

Valorisation des sous produits d'agrumes : production d'enzymes pectinolytiques par bioconversion

N. Bouhadi^{1,2}, A. Nouani^{1,3}, N. Benmalek¹, A. Benchabane³

¹Laboratoire de Recherche de Technologie Alimentaire « LRTA » Université de Boumerdes (Algérie).

²Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC), Bou-Ismaïl, Tipaza (Algérie).

³Laboratoire de Recherche de technologie alimentaire et de nutrition humaine, ENSA (Algerie)

*Corresponding author : bouhadin2@gmail.com

ARTICLE INFO

Article History

Received : 14/01/2016

Accepted : 15/02/2016

Key Words / Mots clés

Pectinases ;
Aspergillus niger ;
fermentation sur milieu
solide ;
résidus d'orange.

pectinases ;
Aspergillus niger ;
Solid-state fermentation ;
Orange wastes.

ABSTRACT / RESUME

Résumé : Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des sous-produits agricoles générés par l'industrie agroindustrielle des entreprises algériennes. L'impact socioéconomique et environnemental est important suivi d'une plus-value avantageuse avec l'utilisation des produits à bas prix pour la production de produits valorisables recherchés dans le domaine alimentaire. Un des aspects très étudiés et démontre tout l'intérêt des recherches menés a travers le monde sont les enzymes d'intérêt technologique obtenu par fermentation. Ainsi, Un essai de production de pectinases par Aspergillus niger en milieu solide à base des résidus d'oranges a été réalisé. Une activité maximale (32,41U/ml) de l'endoPG après 72h a été enregistrée et (20,66U/ml) après 144h pour l'exo polygalacturonase. Les caractéristiques des pectinases produites montrent un pH optimum de 3,8 et une température optimale de 35°C. L'exo PG est inhibée par les cations Ca^{+2} .

Abstract: This work focused on the valorization of agricultural by-products generated by Algerian industry. The socioeconomic and environmental impact is important follow-up of an advantageous capital gain (increase in value). This is available with the use of products recoverable having low cost in the fabrication of products looked for in the food industry. One of the most studied aspects that interests the technological researches over the world are the enzymes obtained by fermentation. Thus a pectinase production test by Aspergillus niger in solid state based orange wastes was carried out. Maximum activity (32,41U / ml) after 72 hours was recorded for endoPG, and (20,66U / ml) after 144h for exoPG. The characteristics of the pectin produced show an optimum pH of 3.8 and an optimum temperature of 35 ° C. The exoPG is inhibited by Ca^{+2} cations.

I. Introduction

Les enzymes ont un double rôle en technologie alimentaire. D'une part, elles sont les catalyseurs de la cellule vivante, en accélérant les nombreuses réactions métaboliques des matières végétales et animales et en rendant ainsi possible la synthèse de

nos aliments, d'autre part, elles sont utilisées comme auxiliaires technologiques pour accroître la qualité des produits [1]. Ainsi, les enzymes produites à grande échelle sont principalement des enzymes extracellulaires qui dégradent des polymères naturels tels que les amidons, les pectines, les celluloses et les protéines [1]. De ce

groupe, se dégagent les enzymes pectinolytiques ou pectinases qui sont un groupe hétérogène d'enzymes qui hydrolysent les substances pectiques produites par les plantes supérieures et les micro-organismes [2]. Dans ce sens, la plupart des préparations commerciales de pectinases sont d'origine fongique, *Aspergillus* est le genre le plus communément utilisé pour la production d'enzymes pectinolytiques particulièrement avec l'espèce *niger*. Les préparations des pectinases à partir de cette moisissure contiennent les polygalacturonases, les pectinéméthyl estérases et les pectines lyases.

Ces enzymes trouvent une très large application dans l'industrie agro-alimentaire dont la principale utilisation est la clarification de jus de fruits. En effet, l'industrie des jus de fruits utilise souvent des pectinases isolées du genre *Aspergillus* et la première application remonte aux années 1930 pour la clarification du jus de pomme [3].

L'addition de pectinases au jus permet d'augmenter le rendement, d'améliorer l'extraction, d'hydrolyser les substances pectiques en suspension et d'abaisser la viscosité, donc, faciliter la filtrabilité des jus. De ce fait, les écorces d'orange, qui contiennent une quantité appréciable de pectines, peuvent être employées comme substrat pour la production de pectinases par des microorganismes[4]. Sur la base de ces données, l'objectif du présent travail est de produire les pectinases par *Aspergillus niger* par fermentation sur milieu solide en utilisant les résidus d'orange comme substrat de base et la mesure des activités suivie d'une caractérisation partielle de l'enzyme produite.

II. Matériels and methods

II.1. Matériel végétal

Les écorces d'orange ont été récupérées des ménages après extraction de leur jus, elles sont séchées à une température de 50°C puis broyées et tamisées dans une tamiseuse de type Endecotts (EFL 2000) pour obtenir des particules ayant des diamètres compris entre 0,2 et 0,8 mm.

II.1.1. Caractérisation du matériel végétal

Les paramètres physicochimiques déterminés sont la matière sèche : (NF V 05-108,1970), l'acidité titrable : (NF V 05-101,1974), les cendres: (NF V 05-113,1972), le pH (NF V 05-108, 1970), le °Brix (NF V 05 -109,1970), les substances pectiques[5], les sucres totaux et réducteurs par la Méthode de *Somogyi –Nelson*[6].

II.2. Matériel biologique

II.2.1. Préparation de l'inoculum

L'ensemencement de la souche d'*Aspergillus* a été réalisé dans des boîtes de Pétri sur gélose PDA et incubées à 35°C pendant cinq jours. Après

incubation, les spores formées sont libérées à l'aide d'une solution diluée de tween 80 (0,01%) et la suspension est récupérée dans un pot stérile. 10ml d'inoculum sont ajoutés dans conditions d'asepsie au milieu de fermentation préalablement stérilisé, composé de 65g de la poudre de résidus d'orange enrichis par une solution composée de : 0,3% d'urée, 0,65% de KH₂PO₄, 1,26% de (NH₄)₂SO₄, 0,02% de MgSO₄ et 0,029% de FeSO₄. Le milieu est incubé à 35°C pendant 144h.

II.2.2. Extraction de l'enzyme

100ml d'eau distillée stérile sont ajoutés à la totalité du produit fermenté. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un agitateur secoueur pendant 30 min puis filtré pour éliminer les spores et les particules solides du milieu. Le filtrat est ensuite clarifié par centrifugation à 10000 tr/min pendant 20 min. L'analyse du surnageant permet de suivre l'évolution des activités catalytiques des enzymes à étudier.

II.2.3. Dosage de l'activité de l'endo-polygalacturonase (endo-PG)

Cette activité est déterminée par la réduction de la viscosité dans une solution de pectine. Le mélange réactionnel est composé de 0,5ml d'extrait enzymatique et 10 ml de la solution de pectine à 1% dans une solution tampon d'acétate à pH 4,2, le mélange est incubé à 30°C pendant 60min. La viscosité est déterminée à l'aide d'un viscosimètre de type Fungilab. Le principe de la mesure repose sur la coupure des liaisons α (1-4) de la pectine (substrat) par l'endo-PG, qui va entraîner une diminution de la longueur des chaînes de la pectine occasionnant une baisse de la viscosité de la solution. L'activité est exprimée numériquement en unité de dépectinisation (U.D.). 1 U.D est la quantité d'enzyme nécessaire pour que la viscosité d'une solution de pectine diminue de 50% [7, 8].

Le pourcentage de réduction(ou diminution) de la viscosité est exprimée par :

$$\text{Activité endoPG} = [(Vc - Vr) / (Vc - Vs)] * 100$$

Où:

Vc: temps d'écoulement (s) du témoin (solution de pectine sans l'ajout de l'extrait);

Vr: temps d'écoulement (s) de l'échantillon;

Vs: temps d'écoulement (s) de l'eau.

II.3.4. Dosage de l'activité de l'exo-polygalacturonase (exo-PG)

Elle est déterminée par libération des sucres réducteurs estimés par la méthode de Somogy et Nelson [6]. Le mélange réactionnel contient 0,5ml d'extrait enzymatique et 1ml de pectine dans

l'acétate de sodium à pH 5,5. Le mélange est incubé à 45°C pendant 60 min.

Une unité enzymatique est exprimée par la quantité d'enzyme nécessaire à la libération d'une micromole d'acide galacturonique par unité de volume et par unité de temps.

L'activité de l'exo PG est exprimée en μ mol/ min /ml d'extrait [7].

$$\text{Activité exoPG} = (A * 1000) / (212,12 * 60 * 0,5)$$

Où:

A: équivalent d'acide galacturonique produit par la réaction enzymatique (μ mol)

212,12 : masse molaire de l'acide galacturonique hydraté (g);

0,5: Volume de l'extrait (ml);

60: temps d'incubation (min).

II.4. Pré-purification de l'extrait enzymatique

Elle est réalisée par précipitation au sulfate d'ammonium dans une fourchette de 40-90%. L'extrait enzymatique partiellement purifié est dessalé puis concentré par dialyse contre une solution de saccharose à 60%.

II.5. Caractérisation partielle des pectinases obtenues

La variation de l'activité enzymatique en fonction du pH, de la température et des sels (CaCl_2 , EDTA) a été étudiée afin de déterminer quelques caractéristiques des pectinases.

II.5.1. Détermination du pH optimal

Le pH optimal d'activité des pectinases est déterminé par l'utilisation de pectines préparées dans des solutions tampons à des pH variant de 2 à 8,8.

II.5.2. Détermination de la température optimale

L'effet de la température est déterminé par la mesure de l'activité pectinolytique de l'extrait brut incubé pendant 30min à des températures variant de 25 à 75° C avec un pas de 10°C.

II.5.3. Effet des effecteurs

L'activité pectinolytique est mesurée en présence d'EDTA et de CaCl_2 à différentes concentrations (0, 1, 2, 5 et 10mM). Elle est comparée à celle obtenue par fermentation sur milieu solide sans l'ajout d'effecteurs.

III. Résultats et discussion

III.1. Caractérisation de la matière première

A la lumière de la littérature examinée, les résidus d'orange sont largement utilisés comme substrat de fermentation pour la production des enzymes pectolytiques. Le tableau I représente la composition chimique des résidus d'orange.

Tableau I. Composition chimique des résidus d'orange

Paramètres	Teneurs (%)
Matière sèche	90,54 \pm 0,23
Sucres réducteurs	45,05 \pm 0,53
Sucres totaux	51,1 \pm 4,21
Cendres	3,22 \pm 0,03
Substances pectiques	23,87 \pm 5,02

Les résidus d'orange obtenus après extraction du jus ont une teneur en eau de 80%. Cette valeur est toutefois relative et dépend du procédé d'extraction du jus. Les résidus sont séchés jusqu'à obtention de 90,54% de matière sèche. Aguiar *et al*, 2008 [9] et Larrea *et al*, 2005 [10] ont donné des valeurs pratiquement similaires à celles obtenues dans cette étude, soient 92,95% et 90%, respectivement. Le taux de pectines contenues dans les résidus d'orange utilisés est estimé à 23,87%. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés par Mahmood *et al*, 1998 [11] et El sheikh *et al*, 2009 [12] qui ont enregistré des valeurs de 20,93% et 23,87%, respectivement.

Ces résultats montrent que les sous-produits d'agrumes sont considérés comme une bonne source de pectines, facteur inductible pour la production d'enzymes pectolytiques.

III.2. Teneur en sucres totaux

Les glucides ou hydrates de carbone correspondent aux sucres et substances apparentées [1]. Les résidus d'orange utilisés possèdent une teneur en sucres totaux de 51,1% du poids sec, relativement supérieure à celle trouvée par Djekrif-Dahmouche *et al*, 2005 [13] soit une valeur de 44,6%.

III.3. Teneur en sucres réducteurs

D'après le tableau I, la teneur de résidus d'orange en sucres réducteurs est de 45,05% du poids sec alors que Mahmood *et al*, 1998 [11] ont enregistré une valeur plus basse égale à 9,16%. Par ailleurs, Gloria *et al*, 2009 [14] rapportent sur des oranges entières des valeurs comprises entre 6,6 et 13,1%.

III.4. Teneur en cendres

La teneur en matière organique des résidus d'orange est de l'ordre de 96,78% ; cette teneur est proche de celle enregistrée par Amokrane *et al*, 2010 [15], soit 97,35%. Elle montre également la richesse du substrat en sels minéraux (3,22%).

A partir de la composition chimique des résidus d'orange, on constate que ces derniers, représentent un milieu d'une bonne valeur alimentaire (sucres totaux, sucres réducteurs, pectines, sels minéraux). A cet effet, les sous-produits d'agrumes sont toujours considérés comme un substrat de qualité comme milieu de fermentation pour la production d'enzymes pectinolytiques.

La concentration des nutriments influe directement sur la vitesse de croissance des cellules ainsi que sur la formation des produits désirés. Si tous ces éléments sont disponibles en quantités suffisantes, la vitesse de croissance atteint sa valeur maximale. Dans la plupart des cas pratiques, la croissance est limitée par la disponibilité de la source carbonée [1].

III.5. Déroulement de la fermentation

Après 144 h de culture, les microorganismes se sont développés beaucoup plus sur la surface du milieu de culture (fig1). L'absence de liquide interstitiel fait que, c'est la géométrie du substrat qui oriente le développement apical et les ramifications dans toutes les directions de l'espace [16].



Figure 1. Evolution des microorganismes durant la période de la fermentation

III.6. Détermination des activités enzymatiques

III.6.1. Endopolygalacturonase (endo-PG)

L'endo-polygalacturonase a un rôle principal dans l'hydrolyse des liaisons chimiques internes du polysaccharide et également dans toute l'activité pectolytique [17]. L'activité endo-polygalacturonase est exprimée en unité de dépectinisation (U.D), c'est la quantité d'enzyme nécessaire pour que la viscosité d'une solution de pectine diminue de 50%.

La valeur de la viscosité du témoin (sans extrait enzymatique) est égale à la viscosité initiale de la solution de pectine telle qu'elle a été préparé. Le maximum d'activité (soit 97,28% de dépectinisation ou 32,41 U/ml) est observé pour des extraits issus des fermentations de 72 h (fig 2). Au-delà, l'activité demeure constante.

Dans nos conditions expérimentales, Cette valeur semble bien plus faible que celle enregistrée par certains auteurs. En effet, en utilisant comme

substrat un mélange de son de blé et de bagasse de canne à sucre, Suresh *et al*,2010 [18] rapportent une valeur de 164,15 U/ml. Les études effectuées par Heerd *et al*,2011 [19] ont enregistré des valeurs également supérieures à celles obtenues dans cette étude, soit une activité de 159 U/ml.

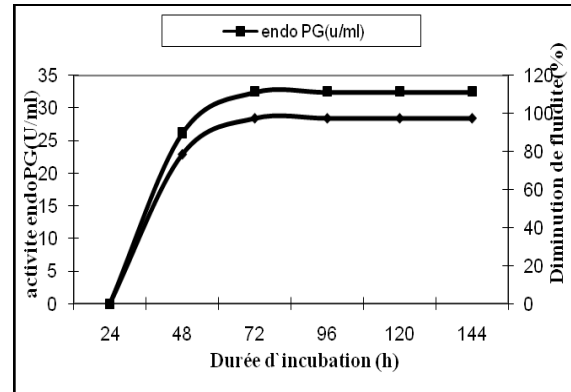


Figure 2. Évolution de l'endo-PG en fonction du temps de fermentation

III.6.2. Exo- polygalacturonase (exo-PG)

La cinétique de l'activité de l'exo-PG a permis de suivre l'évolution de la quantité de groupements réducteurs apparus pendant l'hydrolyse de la chaîne pectique du substrat. Les valeurs des densités optiques des solutions à tester révèlent la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu [7]. La fig3 montre l'évolution de l'activité exo-PG en fonction du temps de fermentation. Elle varie entre 13,06 et 20,66 U/ml.

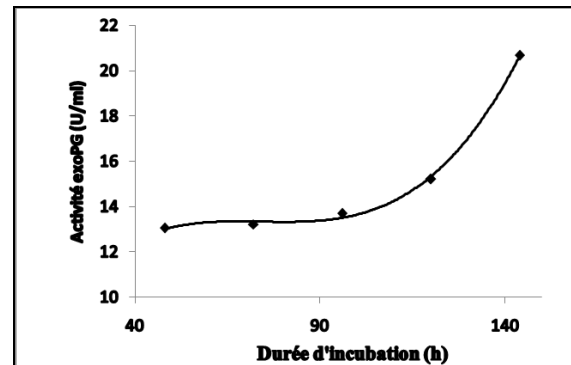


Figure 3. Évolution de l'exo-PG en fonction de temps de fermentation

En utilisant la méthode au DNSA sur différents substrats, Suresh *et al*,2010 [18] ont rapporté des valeurs comprises entre 22,12 et 162,5 U/ml pour une activité exo-PG produite par *Aspergillus carbonarius*. Par ailleurs, Gewali *et al*,2007 [20] ont signalé une activité exo-PG variant entre 0,8 et 13,25U/ml alors que Kumar *et al*,2011[21], Gomes *et al*,2011 [22] et Heerd *et al*,2011 [19] ont enregistré des activités respectivement de 51,82; 45 et 34,12 U/ml.

III.7. Caractérisation des polygalacturonases

Après l'ajout fractionné de sulfate d'ammonium jusqu'à 90% de saturation pour précipiter toutes les protéines, l'extrait enzymatique est dialysé contre l'eau distillée pendant 24h à 4°C. Les caractéristiques de l'enzyme sont recherchées dans le dialysat.

III.7.1. Effet du pH

Les paramètres physico-chimiques du milieu jouent un rôle prépondérant sur la croissance, le développement et la physiologie des champignons [23].

Le pH optimal de l'activité des polygalacturonases se situe vers 3,8 (fig4), la même valeur est rapportée par Khairmar *et al*, 2009[24]- et Combo *et al*, 2011[2]. Ce résultat demeure très proche de celui observé par Sandri *et al*, 2011 [17] qui signalent un pH optimal de 4 pour la souche d'*Aspergillus niger*.

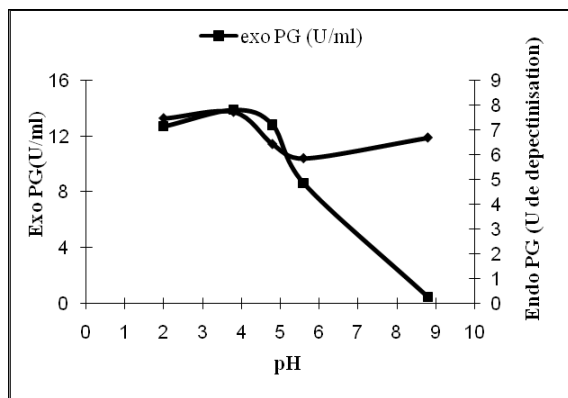


Figure 4. Effet du pH sur l'activité polygalacturonase

Selon la littérature, *Aspergillus* se développe à un pH compris entre 2 et 11. Dans ce sens, Gomes *et al*, 2011 [22] ont trouvé un pH optimal de 5,5 de l'exo-PG produite par *Aspergillus niger*. Par ailleurs, la variation du pH des activités pectinolytiques dépend d'une part, de l'espèce microbienne, et d'autre part, de la nature du substrat utilisé.

III.7.2. Effet de la température:

L'influence de la température sur l'activité des pectinases est observée sur une gamme de températures allant de 25 à 65 °C (fig5).

L'effet de la température sur l'activité des pectinases montre que l'activité maximale de l'endo et de 'exo-PG est enregistrée à 35°C. Au-delà de cette température, l'activité pectinolytique diminue et

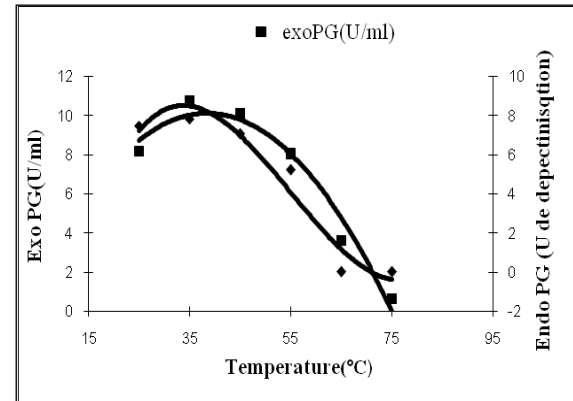


Figure 5. Effet de la température sur l'actiPolygalacturonase

l'enzyme est totalement inhibée vers 65°C. Ces résultats sont très proches de la température optimale de l'activité pectolytique rapportée par plusieurs auteurs. En effet, Gomes *et al*, 2011 [22] ont signalé une valeur de 37°C, elle est de 30°C pour Kumar *et al*, 2011 [21], et Fenghour *et al*, 2002 [25] alors que Combo *et al*, 2011 [2] et Sandri *et al*, 2011 [17] ont observé une valeur de température égale à 40°C. En se basant sur le pH optimal et la température optimale, les résultats obtenus ont montré la convenance de l'enzyme pour les applications biotechnologiques à savoir la clarification, la macération et l'extraction du jus où des températures de 30 à 55 °C et un milieu acide sont exigés.

III.7.3. Effet des effecteurs:

III.7.3.1. Effet de CaCl₂:

L'addition du chlorure de calcium n'a pas d'effet sur l'activité de l'endo-PG (fig6).

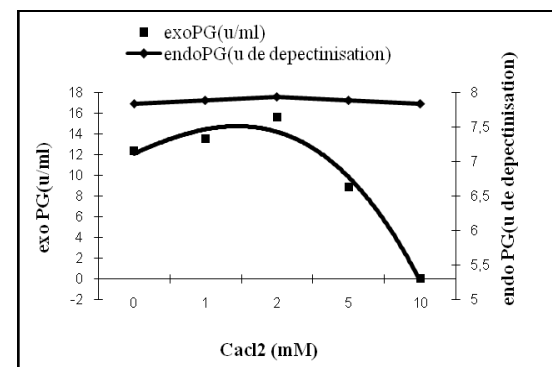


Figure 6. Effet de CaCl₂ sur l'activité polygalacturonase

Par contre, la concentration de 10 mM de chlorure de calcium a inhibé totalement l'activité de l'exo-PG qui amorce une diminution à partir de 2mM. Il optimale de 35°C. Il s'avère que le calcium inhibe l'exo-PG contrairement aux observations faites sur l'endo-PG. est à noter que les exo-PG d'origine végétale, à l'exception des carottes, sont fortement activées par les cations divalents, particulièrement le calcium et le strontium, et par les ions monovalents à faible concentration ($< 10^{-3}$ M). En revanche, elles sont inactivées par des teneurs plus fortes en sels [26].

III.7.3.2.Effet de l'EDTA

La fig7 montre que la présence d'EDTA dans le milieu réactionnel n'a aucun effet sur l'activité de l'endo-PG alors que l'activité de l'exo-PG varie légèrement.

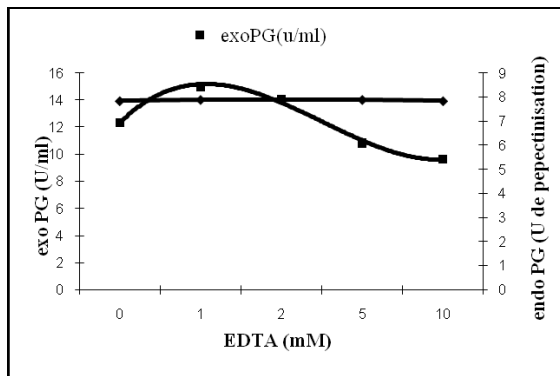


Figure 7. Effet de l'EDTA sur l'activité de la polygalacturonases

A titre de rappel, l'EDTA est un agent chélateur qui ne complexe que les cations bivalents impliqués dans l'activation de plusieurs enzymes, en les empêchant, de ce fait, d'agir en tant qu'activateurs [25].

IV-Conclusion

L'orange est le premier fruit consommé sous forme de jus. La transformation industrielle génère de grandes quantités de résidus non utilisés, constitués essentiellement d'écorces, de pépins et de pulpes. Ces déchets sont riches en pectines, fraction qui a un effet inducteur sur la production de pectinases. De ce fait, les déchets agro-industriels (résidus d'orange) ont été utilisés comme substrat pour la production d'enzymes pectinolytiques par voie biologique comme objectif de valorisation. L'étude de la composition des résidus d'orange révèle une richesse en sucres. Cette proportion favorise son utilisation comme milieu de base pour la culture de microorganismes et principale source carbonée de la fermentation. Par ailleurs, les résidus d'orange contiennent une teneur importante de pectines, ce qui entraîne une bonne induction de la synthèse de l'enzyme.

L'enzyme produite par *Aspergillus niger* possède un pH optimum d'activité de 3,8 et une température

V. Références bibliographiques

1. Werner. J.B., Badoud.R., Loliger.J., Etournaud.A.(2010): Principes de chimie desconstituents et de technologie des procedes. Ed: Presses polytechniques et universitairesromandes. 719p.
2. Combo,M.M.A., Mario,A., Michel.P. (2011). Les oligosaccharide pectiques: Production etapplications possibles. *BiotechnolAgron. Soc. Environ* .15(1),153-164.
3. Sine P.J (2010). Enzymologie et applications. Ed. Ellipes, Sciences de la vie et de la terre
4. Sadhana, N., Yashdeep, P., Divya, S.,Anand, N., Anil, K.(2006).Production ofpolygalacturonase by immobilized cells of *Aspergillus niger* using orange peel as inducer.*Process Biochemistry*, 41 ,1136–1140
5. Thibault, J.F. (1979) : Automatisation de dosage des substances pectiques par la méthode auMéta-hydroxydiphényl. *Lebensm-Wisslu- Technol*.12 ; 247-251.
6. Nelson .,N (1944). A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose.*J. Biol. Chem.*, 153: 375-380.
7. Casanova,A. (1989). Influence du substrat sur la production de pectinases d'*Aspergillus niger*par fermentation en milieu solide. Projet de fin d'étude. Université de Mexico.
8. Rangarajan.V.,Rajasekharan.M.,Ravichandran.R., Srignanesh.K.,Vqitheeswaran.V.(2010). Pectinase Production from Orange Peel Extract and Dried Orange Peel Solid asSubstrates sing *Aspergillus niger*. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6 (3), pp. 445–453
9. Aguiar, L.F., Ma´rquez-Montesinos,A., Gonzalo, J.L., Sa´nchez, Arauzo J. (2008).Influenceof temperature and particle size on the fixed bed pyrolysis of orange peel residues. *J. Anal. Appl. Pyrolysis.*, 83, 124–130
10. Larrea ,M.A., Chang, Y.K., Marti_nez, Bustos, F. (2005). Effect of some operational extrusion parameters on the constituents of orange pulp. *Food chemistry*, Vol 89, 2, 301-308
11. Mahmood, A. U., Greenman, J., Scragg, A. H. (1998). Orange and potato peel extracts:Analysis is and use as *Bacillus* substrates for the production of extracellular enzymes in continuousculture. *Enzyme and Microbial Technology*,22:130-137.
12. El sheikh, M.M., Ismail, A.M.S., El bed, M. et Hegazy, E.M. (2009).Effective technological pectinases by *Aspergillus carneus* NRC1utulising the Egyptian range juice industry scraps.*International biodeterioration and biodegradation*, 63. 12-18
13. Djekrif-Dakhmouche, S.,Gheribi-Aoulmi, Z., MeraihiL.,Bennamoun. (2005). Applicationof a statistical design to the optimization of culture medium for α -amylase production by *Aspergillus niger* ATCC 16404 grown on orange waste powder. *Journal of food Engineering*,73(2), 190-197
14. Gloria, P.M., MubofuEgid, B., Othman Chande, C. (2010).Post harvest changes in physicochemicalproperties and levels of some inorganic elements in off vine ripened orange (*Citrus sinensis*) fruits cv (Navel and Valencia) of Tanzania. *African Journal of Biotechnology*, 9(12),1809-1815.
15. Amokrane, S. (2010) Etude des prétraitements microbiologiques des résidus agro-alimentaireslignocellulosiques en vue de leur valorisation en alimentation animale.Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine.

16. Oriol,E. (1987). Croissance de l'Aspergillus Niger sur milieu solide: importance de l'eau et de l'activité de l'eau. Thèse de doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
17. Sandri,I.G., Fontana,R.C., Barfknecht,D.M., Silveira,M.M.(2011).Clarification of fruit juices by fungal pectinases. *LWT - Food Science and Technology*, 44,2217- 2222
18. Suresh.B., Viruthagiri.T,(2010): Optimization and kinetics of pectinase enzyme using *Aspergillus niger* by solid-state fermentation. *Indian Journal of Science and Technology*, 3 .
19. Heerd,D., Yegina,S., Tari,C., Fernandez-Lahorea, M. (2011).Pectinase enzyme-complex production by *Aspergillus* spp. in solid-state fermentation: A comparative study.*Food and bioproducts processing*,FBP- 265; No. of Pages 9
20. Gewali, M.B., Maharjan,J., Thapa, S., Jaya Krishna Shrestha.J.K.(2007). Studies on polygalacturonases from *Aspergillus F lavus*. *Scientific World*, 5, (5).19-22
21. Kumar,D.P., Thangabalan, B., Venkateswara, R.P., Yugandhar, N. M. (2010). Production of pectinases enzyme by *Aspergillus Niger* using *figus religiosaleqves* in solid state fermentation.*International Journal of Pharmacy & Technology IJPT*.3 ,(1). 1351-1359
22. Gomes,J., Zeni,J., Cence,K., Toniazzo,G., Treichel,H., Valduga,E.(2011). Evaluation of production and characterization of polygalacturonase by *Aspergillus niger* ATCC9642.*Food and bioproducts processing*.89. 281–287
23. Badid. N., Moussaoui A., Belbraouet. S., (2001).Production de Protéines d'Organismes Unicellulaires Cultivés sur Corn SteepLiquor et Evaluation Nutritionnelle de la Biomasse. *Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse*, 11-28.
24. Khairnar, Y., Krishna, K.V., Boraste,A., Gupta, N., SohamTrivedi, S., Patil,P., Gupta,G.,Gupta,M., Jhadav,A., Mujapara,A., Joshi, B., Mishra, D.(2009).Study of pectinase production in submerged fermentation using different strains of *Aspergillus Niger*.*International Journal of Microbiology Research*, Vol 1, 2, pp-13-17.
25. Fenghour,H., Ladjama, A., Taibi,Z.(2002). Recherche de l'activité pectinolytiques chez 22 souches de champignons microscopiques isolées d'un sol de la région d'el kala. *Technologies Avancées – Numéro 14*.
26. Thibault J.F.(1980).Les substances pectiques. In: Costes C., Monties B.(Eds), Les polymères végétaux: polymères pariétaux et alimentaires non azotés,Gauthier- Villars,Paris, 232-251

Please cite this Article as:

Bouhadi N., Nouani A., Benmalek N., Benchabane A., *Valorisation des sous produits d'agrumes : production d'enzymes pectinolytiques par bioconversion*, **Algerian J. Env. Sc. Technology**, 2:1 (2016) 52-58