



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات

Ecole Nationale Polytechnique

Département Génie des Procédés et Environnement

CRD Sonatrach



Mémoire de Projet de fin d'Etudes pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en
Génie des Procédés et Environnement

Essais de production de biosurfactants en vue d'une application dans le domaine de l'environnement

Présenté par : **YAHIAOUI Lina Zohra** et **MOSTEFAI Sabrina Fettouma**

Sous la Direction de : **Mme Rym SALAH MCA**

Présenté et soutenu publiquement le **29/06/24**

Composition du jury :

Président	M. Nabil MAMERI, Professeur	ENP, Alger
Promoteur	Mme. Rym SALAH, MCA	ENP, Alger
Co-Promoteur	Mr. Laith ELMOUSSAOUI, Ingénieur	CRD, Boumerdès
Examineur	Mme. Sadjia AROUA, MCA	ENP, Alger

ENP 2024



Populaire et Démocratique Algérienne République

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Scientifique Recherche la de et Supérieur l'Enseignement de Ministère

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات

Ecole Nationale Polytechnique

Département Génie des Procédés et Environnement

CRD Sonatrach



Mémoire de Projet de fin d'Etudes pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Génie des Procédés et Environnement

Essais de production de biosurfactants en vue d'une application dans le domaine de l'environnement

Présenté par : **YAHIAOUI Lina Zohra** et **MOSTEFAI Sabrina Fettouma**

Sous la Direction de : **Mme Rym SALAH MCA**

Présenté et soutenu publiquement le **29/06/24**

Composition du jury :

Président	M. Nabil MAMERI, Professeur	ENP, Alger
Promoteur	Mme. Rym SALAH, MCA	ENP, Alger
Co-Promoteur	Mr. Laith ELMOUSSAOUI, Ingénieur	CRD, Boumerdès
Examineur	Mme. Sadjia AROUA, MCA	ENP, Alger

ENP 2024

ملخص: تناول هذا البحث دراسة شاملة لإنتاج وتصنيف وتطبيقات المواد الفعالة على السطح الحيوية التي تنتجها سلالات بكتيرية معزولة من حمأة نفطية. تضمن الجزء الأول من البحث تقييماً مفصلاً لقدرة هذه السلالات على إنتاج المواد الفعالة على السطح الحيوية، حيث تم تأكيد هذه القدرة باستخدام مؤشر E24 واختبار تشتت الزيت، اللذين أظهرتا مستويات إنتاجية مرتفعة، مما يدل على الإمكانات الواعدة لهذه المواد. تم تحديد أن المواد الفعالة على السطح الحيوية هي المنتج الرئيسي خارجي وتتميز بخصائص هيدروفوبية تسهل انتقالها إلى الطور الزيتي. تم أيضاً التركيز على التصنيف الهيكلي لهذه المواد باستخدام التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فورييه والتحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية-المرئية. كشفت هذه التحليلات عن تنوع كبير في أنواع المواد الفعالة على السطح الحيوية اعتماداً على السلالة البكتيرية، وتم تعزيز هذه النتائج من خلال اختبارات لونية محددة. إضافة إلى ذلك، تبين أن لهذه المواد نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد مجموعة متنوعة من الممرضات، مع اختلاف فعاليتها بناءً على نوع المذيب المستخدم. في الجزء الأخير من الدراسة، تم استكشاف سلوك البكتيريا المنتجة للمواد الفعالة على السطح الحيوية في بيئات مختلفة، بما في ذلك الظروف البيئية القاسية، وقدرتها على التحلل الحيوي للهدروكربونات الموجودة. أظهرت كل سلالة بكتيرية تكيفاً خاصاً مع بيئتها، بالإضافة إلى قدرة بارزة على التراكم الحيوي، خصوصاً فيما يتعلق بالرصاص. كما أثبتت الاختبارات فعالية المواد الفعالة على السطح الحيوية في استخلاص الهيدروكربونات، مما يعزز من إمكانية استخدامها في عمليات المعالجة الحيوية والتطبيقات الصناعية المتقدمة.

الكلمات الرئيسية: التراكم الحيوي، التحلل الحيوي، المواد الفعالة على السطح الحيوية، الاستحلاب.

Summary: This thesis provides an exhaustive exploration of the production, characterization, and applications of biosurfactants generated by bacterial strains isolated from an oil sludge. The first phase of our study involved a detailed assessment of the capacity of these strains to produce biosurfactants. This was confirmed by the E24 index and oil dispersion tests, which revealed significant levels of biosurfactant production, highlighting their promising potential. The produced biosurfactants were identified as predominantly extracellular and characterized by marked hydrophobicity, which facilitates their migration to the oil phase. We also focused on the structural characterization of the extracted biosurfactants using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis). These analyses highlighted the diversity of biosurfactant types, depending on the producing bacterial strain, and were confirmed by colorimetric tests. Additionally, we found that these biosurfactants possess remarkable antibacterial activity against various pathogens, with efficacy that can vary depending on the solvent used. In the final part of our study, we explored the behavior of biosurfactant-producing bacteria in various environments, including extreme conditions, and their capacity to effectively biodegrade present hydrocarbons. Each bacterial strain demonstrated specific adaptation to its environment, as well as notable bioaccumulation capacity, particularly for lead. Furthermore, our tests confirmed the efficiency of biosurfactants in hydrocarbon extraction, thus underlining their considerable potential for application in bioremediation and other advanced industrial applications.

Keywords : Bioaccumulation, biodegradation, biosurfactant, emulsification.

Résumé : Ce mémoire traite d'une exploration exhaustive de la production, de la caractérisation et des applications des biosurfactants générés par des souches bactériennes isolées d'un bournier pétrolier. La première phase de notre étude a impliqué une évaluation détaillée de la capacité de ces souches à produire des biosurfactants. Celle-ci a été confirmée par l'indice E24 et le test de dispersion de l'huile qui ont révélés des niveaux significatifs de production de biosurfactants, soulignant leur potentiel prometteur.

Les biosurfactants produits ont été identifiés comme étant principalement extracellulaires et caractérisés par une hydrophobicité marquée qui facilite leur migration vers la phase huileuse. Notre attention s'est aussi portée sur la caractérisation structurale des biosurfactants extraits à l'aide de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et la spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis). Ces analyses ont mis en lumière la diversité des types de biosurfactants, dépendant de la souche bactérienne productrice, et ont été confirmés par des tests colorimétriques. Nous avons également constaté qu'ils sont dotés d'une activité antibactérienne remarquable contre différents pathogènes, dont l'efficacité peut varier en fonction du solvant utilisé.

Dans la dernière partie de notre étude, nous avons exploré le comportement des bactéries productrices de biosurfactants dans des environnements variés, y compris des conditions extrêmes, et leur capacité à biodégrader efficacement les hydrocarbures présents. Chaque souche bactérienne a démontré une adaptation spécifique à son milieu, ainsi qu'une capacité notable de bioaccumulation, notamment envers le plomb. De plus, nos tests ont confirmé l'efficacité des biosurfactants pour l'extraction des hydrocarbures, soulignant ainsi leur potentiel considérable à être appliqué à la bioremédiation et à d'autres applications industrielles avancées.

Mots- clés : Bioaccumulation, biodégradation, biosurfactant, émulsification.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale	15
-----------------------	----

Chapitre 1 : Étude bibliographique

1. Généralités sur les tensioactifs	18
1.1. Définition	18
1.2. Classification	18
1.3. Action et rôle	19
2. Biosurfactants	21
2.1. Définition	21
2.2. Classification	21
2.3. Propriétés physico-chimiques	22
3. Processus de production	23
3.1. Méthodes de production des biosurfactants	23
3.2. Facteurs influençant la production de biosurfactants	24
4. Microorganismes producteurs de biosurfactants	26
4.1. Types de microorganismes producteurs de biosurfactants	26
4.2. Habitat naturel des microorganismes producteurs de biosurfactants	27
5. Quelques techniques de screening des biosurfactants	28

6. Caractérisation des biosurfactants	31
6.1. Procédés de purification des biosurfactants	31
6.2. Méthodes d'identification des biosurfactants	32
6.2.1. Identification de leurs propriétés ioniques	32
6.2.2. Couleur des biosurfactants	33
6.2.3. Identification de la nature chimique	33
6.2.4. Identification des groupes fonctionnels	34
7. Quelques applications des biosurfactants et leurs avantages	36
7.1. Bioremédiation des sols contaminés	36
7.2. Valorisation des déchets	36
7.3. Alternative pour la flottation par moussage	37
7.4. Agriculture et agroalimentaire	37
7.5. Domaine cosmétique	37
7.6. Elimination des métaux lourds	38
8. Biodégradabilité des biosurfactants	38

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Objectif du travail	41
2. Matériel	41
2.1. Appareillage	41
2.2. Verreries et Matériels plastiques	43
2.3. Milieux de culture	43
2.4. Produits chimiques	44
3. Méthodologie	45

3.1. Zone de prélèvement	45
3.2. Isolement de microorganismes d'intérêt	45
3.2.1. Préparation du milieu de culture	45
3.2.2. Cultures par enrichissements	46
3.2.3. Isolement des souches pures	46
3.3. Établissement de la courbe d'étalonnage pour le dénombrement des microorganismes	46
3.4. Sélection des souches productrices de biosurfactants	46
3.4.1. Test d'émulsification	47
3.4.2. Méthode de dispersion d'huile	47
3.4.3. Test d'adhésion bactérienne aux hydrocarbures	48
3.5. Extraction de biosurfactant	48
3.6. Caractérisation des biosurfactants produits	48
3.6.1. Spectroscopie Infrarouge à la Transformée de Fourier	48
3.6.2. Test à la ninhydrine pour la détection des acides aminés	49
3.6.3. Test aux phénol/acide sulfurique pour la détection de sucres totaux	49
3.6.1. Spectroscopie UV	50
3.6.5. Test antibactérien	50
3.7. Applications des biosurfactants dans le domaine de la biotechnologie environnementale	50
3.7.1. Test de récupération de pétrole	50
3.7.2. Culture et suivi de la biodégradation	51

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

1. Isolement des souches	53
--------------------------	----

2. Purification des souches obtenues	54
3. Caractères macroscopiques des microorganismes isolés	55
4. Sélection des souches productrices de biosurfactants	56
4.1. Test d'indice d'émulsification	57
4.2. Test de déplacement de l'huile	59
4.3. Test d'adhésion bactérienne aux hydrocarbures	60
5. Extraction des biosurfactants	61
6. Caractérisation des biosurfactants produits	62
6.1. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier	62
6.2. Tests colorimétriques	67
6.3. Spectroscopie UV	68
7. Test d'activité antibactérienne	71
8. Applications des biosurfactants dans le domaine de la biotechnologie environnementale	73
8.1. Caractérisation des milieux	73
8.2. Culture et suivi du comportement bactérien dans les milieux testés	76
8.2.1. Suivi de la DO	76
8.2.1.1. Culture et suivi du comportement bactérien dans le milieu M1	76
8.2.1.2. Culture et suivi du comportement bactérien dans l'eau de gisement	80
8.2.1.3. Culture et suivi du comportement bactérien dans le lixiviat de sol	83
8.2.2. Suivi de la DBO ₅	86
8.2.2.1. Suivi de la DBO ₅ au niveau de l'eau de gisement	86
8.2.2.2. Suivi de la DBO ₅ au niveau du lixiviat de sol	87

8.3. Évaluation de la décontamination des milieux	88
8.3.1. Suivi de la DCO	88
8.3.2. Suivi de la concentration en Pb	89
8.4. Évaluation du pouvoir d'extraction des biosurfactants	90
Conclusion générale	92
Annexe	95
Références	99

confidential

