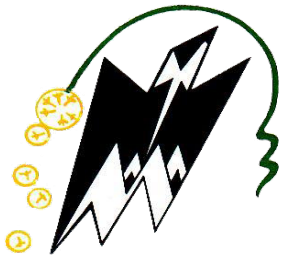
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Intitulé : **Etude bibliographique portant sur la production de biosurfactants par les microorganismes hydrocarbonoclastes**

Présenté par : M^elle^ Herbi Celina
M^elle^ El kechai Yamina

Président :	M^r^ Ouelhadj A.	MCA à l'UMMTO
Promoteur :	M^r^ Tazdait D.	MCA à l'UMMTO
Examinateur :	M^r^ Bouacem K.	MCB à l'UMMTO

Promotion 2019/2020

Remerciements

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à Mr Tazdait D. : Maitre de conférences A à l'UMMTO pour avoir encadré et dirigé ce travail malgré les conditions actuelles.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre vive reconnaissance à Mr Ouelhadj A. : Maitre de conférences A à l'UMMTO pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Mr Bouacem K. : Maitre de conférences B à l'UMMTO d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et d'être parmi le jury.

Nous exprimons nos vifs remercîments à Mme Mimouni N. : Cadre d'étude (DLAB, Sonatrach) qui devrait être notre co-promotrice lors de la réalisation de notre travail pratique au CRD-Sonatrach de Boumerdes, qui a été annulé à cause de la pandémie du Covid 19.

Un grand merci à nos familles respectives pour leur soutien et leur affection sans retenue au cours de nos longues années d'études. Sans oublier l'ensemble de nos camarades et amis(es).

Yamina et Celina

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A mes très chers parents qui sont toujours soucieux de mon avenir, qui ont toujours cru en moi et toujours la à m'encourager à aller de l'avant,

Ainsi que tout l'amour et l'affection qu'ils m'apportent dans ma vie

A ma chère sœur Sabine et à mon cher frère Anis qui étaient toujours à mes cotés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager

A mes tantes et mes grands parents

A mes amis (es) Ryma et Yamina, tout mes collègues de la promotion. Ainsi qu'à tous ceux qui me sont chers.

Celina

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents,
pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mon très cher frère Oussama pour son appui et son encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

A mes amis (es) Naziha, Sabrina et Celina, ainsi que mes collègues de la promotion 2019/2020.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Yamina

Sommaire

Liste des abréviations ..... **(i)**

Liste des figures ..... **(ii)**

Liste des tableaux ..... **(iii)**

Introduction 1

CHAPITREI : Les hydrocarbures

1. Définition et généralités 3
2. Classifications des hydrocarbures 3
   2.1. Hydrocarbures aliphatiques 3
   2.2. Hydrocarbures aromatiques 4
   2.3. Hydrocarbures alicycliques et cycliques 5
3. Effets des hydrocarbures sur la santé et l'environnement 5
4. Situation de la pollution en Algérie 5
5. Devenirs des hydrocarbures dans le sol 6
   5.1. Emulsification 6
   5.2. Transformation 7
   5.3. Biodégradation 7
   5.4. Volatilisation 7
   5.5. Sorption 7
   5.6. Solubilisation 7
6. Méthodes de traitement des sols pollués par les hydrocarbures 8
   6.1. Méthodes abiotiques 8
   6.2. Méthodes biotiques 9
      6.2.1. Bioremédiation 9
      6.2.2. Phytoremédiation 10

CHAPITRE II : Les Microorganismes (bactéries et champignons) hydrocarbonoclastes

1. Définition 12
2. Classification 12
   2.1. Bactéries hydrocarbonoclastes 12
   2.2. Champignons hydrocarbonoclastes 13
      2.2.1. Levures 13
      2.2.2. Champignons filamenteux 13

3. Biodégradation des HAPs 14
4. Différentes voies métaboliques de dégradation aérobie des hydrocarbures par les microorganismes hydrocarbonoclastes 15

4.1. Voies de dégradation aérobie des HAPs par les bactéries hydrocarbonoclastes 15
4.2. Voie de dégradation aérobie des HAPs par les champignons hydrocarbonoclastes 16
5. Paramètres influençant la dégradation des HAPs 17
5.1. Humidité 17
5.2. Température 17
5.3. Salinité 18
5.4. Potentiel d'hydrogène (pH) 18
5.5. Taux d'oxygène 18

CHAPITRE III : Les biosurfactants

1. Définition 20
2. Classification des biosurfactants 20
2.1. Glycolipides 20
2.2. Acides gras, phospholipides et lipides neutres 21
2.3. Biosurfactants polymères 22
2.4. Biosurfactants particulaires 22
3. Propriétés des biosurfactants 22
3.1. Abaissement des tensions superficielle et interfaciale 22
3.2. Concentration micellaire critique 23
3.3. Tolérance vis à vis de la température, au pH et à la force ionique 23
3.4. Biodégradabilité 23
3.5. Faible toxicité 24
3.6. Biocompatibilité et digestibilité 24
3.7. Formation des émulsions 24
4. Applications des biosurfactants 25
4.1. En agriculture 25
4.2. En médecine 25
4.3. En pharmacie 25
4.4. Dans l'industrie alimentaire 26
4.5. Dans la bioremédiation 26
4.6. Application des biosurfactants dans la récupération du pétrole 27
4.7. Application des biosurfactants dans la Nanotechnologie 27
5. Production de biosurfactants à l'échelle industrielle 28
5.1. Différents systèmes de fermentation 28
5.2. Exemples de production de biosurfactants dans des systèmes de fermentation 29

5.3. Matière première à bas prix 30
5.4. Utilisation de souches mutantes et recombinantes (les hyperproducteurs) 30
6. Optimisation des processus de production de biosurfactants 32
6.1. Méthode classique d'optimisation 32
6.2. Méthode des surfaces de réponses (MSR) 33
7. Récupération des biosurfactants 35
8. Identification et quantification des biosurfactants 37

CHAPITRE IV: Microorganismes du sol producteurs de biosurfactants

1. Généralités 41
2. Bactéries productrices de biosurfactant 42
2.1. *Pseudomonas aeruginosa* 42
2.2. *Bacillus subtilis* 44
3. Levures productrice de biosurfactant 46
3.1. *Candida bombicola* 46
3.2. *Trichosporon asahii* 47
4. Champignons filamenteux producteurs de biosurfactant 48
4.1. *Aspergillus flavus* 49
5. Paramètres influençant la production 50

Conclusion 52
Références bibliographiques 53

Liste des abréviations

CG-MS : Chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse.

CMC : Concentration Micellaire Critique.

HAPs : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

IR : Spectroscopie Infrarouge.

MEOR: Microbial enhanced oil recovery

MSR : Méthode des Surfaces de Réponses.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

RMN : Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire.

PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne

SDS : Dodécylsulfate de Sodium.

Liste des tableaux

Tableau I : Différents procédés utilisés dans la phytoremédiation 11
Tableau II: Exemples de souches microbiennes mutantes et recombinantes avec leurs 31
rendements améliorés ou nouvelles propriétés d'amélioration de la production de biosurfactants.
Tableau III: Principaux types de surfactants biologiques 41
Tableau IV: Type de biosurfactants produits par des champignons filamenteux 49

Liste des figures

Figure 1 : Voies de dégradation aérobie des HAPs par les bactéries et les champignons 16
Figure 2 : Etapes de la méthode de surface de réponse 34
Figure 3 : Principaux types de rhamnolipides produits par *Pseudomonas aeruginosa* 43
Figure 4 : Gènes *rhlABRI* 44
Figure 5 : Structure primaire de la surfactine SI 45
Figure 6: Organisation du complexe multi enzymatique produisant la surfactine 45
chez *Bacillus subtilis.*
Figure 7 : Structure de base des sophorolipides produits par la levure *Candida bombicola.* ... 47
Figure 8 : Forme acide et forme lactone des sophorolipides produits par *Candida* 47
bombicola.
Figure 9: La structure chimique de sophorolipide produit par *Trichosporon asahii* et son 48
spectre MS.

La découverte des hydrocarbures pétroliers a bouleversé notre mode de vie au point que la majorité de nos activités dépendent aujourd'hui de leur utilisation. Les hydrocarbures sont nombreux et communément classés en fonction du nombre d'atomes de carbone contenus dans leurs chaînes. Ces polluants sont ubiquitaires, leur présence chronique ou accidentelle constitue l'un des phénomènes de pollution les plus préoccupants. Cette pollution peut avoir un impact soit direct ou indirect sur la santé humaine et l'équilibre des écosystèmes. Leur élimination est donc nécessaire. Pour cela, des techniques physiques et chimiques sont appliquées afin d'immobiliser et/ou dégrader les hydrocarbures, mais la plupart de ces techniques sont coûteuses et non respectueuses de l'environnement (Azubuike et al., 2016). Toutefois, une approche biologique par bioremédiation peut être envisagée. Elle utilise le pouvoir épurateur des microorganismes de l'environnement, et présente l'avantage d'être peu invasive et moins onéreuse (Nikitha et al., 2017).

Les recherches actuelles s'orientent vers l'élimination des hydrocarbures par des bioprocédés, dont l'intérêt principal réside dans l'aspect non polluant et l'absence de sous-produits chimiques. La biodégradation par les microorganismes est considérée comme le mécanisme principal par lequel la plupart des polluants xénobiotiques notamment les hydrocarbures sont éliminés dans l'environnement (Nikitha et al., 2017).

Les microorganismes ont le pouvoir de synthétiser des biomolécules appelées biosurfactants qui ont des propriétés fonctionnelles, leur permettant d'utiliser ces hydrocarbures comme source de carbone et/ou d'énergie, ou bien de les cométaboliser. Ces biosurfactants servent à plusieurs applications dans plusieurs domaines (la bioremédiation, l'extraction du pétrole, l'industrie cosmétique, la médecine etc.) grâce à leur biodégradabilité et leur faible toxicité.

Ce travail a pour but principal de décrire les microorganismes hydrocarbonoclastes (champignons, levures et bactéries) producteurs de biosurfactants et leur application dans le domaine de la bioremédiation.

Le présent mémoire est structuré en quatre chapitres: le premier décrit des généralités sur les hydrocarbures et leur impact sur l'environnement, ainsi que les méthodes de traitement. Le deuxième présente des généralités sur les microorganismes hydrocarbonoclastes, ainsi que les voies de dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques par ces microorganismes. Le troisième décrit les biosurfactants et leurs applications ainsi que leur production à l'échelle industrielle. Le dernier chapitre se porte sur des exemples de microorganismes du sol producteurs de biosurfactants, suivit d'une conclusion.

Chapitre I

Les hydrocarbures

1. Définition et généralités

Dans le langage courant, les hydrocarbures font référence au pétrole et au gaz naturel mais, la chimie organique les définit comme étant des molécules organiques exclusivement composées de carbone et d'hydrogène (Martinelli, 1999), ayant pour formule brute C_nH_m ; n et m étant des nombres entiers naturels (Pimsee, 2014).

Les hydrocarbures se forment à partir de débris d'algues, de résidus de la faune marine et du plancton transformé biogéochimiquement sur de très longues périodes. Cette transformation se fait sous l'influence de la température et de la pression (Head et al., 2006). Ils représentent une source d'énergie primaire importante pour l'homme. La combustion du pétrole, du gaz et du charbon est en effet la source de 90 % de l'énergie commercialisée dans le monde.

À température ambiante, les hydrocarbures sont inflammables. Par ailleurs, ils ne se mélangent pas à l'eau. Leur densité est variable, leur température d'ébullition et de fusion, leur masse volumique ainsi que leur indice de réfraction dépendent de la longueur de leurs chaînes carbonées ainsi que de ses ramifications.

La biodégradabilité d'un hydrocarbure dépend de la longueur de sa chaîne carbonée. Plus la chaîne sera longue, plus sa biodégradabilité sera difficile. Plus l'hydrocarbure comportera des cycles, plus sa biodégradabilité sera complexe (Tarayre, 2012).

2. Classification des hydrocarbures

On distingue trois séries d'hydrocarbures : la série aliphatique, la série alicyclique et la série aromatique (Arnaud, 1983).Les autres éléments sont minoritaires, ce sont les composés sulfurés azotés oxygénés dont une partie est plus au moins polymérisée et constitue la catégorie des asphaltènes et des résines.

2.1. Hydrocarbures aliphatiques

Ce sont des composés à chaîne ouverte constituant la série acyclique ainsi appelée corps gras (Gesamp, 1993). Selon la nature de liaison entre les carbones, on subdivise cette série en :

2.1.1. Composés insaturés

Ce sont principalement des alcènes et des alcynes. Ces derniers sont dits insaturés grâce à la présence d'au moins une double liaison carbone-carbone, ou une triple liaison carbone-carbone respectivement (Militon, 2007).

- Les alcènes sont des hydrocarbures insaturés possédant au moins une double liaison carbone carbone, ayant la formule générale C_nH_{2n} ; n étant un nombre entier positif supérieur ou égal à 2.
- Les alcynes possèdent une triple liaison carbone carbone, ayant la formule générale $C_nH_{2n-2.}$

2.1.2. Composés saturés

Ce sont des molécules constituées de chaînes carbonées à simple liaison, de formule générale C_nH_{2n+2}. En fonction de leurs structures, elles sont subdivisées en trois catégories:

- Alcanes linéaires, leur formule semi développée peut s'écrire en ligne droite. 10 à 40% des hydrocarbures totaux d'un pétrole brut sont constitués d'alcanes linéaires (Soltani, 2004).
- Alcanes ramifiés, leur formule semi développée ne peut pas s'écrire en ligne droite, elle est constituée d'une chaîne carbonée principale sur laquelle sont greffés un ou plusieurs substituants.
- Alcanes cycliques, renferment des composés cycliques, saturés non benzéniques et le plus souvent substitués, les cycles de cinq à six atomes de carbone sont les plus abondants (30 et 50 % des hydrocarbures totaux d'un pétrole brut) (Soltani, 2004).

2.2. Hydrocarbures aromatiques

La série aromatique ne comprend que des hydrocarbures insaturés. Elle rassemble tous les composés renfermant un ou plusieurs noyaux aromatiques.

Les hydrocarbures aromatiques contenant plusieurs noyaux aromatiques accolés, appelés hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Arnaud, 1983). En générale, les HAPs forment entre (15 et 40%) du pétrole brut (Fattal, 2008).

2.3. Hydrocarbures alicycliques et cycliques

Les hydrocarbures alicycliques sont des composés saturés ou possède une ou plusieurs doubles liaisons. Cependant, la structure cyclique est incompatible avec les triples liaisons du fait de leur géométrie linéaire, à moins que la molécule ne contienne qu'un minimum de huit carbones (cyclines). Il existe aussi des hydrocarbures bi voir tricycliques (Pimsee, 2014).

3. Effets des hydrocarbures sur la santé et l'environnement

Les hydrocarbures présentent un danger lors d'un contact direct avec l'homme, ou lors de leur transfert dans la chaîne alimentaire par le phénomène de bioaccumulation. La toxicité des hydrocarbures dépend de leur structure et de leur concentration. Par exemple, le benzène et ses dérivés, à faibles doses présentent des effets neurotropes et cancérigènes. A des doses plus élevées, ils provoquent des tremblements musculaires et des convulsions. Une concentration de 65 mg/L dans l'atmosphère induit rapidement la mort (Costes et al., 1997).

Sur les plantes, les hydrocarbures provoquent des altérations dans la régulation de la croissance, une diminution du taux d'oxygène dans le sol et le phénomène de bioaccumulation.

Sur les animaux, les hydrocarbures induisent une diminution du taux d'hémoglobine et un dysfonctionnement du foie (effets hépatotoxiques) (Kuony, 2002).

Les fluides de forage peuvent provoquer plusieurs effets sur la santé, à savoir des irritations dermiques, respiratoires et même des effets cancérigènes, notamment due aux HAP (Huchon, 2006).

4. Situation de la pollution en Algérie

L'Algérie grand pays d'Afrique, situé dans le nord, d'une superficie de plus de deux millions de kilomètres carrés dont 80% de cette superficie constitue le Sahara. 80% de la population vivent dans le nord du pays qui constitue 20% de la superficie totale.

L'émission des gaz à effet de serre est la source principale de la pollution atmosphérique, qui est le type de pollution le plus dangereux dont l'Algérie souffre le plus. Ces émissions sont d'origine industrielle, agriculture, mécanique et incinération des déchets. L'Algérie est un pays ou l'économie se base à 80% sur les hydrocarbures et 20% sur l'agriculture (Anonyme 1).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans son rapport (Anonyme1), indique que la qualité de l'air en Algérie est caractérisée par un fort taux de pollution dépassant celui des pays très industrialisés comme l'Allemagne, la France ou même les États-Unis. Dans ce rapport, la qualité de l'air évaluée à travers le taux de concentration des particules toxiques telles que les nitrates et le carbone grâce à l'index $PM_{2.5}$ reflétant la quantité de particules nocives en suspension.

La pollution de l'air varie dans les zones rurales et semi-urbaines entre 9 et 74 grammes de particule/m^3. Dans les zones urbaines, cette pollution oscille entre 8 et 73 grammes de particule/m^3 sachant que, la norme fixée par l'OMS est de 10 grammes/ m^3. Cette étude prouve que plus on va vers le Sud du pays plus les taux de pollution augmentent pour atteindre des seuils critiques dépassant les 75 grammes /m^3 soit plus de sept fois la norme.

Selon une étude (Anonyme 2), basée sur l'indice de pollution appelé aussi indice de qualité de l'air (Citeair en Europe) pour classer les pays du monde. L'Algérie est classée 48 ^{éme} à l'échelle mondiale avec un indice de pollution de 65,32.

La pollution des eaux est aussi un problème majeur elle peut survenir de l'agriculture (déversement des eaux d'irrigation chargés en pesticides, polluants, engrais, déversements des déchets, eaux industrielles, eaux domestiques, déversement des carburants (marée noire) comme ca été le cas à Skikda en 2013). La surexploitation des eaux souterraines entraine l'augmentation de leur salinité et des contaminations par les nitrates comme ce fut le cas à la Mitidja en 2014.

5. Devenir des hydrocarbures dans le sol

Le sol est un milieu complexe et dynamique où les trois phases solide, liquide et gazeuse interagissent. Ce sont les échanges entre ces trois phases qui gouvernent la répartition des polluants. Les processus mis en jeu peuvent être classés en différentes catégories selon leurs contributions à la rétention des polluants dans la phase solide du sol, à leurs transferts vers d'autres milieux ou à leurs transformations (Pagotto, 1999).

5.1. Emulsification

L'émulsification est un processus d'incorporation de gouttelettes d'eau dans les hydrocarbures pétroliers. Ceci augmente le volume du produit déversé et modifie certaines propriétés physiques des hydrocarbures (la densité et la viscosité) (Gruyer et al., 2015).

5.2 Transformation

C'est un processus de transformation des hydrocarbures en composés plus simples, ou carrément en matière minérale. Cela peut se produire grâce à un phénomène biologique lorsqu'elle fait intervenir la matière vivante, ou bien grâce à un phénomène non biologique (hydrolyse, oxydation et réaction photochimique) (Ali Ahmed, 2011).

5.3 Biodégradation

La biodégradation est un processus de dégradation des hydrocarbures par les microorganismes hydrocarbonoclastes. Ces hydrocarbures sont dégradés et utilisés comme source de carbone et/ou d'énergie ou carrément biotransformés en composés intermédiaires. La biodégradation complète des hydrocarbures produits du dioxyde de carbone, de l'eau, de petits alcanes et des hydrocarbures cycliques (Gruyer et al., 2015). Cette biodégradation se réalise partout dans l'environnement.

5.4 Volatilisation

C'est un processus de transformation des hydrocarbures de l'état liquide à l'état gazeux. Elle débute après un déversement d'hydrocarbures, et correspond au transfert des composés volatils les plus légers vers l'atmosphère (Neff et al., 2000). Cette évaporation dépend des conditions météorologiques. En général, plus la vitesse du vent et la température ambiante sont élevées, plus l'évaporation est rapide (Laurence, 2012 ; Rouidi, 2014).

5.5 Sorption

Le processus de sorption sur un matériel poreux comme le sol comprend : l'adsorption (processus par lesquelles un soluté est lié à la surface d'un solide), la chimisorption (soluté incorporé sur le sol par réactions chimiques) et l'absorption (particules poreuses permettant au solutés de diffuser à l'intérieur des particules du sol) (Jouanin, 2004).

5.6 Solubilisation

Le processus de solubilisation consiste en la capacité des hydrocarbures à se solubiliser dans un solvant (eau généralement), pour former un mélange homogène appelé solution. Un hydrocarbure est plus soluble quand sa masse moléculaire est faible et sa polarité est élevée.

Il est important de noter que ces hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement. Ils sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore (Soltani, 2004).

6. Méthodes de traitement des sols pollués par les hydrocarbures

Le choix de la méthode de traitement des sites pollués par les hydrocarbures se fait selon plusieurs critères, tels que les caractéristiques environnementales du site (géologie, topographie, hydrologie, météorologie, etc.), les types de polluants présents dans le site (nature, concentration, distribution, toxicité, etc.), les caractéristiques intrinsèques des technique (rendement, coût de mise en place, etc.), et le devenir des polluants après traitement avec l'une de ces techniques (Boivin et Ricour, 2005).

6.1. Méthodes abiotiques

6.1.1 Traitement thermique

Le traitement thermique consiste l'incinération des sols pour dégrader les hydrocarbures et d'autres composés, ou bien pour faciliter leur désorption. Ce traitement s'avère une option intéressante et efficace mais souvent très coûteuse (Koller, 2009).

6.1.2. Traitement physique

Le traitement physique consiste à transférer ou concentrer les polluants. Pour ce faire, il existe plusieurs méthodes telles que, la stabilisation à la chaux ou par des argiles. Cette méthode est très employée lors des déversements du pétrole pour isoler la source de pollution (Epa, 2009). Il y'a aussi l'extraction par les liquides qui se réalise pour les sites ou la source de pollution est locale. Cette extraction consiste en l'acheminement des terres excavées vers un centre de traitement, ou elles seront traitées par le procédé *Soil Washing* qui consiste à laver le sol en utilisant de l'eau et des solutions de lavage (Gimello, 1998), en ajoutant des agents d'extraction comme les solvants et les tensioactifs pour faciliter la dispersion des hydrocarbures dans la phase liquide (Chu et al., 2003).

Ainsi dans un site *insitu*, le procédé *Soil Flushing* permet quant à lui de transférer hydrauliquement la pollution, du sol vers l'eau en ajoutant des tensioactifs. L'eau pompée sera traitée en surface afin de pouvoir la réinjecter à nouveau dans le sol.

6.1.3. Traitement chimique

Les techniques chimiques ont pour but de détruire les polluants ou les transformer sous une forme moins nocive pour l'environnement (Amiri, 2013). Elles consistent à ajouter des réactifs chimiques spécifiques pour provoquer des réactions appropriées afin d'inerter les hydrocarbures (sorption), les détruire (oxydation) ou les séparer du milieu pollué (surfactant) (Mazzioti, 2017). Le choix du réactif et donc de la réaction se fait selon les propriétés chimiques des polluants.

6.2. Méthodes biotiques (biologiques)

Les méthodes biologiques permettent de dégrader les polluants par l'action des organismes (bactéries, champignons, levures, algues, plantes). Elles peuvent être utilisées seules ou en complément d'une autre technique. La décontamination par voie biologique consiste à stimuler un phénomène naturel pour augmenter le rendement, afin de détruire le polluant organique qui sera utilisé comme source de carbone et/ou d'énergie (Cilin, 2000).
Si la flore locale (indigène) est inadaptée à la dégradation des polluants ou peu efficace, des souches bactériennes performantes (exogènes) peuvent être ajoutées au sol (Scow, 2003).

6.2.1. Bioremédiation

La bioremédiation est une technique qui permet de détruire ou diminuer la toxicité des polluants en utilisant des activités biologiques naturelles. Ce procédé consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes indigènes ou exogènes (bactérie, micro algue et champignon) à dégrader les polluants en composés inertes (Abdelly, 2007).

Techniques de bioremédiation

- Land-farming (épandage)

L'épandage est utilisé pour le traitement des déchets pétroliers. Il se base sur l'activité dépolluante de la microflore. Cette technique est efficace mais lente. Elle présente l'avantage d'être relativement peu onéreuse (Roger, 2000).

- Compostage

Le compostage est un procédé qui met en œuvre les microorganismes aérobies et thermophiles. Il est traditionnellement utilisé pour dégrader des déchets végétaux issus de l'agriculture et les transformer en produits moins volumineux, riches en éléments nutritifs et qui peuvent être réutilisés comme engrais (Roger, 2000).

- Bioaugmentation

La bioaugmentation est une méthode de traitement *insitu*, qui consiste à ensemencer les souches spécifiques de microorganismes exogènes dans le sol, afin d'optimiser l'activité microbienne de la microflore indigène responsable de la biodégradation des polluants organiques (Colombano et al., 2010).

- Biostimulation

La biostimutation est une technique qui consiste à stimuler l'activité des populations indigènes par un apport de nutriments et par l'ajustement des conditions du milieu (potentiel oxydo réduction et d'humidité) (Abdelly, 2007). Elle consiste à améliorer les processus de biodégradation des polluants organiques (Mbogne, 2017).

- Bioventing

Le bioventing est une technique qui consiste à stimuler la biodégradation *insitu* des polluants dans les sols, en fournissant l'oxygène à la microflore. Ce dernier est apporté par l'injection d'air dans la zone contaminée (Perchet, 2008).

6.2.2. Phytoremédiation

La phytoremédiation est une biotechnique végétale basée sur la capacité des plantes à extraire ou à bloquer les polluants. Elle offre une réelle alternative écologique, paysagère et aussi financière face aux techniques de dépollution traditionnelles pour aider à la réhabilitation des terrains contaminés (Origo, 2012).

Plusieurs espèces végétales sont de bonnes candidates dans les protocoles de phytoremédiation. Parmi ces espèces, citons le tournesol, la moutarde, la luzerne, le ricin et le maïs. Leur efficacité à accumuler les polluants ainsi que leur tolérance vis-à-vis de ces polluants leur permet de rétablir les sols pollués (Beauchamp, 2017).

Il existe plusieurs procédés de phytoremédiation (Tableau I).

Tableau I: Différents procédés utilisés dans la phytoremédiation d'après (Hénault-Ethier, 2016).

Procédé	Principe
Rhizofiltration	C'est l'utilisation des racines des plantes pour absorber, concentrer ou précipiter les polluants d'un effluent liquide (Koller, 2004).
Phytoextraction	Elle consiste à utiliser sur un sol contaminé, des plantes accumulatrices pour extraire, transporter et concentrer les polluants du sol dans les parties récoltables de la plante.
Phytostabilisation	Il s'agit de limiter la disponibilité des métaux lourds transitant au sein du sous-sol en les piégeant dans un réseau racinaire où ils peuvent s'accumuler et être ainsi immobilisés (Lecompte, 1998).
Phytotransformation	C'est la transformation des composés organiques complexes en composés plus simples au moyen de réaction biochimique engendré par les nombreux enzymes contenus dans les plantes.
Phytovolatilisation	Elle sert à la stimulation de la volatilisation au moyen des plantes qui absorbent les polluants, puis les éliminent par transpiration (Delage et Schrefler, 2005).
Phytostimulation	Elle consiste à l'utilisation des plantes pour la stimulation des microorganismes présents dans la rhizosphère, engendrant ainsi une activité de biodégradation plus élevée (Delage et Schrefler, 2005).

Chapitre II

Les Microorganismes (bactéries et champignons) hydrocarbonoclastes

1. Définition

Les microorganismes hydrocarbonoclastes sont des organismes vivants microscopiques, capables d'assimiler les hydrocarbures pétroliers de façon naturelle afin de dépolluer les sites contaminés. Ces microorganismes regroupent les champignons et les bactéries, qui sont des médiateurs primaires dans la dégradation des hydrocarbures. L'exposition des microorganismes aux hydrocarbures, entraine leur adaptation à la dégradation de ses polluants (par induction d'enzyme spécifique ou par les changements génétiques) (Benchouk, 2017).

De nombreuses classes de microorganismes ont été décrites comme aptes à dégrader des hydrocarbures dans les sols contaminés. Toutefois, ce sont les bactéries qui sont les plus actives pour métaboliser les HAPs (Haritash et Kaushik, 2009).

Les microorganismes dégradant les hydrocarbures représentent une fréquence allant de 0,13 à 50%pour les bactéries du sol, 6 à 82% pour les champignons du sol, et de 0,003 à 100% pour les bactéries marines dépendamment des conditions du milieu (Leahy, 1990 ; Dash et al., 2013).

2. Classification

2.1. Bactéries hydrocarbonoclastes

Plusieurs bactéries à gram positif et à gram négatif ont été isolées pour leur capacité à dégrader les HAPs. Parmi elles on trouve des genres capables de dégrader un seul HAP (Bouchez et al., 1995), et d'autres capables de dégrader plusieurs HAPs, et aussi celles qui sont capable de transformer les sous-produits de dégradation des HAPs.

Près de cent genres bactériens qualifier aptes à dégrader les hydrocarbures (Prince et Walters, 2007 ; Khelil et al., 2014) ont été décrit dans la littérature, parmi eux les plus rencontrés dans le sol sont *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluoresens, Mycobacterium* spp. *Haemophilus* spp. *Rhodococcus* spp. *Paenibacillus* spp. (Haritash et Kaushik, 2009).

La première bacterie hydrocarbonoclaste isolée en 1988 par Heitkampest est *Mycobacterium*.

Selon Pelmont, (1995), les bactéries hydrocarbonoclastes se caractérisent par :

- Leur capacité à se reproduire rapidement.
- Elles sont génétiquement stables.

- Elles sont aptes à biodégrader une vaste gamme de polluants pétroliers.
- Elles n'ont aucun effet secondaire néfaste, et leurs produits finaux de dégradation ne sont pas toxiques.

2.2. Champignons hydrocarbonoclastes

Les champignons microscopiques appelés micromycètes sont des microorganismes eucaryotes hétérotrophes regroupant les levures et les champignons filamenteux. Ils sont ubiquitaires et très répandus dans la nature, notamment au niveau des végétaux en décomposition.

2.2.1. Les levures

Les levures sont des champignons eucaryotes, unicellulaires et hétérotrophes. Elles sont classées en deux grands groupes les Ascomycètes et les Basidiomycètes (Kurtzman, 2011).

La majorité des levures se reproduisent par bourgeonnement qui consiste à l'invagination de la cellule mère donnant une cellule fille. Mais d'autres levures comme *Saccharomyces cereviciae* ont une reproduction sexuée qui correspond à une phase de leur cycle biologique avec une alternance de phase haploïde et diploïde (Reski-Bekki, 2014).

Les levures sont d'excellents microorganismes hydrocarbonoclastes, ceci est du principalement à leur résistance aux conditions extrêmes (pH surtout), ainsi que la longueur de leur matériel génétique qui leur permet d'avoir un système enzymatique plus développer. En 1939, Tausson fut le premier à présenter des résultats sur l'utilisation des hydrocarbures par plusieurs espèces de levures telles que *Debaryomyces, Endomyces, Hansenula, Torulopsis, Monilia, Saccharomyces, Trichosporon* et *Candida* (Komagata et al., 1964).

2.2.2. Les champignons filamenteux

Les champignons filamenteux sont des champignons eucaryote, pluricellulaires et hétérotrophes. Ils sont composés d'un appareil végétatif appelé thalle. Il est composé de filaments ou hyphes enchevêtrés les uns par rapport aux autres, et l'ensemble des hyphes constituent un réseau appelé mycélium (Redecher, 2002).

Selon les critères morphologiques et le mode de reproduction. Les champignons filamenteux sont classés en plusieurs groupes les *Chytridiomycota*, les *Zygomycota*, les *Glomeromycota*, les *Basidiomycota* et les *Ascomycota* (Cordier, 2012).

Les champignons filamenteux se reproduisent par reproduction asexuée (multiplication végétative), au cours de laquelle une spore ou un fragment de mycélium croit et se développe sur un substrat ; ou bien par reproduction sexuée, au cours de laquelle deux mycéliums haploïdes de signes sexuels opposés se rencontrent et se fusionnent donnant un nouveau mycélium diploïde.

Plusieurs genres de champignons hydrocarbonoclastes ont prouvé leur capacité et leur efficacité dans la biodégradation des hydrocarbures dans les sols contaminés. Il s'agit notamment de *Amorphoteca, Neostorya, Talaromyces, Candida, Penicilium, Fusarium, Trichoderma Aspergillus, Rhodotorula, Mucor, Pichia, Yarrowia* (Haritash et Kaushik, 2009).

Une étude a montré qu'une culture contenant plusieurs espèces de champignons induit une dégradation accrue d'HAPs (In der wiesche et al., 2003 ; Yadav et Reddy, 1993).

Une étude réalisée par Maamar et al. (2020) sur L'analyse des échantillons d'eau de mer prélevées dans le port d'Oran qui est contaminé par du pétrole, a permis l'isolement de 84 isolats fongiques filamenteux, tous affiliés au phylum *Ascomycota* plus précisément aux genres *Penicillium, Aspergillus* et *Cladosporium.*

Le phylum *Ascomycota* est le plus grand et plus répandu phylum taxonomique dans le milieu marin (Jones et al., 2009; Garzoli et al., 2015). Les genres *Penicillium et Aspergillus* ont déjà été signalés comme dominants dans les milieux contaminés par les hydrocarbures tels que l'eau de mer et les sédiments marins (Bovio et al., 2017 ; Alwakeel, 2017 ; Sadaba et Sarinas, 2010).

3. Biodégradation des HAPs

La dégradation biologique des HAPs est un mécanisme majeur entraînant la dissipation des HAPs présent dans l'environnement. Elle se réalise soit, dans des conditions aérobies ou anaérobies. Dans les deux conditions, la biodégradation peut être assimilative (métabolisme direct) lorsque, les microorganismes utilisent la matière organique (HAPs) comme source de carbone et/ou d'énergie pour leur croissance. Parfois la biodégradation se fait par cométabolisme, dans ce cas les microorganismes dégradent les HAPs. Ces derniers ne servent ni de source de carbone ni d'énergie (Madsen, 1991). En parallèle, les microorganismes utilisent un substrat classique pour leur croissance.

Quand les composés organiques (HAPs) sont transformés par les microorganismes en matière minérale notamment le CO_2 et le H_2O, on parle de la minéralisation. Mais parfois, ces composés sont biotransformés en composés intermédiaire qui peuvent être plus ou moins toxique que les composés initiaux, on parle alors de biotransformation.

Les HAPs de faible poids moléculaire peuvent être entièrement biodégradés, en revanche les HAPs de haut poids moléculaire c'est-à-dire comportant plus de cinq cycles ne sont pas dégradés directement, leur biodégradation nécessite l'intervention d'un cortège de microorganismes par cométabolisme (Chen et Aitken, 1999).

4. Différentes voies de dégradation aérobie des hydrocarbures par les microorganismes hydrocarbonoclastes

4.1. Voies de dégradation aérobie des HAPs par les bactéries hydrocarbonoclastes

Certaines espèces bactériennes telles que *Shingomonas, Pseudomonas, Burkholderia, Mycobacterium* ne peuvent réaliser la biodégradation que suite à une absorption des HAPs, car elles utilisent des dioxygénases intracellulaires. Les HAPs sont alors oxydés en cis-dihydrodiols par l'incorporation de deux molécules d'oxygène. Cette molécule est transformée en catéchol (noyau aromatique avec deux hydroxyles) par l'action d'une déshydrogénase. Ce catéchol peut alors être dégradé par clivage du cycle aromatique selon deux voies possibles voie méta (le catéchol est clivé en acide semi aldéhyde 2-hydroxymuconique) ou la voie ortho (le catéchol est clivé en acide cis, cis-muconique). Ces derniers vont subir des réactions jusqu'à la minéralisation complète donnant du CO_2, H_2O et l'énergie (Neilson et Allard, 2008).

Ce type de métabolisation des HAPs est suivi par la majorité des bactéries cependant, il y'a une minorité qui capables d'oxyder les HAPs par l'action de l'enzyme monoxygénase du cytochrome P-450 pour former l'oxyde d'arène (Sutherland et al., 1995), qui va subir une hydratation *via* une réaction de catalyse par l'époxyde-hydrolase donnant un trans-dihydrodiols, c'est le cas de la souche *Mycobacterium* sp. (Kelley et al., 1990). Ces deux voies de dégradation bactérienne sont représentées dans la figure 2.

4.2. Voie de dégradation aérobie des HAPs par les champignons hydrocarbonoclastes

Chez les champignons, les HAPs sont oxydés par une monooxygénase associée à un cytochrome P-450 pour produire l'oxyde d'arène (Sutherland et al., 1995), qui sera transformé en trans-dihydriols par l'époxyde-hydrolase ou en phénols par un réarrangement non enzymatique. Le phénol peut agir comme substrat pour une sulfatation ou une méthylation ultérieure, ou conjugaison avec le glucose, le xylose … etc.

Bien que la plupart des champignons ne soient pas capables de minéraliser les HAPs, ces derniers les biotransforment en composés moins toxiques et plus solubles que les composés initiaux.

La voie métabolique de dégradation des HAPs par les champignons hydrocarbonoclastes est reportée dans la figure 2.

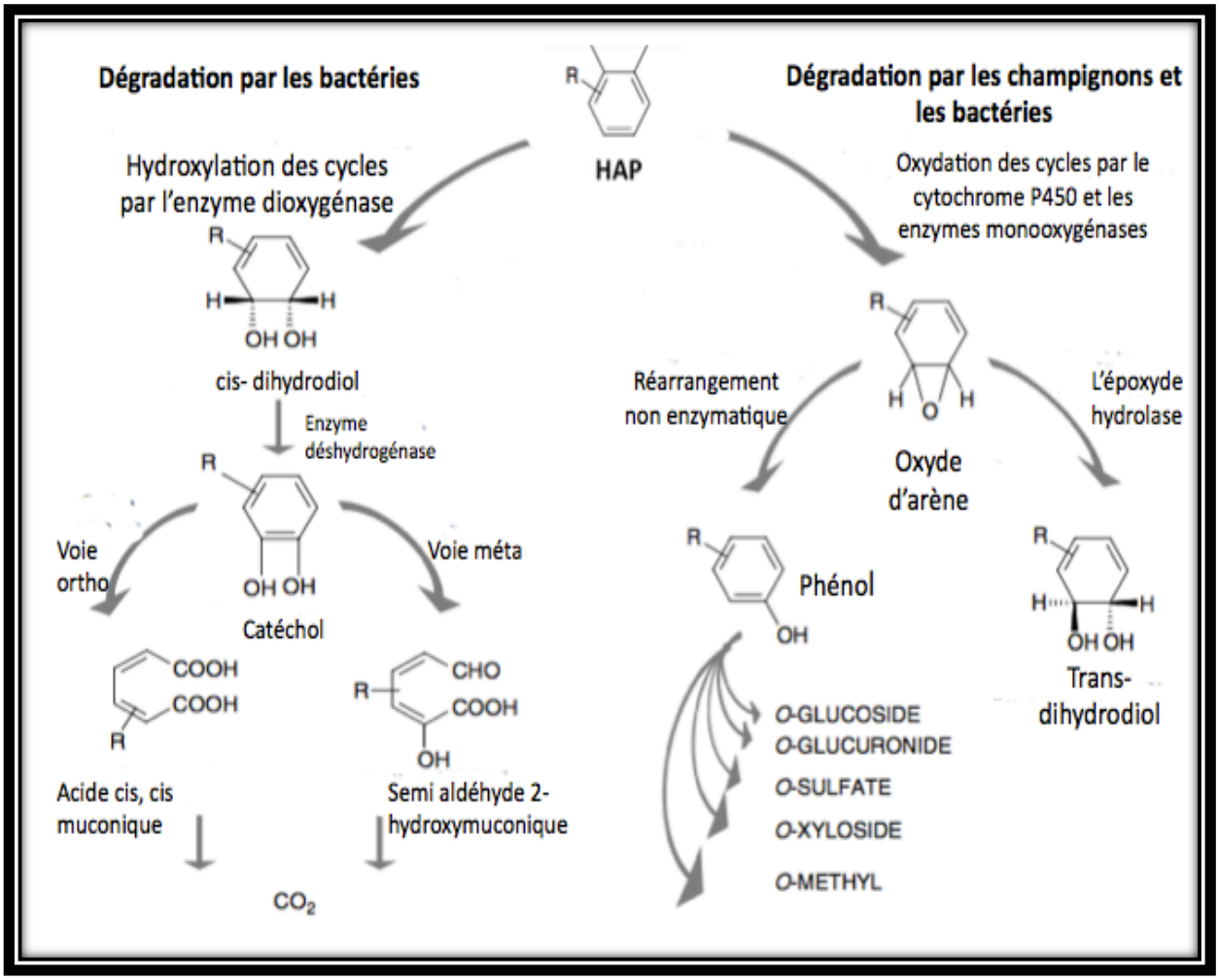


Figure 1: Voies de dégradation aérobie des HAPs par les bactéries et les champignons (Bamforth et singleton, 2005).

5. Paramètres influençant la dégradation des HAP

La biodégradation des HAPs dépend d'un nombre important de facteurs notamment, l'activité biologique du sol qui dépend des conditions environnementales, des propriétés intrinsèques du milieu (pH, humidité, etc.) mais aussi, de la disponibilité du polluant et du potentiel de dégradation des microorganismes indigènes (Okere et Semple, 2012).

5.1. Humidité

Les taux d'humidité inferieurs à 2% limitent la croissance des microorganismes et donc réduisent la vitesse de biodégradation. Tandis que, les taux trop élevés d'humidité limitent le transfert d'oxygène et induisent la limitation du métabolisme des microorganismes aérobies. Pour une meilleure activité de biodégradation, l'humidité doit être de 25 à 90% (Gabet, 2004).

5.2. Température

La température est un paramètre influençant la vitesse de biodégradation des HAPs, en affectant leurs propriétés physicochimiques (la viscosité, la diffusion, la solubilité) dans le sol, ainsi que la physiologie, l'activité et la diversité des microorganismes indigènes (Oliveira et al., 2015).

Une baisse des températures engendre une diminution de l'activité enzymatique des microorganismes et donc une diminution de la vitesse de biodégradation. Par contre, une hausse des températures peut engendrer une augmentation de la vitesse de biodégradation. L'activité métabolique maximale des microorganismes est généralement observée à une température comprise entre 30 et 40 °C (Leahy, 1990). Au-delà de la température optimale de croissance et de biodégradation, la toxicité des hydrocarbures augmente et l'activité métabolique diminue. Au-delà de 80-90°C, une inhibition totale de la biodégradation est observée (Roling et al., 2004).

La biodégradation des hydrocarbures est meilleure dans les milieux tempérés par rapport aux milieux froids (Deppe et al., 2005). Dans les milieux froids, les communautés bactériennes indigènes sont essentiellement composées de microorganismes psychrophiles et psychotropes, adaptés à des températures inférieures allant de 0 à 30°C. Ces microorganismes sont très répandus dans les milieux polaires et subpolaires.

Une étude menée par Yang et al. (2009) a démontré l'effet important de la saisonnalité des milieux froids, en mettant en évidence des taux de biodégradation quatre fois supérieurs en été (18 °C) qu'en hiver (4°C).

5.3. Salinité

La salinité influence la biodégradation des HAPs. Cette dernière est maximale pour une concentration en sel de 0,4 M, et diminue lentement pour des valeurs supérieures ou inférieures à celle-ci (Soltani, 2004). La solubilité des alcanes et des HAPs diminue avec l'augmentation de la salinité du milieu, d'où une diminution de la biodisponibilité pour la biodégradation (Dupuis et Ucan-Marin, 2015).

Les variations de salinité modifient la structure et la diversité des communautés microbiennes indigènes en sélectionnant des espèces halophiles ou halotolérantes. Ceci peut influencer la biodégradation des hydrocarbures car c'est un facteur de sélection supplémentaire pour les microorganismes indigènes (Oliveira et al., 2015).

5.4. Potentiel d'hydrogène

Les biotopes naturels peuvent avoir des valeurs de pH très variables allant de 2,5 à 11. Des valeurs extrêmes du pH pourraient avoir une influence négative sur la capacité des microorganismes à dégrader les hydrocarbures. La croissance des bactéries hétérotrophes et des champignons est favorisée par une valeur du pH proche de la neutralité (Leahy et Colwell, 1990). La dégradation des hydrocarbures est plus élevée dans des conditions légèrement basiques (Liebeg et Cutrigh, 1999 ; Straube et al., 2003).

5.5. Taux d'oxygène

L'étape initiale de la dégradation des hydrocarbures par les bactéries et les champignons inclut l'oxydation des hydrocarbures par l'intermédiaire des hydroxylases et dioxygénases, pour lesquelles l'oxygène moléculaire est indispensable. Les conditions aérobies sont nécessaires pour cette voie d'oxydation microbienne des hydrocarbures dans l'environnement (Leahy et Colwell, 1990).

Le taux d'oxygène est un facteur limitant la vitesse de biodégradation du pétrole dans les sols (Soltani, 2004).

Marin et al. (2001) ont constaté une augmentation de la dégradation des hydrocarbures totaux de 10% par la bactérie *Acinetobacter calcoaceticus*. Après un apport supplémentaire en oxygène par agitation.

Chapitre III

Les biosurfactants

1. Définition

Les surfactants (SURFace ACTive AgeNTS) sont des agents à activité de surface (tensioactifs), synthétisés chimiquement ou par voie biologique (biosurfactants) (Al- Arajil et al., 2007).

Les biosurfactants sont des molécules amphiphiles, constituées d'une partie hydrophile polaire elle même constituée d'acides aminés, peptides ou de polysaccharides (mono ou di), et d'une partie hydrophobe non polaire constituée d'acides gras saturés ou non saturés (Desai et Banat, 1997).Ils sont produits par les microorganismes soit en association avec la croissance ou bien durant les conditions limites de croissances (fin de la phase exponentielle), ensuite ils seront excrétés à la surfaces des cellules (Singh et al., 2007).

Les biosurfactants dégradent les hydrocarbures par le biais de deux mécanismes. Le premier implique une augmentation de la biodisponibilité des hydrocarbures aux microorganismes, en réduisant la tension superficielle du milieu autour de la bactérie ainsi qu'une réduction de la tension interfaciale entre la paroi cellulaire et les molécules d'hydrocarbures. L'autre mécanisme implique, l'interaction entre le biosurfactant et la surface cellulaire, conduisant à des modifications de la membrane facilitant l'adhérence des hydrocarbures (augmentation de l'hydrophobicité), et réduisant l'indice lipopolysaccharidique de la paroi cellulaire sans endommager la membrane. Ainsi, les biosurfactants permettent la formation d'interactions hydrophobes-hydrophiles (Aparna et al., 2011 ; Franzetti et al., 2009).

2. Classification des biosurfactants

Les biosurfactants forment un groupe hétérogène de composés tensioactifs vu la diversité de leurs molécules. En se basant sur leur structure chimique (Pattanath et al., 2008), les biosurfactants sont classés comme suit:

2.1. Les glycolipides

Les glycolipides sont les biosurfactants les plus connus. Ces molécules se composent d'une partie hydrophobe former d'acides aliphatiques à longue chaîne ou d'acides gras hydroxylés qui se lient à un groupe ester ou éther, et d'une partie hydrophile formée de glucides. Ces derniers peuvent être du tréhalose, sucrose, fructose, rhamnose, etc.

Les glycolipides, les plus connus sont les rhamnolipides, les tréhalolipides et les sophorolipides.

2.1.1. Rhamnolipides

Les rhamnolipides sont constitués de molécules de rhamnose liées à une ou deux molécules d'acide β-hydroxydécanoïque. Le groupe OH de l'un des acides hydroxydécanoïque est impliqué dans la liaison glycosidique avec l'extrémité réductrice du disaccharide de rhamnose, le groupe OH du second hydroxydécanoïque est impliqué dans la formation d'ester (Karanth et al., 1999). La production de glycolipides contenant du rhamnose (Rhamnolipides) a été décrite pour la première fois chez *Pseudomonas aeruginosa* par Jarvis et Johnson (1949).

Les rhamnolipides réduisent la toxicité des composés spécifiques (HAPs) en augmentant leur solubilisation, facilitant ainsi leur biodégradation (Chrzanowski et al., 2011).

2.1.2. Les sophorolipides

Les sophorolipides sont des glycolipides qui ont un hydrate de carbone dimère sophorose lié à un acide gras hydroxyle à longue chaîne par une liaison glycosidique (Gautam et Tyagi, 2006). *Candida bombicola* est le genre modèle parmi les différents types de levures utiliser dans la production de ce type de biosurfactant (Vijiyakumar et al., 2015).

2.1.3. Lipides de tréhalose

Le tréhalose est un disaccharide non réducteur dans lequel les deux unités de glucose sont liées par une liaison α, α-1,1-glycosidique. C'est le composant de base des glycolipides de la paroi cellulaire des mycobactéries et des corynebactéries (Li et al., 1984).

Les tréhalolipides sont produits par les espèces *Mycobacterium, Nocardia* et *Corynebacterium* (Santos et al., 2016).

2.2 Acides gras, phospholipides et lipides neutres

Les biosurfactants de type acides gras sont composés de chaînes hydrocarbonées, d'acides gras saturés et d'acides gras complexes (Pékin et al., 2005).

Les biosurfactants de type phospholipides sont formés de groupements d'alcool et phosphore et de chaîne lipidique (Hathout et al., 2000). Parmi eux il y'a les glycophospholipides et les glycérophospholipides (Al-araji et al., 2007).

Plusieurs bactéries et levures produisent des acides gras et des biosurfactants de type phospholipides en grandes quantités, lors de leur croissance sur les n-alcanes (Robert et al., 1989). Des vésicules riches en phosphatidyléthanolamine sont produites à partir *d'Acinetobacter* spp. formées de microémulsions optiquement claires (Santos et al., 2016).

2.3. Biosurfactants polymères

Les biosurfactants polymères sont des hétéro-polysaccharides poly-anioniques contenant des polysaccharides et des protéines (Banat et al., 2010). Ce sont des biopolymères de poids moléculaires élevé (Mukherjee et Das, 2010).

L'émulsan, le lipomanane, l'alasan, le liposan et d'autres complexes protéiques polysaccharidiques sont les biosurfactants polymères les mieux étudiés. L'émulsan est un émulsifiant des hydrocarbures dans l'eau à des concentrations aussi faibles que 0,001% à 0,01% (Lang, 2002 ; Hatha et al., 2007). L'émulsan synthétisé par *Acinetobacter calcoaceticus* est constitué d'un hétéropolysaccharide, auquel les acides gras sont liés de manière covalente (Rosenberg et al., 1988). Le liposan est un émulsifiant extracellulaire soluble dans l'eau synthétisé par *Candida lipolytica*, composé de 83% de glucides et de 17% de protéines.

2.4. Biosurfactants particulaires

Les biosurfactants particulaires sont les vésicules membranaires extracellulaires formant une microémulsion, qui exerce une influence sur l'absorption d'alcanes chez les cellules microbiennes (Monteiro et al., 2007). Les *Acinetobacter* spp. ont des vésicules d'un diamètre de 20 à 50 nm et une densité de flottabilité de 1,158 g/cm^3, composées de protéines, de phospholipides et de lipopolysaccharides (Kappeli et al., 1979).

3. Propriétés des biosurfactants

Les propriétés physico-chimiques des biosurfactants telles qu'une réduction de la tension superficielle, pouvoir moussant, pouvoir émulsifiant, stabilisant, résistance aux températures et pH…etc. (França et al., 2015), font partie des critères essentiels pour l'estimation de la validité d'un produit. Ces caractéristiques sont communes à la majorité des biosurfactants et présentent des avantages par rapport aux tensioactifs conventionnels, comme décrit ci-dessous.

3.1. Abaissement des tensions superficielle et interfaciale

La capacité de réduire la tension superficielle et interfaciale est une fonction clé des molécules amphiphiles, cette fonction permet la formation d'émulsions stables.

Les biosurfactants s'adsorbent aux interfaces (air / liquide, liquide / liquide, solide / liquide), en raison de leurs pôles hydrophobes et hydrophiles pour remplacer les molécules d'eau ou d'huile réduisant ainsi les forces intermoléculaires, et donc les tensions superficielles et interfaciales.

La tension superficielle est la force existant à la surface d'un liquide, dû à l'attraction entre les molécules qui s'opposent à la rupture de la surface (Holmberg et al., 2001), tandis que la tension interfaciale est la force nécessaire pour rompre la surface entre deux liquides non miscibles (Neindre, 1993).

Les biosurfactants aident à réduire la tension superficielle et la tension interfaciale. Ils sont plus efficaces que les tensioactifs chimiques (Desai et Banat, 1997). Les bons biosurfactants réduisent la tension superficielle de l'eau de 72 à 35 mN/m (Barros et al., 2007).

3.2. Concentration micellaire critique

La concentration micellaire critique (CMC) est la concentration minimale du biosurfactant dans un liquide nécessaire pour réduire au maximum la tension superficielle, et au-dessus de laquelle des micelles se forment spontanément (Barros et al., 2007). La mesure de la tension superficielle et interfaciale, ainsi que la concentration micellaire critique se réalise par un tensiomètre. La CMC des biosurfactants varie de 1 à 2000 mg/L, alors que les tensions interfaciales (huile / eau) et superficielles sont respectivement d'environ 1 et 30 mN /m.

3.3. Tolérance vis-à-vis de la température, au pH et à la force ionique

De nombreux biosurfactants ont été produits par des microorganismes isoler à partir des environnements de température, pH et concentration en NaCl extrêmes.

Les biosurfactants peuvent être utilisés dans des conditions extrêmes. Par exemple :
le lipopeptide de *Bacillus licheniformis* JF-2 est stable à une températures de 75°C pendant une durée allant jusqu'à 140 heures et à un pH allant de 5 à 12 (Lin et al., 1990).
Les biosurfactants tolèrent une concentration en sel allant jusqu'à 10%, alors que 2% de NaCl suffit pour inactiver les tensioactifs synthétiques (Vijayakumar et Saravanan, 2015).

Daryasafar et al. (2016) ont identifié un type de biosurfactant produit par la souche thermophile *Bacillus licheniformis* en Iran à des valeurs de température comprise entre 40 et 70 °C, un pH=7 et une salinité entre 1 et 7%.

3.4. Biodégradabilité

Les biosurfactants sont facilement dégradés par les microorganismes dans l'eau et le sol.

Les résultats obtenus dans l'étude menée par Rodriguez-Lopez et al. (2019) portant sur la biodégradation d'un biosurfactant par la biomasse du sol, dans différentes conditions de pH et de température montrent un taux de biodégradation compris entre 3 et 80% pour une période d'incubation allant de 15 à 55 jours.

3.5. Faible toxicité

Les biosurfactants ont reçu une plus grande attention, en raison de l'inquiétude croissante de la population concernant les effets allergiques des produits chimiques. Le faible degré de toxicité des biosurfactants permet leur utilisation dans les aliments, les produits cosmétiques et pharmaceutiques. Cette faible toxicité est un point important pour l'environnement (Tabka, 2014).

3.6. Biocompatibilité et digestibilité

Les biosurfactants sont biocompatibles et digestibles. Ces propriétés permettent l'utilisation de biomolécules dans différentes industries, notamment les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Santos et al., 2016).

3.7. Formation des émulsions

Les biosurfactants sont des agents émulsifiants. Une émulsion est un système hétérogène constitué d'un liquide non miscible, dispersé dans un autre liquide sous forme de gouttelettes dont le diamètre dépasse généralement 0,1 mm. Il existe deux types d'émulsion de base: huile dans eau (h/e) et eau dans huile (e/h). Les émulsions ont une stabilité minimale, mais l'ajout de biosurfactants augmente leur stabilité. Les biosurfactants peuvent conduire à une émulsion qui reste stable pendant des mois, voire des années (Velikonja et Kosaric, 1993). Le liposan qui est un émulsifiant hydrosoluble synthétisé par *Candida lipolytica*, a été utilisé avec des huiles comestibles pour former des émulsions stables.

La capacité d'un biosurfactant a émulsionné une phase hydrophobe avec une phase hydrophile est déterminée par l'index d'émulsion E_{24}. Afin de mesurer cet index, un volume de 2 mL de surnageant de culture est ajouté à 2 mL d'une solution hydrophobe, le tout est homogénéisé pendant 2 min. La mesure sera faite 24 h plus tard.

L'index d'émulsion est calculé de la manière suivante :

$$\mathbf{E_{24}\ (\%) = (he\ /\ ht)\ x\ 100}$$

he : hauteur de l'émulsion
ht : hauteur totale du mélange

4. Application des biosurfactants

Les biosurfactants ont plusieurs applications dans différents domaines tels que l'agriculture, la médecine, la bioremédiation et l'industrie alimentaire.

4.1. En agriculture

En agriculture, les biosurfactants sont utilisés pour obtenir une bonne mouillabilité et une répartition uniforme d'engrais dans le sol. Ils permettent d'améliorer la qualité du sol, en augmentant la solubilité des composés chimiques (HAPs) limitant ainsi la diffusion des polluants dans les particules du sol (Makkar et rockne, 2003).

Les biosurfactants sont aussi utilisés comme biopesticides contre les nouveaux insectes résistants aux pesticides chimiques. Les biosurfactants de type rhamnolipide produits par *P. aeruginosa* LBI 2A1 ont présenté une activité insecticide contre la larve *Aedes aegypti* (Silva et al., 2014). Aussi de nombreux biosurfactants lipopeptidiques produits par plusieurs bactéries présentent une activité insecticide contre *Drosophila melanogaster* (Mulligan, 2005).

4.2. En médecine

En médecine, les biosurfactants sont utilisés comme agent antimicrobien, antifongique et antiviral. Une étude menée par Ndlovu et al. (2017) dans laquelle les auteurs ont isolé deux souches *Bacillus amyloliquefaciens* ST34 et *Pseudomonas aeruginosa* ST5 à partir des eaux usées. Les biosurfactants de type surfactine et rhamnolipide produits par ces deux souches ont montré une activité antimicrobienne contre un large spectre de microorganismes opportunistes et pathogènes, y compris *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et la levure *Candida albicans*.

Les biosurfactants ont aussi un rôle anti adhésif vis-à-vis des pathogènes. Ils sont utilisés aussi comme agents immunorégulateurs et immunomodulateurs (Basit et al., 2018).

4.3. En pharmacie

En pharmacie, les biosurfactants sont utilisés dans la production de médicaments. Par exemple, la production de surfactant pulmonaire pour traiter les déficiences respiratoires chez les nourrissons prématurés (Krishnaswamy et al., 2008).

Dans l'industrie cosmétique, ces biosurfactants sont utilisés comme émulsifiants, agents moussants, solubilisants, agents mouillants, nettoyants, agents antimicrobiens, médiateurs de l'activité enzymatique, etc (Rincón-Fontán et al., 2019).

Les biosurfactants les plus utilisés en cosmétique sont les sophorolipides, les rhamnolipides et les lipides de mannosylérythritol. Les rhamnolipides sont utilisés dans les tampons anti-acnéiques, anti-pelliculaires, anti-rides et anti-âge, déodorants, produits de soin des ongles et dentifrices (Piljac et Piljac, 1999).

Une étude menée par Resende et al. (2019) qui se porte sur la production d'un dentifrice en utilisant des biosurfactants produits par *Pseudomonas aeruginosa* UCP 0992*, Bacillus methylotrophicus* UCP 1616, *Candida bombicola* URM 3718 et de chitosane extraite à partir du champignon Mucorale. Le dentifrice a été testé en ce qui concerne le pH, la moussabilité, cytotoxicité, action antimicrobienne et potentiel d'inhibition de la formation des biofilms dentaire produits par *Streptococcus mutans* et les résultats étaient comparables à un dentifrice commercial.

4.4. En industrie alimentaire

En industrie alimentaire, les biosurfactants étant des composés biocompatibles, biodégradables et/ou non toxiques sont très utilisés, notamment en tant qu'émulsifiant alimentaire qui améliore la texture des produits de faible teneur en matière grasse (Rosenberg et Ron, 1999), stabilisant et anti éclaboussures lors de la cuisson de l'huile (Mnif et Ghribi, 2016) et anti adhésif pour inhiber la formation de biofilm microbien qui sont une source de contamination des aliments (Kiran al., 2017).

4.5. En bioremédiation

En bioremédiation, les biosurfactants étant des composés biodégradables et faiblement toxiques ont un grand intérêt pour l'élimination des hydrocarbures pétroliers, des métaux lourds et d'autres polluants qui constituent une préoccupation mondiale pour les environnements terrestres et marins (Ivshina et al., 2016 ; Godfrin et al., 2018). Les biosurfactants peuvent être appliqués pour favoriser la solubilisation et l'émulsification des polluants afin de faciliter leur élimination par les microorganismes (Tiso et al., 2017 ; Vecino et al., 2015).

Une étude menée par Bezza et al. (2016) consiste à appliquer un biosurfactant brut afin d'améliorer la bioremédiation des HAPs dans des sols contaminés par la créosote. La dégradation renforcée par le biosurfactant a atteint 86,5%, alors qu'en absence de biosurfactant il n'y a eu que 57% de dégradation des HAPs.

Lima de França et al. (2015) ont produit un biosurfactant à partir d'une souche de *Bacillus subtilis* ICA56 isolé d'une mangrove brésilienne. Les auteurs ont constaté que le biosurfactant élimine avec succès les hydrocarbures et les métaux lourds des systèmes environnementaux.

4.6. Application des biosurfactants dans la récupération du pétrole

Dans les puits de production de pétrole, il y'a une mauvaise récupération due à la faible perméabilité de certains réservoirs ou à la viscosité élevée du pétrole. Pour résoudre ce problème il y'a la technique microbial enhanced oil recovery (MEOR), qui permet de récupérer l'huile résiduelle en utilisant plusieurs stratégies (Patel et al., 2015) telles que, l'injection de microorganismes producteurs de biosurfactants dans un réservoir à travers le puits, ou l'injection de nutriments sélectionnés dans un réservoir, stimulant ainsi la croissance de microorganismes indigènes producteurs de biosurfactants, tandis que l'autre stratégie implique la production de biosurfactants dans des bioréacteurs *exsitu,* et l'injection ultérieure de ces derniers dans le réservoir. Une fois l'une de ces stratégies est appliquée, une injection d'un fluide est mise en place, ainsi des réactions métaboliques vont se produire induisant la production de gaz, de biomasse, de métabolites et de biosurfactants. Ces derniers vont permettre la solubilisation et la réduction de la viscosité de l'huile (Marchand et Banat, 2012).

Selon Lazar et al. (2007), cette technique est mise en place dans différents pays à travers le monde, en Australie une augmentation de production du pétrole de 40% a été obtenue après une durée de 12 mois.

4.7. Application des biosurfactants dans la nanaotechnologie

La nanotechnologie est une science qui étudie le domaine du nanomètre (molécules, atomes). Elle relie le domaine de la biologie, la chimie, la mécanique et la physique afin de produire des nanoparticules et des nano-objets.

Les biosurfactants ont été utilisés en nanotechnologie dans la synthèse de nano-tiges d'oxyde de nickel (NiO), qui peuvent être produites par des microémulsions eau-dans-huile (Palanisamy, 2007).

Dans une expérience, deux microémulsions ont été formées avec l'addition d'une solution de chlorure de nickel à une solution de biosurfactant et d'heptane, avec l'addition d'hydroxyde d'ammonium au même mélange d'hydrocarbures (Sabatini et al., 2000).

Reddy et al. (2009) ont constaté que la synthèse des nanoparticules d'argent pouvait être stabilisé pendant deux mois, en utilisant la surfactine. La surfactine est un agent stabilisant, biodégradable, renouvelable et de faible toxicité (Sabatini et al., 2000).

5. Production de biosurfactants à l'échelle industrielle

La production de biosurfactants à l'échelle industrielle est très peu réalisée en raison de leur faible rendement et de leur coût de production élevé. Il est donc nécessaire qu'ils soient produits et récupérés de manière rentable et économique. Pour ce faire, trois stratégies de base ont été adoptées pour la production de biosurfactants à un coût compétitif (Willenbacher et al., 2015 ; Rodrigues et al., 2006).

(i) Utilisation de déchets de substrats pour réduire les coûts des matières premières impliquées dans le processus de production de biosurfactants.

(ii) Développement de bioprocédés efficaces, y compris l'optimisation des conditions de culture et des procédés de séparation rentables, pour une production et une récupération maximale de biosurfactants.

(iii) Développement et utilisation de souches mutantes ou recombinantes hyperproductrices.

5.1. Les différents systèmes de fermentation

Il existe 3 grands systèmes de fermentation.

- Le premier système de fermentation appelé système batch ou discontinue:

Le bioréacteur est un système clos, fermé avec agitation. Le volume du milieu de culture reste constant tout au long de la fermentation (il n y'a ni ajout ni soutirage du milieu de culture durant la fermentation).

Dans ce système les quatre phases de croissance sont observées: phase de latence, phase exponentielle, phase stationnaire et la phase de déclin.

- Le deuxième système de fermentation appelé système fed-batch ou discontinu alimenté:

Le bioréacteur est un système alimenté. Au cours de la fermentation, il y'a ajout du milieu de culture au fur et à mesure mais sans soutirage donc, le volume du milieu augmente. L'arrêt de la fermentation dans ce cas est lorsque la cuve du bioréacteur est pleine. Ce système est le plus utilisé dans la production à l'échelle industrielle.

- Le troisième système de fermentation appelé système continue ou système ouvert:

Le bioréacteur est un système ouvert. Au cours de la fermentation, un volume du milieu de culture est ajouté et un même volume de moût de fermentation est soutiré en continu. Le volume du milieu de culture dans la cuve reste constant.

Ce système est conçu de façon à maintenir en permanence la phase exponentielle de croissance, grâce au renouvèlement constant du milieu de culture et la récupération des produits du métabolisme et des déchets.

5.2. Exemples de production de biosurfactants dans des systèmes de fermentation

Une étude menée par Xu et al. (2020) portant sur le développement d'un système de contrôle de mousse *exsitu,* afin de résoudre le grave problème d'accumulation de la mousse dans les bioréacteurs lors de la production améliorée des rhamnolipides. Un taux de réduction de la mousse allant de 51,92 à 73,47 % a été obtenu.
Une production de rhamnolipide dans un système fed-batch est réalisée pendant 25 jours, donnant des rendements de production améliorés par rapport à la culture batch utilisant différents types d'antimousses. Le système de contrôle de la mousse peut faciliter la production économique des biosurfactants à grande échelle.

Dans une étude élaborée par Fooladi et al. (2018) portant sur la production de biosurfactant par *Bacillus pumilus* 2IR, les auteurs ont étudié l'effet des facteurs physicochimique et la composition du milieu de culture sur la fermentation. La quantité la plus élevée de biosurfactant produit par *B. pumilus* 2IR était 1,06 g / L dans un fermenteur fed-batch de 5 L.

Une étude rapportée par Samsu et al. (2014), révèle qu'un rendement de production de rhamnolipides élevé est obtenu quand la fermentation est en mode fed-batch. Dans cette expérience une quantité de 14,39 g/l de biosurfactant de type rhamnolipide est obtenu, cette quantité est cinq fois plus importante que la quantité obtenue dans un système batch.

Dans une autre étude réalisée par Ghomi et al. (2012) visant la production de rhamnolipides par *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 53752*,* dans deux systèmes différents (batch et fed-batch) avec les mêmes milieux de culture. Le système batch aboutit à la quantité de biomasse la plus élevée et la quantité de rhamnolipides la plus faible.

L'exclusion de l'azote et du phosphore du milieu de culture stimule la production de rhamnolipide. La quantité la plus élevée de rhamnolipide produite est 4,12g/L obtenue dans le système fed-batch.

5.3. Matière première à bas prix

Souvent, dans les procèdes biotechnologiques, la quantité et le type de matière première contribue considérablement au coût de production. Contrairement aux tensioactifs chimiques qui sont principalement dérivés à partir de matières pétrolières, les biosurfactants peuvent être produits par des procédés de fermentation microbienne utilisant des substrats et des déchets agricoles moins chers.

Plusieurs études ont été reportées utilisant des huiles végétales, huile de colza (Trummler et al., 2003), Huile de soja et huile de maïs (Andrade Silva et al., 2014) ainsi que, divers déchets d'huile de raffinerie tels que les déchets d'huile de tournesol (Jadhav et al., 2019), et d'industrie alimentaire (Kaur et al., 2019) comme substrat pour la production de biosurfactants par plusieurs microorganismes.

Le lactosérum des industries laitières a également été signalé comme un bon substrat pour la production de biosurfactants. L'effluent de l'industrie laitière, appelé eaux usées laitières, favorise une bonne croissance microbienne (Dubey et Juwarkar, 2004).

Les substrats amylacés comme les déchets féculents sont également des alternatives pour la production de biosurfactants. Les déchets des industries de transformation de la pomme de terre ont été utilisés pour produire un biosurfactant par *Bacillus subtilis* (Noah et al., 2002). Les eaux usées du manioc, riches en résidus glucidiques sont également des substrats utilisés pour la production de surfactine par *Bacillus subtilis* (Nitschke et Pastore, 2004).

5.4. Utilisation de souches mutantes et recombinantes (les hyperproducteurs)

Même si des souches naturelles à haut rendement sont disponibles, les hyperproducteurs donnent toujours de meilleurs rendements de production, et permettent d'économiser dans le processus de production et d'obtenir des produits ayant de meilleures propriétés.

Quelques variétés mutantes et recombinantes avec les caractéristiques de meilleure production des biosurfactants sont rapportées dans la littérature.

Ces variétés mutantes sont produites à l'aide de transposons (Koch et al., 1991), mutagènes chimiques (Carrera et al., 1993), rayonnement ou par sélection sur la base de la résistance aux détergents ioniques (Mulligan et al., 1989).
Quelques exemples de souches recombinantes et/ou mutantes hyperproductrices de biosurfactants sont reportées dans le tableau II.

Tableau II: Exemples de souches microbiennes mutantes et recombinantes avec leur rendements améliorés ou nouvelles propriétés d'amélioration de la production de biosurfactants.

Souches mutantes ou recombinantes	Caractéristiques	Rendement/ Amélioration des propriétés	Références
Pseudomonas aeruginosa PTCC 1637.	Mutagenèse aléatoire avec la N-méthyl-N0-nitro-N-nitrosoguanidine.	10 fois plus de production.	(Tahzibi et al., 2004).
Pseudomonas aeruginosa EBN-8.	Mutant induit par rayons gamma de Pseudomonas aeruginosa S8.	2 à 3 fois plus de production.	(Iqbal et al., 1995).
Souche mutante *Bacillus subtilis* 168.	restauration du gène epsC responsable de la production de biofilm et insertion du gène sfp qui code pour la phosphopantetheine-transferase qui est essentielle pour la production de surfactine.	10 fois plus de production de surfactine.	(Brück et al., 2019).

Suite du tableau II : Exemples de souches microbiennes mutantes et recombinantes avec leur rendements améliorés ou nouvelles propriétés d'amélioration de la production de biosurfactants.

Souches mutantes ou recombinantes	Caractéristiques	Rendement/ Amélioration des propriétés	Références
Souche recombinante *Bacillus subtilis* MI 113.	Incorporation d'un plasmide contenant le gène lpa-14.	8 fois plus de production de surfactine.	(Ohno et al., 1995).
Souche recombinante *Pseudomonas putida* KT2442 et *P. fluorescens*.	Expression des gènes rhlAB.	Production des ramnolipides chez les souches de *P. aeruginosa* non pathogènes.	(Ochsner et al., 1995).

6. Optimisation des processus de production de biosurfactants

Pour maximiser le taux de production des biosurfactants tout en minimisant les coûts de production, il existe plusieurs stratégies d'optimisation des processus telles que, la méthode classique et la méthode des surfaces de réponses.

6.1 Méthode classique d'optimisation

Elle consiste en la variation d'un paramètre à la fois, tout en gardant les autres fixes. Parmi ces paramètres, plusieurs rapports d'éléments tels que C: N, C: P, C: Fe ou C: Mg (Amézcua-Vega et al., 2007) et précurseurs sont signalés comme affectant le processus de production de biosurfactants, ainsi que la quantité et la qualité finale du produit.

Par exemple, la limitation de l'azote augmenterait la production de biosurfactants chez *Pseudomonas aeruginosa* BS-2 (Dubey et Juwarkar, 2004) et *Ustilago maydis* FB1 (Hewald et al., 2005). De même, l'ajout de fer et le manganèse dans le milieu de culture augmenteraient la production de biosurfactants par *Bacillus subtilis* ATCC 21332 (Yu et al., 2003).

Cependant, cette méthode est laborieuse, prend du temps et ne garantit pas la détermination des conditions optimales de production.

6.2. La méthodologie des surfaces de réponses

La méthode des surfaces de réponses (MSR) est une méthode mathématique et statistique largement utilisée pour modéliser, analyser et optimiser un processus dans lequel, la réponse appelée variable dépendante est affectée par des paramètres (par exemple physicochimiques) appelés variables indépendantes (Refinery et Braimah, 2016). L'objectif de cette méthode est d'optimiser la réponse. Les étapes de la méthode sont citées dans la figure 3.

La MSR étudie une relation d'approximation appropriée entre les variables et identifie les conditions de fonctionnement optimales d'un système (Farooq et al., 2013). Les plans de Box-Behnken (BBD) et le plan composite central (CCD) sont les deux principaux modèles expérimentaux utilisés dans la méthodologie de surfaces de réponses (Koç et Kaymak-Ertekin, 2009). La conception rotative composite centrale (CCRD) et la conception composite centrale face (FCCD) ont également été appliquées aux études d'optimisation ces dernières années (Prakash Maran et al., 2013 ; Şahin et al., 2017).

Les données expérimentales sont évaluées pour s'adapter à un modèle statistique (linéaire, quadratique, cubique ou 2FI (interaction à deux facteurs). Les coefficients du modèle sont représentés par un terme constant, A, B et C (coefficients linéaires pour variables indépendantes), AB, AC et BC (coefficient de terme interactif), A^2, B^2 et C^2 (coefficient de terme quadratique). Le coefficient de corrélation (R^2), le coefficient de détermination ajusté (Adj-R^2) et une précision adéquate sont utilisés pour vérifier l'adéquation du modèle. Le modèle est adéquat lorsque sa valeur $P < 0,05$, son absence d'ajustement valeur $P > 0,05$, $R^2 > 0,9$ et Adeq Précision> 4. Les différences entre les moyennes peuvent être testées pour leur signification statistique à l'aide de l'analyse de variance (ANOVA) (Aydar et al., 2017).

Cette méthode a été utilisée avec succès, pour déterminer les conditions environnementales optimales de production de biosurfactants de type glycolipide par *Stenotrophomonas acidaminiphila* TW3 (Onlamool et al., 2020). La MSR a également été appliquée pour améliorer la production de biosurfactants par *Pseudomonas aeruginosa* AT 10 (Abalos et al., 2002). Dans tous ces cas, une augmentation de la productivité a été obtenue.

L'un des points les plus importants de la mise en œuvre de cette méthode est que les valeurs prédites dans le modèle doivent être vérifiées expérimentalement.

La MSR présente de nombreux avantages par rapports aux méthodes classiques. Elle nécessite moins d'expériences pour étudier les effets de tous les facteurs et la combinaison optimale de toutes les variables peut être révélée. L'interaction entre les facteurs peut être déterminée, cela nécessite également moins de temps et d'effort.

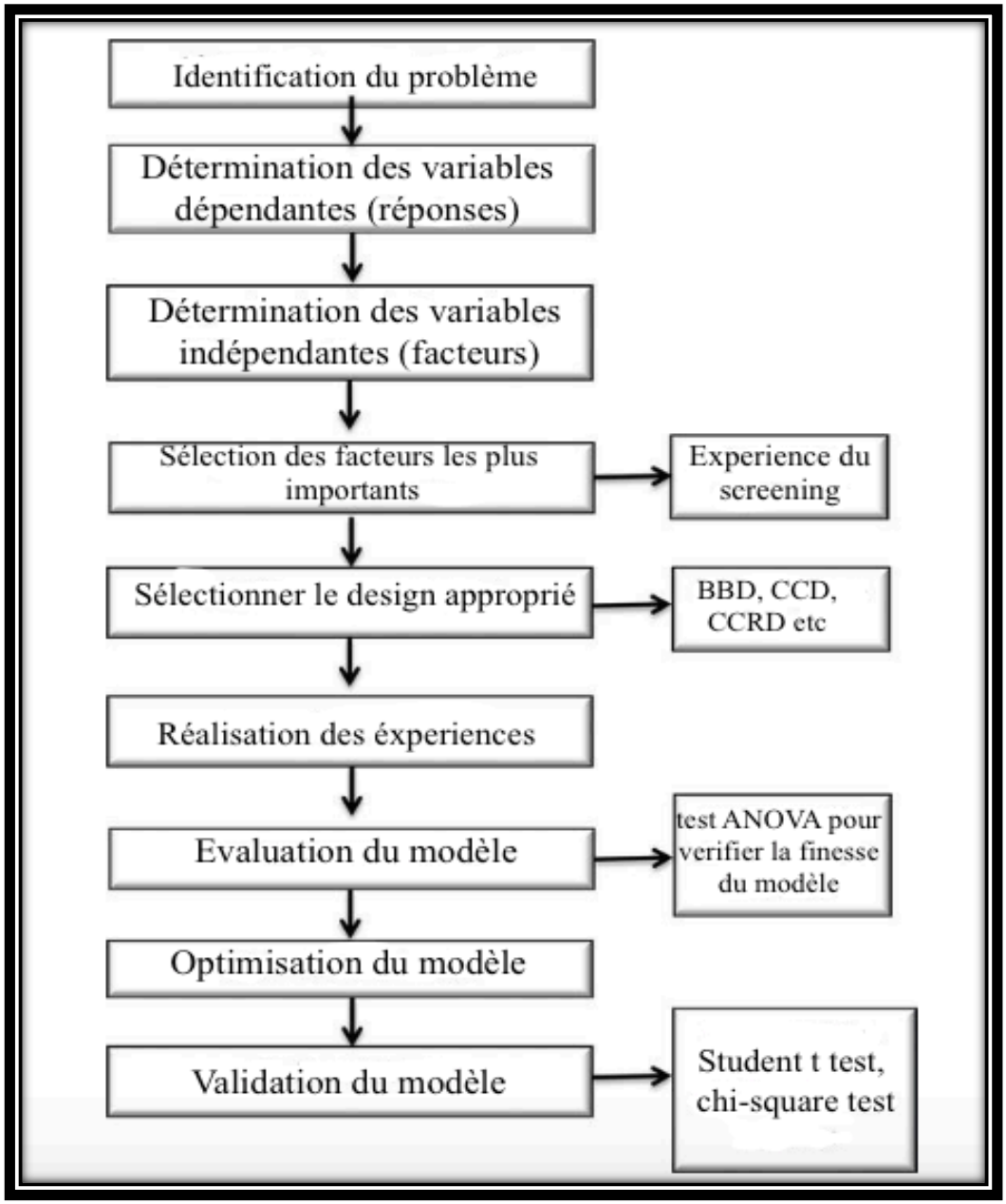


Figure 2 : Etapes de la méthode de surfaces de réponses.

En guise d'exemple de l'utilisation de la méthode des surfaces de réponses pour l'optimisation de la production de biosurfactants par l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* MA01, on citera une étude menée par Abbasi et al. (2013) résumée comme suit :

1- Déterminer les composants affectant plus la production de biosurfactant afin d'étudier leurs effets sur cette production

2- Réaliser des expériences préliminaires en utilisant l'huile de soja, le nitrate de sodium et l'extrait de levure, respectivement comme source de carbone et d'azote (minérale et organique).

3- Trente expériences basées sur les algorithmes de Box-Behnken ont été réalisées, pour optimiser le processus de production avec six répétitions aux points centraux.

4- Les résultats ont montré que parmi les facteurs étudiés, l'huile de soja et le nitrate de sodium étaient les plus efficaces comme sources de carbone et d'azote pour la production de biosurfactants respectivement, et seules la température et la vitesse d'agitation affectaient de manière significative la production de biosurfactant par *P. aeruginosa* MA01.

Par ailleurs, il a été observé que le rendement en biosurfactant était amélioré à une vitesse d'agitation plus élevée et à des températures plus basses.

5- Vérification de la prédiction du modèle, des expériences en flacon ont été réalisées sous les mêmes conditions. Les résultats ont montré que la production de biosurfactants était 1,46 fois plus élevée que la concentration de biosurfactant obtenue avant l'optimisation.

7. Récupération des biosurfactants

Même si un optimum de production a été réalisé, l'efficacité de la production dépend aussi des méthodes d'extraction et de purification. Le choix de la méthode dépend des caractéristiques des biosurfactants notamment, leur charge ionique, leur solubilité dans l'eau, leur localisation (intracellulaire, extracellulaire ou liaison cellulaire) (Helmy et al., 2011 ; Marchant et Banat, 2012), leur nature chimique ainsi que, leur utilisation ultérieure, ainsi que le coût de la méthode.

Précipitation au solvant

La précipitation au solvant est une méthode qui se base sur la récupération d'une molécule qui est plus soluble dans le solvant que dans l'eau. L'éthanol et l'acétone sont les solvants les plus utilisés.

Le moût de fermentation est centrifugé ensuite, le surnageant est mélangé avec de l'acétone ou l'éthanol glacé, le tout est incubé à 4°C pendant 15 à 20 h pour obtenir le précipité qui sera récupérer après une centrifugation (Patil et Chopade, 2001).

Les inconvénients de l'utilisation des solvants organiques sont leur prix qui est couteux, ainsi que leur toxicité envers les humains et l'environnement. Pour éviter ces problèmes, des solvants moins chers et moins toxiques tels que le méthyl-tert-butyl éther (MTBE) ont été utilisés avec succès pour récupérer les biosurfactants produits par *Rhodococcus* IEGM 231 (Kuyukina et al., 2001).

Précipitation acide

La précipitation acide est une méthode qui se base sur la récupération d'une molécule qui est insoluble dans un milieu acide. Cette méthode est simple et peu coûteuse. Très utilisé pour récupérer les biosurfactants tels que la surfactine, lipopeptides, glycolipides, etc.

La récupération des biosurfactants se fait comme suit : une fois la production terminée le moût est centrifugé, ensuite le surnageant acellulaire sera acidifier en utilisant le HCL. Le mélange surnageant HCL est conservé à 4°C toute la nuit. Après centrifugation, le précipité sera mis au rotavapor pour éliminer tous les résidus organique et avoir un produit pur (Rocha et al., 2018). Les biosurfactants de type glycolipide produits par *Achromobacter* sp. sont récupérés en utilisant cette méthode (Haloi et Medhi, 2019).

Adsorption – désorption

Adsorption-désorption est une méthode qui se base sur l'adsorption des molécules sur un support solide ensuite ces molécules seront récupérées par une solution éluante. Le support solide peut être une résine de polystyrène Amberlite XAD 2, des résines polymères ou charbon actif à base de bois. Une fois les biosurfactant sont adsorbés, il faut réaliser une désorption avec une solution éluante généralement des solvants organiques (Dubey et al., 2005).

Centrifugation

La centrifugation est un procédé de séparation des composés d'un mélange en fonction de leur différence de densité, en les soumettant à une force centrifuge. Elle est généralement utilisée pour récupérer des biosurfactants insolubles (Nitschke et Pastore, 2006).

Chromatographie d'échange d'ions

La chromatographie d'échange d'ions est une méthode qui se base sur l'adsorption des molécules sur une résine échangeuse d'ions, composée d'un réseau de polymères organiques avec des groupements ioniques qui sont fixés de façons permanentes. Les rhamnolipides qui possèdent une charge négative dans des environnements à pH plus élevé, peuvent être attachés à des résines échangeuses d'ions et peuvent être élués avec un tampon contenant l'éthanol et le NaCl.

Les rhamnolipides produits par *Pseudomonas aeruginosa* sont purifiés par cette méthode (Matsufuji et al., 1997).

Les biosurfactants récupérés à l'aide de solvant organique doivent subir une évaporation au rotavapor, pour avoir un produit pur.

Fractionnement de la mousse

Fractionnement de la mousse est une méthode qui sépare les molécules de biosurfactants adsorbés sur des bulles d'air dans le moût de culture, la mousse contenant le biosurfactant est collectée (par colonne de fractionnement) et acidifiée avec HCL afin de précipiter les biosurfactants (Cooper et al., 1981). Cependant, la mousse est bénéfique pour la production de biosurfactants, car elle contribue à l'élimination continue du produit, et par conséquent les processus de production et de récupération peuvent être réalisés en une seule étape. Un rendement élevé de biosurfactants peut être obtenu en augmentant le temps de séjour de la mousse dans les colonnes de fractionnement.

Ultrafiltration

L'ultrafiltration est une méthode de séparation membranaire. La membrane est soumise à une basse pression mécanique et ne laisse pas passer les microorganismes. Elle est généralement utilisée pour concentrer et purifier biosurfactants comme la surfactine, les rhamnolipides (Mulligan et Gibbs, 1990).

8. Identification et quantification des biosurfactants

Diverses méthodes analytiques, à savoir, la Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS), Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), Spectroscopie Infrarouge (IR), Résonance magnétique nucléaire (RMN) etc. elles sont utilisées pour caractériser les biosurfactants, soit individuellement ou en combinaison.

Chromatographie en phase liquide à haute pression

La chromatographie liquide haute pression est une technique de séparation analytique. Elle se compose d'une colonne contenant la phase stationnaire, un injecteur, un détecteur et un chromatogramme.

La solution a séparé est mise en solution avec un solvant qui sera injecté à travers l'injecteur. Le mélange va migrer à travers la colonne ou les substances vont plus ou moins réagir avec la phase stationnaire par affinité, ensuite une phase mobile éluante introduite sous haute pression va transporter tous les composés greffés sur la colonne.

Le détecteur émet une réponse due à l'élution de l'échantillon et un pic est signalé sur le chromatogramme.

L'analyse HPLC a permis d'identifier le type de biosurfactant produit par la souche *Bacillus tequilensis* strain SDS21. Ce dernier est une surfactine (Singh et Sharma, 2020).

Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse/charge. Cette technique permet d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voir en traces.

Cette technique démarre par une chromatographie en phase gazeuse, un échantillon (volatil) est introduit dans l'injecteur, et sera ensuite transporter par un gaz vecteur (l'hélium, l'azote) tout au long de la colonne en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire. Une fois séparé, ces différents composés sont détectés en sortie de colonne par un détecteur. Les composés sont alors introduits directement dans l'appareil de spectrométrie ou une source d'ionisation électrique est émise et génère des ions chargés positivement. L'étape de séparation des ions se fait dans l'analyseur de masse à quadripôle sous l'effet d'un champ magnétique, le détecteur convertit les ions en signal électrique (plus le nombre d'ions est élevé, plus le courant est important). Ensuite, le détecteur amplifie le signal obtenu ce qui permet le traitement informatique, c'est-à-dire l'obtention de spectre.

Parmi les facteurs influençant cette technique, il y'a la température, la nature, le type et la dimension de la colonne ainsi que la vitesse du gaz vecteur.

Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique d'analyse, qui consiste à soumettre l'échantillon à un rayonnement infrarouge *via* un spectromètre. Ce dernier se compose d'une source de rayonnement, d'un monochromateur et d'un détecteur. Le spectre «infrarouge» couvre la gamme électromagnétique entre 0,78 et 1000 mm. Les molécules organiques soumises à ce rayonnement absorbent ces radiations en modifiant leurs états (vibrations, rotations).

Suivant les types de liaisons et fonctions chimiques présentes dans l'échantillon, un spectre infrarouge caractéristique de l'échantillon ou de sa surface analysée est obtenu.

Une spectroscopie infrarouge permet d'identifier et caractériser les groupements fonctionnels d'une molécule (aldéhyde, cétone etc). Chaque type de liaison possède une fréquence de résonance qui lui est spécifique. Ces fréquences sont situées dans le spectre infrarouge

La surfactine, la lichénysine et les rhamnolipides ont été caractérisés par la technique infrarouge (Das et al., 2008).

Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

Cette technique exploite les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. Elle est basée sur la transition des atomes après application d'un champ magnétique. L'absorption des radiations provoque le réalignement ou le retournement du spin nucléaire dans la direction de l'énergie supérieure. Une fois que l'énergie est absorbée, les noyaux réémettent des radiations et retournent à leurs états naturels de basse énergie.

La RMN fournit des informations sur les groupes fonctionnels ainsi que la position des liaisons dans les molécules glucidiques et lipidiques. L'emplacement exact de chaque groupe fonctionnel peut être obtenu, et les informations sur les isomères structuraux sont également possibles à l'aide de séries d'expériences RMN. Elle permet de déterminer la stéréochimie de la molécule.

Des analyses détaillées du biosurfactant de type glycolipide ont été effectuées à l'aide de la méthodologie RMN (Smyth et al., 2009).

Electrophorèse sur gel de polyacrylamide-dodécylsulfate de sodium

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide permet d'identifier les biosurfactants de nature protéiques, séparant les différentes protéines qui le constituent. Ainsi, la détermination de la masse moléculaire de ces biosurfactants.

L'échantillon est mis dans un tampon de chargement contenant le SDS qui a pour rôle le clivage des liaisons disulfure ainsi, l'attachement de molécules SDS à la protéine, lui donne une charge négative qui lui permettra de migrer à travers le polyacrylamide sous l'effet du champ électrique. Ainsi, chaque protéine est séparée et peut être extraite.

Les protéines de poids moléculaire élevé migrent moins vite que les protéines de faible poids moléculaire.

Actinobacter vanetianus RAG-1 produit de l'émulsan, qui a été caractérisé avec cette méthode, sa portion protéique est de 34,5 kDa (Bach et al., 2003).

Chapitre IV
Microorganismes du sol producteurs de biosurfactants

1. Généralités

Les organismes producteurs de biosurfactants comprennent un grand nombre de levures, de bactéries et de champignons filamenteux (Tableau III).

Les biosurfactants sont principalement produits par des microorganismes qui se développent dans des conditions aérobies, utilisant une ou plusieurs sources de carbone, comme les hydrates de carbone, des huiles ou des hydrocarbures. Mais, il existe quelques exemples de microorganismes producteurs de biosurfactants dans des conditions anaérobies, comme *Bacillus licheniformis* JF.2 (Mulligan et al., 2005).

Les genres bactériens connus pour leur production de biosurfactants sont*: Pseudomonas, Bacillus, Mycobacterium, Nocardia, Flavobacterium, Corynebacterium, Clostridium, Acinetobacter, Thiobacillus, Serratia, Arthrobacter, Alcanivorax* et *Halomonas* (Bodour et al., 2003 ; Mnif et al., 2011).

Les bactéries synthétisent les biosurfactants qui sont soit des molécules intercellulaires, extracellulaire ou localisées à la surface de la cellule (Prabhu et al., 2003), pour faciliter la diffusion des hydrocarbures ou leurs dérivés à l'intérieur de la cellule bactérienne afin de les dégrader (Al-Arajil et al., 2007).

Tableau III: Principaux types de surfactants biologiques (Banat et al., 2000).

Groupe	Biosurfactant	Microorganismes
Glycolipides	Rhamnolipides Trehalolipides Sophorolipides	*Pseudomonas aeruginosa* *Rhodococcus* sp. *Nocardia, Mycobacterium* *Candida bombicola, Candida antartica*
Lipopetides et lipoprotéines	Surfactine Viscosine	*Bacillus subtilis* *Pseudomonas fluorescens*
Phospholipides	Phospholipide	*Corynebacterium insidiosum*
Acide gras	Acide gras	*Corynebacterium lepus*
Lipides neutres	Lipides neutres	*Clostridium pasteurianum*
Lipopolysaccharides ou Polymyèrique	Emulsan	*Acinetobacter calcoaceticus*

2. Bactéries productrices de biosurfactant

Bien que de nombreuses espèces produisent des biosurfactants, la régulation de leur synthèse est encore mal connue, sauf pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* qui sont les bactéries les plus étudiées (Banat et al., 2000).

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est un bacille à Gram négatif, aérobie strict, non sporulé, mobile grâce à une ciliature polaire. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles. Il fait partie de la famille des *Pseudomonadaceae* qui est répandu dans l'environnement (Franzetti et Scarpellini, 2007). C'est une bactérie opportuniste elle cause de nombreuses infections telles que les infections pulmonaires, infections urinaires et infections cutanées.

Plusieurs études ont prouvé son efficacité dans la dégradation des hydrocarbures, grâce à leur capacité à produire des biosurfactants de type rhamnolipides, qui sont des glycolipides ayant des propriétés détersives, secrétés à un stade tardif de sa croissance.

Hisatsuka et al. (1971) ont identifié une substance produite par une souche de *P. aeruginosa* 57RP qui stimule la croissance de cette dernière sur le n-hexadécane. Cette substance a des propriétés tensioactives et émulsionnantes et fut identifiée comme étant un rharnnolipide.

P. aeruginosa produit deux principaux types de rharnnolipides en culture liquide, le Lrharnnosyl-L-rhamnosyl-~-hydroxydécanoyl-~-hydroxydécanoate ou (RI) et le L rharnnosyl-~-hydroxydécanoyl-~-hydroxydécanoate ou (R2). Les deux autres types de rhamnolipides, R3 et R4 contenant seulement une portion de ~-hydroxydécanoyl sont présumés être les produits de dégradation provenant de l'hydrolyse des rhamnolipides 1 et 2 (Ochsner et al., 1995) (Figure 4).

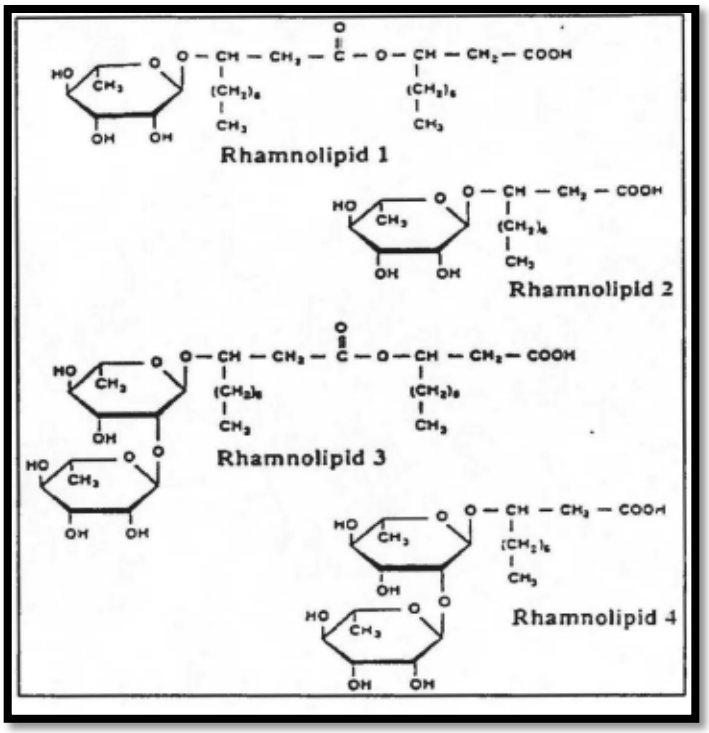


Figure 3 : Principaux types de rhamnolipides produits par *Pseudomonas aeruginosa* (Fiechter, 1992).

- Régulation génétique de la production des rhamnolipides chez *Pseudomonas*

Les gènes impliqués dans la biosynthèse des rhamnolipides ont été isolés et caractérisés par (Ochsner et al., 1994a, 1994b, 1995a, 1995b). Quatre gènes sont responsables de la synthèse des rhamnolipides. Ces gènes sont les gènes *rhlABRI* (Figure5). Ces gènes sont sous le contrôle du système *rhl*, l'un des systèmes du quorum sensing chez *P. aeruginosa*. Le gène régulateur (*rhlR*) code pour un activateur transcriptionnel, le *RhlR*. Cette protéine régulatrice est activée par un autoinducteur le *RhlI*, le produit d'une synthétase codée par le gène *rhl*. Le complexe *RhlR-RhlI* formé va activer l'opéron *rhlAB* qui va coder pour la rhamnosyltransférase.

La rhamnosyltransférase est une enzyme responsable de la synthèse des rhamnolipides.

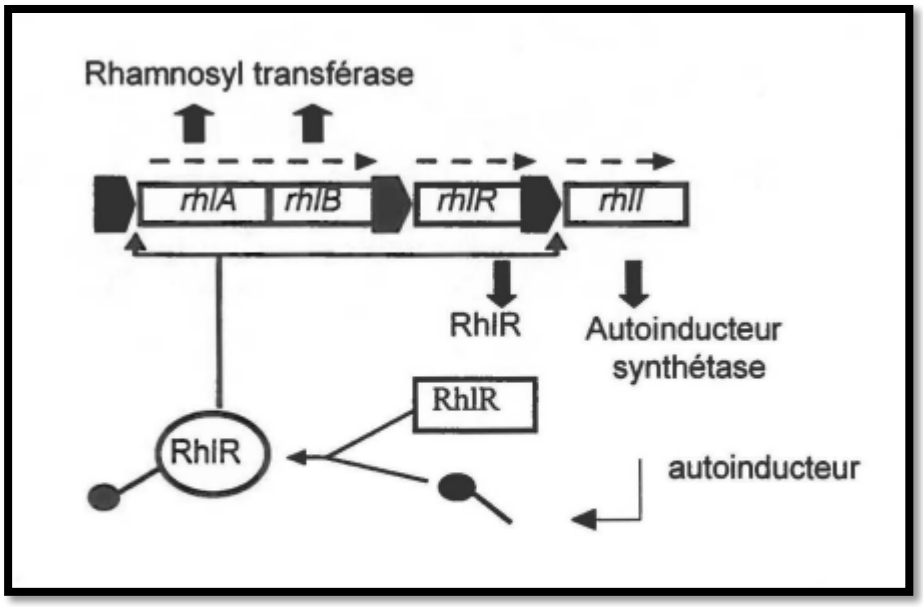


Figure 4 : Gènes *rhlABRI* (Ochsner et Reiser, 1995).

2.2. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis appartient à l'embranchement des Firmicutes, la famille des *Bacillaceae* et au genre *Bacillus*. Comme son embranchement l'indique, c'est une bactérie à Gram positif. Ces cellules sont de morphologie bacillaire, le plus souvent de forme rectiligne à bouts carrés ou arrondis. *B. subtilis* est mobile grâce à une ciliature péritriche (flagelle implanté sur toute la surface de la bactérie). C'est une bactérie aérobie ou aéro-anaérobie, elle peut se développer dans une plage de température entre 10 et 50°C.

En conditions défavorables, la cellule végétative donne naissance à une spore, résistante dans le milieu extérieur. Les formes végétatives et les spores font de *B. subtilis* une bactérie ubiquitaire.

B. subtilis est considérée comme la bactérie modèle des bactéries à Gram+ mais aussi comme l'un des organismes les plus étudiés (Sonenshein et al., 2002).

- La surfactine

B.subtilis synthétise la surfactine et les antibiotiques de nature lipopeptidique à la fin de la phase exponentielle de croissance. La surfactine est un biosurfactant de nature lipopeptidique, c'est l'un des meilleurs biosurfactants connu (Peypoux et al., 1999).

Les surfactines sont des heptapeptides cycliques reliés par une liaison ester à une chaîne d'acides gras B-hydroxylée, dont la longueur varie de 13 à 16 carbones. Sa chaine peptidique est composée d'une succession d'acides aminés suivant : Glu- Leu- D- Leu -Val- Asp- D- Leu –Leu, donnant la configuration suivante : LLDLLDL (figure 6). Les acides aminés L-Glu et L-Asp renforcent le caractère amphiphile responsable des propriétés tensioactives.

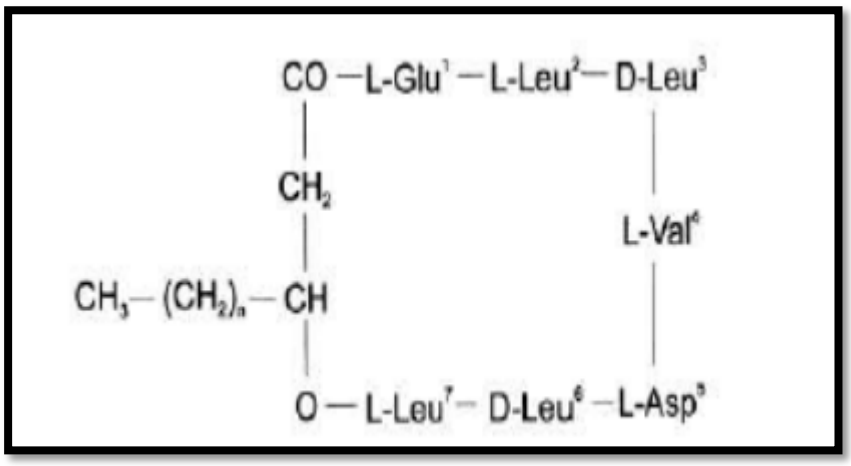


Figure 5 : Structure primaire de la surfactine SI.

- Gènes responsables de la production de la surfactine chez B*acillus subtilis*

La surfactine est produite par trois synthétases codées par *sfr A*, *B* et *C*. Ces gènes sont organisés en modules (figure 7). Chaque module est responsable de l'incorporation d'un acide aminé spécifique, ou d'un monomère dans la chaine peptidique en formation. Les gènes *sfr* codent pour sept modules permettant la production de peptide composé de sept acides aminés.

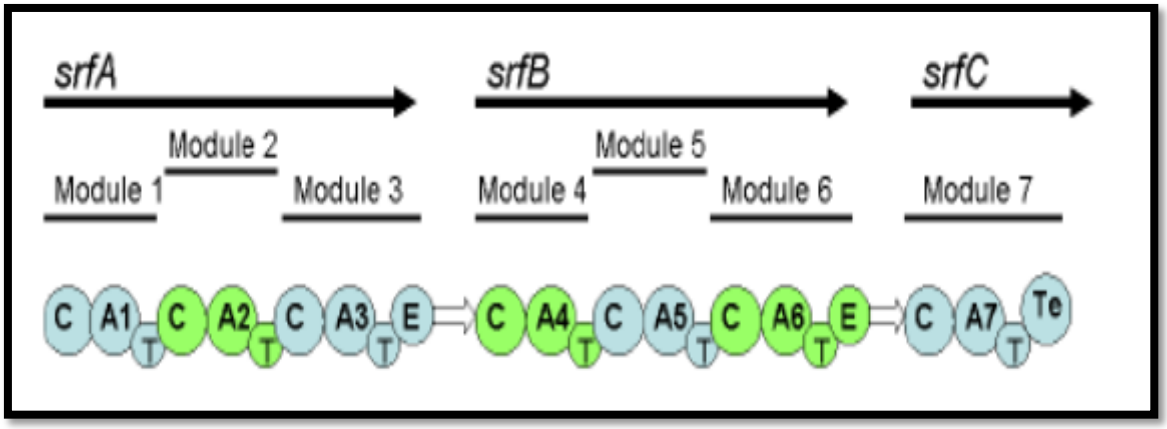


Figure 6 : Organisation du complexe multi enzymatique produisant la surfactine chez *Bacillus subtilis* (Chtioui, 2011).

3. Levures productrices de biosurfactants

Différentes espèces de levures sont décrites comme productrices de biosurfactants, comme *Yarrowia lipolytica, Rhodotorula*, et des espèces du genre *Candida*, en particulier *Candida lipolytica, Candida antarctica, Candida sphaerica et Candida bombicola* (Santos et al., 2016). Ces espèces se trouvent facilement dans la nature, et ont une valeur industrielle significative notamment, dans les domaines environnemental, alimentaire et médical (Almeida et al., 2016 ; Santos et al., 2016).

3.1. *Candida bombicola*

Spencer. (1970) a montré que la levure *Candida bombicola* est capable de produire des sophorolipides, ces derniers sont des biosurfactants amphiphiles à base de glucides constitués de sucre sophorose lié à un acide gras hydroxylé à longue chaîne (Figure 8). Il existe deux formes de sophorolipides une forme lactone et une forme acide (Figure 9).
L'analyse des séquences géniques pour les domaines D1 / D2 du gène de l'ARNr de la grande sous-unité nucléaire, permet de distinguer les espèces productrices de sophorolipides par des techniques d'amplifications par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (Kurtzman et Robnett, 1998).

La levure *Candida bombicola* est capable de produire des quantités élevées de biosurfactants sophorolipides (400 g/L). Il a été prouvé que ces glycolipides ont une activité antimicrobienne contre certaines levures (Ito et al., 1980), des champignons phytopathogènes (Yoo et al., 2005) et des bactéries (Mager et al., 1987; Lang et al., 1989). De plus, Shah et coll. (2005) ont montré une inhibition du virus VIH par les sophorolipides ainsi, Chen et al. (2006) ont prouvé que les sophorolipides ont une activité anticancéreuse.

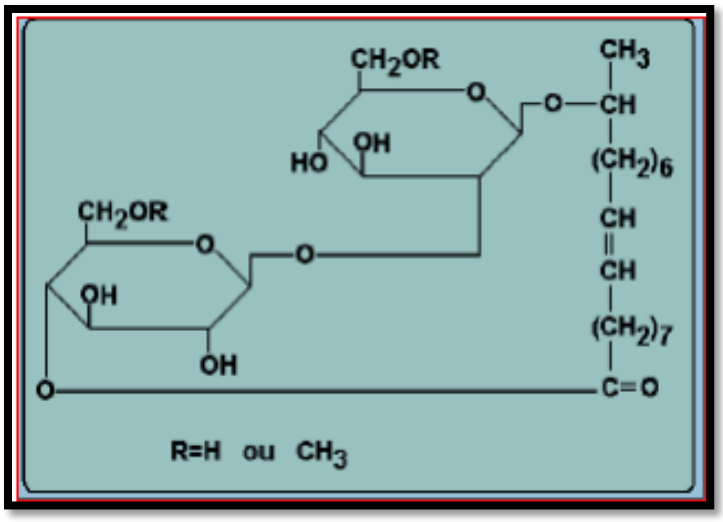


Figure 7 : Structure de base des sophorolipides produits par la levure *Candida bombicola* (Wagner et Lang, 1996).

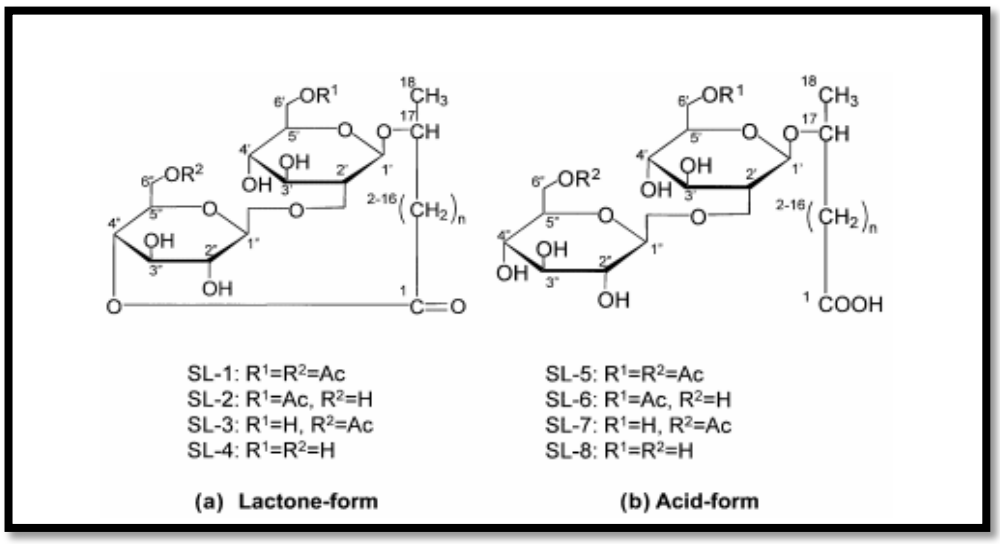


Figure 8 : Forme acide et forme lactone des sophorolipides produits par *Candida bombicola* (konishi et al., 2007).

3.2. *Trichosporon asahii*

Trichosporon asahii, est une levure isolée d'un sol contaminé par des hydrocarbures pétroliers en Inde. Une étude réalisée par Chandran et Das. (2010) a montré que dans un milieu minérale contenant l'huile diesel comme source de carbone, la levure *T.asahii* est capable de produire des biosurfactants. Elle est efficace dans la dégradation du gasoil (dégrade jusqu'à 95% du gasoil durant une période allant jusqu'à 10 jours).

L'analyse GC-MS du biosurfactant purifié a été effectuée pour élucider sa structure. La figure 10 montre le spectre de spectrometrie de masse, qui correspond à un sophorolipide diacétate lactonique avec une fraction d'acide gras C18: 1.

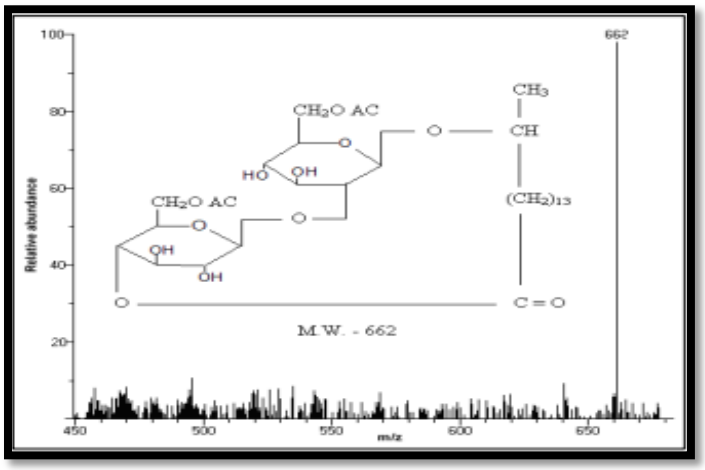


Figure 9 : Structure chimique de sophorolipide produit par *Trichosporium asahii* et son spectre MS. (Chandran et Das, 2010).

Le biosurfactant produit par *T.asahii* a montré une stabilité dans une large gamme de pH, de température et de salinité, ce qui permet son utilisation dans des conditions extrêmes de l'environnement (Chandran et Das, 2010)

4. Champignons filamenteux producteurs de biosurfactants

Les biosurfactants sont rarement produits par des champignons filamenteux, en raison de leur lente croissance. Cependant, ils ont montré un potentiel de production de biosurfactant avec des rendements plus élevés que ceux des levures (Bhardwaj et al., 2013).

Les champignons sont d'excellents producteurs de biosurfactants avec des émulsions stables. De plus, ils favorisent la dispersion de composés hydrophobes qui permet leur application dans différents secteurs.

Quelques exemples de champignons producteurs de biosurfactants sont cités dans le Tableau IV.

Tableau IV: Types de biosurfactants produits par des champignons filamenteux

Bio surfactants	Microorganismes	Références
Lipopeptide	*Penicillium chrysogenum* SNP5	(Gautam et al., 2014).
Glycolipide	*Aspergillus niger*	(Kannahietsherley, 2012).
Complexe carbohydrate proteine lipide	*Cunninghamella echinulata*	(Silva et al., 2014).
Non identifié	*Fusarium* sp.	(Qazi et al., 2014).
	Fusarium, penicillium, ettrichoderma	(Castillo-Mendez et al., 2017).
	Aspergillus spp.	(Cavalcanti et al., 2017).
	Aspergillus niger	(Silvia et al., 2015).
	Aspergillus fumigatus	(Castiglioni et al., 2009).
	Rhizopusarrhizus	(Pele et al., 2018).

4.1. *Aspergillus flavus*

Le biosurfactant nommé Uzmaq a été isolé à partir de *Aspergillus flavus*AF612.Il est composé de méthoxy phényl oxime glycosides, il possède deux formes moléculaires Uzmaq-A et Uzmaq –B (Ishaq et al., 2015). Il possède des activités antifongiques et des propriétés d'auto assemblage. Uzmaq a une meilleure activité de surface par rapport aux tensioactifs chimiques (Ishaq et al., 2015).

L'étude faite par Ishaq et al.(2015) a montré que *Aspergillus flavus* AF612 peut être utilisé pour la production commerciale d'Uzmaq. Ce dernier peut être utilisé pour les applications de libération contrôlée de médicament et la biorestauration.

5. Paramètres influençant la production

Le type et la quantité de biosurfactants produits varient avec la variation de plusieurs paramètres tels que, la composition du milieu (source de carbone ou autres nutriments) et les conditions de culture (température, agitation, pH, etc.)

- **Influence de la source de carbone**

La source de carbone est l'un des paramètres influençant le plus la production des biosurfactants, soit par induction, soit par diminution de la quantité produite. Les sources de carbone solubles dans l'eau (glycérol, glucose, mannitol ou éthanol) sont utilisées pour produire des rhamnolipides. Cependant, les rendements semblent être inférieurs à ceux obtenus sur des substrats insolubles.

- **Influence de l'azote**

De nombreuses études ont montré que la synthèse de rhamnolipides se produit lorsque l'azote est présent en quantités limitées dans le milieu. L'azote peut être apporté sous différentes formes selon le type de bactérie productrice (Lang et Wullbrandt, 1999). Cependant pour avoir un rendement de production optimal, il est donc nécessaire d'avoir un rapport Carbone/azote idéal, et surtout que l'azote soit un facteur limitant afin de favoriser la production de biosurfactant (Gabet, 2004).

- **Influence du pH**

Le pH qui est un facteur très important pour la production, c'est à dire une valeur supérieure ou inférieur à la valeur optimale influence la production. Desai et Benat. (1997) ont indiqué que pour la production de biosurfactants par la souche *Pseudomonas* spp. le pH du milieu de culture doit se situer entre 6 et 6,5.

- **Influence des sels minéraux**

Une concentration limitante en ions magnésium, calcium, potassium, sodium et éléments traces induit une augmentation de production. Par exemple, chez *Pseudomonas aeruginosa* DSM 2659 une augmentation de la production de rhamnolipides est observée en limitant l'apport en fer, en phosphate (Geurra-santos et al., 1984 ; Mulligan et al.,1989) et en magnésium (Guerra-Santos et al., 1986).

- **Influence de l'oxygène**

La disponibilité de l'oxygène peut également affecter la production à travers son effet sur l'activité cellulaire ou la croissance (Gabet, 2004).

- **Influence de la vitesse d'agitation**

Les milieux de culture sont agités lors de la production de biosurfactants. Pour les bactéries, une augmentation de la vitesse d'agitation induit une augmentation de la vitesse de cisaillement et donc un rendement moindre. L'effet inverse est observé lorsque les organismes producteurs sont des levures (Desai et Banat, 1997).

Dans ce travail de recherche bibliographique, il est question de la description des microorganismes hydrocarbonoclastes (champignons, levures et bactéries) producteurs de biosurfactants, ainsi que leur intérêt dans le domaine du traitement et la récupération des hydrocarbures contaminants.

Les microorganismes hydrocarbonoclastes dégradent les hydrocarbures en CO_2 (minéralisation) ou en composés intermédiaires moins toxiques (cométabolisme). Quelques espèces de microorganismes produisent des biosurfactants qui sont des biomolécules produites généralement au cours de leur croissance. Ces derniers grâce à leurs propriétés, ils contribuent à la dégradation des hydrocarbures en augmentant la biodisponibilité des hydrocarbures aux microorganismes hydrocarbonoclastes. Ainsi, les biosurfactants contribuent à la récupération améliorée du pétrole, qui est un domaine dans lequel il faut investir surtout en Algérie, car étant un pays producteur de pétrole et son économie est principalement basée sur l'exploitation des hydrocarbures.

En considérant les nombreux domaines d'application des biosurfactants avérés et potentiels, il serait à ce titre judicieux d'investir dans l'amélioration de leur production à l'échelle industrielle, en réduisant notamment le coût de leur production et en améliorant le rendement de production.

Abalés A., Maximo F., Manresa M.A., Bastida J. (2002). Utilization of response surface methodology to optimize the culture media for the production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* AT10. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology: International Research in Process Environmental and Clean Technology*, 77(7), 777-784.

Abbasi H., Sharafi H., Alidost L., Bodagh A., Zahiri H.S., Noghabi K.A. (2013). Response surface optimization of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* MA01 isolated from spoiled apples. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 43(4), 398-414.

Abdelly C. (2007). Bioremediation and Phytoremediation. Mémoire de fin d'étude en Sciences Naturelles. Institut Supérieur d'Agriculture. Université de Tunis-Tunisie, 32p.

Al-Araji L., Rahman R.N.Z.R.A., Basri M., Salleh A.B. (2007). Microbial surfactant. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 15(3), 99-105.

Ali Ahmed S. (2011). Essai de réhabilitation d'un sol contaminé par les hydrocarbures à l'aide de tensioactifs obtenus par voie biologique. Thèse de Doctorat en Sciences du Sol. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou-Algérie, 200p.

Almeida D.G., Soares da Silva R.C.F., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Banat I., Sarubbo L.A. (2016). Biosurfactants: promising molecules for petroleum biotechnology advances. *Frontiers in Microbiology,* 7, 17-18.

Alwakeel S.S. (2017). Molecular identification of fungi isolated from coastal regions of Red Sea, Jeddah, Saudi Arabia. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 24, 115–119.

Amézcua-Vega C., Poggi-Varaldo H.M., Esparza-García F., Ríos-Leal E., Rodríguez- Vázquez R. (2007). Effect of culture conditions on fatty acids composition of a biosurfactant produced by *Candida* in gens and changes of surface tension of culture media. *Bioresource Technology*, 98(1), 237-240.

Amiri N. (2013). Effets des hydrocarbures sur quelques propriétés du sol et essai de décontamination biologique. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou-Algérie, 45p.

Andrade Silva N.R., Luna M.A., Santiago A.L., Franco L.O., Silva G.K., De Souza P.M., Campos-Takaki G.M. (2014). Biosurfactant-and-bioemulsifier produced by a promising *Cunninghamella echinulata* isolated from caatinga soil in the northeast of Brazil. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(9), 15377-15395.

Anonyme 1. (2016): Les estimations nationales de l'exposition à la pollution de l'air et les effets sur la santé. https://www.who.int/fr/news-room/detail/27-09-2016-who-releases- country-estimates-on-air-pollution-exposure-and-health-impact. Consulté le 15/06/2020.

Anonyme 2. (2020): Indice de pollution par pays. https://fr.numbeo.com/la-pollution/classements-par-pays. Consulté le 06/07/2020.

Aparna A., Srinikethan G., Hedge S. (2011). Effet de l'addition d'un biosurfactant produit par *Pseudomonas* spp. sur la biodégradation du pétrole brut. *International Proceedings of Chemical, Biologicql qnd Environmental Engineering*, 71–75.

Arnaud P. (1983). Cours de Chimie Organique. Enseignement de la Chimie, associés dans le sol, urbain ; vers une approche globale et pluridisciplinaire. Thèse de doctorat, Institut Nationale des Sciences appliquées de Lyon-France, 203p.

Aydar A.Y., Bağdatlıoğlu N., Köseoğlu O. (2017). Effect of ultrasound on olive oil extraction and optimization of ultrasound-assisted extraction of extra virgin olive oil by response surface methodology (RSM). Grasas Y Aceites. *International Journal of Fats and Oils*, 68(2), 189-200.

Azubuike C.C., Chikere C.B., Okpokwasili G.C. (2016). Bioremediation techniques–classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11), 180-198.

Bach H., Berdichevsky Y., Gutnick D. (2003). An exocellular protein from the oil degrading microbe *Acinetobacter venetianus* RAG-1 enhances the emulsifying activity of the polymeric bioemulsifier emulsan. *Applied and Environment Microbiology*, 69, 2608–2615.

Bamforth S.M., Singleton I. (2005). Bioremédiation des hydrocarbures aromatiques polycycliques: connaissances actuelles et orientations futures. International Research in Process, Environmental and Clean Technology. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology,* 80(7),723-736.

Banat I.M., Makker R.S., Cameotra S.S. (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 495-508.

Banat I.M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M.G., Fracchia L., Marchant R. (2010). Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(2), 427-444.

Barros F.F.C., Quadros C.P., Maróstica M.R., Pastore G.M. (2007). Surfactin: chemical, technological and functional properties for food applications. *Quim. Nova*, 30, 1–14.

Basit M., Rasool M.H., Naqvi S.A.R., Waseem M., Aslam B. (2018). Biosurfactants production potential of native strains of *Bacillus cereus* and their antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31, 251–256.

Beauchamp S. (2017). La provenance des boutures influence-t-elle le rendement et les taux de phytoextraction des saules dans un sol contaminé, Mémoire de Master. Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal-Canada, 74p.

Benchouk A. (2017). Bioremédiation des sols pollués de pétrole par les microorganismes indigènes et amélioration génétique de leur pouvoir de dégradation des hydrocarbures. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem-Algérie, 135p.

Bezza F.A., Chirwa E., Nkhalambayausi N. (2016). Biosurfactant-enhanced bioremediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in creosote contaminated soil. *Chemosphere*, 144, 635 – 644.

Bhardwaj G., Cameotra S.S., Chopra H.K. (2013). Biosurfactants de champignons: un examen. *Biotechnologie pétrolière et environnementale*, 4(6), 1-6.

Boivin J.P., Ricour J. (2005). Sites et sols pollués – Outils juridiques, techniques et financiers de la remise en état des sites pollués, Editions Le Moniteur, Paris, 315 p.

Bouchez M., Blanchet D., Vandecasteele J.P. (1995). Substrate availability in phenanthrene biodegradation ; transfer mechanism and influence on metabolism. *Applied Microbiology and Biotechnology,* 43, 952-960.

Boudour A.A., Drees K.P., Maier R.M. (2003). Distribution of biosurfactant producing bacteria in undisturbed and contaminated arid southwestern soils. *Applied and Environment Microbiology*, 69(6), 3280-3287.

Bovio E., Gnavi G., PrigioneV., Spina F., Denaro R., Yakimov M., Calogero R., Crisafi F., Varese G.C. (2017). The culturable mycobiota of a Mediterranean marine site after an oil spill: Isolation, identification and potential application in bioremediation. *Science of the Total Environment*, 576, 310–318.

Brück H.L., Delvigne F., Dhulster P., Jacques P., Coutte F. (2019). Molecular strategies for adapting *Bacillus subtilis* 168 biosurfactant production to biofilm cultivation mode. *Bioresource technology*, 293-301.

Carrera P., Cosmina P., Grandi G., Guido. (1993). Method of producing surfactin with the use of mutant of *Bacillus subtilis. United State Patent*, 5, 227-294.

Castiglioni L.G., Bertolin T.E., Costa J.A. (2009). Solid-state biosurfactant production by *Aspergillus fumigatus* using agricultural residues as substrate. *Química Nova,* 32(2), 292-295.

Castillo-Méndez L., Prieto-Correra E., Jiménez-Junca C. (2017). Identification de champignons isolés de rachis de bananier et caractérisation de leur activité de surface. *Microbiologie Appliquée,* 64(3), 246-251.

Cavalcanti R.M.F., Silva D.P.D.S., Paz M.C.F., Queiroz J.C.F. (2017). Criblage, production et caractérisation de biosurfactants à partir des champignons filamenteux de Caatinga. *International Journal Pharmaceutical Science Invention*, 6(5), 23-28.

Cerniglia C.E. (1997). Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 19, 324–33.

Chandran P.R.E.E.T.H.Y., Das, N.I.L.A.N.J.A.N.A. (2010). Biosurfactant production and diesel oil degradation by yeast species Trichosporon asahii isolated from petroleum hydrocarbon contaminated soil. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 2(12), 6942-6953.

Chen S.H., Aitken M.D. (1999). Salicylate stimulates the degradation of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas saccharophila* P15. *Environmental Science and Technology*, 33(3), 435-439.

Chen J., Song X., Zhang H., Qu Y.B., Miao J.Y. (2006). Production, structure elucidation and anticancer properties of sophorolipid from *Wickerhamiella domercqiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 501–506.

Chrzanowski L., Owsianiak M., Szulc A., Marecik R., Piotrowska-Cyplik A., Olejnik- Schmidt A.K., Staniewski J., Lisiecki P., Ciesielczyk F., Jesionowski T. (2011). Interactions between rhamnolipid biosurfactants and toxic chlorinated phenols enhance biodegradation of a model hydrocarbon-rich effluent. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65, 605–611.

Chtioui O. (2011). Production sélective de lipopeptides par *Bacillus subtilis* en bioréacteur à disques tournants. Thèse de Doctorat en ingénierie des fonctions Biologiques. Université Lille 1-France, 188p.

Cilin F. (2000). Pollution localisée des sols et des sous –sols par les hydrocarbures climatic regions. *Bioremediation Biodegradation*. 1, 1–11.

Colombano A., Saada V., Guerin P., Bataillard G., Bellenfant S., Beranger D., Hube C. (2010). Contenus dans un sol industriel pollué. Thèse de doctorat. Ecole doctorale en chimie de Lyon-France, 209p.

Cordier T. (2012). Structure des assemblages fongiques de la phyllosphère des arbres forestiers et effet potentiel du changement climatique. Thèse de Doctorat en Ecologie évolutive, fonctionnelle et des communautés. Université Bordeaux-France, 308p.

Costes J.M., Druelle V. (1997). Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement: la réhabilitation des anciens sites industriels. *Revue de l'institut français du Pétrole*, 52(4), 425-440.

Daryasafar A., Jamialahmadi M., Moghaddam M.B., Moslemi B. (2016). Using biosurfactant producing bacteria isolated from an Iranian oil feld for application in microbial enhanced oil recovery. *Petrolium Science and Technology*, 34, 739–746.

Das P., Mukherjee S., Sen R. (2008). Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1675–1684.

Dash H.R., Mangwani N., Chakraborty J., Kumari S., Das S. (2013). Marine bacteria: potential candidates for enhanced bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 561-571.

Delage P., Schrefler B. (2005). Géomécanique environnementale : sols pollués et déchets. 1ère édition. Lavoisier. Paris, 249 p.

Deppe U., Richnow H.H., Michaelis W., Antranikian G. (2005). Degradation of crude oil by an arctic microbial consortium. *Extremophiles*, 9, 461-470.

Desai J.D., Banat I.M. (1997). Microbial Production of surfactants And Their Commercial Potential. *Microbiology and Molecular Biology*, 61, 47-64.

Dubey K., Juwarkar A. (2004). Determination of genetic basis for biosurfactant production in distillery and curd whey wastes utilizing *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2. *Indian Journal of Biotechnology*, 3, 74–81.

Dubey K., Juwarkar A., Singh S.K. (2005). Adsorption-desorption process using wood-based activated carbon for recovery of biosurfactant from fermented distillery wastewater. *Biotechnology Progress,* 21, 860–867.

Dupuis A., Ucán-Marin F. (2015). A literature review on the aquatic toxicology of petroleum oil: An overview of oil properties and effects to aquatic biota. *Canadian Science Advisory Secretariat*, 1-57.

Epa (2019). Technology performance review: Selecting and using solidification/stabilization treatment for site remediation. *United States Environmental Protection Agency*, 148p.

Farooq Z., Rehman S., Abid M. (2013). Application of response surface methodology to optimize composite flour for the production and enhanced storability of leavened flat bread (Naan). *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 939-945.

Fatalle P. (2008). Pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse Universitaire de Rennes. France, 395p.

Fooladi T., Abdeshahian P., Moazami N., Soudi M.R., Kadier A., Yusoff W.M.W., Hamid A.A. (2018). Enhanced biosurfactant production by *Bacillus pumilus* 2IR in fed-batch fermentation using 5-L bioreactor. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 42(3), 1111-1123.

França Í.W.L., Lima A. P., Lemos J.A.M., Lemos C.G.F., Melo V.M.M., Sant'ana H.B., Gonçalves L.R.B. (2015). Production of a biosurfactant by *Bacillus subtilis* ICA56 aiming bioremediation of impacted soils. *Catalysis Today*, 255, 10–15.

Franzetti A., Caredda P., Ruggeri C., La Colla P., Tamburini E., Papacchini M., Bestetti G. (2009). Applications potentielles de composés tensioactifs par *Gordonia* sp. Souche BS29 dans les technologies d'assainissement des sols. *Chemosphère*, 75, 810–817.

Franzetti L., Scarpellini M. (2007). Characterisation of *Pseudomonas* spp. Isolated from foods. *Annals of Microbiology*, 57, 39-47.

Gabet S. (2004). Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse se doctorat en chimie et microbiologie de l'eau. Université de Limoges-France, 177p.

Garzoli L., Gnavi G., Poli A.P.V., Varese G.C. (2015). Marine Fungi in the Mediterranean Sea–hidden Biodiversity and Taxonomical Challenges. *Second International Workshop on Ascomycete Systematics*, 24p.

Gautam G., Mishra V., Verma P., Pandey A.K. (2014). Une stratégie rentable pour la production de biosurfactant à partir de *Penicillium chrysogenum* SNP5 isolé localement et ses applications. *Journal of Bioprocessing and Biotechnics*, 4(6), 1-7.

Gautam K.K., Tyagi V.K. (2006). Microbial Surfactants: A review. *Journal of Oleo Science,* 55(4), 155–166.

Gesamp. (1993). Joint group of Expert son the scientific apects of Marin pollution. Impact of oïl and Relatedchemical. On the marine Environnement. Repport and studies n° 50.IMO. London, 180p.

Ghomi A.M., Fazaelipoor M.H., Jafari S.A., Ataei S.A. (2012). Comparison between batch and fed-batch production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10(4), 263-269.

Gimello R. (1998). Guidance document for the remediation of contaminated soils, Part VI: Remedial action 2, Soil treatment technologies for contaminated soils. New Jersey Department of Environmental Protection, January, 163p.

Godfrin M.P., Sihlabela M., Bose A., Tripathi A. (2018). Behavior of marine bacteria in clean environment and oil spill conditions. *Langmuir*, 34, 9047–9053.

Gruyer N., Groleau P., Ouellet A., Dupont R. (2015). Hydrocarbures pétroliers : caractéristiques, devenir et criminalistique environnementale – Études GENV222 et GENV23, Évaluation environnementale stratégique globale sur les hydrocarbures. Centre d'expertise analyse environnementale du Québec, 55p.

Guerra-Santos L., Cappeili O., Fiechter A. (1986). Dependence of *Pseudomonas aeruginosa* continuous culture biosurfactant production on nutritionnal and environnemental factors. *Applied of Microbiology and Biotechnology*, 24, 443-448.

Guerra-santos L., Kappeli O., Fiechter A. (1984). *Pseudomonas aeruginosa* biosurfactant production in continuous culture with glucose as carbon source. *Applied and environmental microbiology*, 48(2), 301-305.

Haloi S., Medhi T. (2019). Optimization and characterization of a glycolipid produced by *Achromobacter* sp. to use in petroleum industries. *Journal of basic microbiology*, 59(3), 238-248.

Haritash A.K., Kaushik C.P. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Journal Hazardous Materials,* 169, 1–15.

Hatha A.A.M., Edward G., Rahman K.S.M.P. (2007). Microbial biosurfactants-review. Journal Mar Atmos Res, 3, 1–17.

Hathout Y., Ho Y.P., Ryzhov V., Demirev P., Fenselau C. (2000). Kurstakins: a new class of Lipopeptides isolated from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Natural Products*, 63(11), 1492-1496.

Haritash A.K., Kaushik C.P. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Journal Hazardous Materiels*, 169, 1–15.

Head I.M., Jones D.M., Röling W.F. (2006). Marine microorganisms make a meal of oil. *Nature Reviews Microbiology*, 4(3), 173-182.

Helmy Q., Kardena E., Funamizu N., Wisjnuprapto W. (2011). Strategies toward commercial scale of biosurfactant production as potential substitute for it's chemically counterparts. *International Journal of Biotechnology*, 12, 66–86.

Hénault-Ethier L. (2016). Phytoremédiation : des avantages certains. David Suzuki Fondation and Université Laval-Québec, Canada, 6p.

Hewald S., Josephs K., Bölker M. (2005). Genetic analysis of biosurfactant production in *Ustilago maydis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6), 3033-3040.

Hisatsuka K., Nakahara T., Sano N., Yamada K. (1971). Formation of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* and its function in hydrocarbon fermentation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 35(5), 686-692.

Holmberg K. (2001). Natural surfactants. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 6, 148-159.

Huchon R. (2006). Evaluation de l'activité photocatalytique de catalyseurs déposés sur différents supports ("médias")-Application à la conception d'un photoréacteur pilote. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard de Lyon 1-France, 230p.

In der Wiesche C., Martens R., Zadrazil F. (2003). The effect of interaction between white-rot fungi and indigenous microorganisms on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Water Air Soil Pollution*, 3, 73–79.

Iqbal S., Khalid Z.M., Malik K.A. (1995). Enhanced biodegradation and emulsification of crude oil and hyperproduction of biosurfactants by a gamma ray-induced mutant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Letters in Applied Microbiology*, *21*(3), 176-179.

Ishaq U., Akram M.S., Iqbal Z., Rafiq M., Akrem A., Nadeem M., Baig M.A. (2015). Production and characterization of novel self-assembling biosurfactants from *Aspergillus flavus*. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 1035-1045.

Ito S., Kinta M., Inoue S. (1980). Growth of yeasts on normal alkanes – inhibition by a lactonic sophorolipid produced by *Torulopsis bombicola*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 44, 2221–2223.

Ivshina I., Kostina L., Krivoruchko A., Kuyukina M., Peshkur T., Anderson P., Cunningham C. (2016). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil spiked with model mixtures of petroleum hydrocarbons and heterocycles using biosurfactants from *Rhodococcus ruber* IEGM 231. *Journal Hazardous Material*, 312, 8–17.

Jadhav J.V., Pratap A.P., Kale S.B. (2019). Evaluation of sunflower oil refinery waste as feedstock for production of sophorolipid. *Process Biochemistry*, *78*, 15-24.

Jarvis F.G., Johnson M.J. (1949). A glycolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal de l'American Chemical Society*, 71(12), 4124-4126.

Jones E.B.G., Sakayaroj J., Suetrong S., Somrithipol S., Pang K.L. (2009). Classification of marine *Ascomycota*, anamorphic taxa and *Basidiomycota. Fungal Diversity*, *35*, 1–187.

Jouanin F. (2004). Etude de la mobilité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) contenus dans un sol industriel pollué. Thèse de Doctorat en Sciences et Techniques du déchet. Ecole Doctorale de Lyon-France, 165p.

Kannahi M., Sherley M. (2012). Production de biosurfactants par *Pseudomonas putida* et *Aspergillus Níger* à partir d'un site contaminé par l'huile. *International Journal Chemical and Pharmaceutical Sciences,* 3(4), 37-43.

Kappeli O., Finnerty W.R. (1979). Partition of alkane by an extracellular vesicle derived from hexadecane-grown *Acinetobacter*. *Journal of Bacteriology,* 140, 707–712.

Karanth N.G.K., Deo P.G., Veenanadig N.K. (1999). Microbial production of biosurfactants and their importance. *Current Science*, 116-126.

Kaur G., Wang H., To M.H., Roelants S.L., Soetaert W., Lin C.S.K. (2019). Efficient sophorolipids production using food waste. *Journal of Cleaner Production*, 232, 1-11.

Kelley I., Freeman J.P., Evans F.E., Cerniglia C.E. (1990). Identification of metabolites from degradation of naphthalene by *Mycobacterium* sp. *Biodegradation*, 1, 283–290.

Khelil F., Matallah-Boutiba A., Chemlal-Kherraz D., Boothbay Z. (2014). Characterization of hydrocarbonoclastes bacteria isolated from marine waters west Algeria: Evolution analysis in presence of crude oil. *Journal of Current Research in Scientific Medecine*, 2, 557–563.

Kiran G.S., Priyadharsini S., Sajayan A., Priyadharsini G.B., Poulose N., Selvin J. (2017). Production of lipopeptide biosurfactant by a marine *Nesterenkonia* sp. and its application in food industry. *Frontiers in Microbiology*, 8, 11-23.

Koç B., Kaymak-Ertekin F. (2009). Response surface methodology and food processing applications. *Gıda*, 7, 1-8.

Koch A.K., Käppeli O., Fiechter A., Reiser J. (1991). Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants. *Journal of Bacteriology*, 173(13), 4212-4219.

Koller E. (2004). Traitement des pollutions industrielles (eau, air ; déchet, sol, boues). 1ère Edition Dunod. Paris. 424p.

Koller E. (2009). Traitement des pollutions industrielles (eau, Air, déchets, sols, Boues). 2 ème édition Dunod, Paris. 576p.

Komagata K., Nakase T. Katsuya, N. (1964). Assimilation of hydrocarbons by yeasts: Preliminary screening. *Journal of General and Applied Microbiology*, 10, 313-321.

Konishi M., Morita T., Fukuoka T., Imura T., Kakugawa K., Kitamota D. (2007). Production of differente types of mannosylerythriol lipids as biosurfactants by the newly isolated yeast strains belonging to the genus *pseudozyma. Applied Microbiology and Biotechnology,* 75, 521- 531.

Konoshi M., Fukuoka T., Morita T., Imura T., Kitamoto D. (2008). Production of new types of sophorolipids by *Candida batistae*. *Journal of Oleo Science*, 57, 359–369.

Krishnaswamy M., Subbuchettiar G., Ravi T.K., Panchaksharam S. (2008). Biosurfactants properties, commercial production and application. *Current Science* 94, 736-747.

Kuony S. (2002). Caracterisation d'arène dioxygenases impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures aromatiques Polycycliques chez *Mycobacterium* sp. Thèse de Doctorat. Université Joseph Fourier de Grenoble-France, 273p.

Kurtzman C.P. (2011). Discussion of Teleomorphic and Anamorphic Ascomycetous Yeasts and Yeast-like Taxa. In: C.P. Kurtzman., J.W. Fell., T. Boekhout (Eds), The Yeasts, a Taxonomic Study. *Elsevier*, London, 304p.

Kurtzman C.P., Robnett C.J. (1998). Identification et phylogénie des levures Ascomycètes à partir de l'analyse des séquences partielles d'ADN ribosomique des grandes sous-unités nucléaires (26S). *Antonie van Leeuwenhoek,* 73, 331-371.

Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Philp J.C., Christofi N., Dunbar S.A., Ritchkova M.I. (2001). Recovery of *Rhodococcus* biosurfactants using methyl tertiary-butyl ether extraction. *Journal of Microbiological Methods*, 46(2), 149-156.

Lang S. (2002). Biological amphiphiles (microbial biosurfactants). *Current Opinion in Colloid and Interface Science,* 7, 12–20.

Lang S., Katsiwela E., Wagner F. (1989). Antimicrobial effects of biosurfactants. *Fat Science Technology*, 91, 363–366.

Lang S., Wullbrandt D. (1999). Rhamnose lipids biosynthesis-Microbial production and application potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51, 22-32.

Laurence A. (2012). Analyse des hydrocarbures dans des sédiments superficiels de zones côtières Méditerranéennes (Golfe de Fos, Rade de Marseille et Massif des Calanques). Thèse de Doctorat en Chimie Analytique. Université d'Aix-Marseille-France, 175p.

Lazar I., Petrisor I.G., Yen T.E. (2007). Microbial récupération du pétrole (MEOR). *Potroleum Science and Technology*, 25(11-12), 1353-1366.

Leahy J.G., Colwell R.R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol Review,* 54, 305–315.

Lecomte P. (1998). Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines 2ème édition Lavoisier TEC & DOC. 204p.

Li Z.Y., Lang S., Wagner F., Witte L., Wray V. (1984). Formation and identification of interfacial-active glycolipids from resting microbial cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(3), 610-617.

Liebeg E.W., Cutright T.J. (1999). The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macron nutrients in a PAH contaminated soil *International Biodeterioration and Biodegradation,* 44, 55-64.

Lima de França W.L., Lima A.P., Lemos J.A.M., Lemos C.G.F., Melo V.M.M., de Sant'ana, H.B., Gonçalves L.R.B. (2015). Production of a biosurfactant by *Bacillus subtilis* ICA56 aiming bioremediation of impacted soils. *Catalysis Today*, 255*,* 10-15.

Lin S.C., Goursaud J.C., Kramer P.J., Georgiou G., Sharma M.M. (1990). Production of biosurfactants by *Bacillus licheniformis* strain JF-2. *Microbial enhancement of oil recovery-recent advances. Elsevier Science Publisher*, 219-226.

Maamar A., Lucchesi M.E., Debaets S., Nguyen van Long N., Quemener M., Coton E., Matallah-Boutiba A. (2020). Highlighting the Crude Oil Bioremediation Potential of Marine Fungi Isolated from the Port of Oran (Algeria). *Diversity*, 12(5), 196.

Madsen E.L. (1991). Environment Science and Technology: Determining *in situ* biodegradation. Facts and challenges. *Environmental Science and Technology,* 25(10), 1663-1673.

Mager H., Rothlisberger R., Wagner F. (1987). Use of sophorose-lipid lactone for the treatment of dandruffs and body odor. *European Patent Office*, 209-383.

Makkar R.S., Rockne K.J. (2003). Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, 2280-2292.

Marchant R., Banat I.M. (2012). Biosurfactants: A sustainable replacement for chemical surfactants. *Biotechnology Letters*, 34, 1597–1605.

Marin R.H., Freytes P., Guzman D., Jones R.B. (2001). Effects of an acute stressor on fear and on the social reinstatement responses of domestic chicks to cagemates and strangers. *Applied Animal Behaviour Science*, 71, 57–66.

Martinelli, I. (1999). Infiltration des eaux de ruissellement pluvial et transfert de polluants associés dans un sol urbain: vers une approche globale et pluridisciplinaire. Thèse de Doctorat en Conception Batiment et Téchniques Urbaines. Institut National Des Sciences Appliquées de Lyon-France, 190p.

Matsufuji M., Nakata K., Yoshimoto A. (1997). High production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* growing on Ethanol. *Biotechnology Letters*, 19(12), 1213–1215.

Mazziotti M. (2017). Impacte des exsudats raciniaire de miscanthus X giganteux sur les medicine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 57, 609–618.

Mbogne Fokou P. (2017). Bioremédiation augmentée de sol contaminé aux hydrocarbures lourds par ajout de substrats organiques. Mémoire en Génie de l'environnement. École de technologie supérieure du Quebéc-Canada, 79p.

Militon C. (2007). Caractérisation des communautés procaryotiques impliquées dans la bioremédiation d'un sol pollué par des hydrocarbures et développement d'outils d'analyse à haut débit. Thèse de Doctorat en Génomique et Ecologie Microbienne. Ecole Doctorale des Sciences de la vie et de la santé. Université Blaise Pascal, 163p.

Mnif S., Chamkha M., Labat M., Sayadi S. (2011). Simultaneous hydrocarbon biodegradation and biosurfactant production by oil field-selected bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 111(3), 525-536.

Mnif I., Ghribi D. (2016). Glycolipid biosurfactants: Main properties and potential applications in agriculture and food industry. *Journal of the Science of the Food and Agriculture*, 96, 4310–4320.

Monteiro S.A., Sassaki G.L., De Souza L.M., Meira J.A., De Araújo J.M., Mitchell D.A., Krieger N. (2007). Molecular and structural characterization of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* DAUPE 614. *Chemistry and Physics of Lipids*, 147(1), 1-13.

Mukherjee S., Das P. (2010). Microbial surfactants and their potential applications: an overview. *Springer*, 54-64.

Mulligan C.N., Gibbs B.F. (1989). Correlation of nitrogen metabolism with biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(11), 3016-3019.

Mulligan C.N., Chow T.Y.K., Gibbs B.F. (1989). Enhanced biosurfactant production by a mutant *Bacillus subtilis* strain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 31(5-6), 486-489.

Mulligan C.N. (2005). Environmental applications for biosurfactants. *Environmental Pollution*, 133, 183-198.

Mulligan C.N., Gibbs B.F. (1990). Recovery of biosurfactants by ultrafiltration. *Journal Chemical Technology and Biotechnology*, 47, 23–29.

Ndlovu T., Rautenbach M., Vosloo J.A., Sehaam K., Wessal K. (2017). Characterisation and antimicrobial activity of biosurfactant extracts produced by *Bacillus amyloliquefaciens* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a wastewater treatment plant. *AMB Express,* 1-19.

Neff J.M., Ostazeski S., Gardiner W., Stejskal I. (2000). Effects of weathering on the toxicity of three offshore Australian crude oils and a diesel fuel to marine animals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(7), 1809-1821.

Neilson A H ., Allard A . (2008). Environmental degradation and transformation of Chemistry Organic Pollutants. *CRC Press*. Florida USA. 692p.

Neindre B.L. (1993). Tensions superficielles et interfaces : Traités constantes physico-chimiques. *Techniques de l'ingénieur*, 2-12.

Nikitha T., Satyaprakash M., Vani S.S., Sadhana B., Padal S.B. (2017). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: their transport, fate and biodegradation in the environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 1627-1639.

Nitschke M., Pastore G. (2006) Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater. *Bioresource Technology*, 97, 336–341.

Nitschke M., Pastore G.M. (2004). Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* using cassava-processing effluent. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 112(3), 163-172.

Noah K.S., Fox S.L., Bruhn D.F., Thompson D.N., Bala G.A. (2002). Development of continuous surfactin production from potato process effluent by *Bacillus subtilis* in an airlift reactor. In *Biotechnology for Fuels and Chemicals,* 803-813.

Ochsner U.A., Fiechter A., Reiser J. (1994b). Isolement, caractérisation et expression chez Escherichia coli des gènes de *Pseudomonas aeruginosa* rhlAB codant pour une rhamnosyltransférase impliquée dans la synthèse de biosurfactants rhamnolipides. *Journal of Biological Chemistry,* 269(31), 19787-19795.

Ochsner U.A., Hembach T., Fiechter A. (1995c). Production de biosurfactants rhamnolipides. Dans le traitement en aval des biosurfactants caroténoïdes. *Springer*, 89-118.

Ochsner U.A., Koch A.K., Fiechter A., Reiser J. (1994a). Isolation and characterization of a regulatory gene affecting rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 176(7), 2044-2054.

Ochsner U.A., Reiser J. (1995a). Autoinducer-mediated regulation of rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(14), 6424-6428.

Ochsner U.A., Reiser J., Fiechter A., Witholt B. (1995b). Production of *Pseudomonas aeruginosa* Rhamnolipid Biosurfactants in Heterologous Hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(9), 3503-3506.

Ohno A., Ano T., Shoda M. (1995). Production of a lipopeptide antibiotic, surfactin, by recombinant *Bacillus subtilis* in solid-state fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 47(2), 209-214.

Okere U.V., Semple K.T. (2012). Biodégradation des HAP dans les sols «vierges» de différentes régions climatiques. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 1(2).

Oliveira V., Gomes N.C., Almeida A., Silva A.M., Silva H., Cunha A. (2015). Microbe- assisted phytoremediation of hydrocarbons in estuarine environments. *Microbial Ecology,* 69, 1-12

Onlamool T., Saimmai A., Meeboon N., Maneerat S. (2020). Enhancement of glycolipid production by *Stenotrophomonas acidaminiphila* TW3 cultivated in low cost substrate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1-13.

Origo N., Wicherek S., Hotyat M. (2012). Réhabilitation des sites pollués par phytoremédiation. *La revue Electronique en Sciences de L'environnement*, 12(2).

Pagotto C. (1999). Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier. Thèse de Doctorat en Chimie et Microbiologie de l'eau. Université de Poitiers-France, 260p.

Palanisamy P. (2008). Biosurfactant mediated synthesis of NiO nanorods. *Materials Letters*, 62, 743–746.

Patel J., Borgohain S., Kumar M., Rangarajan V., Somasundaran P., Sen R. (2015). Recent developments in microbial enhanced oil recovery. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 1539– 1558.

Patil J.R., Chopade B.A. (2001). Studies on bioemulsifier production by *Acinetobacter* strains isolated from healthy human skin. *Journal Applied Microbiology*, 91, 290–298.

Pattanath K.M., Rahman K.S., Gakpe E. (2008). Production, characterization and applications of biosurfactants-Review. *Biotechnology*, 7, 360–370.

Pekin G., Vardar-Sukan F., Kosaric N. (2005). Production of sophorolipids from *Candida bombicola* ATCC 22214 using Turkish corn oil and honey. *Engineering in Life Sciences*, 5(4), 357-362.

Pele M.A., Mpntero-Rodriguez D., Ribeaux D.R., Souza A.F., Luna M.A.C., Santiago M.F., Andrade R.F.S., Silva T.A.L., Santiago A.L.C.M.A., Campos-Takak G.M. (2018). Développement et amélioration des marqueurs sélectionnés pour la production de biosurfactants et de bioémulsifiants par des souches de *Rhizopus* isolées du sol de Caatinga. *Journal Africain de Biotechnologie*, 17(6), 150-157.

Pelmont J. (1995). Bacteries et environnement adaptation biologique. 1ère édition. Collection Gronoble Science. France, 875p.

Perchet G.O. (2008). Étude de bioremédiation de sédiments contamines par des composés organiques nitres persistants. Thèse de doctorat en Sciences des Agroressources. Institut National Polytechnique de Toulouse-France, 215p.

Peypoux F., Bonmatin J.M., Wallach J. (1999). Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Applied Microbiolgy and Biotechnology*, 51, 553-563.

Piljac T., Piljac G. (1999). Use of rhamnolipids in wound healing, treating burn shock, atherosclerosis, organ transplants, depression, schizophrenia and cosmetics. *Office European des Brevets*, 1-9.

Pimsee P. (2014). Etude du comportement des hydrocarbures aromatiques polycycliques lors du déversement accidentel d'hydrocarbures en eaux continentales. Thèse de Doctorat en Sciences des Agroressources. Institut National Polytechnique de Toulouse-France, 146p.

Prabhu Y., Phale P. (2003). SB PP2 Novel Metabolic Pathway, Role Of Biosurfactant And Cell Surface Hydrophobicity In Hydrocarbon Assimilation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 342-351.

Prakash Maran J., Mekala V., Manikandan S. (2013). Modeling and optimization of ultrasound assisted extraction of polysaccharide from *Cucurbita moschata*. *Carbohydrate Polymers*, 92, 2018-2026.

Prince R.C., Walters C.C. (2007). Biodegradation of Oil Hydrocarbons and its Implications for Source Identification. *Standard Handbook Oil Spill Environmental Forensics*, 869-916.

Qazi M.A., Kanwa T., Jadoon M., Ahmed S., Fatima N. (2014). Isolement et caractérisation d'un *Fusarium* sp. BS-8 provenant d'un sol contaminé par l'huile. *Biotechnology Progress*, 30(5), 1065-1075.

Reddy A.S., Chen C.Y., Baker S.C., Chen C.C., Jean J.S., Fan C.W., Chen H.R., Wang J.C. (2009). Synthesis of silver nanoparticles using surfactin: A biosurfactant stabilizing agent. *Materials Letters*. 63, 1227–1230.

Redecker D. (2002). New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. *Research in Microbiology*. 153, 125-130.

Refinery N.P., Braimah M.N. (2016). Utilization of response surface methodology (RSM) in the optimization of crude oil refinery process, new Port-Harcourt Refinery, *Nigeria Journal of Engineering Science and Technology*, 3, 4361-4369.

Resende A.H.M., Farias J.M., Silva D.D., Rufino R.D., Luna J.M., Stamford T.C.M., Sarubbo L.A. (2019). Application of biosurfactants and chitosan in toothpaste formulation. *Colloids and Surfaces Biointerfaces*, 181, 77-84.

Reski-Bekki M.A. (2014). Production de métabolites par les levures: caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse de Doctorat en Biotechnologie. Université d'Oran-Algérie, 155p.

Rincón-Fontán M., Rodríguez-López L., Vecino X., Cruz J.M., Moldes A.B. (2019). Study of the synergic effect between mica and biosurfactant to stabilize Pickering emulsions containing Vitamin E using a triangular design. *Journal of Colloid and Interface Science*, 537, 34-42.

Robert M., Mercad M.E., Bosch M.P., Parra J.L., Espuny M.J., Manresa M.A., Guinea J. (1989). Effect of the carbon source on biosurfactant production by rocks and sediments and its application to enhanced oil recovery. *Geomicrobiology Journal,* 4, 313-327.

Rocha R.D., Meira H.M., Almeida D.G., Rufino R.D. (2018). Application of a low-cost biosurfactant in heavy metal remediation processes. *Biodegradation*, 29, 1–19.

Rodrigues L., Banat I.M., Teixeira J., Oliveira R. (2006). Biosurfactants: potential applications in medicine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(4), 609-618.

Rodriguez L., Rincon-Fontan M., Vecino X., Moldes A.B. (2019). Biodegradability study of the biosurfactant contained in a crude extract from corn steep water. *Journal Surfactants Detergents*, 23, 79–90.

Roger P., Vencent J . (2000). Introduction à la bioremediation du sol, des eaux et de l'air. Institut de Recherche pour le développement IRD. Université de provence Aixmarseille-France, 1, 99p.

Roling W.F., de Brito Couto I.R., Swannell R.P., Head I.M. (2004). Response of Archaeal communities in beach sediments to spilled oil and bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 2614-2620.

Rosenberg E., Ron E.Z. (1999). High- and low-molecular-mass microbial surfactants. *Applied Microbiological Biotechnology,* 52, 154–162.

Rosenberg E., Rubinovitz C., Legmann R., Ron E.Z. (1988). Purification and chemical properties of *Acinetobacter calcoaceticus* A2 biodispersan. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(2), 323-326.

Rouidi S. (2014). Évaluation de la contamination par les hydrocarbures des sédiments superficiels (fluviaux et marins) de la région de Skikda (nord-est algérien). Analyses statistiques. Thèse de Doctorat. Université Aix-Marseille-France, 200p.

Sabatini D.A., Knox R.C., Harwell J.H., Wu B. (2000). Integrated design of surfactant enhanced DNAPL remediation: Efficient super solubilization and gradient systems. *Journal Contaminant Hydrology*, 45, 99–121.

Sadaba R.B., Sarinas B.G.S. (2010). Fungal communities in bunker Coil-impacted sites off southern Guimaras, Philippines: A post-spill assessment of Solar 1 oil spill. *Botanica Marina:* 53, 565–575.

Şahin S., Samli R., Tan A.S., Barba F.J., Chemat F., Cravotto G., Lorenzo J.M. (2017). Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves: Antioxidant and antimicrobial properties. *Molecules*, 7, 1054-1067.

Samsu Z.A., Yusof Z., Awang M.S., Noh N.M., Yahya A.M.R. (2014). The fed-batch production of valuable biosurfactant, rhamnolipid, from waste cooking oil by indigenously isolate *Pseudomonas aeruginosa* USM-AR2. *Advences in Environmental Biology*, 8, 33–38.

Santos D., Rufino R., Luna J., Santos V., Sarubbo L. (2016). Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of the 21st Century. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3), 401.

Scow K.M. (2003). Rate of biodegradation, Handbook of Chemical Property Estimation Methods : Environmental behavior of organic compounds. McGraw-Hill éducation. New York.

Shah V., Doncel G.F., Seyoum T., Eaton K.M., Zalenskaya I., Hagver R., Azim A., Gross R. (2005). Sophorolipids, microbial glycolipids with anti-human immunodeficiency virus and sperm-immobilizing activities. *Antimicrobial Agents*, 49, 4093–4100.

Silva G.K.B., Negreiros J.M., Silva N.R.A., Silva T.A.L.E., Barbosa., Oliveira N.T., Okada

«K., Campos-Takaki. (2015). Caractérisation *d'Aspergillus niger* isolé du sol de Caatinga avec un potentiel de production de biosurfactants. Applications industrielles, médicales et environnementales des micro-organismes État actuel et tendances .Madrid.

Silva N.R.A., Luna M.A., Santiago A.L., Franco L.O., Silva G.K., De souza P.M., Okada K., Albuquerque C.D., Da silva C.A., Campos-takaki. (2014). Biosurfactant et bioémulsifiant GM produit par une *Cunninghamella echinulata* prometteuse isolée du sol de Caatinga dans le nord-est du Brésil. *Journal International des Sciences Moléculaires,* 15(9), 15377-15395.

Singh A.K., Sharma P. (2020). Disinfectant-like activity of lipopeptide biosurfactant produced by *Bacillus tequilensis* strain SDS21. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 185-194.

Singh A., Van Hanne J.D., Ward O.P. (2007). Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. *Biotechnolgy Advences*, 25, 99-121.

Smyth T.J.P., Perfumo A., Marchant R., Banat I.M. (2009). Isolation and analysis of low molecular weight microbial glycolipids. *Springer,* 3706-3721.

Soltani M. (2004). Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram-négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de Doctorat en Chimie Analytique. Université Paris 6-France, 277p.

Sonenshein A.L., Losick J.A. (2002). *Bacillus subtilis* and other Gram positive bacterial. Biochemistry, physiology and molecular genetic. *American Society for Microbiology*. Washington, 987p.

Sourzat M. (2015). Evaluation d'un procédé de dépollution des sols contaminés par du plomb, à l'aide de plantes ornementales associées à des microorganismes: Approche de la phytoremédiation. Mémoire en Biologie et technologie du végétal. Université de Renne-France, 116p.

Spencer J.F.T., Gorin P.A.J., Tulloch A.P. (1970). *Torulopsis bombicola* sp. n. *Antonie van Leeuwenhoek,* 36, 129–133.

Steliga T. (2012). Role of Fungi in Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Drill Waste Polish. *Journal of Environmental Studies,* 21, 471–479.

Straube W.L.N., Hansen C.C., Ringleberg L.D., Pritchard P.H., Jones-Meehan J. (2003). Remediation of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) through landfarminig with biostimulation and bioaugmetation. *Acta Biotechnology*, 23, 179-196.

Sutherland J.B., Rafii F., Khan A.A., Cerniglia C.E. (1995). Mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation, *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals*, 269–306.

Tabka G. (2014). Cosmétique, Développement de produits cosmétiques. Institut Supérieur de Biotechnologie Sidi Thabet-Tunisie, 96-97.

Tahzibi A., Kamal F., Mazaheri A.M. (2004). Improved production of rhamnolipids by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant. *Iranian Biomedical Journal,* 8(1), 25-31.

Tarayre C. (2012). Bioremediation de sols pollues aux hydrocarbures. Editions Universitaires Européennes. France, 116p.

Tiso T., Thies S., Müller M., Tsvetanova L., Carraresi L., Bröring S., Jaeger K.E., Blank L.M. (2017). Rhamnolipids: Production, performance, and application. In Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Production of Fuels and Chemicals. *Springer*, 1–37.

Vecino X., Rodríguez-López L., Cruz J.M., Moldes A.B. (2015). Sewage sludge polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) decontamination technique based on the utilization of a lipopeptide biosurfactant extracted from corn steep liquor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 7143–7150.

Velikonja J., Kosaric N. (1993). Biosurfactants in food applications. In: Kosaric N., Sukan F.V., editors. Biosurfactants: Production, Properties, Applications. *CRC Press*, 419–448.

Vijayakumar S., Saravanan, V. (2015). Types de biosurfactants, sources et applications. *Journal de Recherche de Microbiologie*, 10(5), 181.

Wagner F., Lang S. (1996). Microbial and enzymatic synthesis of interfacial active glycolipids. 1, 124-137.

Willenbacher J., Yeremchuk W., Mohr T., Syldatk C., Hausmann R. (2015) Enhancement of Surfactin yield by improving the medium composition and fermentation process. *AMB Express,* 5, 1–9.

Xu N., Liu S., Xu L., Zhou J., Xin F., Zhang W., Jiang M. (2020). Enhanced rhamnolipids production using a novel bioreactor system based on integrated foam-control and repeated fed-batch fermentation strategy. *Biotechnology for Biofuels*, 13, 1-10.

Yadav J.S., Reddy C.A. (1993). Degradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX) by the lignin-degrading *Basidiomycete Phanerochaete chrysosporium*. *Applied Environmental Microbiology*, 59, 756–762.

Yang Y., Zhang N., Xue M., Tao S. (2010). Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. *Environmental Pollution*, 158(6), 2170-2174.

Yoo D.S., Lee B.S., Kim E.K. (2005). Characteristics of microbial biosurfactant as an antifungal agent against plant pathogenic fungus. *Joutnal of Microbiology and Biotechnology,* 15, 1164–1169.

Yu- H., Wei L.F., Wang J., Changy S., Wei Y.H. (2003). Identification of induced acidification in iron enriched cultures of *Bacillus subtilis* during biosurfactant fermentation. *Journal of Biosciences and Bioengineering,* 96, 174–178.

Résumé

La pollution est un problème mondial majeur et la pollution par les hydrocarbures demeure le type de pollution le plus répandu dans le monde et notamment en Algérie. Cependant, il existe différentes méthodes pour y remédier à ce phénomène soient chimiques, physiques ou biologiques. Parmi ces méthodes la bioremédiation qui est la méthode étudier dans ce travail.

Les hydrocarbures sont des polluants classés selon leur composition chimique en plusieurs classes. Leur dégradation se fait par les microorganismes dits hydrocarbonoclastes, généralement par oxydation jusqu'à minéralisation complète. Mais parfois, ces microorganismes réalisent le cométabolisme engendrant des composés intermédiaires de moindre toxicité.

Il y'a aussi certains microorganismes capables de produire des biosurfactants qui sont des molécules amphiphiles à diverses applications. Ces biosurfactants, grâce à leurs propriétés contribuent à la dégradation des hydrocarbures, notamment en réduisant la tension superficielle ou interfaciale et rendre les hydrocarbures plus accessibles aux microorganismes hydrocarbonoclastes.

Mots clés : biodégradation, biosurfactants, hydrocarbures, microorganismes hydrocarbonoclastres.

Abstract

Pollution is a major global problem and oil pollution remains the most common type of pollution in the world and especially in Algeria. However, there are different methods to remedy this phenomenon, whether chemical, physical or biological. Among these methods, bioremediation is the method to be studied in this work.

Hydrocarbons are pollutants classified according to their chemical composition in many classes. Their degradation occurs by microorganisms called hydrocarbonoclastic microorganisms, generally by oxidation until complete mineralization. But sometimes, these microorganisms carry out the cometabolism generating intermediate compounds of less toxicity.

These microorganisms produce biosurfactants which are amphiphilic molecules with various applications. These biosurfactants, thanks to their properties contribute to the degradation of hydrocarbons, in particular by reducing the surface or interfacial tension and making the hydrocarbons more accessible to hydrocarbonoclastic microorganisms.

Key words : biodégradation, biosurfactant, hydrocarbonoclastic microorganisms, hydrocarbon