

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة محمد السادس
كلية علوم الطبيعة والحياة
المسكينية
رقم الجرد : 1242

UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DES SCIENCES
DEPERTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET
CELLULAIRE



MEMOIRE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE FIN DES ETUDES
SUPERIEURES EN BIOLOGIE
OPTION : MICROBIOLOGIE

THEME
**CARACTERISATION ET PRODUCTION
DE BIOSURFACTANTS BACTERIENNES**

Membres du jury:

Encadreur : M^{lle} S. LAGGOUNE
Examineur : Dr. M. SIFOUR

Présenté par:

ZAAMA AMIRA
BOUKEFFOUS NOURIA
REMITTA FATIMA

PROMOTION: juin 2008



دعاء

بسم الله الرحمن الرحيم

«ربِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي وَّ يَسِّرْ لِي أَمْرِي وَّ احْلِلْ
عَقْدَةَ مِنْ لِسَانِي يَفْقَهُوا قَوْلِي»

صدق الله العظيم-

«اللهم لا تجعلنا نصاب بالغرور اذا نجحنا و لا باليأس
اذا أخفقنا، و ذكرنا أن الإخفاق هو التجربة التي
تسبق النجاح، اللهم إذا أعطيتنا النجاح فلا تأخذ
تواضعنا و إذا تواضعنا فلا تأخذ اعتزازنا
بكرامتنا أمين يا رب العالمين»

Remerciements

*Nous remercions en premier lieu DIEU le tout puissant qui
nos a eus donner la bonne foi et le courage pour accomplir ce
modeste travail ainsi que nos parents.*

*Nous tenons aussi à remercier la prometteuse M^{lle}: S.
LAGGOUNE pour ses conseils durant l'évolution de ce
travail, nous tenons à lui exprimer nos profondes gratitude et
reconnaissance et nous lui dis encore "merci beaucoup".*

*Nous tenons à remercier également notre jury Dr : M.
SIFOUR pour avoir accepté de jury ce mémoire.*

J'adresse nos vifs remerciements :

*À tous nos enseignants à l'université de Tijiel faculté des
départements de biologie moléculaire et cellulaire.*

À nos amies pour leurs encouragements chacune de son nom.

AMIRA

NOURIA

FATIMA

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Les hydrocarbures	
I-1 / Introduction	2
I-2/ Définition	2
I-3/ L'origine des hydrocarbures	2
I-4/ Classification des hydrocarbures.....	3
I-4-1/ Les hydrocarbures aliphatiques	3
a/ Les alcanes	3
b/ Les alcènes	3
c/ Les alcynes	3
I-4-2/ Les hydrocarbures alicycliques.....	3
a/ Les cyclanes	3
b/ Les cyclènes	3
c/ Les cyclines.....	3
I-4-3/ Les hydrocarbures aromatiques	4
a/ Les hydrocarbures aromatiques mononucléaires	4
b/ Les hydrocarbures aromatiques bi nucléaires	4
c/ Les hydrocarbures aromatiques polynucléaires	4
I-5/ Formation microbienne des hydrocarbures.....	4
I-5-1/ Réduction bactérienne des lipides en hydrocarbures	5
I-5-2/ Les lipases bactériennes et la thèse de German	5
*La formation bactérienne des pétroles	5
I-6/ L'utilisation des hydrocarbures	7
Chapitre II : Le Sol	
II-1/ Introduction.....	9
II-2/ Les sols pollués	9
II-2-1/ Mécanisme d'évolution d'une pollution.....	9
II-2-2/ Structure du sol.....	9
II-2-3/ La microbiologie du sol.....	10
II-2-3-1/ Microflore du sol.....	11
Les champignons	11
Les bactéries	11
II-2-3-2/ Les autres organismes	11
II-3/ Isolement et dénombrement de la microflore du sol dans le cas les bactéries 12	
a- Méthode utilisée pour la détection de la production du biosurfactants	12
✓ Test d'émulsification Red-oil O	12
✓ L'indice d'émulsification	12

II-4/ La microbiologie de la dégradation des polluants	13
II-4-1/ La dégradation des hydrocarbures saturés.....	13
II-4-2/ La dégradation des hydrocarbures aromatiques	14
a/ La dégradation des hydrocarbures mono aromatique	14
b/ La dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ..	14

Chapitre III : Les biosurfactants

III-1/ Introduction	15
III-2/ Définition des biosurfactants	15
III-2-1/ Le processus d'action des biosurfactants	15
III-2-2/ L'indice d'efficacité des biosurfactants	16
III-3/ Classification des biosurfactants	16
III-3-1/ Les biosurfactants glycolipidiques	17
III-3-2/ Les biosurfactants lipidiques qui contiennent les acides aminés	17
III-3-3/ Les biosurfactants qui contiennent les complexes polysaccharides Lipides.....	18
III-4/ Protéines comme substances	18
III-5/ Les propriétés des biosurfactants.....	19
III-6/ Les microorganismes produisant les biosurfactants	22
III-7/ Biosynthèse des biosurfactants	23
III-8/ Les biosurfactants et les phénomènes de surface	24
III-9/ La fermentation et l'extraction des biosurfactants	26
III-10/ Les domaines d'utilisation des biosurfactants	28
Conclusion.....	31
Références bibliographiques	32

Liste des abréviations

Ala :	Alanine
Asp:	Aspartate
C:	Carbone
C°:	Degré celsius
CMC:	Concentration Micellaire Critique
Cm :	Centimètre
EM :	Emulsifiant
Fe :	Fer
g :	gramme
g/l :	gramme par litre
g/l/h :	gramme par litre par heure
Glu :	Glutamate
HAP :	Hydrocarbure Aromatique Polycyclique
H₂ :	Hydrogène
Ile :	Isoleucine
KD:	Kilo Dalton
Kg/ha:	Kilogramme par hauteur
Leu:	Leucine
m² :	Mètre carré
mg :	Milligramme
ml :	Millilitre
µm :	Micromètre
Mn :	Manganèse
min :	Minute

N/C : Rapport azote /carbone
N₂ : Azote
Nacl : Chlorure de sodium
mN/m : milli Newton par mètre
nd : non déterminable
ORN : Ornithine
pH : Potentiel d'hydrogène
phe : Phényle alanine
PM : Poids Moléculaire
Prof : Profondeur
pro : Proline
R : Radical
SH : groupement de thiol
T.I : Tension interfacielle
T.S : Tension superficielle
Val : Valine

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Abondance des organismes vivants du sol.....	10
Tableau n°2 : Propriétés interfaciales et les niveaux de production des biosurfactants typiques.	21

Liste des figures

Figure n°1 : La structure d'un surfactant.....	16
Figure n°2 : Quatre formes différentes des rhamnolipides (RLs) synthétiser par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM2659.	17
Figure n°3 : La structure du lipopeptide (composé de surface active) Produit par <i>Bacillus licheniformis</i>	18

Introduction

Introduction :

Tout le monde reconnaît aujourd'hui que l'exploitation de pétrole n'a cessé d'augmenter depuis le début du siècle dernier. L'extraction, le transport et l'utilisation de cette source d'énergie entraînent des risques de pollution (accidentelle et chronique) pour l'environnement marin pouvant influencer l'équilibre écologique et parfois entraîner la destruction de l'écosystème.

Ce problème de pollution par les hydrocarbures ouvre la porte sur des recherches biotechnologiques dont le but est de trouver des solutions pour éliminer cette pollution. L'élimination des hydrocarbures de l'environnement nécessite l'intervention de différents facteurs biotiques et abiotiques. Parmi ces facteurs la biodégradation, par les microorganismes et en particulier les bactéries, est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement.

Vu que les chercheurs en biotechnologies ont exploités la capacité des microorganismes pour la dégradation des hydrocarbures et les utiliser comme source de carbone de ce fait, ils donnent une substance d'origine bactérienne appelée : biosurfactant. Ensuite, vient la diversité des structures des biosurfactants et leur rôle très important dans plusieurs domaines industriels tel que: agriculture ; industrie pharmaceutique ; industrie alimentaire ; traitements des déchets, contrôle de pollution des eaux et des sols contaminés par les hydrocarbures.

Dans notre étude, on a proposé trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre présente un rappel des principales données bibliographiques concernant, d'une part, l'origine des hydrocarbures dans l'environnement et l'utilisation des hydrocarbures, d'autre part la formation bactérienne du pétrole.
- ✓ Le 2^{ème} chapitre quelques éléments relatifs à la notion du sol, la microbiologie du sol et l'ensemble des microorganismes pour la dégradation des hydrocarbures.
- ✓ Dans le dernier chapitre qui concerne les résultats de la biodégradation des hydrocarbures : c'est l'usage des biosurfactants d'origine bactérienne et un rappel donné sur le biosurfactant plus les domaines d'utilisation de ce dernier

Chapitre I
Les hydrocarbures

I-1 / Introduction:

Les hydrocarbures naturels, huile et gaz, matière première de l'industrie pétrolière, sont des mélanges complexes des produits organiques, souvent associés à des roches sédimentaires, dans les quelles, ils se rassemblent pour former des gisements.

Les hydrocarbures naturels sont toujours liés aux roches sédimentaires, c'est le cas de toutes les accumulations importantes. Les hydrocarbures se manifestent à la surface du sol sous des formes variées, ce sont les indices superficiels source de huile ou de gaz: au début d'histoire de la prospection pétrolière, le choix des régions à prospecter, est imposé en fonction de l'existence d'indice de surface, c'est-à-dire de la présence, en imprégnation dans les couches superficielles, ou mêlés à l'eau des sources d'hydrocarbures plus au moins altérés, dans certaines cas, des substances associées aux hydrocarbures comme l'eau salie (Boumediene., 1983), à l'heure actuelle, le pétrole est la principale source d'énergie dans la plupart des pays du monde. Il est plus raisonnable d'utiliser le pétrole en tant que matière première dans l'industrie chimique ou il donne des plastiques, caoutchoucs, fibres artificielles, agents tensioactifs, engrais, pesticides et même des protéines (Proskouriakov et Drabkine., 1985)

I-2/ Définition:

Les hydrocarbures sont des composés les plus simples de la chimie organique sont formés à partir de deux éléments, l'hydrogène et le carbone, leurs molécules représentent en quelque sorte le squelette de molécules plus complexes dans les quelles des fonctions chimiques constituent des centres de réactivité chimique et apportent des propriétés particulières. Ils possèdent en conséquence une formule brute de type C_nH_m ($n, m \in \mathbb{N}$), le carbone et l'hydrogène peuvent former des molécules saturées ou insaturées, linéaires ou cycliques et parmi les molécules cycliques, certaines d'entre elles, grâce à un type particulier d'insaturation ont des propriétés qui les font classer à part (Lefebvre., 1986).

I-3/ L'origine des hydrocarbures :

Il y a deux types de théories qui sont parlées à l'origine des hydrocarbures: théories de l'origine minérale et théories de l'origine organique ; parmi les théories prévoyant l'origine minérale des hydrocarbures citent: **L'hypothèse cosmique de Sokolov (1892)** qui place l'apparition des hydrocarbures pétroliers à partir de carbone et d'hydrogène à l'époque de la formation de terre et des autres planètes du système solaire. Lorsque la terre se consolidait, les hydrocarbures préalablement formés auraient été engloutis par le magma et une fois le magma refroidi, auraient pénétré par des fissures et fractures dans les roches sédimentaires de l'écorce terrestre (Proskouriakov et Drabkine., 1985).

La 2^{ème} théorie c'est : La **théorie des carbures de Mendeleïev (1877)**, on sait que les hydrocarbures peuvent provenir de l'action de l'eau sur certains carbures métalliques, un que l'eau pénètre à l'intérieur de la terre par des fissures profonde, cette réaction est causé à la formation des pétroles. Les hydrocarbures se seraient évaporés sous l'effet des températures élevées du sous-sol et faible pression de l'écorce extérieure faite de la terre, composée de roche sédimentaire c'est la que seraient formes les gisements exploitables de pétrole et de gaz (Proskouriakov et Drabkine., 1985).

Selon les théories organiques, les hydrocarbures peuvent formées à partir des matières organique soit par la sédimentation des roches sédimentaires et les roches tertiaires racontés 20-30 millions d'ans (facteur géologique) ou soit par la décomposition (la dégradation) des organismes morts grâce à des microorganismes comme les bactéries, les champignonsetc. (Lefebore., 1986).

I-4/ Classification des hydrocarbures:

Les hydrocarbures serrant de base à la détermination des fonctions, nous les classerons de la façon suivante:

I-4-1/ les hydrocarbures aliphatiques:

Se sont des hydrocarbures à chaîne ouverte, on les subdivise en trois groupes :

a/ Les alcanes: Se sont des Hydrocarbures saturés de formule générale C_nH_{2n+2} , tous les atomes de carbone sont hybridés Sp^3 , les alcanes peuvent être linéaire ou ramifiés (Ouahes., 1988).

b/ Les alcènes: Sont des hydrocarbures éthyléniques, de formule générale C_nH_{2n} , ils possèdent une double liaison dans leurs molécules (Ouahes., 1988).

c/ Les alcynes: Se sont des hydrocarbures acétyléniques de formule générale C_nH_{2n-2} , ils comportent une triple liaison (Ouahes., 1988).

I-4-2/ Les hydrocarbures alicycliques:

Se sont des hydrocarbures à chaîne fermée. On les subdivise en trois groupes:

a/ Les cyclanes: De formule générale C_nH_{2n} , ils sont isomères des alcènes (Ouahes., 1988).

b/ Les cyclènes: De formule générale C_nH_{2n-2} ; la molécule comporte une double liaison. Ils sont isomères des alcynes (Ouahes., 1988).

c/ Les cyclines: De formule générale C_nH_{2n-4} , le cycle ou n supérieure ou égale 8, leur molécule comporte une triple liaison (Ouahes., 1988).

I-4-3/ Les hydrocarbures aromatiques :

Ils sont des composés contenant au moins un noyau benzénique dans la molécule, il y a 3 types :

a/ Les hydrocarbures aromatiques mononucléaires: Sont présentes essentiellement dans la coupe naphta et dans celles ayant le point d'ébullition supérieure à 190° (Boumediene., 1983).

b/ Les hydrocarbures aromatiques bi nucléaires: Sont présentés dans les distillats moyens. (Boumediene., 1983)

c/ Les hydrocarbures aromatiques polynucléaires: Sont présentés dans les fractions lourdes (Boumediene., 1983).

I-5/ Formation microbienne des hydrocarbures:

Les micro-organismes sont anciens puisqu'ils furent sans aucun doute les premiers colonisation de notre planète, ils existaient depuis plusieurs milliards d'années sans concurrence cette existence des micro-organismes jouait un impact important dans la formation des hydrocarbures (pétrole, gaz naturel, huile.....) par la décomposition des organismes morts soit végétale ou animale, Exp: Le gaz naturel peut être produit par action des bactéries sur les substances organiques présentes dans les sédiments, cette fermentation bactérienne peut expliquer sans doute 20% des réserves de gaz naturel, on parle alors de gaz bactérien ou de gaz sec ou encore de gaz biogénique (Allinger *et al.*, 1985). Le pétrole tire sans origine des restes organiques, essentiellement d'organismes végétaux et animaux peuplant l'eau (plancton) ou le fond des mers (benthos), il est probable que les bactéries jouent un grand rôle dans l'accumulation des sédiments de fond par la décomposition des ces organismes morts (Proskouriakov et Drabkine., 1985).

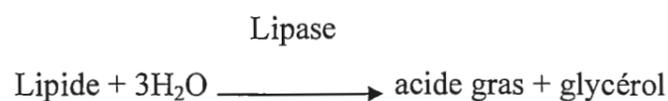
I-5-1/ Réduction bactérienne des lipides en hydrocarbures :

Sachant que la réduction des lipides en hydrocarbures par les bactéries anaérobies qui possèdent des lipases bactériennes. Ces bactéries sont divisées en deux groupes :

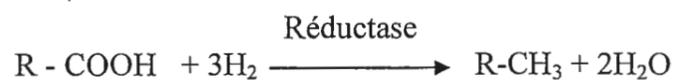
- 1-des bactéries lipolytiques libérant l'acide gras ;
- 2-des bactéries réduisant l'acide gras en hydrocarbures.

I-5-2/ Les lipases bactériennes et la thèse de German :

Les lipides, esters de glycérol et d'acides gras à PM élevé, sont hydrolysés par les bactéries lipolytiques grâce au système lipase, exo ou endoenzymes catalysant la réaction :



Les acides gras sont ensuite réduits par un système réductase suivant :



Si R est adéquat, les carbures d'hydrogènes de formule générale R -CH₃, peuvent être du type des pétroles (Prévot., 1977).

Ainsi toute bactérie anaérobie équipée d'hydrolyse spécifique, du groupe des estérases, et du sous-groupe des lipases est capable de réduire l'acide gras R-COOH d'un lipide en pétrole (Prévot., 1977).

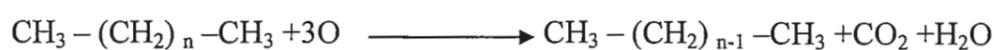
***La formation bactérienne des pétroles :**

Nous n'envisagerons que la formation des pétroles à partir d'une seule source : les lipides.

Nous avons esquissé le mécanisme schématique au Congrès de Bruxelles en 1949 qui se fait en 4 étapes :

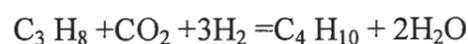
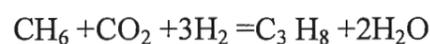
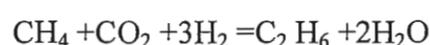
3^{ème} étape : Evolution des hydrocarbures à PM élevé en hydrocarbures à PM plus faible

Par le jeu des oxydations on obtient des remaniements du type suivant :

**4^{ème} étape: La migration**

Par action de surface du CO_2 les huiles de pétroles deviennent moins visqueuses et coulent de la roche –magasin vers les poches.

Il peut se produire aussi des remaniements des constituants tels ceux que Zobell a mis en évidence :

**I-6/ L'utilisation des hydrocarbures:**

Les hydrocarbures et leurs dérivés sont utilisés dans la fabrication des plusieurs produits telle que:

- ❖ Les médicaments et produits pharmaceutiques comme:
 1. Les produits (Cycliques/benzodés), comprennent entre autre l'aspirine, les sulfamides.
 2. Les produits (Alicycliques et hétérocycliques), comprennent les antibiotiques, Les vitamines et les hormones.
 3. Les produits (Acycliques), comprennent le chlorure de choline, l'acide ascorbique et les aminoacides.
- ❖ Les additifs alimentaires qui sont classés de la façon suivants: Emulsifiants (Mono et di glycéride), acidulants (Acide citrique et phosphorique), stabilisants et épaississants (agar-agar, silicate de calcium), levains, les additifs de conservation et antioxydants, les édulcorants (Saccharine).
- ❖ Les détergents synthétiques : ABS (Alkyl benzène sulfonate).

- ❖ Les plastiques, résines, caoutchoucs et les fibres: ces polymères synthétiques consomment plus du quart des produits chimiques industriels (Allinger *et al.*, 1985).
- ❖ Les dérivés des hydrocarbures (hydrocarbures aromatiques) et particulièrement les composés chlorés, sont largement utilisés comme pesticides, pour la synthèse des isolants (Staley *et al.*, 2004).
- ❖ Les combustibles des hydrocarbures sont formés une source d'énergie thermique et le carburant, grâce à l'invention du moteur à combustion interne, donc l'énergie mécanique (Thabat., 1989).
- ❖ Les hydrocarbures sont utilisés comme matières premières par d'autre industrie transformatrice. Lorsque les microorganismes sont cultivés sur substrat d'hydrocarbure (comme source de carbone), ces micro-organismes synthétisent une grande variété des produits chimiques, Exp.: biosurfactants (Makkar *et al.*, 2000).

Chapitre II
Le Sol

II-1/ Introduction :

Le développement de l'activité économique a conduit, notamment au cours des cinquante dernières années, à des pollutions de plus en plus nombreuses des sols et des nappes aquifères. Le problème est d'importance puisque c'est en particulier la qualité des ressources en eau qui est en jeu.

Parmi les pollutions, les hydrocarbures, du fait leur utilisation très massive occupe inévitablement une place importante. Les pollutions des sols évaluées en termes de risques pour l'environnement posent des questions relatives notamment au devenir des polluants et aux possibilités d'action de restauration, à l'action de la microbiologie qui est occupée une place essentielle dans ces processus (Pompidou., 1999).

II-2/ Les sols pollués :**II-2-1/ Mécanisme d'évolution d'une pollution :**

Les sols constituent un milieu hétérogène formé de graviers, sable, limons, argiles et matières organiques. Les problèmes rencontrés dans la prédiction du transport et du devenir des contaminants sont essentiellement reliés aux hétérogénéités du milieu ainsi qu'à la diversité des phénomènes biotiques et abiotiques susceptibles d'intervenir et aux interactions entre les différentes phases, solide, liquide (aqueuse et/ou organique) et gazeuses.

Lorsqu'un polluant arrive dans le sol, une partie va sous l'effet de la gravité, migrer verticalement à travers la zone insaturée d'un sol (zone située entre la surface du sol et la nappe phréatique dans laquelle une partie seulement des pores est remplie d'eau) pour atteindre la zone saturée (zone où l'ensemble des pores sont rempli d'eau et où les écoulements, horizontaux sont prépondérants). Les produits plus légers que l'eau, par exemple les hydrocarbures, s'ils sont en quantité suffisamment importante, vont flotter à la surface de la nappe, avec des lentilles de polluant pouvant se trouver piégées dans la zone saturée lors des battements verticaux de la nappe (Pompidou., 1999).

II-2-2/ Structure du sol :**a- Définition :**

Le sol est la partie supérieure de la lithosphère, où la vie est particulièrement active (Bliefert et Perraud., 2004). C'est un milieu vivant et dynamique, d'un compartiment original du globe terrestre. Le sol résulte de l'altération du remaniement et de l'organisation des couches superficielles des continents sous l'action des organismes vivants: de biosphère, de l'hydrosphère, de l'atmosphère et des échanges de matières et d'énergie qui s'y manifeste.

D'un point de vue fonctionnel, le sol peut être défini comme un système dynamique complexe quadridimensionnel qui comprend cinq types de constituants principaux : matière minérale, matière organique, solution, gaz, organismes vivants qui

principaux : matière minérale, matière organique, solution, gaz, organismes vivants qui interagissent entre eux. (Bertchelin *et al.*, 2005). Les constituants du sol interagissent pour lui conférer ses propriétés. Leurs proportions, leur variabilité spatio-temporelle, la vitesse des flux qui les relient, influent sur le fonctionnement du système. Ces constituants présentent des propriétés essentielles d'ordre physique ou physico-chimique comme la texture qui est une propriété stable, ne variant qu'en fonction de l'évolution à long terme du sol, pour laquelle elle est un bon indicateur pour la pollution ; et la structure qui est un état du sol variant à court terme (selon les saisons), elle dépend directement de la texture mais aussi de l'état des colloïdes (dispersion ; floculation de ces constituants). (Gobat *et al.*, SD).

II-2-3/ La microbiologie du sol :

Les organismes du sol appartiennent d'une part à deux groupes principaux connus :

- ❖ **Les protistes inférieurs** : qui sont des microorganismes procaryotes ne possèdent pas un vrai noyau et généralement se sont : les bactéries, Actinomycètes, algues vertes bleu (cyanophycées) (Bousseboua., 2005).
- ❖ **les protistes supérieurs** : qui sont les microorganismes eucaryotes possèdent un vrai noyau : les algues, protozoaires, champignons (Bousseboua., 2005).

Ces deux types d'organismes participent d'une manière ou d'une autre à la formation et à l'évolution du sol, en particulier de sa fraction organique. Leur nombre et biomasse dans le sol dépassent souvent l'imagination :

Tableau 1 : Abondance des organismes vivants du sol. Ces évaluations concernent l'ensemble des continents (diverses sources) (Gobat *et al.*, SD).

Organismes	Nombre approximatif		Biomasse moyenne	
	Par g de sol sec	Par m ²	En Kg/ha prof.20cm	En%(sans les racines)
Bactéries	10 ⁶ à 10 ⁹	10 ¹¹ à 10 ¹⁴	1500	25
Champignons	n.d.	n.d.	3500	59
Algues	1000 à 10 ⁵	10 ⁸ à 10 ⁹	10 à 1000	Traces
Protozoaires	10 ⁴ à 10 ⁶	10 ⁹ à 10 ¹¹	250	4
Faune du sol (sans protozoaires)	0,1 à 1000 selon les groupes	10 à 5.10 ⁶ selon les groupes	1 à 5000 selon les groupes	12
Racines	n.d.	n.d.	6000	----
Total	n.d.	n.d.	Env.12000	100

II-2-3-1/ Microflore du sol :

Parmi ces organismes les bactéries et les champignons par leur très grande diversité populationnelle et fonctionnelle et leurs propriétés physico-chimiques comme : charge du surface (Bertchelin *et al.*, 2005).

❖ Les champignons :

Se sont des microorganismes eucaryotes multi ou uni cellulaire comme la levure, la forme la plus répandue est la forme filamenteux uni ou multi cellulaire, il existe un thalle mycélienne formée de tubes plus ou moins ramifiés : hyphes (Guiraud., 1998).

Dans le sol, les champignons se développent en présence d'autres composés organiques pour les minéraliser : les **saprophytes** et d'autres peuvent se développer en présence des êtres vivants qui sont : les **parasites**. Ces champignons forment une relation symbiotique avec les algues pour donner **les lichens** (Bousseboua., 2005).

Les propriétés les plus importantes des champignons se développent dans des conditions extrêmes du milieu, pH bas, l'humidité décroissante où vivent les moisissures (Bertchelin *et al.*, 2005).

❖ Les bactéries :

Se sont des microorganismes procaryotes uni cellulaires vivant dans le sol, la dimension d'une cellule bactérienne varie de 0,1 à une dizaine μm de diamètre et 0,5 à 1 μm de long (Guiraud., 1998).

Les effets de la microflore sur les caractères physico-chimiques du sol sont surtout liés aux fonctions bactériennes donc les bactéries jouent un rôle essentiel dans la formation et l'évolution du sol (Gobat *et al.*, SD).

II-2-3-2/ Les autres organismes :

➤ **Les algues :** ce groupe d'organisme est proche des végétaux qui est caractérisé par le phénomène photosynthétique : autotrophe ; avec la présence de chloroplaste (Guiraud., 1998). Les algues du sol incluent des espèces coccoïdes et des espèces filamenteuses. Les groupes les plus courants sont des *Chlorophyceae* et certains diatomés, particulièrement présents dans les milieux humides (Bousseboua., 2005).

➤ **Les protozoaires :** comme les champignons, ils sont caractérisés par la mobilité et non photosynthétique sauf *Euglena* (Guiraud., 1998). Les protozoaires isolés des sols sont variés et se développent dans les zones superficielles humides. Au niveau des films d'eau entourant les particules (Bousseboua., 2005).

II-3/ Isolement et dénombrement de la microflore du sol dans le cas les bactéries :

Dans leur environnement naturel, pratiquement, tous les microorganismes coexistent avec une multitude d'autres espèces. Un gramme de sol fertile contient entre 10^7 et 10^9 bactéries et de nombreuses espèces. Les méthodes d'enrichissement aboutissent généralement à l'obtention d'un mélange d'espèce. Il est donc nécessaire d'utiliser des techniques qui permettent d'isoler individuellement une espèce de ce mélange de l'échantillon qui se prépare à partir de 1 g du sol contaminé par les hydrocarbures dans 100 ml d'eau : solution mère dont on fait les dilutions.

L'isolement des bactéries est réalisé par une procédure d'étalement sur boîte qui se fait de la manière suivante : un faible volume (généralement 0,1ml) d'échantillon est déposé à la surface d'un milieu gélosé stérile en boîte de pétri, l'échantillon est alors étalé sur la surface au moyen d'un râteau puis on incube les boîtes de pétri à 30°C pendant une période de 24 à 48h jusqu'à l'obtention des souches pures (Staley *et al.*, 2004).

a- Méthode utilisée pour la détection de la production du biosurfactants :

- ✓ **Test d'émulsification Red-oil 0 :** Afin de vérifier que les souches pures choisies sont capables de produire les biosurfactants, on fait le test suivant : On ensemence chaque souche dans un tube à essai contenant du milieu liquide M (bouillon de fermentation) puis on incube à 30°C pendant une durée de 24 à 48h, après l'incubation et en cas de trouble on ajoute le réactif Red-oil0 puis on fait l'agitation sur le vortex pendant 03 min. On fait la lecture après une heure à l'œil nu, on observe la formation de l'émulsion et sa condensation dans l'émulsification du kérosène.

(+) indique un test faible ;

(++) indique un test moyen ;

(+++) indique un test fort ;

(++++) indique un test très fort.

(-) indique un test négatif c'est-à-dire pas de production de biosurfactants par la souche bactérienne.

- ✓ **L'indice d'émulsification :**

On ensemence chaque souche dans un tube à essai contenant le milieu de culture liquide et l'incube à 30°C pendant 24h après l'incubation on ajoute quelque ml de kérosène stérile, en suite on agite le mélange pendant 2min puis on incube les tubes 22h à 30°C après l'incubation on mesure **E24** selon l'équation suivante :

$$E24 = \frac{\text{La hauteur de l'émulsion}}{\text{La hauteur totale}} \times 100$$

Remarque :

- **Réactif Red-oil 0** : préparé à partir de 250 ml de kérosène additionne de quelque mg de poudre Red-oil 0 qui donne la couleur rouge au réactif (Goldenberg., 1998).

Les processus microbiologiques mettant en oeuvre les microorganismes du sol adaptés aux types de polluants présents dans le milieu poreux, peuvent aller jusqu'à l'élimination progressive et Total de la pollution par minéralisation. Ils peuvent être aussi à l'origine de la dissolution de composés polaires synthétisés lors de réaction biochimique d'oxydation partielle des contaminants, et plus rarement de l'entraînement dans la phase aqueuse des polluants sous forme émulsifiée grâce aux biosurfactants fabriqués par les microorganismes. La dissolution continue des polluants dans la phase aqueuse constituée une source permanente de pollution de l'aquifère (Pompidou., 1999).

Le devenir des contaminants dissous est conditionné par les processus biochimiques avec les microorganismes fixés sur la matrice solide du sol ou en suspension dans la phase aqueuse. Dans la zone saturée, ou les flux d'eau de la nappe sont déterminées par la porosité et la conductivité hydraulique du milieu poreux, et par les gradients hydrauliques générés par la recharge et les échanges de la nappe, le mouvement de l'eau représente le principale moyen de transport des polluants (Pompidou., 1999).

II-4/ La microbiologie de la dégradation des polluants :**II-4-1/ La dégradation des hydrocarbures saturés :**

La biodégradation des hydrocarbures saturés est essentiellement un processus aérobie réalisé par des bactéries. Les capacités des microorganismes eucaryotes plus restreintes seront mentionnées pour les classes d'hydrocarbures concernées.

- Les alcanes courts C₂-C₄ sont dégradés par des bactéries appartenant aux genres *Mycobacterium* et *Nocardia*, et par certains champignons : *Graphium sp.*
- Les alcanes à chaînes moyen C₅-C₁₀ sont utilisés notamment par des bactéries du genre *Pseudomonas* : *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas putida* (*P. oleovorans*).
- Les alcanes à longue chaînes C₁₀-C₂₀ sont très utilisés par les microorganismes, plus rapidement que les alcanes moyens (*Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* : CMN) notamment au genre *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* (Bouchez *et al.*, 1999), mais aussi à des levures : *Conidia* pour la production de protéine uni cellulaire sur hydrocarbures développés dans les années soixante utilisaient des levures *Conidia tropicalis* cultivés sur n- alcanes (C₁₂-C₁₈).

- Les alcanes à très longue chaîne supérieure à C₂₀ sont également dégradés par les microorganismes mais l'utilisation de ces substrats solides à température ambiante a été moins étudiée. La dégradation des n- alcanes beaucoup mieux connue que celle des autres classes d'hydrocarbures saturés (Pompidou., 1999).

II-4-2/ La dégradation des hydrocarbures aromatiques :

a/ La dégradation des hydrocarbures mono aromatique :

La dégradation des hydrocarbures mono aromatiques se fait par un processus aérobie, notamment du benzène, du toluène, de l'éthylbenzène, des ortho-meta et para-xylènes (BTNX) constituants importants des essences (Smith.,1990). Elle essentiellement le fait de bactéries Grams négatives *Pseudomonas* et Grams -positifs du groupe CMN mais aussi par les champignons. L'autre processus anaérobie la dégradation de composés aromatique issus de l'attaque de la lignine (Acide vanillique, syringique, benzoïque) est connu de puis un certain temps mais celle des hydrocarbures a été plus récemment mise en évidence (Holiger et Zehnder., 1996 ; Lovley., 1997).

b/ La dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP_s) :

La dégradation des HAP_s essentiellement réalisée par les bactéries aérobies et anaérobies qu'est inférieur a été occasionnellement citée. Cette dégradation dans son ensemble est un sujet sur le quel les connaissances sont récentes (Bouchez *et al.*, 1996).

Au contraire les champignons ne sont pas capables, tant s'en faut d'une dégradation des HAP_s aussi poussée que les bactéries.

Habituellement les HAP_s ne sont pas minéralisés mais convertis dérives polaires par oxygénation (Pompidou., 1998).

Chapitre III
Les Biosurfactants

III-1/ Introduction :

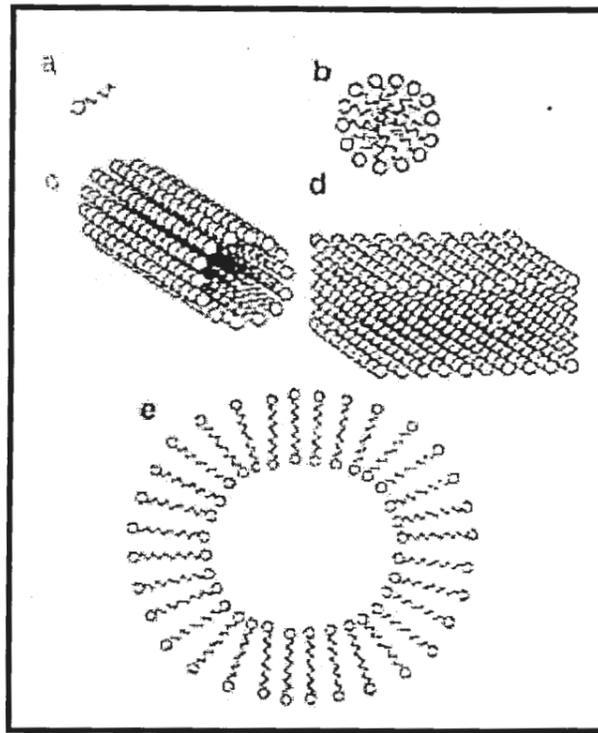
Les microbiologistes ont exploités des microorganismes pour la dégradation des hydrocarbures, et les utiliser comme source de carbone de ce fait, ils ont trouvés une technique biologique qui est dans l'élimination de la pollution pétrolière : l'usage des biosurfactants d'origine microbienne.

Dans le domaine de biosurfactants, les recherches sont élargi en raison de leur utilisation potentielle dans différents domaines tels que : l'industrie alimentaire, l'agriculture, l'industrie pharmaceutique, traitement des déchets de pollution des eaux et des sols contaminés par les hydrocarbures (Kosaric *et al.*, 1987).

III-2/ Définition des biosurfactants :

Les biosurfactants (tension actifs), sont des substances synthétisées par les cellules vivantes, dans la majorité des cas par les microorganismes (bactéries, levures, champignons), soit sur leurs surfaces ou libérées à l'extérieur (extracellulaire), la structure moléculaire des surfactants est définie comme suite : un surfactant possède deux pôles hydrophile et hydrophobe sur la même molécule (Fiechter., 1992). Les biosurfactants ont plusieurs propriétés et caractères moléculaires telle que : la réduction de la tension de surface, la stabilisation des émulsions, et la promotion de la formation de masse (Banat., 1995., Makkar *et al.*, 2000) et aussi leurs natures mixtes (c'est-à-dire, ils possèdent deux pôles hydrophobe/hydrophile), donc ils sont capables de former les micelles et les micelles renversés ou bien associées pour former des micelles en forme ronde, en double couches ou des vésicules «figure -1-», (Fiechter., 1992), en plus de cette propriétés les biosurfactants sont accumulés sur les interfaces, et au milieu entre deux phases de polarité différente tel que : huile/eau, air/eau, ou eau/solide agit comme des agents de mouillement sur les surfaces solides (Zhou et Klekner., 1991), et sont généralement non toxiques et biodégradables (Makker *et al.*, 2000 ;Marchant., 2002).

Les biosurfactants peuvent avoir des structures suivantes : acide mycolique, glycolipide, complexes polysaccharide lipide, lipoprotéine ou lipopeptide, phospholipide (Fiechter., 1992).



- (a) : surfactant monomère, démontré par un cercle représentant la tête hydrophilique attaché à un pôle de nature hydrocarbonique.
- (b) : micelle circulaire.
- (c) : micelle renversées.
- (d) : micelle en double couches.
- (e) : représentation en vésicules.

Figure -1- : la structure d'un surfactant (Fiechter., 1992).

III-2-1/ Le processus d'action des biosurfactants :

Ce processus dynamique est basé sur la capacité de surfactant pour réduire la tension superficielle par gouvernement de l'arrangement des molécules liquides ainsi influence la formation des liaisons hydrogène et les interactions hydrophobe hydrophile (Zhou et Klekner., 1991).

III-2-2/ L'indice d'efficacité des biosurfactants :

La valeur élevée de la tension superficielle minimum et le besoin de la Concentration Critique de Micelles (CCM), sont les paramètres utilisés pour mesurer l'efficacité d'un surfactant (la concentration critique de micelle et en effet la solubilité d'un surfactant dans une phase aqueuse) (Zhou et Klekner., 1991).

III-3/ Classification des biosurfactants :

Les biosurfactants peuvent être classés en trois principaux groupes, basés sur leurs structure chimique qui forme la base de leur carcasse : tandis que le pôle hydrophobe est constitué d'une chaîne d'hydrocarbure d'acide gras, le pôle hydrophile peut constituer d'une fonction ester ou alcool de lipides neutres, ou le groupe carboxylique d'acide gras

ou d'acide amine ou phosphate contient des portions de phospholipides, ou la partie carboxylique de glycolipides.

III-3-1/ Les biosurfactants glycolipidiques :

Ce groupe inclus le sophorose-rhamnose-trihalose-sucrose et fructose-lipide. Il produit par plusieurs espèces tels que : *Torulopsis*, *Pseudomonas*, *Artherobacter* et aussi manosyl erythritol lipides par les espèces : *Candida* et *Shizonella*.

La majorité des biosurfactants de ce groupe sont des rhamnolipides produit par *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* qui constituent les moitiés d'un ou deux sucres liées à la moitié d'un ou deux acides caprilliques par la voie de linkage glycosidique (figure -2-) (Fiechter., 1992).

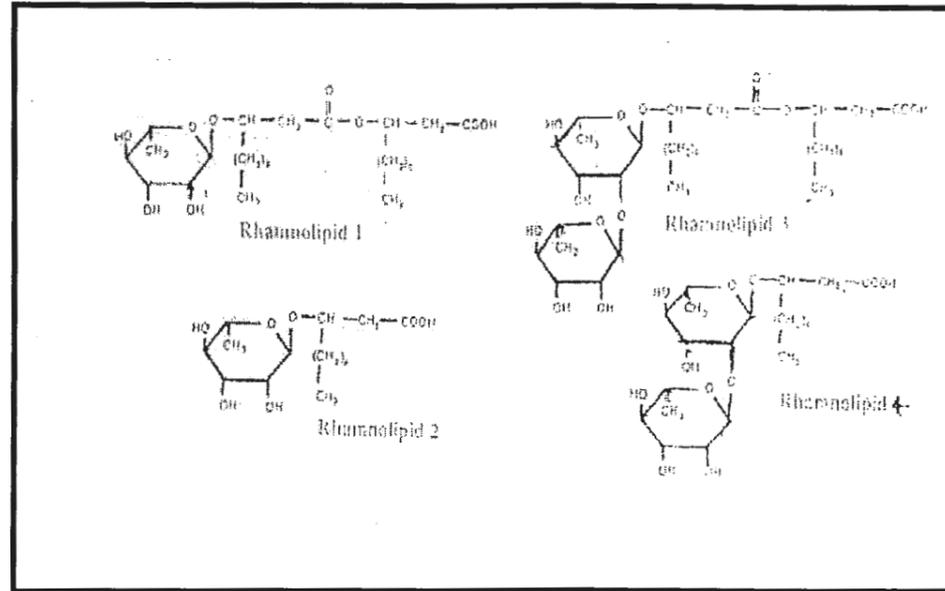
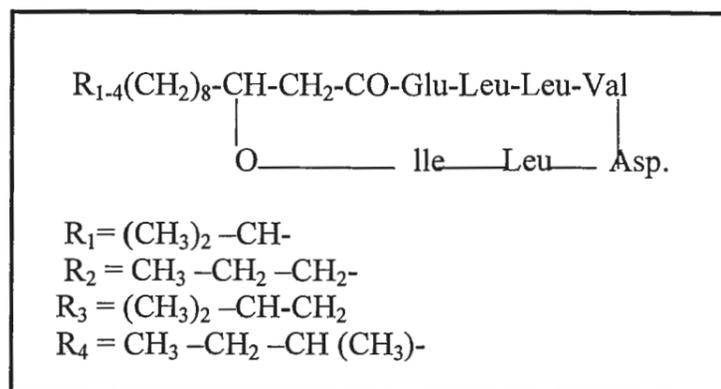


Figure -2- : Quatre formes différentes des rhamnolipides (RLs) synthétiser par *Pseudomonas aeruginosa* DSM2659 (Fiechter., 1992).

III-3-2/ Les biosurfactants lipidiques qui contiennent les acides aminés :

Ce groupe inclus le biosurfactants le plus connu aujourd'hui, Le surfactin dit SO produit par *Bacillus subtilis* (Syldatk et Wagner., 1987). Le surfactin est composé d'une structure cyclique de 7 acides aminés :(glu-leu-leu-val-asp-leu-leu) couplé à une molécule d'acide tétradécanoïque-3-hydroxy-13-méthyle (Harthner et *al.*, 1999). Un biosurfactant similaire est produit par *Bacillus licheniformis*, avec un pôle lipophile d'acide gras liée avec le pôle hydrophile de structure peptidique par la voie le Lactone linkage (figure -3-) (Fiechter., 1992).



**Figure -3- : La structure du lipopeptide (composé de surface active)
Produit par *Bacillus licheniformis* (Fiechter., 1992).**

Les biosurfactants de ce groupe sont connus par leurs activités antibiotiques avec les autres propriétés de surfactin qui sont peu important (Horowitz et Currie., 1990).

Autres exemples de biosurfactants de ce groupe inclue les lipides qui contiennent l'athinine-aurine (Cerilipin) de *Gluconobacter cerinus*.

III-3-3/Les biosurfactants qui contiennent les complexes polysaccharides-

lipides :

Les biosurfactants de ce 3^{ème} contiennent les complexes polysaccharides lipides de *Candida tropicalis* et *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1, ce dernier microorganisme est la source de production d'émulsifiant qui est un bioémulsifiant polyanionique lipohétéropolysaccharide extra cellulaire. La majorité des polysaccharides sont localisés à l'extérieur de la membrane de la bactérie Gram négatif. Libère des surfactants à activité remarquable. La biosynthèse des complexes polysaccharides-lipides est provoquée par la croissance des levures sur les hydrocarbures, et plus tard l'augmentation du taux d'utilisation du substrat est la preuve indirecte de l'activité du complexe surfactant (Fiechter., 1992).

III-3-4/ Protéine comme substances :

Finalement, il y'a un grand nombre de protéines, comme substance avec l'activité de biosurfactant, qu'on peut les classer comme un 4^{ème} groupe de biosurfactants. Une protéine de 70KD appelée serraphobien isolée à partir de cellule de surface et de cultures surnaturelle de *Serraphobin marcescents*, est capable de former des gouttelettes à partir d'hexadécane. Chez la levure *Torulopsis petrophilum*, un surfactant glycolipidique et une émulsifiante protéine capable de stabiliser les émulsions eau/huile ont été identifiés. *Candida lipolytica* produit un liposan qui un complexe (protéine comme substance) de

27,6KD est composée de 83 % de carbohydate qui est capable de stabiliser les émulsions eau/huile. Des complexes semblables (protéine- carbohydate) qui sont connus des émulsifiants sont trouvés chez *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas aeruginosa* (Fiechter., 1992).

III-4/ Les propriétés des biosurfactants :

Les biosurfactants possèdent plusieurs propriétés, tel que :

- ✓ Le surfactant est le produit de la fermentation bactérienne, il est excrété dans le milieu de fermentation, ce produit est extrait et purifié à partir du milieu de fermentation «le moût» ;
- ✓ Le produit final est solide, blanc, pure, plus de 98% est appelé « Bioémulsifiant » (Banerjee., 1992).
- ✓ Les biosurfactants peuvent remplacés les surfactants chimiques dans la remédiation du sol contaminé par les composés hydrophobiques, pour plusieurs raisons :
 - Ils sont biodégradables et moins toxiques que les surfactants synthétiques (Vandyke., 1992).
 - Expérimentalement, le bouillon de culture et non toxique lorsqu il est ingéré par les rats.
- ✓ Le Bioémulsifiant ne produit pas une réaction allergique lorsqu'il est testé sur la peau de lapin ;
- ✓ En plus, plusieurs surfactants sont doués des caractéristiques thermiques plus stables, par exemples : les lipopeptide de *Bacillus licheniformis* sont stables à une température supérieure à 75°C pendant 140 heure (Georgiou., 1992), et l'autoclavage pendant 1heure à 121°C ne diminue pas leur activité émulsifiante (Benerjee., 1992).
- ✓ Les surfactants sont actives à des pH compris entre 5,5 et 12, mais ils perdent progressivement leurs activités dans des conditions plus acides (Georgiou., 1992).
- ✓ Il est intéressant de noter que le Bioémulsifiant a plus d'action sur l'eau salé (contient 10 % de chlorure de sodium, 2,8 % de chlorure de calcium, 1 % de chlorure de magnésium), que dans l'eau distillé (Benerjee., 1991).
- ✓ Les propriétés interfaciales des surfactants dépendent de la composition ionique de la phase aqueuse ;

- ✓ Les concentrations élevées en NaCl inactivent les glycolipides de *Torulopsis apicola*, d'autre côté la tension interfaciale du bouillon de fermentation de *Bacillus licheniformis* JF2 diminue en présence de 10% NaCl mais elle n'est pas affectée par la présence de sel de calcium. Tandis que microorganisme croît et produit les surfactants dans des conditions d'aérobioses ou d'anaérobioses en présence d'une concentration en NaCl supérieure à 8 % (Georgiou., 1992).

Tableau -2- Structures, propriétés interfaciales et les niveaux de production des biosurfactants typiques (Georgiou., 1992)

Biosurfactant	Microorganisme	Source de carbone	T.S. (mN/m)	T.I. (mN/m)	CMC	Concentration dans le milieu/Y
Glycolipides						
Glycolipides	<i>Rodococcus aurantiacus</i>	n-alcane	26	0,35	Na	400xCMC
Glycolipides	<i>Rhodococcus</i> sp. <i>Souche H134</i>	Hexadecane	na	0,02 ^b	1,5 g/l	660mg/l
Glycolipides	<i>Torulopsis apicola</i>	alcane/carbohydra	30	<0,9 ^b	na	4,1xCMC
Penta saccharide lipide	<i>Nocardia corynebacteroides</i>	e	26	<1 ^a	25 mg/l	2,9g/l
Rhamnolipide	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	n-alcane	29	0,25*	Na	2,5g/l
Rubiwettins	<i>Serratia rubidaea</i>	glucose	25.5-25.8	na	10 mg/l	na
Sophorolipides	<i>Torulopsis bombicola</i>	glycérol	33	1,8	na	38-77g/l
Trehalose-mono, dicorynomycolates-	<i>Nocardia corybacteroides</i>	glucose/acide oléique	32-36	14-17	4 mg/l	0,25-3,2g /l
Lipopeptides/Amino-lipides	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	n-alcane				
Lipopeptides	<i>Bacillus ticheniformis</i> JF2	glucose	27	1,016 ^b	0,02 mg/l	01-07mg/l
Lipopeptides	<i>Bacillus ticheniformis</i> 86	glucose	27	0,36 ^a	10 mg/l	20mg/l
Viscosin	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	glycérol	26.5	na	150 mg/l	na
Serrawettin	<i>Serratia marcescens</i>	glycérol	28.8-33.9	na	na	na
Surfactin	<i>Bacillus subtilis</i>	glucose	27-32	1 ^a	23-160	60-240xCMC
Acide gras/Lipides neutres						
Acide gras	<i>Corynebacterium lepus</i>	Kérosène/alcane	<30	2 ^c	150 mg/l	150mg/l
Acide gras+lipides neutres	<i>Nocardia erythropolis</i>	Hexadecane	32	<3	na	160xCMC
Autres						
Protéine carbohydra	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Saccharose	27	na	< 10 mg/l	210xCMC
complexe	378					
Phosphatidylethanol-	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	n-alcane	30	<10	30 mg/l	na
amines	<i>Corynebacterium insidiosum</i>	hexadecane	28.5	.55 ^a	na	25xCMC
na						

a : Tension interfaciale mesuré hexadécane, b : Tension interfaciale décane, c : Tension interfaciale Kérosène, * : pas de valeur

III-6/ Les microorganismes produisant les biosurfactants :

La production biologique de biosurfactants fait appel à plusieurs microorganismes: bactérie, levure, dont leur rôle principale est la capacité de remédiation des sols contaminés par les hydrocarbures (Vandyke., 1992).

La structure chimique de biosurfactants se diffère selon les espèces d'un même genre de microorganisme, par exemple: les rhamnolipides produits par les espèces de *Pseudomonas* différentes entre eux par le nombre de molécules de rhamnose (1 à 2), et la longueur de pôle lipidique (Miller., 1995).

A titre d'exemple, d'après les études faite sur une fermentation en continue par *Pseudomonas aeruginosa* PG201, ils ont montré qu'elle a produit 0,7 g/1.h de rhamnolipides (Vandyke.,1992).

De plus ils ont isolé à partir de sols contaminés par l'huile: *Pseudomonas aeruginosa* UG2, qui est capable de produire en quantité énorme un émulsifiant extracellulaire lorsqu'elle a poussé sur plusieurs variétés d'hydrocarbures et les non hydrocarbures (Vandyke., 1992).

Acinetobacter calcoaceticus RAG-1 produit l'émulsifiant qui a été étudié et destiné pour plusieurs application (Vandyke., 1992).

Plusieurs groupes de bactéries anaérobies sont connus par leur production de biosurfactants, tandis que la réduction des tensions interfaciales n'est pas élevée tel que celle produit par les organismes aérobies (27-30 mN/m) (Vandyke., 1992).

Un surfactant anionique produit par *Bacillus licheniformis* JF-2 est capable de réduire la tension superficielle des milieux minéraux jusqu'à 28 mN/m sous les conditions d'anaérobiose. Avec la mise en évidence qu'un organisme produit le même surfactant quelque soit les conditions d'aérobiose ou d'anaérobiose (Fiechter., 1992).

D'autre part, l'espèce *Bacillus subtilis* est capable de produire un surfactant de nature lipopeptidique, qui est obtenue en quantités élevées de mousse (0,8 g/l) au cours d'une fermentation (Vandyke., 1992).

Bacillus subtilis suf-1 est le mutant dérivé à partir de *Bacillus subtilis* ATCC 21332, il est capable de produire le surfactin 3 fois plus active que celui produit par la souche parentale *Rhodococcus erythropolis* (Vandyke., 1992).

L'espèce produite le trihalose qui peut réduire la tension de surface de l'eau à 28 mN/m. Le trihalose-lipide a été produite à une concentration maximale de 2,1 g/l au cours d'une fermentation en Batch (Vandyke., 1992).

Concernant les levures, on trouve que l'espèce *Candida lipolytica* produit un émulsifiant extracellulaire appelé : liposon au cours de sa croissance sur une substance carboné non miscible à l'eau. Une autre espèce *Candida tropicalis* produit un émulsifiant lorsque elle a poussée sur l'hydrocarbure. On trouve aussi, *Torulopsis bombicola* produit un émulsifiant qui est le sophorolipide avec un rendement maximale de 70 g/l (Vandyke., 1992).

III-7/ Biosynthèse des biosurfactants:

Vu la diversité des biosurfactants leur formation implique plusieurs voies de synthèse, elles sont classées selon le domaine hydrophobique, hydrophilique ou les 2 à la fois. Les deux domaines sont élaborés de nouveau mais ils peuvent être formés par modification de la source du carbone (Georgiou., 1992).

L'exemple le plus frappant c'est celui sur des expériences faites sur *Arthrobacter*, ont montré le surfactant trihalose-lipide est remplacé par le saccharose-lipide lorsque cette bactérie pousse sur un milieu contenant le saccharose comme source de carbone (Fiechter., 1992).

Par contre chez *Rhodococcus erythropolis*, la synthèse du trihalose-lipide n'est pas affectée, car la fraction osidique n'a pas échangé en changeant la source de carbone, alors que la fraction lipidique dépend de la longueur de l'alcane utilisé (Georgiou., 1992).

Dans le cas de lipopeptide tels que le herbicoline A et le surfactin, la fraction lipidique et peptidique sont formées à partir des carbohydrates, l'addition d'acides aminés ou des acides gras dans le milieu de culture n'affecte pas la structure. Les acides gras du surfactant sont synthétisés selon le métabolisme lipidique (Georgiou., 1992).

Donc le domaine hydrophilique du biosurfactant représente une complexité de mécanisme de synthèse. Les surfactants de nature lipopeptidique ne sont pas synthétisés de point de vue biogénétique par voie ribosomiale, mais par un système enzymatique multifonctionnel, tels que dans la synthèse du décapeptide du gramicidine où interviennent deux enzymes l'une catalyse l'activation du L-Phe-Ala et sa transformation en configuration D, l'autre catalyse l'activation des 4 autres acides aminés. Le D-Phe-Ala est transformé du système E₁ à E₂ pour donner le dipeptide D-Phe-Pro qui est transporté aussi d'élongation (Larpen., 1995).

La gramicidine est produit par *Bacillus brevis*, un autre surfactant le surfactin possède une activité tension-active produit par *B. subtilis* dont il y a d'abord l'activation d'acides aminés sous forme aminoacyl adenylate, l'intermédiaire activé s'attache à un groupement SH de l'enzyme en constituant un aminoacyl thioester, ce premier acide aminé activé réagit avec l'amine de second acide aminé lié à l'enzyme. Cette liaison est établit grâce à l'énergie libérée par la capture de la liaison thioester. Le dipeptide ainsi formé établit une autre liaison thioester avec l'enzyme, le transfère du peptide est catalysé par un cofacteur 4penthétéine. Et ainsi de suite jusqu'à la fin de la chaîne. (Larpen., 1995). En général la synthèse de la fraction lipidique et hydrophilique dérive du métabolisme primaire mais elle est reliée à deux autres voies de dégradation celle des hydrocarbures et carbohydrates (Glucides et produit d'origine pétrolier respectivement).

Le biosurfactant a un rôle physiologique lors de la croissance sur des composés insolubles dans l'eau par l'abaissement de la tension superficielle, il laisse le substrat à la déposition de la bactérie par un contact avec la micelle, c'est-à-dire avec adhésion.

III-8/ Les biosurfactants et les phénomènes de surface:

Avant d'aborder la discussion à propos de l'influence du biosurfactant sur la tension superficielle on va expliquer brièvement quelques phénomènes de surface:

❖ Surface de solution:

Si on ajoute une substance à un liquide pur, on constate que la solution qui en résulte a une tension superficielle différente de celle du liquide initial, si le soluté s'accumule sur la surface du liquide est dite «surface-active». Donc c'est l'adsorption positive. Mais si l'accumulation du soluté est au fond de la solution on parle de l'adsorption négative (Chitour., 1981).

❖ Exigences physico-chimiques de la formation d'un film superficielle:

La solubilité dans l'eau d'un composé dépend d'un équilibre qui existe entre le groupement hydrophobe et hydrophile de ce composé, la solubilité décroît quand la chaîne hydrocarboné du composé croît, elle devient nul sous l'effet d'un groupement hydrophobe suffisamment prononcé, ainsi la substance a tendance de former une mince pellicule appelé film, qui est en faite une adsorption particulièrement forte (Chitour., 1981).

❖ L'émulsion :

L'émulsion c'est une dispersion d'un liquide dans un autre liquide et pour que les deux liquides se mélangent, il faut que l'un des deux contiennent un agent capillairement actif, qui se concentre à la surface de séparation des deux phases et forme un film interfacial, le film englobe les gouttelettes et les rend superficiellement solubles (Chitour., 1981).

❖ Détersion:

L'agent tension-actif s'attache sur la substance non soluble par le pôle hydrophobe formant ainsi globule a une appelée micelle; facilitée le déplacement de la substance insoluble, la micelle formée est hydrophobe ce qui facilite sa suspension dans la solution (Chitour., 1981).

❖ Notion de la tension superficielle:

Les molécules superficielles d'une surface condensée ne sont pas dans le même état thermodynamique que celle de l'intérieur du liquide, sont affectées sous l'influence de forces non équilibrées cette attraction uniforme provoque une tension superficielle (Chitour., 1981).

❖ Notion de la tension interfaciale:

Lorsqu'on parle de la tension superficielle d'un liquide celui-ci est supposé au contact de sa vapeur ou de l'air ce qui revient à dire que la surface libre d'un liquide et l'air en réalité une interface liquide-air. On est ainsi conduit à généraliser cette notion et à conduire les interfaces liquide-liquide, liquide-gaz, liquide-solide, gaz-solide (Chitour., 1981).

❖ Agent tension-actif:

On parle d'un agent tension-actif lorsque celui-ci est capable de diminuer la tension superficielle, les expériences montrent que les corps les plus tension-actifs qui possèdent le plus de groupements hydrophobes par leur hydrophobie à l'eau ont tendance à flotter à la surface donc ils remplacent dans la couche superficielle un certain nombre de molécules d'attraction plus faible donc abaissement de la TS (Chitour., 1981).

❖ Influence des biosurfactants sur la TS:

Vu la présence dans la même molécule du biosurfactant un groupement hydrophile et hydrophobe le biosurfactant peut s'insérer entre deux phases ayant des polarités différentes tels que l'huile et l'eau en gouvernant l'arrangement des molécules du liquide influençant la formation de liaisons d'hydrogènes cela provoque la diminution de la TS. L'apport du biosurfactant nécessaire pour donner la plus basse TS est appelé concentration micellaire critique (CMC) (Chitour., 1981).

La CMC maximale varie entre 1 et 200 mg/l, en résumé le biosurfactant augmente la dispersion des composés organiques insolubles dans l'eau par deux façons:

- ❖ soit cette dispersion est grande au-dessous de la CMC dû aux interactions hydrophobiques entre le surfactant et le composé lui-même (Zhang., 1992).
- ❖ soit-elle est importante au-dessus de la CMC qui est en relation avec l'encapsulation du composé par la micelle du surfactant (Zhang., 1992).

III-9/ La fermentation et l'extraction des biosurfactants:

Comme plusieurs fermentations microbiennes, le but de la production des biosurfactants c'est de maximiser la productivité (g /l /h) d'augmenter le rendement des biosurfactants à partir d'une source de carbone et d'atteindre des concentrations finales élevées, en plus de ça c'est important de diminuer l'accumulation des autres produits métaboliques qui peuvent intervenir ou influencer sur les propriétés physiques de l'agent tension-actif (la surface active) ou bien sur son extraction « surfactant »(Georgiou.,1992).

Depuis que les biosurfactants sont constitués d'un groupe divers des composés produits par une variété d'espèces microbiennes, il est difficile de suivre le procédé de développement et d'un cas à un autre, les fermentations doivent être optimisées (Georgiou., 1992).

La plupart des biosurfactants sont libérés dans le milieu de culture pendant la phase exponentielle mais certains d'entre eux peuvent être aussi produits par les cellules au repos ou bien par les biocatalyseurs immobilisés (Georgiou., 1992).

Dans certains cas le biosurfactant est produit pendant une partie du cycle de croissance soit inactive, soit incorporé aux autres métabolites par exemple : *Corynebacterium*, produit 2 différent composés de la surface active au cours de la fermentation (Georgiou., 1992).

Les acides corynomycoliques de la surface active qui sont produits pendant l'étape première de la croissance sont incorporés rapidement aux lipopeptides qui sont constitués des surfactants majeurs dans la phase finale de la fermentation (Georgiou., 1992).

Un modèle intéressant de la production de biosurfactants est illustré par le changement dans la tension interfaciale du bouillon de fermentation du *Bacillus licheniformis* J.F.2 qui pousse dans un milieu minimal (Georgiou., 1992).

L'accumulation de l'agent actif atteint le maximum dans le milieu de la phase exponentielle et par la suite diminuer rapidement, probablement parce qu'il est transformer en métabolites qui n'a pas une activité sur la surface c'est-à-dire autres que biosurfactant.

Le choix de la source de carbone joue un rôle important sur le rendement et la structure des biosurfactants. Il y a des microorganismes qui produisent les biosurfactants seulement quand ils se développent sur les hydrocarbures et autres qui exigent des substrats simples solubles dans l'eau comme les carbohydrates et les acides aminés (Georgiou., 1992).

Il existe des bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa* produisent les agents de la surface active quand ils poussent au dépend des substrats solubles ou les substrats insolubles dans l'eau et dans ce dernier cas la production est élevée par rapport au premier. Souvent la longueur de la chaîne des hydrocarbonés a un effet significatif sur la concentration finale du produit dans le milieu de fermentation (Georgiou., 1992).

D'autres composants du milieu de croissance peuvent avoir un effet sur la production des biosurfactants par exemple : le rapport nitrogène /source de carbone

(N/C) détermine le rendement des glycolipides par *Pseudomonas*, la production du surfactin est augmentée en présence d'une concentration élevée en Fe et Mn dans le milieu de croissance (Georgiou., 1992).

L'addition des antibiotiques comme la pénicilline ou le chloramphénicol peut améliorer ou inhiber la production des biosurfactants. La synthèse des glycolipides par *Torulopsis* sp est affectée par la concentration de l'extrait de levure. Dans certains cas le rendement des biosurfactants peut être amélioré par l'extraction continue de produit désiré ou les autres métabolites inhibiteurs (Georgiou., 1992).

Finalement comme les autres fermentations la température de croissance, le pH et le taux d'oxygène transféré exercent un effet important sur la concentration finale et la productivité volumétrique des biosurfactants (Georgiou., 1992).

Par l'optimisation des conditions de fermentation Cooper a obtenu une concentration de 70 g/l de sophorose lipides et 35 % le rendement du substrat carboné. Ces les valeurs les plus élevées reportées jusqu'à présent pour les fermentations des biosurfactants (Georgiou., 1992).

La séparation des biosurfactants peut être effectuée dans quelques étapes simples comme la précipitation, l'extraction organique ou la chromatographie d'adsorption. Les composés insolubles dans l'eau comme les glycolipides produits par *T. bombicola*, peuvent être séparés à partir du bouillon, comme les huiles lourdes, on suivant la centrifugation;

Le surfactant et les biosurfactants chargés sont isolés par précipitation acide à pH=2 (Georgiou., 1992).Le sulfate d'ammonium a été utilisé pour précipiter les biosurfactants à partir du bouillon de fermentation;

L'extraction organique est utilisée avec la précipitation d'une façon alternative. Un coefficient de partition élevé dans la phase d'extraction est obtenu par une sélection judicieuse d'un solvant organique et la régulation de la force ionique et le pH de la solution aqueuse. La chromatographie d'adsorption sur la résine échangeuse d'ions, carbone activée, Amberlite XAD-2, a été utilisée pour obtenir des produits à pureté élevée. L'ultrafiltration, aussi a été utilisée d'une façon successive pour récupérer les biosurfactants à partir du bouillon de fermentation (Georgiou., 1992).

Finalement, pour des raisons analytiques, une résolution de purification élevée est obtenue par une combinaison entre une couche mince, un gel-filtration et la plus importante, la chromatographie de la phase réversible (Georgiou., 1992).

III-10/ Les domaines d'utilisation des biosurfactants:

Les propriétés fonctionnelles uniques des biosurfactants permettent leurs utilisations et leurs remplacements éventuel, des produits chimiques synthèses de surface dans un grand nombre d'opération industrielles, et parmi leurs caractéristiques effectives on trouve : émulsification, phase de séparation, solubilisation inhibition de la corrosion et réduction de la viscosité. Donc, il y a plusieurs domaines d'applications industrielles où les surfactants chimiques peuvent être substitués par les biosurfactants dans différents utilisables tels que : agriculture, industries des aliments et boissons, industrie des détergents et produits de nettoyage, cuire, industrie des papiers et traitement des métaux, produits cosmétiques, industrie pharmaceutique, et les industries pétrolières et pétrochimiques (Fiechter., 1992).

Un autre large marché où les surfactants sont utilisés aussi à grand échelle c'est l'émulsification et la polymérisation des peintures, l'enduisage des papiers et l'industrie des enduits, Lyman a décrit d'autres utilisations de surfactants tels que : la fabrication des textiles et des fibres, traitements des eaux, comme préservatives de bois, ainsi dans les produits chimiques d'agriculture pour diluer et disperser les fertilisants et les pesticides, et pour augmenter la pénétration des composés actifs dans les plantes (Vandyke., 1992).

Les avantages remarquables des biosurfactants incluent leur large spectre de caractéristiques structurales et les propriétés physiques, leurs productions sur les substances renouvelables, leurs capacités d'être modifiés et leurs biodégradabilités.

Tandis que, plusieurs surfactants chimiques causent des problèmes environnementaux dus à leur résistance à la biodégradation et leur toxicité lorsqu'ils sont accumulés dans les écosystèmes naturels.

En 1987, le seul biosurfactant industriel commercialisé dans le marché c'est « Emulsan », qui est utilisé pour le nettoyage de vaisselles contaminées par l'huile. L'Emulsan est aussi utilisé pour faciliter le transport des conduites (canalisation) du pétrole brut lourd, grâce à sa capacité de réduire la viscosité qui contribue à réduire les coûts du transport. Une autre application, à rendement élevé a été récemment décrite, c'est l'utilisation des biosurfactants dans le nettoyage des tanks du pétrole par l'élimination de la masse formée au fond des tanks (Oberbremer *et al.*, 1989).

Un système modèle pour la décontamination microbienne des sols a été développé et présenté par Oberbremer et Muller-Hurtig. La dégradation complète du pétrole dans un bioréacteur est réalisée par la population microbienne originale du sol (Fiechter., 1992).

La dégradation d'hydrocarbure dans le sol dépend essentiellement de la présence des espèces de microorganismes capables de dégrader la composition des hydrocarbures, de l'apport en oxygène, l'eau, la température, le pH et les nutriments inorganiques. L'état physiologique d'hydrocarbures peut affecter la biodégradation. Pour le traitement des hydrocarbures contaminants les sols il y a des méthodes biologiques de croissances l'une

de ces méthodes c'est le traitement des sols contaminés dans un bioréacteur dont lequel se trouvent les conditions optimales pour rendre au maximum la dégradation microbienne (Vandyke., 1992).

Une autre méthode utilisée pour éliminer les huiles contaminants les sols consiste à ajouter des biosurfactants dans le sol afin d'augmenter la mobilité d'hydrocarbures. Les biosurfactants peuvent être utilisés pour augmenter la solubilisation de composés organiques toxiques, en plus du fait qu'ils se trouvent dans l'industrie pétrolière (Vandyke., 1992).

Berg et ses coll. ont décrit un agent émulsifiant produit par *Pseudomonas aeruginosa* UG2 qui va augmenter la solubilité d'héxachlorophényl ajouté pour les sols et comme résultat 31% de composés sont éliminés et dans la phase aqueuse qui est environ 3 fois plus élevée que celle solubilisé par lignisulfonate de sodium (9,3 %). Lorsque le biosurfactant *P. aeruginosa* et lignisulfonate sont utilisés tous les deux, une solubilisation élevée a été observée (41,5 %). L'augmentation de la solubilisation de l'héxachlorobiphényl peut augmenter sa capacité de dégrader les microorganismes (Vandyke., 1992).

Environ 2 milliards de tonnes par an de pétrole sont produits et 0,08-0,4 % du total de production vont éventuellement polluer les océans, le pétrole brut contient composés mutagènes et cancérigènes et les composés inhibiteurs de croissance qui peuvent causer plusieurs effets toxiques pour les organismes marins. Les microorganismes capables de dégrader les hydrocarbures ont été isolés à partir d'un environnement aquatique, ces microorganismes possèdent aussi l'activité d'émulsification. Cette double activité a été observée chez les microorganismes des eaux douces et ceux des eaux marines (Vandyke., 1992).

Malter et ses coll. ont étudié la dégradation du pétrole brut dans un fermenteur et ils ont utilisé un système de culture en continue par une culture mixte de bactéries isolées à partir de l'eau de mer, ils ont trouvé que les biosurfactants vont être recyclés au cours de leur production, et utiliser pour la pré-émulsification du milieu et les cellules vont être recyclés. Le taux de dégradation est augmenté de 0,24 à 1,06 g/l.h, et 80 % du pétrole brut a été dégradé (Vandyke., 1992).

Les surfactants produits par les microorganismes du sol peuvent être utiles pour un environnement aquatique par exemple: chakrabarty a reporté qu'un émulsifiant (EM) produit par *Pseudomonas aeruginosa* SB30 est capable de disperser rapidement le pétrole en de fine gouttelettes, donc il peut être utile pour l'élimination du pétrole à partir des tanks contaminées;

Les biosurfactants produits par les bactéries dégradent le pétrole peuvent être utiles pour le nettoyage des tanks de pétrole (Vandyke., 1992).

Conclusion

Conclusion :

Les hydrocarbures sont des polluants organiques majoritaires des sols, liés à l'utilisation massive de produits pétroliers depuis une cinquantaine d'année et à des activités industrielles, souvent anciennes, utilisant des combustibles fossiles ou des produits dérivés.

Les hydrocarbures sont issus de la combustion incomplète de matières carbonées. Emis dans l'environnement, les sols constituant leur principal point de fuite, faiblement solubles dans l'eau et peu biodégradable, ceux sont des polluants rémanents souvent associés à un caractère toxique et cancérigène. Les techniques actuelles de dépollution des sols reposent sur des moyens lourds, coûteux et présentant souvent des risques environnementaux.

Au contraire, la biodégradation des hydrocarbures par les microorganismes a été conduit à l'élimination des hydrocarbures de l'environnement et donnant un produit secondaire : biosurfactant. Ainsi l'utilisation de surfactant d'origine biologique présente un potentiel intéressant, pour favoriser la remobilisation et participe dans plusieurs domaines tel que : l'agriculture, industrie alimentaire, les produits cosmétiques, et mai aussi en industrie pharmaceutique.

Références bibliographiques

Références

- **Allinger NL., Cava MA., Lebel NA., Stevens CL.** Chimie Organique. Vol III Appl., page : 932-936, Ed. française dirigée par Eric Brown, 1985.
- **Ainsworth SJ.** Chemical. Eng. New 68, page : 25-84, 1990.
- **Banat IM.** Biosurfactants, la production et des utilisations possibles microbiennes dans la récupération améliorée du pétrole et la pollution par les hydrocarbures d'assainissement. Bioresources technol. Vol 51, page : 1-12, 1995.
- **Bertchelin JA., Girard MC., Christain walter., Ramy JC.** Sols et l'environnement, page: 34, Ed.DUNOD, Paris, 2005.
- **Benerjee S.** Biosurfactants for des luding crude /fuel oil storage tank. Chemical industry digest, page : 75-78, 1992.
- **Bliert C., et Perraud R.** Chimie de l'environnement, air, eau, sols, déchets, page 10-12-14, Ed.Université de boeck, Bruxelles, 2004.
- **Bouchez-Naitali M., Rakatozafy H., Marchal R., Leveau JY., Vandecastelle JP.** Diversity of bacterial strains dégradant hexadecane in relation to the mode of substrate uptake. J. Appl. Microbiol. Vol 86, page : 421-428, 1999.
- Boumediène** raffinage du pétrole tome1, page : 8, Ed Office des publications universitaires, Algérie 1983.
- **Bousseboua H.** Microbiologie générale, page : 10-14-15, 2^{ème} Ed Campus-Club.BP179DAKSI 25.001Constantine(Algérie), 2005.
- Chitour C.E.** chimie de surface et catalyse chimique, page17-18,Ed. Office des publications universitaires,Algérie 1981.
- **Fiechter A.** Biosurfactants Moving to wards industreal applicatin TIBTECH. Vol 10, page: 208, 216, 1992.
- **Georgiou G.** Surface active compounde for microorganismes. Biotechnol. Vol 10, page: 60-64, 1992.
- Goldenberg B.G., Cooper D.G.** Surface active agents from two bacillus species. Appl.Environ. Microbiol., page: 224- 229 .1998.
- **Gobat M., Aragno JM., Willy M.** Sols vivants basés des pédologie (biologie des sols), page : 43-46, Ed.Presses polytechniques et Universitaires Romandes, SD(sans date).
- **Guiraud JP.** Microbiol. alimen., page : 3-7-10, Ed. TEC& DOC, 1998.

- **Harthner T., Neu TR and Porallak.** Surface active propriete of viscosin a peptidolipide antibiotic. Appl. Microbiol, Biotechnol., page: 56, 1999.
- **Holiger C., Zehnder AJB.** Anaerobic biodegradation of hydrocarbures. Current opinion in biotechnol., Vol 7, page : 326-330, 1996
- **Horowitz S., Currie JK.** Novel dispersant of silicon and aluminum nitride. J. Dispersion Technol, page : 637-659, 1990.
- **Kosaric, N., Cairns, W.L, and Gray, NC.C.** Microbial De-émulsifiers.in: Kosaric, N. et al.(eds)biosurfactants and biotechnology, page: 248-321, Ed.Marcel Dekkerm New York, 1987.
- Larpent J.** Biosynthèse des antibiotiques, page:88-90, 1995.
- **Lefebvre G.** Notion de chimie du pétrole application de l'institutue francaise du pétrole, page : 41, Ed.TECHNIP, Septembre 1986.
- **Lovley DR.** Potential for anaerobic bioremediation of BTEX in pétroleum-contaminated aquifers Indus. Microbiol. Biotechnol. Vol18, page : 75-81, 1997.
- **Makkar RSM., Banat MI., Cameatrass IM.** Potentiel desplication commerciles des microbiennes surfactants. Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol 53 , page : 495-508, 2000.
- **Marchant R., Rahman KSM., Thahira RJ., Clean S., Banat MI.** Rhamnolipide biosurfactants production par les souches de *P. aeruginosa* à faible cout des materiels. J. Biotechnol. Prog.,Vol 18, page :1277-1281, 2002.
- **Miller R .** Biosurfactnt-facilated remédiation of metal contaminated soils, Environnement alhealth persectives Vol 103, page : 59-60, 1995.
- **Oberbremer A., Miller R., Hurtig R.** Appl. Microbiol and Biotechnol Vol 31, page : 582-586, 1989.
- **Ouahes C .** Chimie organique , page 6-7, 1988.
- **Pompidou A .** Biotechnologie, page :635-837-839, 5^{ème} Ed.TEC & DOC Londres New york, 1999.
- **Proskouriakov V., Drabkine A .** Chimie du pétrole et du gaz (technique sovietique), page : 11, Ed.MIR, Moscou 1985.
- **Prévot AR.** Biosynthèse bactérienne du méthane et des pétroles pour l'année 2000, page: 114-115, Ed. france 1977.
- Smith M.R.** The biodegradation of aromatic compounds by bacteria. *Biodegradation*,1, page:191-206, 1990.

- Staley JT., Stephen P., Perry JJ.** Microbiologie/Isolement de culture pure, page :115-116, Ed.Dunod ; Paris 2004.
- **Syldatk C., Wagner F.** In Biosurfactant and Biotechnology. Surface Science Series Vol 25, page : 89-120, 1987.
- Thabat.M.N.** Le secteur des hydrocarbures et le developpement economique de l'algerie, page : 42-44, Ed.Office des publications Universitaires place Centrale Ben Aknoun Alger, 1989.
- Vandyke MI., Hunglee and Trevors JT.** Application of microbial surfactants, page : 241-246, 1992.
- **Zhang Y., Miller RM.** Enhanced oil recovery and biodegradation by *P. aeruginosa*. Appl and environmental biotechnology , page 3276-3282, 1992.
- **Zhou QH ., Klekner V.** Black well scientific, page: 76-79, 1991.

caractérisations et production des biosurfactants bectériennes

Présenté par:

Zaama Amira
Boukeffous Nouria
Remitta Fatima

Dirigé par:

M^{elle} S. LAGGOUNE

En vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieur(DES). Option: Microbiologie.

Résumé:

Les biosurfactants sont des substances non toxiques et biodégradables, se sont principalement produits par des micro-organismes (des bactéries, des levures et des champignons), se développant dans un milieu aqueuse contenant une ou plusieurs sources de carbone, comme des hydrates de carbone, des huiles ou des hydrocarbures, la dégradation de ces derniers par les microorganismes tel que: *Pseudomonas aeruginosa* donne les biosurfactants. Ils offrent des applications varies aussi bien que dans le domaine environnemental (dépollution des eaux et des sols contaminés par les hydrocarbures, agriculture, traitement des déchets et des métaux...), aussi que dans les industries alimentaires et récemment sont utilisées dans le domaine médicale et thérapeutique.

Mots clés: Biosurfactantes, biodégradables, micro-organismes, hydrocarbures, sols, dépollution.

Abstract:

The biosurfactants are the non toxic substances and biodegradabl products, occurred mainly by micro-organisms (bacteria, the yeasts and fungi), developed in an aqueous environment containing one or several sources of carbon, as hydrates of carbon, oils or hydrocarbons, the deterioration of these last by the microorganismes as: *Pseudomonas aeruginosa* gives the biosurfactants. They offer some applications varies as well as in the domain environnemental (depollution of waters and soils contaminated by the hydrocarbons, agriculture, treatment of the garbage and metaux...), also that in the food industries and are used lately in the medical dommaine and therapeutique.

Key words: Biosurfactants, biodegradabl, micro-organisms, hydrocarbons , soils, depollution.

الملخص:

المشتتات الحيوية هي مواد غير سامة وقابلة للتحلل الحيوي تنتج بصفة خاصة بواسطة الاحياء المجهرية (البكتيريا ، السائر والفطريات) التي تنمو في وسط مائي يحتوي على مصدر او عدة مصادر للكربون مثل : هيدرات الكربون ، الزيوت او المحروقات. هذه الاخيرة وبعد تعرضها للتحلل بواسطة الاحياء المجهرية مثل *Pseudomonas aeruginosa* فانها تعطي المشتتات الحيوية، التي تدخل في عدة مجالات وتطبيقات مختلفة مثل المجال البيئي (ازالة لتلوث المياه والتربة الملوثة بالمحروقات، الزراعة، معالجة الفضلات والمعادن) كذلك في الصناعات الغذائية و حديثا تستعمل المشتتات الحيوية في المجال الطبي والشبه طبي.

الكلمات المفتاحية: المشتتات الحيوية، التحلل الحيوي، الاحياء المجهرية، المحروقات، التربة، ازالة التلوث.

Université de JIJEL-Faculté des sciences.Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire.