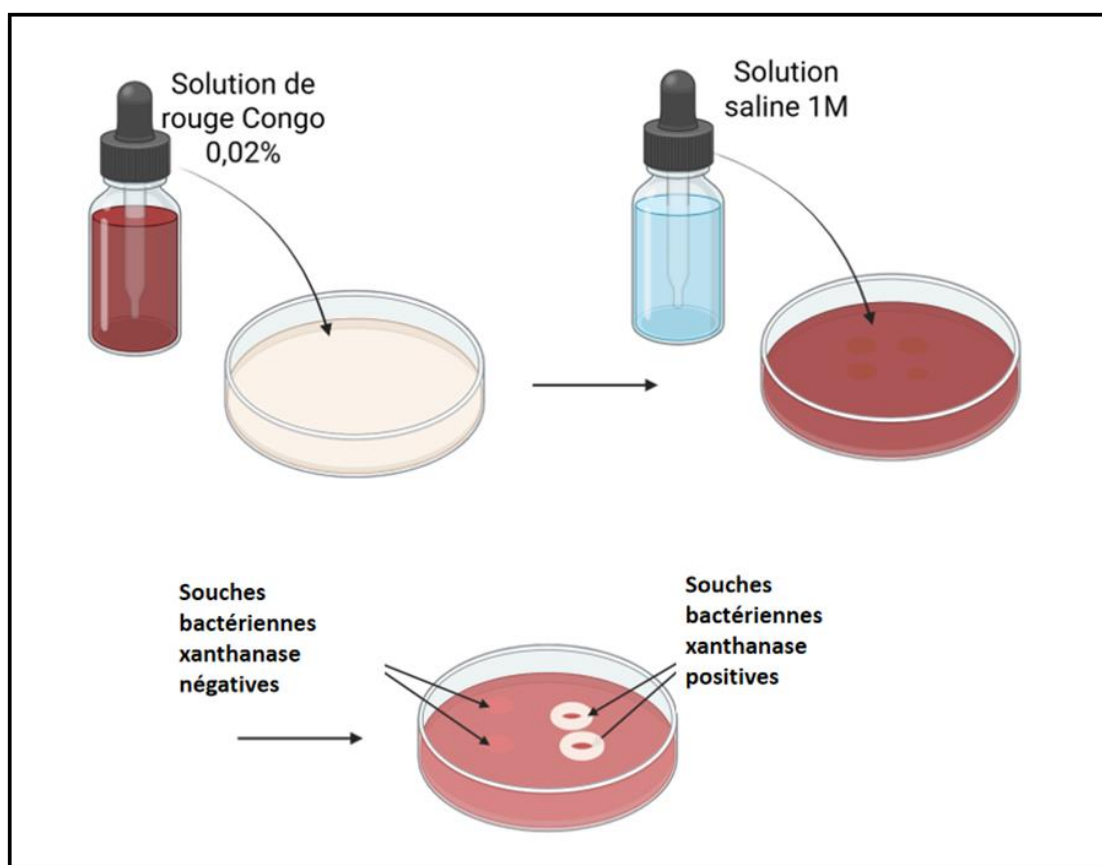


Figure 16: Révélation de l'activité xanthanase.

III. Résultats et discussion

Les activités enzymatiques telles que la caséinase et la gélatinase, ont été mises en évidence par l'utilisation de milieux de culture spécifiques, supplémentés en substrats enzymatique correspondants à chaque enzyme recherchée.

La présence de ces substrats joue un rôle déterminant dans l'induction de la production enzymatique par les souches bactériennes. En effet, la nature du substrat disponible dans le milieu peut stimuler la synthèse et la sécrétion d'une enzyme adaptée, ce qui reflète la capacité aussi que la flexibilité métabolique que possèdent les bactéries, leur permettant de s'adapter à leur environnement.

Les photographies des résultats obtenus sur boîtes de Pétri sont prises à l'aide de la caméra d'un téléphone portable. Toutes les représentations graphiques des données sont réalisées à l'aide du logiciel Microsoft Excel.

III.1. Recherche d'activités enzymatiques

Les **figures 17** et 18 présentent le nombre et le pourcentage de souches exprimant chacune des activités enzymatiques recherchées.

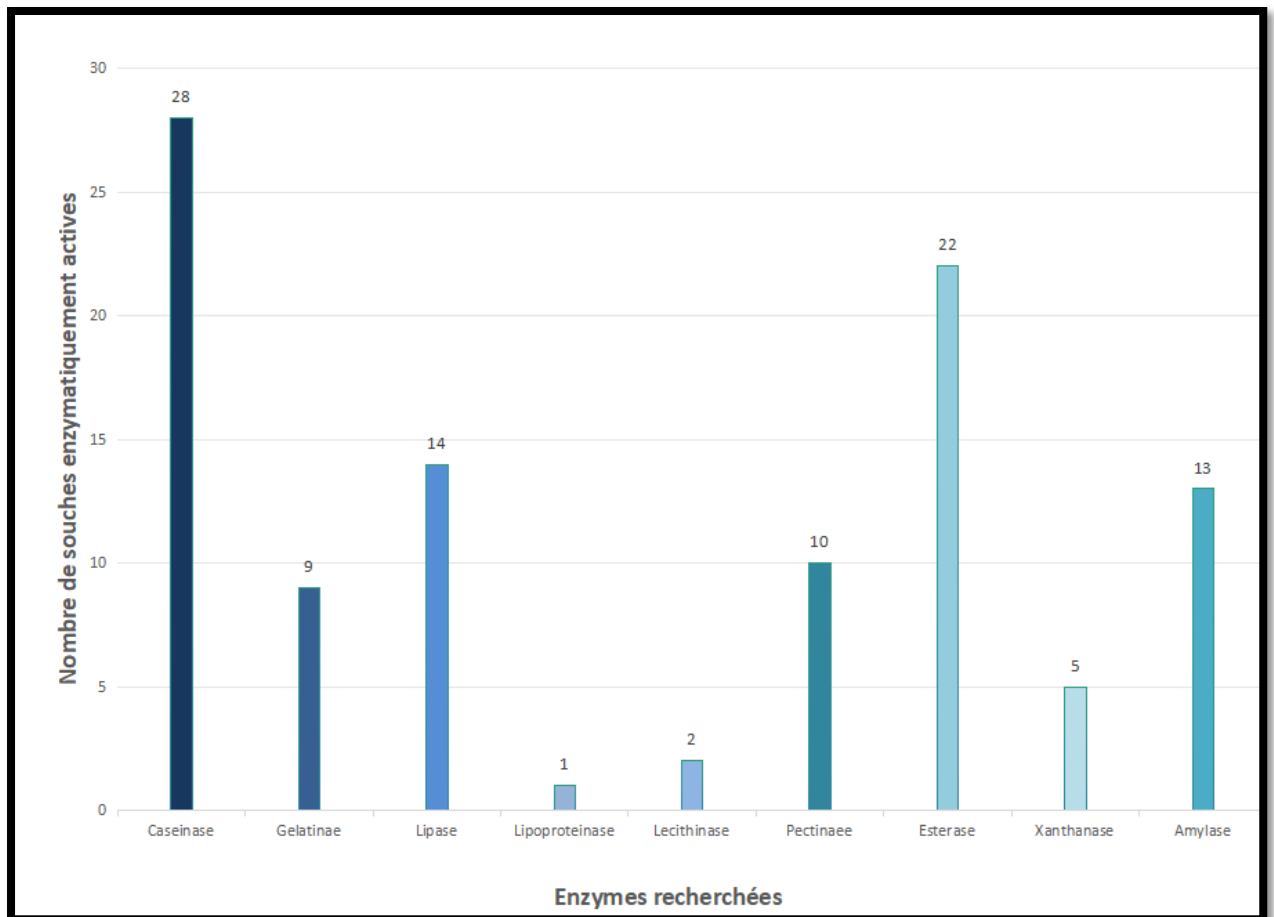


Figure 17: Nombre de souches bactériennes exprimant des activités enzymatiques.

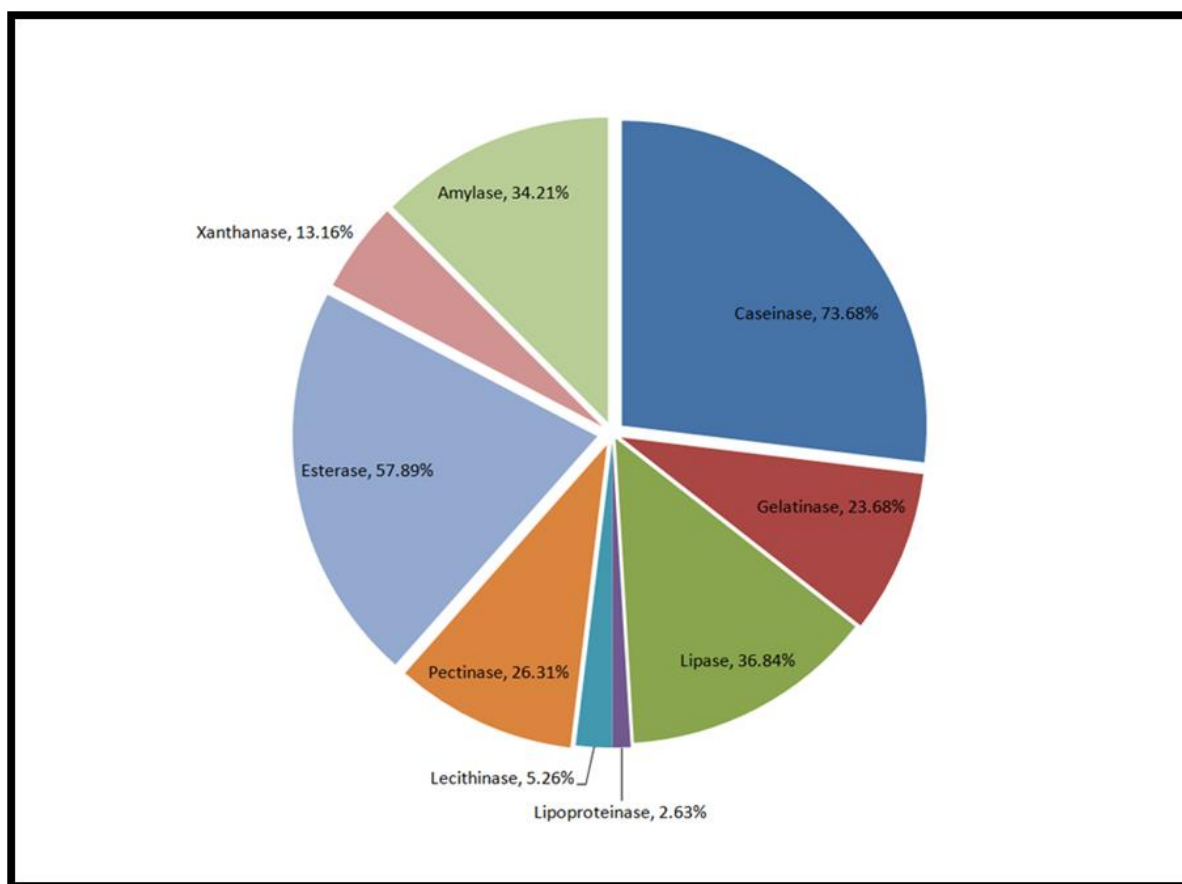


Figure 18: Fréquence des activités enzymatiques au sein de la collection de souches bactériennes.

Afin d'évaluer le potentiel de production enzymatique au sein de notre collection de souches bactériennes, nous avons calculé le pourcentage de souches exprimant chaque activité. Nous avons observé que la majorité des souches bactériennes **97,37 %** (soit **37** souches parmi **38** en total), exprime au moins une activité enzymatique. La caséinase est la plus fréquemment exprimée avec un pourcentage de **73.68 %** de souches caséinase positives, ce qui témoigne d'un potentiel enzymatique élevé. Les activités estérase (**57,89 %**), la lipase (**36,84 %**) et l'amylase (**34,21 %**) présentent une fréquence intermédiaire, suggérant une expression modérée au sein de la collection. Les activités pectinase (**26,31 %**), gélatinase (**23,68 %**), xanthanase (**13,16 %**) et la lécithinase (**5,26 %**) sont considérées comme faiblement représentées. Enfin, la lipoprotéinase, détectée chez une seule souche (**2,63 %**), constitue l'activité la plus rare, indiquant une expression très limitée au sein de notre échantillon. Ces données illustrent la diversité enzymatique au sein de la collection bactérienne étudiée, avec des souches à potentiel industriel très différencié selon l'enzyme considérée.

III.1.1. Recherche d'une caséinase

Les résultats de notre étude indiquent que la caséinase est l'activité enzymatique la plus fréquemment exprimée chez notre collection de souches bactériennes, soit **28** souches sur un total de **38**. Cette activité se manifeste par la formation d'un halo transparent autour des colonies (figure 19).

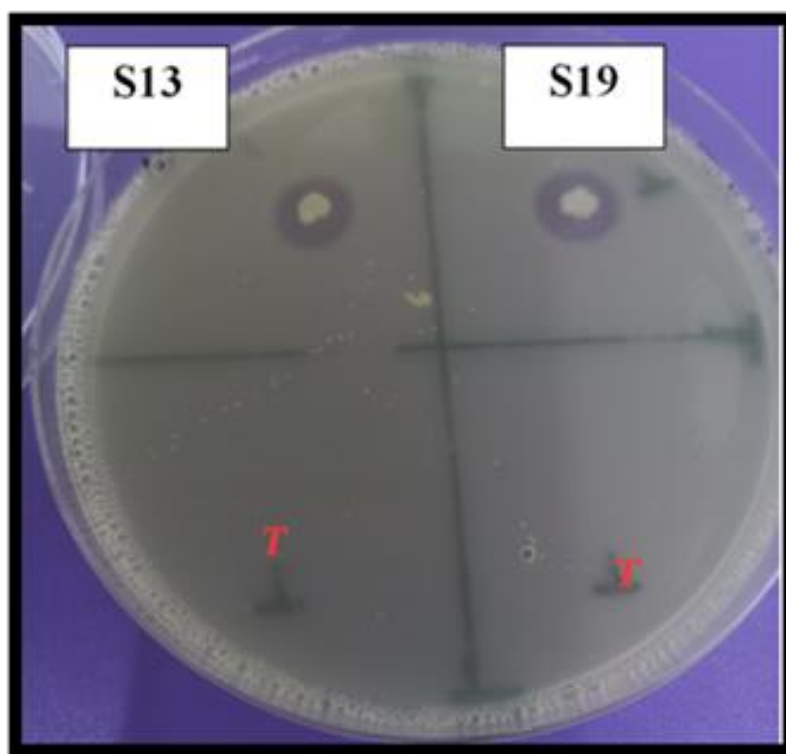


Figure 19 : Résultat de l'activité caséinase observée chez les souches **S13** et **S19**. **T** : témoin

Le diamètre des halos varie d'une souche à une autre selon sa capacité à exprimer la caséinase dans le milieu (figure 20).

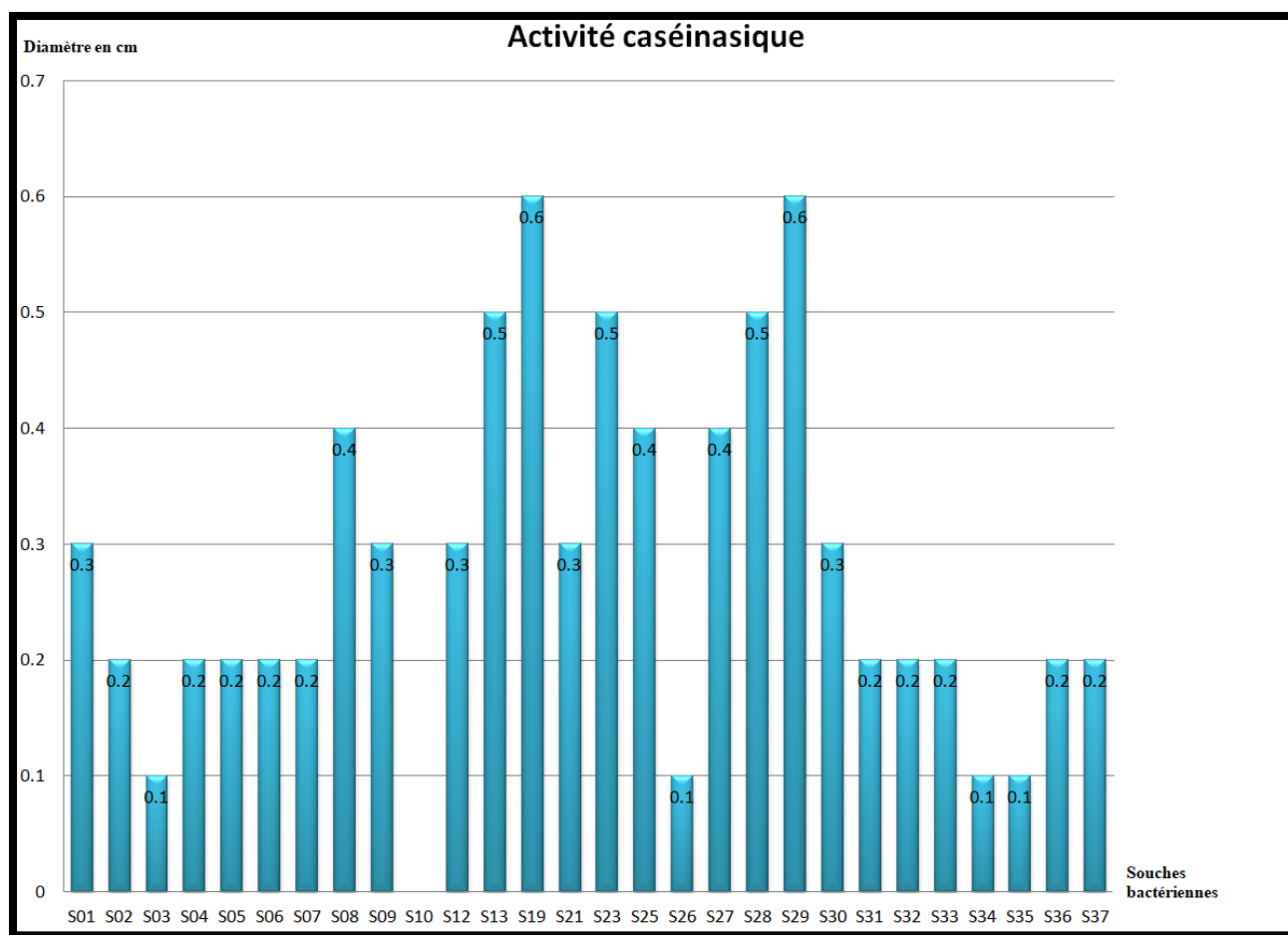


Figure 20: Diamètres des zones d'activité caséinase chez la collection de souches bactériennes.

Les souches **S19** et **S29** présentent les plus grandes activités caséinasiques correspondant aux plus grands diamètres enregistrés pour cette activité enzymatique, atteignant **0,6 cm**. Cette activité, bien que significative, reste inférieure à celle rapportée par **Rahmati (2017)**, qui a observé un diamètre de **2 cm** dans des conditions différentes, notamment l'utilisation d'un milieu riche en substrat, constitué de **50 g/L** de lait en poudre écrémé et **5 g/L** de caséine. Ces variations dans la composition du milieu du test enzymatique expliqueraient la différence observée dans les diamètres des zones de l'hydrolyse.

Cette enzyme possède un potentiel intéressant pour différentes applications biotechnologiques, notamment dans le secteur agroalimentaire, en particulier dans l'industrie laitière, pour la production d'hydrolysats protéiques à partir du lait. Ces derniers sont plus digestes et moins allergènes, ce qui les rend adaptés à la formulation de laits infantiles, de produits diététiques et de compléments nutritionnels (**Gupta et al., 2002**).

Egalement dans le domaine pharmaceutique, pour la production des peptides tels que certains antihypertenseurs, qui peuvent être intégrés à des aliments comme ingrédients thérapeutiques (**Korhonen et Pihlanto, 2006**). Les souches **S19** et **S29** Pourraient être considérées comme des candidates prometteuses pour des approches d'optimisation, qu'elles soient physiologiques, génétiques ou procédurales, en vue d'améliorer leur potentiel enzymatique et de renforcer leur fiabilité en production.

III.1.2. Recherche d'une amylase

D'après les résultats obtenus, **34,21 %** de nos souches bactériennes sont capables d'hydrolyser l'amidon, soit **13** souches sur un total de **38** isolats. Cela indique qu'un peu plus du tiers de notre collection produit une amylase. La présence d'une activité enzymatique se manifeste par la formation d'un halo clair autour de la colonie, observé après l'ajout de lugol (**figure 21**).

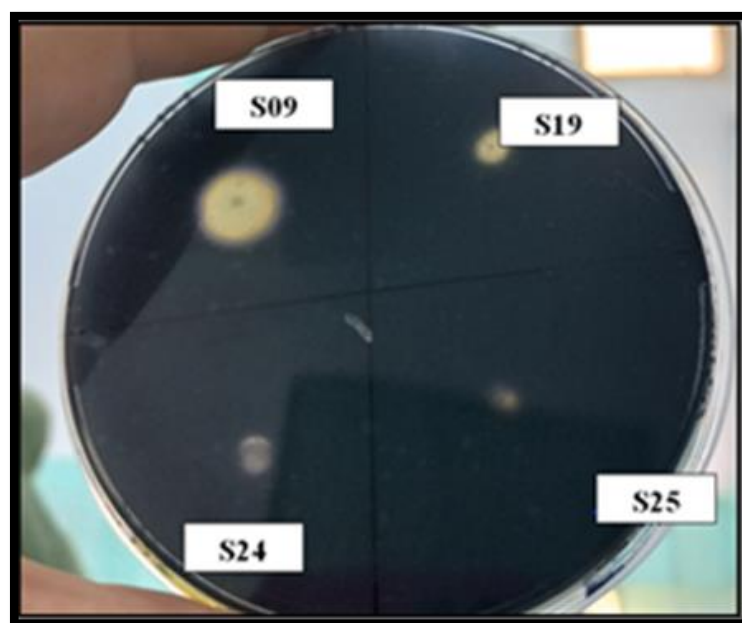


Figure 21: Résultat de l'hydrolyse de l'amylase par les souches **S09**, **S19**, **S24**, **S25**.

Les souches **S09** et **S23** peuvent être considérées comme les plus performantes, présentant des diamètres de zones de clairance de **1,4 cm** et **1,2 cm** respectivement. Ces valeurs demeurent inférieures à celle rapportée dans la littérature, notamment dans l'étude de **Ghazala et al. (2016)**, où la souche la plus active présentait un diamètre de **2 cm**. Cette différence pourrait s'expliquer par la température d'incubation : nos souches ont été incubées à **37 °C**, tandis que celles de l'étude comparative l'ont été à **45 °C**. Il convient de noter que nous n'avons pas pu

évaluer l'activité enzymatique de nos souches à différentes températures. En effet, les conditions de travail au laboratoire d'accueil ne nous ont pas permis de mener des essais à 45 °C, comme dans l'étude de **Ghazala *et al.* (2016)** par exemple, en raison de la forte affluence d'étudiants réalisant leurs projets de fin d'études. Cette contrainte a limité notre capacité à optimiser les conditions expérimentales pour maximiser l'expression enzymatique. Les diamètres des zones d'hydrolyse sont présentés dans la **figure 22**.

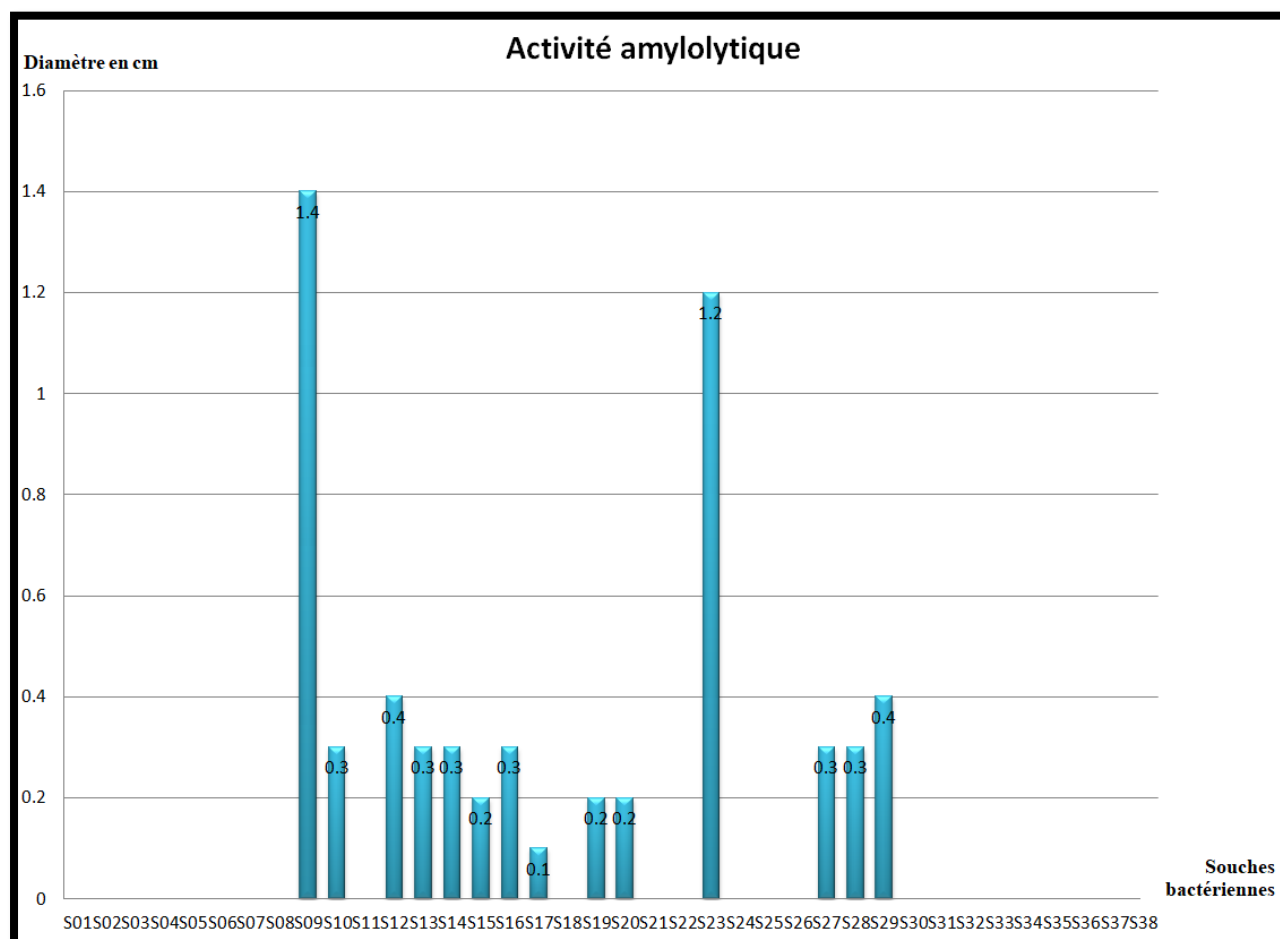


Figure 22: Diamètres des zones d'activité amylolytique chez la collection de souches bactériennes.

L' α -amylase suscite un intérêt croissant en raison de sa capacité à hydrolyser l'amidon, une propriété qui ouvre la voie à de nombreuses applications industrielles. Cette enzyme présente un fort potentiel d'utilisation dans divers secteurs, où elle est déjà largement exploitée (**Sundarram *et Murthy*, 2014**).

Elle est utilisée pour dégrader les particules alimentaires riches en amidon en petits oligosaccharides hydrosolubles. Étant donné que l'amidon peut piéger des particules de saleté

sur les textiles, son élimination est essentielle pour préserver la blancheur et la propreté des tissus (Gupta *et al.*, 2003).

L'utilisation des amylases est également bien établie dans l'industrie agroalimentaire, notamment dans des domaines tels que la brasserie, la boulangerie, la confection de pâtisseries, la production de jus de fruits, ainsi que la fabrication de sirops d'amidon et de compléments digestifs (Bhattacharjee *et al.*, 2012).

Les souches **S9** et **S23** se sont distinguées par leur activité amylase relativement supérieure au sein de notre collection. Elles pourraient de ce fait, faire l'objet de travaux complémentaires pour caractériser leurs amylases et en évaluer la stabilité, la spécificité et l'efficacité dans des conditions industrielles simulées.

III.1.3. Recherche d'une gélatinase

L'activité gélatinase n'est exprimée que par neuf souches bactériennes au sein de notre collection. Toutefois, toutes les souches n'ont pas le même niveau d'activité enzymatique comme l'illustre la **figure 23**.

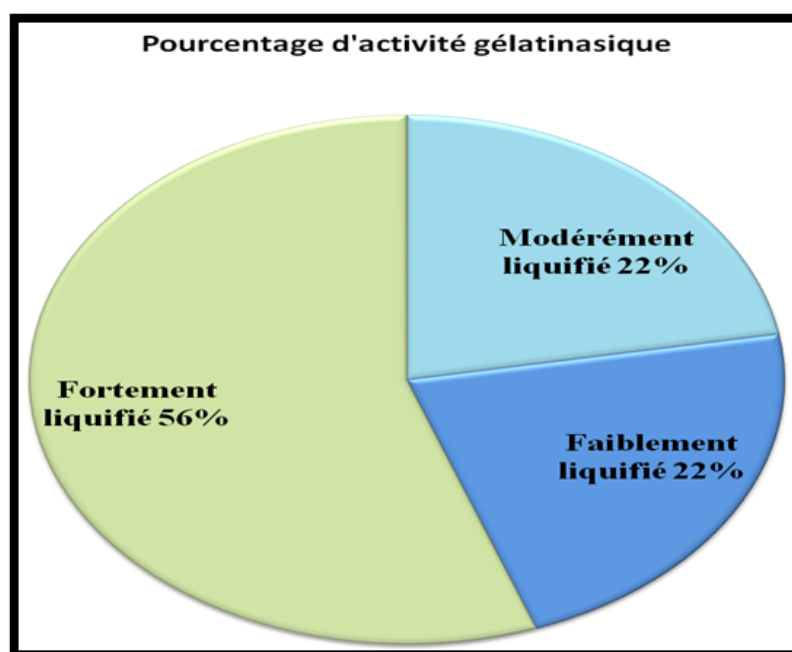


Figure 23: Distribution des souches bactériennes selon leur niveau d'activité gélatinase.

En effet, **56 %** des souches (**S08, S12, S13, S28, et S37**) ont présenté une forte dégradation de la gélatine. Parmi eux les souches (**S12, S13, S28, et S37**) sont les premières souches à montrer une capacité enzymatique à hydrolyser la gélatine après **3 jours** d'incubation (**annexe 05**). Tandis que **22 %** (**S16 et S23**) ont modérément dégradé le milieu, les **22 %** restantes (**S14 et S15**) ont faiblement hydrolysé le milieu. Quelques résultats d'hydrolyse de la gélatine après **7 jours** d'incubation sont représentés dans la **figure 24** ci-après.

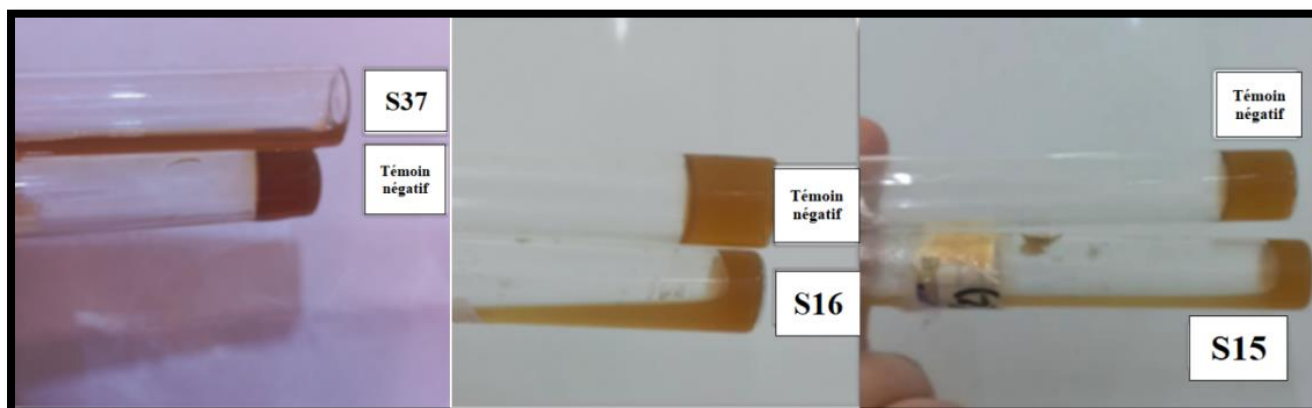


Figure 24: Résultats d'hydrolyse de la gélatine par les souches **S15, S16 et S37** après **7 J**.

Au vu de nos résultats, nous pouvons proposer que les souches **S08, S12, S13, S28 et S37** pourraient être exploitées dans divers domaines, notamment dans l'industrie agroalimentaire pour la dégradation des protéines d'origine animale ou même dans des approches thérapeutiques plus récentes dédiées au traitement du cancer par exemple (**Behram *et al.*, 2023**).

III.1.4. Recherche d'activités lipolytiques

Toutes les activités lipolytiques obtenues sont observées sur un seul milieu à savoir ne gélose à l'œuf. Les résultats des souches présentant des activités lipolytiques sont présentées dans la figure ci-dessous :

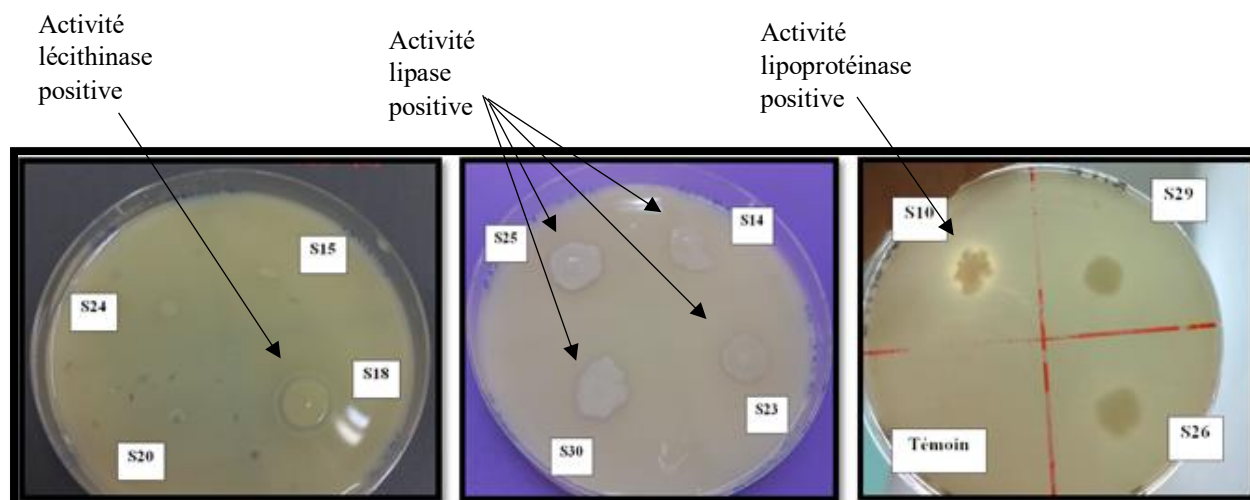


Figure 25 : Résultat des activités lipolytiques des souches S10, S14, S15, S18, S20, S23, S24, S25, S26, S29 et S30.

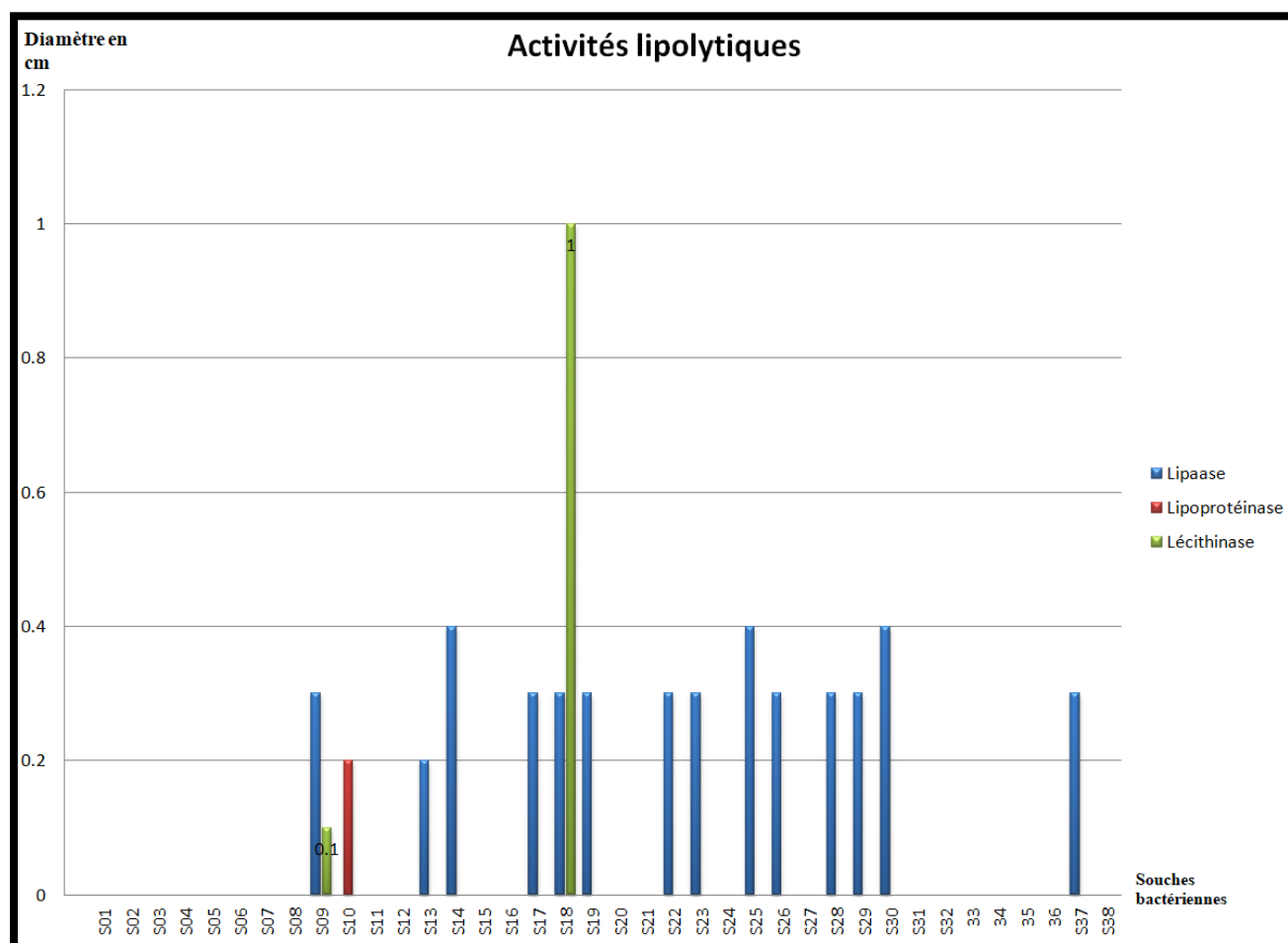


Figure 26: Diamètres des zones d'activités lipolytiques chez la collection de souches bactériennes.

III.1.4.1. Recherche d'une Lécithinase

Selon nos résultat, l'activité Lécithinase est uniquement observée chez **2** souches au sein de notre collection (**figure 26**), ce qui représente **5,26 %** du nombre total des isolats. L'activité se manifeste par la formation d'une zone opaque autour des colonies sur un milieu enrichi en lécithine.

Les diamètres des zones d'opacité varient entre les souches, atteignant **0,1 cm** chez la souche **S09** et **1 cm** chez la souche **S18** (**figure 26**), soit une différence d'un facteur **10** en faveur de **S18** en termes d'activité enzymatique. En d'autres termes, la souche **S18** est **dix fois plus productrice de Lécithinase** que la souche **S09**, et présente un diamètre **trois fois** supérieur aux valeurs rapportées dans l'étude de **Hwang et Park (2015)**, où les zones d'opacité variaient entre **0,1** et **0,3 cm**. Cette différence suggère que certaines de nos souches, notamment la **S18**, pourraient présenter une capacité accrue à produire ou à sécréter une lécithinase, ce qui les rend particulièrement intéressantes pour certaines applications biotechnologiques.

En fait, la lécithinase présente un intérêt en biotechnologie pour produire ou dégrader des liposomes dans certaines expériences. En industries cosmétiques aussi pour produire des nano-émulsions lipidiques assurant une meilleure absorption cutanée. Dans le secteur pharmaceutique, elle est notamment utilisée pour l'hydrolyse des phospholipides dans la production de composés bioactifs (**Titball, 1993**).

III.1.4.2. Recherche d'une Lipase

Nos résultats montrent que la production de lipase a été observée chez **36,84 %** des souches soit **14** sur **38** souches. L'activité enzymatique est indiquée par la formation d'une zone opaque floue autour de chaque colonie lipase positive.

Parmi les souches testées, **S14**, **S25** et **S30** se sont révélées les plus performantes (**figure 25**), présentant des zones d'opacité de **0,4 cm** (**figure 26**). Ce diamètre est inférieur à ceux rapportés dans l'étude de **Adouane et Kichah (2023)**, où la souche la plus performante présentait un diamètre de **3 cm**.

Les lipases sont largement exploitées dans divers secteurs industriels en raison de leur polyvalence. Elles interviennent notamment dans la production de pâte à papier et de papier, la fabrication de détergents, le traitement du cuir, ainsi que dans la biodégradation des plastiques et des polymères (**Chandra et al., 2020**).

Dans les pays développés, leur intégration dans les formulations de détergents est courante, plus de la moitié des produits en contient (**Verma *et al.*, 2012**). Les détergents enrichis en lipases sont particulièrement appréciés pour leur efficacité à température ambiante et leur capacité à préserver les tissus au fil des lavages (**Chandra *et al.*, 2020**).

Dans ce contexte, les lipases dégradent les taches grasses, les rendant plus hydrophiles et donc plus faciles à éliminer lors du nettoyage (**Sharma *et al.*, 2025**).

Elles trouvent également des applications croissantes dans les industries cosmétique et pharmaceutique, notamment pour la production de tensioactifs, de composés aromatiques, ainsi que dans la synthèse de dérivés hydrosolubles du rétinol, obtenus par catalyse enzymatique à l'aide de lipases immobilisées (**Verma *et al.*, 2012**).

Par ailleurs, les lipases sont utilisées dans les procédés de bioremédiation, un domaine émergent de la biotechnologie des lipases. Elles sont notamment employées pour traiter les déchets issus des usines de transformation des lipides (**Verma *et al.*, 2012**).

De plus, ces enzymes peuvent augmenter l'intensité et la blancheur du papier, tout en réduisant l'utilisation de produits chimiques et la pollution des eaux usées. Elles permettent aussi de prolonger la durée de vie des équipements, d'économiser de l'énergie et du temps, et diminuer le coût global de désencrage du papier recyclé (**Chandra *et al.*, 2020**).

III.1.4.3. Recherche d'une lipoprotéinase

Alors qu'au moins deux souches de la collection présentent une activité lipase ou lécithinase, seule la souche **S10** a présenté une activité lipoprotéinase (**figure 26**), avec un halo de transparence mesurant **0,2 cm** de diamètre (**figure 25**). Cette souche bactérienne pourrait être valorisée dans divers domaines : en industrie laitière pour améliorer la texture des fromages et des produits dérivés du lait ; en industrie pharmaceutique pour le ciblage des lipoprotéines tumorales ; ou encore en bioremédiation pour la dégradation de résidus lipidiques dans des environnements contaminés par des huiles industrielles (**Martins *et al.*, 2014 ; Lowet, 2002**).

III.1.5. Recherche d'une estérase

L'activité estérase est détectée chez **57,89 %** des souches ; soit **22** sur **38** souches. Cette activité se traduit par la formation d'un précipité de sels de calcium et d'acides gras autour de la colonie (**figure 27**).

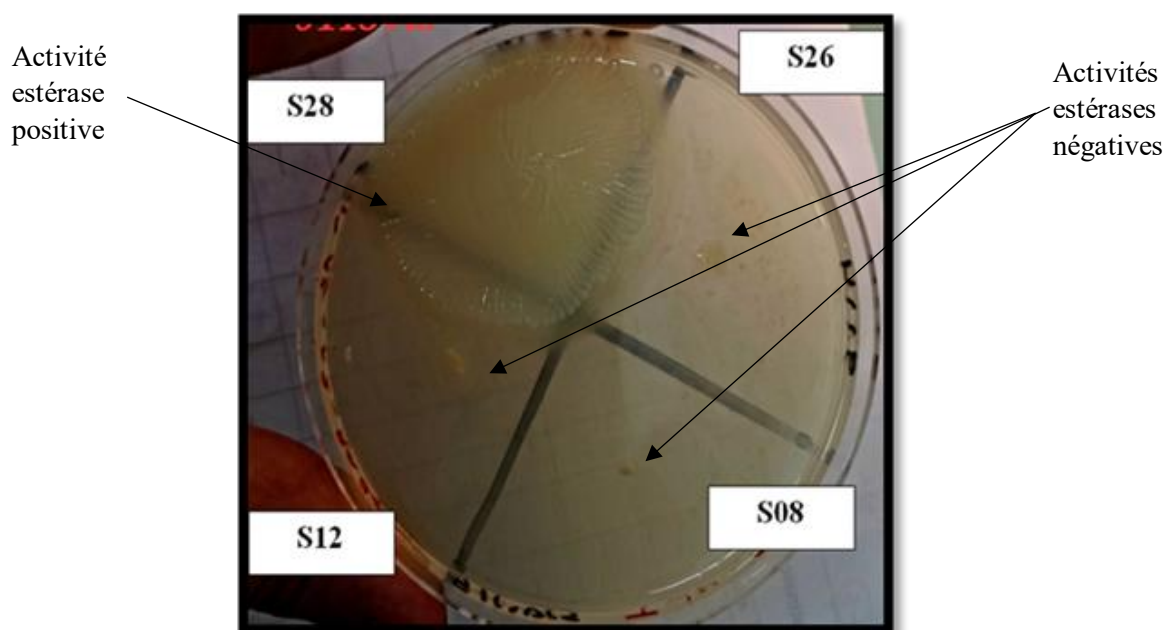


Figure 27: Résultat de la dégradation de **Tween 80** par la souche **S28**.

La souche **S28** est la plus performante de notre collection bactérienne avec un précipité d'un diamètre de **4,1 cm**. Suivie des souches **S17**, **S22** et **S27** avec des diamètres de **3,5 cm**, **3 cm** et **3,6 cm** respectivement (**annexe 05**). Ces diamètres sont supérieurs à ceux rapportés dans des travaux antérieurs notamment dans le travail de **Adouane et Kichah (2023)**, dont la souche la plus performante avait un diamètre de **2 cm** seulement.

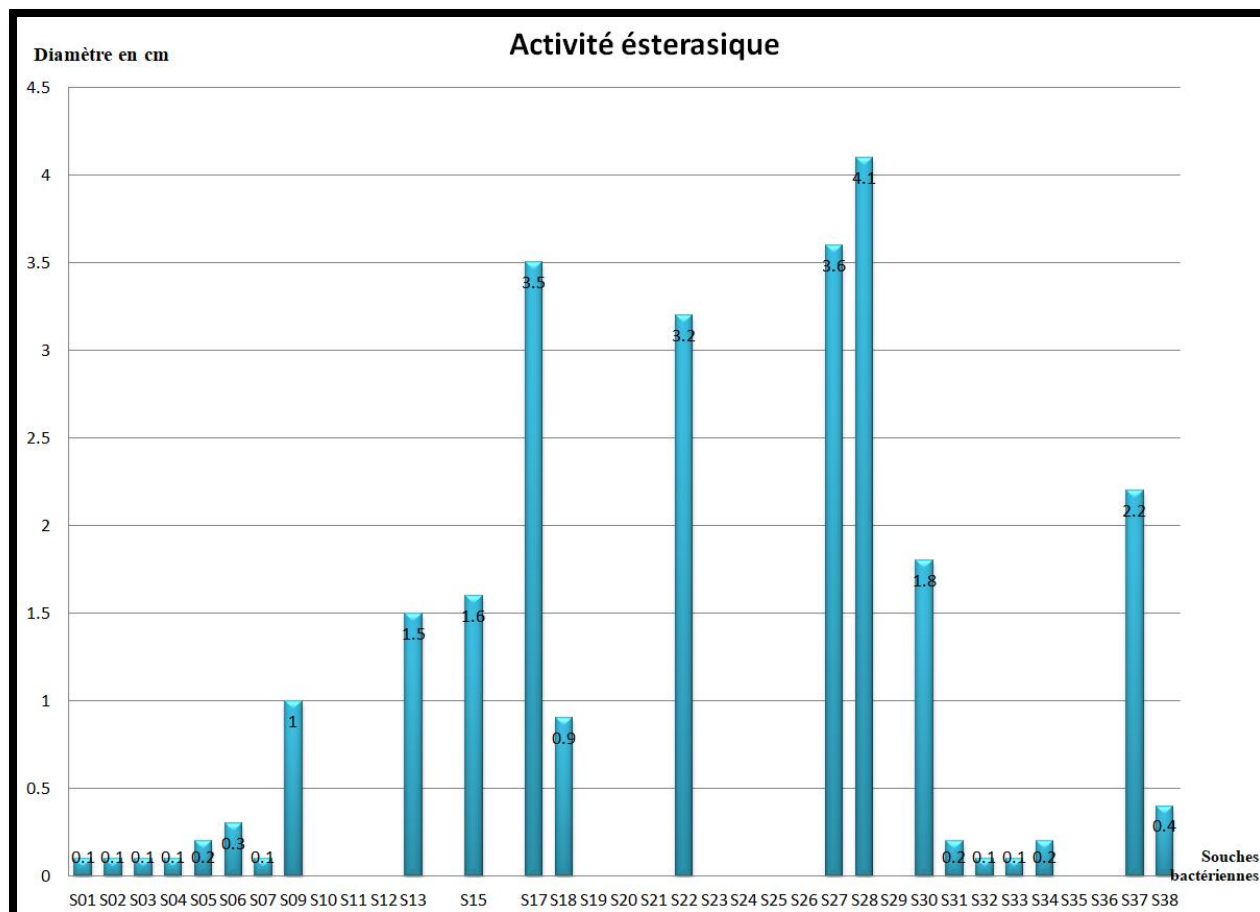


Figure 28: Diamètres des zones des activités estérasiques exprimées par souches bactériennes étudiées.

Cette activité trouve une grande importance dans différentes industries notamment dans l'industrie pharmaceutique où elles jouent un rôle important dans la synthèse des médicaments chiraux mais aussi dans le secteur de la bioremédiation pour la dégradation des produits estérifiés nocifs (Akram *et al.*, 2025).

III.1.6. Recherche d'une pectinase

D'après les résultats obtenus, **26,31 %** de nos souches soit **09** sur **38** souches bactériennes sont capables d'hydrolyser la pectine.

L'activité enzymatique est révélée par la formation d'un halo clair autour des colonies, visible après l'ajout de rouge Congo à **0,02 %** (figure 29)

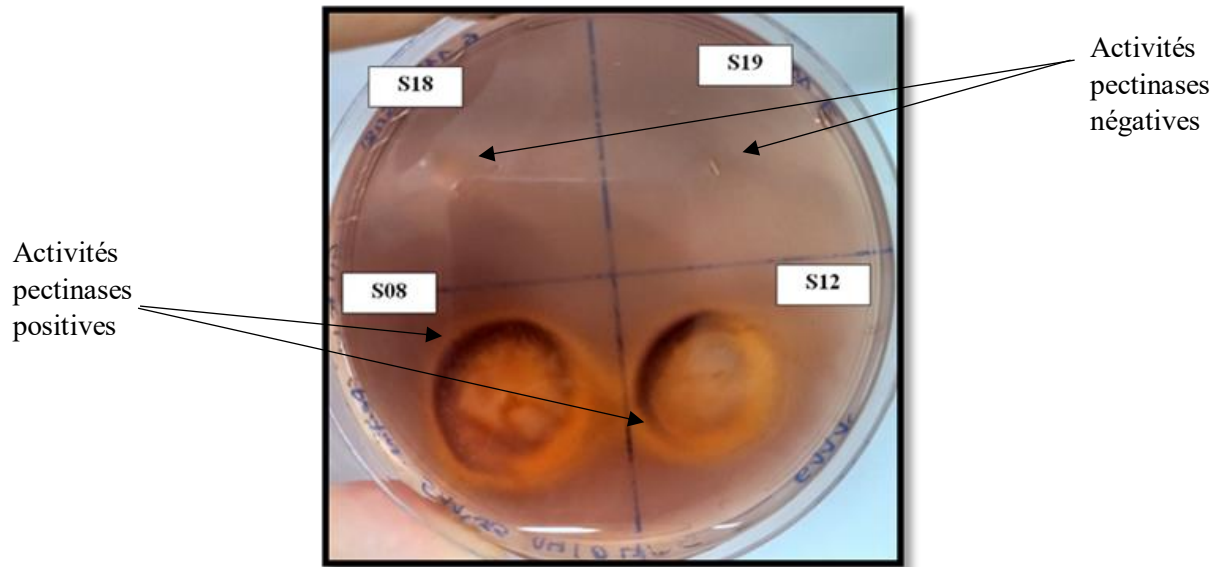


Figure 29: Résultat de l'hydrolyse de la pectine par les souches S08 et S12.

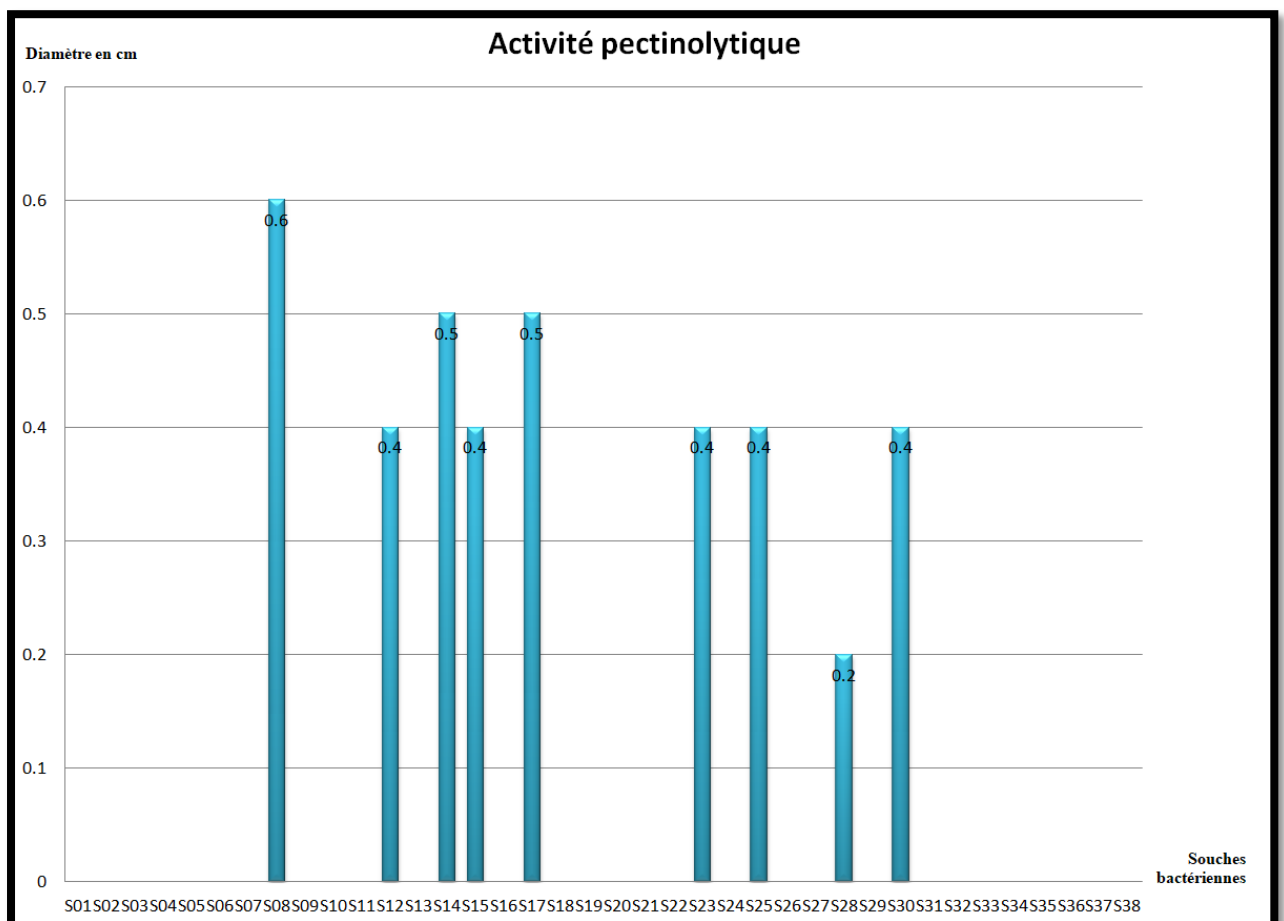


Figure 30: Diamètres des zones des activités pectinolytiques chez les souches pectinase positives.

Certaines de nos souches présentent une activité enzymatique relativement modeste. La souche **S8** se distingue par sa performance, avec une zone de clairance atteignant **0,6cm** de diamètre. Les autres souches présentent des zones de clairance qui varient entre **0,4 cm** et **0,5cm** (**figure 30**). Ces valeurs restent inférieures à celle rapportée dans la littérature, notamment dans l'étude de **Ghazala *et al.* (2016)**, où la souche la plus active présentait un diamètre d'activité de **2,1 cm**.

En réponse à une demande mondiale croissante, de nombreuses recherches visent à optimiser l'activité des pectinases. Leur application varie selon les conditions physiques et couvre divers secteurs industriels, notamment le textile et le traitement des fibres végétales (**Haile et Ayele, 2022**).

Dans l'industrie papetière, les pectinases offrent une alternative écologique aux agents chlorés, réduisant la production de sous-produits toxiques et le jaunissement du papier lié à la présence de pectines. Elles permettent également d'optimiser la qualité de la pâte en dégradant les polymères d'acide galacturonique (**Haile et Ayele, 2022**).

Les pectinases jouent également un rôle reconnu dans le traitement des eaux usées, en contribuant à l'élimination des résidus pectiques présents dans les effluents industriels, ce qui permet de préparer l'eau à un traitement ultérieur par boues activées (**Singh *et al.*, 2012 ; Hoondal *et al.*, 2002**). Les pectinases sont aussi utilisées pour produire des composants alimentaires fonctionnels et des nutraceutiques, ainsi que pour renforcer le potentiel antioxydant des aliments (**Ravindran *et al.*, 2016**).

III.1.7. Recherche d'une xanthanase

D'après les résultats obtenus **13,16 %** ; soit **5** sur **38** souches exprime une xanthanase. Cette activité est indiquée par la formation d'un halo transparent autour des colonies après l'ajout d'une solution de rouge Congo à **0,02 %** (**figure 31**).

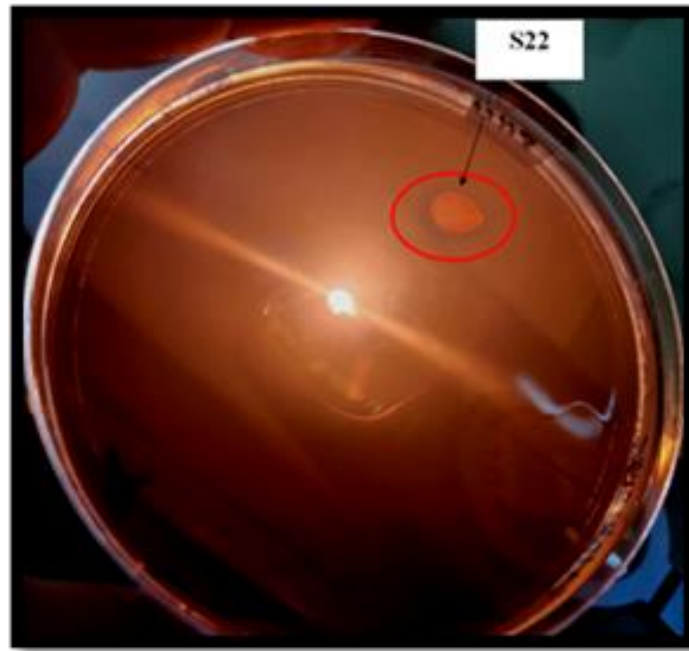


Figure 31: Résultat de l'hydrolyse de xanthane par la souche S22.

La **figure 32** illustre les diamètres des zones des activités xanthanasiques.

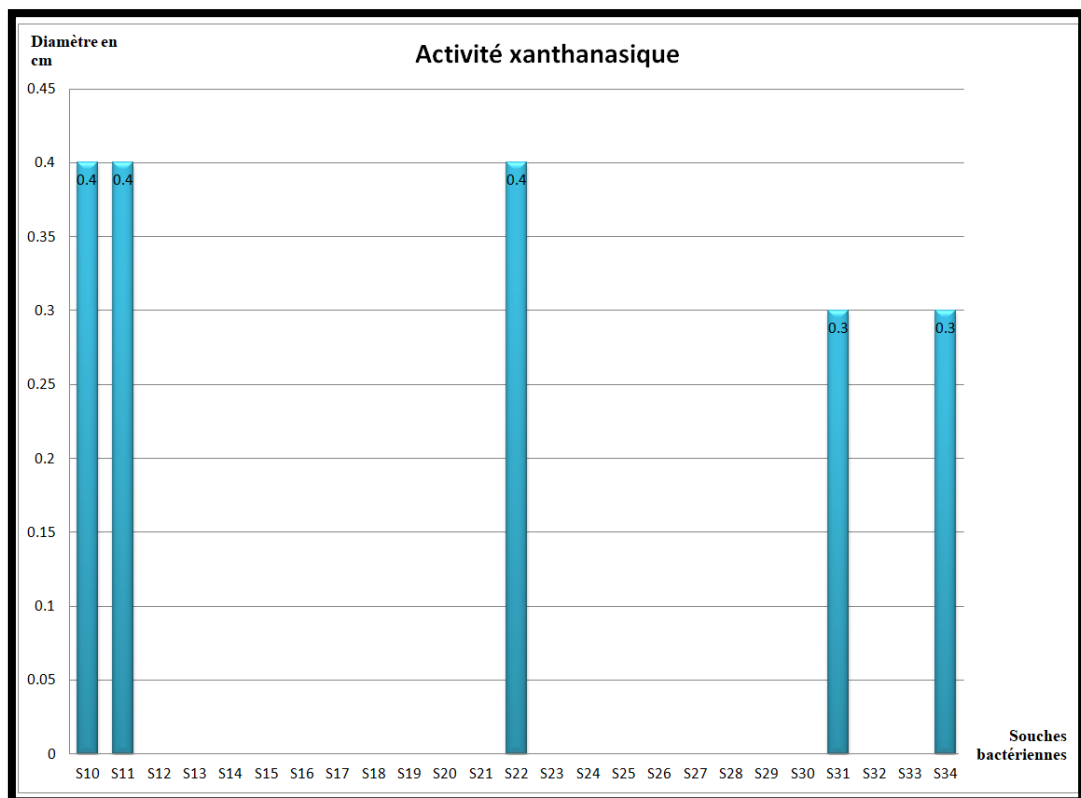


Figure 33: Diamètres des zones de dégradation du xanthane par les souches xanthanase positives.

Parmi les cinq souches xanthanase positives, les souches les plus performantes (**S10, S11 et S22**) présentent des zones transparentes de **0,4 cm** de diamètres (**figure 32**).

Bien que ces diamètres soient inférieurs à ceux rapportés par la littérature scientifique, l'activité détectée reste significative et peut être améliorée entre autre par les modifications des conditions physicochimiques des cultures.

Cette enzyme suscite un intérêt scientifique croissant dans de nombreuses études récentes grâce à son importance et son potentiel d'application dans de nombreuses applications dans des domaines variés (**Berezina et al., 2024**).

Les xanthanases sont utilisées en industrie alimentaire et digestive. L'étude des xanthanases exprimées par des bactéries du microbiote humain, ouvre des perspectives pour l'optimisation de formulations d'additifs alimentaires à base de xanthane (**Ostrowski et al., 2022**). Il est utile de savoir que les xanthanases pourraient être utilisées pour prédigérer partiellement le xanthane dans les aliments transformés. Cela permettrait de réduire l'effet laxatif ou les ballonnements parfois associés à une consommation excessive d'aliment ultra-transformés.

Les xanthanases sont aussi utilisées en biopharmacie dans l'obtention de polymères médicaux utilisés dans le traitement de l'arthrose (**Zhang et al., 2018**) et la production de dérivés de xanthan à activité bioactive utiles dans le développement de traitements anti-inflammatoires (**Wang et al., 2020**).

Dans le secteur d'agriculture, ces enzymes permettent la dégradation et la réduction de la virulence pathogène du xanthane et plusieurs enzymes extracellulaire (protéinase, chitinase, cellulase, pectinase) produits par les phytopathogènes (**Liu et al., 2005 ; Qian et al., 2006, 2007**).

Elles sont aussi utilisées pour la dégradation des déchets contenant du xanthan (produits ménagers, pharmaceutiques ou de films biodégradables) (**Tjon-Joe-Pin et McClung IV, 2018**). Ainsi elle est utilisée dans l'industrie pétrolière dans la diminution de la viscosité des fluides à base de xanthane (forage) et la dégradation des dépôts visqueux ce qui améliore la perméabilité des puits (**Tjon-Joe-Pin et McClung IV, 2018**).

III.2. Profils enzymatiques

Afin d'évaluer le potentiel enzymatique des souches étudiées, nous avons recensé le nombre total d'activités enzymatiques exprimées par chacune d'elles. Cette approche vise à identifier les souches présentant un profil enzymatique particulièrement diversifié, susceptible de les valoriser dans des applications biotechnologiques ciblées.

La **figure 33** illustre la répartition des souches en fonction du nombre d'activités enzymatiques détectées.

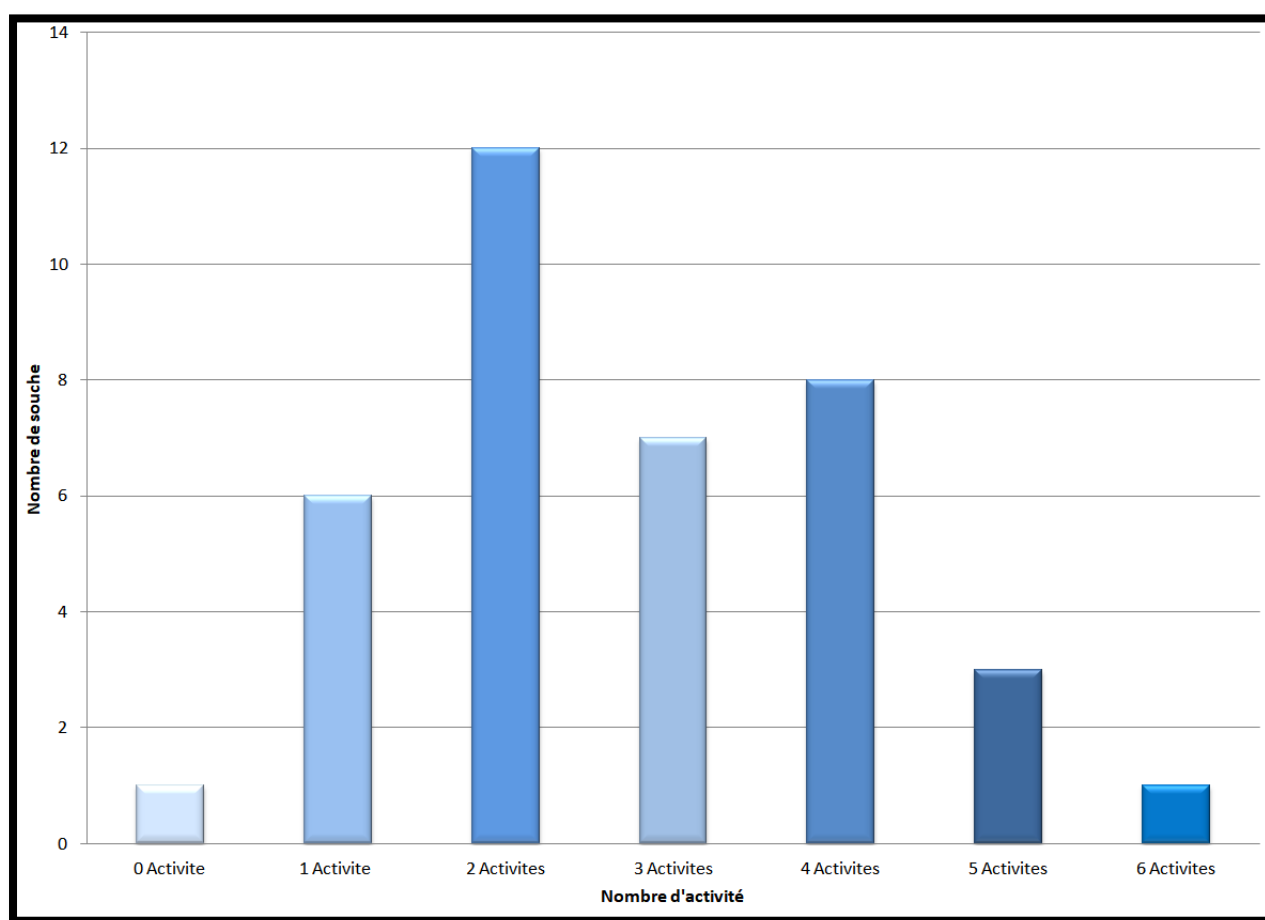


Figure 34: Répartition des souches en fonction du nombre d'activités enzymatiques détectées.

Sur les 38 souches bactériennes étudiées, 47,37 % présentent un profil enzymatique limité, exprimant une à deux activités. Un profil intermédiaire, avec trois à quatre activités, est observé chez 39,47 % des souches. En revanche, seules 10,52 % des souches présentent un profil enzymatique élargi, exprimant cinq à six activités. Une seule souche (2,63 %) ne manifeste aucune activité détectable. Cette absence pourrait refléter une régulation stricte

dépendante de conditions non reproduites en laboratoire. Cette répartition traduit une diversité métabolique marquée par une prédominance de souches faiblement à modérément actives.

Tableau II: Souches ayant exprimé 6 activités enzymatiques.

Souche bactérienne	Caseinase	Gélatinase	Lipase	Lipo-proteïnase	Lécithinase	Pectinase	Estérase	Xanthinase	Amylase
S28	P	P	P	N	N	P	P	N	P

Ces résultats signifient que la souche **S28** peut dégrader plusieurs substrats complexes : Des protéines, des lipides, des polysaccharides et des composés estérifiés (**Tableau III**).

Cette souche pourrait être un candidat prometteur pour des applications dans des domaines différents tels que l'industrie agroalimentaire (**Gupta *et al.*, 2003**). Notamment dans la transformation des aliments, dans le traitement des déchets organiques aussi que dans la bioremédiation. De nos jours, de nombreux produits de lessive contiennent des cocktails d'enzymes, incluant des protéases, amylases, cellulases et lipases (**Verma *et al.*, 2012**). Sa richesse enzymatique lui confère un intérêt dans des études en ingénierie enzymatiques et métabolique en vue d'optimiser ces capacités biologiques naturelles (**Han *et al.*, 2023**).

Tableau IV: Souches ayant exprimé 5 activités enzymatiques

Souche bactérienne	Caseïne	Gélatine	Lipase	Lipo-proteïnase	Lécithinase	Pectinase	Estérase	Xanthinase	Amylase
S09	P	N	P	N	P	N	P	N	P
S13	P	P	P	N	N	N	P	N	P
S23	P	P	P	N	N	P	N	N	P

Les souches **S09**, **S13** et **S23** expriment 5 activités enzymatiques, soit **7,89%**, comme il est indiqué dans le **Tableau V**.

Ces résultats, révèlent une capacité intéressante chez ces trois souches à dégrader divers composés biologiques.

Les souches **S09**, **S13** et **S23** présentent toutes la capacité à dégrader la caséine, les lipides et l'amidon. Cela signifie qu'elles peuvent être utilisées dans des procédés agroalimentaires, industriels ou dans le traitement des déchets organiques (**Gupta et al., 2002**).

Certaines activités sont spécifiques à trois ou deux souches uniquement :

- Les souches, **S13** et **S23** expriment la gélatinase ce qui indique une aptitude à dégrader des protéines animales (**Gupta et al., 2002**).
- La pectinase exprimée chez **S23**, peut être utile dans le traitement des jus (**Haile et al., 2022**)
- L'estérase exprimée chez **S09** et **S13**, indique leur aptitude à dégrader des composés estérifiés notamment dans les domaines de la bioremédiation (**Akram et al., 2025**).

L'analyse des activités bactériennes révèle que **8** souches bactériennes présentent **4** profils enzymatiques. Comme indiqué dans le **Tableau VI**.

Tableau VII: souches ayant exprimé **4** activités enzymatiques.

Souche bactérienne	Caseine	Gélatinase	Lipase	Lipo-proteinase	Lécithinase	Pectinase	Estérase	Xanthanase	Amylase
S10	P	N	N	N	P	N	N	P	P
S12	P	P	P	N	N	P	N	N	N
S14	N	P	P	N	N	P	N	N	P
S15	N	P	N	N	N	P	P	N	P
S17	N	N	P	N	N	P	P	N	P
S30	P	N	P	N	N	P	P	N	N
S22	N	N	N	N	P	P	P	P	N
S37	P	P	P	N	N	N	P	N	N

- La pectinase exprimée chez **6** souches : **S12**, **S14**, **S15**, **S17**, **S22** et **S30** qui peuvent être utiles dans l'industrie agroalimentaire (thé, café, extraction d'huiles) (**Haile et Ayele, 2022**).

- La lipase est exprimée chez **5** souches : **S12, S14, S17, S30** et **S37** conférant la capacité de ses souches à être utilisées dans les industries de traitement lipidique spécifiquement l'hydrolyse des graisses (**Jaeger et Eggert, 2002**) et le domaine agroalimentaire (fromagerie, arômes) (**Hasan et al., 2006**).
- L'estérase est aussi exprimée chez **5** souches : **S15, S17, S22, S30** et **S37**. Suggérant leur utilisation dans l'industrie pharmaceutique (**Akram et al., 2025**).

Certaines activités sont présentes chez **quatre** ou **trois** souches :

- **4** souches (**S10, S14, S15, et S17**) produisent l'amylase : suggérant une application dans l'industrie agroalimentaire surtout dans la transformation et le traitement des produits riches en amidon (**Gupta et al., 2003**).
- La caséinase est exprimée chez **4** souches : **S10, S12, S30** et **S37**. Ces dernières peuvent être utiles dans la valorisation des protéines laitières et la production des peptides bioactifs. (**Gupta et al., 2002 ; Korhonen et Pihlanto, 2006**).
- Les souches **S12,14, S15** et **S37** expriment une gélatinase indiquant une utilité dans la fabrication des détergents (**Gupta et al., 2002**).

Huit (8) souches bactériennes présentent **3** profils enzymatiques, comme il est représenté dans le **Tableau VIII**.

Tableau IX: souches ayant exprimé **3** activités enzymatiques.

Souche bactérienne	Caseinase	Gelatinase	Lipase	Lipo-proteinase	Lecithinase	Pectinase	Esterase	Xanthanase	Amylase
S08	P	P	N	N	N	P	N	N	N
S19	P	N	P	N	N	N	N	N	P
S22	N	N	P	N	N	N	P	P	N
S25	P	N	P	N	N	P	N	N	N
S27	P	N	N	N	N	N	P	N	P
S29	P	N	P	N	N	N	N	N	P
S31	P	N	N	N	N	N	P	P	N
S34	P	N	N	N	N	N	P	P	N

D'après le tableau, les souches **S31** et **S34** partagent la même combinaison enzymatique exprimant toutes les deux une Caséinase, une estérase et une xanthanase suggérant un potentiel d'utilité dans les domaines de la valorisation des protéines laitières et la bioremédiation. (Verma *et al.*, 2012 ; Akram *et al.*, 2025).

La souche **S22** présente un profil très proche en dégradant les esters et le xanthane, mais elle est moins apte à dégrader les protéines avec l'absence d'expression d'une caséinase, ce qui la rend un candidat parfait pour des applications en agriculture (Formulation de biofertilisants), alimentation (Modification de la texture des produits alimentaires) et pharmacie (Synthèse de composés optiquement purs, production de parfums et d'antioxydants) (Akram *et al.*, 2025).

Les souches **S19** et la souche **S29** partagent l'expression de la caséinase, l'amylase et la lipase. De plus, la **S25** partage un potentiel similaire en exprimant la caséinase, la lipase et la pectinase. Ces deux souches ont un potentiel d'utilisation dans la transformation des graisses, les polysaccharides et des protéines, notamment dans l'industrie des textiles (Gupta *et al.*, 2003).

Les souches **S08**, **S22** et **S27** présentent des combinaisons enzymatiques uniques.

- **S08** : Seule avec une caséinase, une gélatinase et une pectinase, indiquant une aptitude à la dégradation de protéines animales et le traitement des résidus végétaux riches en polysaccharides et en industrie textile (dégommage) (Behram *et al.*, 2023).
- **S22** : Unique avec une estérase et une xanthanase la suggérant une utilité dans le traitement des résidus estérifiés en bioremediation et dans l'industrie de cosmétique (Akram *et al.*, 2025).
- **S27** : Seule avec une caséinase, une estérase et une amylase, indiquant une aptitude d'utilisation dans de nombreux produits de lessive contenant des cocktails d'enzymes, incluant des protéases, amylases, et estérases (Verma *et al.*, 2012).

Le tableau suivant présente les souches bactériennes présentant seulement 2 activités enzymatiques :

Tableau X: souches ayant exprimé 2 activités enzymatiques.

Souche bactérienne	Caseinase	Gélatinase	Lipase	Lipo-proteinase	Lécithinase	Pectinase	Estérase	Xanthinase	Amylase
S01	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S02	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S03	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S04	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S05	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S06	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S07	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S16	N	P	N	N	N	N	N	N	P
S18	N	N	N	N	P	N	P	N	N
S26	P	N	P	N	N	N	N	N	N
S32	P	N	N	N	N	N	P	N	N
S33	P	N	N	N	N	N	P	N	N

- Neuf (9) souches bactériennes (**S01, S02, S03, S04, S05, S06, S07, S32 et S33**) produisent uniquement une Caséinase et une estérase indiquant une spécialisation dans la dégradation des protéines laitières et de composés estérifiés (**Rao et al., 1998**).
- Les souches **S16** et **S18**, ainsi que **S26**, ont des combinaisons enzymatiques uniques :
 - **S16** : exprime une gélatinase et une amylase indiquant un potentiel dans le remodelage tissulaire (**Wang et al., 2023**).
 - **S18** : exprime une lécithinase et une estérase indiquant un potentiel dans des applications en lyse cellulaire et extraction de composés intracellulaires, aussi dans l'agriculture, alimentation et en industrie pharmaceutique (**Qiao et al., 2023**).
 - **S26** : exprime une caséinase et une lipase et peuvent être utiles dans la formulation de détergents enzymatiques, valorisation de déchets laitiers et les gras, ainsi que dans l'amélioration de la saveur et de la durée de conservation des produits de boulangerie (**Kumar et al., 2024**).

Ces résultats révèlent une diversité enzymatique variable et suggèrent une hétérogénéité importante au sein de notre collection. Ces souches exprimant une polyvalence en activités pourraient constituer des candidats de choix pour des applications industrielles ou environnementales, notamment dans des procédés multienzymatiques. Inversement, l'absence d'activité chez certaines souches pourrait s'expliquer par des conditions de culture non optimales ou d'un milieu non favorable à leur développement.

Conclusion

Les enzymes bactériennes d'origine aquatique présentent un intérêt particulier pour des domaines tels que la biotechnologie, l'environnement et la santé, en raison de leur stabilité, de leur diversité et de leur spécificité.

Ce travail a permis d'explorer le potentiel enzymatique d'une collection de trente huit souches bactériennes d'origine aquatique, déjà isolées et purifiées par notre promotrice. Dans une perspective de valorisation biotechnologique, et en utilisant des approches microbiologiques classiques, nous avons procédé au criblage de neuf activités enzymatiques extracellulaires, à savoir : une amylase, une caséinase, une estérase, une gélatinase, une lécithinase, une lipase, une lipoprotéinase, une pectinase et une xanthanase.

Ces enzymes ont été choisies pour leur importance dans divers secteurs industriels tels que l'industrie agroalimentaire, les industries pharmaceutique et cosmétique et/ou l'environnement ou encore la bioremédiation.

Nos résultats obtenus ont montré que notre collection de souches bactériennes est susceptible de produire des enzymes extracellulaires présentant un potentiel intéressant d'application en biotechnologies.

Les résultats obtenus mettent en évidence une richesse fonctionnelle remarquable au sein de cette collection, avec **97,37 %** des souches exprimant au moins une activité enzymatique. La caséinase est l'enzyme la plus représentée (**73.68 %** des souches), suivie par l'estérase (**57.89 %**), la lipase (**36,84 %**) et l'amylase (**34.21%**). Cependant, la pectinase (**26,31 %**), gélatinase (**23,68 %**), la xanthanase (**13,16 %**), la lécithinase (**5,26 %**) et la lipoprotéinase (**2,63 %**) sont faiblement exprimées, ce qui suggère une distribution non homogène des capacités métaboliques. Ces données confirment l'intérêt croissant des micro-organismes aquatiques comme source d'enzymes bon marché, indépendante des limites géographiques ou des contraintes climatiques (contrairement aux enzymes d'origines animale ou végétale) notamment pour des procédés enzymatiques qui respectent l'environnement.

L'analyse des profils enzymatiques individuels révèle également une diversité métabolique variable entre les souches: certaines bactéries se révèlent polyvalentes, exprimant jusqu'à six activités enzymatiques, tandis que d'autres, à pouvoir enzymatique plus restreint, n'en expriment qu'une à deux activités. La souche **S28**, exprimant six enzymes, constitue à ce titre un candidat remarquable pour des études plus poussées, notamment en biotransformation ou en production d'enzymes recombinantes. De même, les souches **S09**, **S13** et **S23**, capables de dégrader plusieurs types de substrats (protéines, lipides, polysaccharides), sont prometteuses

pour des applications industrielles diversifiées, y compris dans les formulations de détergents et/ou de compléments enzymatiques.

La diversité des activités observées suggère des applications potentielles variées : transformation des déchets organiques (protéases, estérases), production d'hydrolysats pour l'alimentation fonctionnelle (amylases, caséinases), amélioration de la digestibilité des aliments, valorisation des coproduits agroalimentaires, ou encore réduction de la charge polluante par des enzymes impliquées dans la dégradation de polymères complexes comme la gomme xanthane ou la pectine.

Ce travail constitue une étape préliminaire mais prometteuse dans la valorisation biotechnologique de ressources microbiennes issues d'environnements aquatiques. Dans un contexte de transition écologique et de recherche de solutions durables, la valorisation de bactéries issues de ressources naturelles peu exploitées ouvre des perspectives innovantes. Ce travail montre que ces microorganismes pourraient constituer les biocatalyseurs d'avenir, en phase avec les besoins croissants en alternatives biologiques aux procédés chimiques classiques.

En perspectives, il serait intéressant de :

- ❖ Caractériser biochimiquement les enzymes exprimées : cinétique enzymatique, stabilité thermique, gamme de pH d'activité...etc. Ces données sont essentielles pour orienter une application industrielle concrète.
- ❖ Optimiser les conditions de culture (pH, température, sources de carbone/azote) pour maximiser l'expression enzymatique des souches d'intérêt, notamment celles aux profils polyvalents.
- ❖ Rechercher de nouvelles activités enzymatiques présentant un potentiel industriel au sein de notre collection de souches telles que la cellulase, la kératinase, la tyrosinase, la mannanase et la xylanase.
- ❖ Séquencer les génomes des souches les plus actives dans le but d'identifier les gènes codants des enzymes et évaluer leur potentiel d'exploitation via des systèmes d'expression hétérologues.

Références bibliographiques

A

- Abdul Hussein, N. N., Ibrahim, A. I., Kamar, F. H., & Nechifor, A. C. (2020). Caseinase production and media optimization from *Bacillus subtilis*. *Revista de Chimie*, 71. <https://doi.org/10.37358/Rev.Chim.1949>
- Adouane, O., & Kichah, A. (2023). *Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie*.
- Adrio, J., & Demain, A. (2014). Microbial enzymes: Tools for biotechnological processes. *Biomolecules*, 4(1), 117–139. <https://doi.org/10.3390/biom4010117>
- Akram, F., Fatima, T., Shabbir, I., Haq, I. U., Ibrar, R., & Mukhtar, H. (2025). Abridgement of microbial esterases and their eminent industrial endeavors. *Molecular Biotechnology*, 67(3), 817–833. <https://doi.org/10.1007/s12033-024-01108-7>
- Alves, P. D., Siqueira, F. de F., Facchin, S., Horta, C. C., Victória, J. M., & Kalapothakis, E. (2014). Survey of microbial enzymes in soil, water, and plant microenvironments. *The Open Microbiology Journal*, 8, 25–31. <https://doi.org/10.2174/1874285801408010025>
- Ashraf, S., Soudi, M. R., & Ghadam, P. (2017). Production of xanthanases by *Paenibacillus* spp.: Complete xanthan degradation and possible applications. *Iranian Journal of Biotechnology*, 15(2), 120–127. <https://doi.org/10.15171/ijb.1477>

B

- Barzkar, N., & Sohail, M. (2020). An overview on marine cellulolytic enzymes and their potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 6873–6892. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10754-4>
- Behram, T., Pervez, S., Nawaz, M. A., Ahmad, S., Jan, A. U., Rehman, H. U., Ahmad, S., Khan, N. M., & Khan, F. A. (2023). Development of pectinase-based nanocatalyst by immobilization of pectinase on magnetic iron oxide nanoparticles using glutaraldehyde as crosslinking agent. *Molecules*, 28(1). <https://doi.org/10.3390/molecules28010404>
- Benammar, L., İnan Bektaş, K., Menasria, T., Beldüz, A. O., Güler, H. I., Bedaida, I. K., ... & Ayachi, A. (2020). Diversity and enzymatic potential of thermophilic bacteria associated with terrestrial hot springs in Algeria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 1987–2007.

- Berezina, O. V., Rykov, S. V., Schwarz, W. H., & Liebl, W. (2024). Xanthan: Enzymatic degradation and novel perspectives of applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1). <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13016-6>
- Bernardo, R., Hongying, S., Fabio, P., & Antonio, G. J. (2018). Plant viral proteases: Beyond the role of peptide cutters. *Frontiers in Plant Science*, 9, 666. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00666>
- Bhattacharjee, I., Mazumdar, D., & Saha, S. P. (2012). Microbial amylases and their potential application in industries: A review. *Structure*, 18, 19–20.
- Bornscheuer, U. T. (2002). Microbial carboxyl esterases: Classification, properties and application in biocatalysis. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(1), 73–81. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00601.x>

C

- Cadmus, M. C., Slodki, M. E., & Nicholson, J. J. (1989). High-temperature, salt tolerant xanthanase. *Journal of Industrial Microbiology*, 4(2), 127–133. <https://doi.org/10.1007/BF01569797>
- Chandra, P., Enespa, Singh, R., & Arora, P. K. (2020). Microbial lipases and their industrial applications: A comprehensive review. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 169. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8>
- Chen, G., & Jiang, X. (2018). Next generation industrial biotechnology based on extremophilic bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 50, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.11.018>
- Cunha, A., Almeida, A., Coelho, F. J. R. C., Gomes, N. C. M., Oliveira, V., & Santos, A. L. (2010). Bacterial extracellular enzymatic activity in globally changing aquatic ecosystems. In A. Méndez-Vilas (Ed.), *Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology* (Vol. 1, pp. 124–135). Formatex Research Center.

D

- Dela Cruz, T. E. E., Martin, J., & Torres, O. (2016). *Gelatin Hydrolysis Test Protocol*.

- Dvořák, P., Nikel, P. I., Damborský, J., & de Lorenzo, V. (2017). Bioremediation 3.0: Engineering pollutant-removing bacteria in the times of systemic biology. *Biotechnology Advances*, 35(7), 845–866. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.08.001>
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., & Stackebrandt, E. (Eds.). (2006). *The prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria* (3rd ed., Vols. 1–7). Springer Science+Business Media. <https://doi.org/10.1007/0-387-30743-5>

E

- Élie, F. (2022). *Notions sur les enzymes et coenzymes*. <http://fred.elie.free.fr>

F

- Fasiku, S. A., Ogunsola, O. F., Fakunle, A., & Olanbiwoninu, A. A. (2020). Isolation of bacteria with potential of producing extracellular enzymes (amylase, cellulase, and protease) from soil samples. *Journal of Advances in Microbiology*, 20(3), 21–26. <https://doi.org/10.9734/JAMB/2020/v20i330224>
- Fetzner, S., & Steiner, R. A. (2010). Cofactor-independent oxidases and oxygenases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(3), 791–804. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2455-0>

G

- Garg, G., Singh, A., Kaur, A., Singh, R., Kaur, J., & Mahajan, R. (2016). Microbial pectinases: An ecofriendly tool of nature for industries. *3 Biotech*, 6, Article 47. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0371-7>
- Ghazala, I., Haddar, A., Romdhane, M. B., & Ellouz-Chaanouni, S. (2016). Screening and molecular identification of new microbial strains for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, e16150252. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150152>
- Grivalský, T., Bučková, M., Puškárová, A., Kraková, L., & Pangallo, D. (2016). Water-related environments: A multistep procedure to assess the diversity and enzymatic

properties of cultivable bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32, Article 82. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2039-2>

- Gupta, R., Beg, Q., & Lorenz, P. (2002). Bacterial alkaline proteases: Molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(1), 15–32. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-0975-y>
- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., & Chauhan, B. (2003). Microbial α -amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38(11), 1599–1616. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00053-0)
- Gurung, N., Ray, S., Bose, S., & Rai, V. (2013). A broader view: Microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. *BioMed Research International*, 2013, Article 329121. <https://doi.org/10.1155/2013/329121>

H

- Haile, S., & Ayele, A. (2022). Pectinase from microorganisms and its industrial applications. *Scientific World Journal*, 2022, Article 1389706. <https://doi.org/10.1155/2022/1389706>
- OHaile, S., Masi, C., & Tafesse, M. (2022). Isolation and characterization of pectinase-producing bacteria (*Serratia marcescens*) from avocado peel waste for juice clarification. *BMC Microbiology*, 22(1), Article 186. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02536-8>
- Han, T., Nazarbekov, A., Zou, X., & Lee, S. Y. (2023). Recent advances in systems metabolic engineering. *Current Opinion in Biotechnology*, 84, 103004. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.103004>
- Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235–251. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.016>
- Hmidet, N., Ali, N. E. H., Haddar, A., Kanoun, S., Alya, S. K., & Nasri, M. (2009). Alkaline proteases and thermostable α -amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1: Characterization and potential application as detergent additive. *Biochemical Engineering Journal*, 47(1–3), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.06.002>

- Hoondal, G. S., Tiwari, R. P., Tewari, R., Dahiya, N., & Beg, Q. K. (2002). Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: A review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 409–418. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1061-1>
- Hou, C. T., Barnabe, N., & Greaney, K. (1986). Purification and properties of a novel xanthan depolymerase from a salt-tolerant bacterial culture, HD1. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(1), 37–44. <https://doi.org/10.1128/aem.52.1.37-44>
- Hou, C., & Barnabe, N. (1987). Xanthan-degrading enzymes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 506(1), 551–553. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1987.tb23786.x>
- Hussein, N. N. A., Ibrahim, A. I., Kamar, F. H., & Nechifor, A. C. (2020). Caseinase production and media optimization from *Bacillus subtilis*. *Revista de Chimie*, 71(11), 1–9. <https://doi.org/10.37358/Rev.Chim.1949>
- Hwang, J.-Y., & Park, J.-H. (2015). Characteristics of enterotoxin distribution, hemolysis, lecithinase, and starch hydrolysis of *Bacillus cereus* isolated from infant formulas and ready-to-eat foods. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1652–1660. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9042>

J

- Jaeger, K. E., & Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390–397. [https://doi.org/10.1016/s0958-1669\(02\)00341-5](https://doi.org/10.1016/s0958-1669(02)00341-5)
- Jain, A., & Tailor, V. (2020). Emerging trends of biotechnology in marine bioprospecting: A new vision. In *Marine Niche: Applications in Pharmaceutical Sciences: Translational Research*.
- Jayani, R. S., Saxena, S., & Gupta, R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, 40(9), 2931–2944. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.026>
- Johnson, D. R., Goldschmidt, F., Lilja, E. E., & Ackermann, M. (2012). Metabolic specialization and the assembly of microbial communities. *ISME Journal*, 6(11), 1985–1991. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.46>

K

- Kamble, P., & Vavilala, S. L. (2018). Discovering novel enzymes from marine ecosystems: A metagenomic approach. *Botanica Marina*, 61(2), 161–175. <https://doi.org/10.1515/bot-2017-0091>
- Kapoor, M., & Gupta, M. N. (2012). Lipase promiscuity and its biochemical applications. *Process Biochemistry*, 47(4), 555–569. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.01.009>
- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9), 945–960. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.012>
- Kumar, A., Dhiman, S., Krishan, B., Samtiya, M., Kumari, A., Pathak, N., Kumari, A., Aluko, R. E., & Dhewa, T. (2024). Microbial enzymes and major applications in the food industry: A concise review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 6(1), Article 18. <https://doi.org/10.1186/s43014-024-00261-5>
- Kurbanova, M. I., & Maslennikova, V. A. (2014). Acid hydrolysis of casein. *Foods and Raw Materials*, 2(1), 27–30. https://www.researchgate.net/publication/275611883_Acid_Hydrolysis_of_Casein

L

- Liu, Y., Tang, H., Lin, Z., & Xu, P. (2015). Mechanisms of acid tolerance in bacteria and prospects in biotechnology and bioremediation. *Biotechnology Advances*, 33(7), 1484–1492. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.06.001>
- Lowet, M. E. (2002). The triglyceride lipases of the pancreas. *Journal of Lipid Research*, 43(12), 2007–2016. <https://doi.org/10.1194/jlr.R200012-JLR200>

M

- Maldonado-Ruiz, K., Pedroza-Islas, R., & Pedraza-Segura, L. (2024). Blue biotechnology: Marine bacteria bioproducts. *Microorganisms*, 12(4), Article 697. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040697>
- Martins, M. L., Pinto, U. M., Riedel, K., & Vanetti, M. C. D. (2015). Milk-deteriorating exoenzymes from *Pseudomonas fluorescens* 041 isolated from refrigerated raw milk.

Brazilian Journal of Microbiology, 46(1), 207–217. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246120130859>

- McDonald, A. G., & Tipton, K. F. (2021). Enzyme nomenclature and classification: The state of the art. *The FEBS Journal*, 290(9), 2214–2231. <https://doi.org/10.1111/febs.16274>

N

- Nigam, P. (2013). Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules*, 3(4), 597–611. <https://doi.org/10.3390/biom3030597>

O

- Okpara, M. O. (2022). Microbial enzymes and their applications in food industry: A mini-review. *Advances in Enzyme Research*, 10(1), 23–47. <https://doi.org/10.4236/aer.2022.101002>
- Ostrowski, M. P., La Rosa, S. L., Kunath, B. J., Robertson, A., Pereira, G., Hagen, L. H., ... & Martens, E. C. (2022). Mechanistic insights into consumption of the food additive xanthan gum by the human gut microbiota. *Nature Microbiology*, 7(4), 556–569. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01093-0>

P

- Pathade, A., Kadole, S. R., & Jadhav, A. (2024). Isolation and characterization of gelatinase enzyme-producing microorganisms from soil for industrial applications. *Bulletin of Pure and Applied Sciences – Zoology*, 43B(1s), 461–474.

Q

- Qian, F., An, L., He, X., Han, Q., & Li, X. (2006). Antibacterial activity of xantho-oligosaccharide cleaved from xanthan against phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Process Biochemistry*, 41(7), 1582–1588. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.014>
- Qian, F., An, L., Wang, M., Li, C., & Li, X. (2007). Isolation and characterization of a xanthan-degrading *Microbacterium* sp. strain XT11 from garden soil. *Journal of Applied Microbiology*, 102(5), 1362–1371. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03215.x>

- Qiao, J., Yang, D., Feng, Y., Wei, W., Liu, X., Zhang, Y., Zheng, J., & Ying, X. (2023). Engineering a *Bacillus subtilis* esterase for selective hydrolysis of d,l-menthyl acetate in an organic solvent-free system. *RSC Advances*, 13(16), 10468–10475. <https://doi.org/10.1039/d3ra00490b>

R

- Rabbani, G., & Ahn, S. N. (2018). Structure, enzymatic activities, glycation and therapeutic potential of human serum albumin: A natural cargo. *International Journal of Biological Macromolecules*, 110, 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.053>
- Rahmati, F. (2017). Characterization of *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Saccharomyces* isolated from Iranian traditional dairy products for potential sources of starter cultures. *AIMS Microbiology*, 3(4), 815–825. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.4.815>
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597–635. <http://mmbr.asm.org/>
- Ravindran, R., Sharma, S., & Jaiswal, A. K. (2016). Enzymes in processing of functional food ingredients and nutraceuticals. In A. K. Jaiswal (Ed.), *Food processing for increased quality and safety*.
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., & Ashraf, M. (2019). Microbial proteases applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, Article 110. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00110>
- Rebello, S., Anju, M., Aneesh, E. M., Sindhu, R., Binod, P., & Pandey, A. (2017). Recent advancements in the production and application of microbial pectinases: An overview. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 16, 381–394. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9442-1>
- Robinson, P. K. (2015). Enzymes: Principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, 59, 1–41. <https://doi.org/10.1042/bse0590001>
- Robinson, S. L., Piel, J., & Sunagawa, S. (2021). A roadmap for metagenomic enzyme discovery. *Natural Product Reports*, 38(11), 1994–2023. <https://doi.org/10.1039/d1np00006c>

S

- Saggu, S. K., Jha, G., & Mishra, P. C. (2019). Enzymatic degradation of biofilm by metalloprotease from *Microbacterium* sp. SKS10. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, Article 192. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00192>
- Sathya, R., & Ushadevi, T. (2014). Industrially important enzymes producing *Streptomyces* species from mangrove sediments. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(10), 233–237.
- Sayali, K., Sadichha, P., & Surekha, S. (2013). Microbial esterases: An overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(7), 135–146.
- Saxena, S. (2015). Microbial enzymes and their industrial applications. In *Applied Microbiology* (pp. 121–154).
- Sharma, D., Bhardwaj, K. K., & Gupta, R. (2021). Immobilization and applications of esterases. *Biocatalysis and Biotransformation*, 40(3), 153–168. <https://doi.org/10.1080/10242422.2021.2013825>
- Sharma, N., Ahlawat, Y. K., Stalin, N., Mehmood, S., Morya, S., Malik, A., Malathi, H., Nellore, J., & Bhanot, D. (2025). Microbial enzymes in industrial biotechnology: Sources, production, and significant applications of lipases. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 52, kuaf010. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuaf010>
- Sharma, S., Kumawat, K. C., Kaur, P., Kaur, S., & Gupta, N. (2024). Crop residue heterogeneity: Decomposition by potential indigenous ligno-cellulolytic microbes and enzymatic profiling. *Current Research in Microbial Sciences*, 6, 100227. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2023.100227>
- Singh, A., Yadav, R. D., Kaur, A., & Mahajan, R. (2012). An ecofriendly cost-effective enzymatic methodology for deinking of school waste paper. *Bioresource Technology*, 120, 322–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.015>
- Singh, R. S., Singh, T., & Pandey, A. (2019). Microbial enzymes—An overview. In R. S. Singh, T. Singh, & A. Pandey (Eds.), *Advances in Enzyme Technology* (pp. 1–40). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7>
- Sun, Q., Chen, F., Geng, F., Luo, Y., Gong, S., & Jiang, Z. (2018). A novel aspartic protease from *Rhizomucor miehei* expressed in *Pichia pastoris* and its application on meat tenderization and preparation of turtle peptides. *Food Chemistry*, 245, 570–577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.113>

- Sundarram, A., & Murthy, T. P. K. (2014). α -Amylase production and applications: A review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(4), 166–175. <https://doi.org/10.12691/jaem-2-4-10>

T

- Tavano, O. L., Berenguer-Murcia, A., Secundo, F., & Fernandez-Lafuente, R. (2018). Biotechnological applications of proteases in food technology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 412–436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12326>
- Thapa, S., Li, H., Hair, J., Bhatti, S., Chen, F.-C., Al Nasr, K., Johnson, T., & Zhou, S. (2019). Biochemical characteristics of microbial enzymes and their significance from industrial perspectives. *Molecular Biotechnology*, 61, 579–601. <https://doi.org/10.1007/s12033-019-00187-1>
- Thapa, S., Mishra, J., Arora, N. K., Mishra, P., Li, H., O'Hair, J., & Zhou, S. (2020). Microbial cellulolytic enzymes: Diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19, 317–340. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09536-y>
- Titball, R. W. (1993). Bacterial phospholipases C. *Microbiological Reviews*, 57(2), 347–366. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mr.57.2.347-366.1993>
- Tiwari, S. P., Srivastava, R., Singh, C. S., Shukla, K., Singh, R. K., Singh, P., Singh, R., Singh, N. L., & Sharma, R. (2015). Amylases: An overview with special reference to alpha amylase. *Journal of Global Biosciences*, 4(SI 1), 1886–1901.
- Tjon-Joe-Pin, R., & McClung, G. L. (2018). *Production of xanthan-degrading enzymes and methods of use*. World Intellectual Property Organization.

V

- Verma, N., Thakur, S., & Bhatt, A. K. (2012). Microbial lipases: Industrial applications and properties (a review). *International Research Journal of Biological Sciences*, 1(8), 88–92.

W

- Wang, Z., Yang, Q., Wang, X., Li, R., Qiao, H., Ma, P., Sun, Q., & Zhang, H. (2020). Antibacterial activity of xanthan-oligosaccharide against *Staphylococcus aureus* via targeting biofilm and cell membrane. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 539–544. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.044>
- Wang, Y., Wang, J., Yan, Z., Liu, S., & Xu, W. (2023). Potential drug targets for asthma identified in the plasma and brain through Mendelian randomization analysis. *Frontiers in Immunology*, 14, Article 1240517. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1240517>
- Welch, K., Cai, Y., & Strømme, M. (2012). A method for quantitative determination of biofilm viability. *Journal of Functional Biomaterials*, 3(2), 418–431. <https://doi.org/10.3390/jfb3020418>
- Windish, W. W., & Mhatre, N. S. (1965). Microbial amylases. In W. W. Umbreit (Ed.), *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 7, pp. 273–304). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70389-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70389-7)
- Yang, F., Li, H., Sun, J., Guo, X., Zhang, X., Tao, M., Chen, X., & Li, X. (2019). Novel endotype xanthanase from xanthan-degrading *Microbacterium* sp. strain XT11. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 66(3), 348–356. <https://doi.org/10.1002/bab.1747>

Z

- Zhang, J., Li, W., Chen, J., Qi, W., Wang, F., & Zhou, Y. (2018). Impact of biofilm formation and detachment on the transmission of bacterial antibiotic resistance in drinking water distribution systems. *Chemosphere*, 203, 368–380. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.143>
- Zhurishkina, E. V., Eneyskaya, E. V., Shvetsova, S. V., Yurchenko, L. V., Bobrov, K. S., & Kulminskaya, A. A. (2023). Whole-cell PVA cryogel-immobilized microbial consortium LE-C1 for xanthan depolymerization. *Catalysts*, 13(9), Article 1249. <https://doi.org/10.3390/catal13091249>

Annexes

Annexe 01

Tableau XI: Substrats enzymatiques

Substrat	Enzyme cherchée	lieu d'obtention
Amidon	Amylase	Superette
Lait 100% écrémé (Candia)	Caséinase	superette
Tween 80	Estérase	Magasin de la faculté
Gélatine bovine	Gélatinase	Superette
Jaune d'œuf	Lécithinase	Superette
	Lipase	
	Lipoprotéinase	
Pectine jaune	Pectinase	Superette
Gomme de Xanthane	Xanthanase	Laboratoires Venus

Matériel non-biologique

- **Milieux de culture de base :**
 - Gélose nutritive ordinaire
- **Substrats enzymatiques :**
 - Tween 80
- **Réactifs de révélation :**
 - Lugol
 - Solution de Rouge Congo 0,02%
 - Solution de NaCl 1M
 - Solution Saline 0,85% NaCl
- **Verrerie et instruments de laboratoire :**
 - Boîtes de Pétri stériles
 - Pipettes Pasteur

- Anse métallique
- Tubes à essai
- Flacon
- Epprouvettes
- Fioles jaugées
- Béchers
- Micropipettes
- Embouts stériles
- Seringues stériles

- **Equipements de laboratoires :**

- Bec bunsen
- Balance électrique
- Agitateur magnétique
- Bain marie
- Bain glace
- Étuve incubatrice à 37C
- Autoclave
- Réfrigérateur
- Hotte microbiologique

Annexe 02

Composition des milieux de culture de base

- **Gélose Nutritif :**

Agar	20g
Peptone	5g
Extrait de levure	3g
Eau distillée	1000ml

- **Composition des milieux de culture spécifiques**

- **Milieu Gélose à amidon :**

Amidon	1 g (1%)
Gélose nutritive	2,8 g
Eau distillée	100 ml

- **Milieu Gélose au lait totalement écrème :**

Lait.....	20 ml (10%)
Gélose nutritive	180ml

- **Milieu Gélose au Tween 80 :**

Tween 80	1 ml (1%)
Peptone	1g
CaCl ₂	0.03g
Agar.....	1,5 g
NaCl	0.5 g

Eau distillée100 ml

- **Milieu Gélose à la gélatine:**

Gelatine

.....24g(24%)

Extrait de levure.....0.4g

Peptone..... 0.5g

Eau distillée100ml

- **Milieu Gélose à l'œuf :**

Jaune d'œuf5ml(5%)

Solution saline stérile5ml

Gélose nutritive.....180ml

- **Milieu Pectine-agar :**

Pectine.....1g(1%)

Gélose nutritive.....2,8g

Eau distillée100ml

- **Milieu Gélose au Xanthane :**

Xanthane0,6g (0,6%)

Extrait de levure0,05g

Agar1,5g

Eau distillée100ml

Annexe 03

Composition de solution de révélation

- **Solution de rouge Congo:**

Poudre du rouge Congo.....0.4g

Eau distillée.....200ml

- **Solution Saline 1M :**

NaCl.....11.69g

Eau distillée.....200ml

Annexe 04

Tableau XII: Résultats des activités : Amylase, caséinase, estérase, lécithinase, lipase, lipoprotéinase, pectinase et xanthanase

Souche	Caseinase	Lecithinase	Lipoproteinase	Lipase	Amylase	Esterase	Pectinase	Xanthanase
S01	0.3	-	-	-	-	0.1	-	-
S02	0.2	-	-	-	-	0.1	-	-
S03	0.1	-	-	-	-	0.1	-	-
S04	0.2	-	-	-	-	0.1	-	-
S05	0.2	-	-	-	-	0.2	-	-
S06	0.2	-	-	-	-	0.3	-	-
S07	0.2	-	-	-	-	0.1	-	-
S08	0.4	-	-	-	-	-	0.6	-
S09	0.3	0.1	-	0.3	1.4	1	-	-
S10	0.2	-	0.2	-	0.3	-	-	0.4
S11	-	-	-	-	-	-	-	0.4
S12	0.3	-	-	-	0.4	-	0.4	-
S13	0.5	-	-	0.2	0.3	0.8	-	-
S14	-	-	-	0.4	0.3	-	0.5	-
S15	-	-	-	-	0.2	0.8	0.4	-
S16	-	-	-	-	0.3	-	-	-
S17	-	-	-	0.3	0.1	3.5	0.5	-
S18	-	1	0.5	0.3	-	0.7	-	-
S19	0.6	-	-	0	0.2	-	-	-
S20	-	-	-	0.2	0.2	-	-	-
S21	0.3	-	-	-	-	-	-	-
S22	-	-	-	0.3	-	3.2	0.4	0.4
S23	0.5	-	-	0.3	1.2	-	0.4	-
S24	-	-	-	-	-	-	-	-
S25	0.4	-	-	0.4	-	-	0.4	-
S26	0.1	-	-	0.3	-	-	-	-
S27	0.4	-	-	-	0.3	3.6	-	-
S28	0.5	-	-	0.3	0.3	4.1	0.2	-
S29	0.6	-	-	0.3	0.4	-	-	-
S30	0.3	-	-	0.4	-	1.8	0.4	-
S31	0.2	-	-	-	-	0.2	-	0.3
S32	0.2	-	-	-	-	0.1	-	-
S33	0.2	-	-	-	-	0.1	-	-
S34	0.1	-	-	-	-	0.2	-	0.3
S35	0.1	-	-	-	-	-	-	-
S36	0,2	-	-	-	-	-	-	-
S37	0.2	-	-	0.3	-	2.2	-	-
S38	-	-	-	-	-	0.4	-	-

Annexe 05

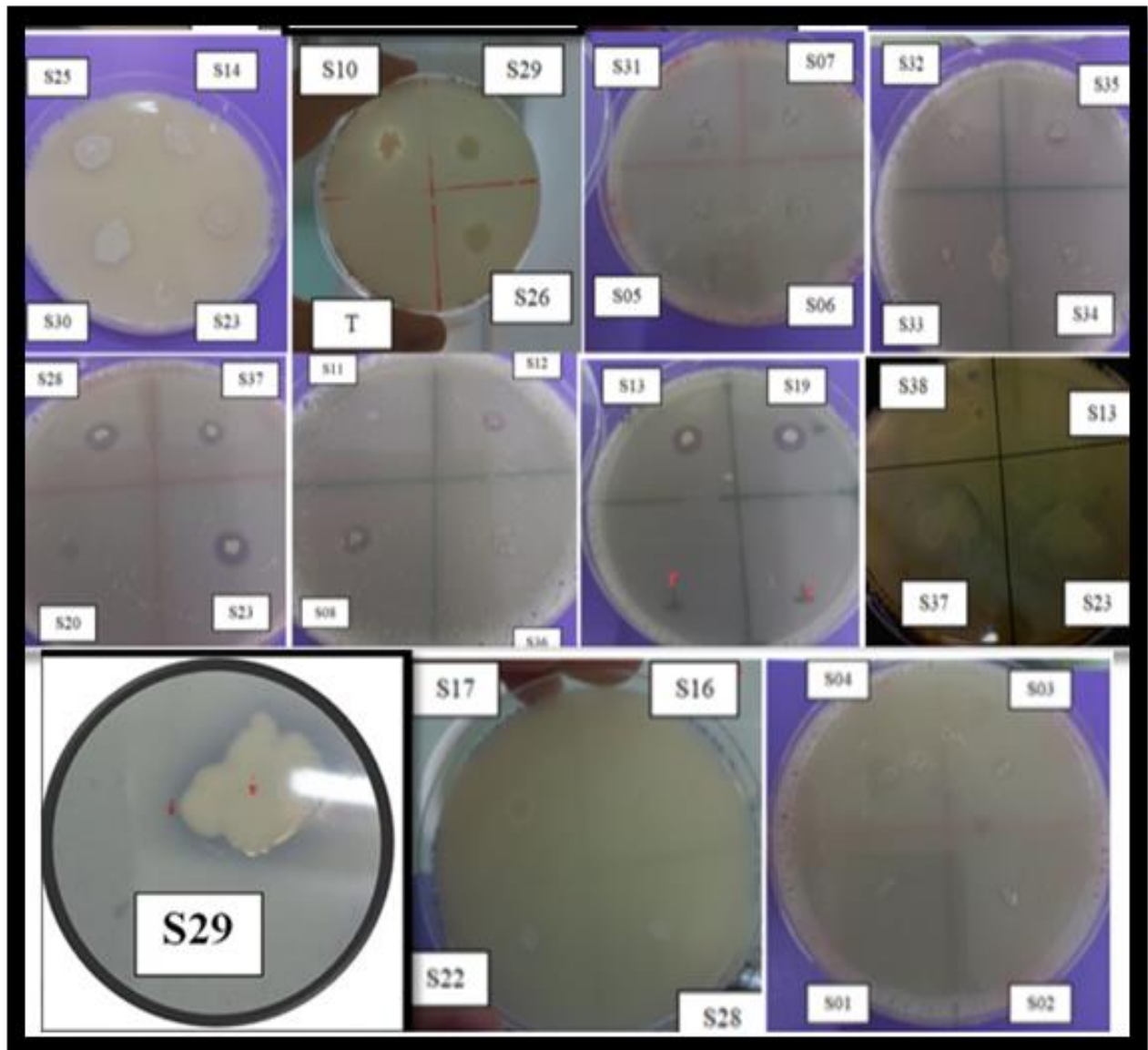


Figure 35: Résultats d'activité d'activité caséinase des souches bactériennes.

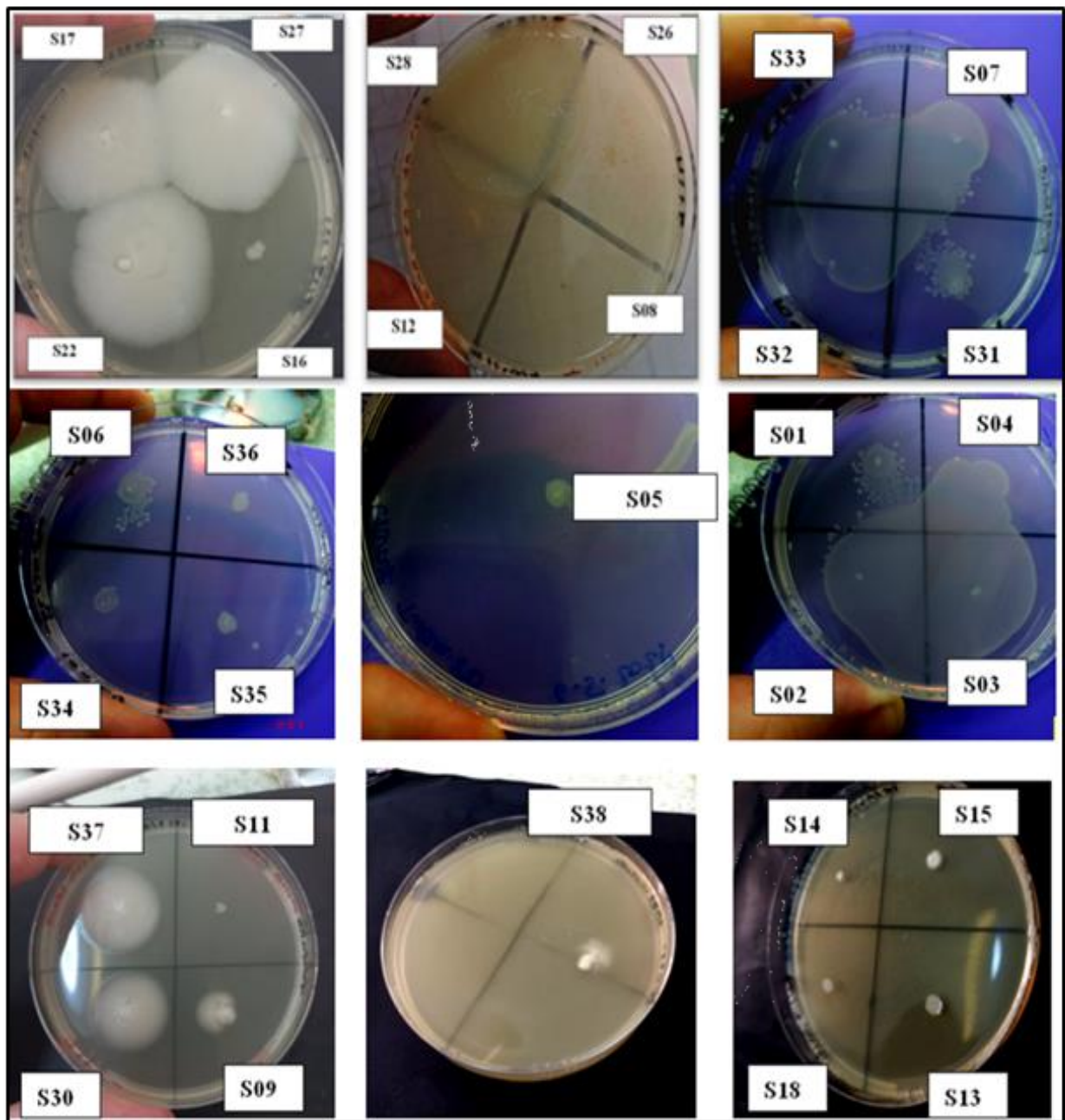


Figure 36: Résultats d'activité d'activité estérase des souches bactériennes

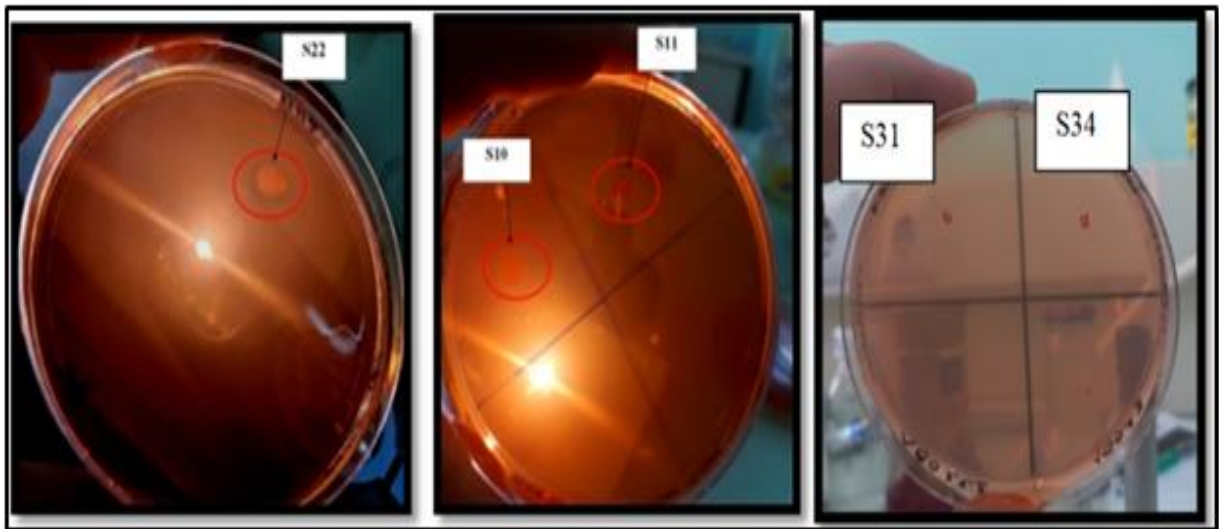


Figure 37: Résultats d'activité d'activité xanthanase des souches bactériennes

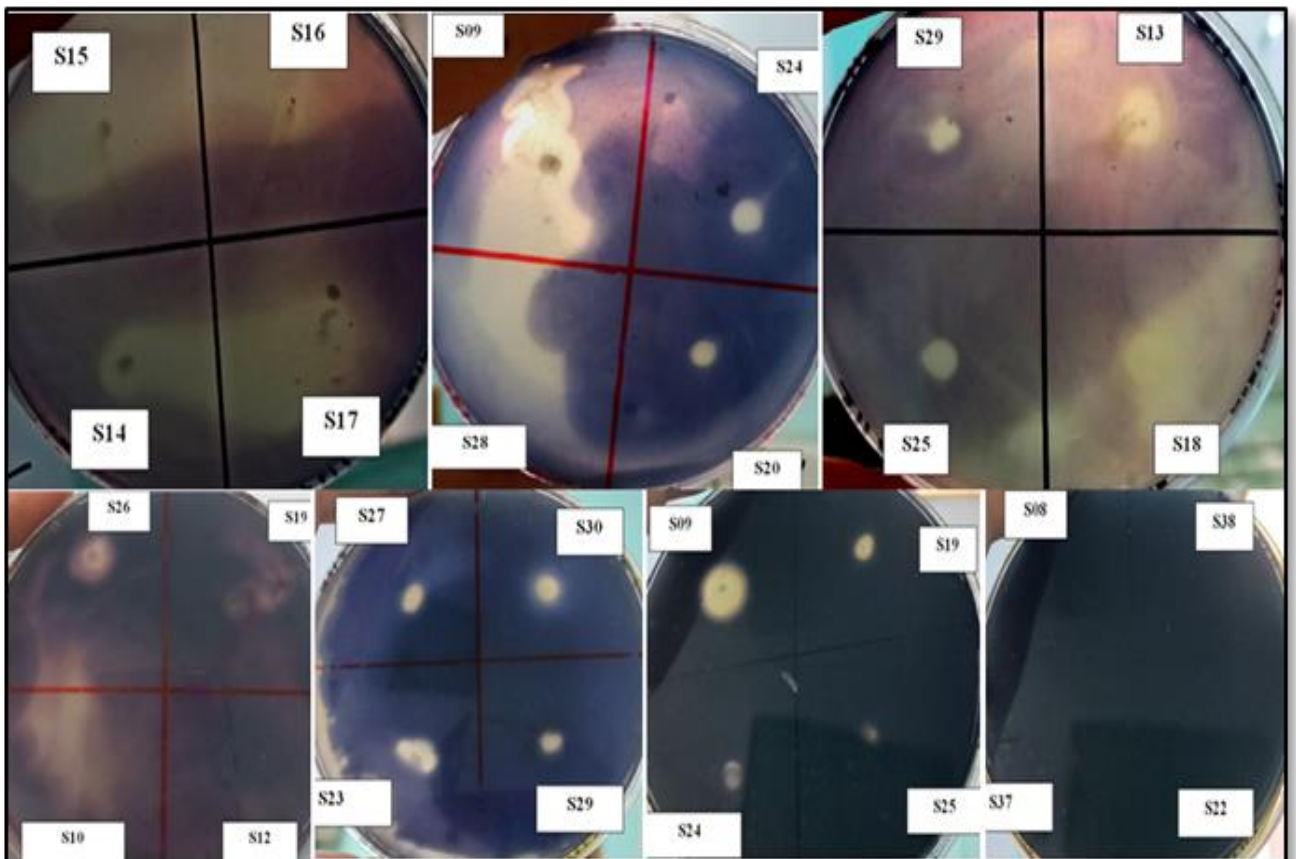


Figure 38: Résultats d'activité d'activité amylase des souches bactériennes

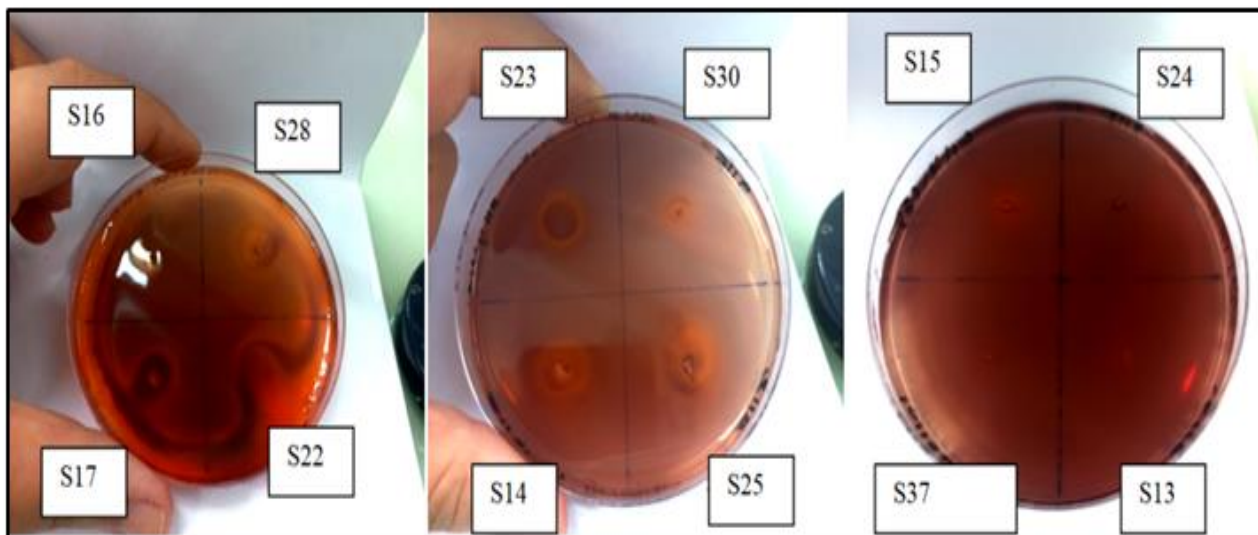


Figure 39: Résultats d'activité d'activité pectinase des souches bactériennes

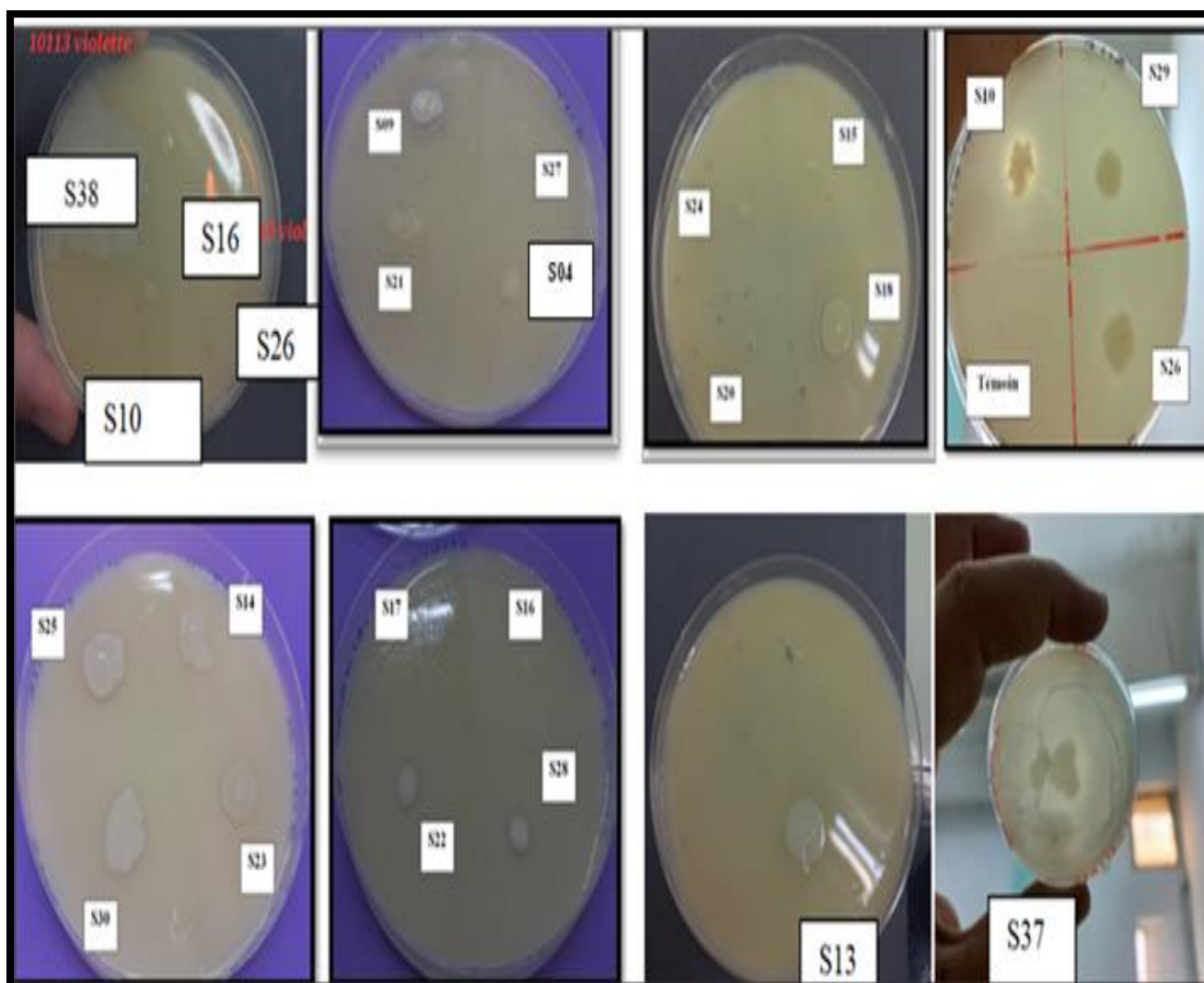


Figure 40: Résultats des activités lipolytiques des souches bactériennes.

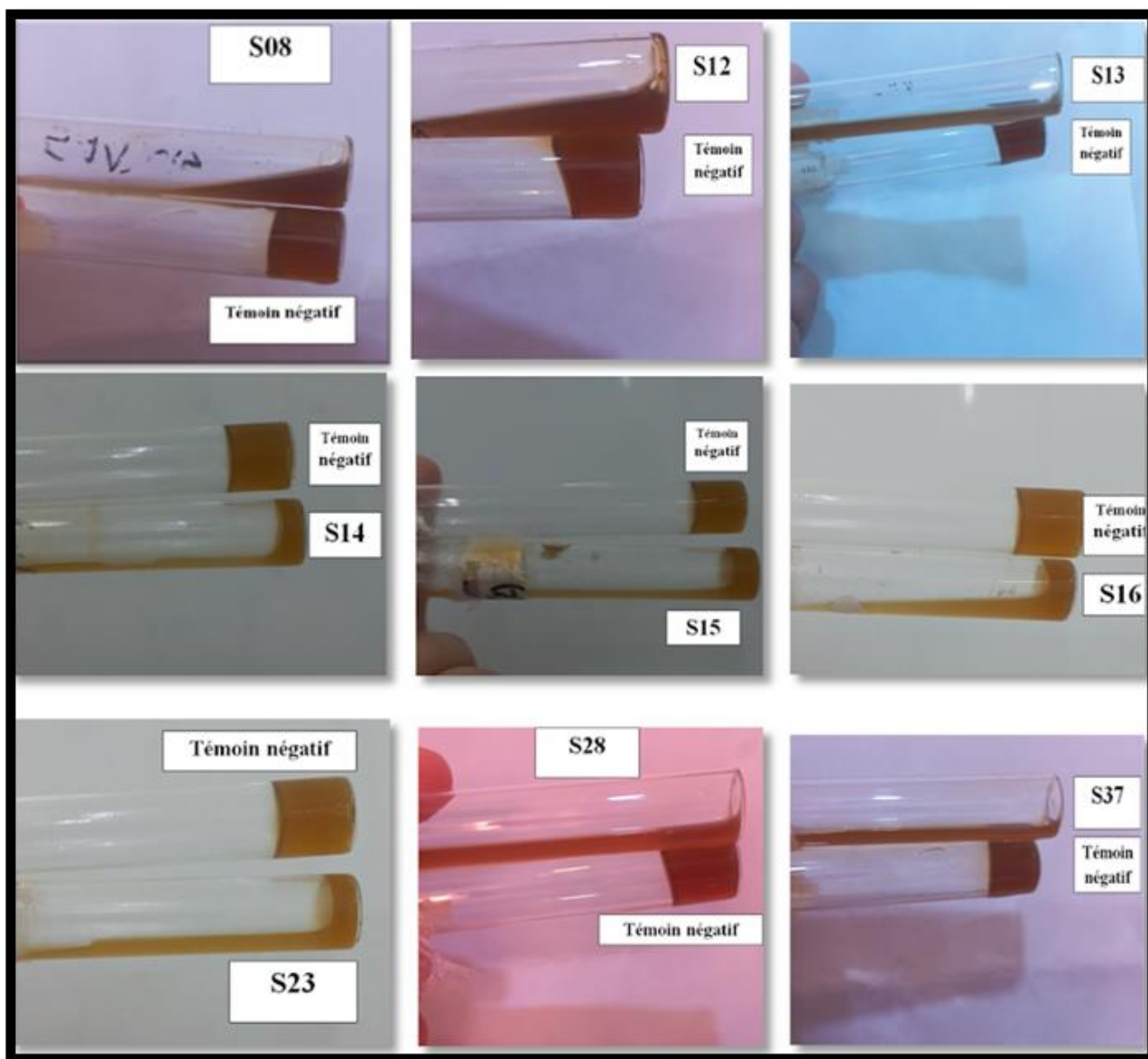


Figure 41: Résultats d'activité gélatinase des souches bactériennes.

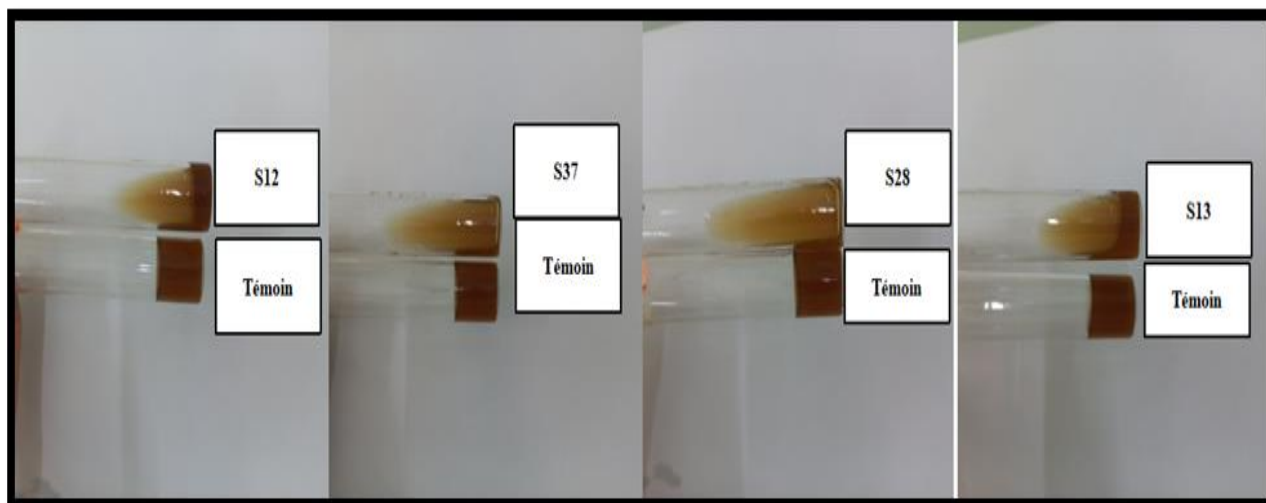


Figure 42: Résultats d'hydrolyse de la gélatine par les souches **S12**, **S13**, **S28** et **S37** après 3

J.

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Saad Dahlab Blida 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : BIOCHIMIE

Thème :

**Etude des profils enzymatiques d'une collection de
souches bactériennes pour des perspectives
d'applications en biotechnologies, environnement et
santé.**

Présenté par :

BOULNADJAT Meriem

DENDANI Randa

Devant le Jury :

Mme SAIDI F.

Professeur/USDB1

Présidente

Mme TALEB M.

MCA/USDB1

Examinatrice

Mme TOBAL S.

MAA/USDB1

Promotrice

Année universitaire : 2024/2025

Dr. Taleb M.