REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA



Faculté de **T**echnologie

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie Des Procédés

Spécialité : Génie Des Procédés De L'environnement

Dégradation des pesticides en milieu aqueux par un bioprocédé

Présenté par :

M^{me}GheribiFahima

Proposé et Dirigé par :

Dr. Ferhat Samira

Mme.Mihoubi Nadia

Promotion 2020

Remerciements

Le présent travail a été réalisé en collaboration entre le Laboratoire de l'hôpital de Médéa Et le hall technologique à l'Université Yahia fares de Médéa.

Je tiens tout d'abord à remercier le bon Dieu tout puissant de m'avoir aidé à réaliser Ce modeste travail.

Je remercie très chaleureusement ma promotrice Mme FERHAT SAMIRA Chef de département à l'Université de Médéa, qui n'a ménagé aucun Effort pour que ce mémoire puisse voir le jour. Je lui exprime ma gratitude de m'avoir Dirigé, encouragé et surtout aidé afin de réaliser ce travail.

J'adresse mes remerciements à ma Co-promotrice Mlle MIHOUBI NADIA, doctorante à l'université de Médéa qui m'a beaucoup donné le soutient morale.

Je remercie les membres du jury,

Je remercie tous les enseignants de mon cursus universitaire qui ont contribué à ma Formation.

Mes vifs remerciements vont, également, à tout le personnel du laboratoire du hall technologique et aussi Mme BAKHTI chef de laboratoire de physiquo-chimie au niveau du SAIDAL de Médéa. Pour son aide et surtout pour sa gentillesse.

Enfin, il me serait difficile d'omettre de remercier tous ceux qui ont contribué de Près ou de loin à ce travail. Qu'ils trouvent dans ses quelques lignes l'expression de mes Sincères remerciements.

GHERIBI FAHIMA

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour Que j'atteigne ce niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas Empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses Enfants.

A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et Encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi D'un grand réconfort.

A mes frères et sœurs qui étaient toujours à mes Côtés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager : Jamais de simples mots ne me permettront de vous exprimer mes Remerciements.

A mon marie et mes enfants Malek, Hadil, Tasnim

A ma grande famille, grande et petite.

A mes chères amies et collègue de travail

A tous mes ami(e)s de la promotion

GHERIBI FAHIMA

ملخص

مبيدات الآفات هي جزيئات تساعد خصائصها السامة في مكافحة الكائنات الحية الضارة ، فهي تمثل أي مادة أو مجموعة من المواد التي تهدف إلى إبعاد أو تدمير أو مكافحة الآفات ، بما في ذلك ناقلات الأمراض التي تصيب الإنسان أو الحيوان. ، والأنواع غير المرغوب فيها من النباتات أو الحيوانات التي تسبب ضررًا أو تظهر نفسها ضارة أثناء إنتاج المواد الغذائية أو المنتجات الزراعية أو معالجتها أو تخزينها أو نقلها ، إلخ. طرق التخلص منها هو تحللها بواسطة العوامل الحيوية.

المواد الخافضة للتوتر السطحي هي عوامل ذات نشاط سطحي يتم تصنيعهاكيميائيًا أو بواسطةعضوي (خافض للتوتر السطحي). يتم إنتاج هذه الجزيئات بشكل أساسي بواسطة الكائنات الحية الدقيقةالتي تزدهر بشكل هوائي في بيئة ملوثة تحتوي على واحد أو أكثر من مصادر الكربون.

العوامل الحيوية هي فئة من الجزيئات البيولوجية لها أنواع مختلفةاهتمامات في عدة مجالات تتراوح بين الصناعات الغذائية والكيماويات ومستحضرات التجميل ،الأدوية ... إلخ ، للتطبيق في المجالات الأكثر أهمية ؛ الطب الحيوي وعلاجي. يتم استخلاص المواد الحيوية من خلال طريقتين للاستخراج: الاستخراج بواسطةالترسيب والمذيبات العضوية.

الهدف من عملنا هو القضاء على مبيدات الآفات عن طريق المعالجة الحيوية ، أي استخدام خافض للتوتر السطحي ينتج عن سلالات بكتيرية وهي الزائفة الزائفةAeuroginosa، , MarinobacterhydrocarbonoclasticusSdK644 Klebsiellapneumoniae ، لتحلل ثلاثة أنواع من مبيدات حشرية. للأسف توقف هذا العمل على مستوى الإنتاج دون الانتهاء من التطبيق بسبب الوضع الصحي للدولة فيما يتعلق بفيروس كورونا.

Résumé

Les pesticides, sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles , ces derniers représentent toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, ou le transport des denrées alimentaires , des produits agricoles...etc .l'une des méthodes de leur élimination c'est la dégradation par les biosurfactants.

Les surfactants sont des agents à activité de surface synthétisés chimiquement ou par voie Biologique (biosurfactant). Ces molécules sont principalement produites par des microorganismesQui se développent de manière aérobie dans un milieu contaminé contenant une ou Plusieurs sources de carbone. Les biosurfactants constituent une classe de molécules biologiques ayant divers Intérêts dans plusieurs domaines, allant de l'industrie agro-alimentaire, chimique, cosmétique, Pharmaceutique…etc, à l'application dans domaines plus critiques ; biomédicale etThérapeutique. Les biosurfactants sont extraites par deux méthodes d'extraction : extraction parPrécipitation et par solvants organiques.

L'objectif de notre travail est l'élimination des pesticides par un bioprocédé c'est à dire l'utilisation d'un biosurfactant produit par des souches bactériennes qui sont *la pseudomonasaeuroginosa, la Marinobacterhydrocarbonoclastcus*SdK644,*Klebsiellapneumoniae,* pour la dégradation de trois types de pesticides dans un milieu aqueux. Malheureusement ce travail est arrêté au niveau de la production sans avoir terminer l'application à cause de la situation sanitaire du pays concernant la corona virus.

Motsclés :pesticides, biosurfactant,*pseudomonasMarinobacterhydrocarbonoclasticusSdK644* ,dégradation.

Abstract

Pesticides are molecules whose toxic properties help fight against harmful organisms, they represent any substance or association of substances that is intended to repel, destroy or fight pests, including vectors of human or animal diseases , and undesirable species of plants or animals causing damage or showing themselves otherwise harmful during the production, processing, storage, or transport of foodstuffs, agricultural products, etc. methods of their elimination is degradation by biosurfactants. Surfactants are agents with surface activity synthesized chemically or by Organic (biosurfactant). These molecules are mainly produced by microorganisms

That thrives aerobically in a contaminated environment containing one or more carbon sources.

Biosurfactants are a class of biological molecules having various Interests in several fields, ranging from the food industry, chemicals, cosmetics, Pharmaceutical ... etc, for application in more critical areas; biomedical and Therapeutic. Biosurfactants are extracted by two extraction methods: extraction by Precipitation and by organic solvents.

The objective of our work is the elimination of pesticides by a bioprocess, i.e. the use of a biosurfactant produced by bacterial strains which are *pseudomonas aeuroginosa,Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644, Klebsiellapneumoniae,* for the degradation of three types of pesticides. Unfortunately, this work is stopped at the production level without having finished the application because of the health situation of the country regarding the corona virus.

Listes des figures :

Figures	Titres	Page
Figure 1	Dispersion des pesticides dans l'environnement et voie de contamination	08
Figure 2	Comportement des pesticides dans le sol	09
Figure 3	L'accumulation des pesticides	12
Figure 4	Mode d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides	12
Figure 5	Toxicologie et devenir des pesticides	13
Figure 6	Représentation schématique d'une micelle de biosurfactant	19
Figure 7	Représentation schématique d'une molécule de bisurfactant	23
Figure 8	Solubilité d'un biosurfactant ionique en fonction de la température	24
Figure 9	Représentation schématique de l'adsorption de bisurfactant sur le sol	25
Figure 10	Aspect du Pseudomonas	33
Figure 11	Aspect du klebtiellapneumoniae	34
Figure 12	Aspect de la MarinobacterhydrocarbonoclastusSdK644	36
Figure 13	Courbe d'étalonnage de metrixone	36
Figure 14	Courbe d'étalonnage de lazer	37
Figure 15	Milieu LB	38
Figure 16	L'autoclave	38
Figure 17	Milieu minérale	40
Figure 18	Solution des oligoéléments	41
Figure 19	Milieu de production	42
Figure 20	Incubateur agité	42
Figure 21	Test de déplacement du pétrole	43
Figure 22	Indice d'émulsion	44
Figure 23	Biosurfactant produit	45
Figure 24	Test de déplacement de pseudomonas	46
Figure 25	Test de déplacement de MarinobacterhydrocarbonoclastusSdK644	46
Figure 26	E24 de la Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644	47
Figure 27	E24 de Pseudomonas	47

Liste des tableaux :

Tableaux	Titres	Page
Tableau 1	Classification des pesticides selon le cible visée	05
Tableau 2	Structure chimique et caractéristique de certaines familles de pesticides	06
Tableau 3	Principaux types de biosurfactants	20
Tableau 4	Les méthodes connues dans la récupération de biosurfactants	28
Tableau 5	Utilisations potentielles des biosurfactants	29
Tableau 6	Caractéristiques des pesticides	35
Tableau 7	Composition du milieu MM	39
Tableau 8	Composition de la solution des oligoéléments	40
Tableau 9	Quantité du biosurfactant en poudre	45
Tableau 10	Densité optique des trois souches	48

TABLE DES MATIERES

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction …….....……	01
Chapitre1 : Généralités sur les pesticides	
1-1- historique des pesticides……....	*04*
1-2- classification des pesticides…….....	*05*
1-2-1-classification selon la nature de la cible visée…….....	*05*
1-1-2-classification selon la famille chimique …….....	*06*
1-3- rôle et importance des pesticides …….....	*07*
1-4-effet des pesticides sur l'environnement …….....	*07*
1-4-1-contamination de l'air …….....	*10*
1-4-2-contamination de l'eau …….....	*10*
1-5-effet des pesticides sur les espèces…….....	*10*
1-6-effet des pesticides sur les produits agricoles……	*11*
1-7-risques des pesticides sur la santé humaine…….....	*12*
1-8-residu et toxicité des pesticides…….....	*14*
1-8-1-toxicité aigüe…….....	*14*
1-8-2-les symptôme d'une intoxication aigue…….....	*14*

1-9-elemination et traitement des pesticides ……..	*14*
Conclusion……...	*17*
Chapitre 2 : les biosurfactants	
2-1-definition……	*19*
2-2-classification…….....……	*19*
2-3-production des biosurfactants……....	*20*
2-3-1-microorganismes producteurs……..	*20*
2-3-2paramétres influençant la production……	*21*
2-3-2-a-influence de la source de carbone……	*21*
2-3-2-b-influence de l'azote……	*21*
2-3-2-c-influence de pH……	*21*
2-3-2-d -influence des sels minéraux……	*21*
2-3-2-e-influence d'oxygène…….	*21*
2-3-2-f-influence de la vitesse d'agitation……	*21*
2-4-extraction des biosurfactants du milieu de croissance……	*22*
2-5-propriéte physico-chimique des biosurfactant……	*22*
2-5-1-concentration micellaire critiques *(CMC)*……	*23*
2-5-2-structure des biosurfactants et paramètres influençant leurmicellisation……	*23*
2-5-3-solubilité des biosurfactants en fonction de la température…	*25*
2-5-4-sorption des biosurfactants sur les solides……	*25*
2-5-5-toxicité et biodégradabilité ……..	*26*
2-5-6-remobilisation des HAP par utilisation des biosurfactants ...	*26*
2-6-mode d'action……	*27*
2-6-a-mobilisation…….	*27*
2-6-b-solubilisation……	*27*
2-7-Extraction des biosurfactants du milieu de croissance……	*27*
2-8-role des biosurfactants pour la bactérie……..	*29*
2-9-utilisation des biosurfactants……	*29*

2-10-application biomédicale et thérapeutique et activité antimicrobienne desbiosurfactants…… …..	*31*
Conclusion……	*31*
Chapitre 3 : partie expérimentale	
3-1-introduction……	*33*
3-2-matriel et méthodes ……	*33*
3-2-1-microorganismes utilisées……	*33*
3-3-caracterisation de l'échantillon……	*35*
3-3-1-Metrixon……	*35*
3-3-2-lazer……	*35*
3-3-3-Acetamipride……	*35*
3-4-etablissement des courbes d'étalonnage ……	*35*
3-5-production des biosurfactants……	*37*
3-5-a-préparation de l'inoculum …… ….	*37*
3-5-b-préparation du milieu minérale MM……	*39*
3-5-c-milieu de production et condition de culture……	*41*
3-5-d –évaluation de la production de biosurfactant……	*43*
3-6-extraction et purification partielle du biosurfactant ……	*43*
3-7-résultats et discussion……	*44*
3-7-1-test de déplacement de pétrole……	*44*
3-7-2-indice d'émulsification……	*45*
3-7-3-mesure de la densité optique de la solution filtré……	*45*
3-8-remarques et discussion……	*46*
Conclusion……	*49*

Introduction générale.

Introduction :

La pollution par des pesticides et des polluants organiques est principalement perçue au travers de leur présence dans les eaux et dans denrées alimentaire.

Cependant, beaucoup de polluants transitent par les sols ou leur comportement va conditionner la manifestation de leur caractère polluant.

La réduction de leur impact environnemental nécessite de comprendre les processus auxquels ils sont soumis dans le sol, principalement, les processus de rétention et stabilisation ceux de transformation, ainsi que les phénomènes de transfert.

Les mécanismes de détoxification des sols ,base de leur pouvoir épurateur, reposent sur l'aptitude des micro-organismes des sols à dégrader les polluants .Cependant d'autres phénomènes sont à l'origine de la stabilisation des polluants sous forme de résidu nom extractibles appelés couramment « résidus liés ».C'est ainsi que dans certains cas ,l'épuration est due au stockage des polluants ce qui à court terme est efficace pour sauvegarder ,par exemple, les ressources en eau ,mais des interrogations restent posées sur l'éventuelle libération des polluants ainsi stocké et les conséquences de leur accumulation à long terme. En ce qui concerne les pesticides on cherche à obtenir un optimum d'efficacité tout en réduisant leur impact sur l'environnement en modifiant les pratiques culturales(en vue par exemple de réduire les instrants, de favoriser la rétention des pesticides ou de limiter le déclanchement du ruissellement)en proposant des aménagements mettant en valeurs des zones tampon servant des filtres curatifs des pollutions, et en optimisant des techniques d'application(application ponctuelles, traitement des semences, utilisation de nouveaux pesticides efficaces à faible doses).

L'utilisation de tensioactifs biologique et une voie permetteuse pour la dépollution des sols pollués par des pesticides ou autres matière organique.

Néanmoins l'utilisation de tensioactifs chimiques peut avoir des conséquences négatives sur l'environnement, certains étant toxiques à doses élevées et faiblement biodégradables.

Les surfactants biologiques offrent alors une alternative intéressante en présentant souvent un faible impact environnemental ainsi que des propriétés physicochimiques comparables.

Parmi les biosurfactants, les ramnolipides produits par des souches de *Pseudomonas aeroginosa*sont les plus étudiés, car ces bactéries sont fortement représentées dans le sol pollué et présentent une forte activité émulsifiante.

Actuellement, l'utilisation de biosurfactants dans des procédés de dépollution est principalement limitée par leur cout de production élevé.

L'étude de nouvelles conditions de production (différentes souches et différents substrats) ainsi que de nouveaux biosurfactants est alors requise. Le but de cette étude est arrivé à un taux élevé de la dégradation des pesticides en utilisant les biosurfactants dans un milieu aqueux.

Le présent mémoire se subdivise en trois parties. La première représente une analyse De l'alittérature scientifique où sont exposées les données relatives aux pesticides (sources, nature, toxicité,), à leur devenir dans les sols (sorption, dégradation…) et aux différentes techniques de réhabilitation des sols pollués par les pesticides La connaissance des propriétés et des modes d'action des biosurfactant a aussi fait l'objet de cette première partie bibliographique.

La seconde partie, est réservée à la présentation de la méthodologie adoptée pour la

Réalisation de notre travail.

La troisième partie de ce mémoire est consacrée à la présentation et la discussion

Des résultats obtenus. Le manuscrit est achevé par une conclusion et des perspectives.

Chapitre 1 :

Généralités sur les pesticides

Chapitre 1 : Généralités sur les pesticides

Introduction

Le terme pesticide dont la traduction étymologique est "tueurs de fléaux" dérive de "Pest", mot anglais désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement, et le terme « pesticide » couvre un champ plus vaste et général que les expressions « produit phytosanitaire » ou « produit phytopharmaceutique ».

Les pesticides, sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles , ces derniers représentent toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, ou le transport des denrées alimentaires , des produits agricoles...etc.

1-1 Historique des pesticides

Au cours des siècles, les connaissances et les compétences nécessaires pour protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies ont grandement évolué, les personnes ont toujours utilisés des produits chimiques botaniques et inorganiques dans leurs efforts de réduire les dommages produits par les ravageurs et les maladies au niveau de leurs cultures et de leurs animaux.

Deux périodes peuvent être distinguées pour décrire le développement très important des pesticides ; ce sont la première et la deuxième moitié du XXe siècle approximativement séparés par la deuxième guerre mondiale :

Avant 1950 : L'usage des composés arsenicaux est très répandu. Ils sont utilisés contre les insectes ravageurs des arbres fruitiers et de la vigne, et aussi contre un ravageur notoire de la pomme de terre (le doryphore). A côté des insecticides minéraux, on consiste au développement considérable des insecticides organiques d'origine naturelle et synthétique, ces composés sont avant tout représentés par des composés organochlorés qui sont des biocides particulièrement efficaces. Le DDT a eu un grand succès dans la lutte contre de nombreux insectes ravageurs et aussi contre les moustiques.

Certaines sources estiment les années 1940 et 1950 pour le début de l'ère des pesticides. Durant cette période ; la lutte contre les maladies des plantes est toujours assurée par le soufre et par le cuivre.

Après 1950 : L'utilisation des pesticides s'est beaucoup développée au cours de la deuxième moitié du XXe siècle. Plusieurs facteurs ont eu un effet marquant sur cette évolution tel que :

- La recherche d'un rendement élevée.

- La protection de la qualité des produits alimentaires.

- Une main d'œuvre plus réduite.

- De nombreuses substances ont été découvertes ; ils appartiennent aux familles chimiques des organophosphorés, des carbamates et des pyréthrinoides.

A partir du début de 1960, l'utilisation des pesticides est montée en flèche en Asie et en Amérique du Sud 4. 65 % des pesticides dans le monde sont

Utilisés dans les pays développés, mais l'utilisation dans les pays en développement est de plus en plus élevée.

1-2- Classification des pesticides :

Selon Calvet (2005), [8] les substances actives sont classées en fonction de :

- La nature de la cible visée.
- La nature chimique de la principale substance active.

1-2-1 Classification selon la nature de la cible visée :

Plusieurs catégories de pesticides selon les organismes vivants visés, dont les principales sont consignées dans le tableau suivant :

Pesticide	**Utilisation**	**Exemple**
Les insecticides	Utilisés contre les insectes nuisibles	Dichlorodiphényltrichloroéthane. déltamethrine.
Les fongicides	Utilisés contre les champi-gnons Phytopathogènes ou vecteurs de mycoses animales ou humaines.	Moncozèbe, hexaconazol, chlorothalonil
Les herbicides	Qui détruisent les plantes adventices des Cultures et, de façon plus générale, toute végétation jugée indésirable.	2-4D, glyphosate
Les acaricides	Qui détruisent les acariens.	Abamectine, nicotine
Les nématicides	Employés contre phytoparasites. Les nématodes	Bromomethane, chloropicrine
Les Molluscicides	Ou hélicides qui détruisent les gastéropodes.	Methiocarbe, mercaptodiméthur
Les rodenticides	Qui tuent les rongeurs comme les rats	Warfarine, phosphure de zinc
Les avicides	Destinés à éliminer les oiseaux ravageurs.	Strychnine

Tableau 1 : classification des pesticides selon le cible visée (INSERM, 2013).[3]

1-2-2 Classification selon la famille chimique :

Les pesticides peuvent également être classés en fonction de la famille chimique à Laquelle appartiennent les substances actives.

Les pesticides organiques :

Sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les triazines, les urées Substituées et les pyréthrénoides.

Les structures chimiques de certaines familles sont présentées dans le tableau II.

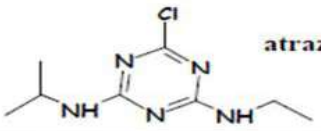
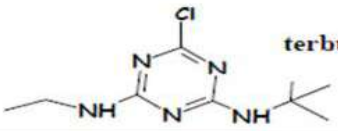
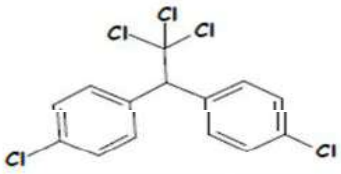
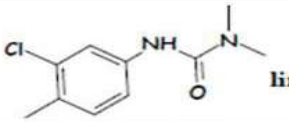
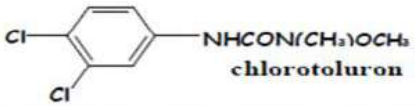
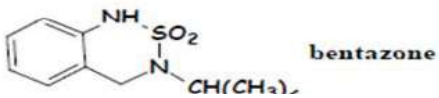
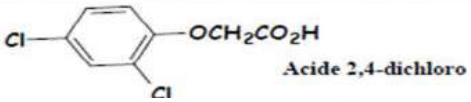
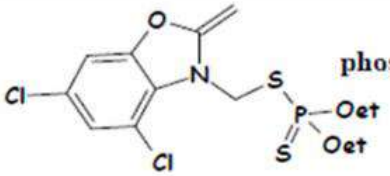
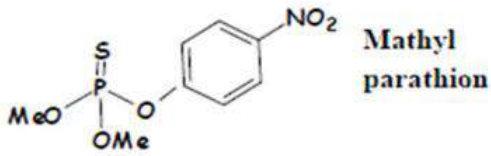
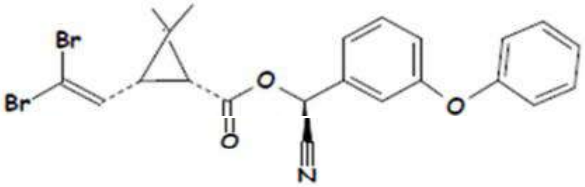
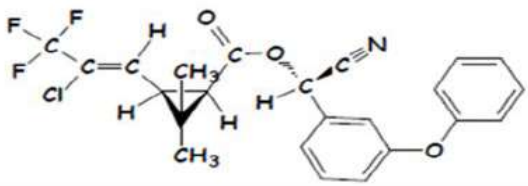
Famille chimique	Exemple de pesticides
Triazines	 atrazine  terbutylazine
Organochlorés	 DDT
Urées substituées	 linuron  chlorotoluron
Acides et amines	 bentazone  Acide 2,4-dichloro
Organophosphorés	 phosalon  Mathyl parathion
Pyréthrenoide	 deltaméthrine  lambdacyhalothrine

Tableau 2 : Structure chimique caractéristique de certaines familles de pesticides (Douafer, 2010). [3]

Les pesticides inorganiques :

Boland*et al. (2004*), [9] ont mis en évidence que les pesticides inorganiques sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraine souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans le sol [Le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxique]. Les Biopesticides :

Ce sont des substances dérivées de plantes et d'animaux. Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les moisissures, les bactéries, les virus, les nématodes, composés chimiques drivés de plantes et phéromones d'insectes (Boland*et al.*,2004)[9].

1-3-Rôle et importance des pesticides :

Les pesticides ont des risques sur la santé humaine par l'accumulation de ces derniers dans la chaine alimentaire, et donc ils vont être consommé par l'être humain, d'une autre part ils ont un impact sur la pollution des eaux, le sol, la vie de la faune et la flore et aussi la santé des agriculteurs. Malgré tous ces risques ; on ne peut pas dépasser les avantages des pesticides, et parmi lesquels on peut citer :

- Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leurs actions.

- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance).

- Assurer la conservation des produits végétaux, sauf si ces substances ou produits font l'objet de dispositions particulières concernant les agents conservateurs ;

- Détruire les végétaux indésirables ou détruire des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.

- L'utilisation des pesticides peut aussi jouer un rôle en matière de la santé publique, soit vis-à-vis certains insectes comme les moustiques qui représentent des vecteurs de maladies graves tel que la malaria, soit vis-à-vis certains végétaux comme l'ambroisie ; c'est une plante invasive possédant un pollen très allergisant qui provoque chez les personnes sensibles des pathologies notamment respiratoire (rhinite, trachéite) ou cutané (urticaire).

1-4-Effets des pesticides sur l'environnement :

Les pesticides sont devenus un besoin pour les agriculteurs, car ils permettent l'intensification de l'agriculture afin de couvrir la demande exprimée dans les marchés sur les produits agricoles. En vérité les pesticides ont un avantage concernant la protection des cultures et l'augmentation de la production, mais malheureusement leurs risques ont dépassé l'utilité de ces derniers, parce qu'ils endommagent l'environnement.

Les pesticides ont contaminé presque toutes les parties de notre environnement, c'est vrai qu'ils tuent quelques espèces visées comme les insectes, champignons et les plantes indésirables. Les effets des pesticides sur l'environnement sont nombreux ; ils ont un effet

Sur :

1- La santé humaine.

2- La faune et la flore.

3- La contamination des eaux.

4- Le sol.

5- L'air.

La figure suivante explique les effets des pesticides sur tous les composants de l'environnement

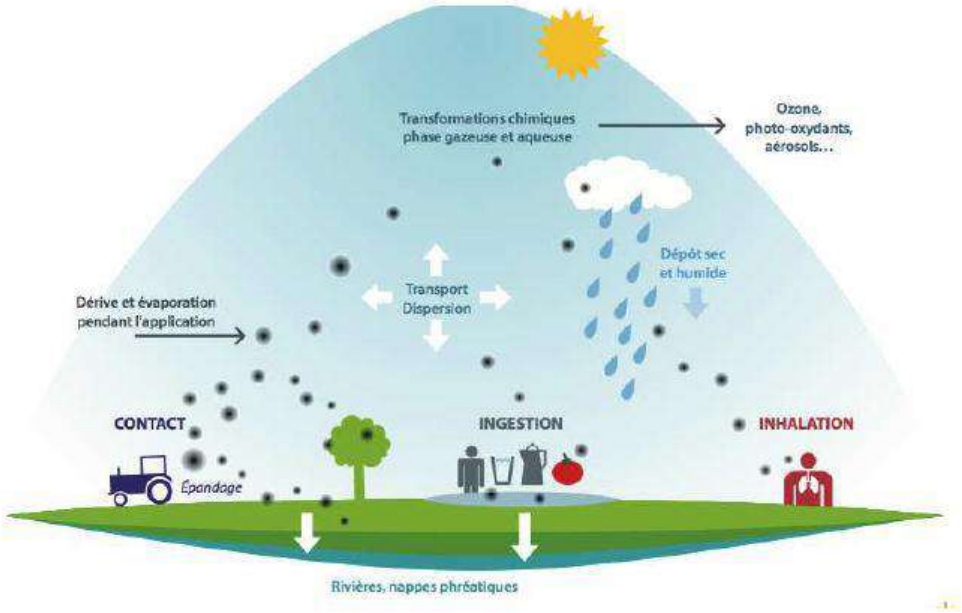


Figure 1: comportement des pesticides dans l'environnement

Les substances et les molécules issues des pesticides sont susceptibles de se retrouver dans l'air, le sol, les eaux et le sédiment, ainsi que dans les aliments. Ces substances et molécules présentent, par leur migration entre les compartiments de l'environnement, des dangers importants pour l'homme et les écosystèmes, avec un impact à court ou à long terme.

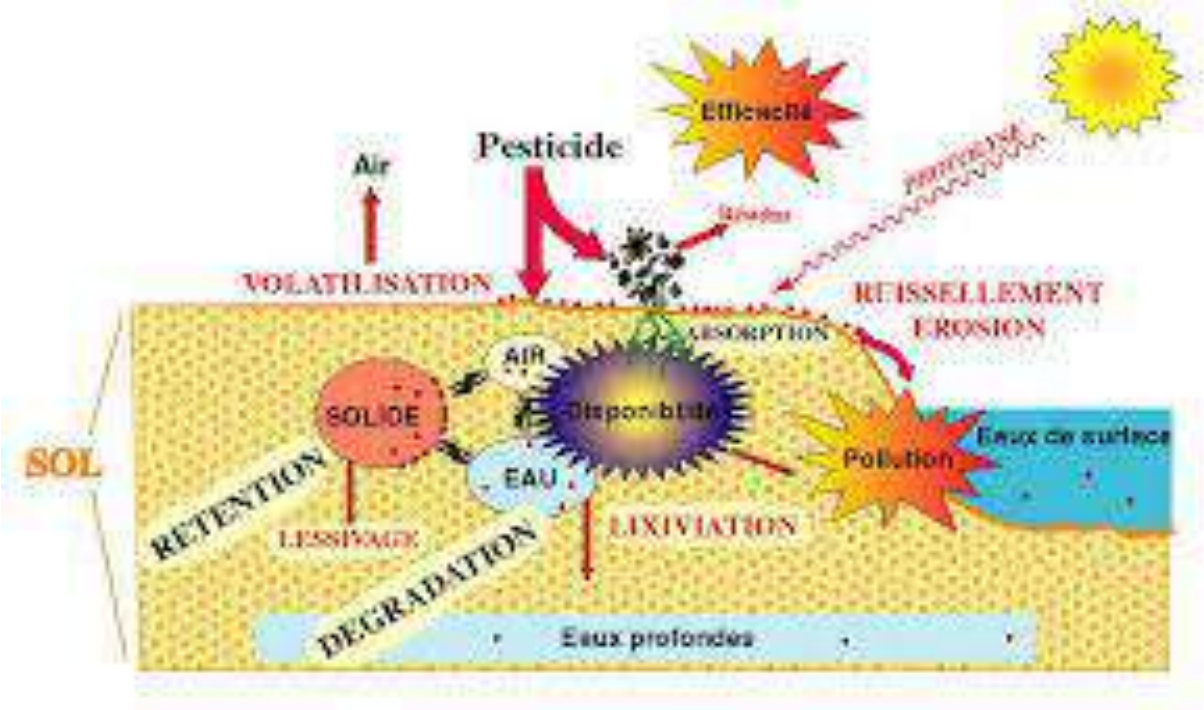


Figure 2 :

Comportement des pesticides dans le sol

A partir de cette figure on observe :

- Des phénomènes de rétention : Soit par absorption par les végétaux ou la microflore du sol, soit par adsorption par la matière humique du sol. Et aussi les pesticides peuvent être absorbés par les racines et les feuilles des plantes cette étape est probablement la principale voie conduisant à l'accumulation de ces produits le long des chaines trophiques, donc la voie majeure par laquelle l'homme et les animaux sont mis en contact avec ces composés.

- Des phénomènes de transformation (métabolisme par les microorganismes, photolyse) : Transforme petit à petit les pesticides en Produit moins toxique, et ces produits obtenus dépendent en grande partie de l'énergie de lumière solaire qui affecte la molécule primaire.

Le processus de dégradation est un facteur de dépollution majeur des compartiments environnementaux contaminés par les pesticides. Cette transformation peut se traduire par la minéralisation complète et relativement rapide ; ce qui peut entraîner une détoxification du milieu ou au contraire provoque une intoxication.

- Des phénomènes de transport par lixiviation, lessivage ou ruissellement : ce qui pourra conduire à la contamination des eaux de drainage, des eaux de surfaces ou des nappes phréatiques.

1-4-1- Contamination de l'air : La dissémination des pesticides dans l'atmosphère se produit soit au moment de l'épandage, notamment lorsqu'ils sont pulvérisés, soit par évaporation, à partir des plantes sur lesquelles ils ont été répandu ou à partir du sol ou ils se sont déposés. Ainsi les procédés de pulvérisation et de traitement des produits jouent donc un rôle important dans la présence de résidus atmosphériques. Les pulvérisations aériennes sont les plus grandes sources de concentration de substances dans l'atmosphère. La présence des pesticides dans l'eau de Pluie indique une contamination de l'atmosphère mais seuls les éléments solubles se retrouvent dans l'eau de pluie.

Divers pesticides peuvent se trouver dans l'air à des concentrations parfois non négligeables et être transportés sur de grandes distances.

La présence des pesticides dans l'air dépend des caractéristiques du produit, sa dégradabilité type de surface, plantes ou animaux traités, des pratiques agricoles, du matériel de traitement, des conditions climatiques et pédologiques.

1-4-2- Contamination l'eau : Les pesticides et leurs résidus se retrouvent dans les eaux de surfaces (cours d'eau et étendues d'eau) ainsi que dans les eaux souterraines et marines. La pollution des eaux souterraines due aux pesticides est un problème mondial. Une fois que les eaux souterraines sont polluées par des produits chimiques toxiques, la contamination peut prendre plusieurs années pour se dissiper ou être nettoyée. Le nettoyage peut également être très coûteux et complexe.

Les eaux de surface destinées à la consommation ne contenaient que faibles concentrations des pesticides, rien ne semble indiquer que ces concentrations puissent présenter un danger significatif pour la santé.

Les pesticides trop préoccupants, car ils pourraient avoir des effets sur la santé et causé de maladies graves tel que le cancer et les maladies génétiques héréditaires.

Un grand nombre d'insecticides et quelques herbicides et fongicides, peuvent avoir un effet toxique pour les organismes aquatiques, et peut avoir un effet nuisible sur le milieu naturel. La commercialisation du poisson contaminé, peut également représenter une menace pour la santé humaine.

1-5- Effet des pesticides sur les espèces :

De nombreux pesticides sont toxiques pour les insectes bénéfiques, les oiseaux, les mammifères, les amphibiens et les poissons. L'empoisonnement de la faune sauvage dépend de la toxicité du pesticide, la quantité appliquée, la fréquence, le moment et la méthode de pulvérisation. Les animaux peuvent être intoxiqués par contact lors du traitement aérien, ou bien par ingestion. Les semences traitées par exemple, sont dangereuses pour la faune granivore et peuvent provoquer des mortalités importantes chez les populations d'oiseaux.

La faune est exposée aux pesticides en mangeant des aliments ou de l'eau contaminés, en respirant les vapeurs des pesticides ou par l'absorbation de ces derniers à travers leur peau. Les prédateurs peuvent être empoisonnés en mangeant des animaux qui ont été exposés aux

pesticides. Beaucoup d'insecticides affectent le système nerveux des animaux sauvages, ce qui peut interférer avec leur capacité à survivre ou à se reproduire.

Les pesticides peuvent passer à travers le placenta ou affecter les œufs des oiseaux ou des reptiles, ce qui cause des affaiblissements ou des défauts qui

Apparaissent plus tard dans la vie. Les herbicides, utilisés pour tuer les mauvaises herbes, affectent les plantes qui sont importantes pour la survie de la faune. Les poissons, les amphibiens et les insectes aquatiques sont spécialement susceptibles à la contamination de l'eau par les pesticides. Ceci affecte aussi les animaux comme les canetons qui dépendent de ces créatures pour survivre.

Les impacts précis des pesticides sur les populations de phytoplancton sont inconnus, mais parce qu'ils sont conçus pour tuer les plantes, les herbicides ont les impacts les plus importants, en outre, certains insecticides sont toxiques pour les plantes aquatiques. Les fongicides à base de cuivre sont hautement toxiques pour les organismes aquatiques, car le risque d'accumulation du cuivre dans les poissons et certains autres organismes aquatiques peuvent être élevé. Alors que Les insecticides chlorpyrifos et endosulfan ont la capacité de causer de sérieux préjudices aux amphibiens, à des concentrations présentes dans l'environnement inférieures aux conditions normales d'utilisation.

1-6- Effets des pesticides sur les produits agricoles :

L'association algérienne de la protection de l'environnement affirme que l'Algérie est un grand consommateur de pesticides, en effet 30 000 tonnes sont épandues chaque année. La moitié des fruits et des légumes - surtout les poivrons, piments, tomates, poireaux, laitues et épinards - vendus, contiendraient ces substances chimiques. Les fruits les plus touchés sont les fraises, lesMandarines et les raisins. Les résidus les plus fréquemment détectés sur les fruits et légumes sont les fongicides et les insecticides.

L'exposition de la population générale aux pesticides se produit principalement par la consommation d'aliments et l'eau potable contaminée par des résidus de pesticides, alors qu'une exposition importante peut également se produire dans ou à l'intérieur de la maison. L'ingestion d'eau contaminée par les pesticides représente également un danger potentiel pour les nouveau- né. Ce problème est particulièrement important avec les aliments lactés qui doivent être préparés avec de l'eau.

Certaines espèces peuvent absorber et concentrer des pesticides sans en subir de conséquences apparentes, du moins jusqu'à un certain point. Les prédateurs qui s'en nourrissent risquent alors l'intoxication, Les pesticides se concentrent tout au long de la chaîne alimentaire, selon la figure suivante :



Figure 3 : L'accumulation des pesticides

L'exposition aux pesticides se caractérise par plusieurs voies. L'exposition de la population générale se produit principalement par la consommation d'aliments et l'eau potable contaminée par des résidus de pesticides1, comme l'indique la figure suivante

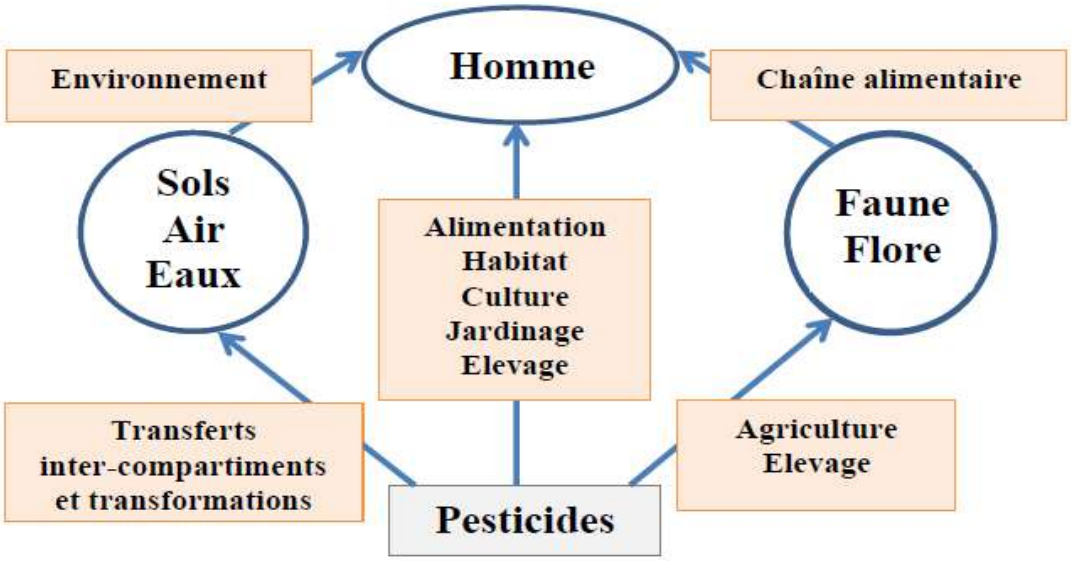


Figure 4 :

Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides

1-7-Risques des pesticides sur la santé humaine :

L'intoxication aux pesticides constitue un problème de santé publique dans plusieurs pays à travers le monde. La toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs tel que 1 :

1- La dose.

2- Le temps pendant lequel la personne est exposée.

3- Le degré d'absorption.

3- La nature des effets de la matière active et de ses métabolites.

4- L'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme et la "sensibilité" personnelle (antécédents, patrimoine génétique, etc....).

Le facteur principal qui conditionne la toxicité de ces produits concerne le mode de pénétration et le devenir du produit dans l'organisme, donc il faut retenir qu'il y a trois voies de contamination :

La voie cutanée et les muqueuses, la voie digestive, la voie respiratoire.

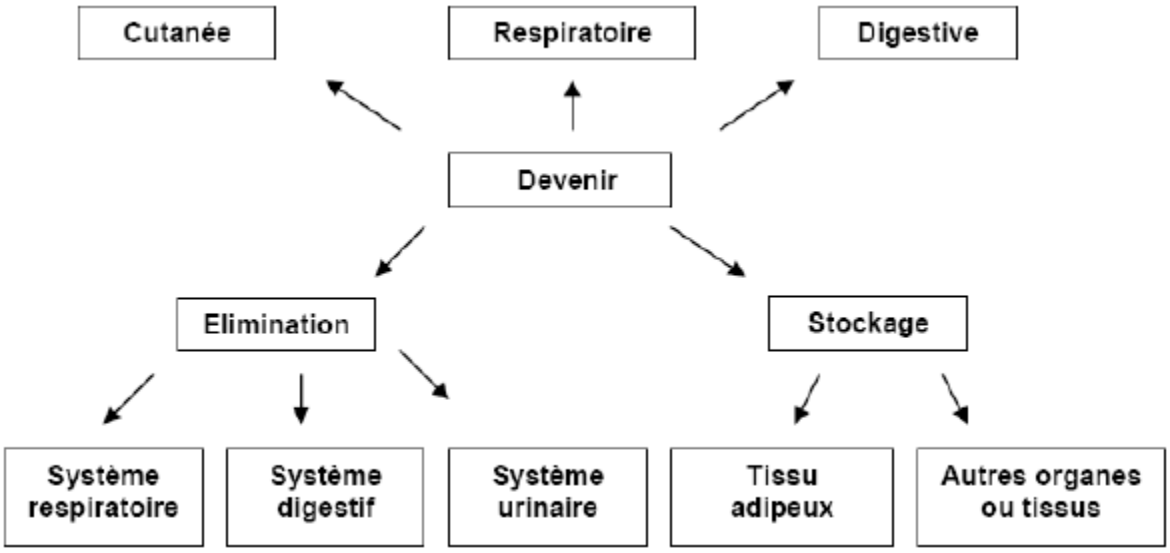


Figure 5 : Toxicologie et devenir des pesticides

1-8- Résidus et toxicité des pesticides :

Le risque d'intoxication pour l'homme résulte à la fois du danger lié à la toxicité de la substance active (toxicité aiguë et chronique), et de l'exposition aux pesticides (dose journalière absorbée, quantité de résidus présents), selon la figure ci-dessous, et les expériences en laboratoire permettent de quantifier ces notions.

La toxicité des pesticides peut être aigue et chronique :

1-8-1- Toxicité aiguë : Les effets aigus liés à une intoxication par les pesticides se manifestent immédiatement ou dans les quelques heures qui suivent une exposition importante. Il faut savoir que, pour les propriétés toxicologiques, les classes de danger sont attribuées à partir de DL50 de la substance active, c'est-à-dire de la toxicité aigüe, et des possibilités d'effets cancérogènes, mutagènes ou neurotoxiques. Une DL50 correspond donc à une dose qui provoque la mort de 50% d'un lot d'animaux d'un laboratoire. Plus DL50 sera élevée, moins le produit sera toxique. A l'inverse, un produit très toxique aura une DL50 faible - exprimée en mg/kg de poids vif.

La DL 50 orale est habituellement inférieure à la DL50 dermique ; puisque les pesticides peuvent pénétrer dans le flux sanguin plus facilement dans l'estomac que dans la peau, et la toxicité réelle d'un pesticide commercial est significativement affectée par la formulation. Par exemple, un pesticide hautement toxique devient plus toxique lorsqu'il est formulé comme concentré émulsionnable que sous forme de suspension de microcapsules.

1-8-2- Les symptômes d'une intoxication aigue par les pesticides : ils apparaissent fréquemment sous forme de Convulsions, vertiges et perte de coordination, des troubles digestifs (nausées, vomissements et diarrhées), tachycardie, et des troubles musculaires (contraction, crampes, paralysie) comme :

- **La maladie de Parkinson (PD) :** L'exposition chronique à faible dose aux pesticides est suspectée d'augmenter le risque de la maladie de Parkinson. Les personnes exposées aux pesticides avaient une incidence de PD à 70% plus élevée que celles qui ne sont pas exposées. PD est la maladie neurodégénérative la plus fréquente, elle se produit lorsque les cellules nerveuses du cerveau sont endommagées de sorte qu'elles ne produisent plus de dopamine, ce qui aide à contrôler le mouvement musculaire.

- **Les perturbations endocriniennes (PE) :** Les PE sont des substances chimiques dans l'environnement (xéno-chimiques) qui bloquent ou imitent l'action hormonale, contribuant à une large gamme de pathologies. L'action des pesticides PE est soupçonnée pour un grand nombre d'effets nocifs comme la baisse de la qualité et de la quantité du sperme humain, l'incidence des cancers des testicules et de la prostate (ou le DDT, comme anti-estrogène), l'augmentation des cancers du sein (vraisemblablement due à des organochlorés, à divers pesticides) et à la l'hypothyroïdie. Les travailleurs de l'agriculture sont les plus exposés aux perturbateurs endocriniens.

Les pesticides PE sont susceptibles d'affecter le développement sexuel avec une sensibilité particulière chez le fœtus et l'enfant. Généralement, les dommages se produisent au cours de la gamétogénèse et au stade initial du développement fœtal mais les effets n'apparaissent qu'à l'âge adulte.

- **Pesticides et cancer :** Des preuves épidémiologiques sur la relation entre les pesticides et le cancer sont examinées. Dans les études sur les animaux, de nombreux pesticides sont cancérogènes, par exemple les organochlorés et le sulfate, tandis que d'autres notamment les organochlorés, le DDT, Les pesticides sont considérés comme des produits chimiques toxiques, et malheureusement avec l'augmentation de l'utilisation de ces derniers afin d'élever le niveau de production, les êtres humains sont exposés de plus en plus aux maladies.

La toxicité des pesticides dépend de la dose, le temps d'exposition aux pesticides, le degré d'absorption, la nature des effets de la matière active et de ses métabolites.

1-9-Elemination et traitement des pesticides : L'élimination des pesticides représente un grand enjeu environnemental, étant donné l'étendue du problème qui se pose concernant la protection des ressources naturelles. La panoplie des techniques utilisables permet de bien adapter le traitement en fonction d'une part, de la nature de la pollution (accidentelle ou diffuse) et, d'autre part, des caractéristiques de l'eau à traiter. Il ne faut cependant pas perdre de vue que le traitement des pesticides, même s'il est efficace, n'est pas la seule solution : la mise en œuvre de politiques de réduction de l'utilisation des pesticides permettra de limiter la dégradation, non seulement de la qualité de l'eau, mais aussi, et plus généralement, de

l'environnement : la biodégradabilité lente de certains produits fait que l'on retrouve encore dans l'environnement des traces de DDT, pourtant interdit depuis 1972**.**Les pesticides s'écoulent dans les eaux de surface par ruissellement. Les eaux souterraines sont polluées par infiltration de ces produits dans le sous-sol. La biodégradabilité des pesticides dans le milieu naturel est variable ; certaines molécules disparaissent en quelques jours ou quelques mois, d'autres persistent durant plusieurs dizaines d'années. Les pollutions diffuses par les pesticides en particulier sont les plus étudiées parce que le flux de pesticides est plus important par rapport aux autres polluants.

Cette pollution engendre une diminution de la teneur en oxygène dissous, due à la décomposition de la matière organique par les bactéries, les organismes aquatiques vont donc en souffrir. L'oxygène dissous étant consommé, il ne reste place que pour la dégradation anaérobie, qui libère des gaz toxiques et nauséabonds.

Procédés de traitement de la pollution organique (pesticides) :

La dépollution des eaux usées nécessite très souvent une succession d'étapes faisant appel à des traitements physiques, physico-chimiques, chimiques et biologiques. En dehors de plus gros déchets présents dans les eaux usées, l'épuration doit permettre au minimum, d'éliminer la majeure partie de la pollution carbonée.

A- Coagulation-floculation-décantation.

Les premières étapes de coagulation-floculation-décantation d'une filière de potabilisation ont un effet peu significatif sur l'élimination des pesticides, même si quelques molécules, complexées avec la matière humique, peuvent être légèrement éliminées. Par exemple, le taux d'élimination de l'atrazine est de 12% en moyenne (Bouillot et coll., 1991). En aucun cas, il ne peut s'agir d'un traitement approprié aux pesticides afin de descendre sous la limite de 0,1 µg. L-1.

B- Procédés d'oxydation :

L'oxydation par des entités chlorées (chlore ou bioxyde de chlore).

C-Procédés membranaires :

Les procédés membranaires constituent une voie d'avenir dans le traitement de l'eau. Parmi les différentes technologies, la nano filtration semble la plus adaptée pour un traitement des pesticides. Les performances vis-à-vis des pesticides semblent dépendre fortement du type de membrane utilisé. Hefman et coll. (cité par Mandra et coll., 1993**)[64],** notent une élimination de plus de 90% sur une membrane pour 4 pesticides étudiés alors que les trois autres membranes de l'étude retiennent au maximum 50% du diuron et 80% de la simazine.

D-Adsorption :

Le matériau Le matériau adsorbant le plus répandu est le charbon actif. Celui-ci peut s'employer sous diverses formes (charbon actif en poudre, en grain ou, plus récemment, sous forme de tissus), seul ou combiné avec d'autres procédés (oxydation, membranes, support biologique). Longtemps employé pour lutter contre les goûts et les odeurs, il est maintenant reconnu que ses propriétés absorbantes touchent un spectre très étendu de pesticides.

Conclusion :

L'Algérie est devenu un grand consommateur de pesticides, dans le but d'augmenter la production agricole et couvrir la demande Les pesticides ont un impact négatif sur l'environnement, en réalité il existe des animaux et des insectes qui doivent être présent dans notre vie ; afin de garder l'équilibre environnemental, mais parce qu'ils se nourrissent sur les légumes et les fruits qui contiennent des substances chimiques ils disparaissent de l'existence. Il y a aussi des plantes utiles pour la vie humaine mais malheureusement les herbicides utilisés pour tuer les mauvaises herbes exprimées sur les fruits et les légumes. L'utilisation des pesticides est un risque majeur pour l'environnement, car l'application de ces derniers a contaminé les composantes de notre environnement tel que la santé humaine, la faune et la flore, les eaux, le sol et l'air.

Les pesticides ont un impact négatif sur l'environnement, en réalité il existe affectent. Les pesticides ont connu un développement dans le monde, et leur utilisation augmente de plus en plus surtout dans les pays développés. Il existe trois grandes familles pesticides : les insecticides, les fongicides et les herbicides, ils sont les plus utilisés pour protéger et améliorer les cultures maraichères.

La plasticulture est un type d'agriculture qui nécessite l'utilisation des pesticides, parce que le climat de la serre est le milieu approprié pour les différentes maladies des plantes, donc impossible d'avoir une bonne production agricole sans avoir recours aux pesticides. Chaque famille des pesticides contient plusieurs types, et le choix de ces derniers dépend des plantes, des ravageurs et des maladies. Il faut que les agriculteurs sachent faire la différence entre les pesticides et aussi il faut qu'ils connaissent les types appropriés pour chaque légume ou fruits.

Les pesticides ont des avantages par rapport au volume et la qualité de la production, mais malheureusement les inconvénients de ces produits chimiques dépassent leurs utilités, car ils sont la cause de plusieurs maladies chez l'être humain, et des fois ils sont la raison du

Déséquilibre environnemental.

Chapitre 2 :

Lesbiosurfactants

Chapitre 2 : les biosurfactants

2-1-Définition

Les surfactants (SURFaceACTiveAgeNTS) sont des agents à activité de surface (tensioactifs), synthétisés chimiquement ou par voie biologique (biosurfactants). Ces molécules de haute énergie se répartissent à l'interface entre liquides non miscibles réduisant ainsi l'énergie libre du système et formant des microémulsions des solutions aqueuses ou des mélanges d'hydrocarbures. Les biosurfactants sont des composés amphiphiles, c'est-à-dire qu'ils contiennent à la fois une partie hydrophile (tête) et une partie hydrophobe (queue). Ils ont pour propriété de diminuer la tension interfaciale en s'adsorbant àl'interface entre deux composés immiscibles, solide-liquide, liquide-liquide ou gaz-liquide immiscibles (Laha et al. 2009 ; Luna et al. 2013 ; Volkering et al. 1997)[64].

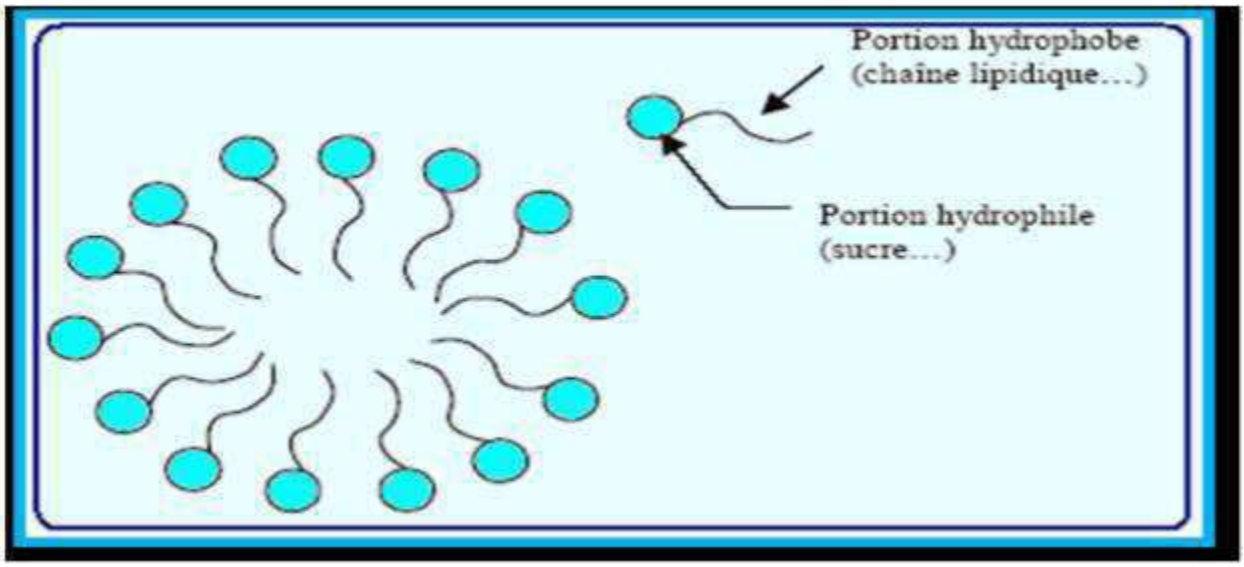


Figure 6 : Représentation schématique d'une micelle de biosurfactant (Gabet, 2004) [64].

2-2-Classification

Les biosurfactants sont classés suivant la nature biochimique du surfactant produit par le Micro-organisme. On distingue cinq grandes classes de biosurfactants : les glycolipides, les

Lipopeptides, les phospholipides, les liposaccharides et les lipides neutres (Healy et al, 1996). [73].

Les glycolipides : sont constitués d'hydrates de carbone en combinaison avec une longue Chaîne d'acides aliphatiques ou d'acideshydroxyaliphatiques. Les glycolipides les plus étudiés Sont les rhamnolipides, les tréhalolipides et les sophorolipides (Ron et Rosenberg, 2002)

Les lipopeptides : sont composés d'un lipide attaché à une chaîne polypeptidique. Les lipides D'ornithine sont les plus connus (Healy et al, 1996). [73].

Class/type de biosurfactant	Microorganismes
Glycolipides	*Pseudomonas aerugenosa*
Rhamnolipides	*Torulopsisbombicola .T.apicola*
Sophorolipides	*Rhadococcuserythroplis,mycobacteriumsp*
Trehalolipides	
Lipopeptides et lipoprotéines	
Peptide-lipide	*Bacillus lichniformis*
Viscosin	*Pseudmonasfluorescens*
Serrawettin	*Serratiamarcenscens*
surfactin	*Bacillus sobtillus*
Subtilisin	*Bacillus sobtillus*
Gramicidin	*Bacillus brevis*
Polymyxin	*Bacillus polymyxia*
Lipides neutres et phospholipides	
Lipides neutres	*Corynebacteriumlepus*
	Nocardiaerythropolis
Phospholipides	*Thiobacillusthiooxidans*
Tensioactifs polymères	
Emulsions	*Acinetobactercalcoaceticus*
Biodispersant	*Acinetobactercalcoaceticus*
Liposan	*Candida lipolytica*
Lipide-proteinecarbohydraté	*Pseudmonasfluorescens*
Lipide-proteinemannane	*Candida tropicalis*
Tensioactifs particuliers	*Acinetobactercalcoaceticus*
Vesicles	

Tableau 3 : Principaux types de surfactants biologiques

Les biosurfactants sont reconnus pour être non toxiques, biodégradables et peuvent Être utilisés dans des conditions extrêmes (BANATetal. 2000).[69] C'est pourquoi ils peuvent Être utilisés dans de nombreux domaines. Cependant, il semblerait que les biosurfactants Soient principalement utilisés par l'industrie pétrochimique (CHRISTOFI et IVSHINA, 2002). [70].

2-3- Production des biosurfactants :

Le succès de l'utilisation et la production des biosurfactants passe par une diminution Des coûts de production. Cette diminution pourra être atteinte grâce à la valorisation de Substrats de croissance de produits à faible coût. Par exemple, MAKKAR etCAMEOTRA (2002)[2], indiquent qu'il est possible d'utiliser des déchets et des produits agricoles d'une partPour diminuer les coûts, mais aussi pour diminuer les quantités de déchets à traiter de diverses entreprises (huiles de moteurs usagées…). Une étude réalisée par MERCADE etMANRESA (1994)[80],reporte des taux de production de rhamnolipides de 1,4 g.L-1pour des Pseudomonas cultivées sur des sous-produits industriels.

2-3-1- Microorganismes producteurs :

Les biosurfactants sont principalement produits par des micro-organismes se développant de manière aérobie dans un milieu aqueux contenant une ou plusieurs sources de carbone, comme les hydrates de carbone, les huiles ou les hydrocarbures. Ces microorganismes sont en général des levures, des champignons ou des bactéries.

Le principal rôle physiologique du biosurfactant est de permettre aux microorganismes De se développer sur des substrats insolubles en réduisant la tension inter faciale entre l'eau et le substrat, rendant ce dernier plus facilement accessible (MATA SANDOVAL etal., 2000).[81]

Les bactéries utilisées pour produire les biosurfactants sont en général issues de sols Contaminés par des molécules hydrophobes comme les HAP. Elles sont donc isolées de leur Milieu naturel et sont cultivées en laboratoire. Ceci permet de faire des tests pour choisir laMeilleure source de carbone et d'optimiser les milieux de culture afin d'obtenir un taux deProduction maximum. Dans tous les cas, le biosurfactant obtenu est un mélange de plusieursMolécules. Par exemple dans le cas du biosurfactant produit par une souche *de* ***Pseudomonas aeruginosa*** *UG2*, on obtient un mélange de quatre rhamnolipides (VAN DYKE etal., 1993)[85]. Bien que de nombreuses espèces produisent des biosurfactants, la régulation de leursynthèse est encore mal connue, sauf pour les souches de ***Pseudomonas aeruginosa*** et *Bacillu*s qui sont actuellement les bactéries les plus étudiées (BANATetal., 2000)[69] La Biosynthèse des rhamnolipides par des souches de ***Pseudomonas aeruginosa*** se réalise Pendant la phase exponentielle de croissance. Les molécules de biosurfactant sont associées Aux membranes des bactéries et sont aussi secrétées dans le milieu (THANGAMAN etSHREVE, 1994)[84].

2-3-2- Paramètres influençant la production :

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

2-3-2-a. 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, comme des n-alcanes ou de l'huile d'olive (DESAI et BANAT, 1997)[69]. En effet, les bactéries ont la capacité de croître sur des substrats hydrophobes (CAMEOTRA et MAKKAR, 1998) [2].

2-3-2-b. Influence de l'azote :

De nombreuses études ont montré que la synthèse de rhamnolipides se produisait Lorsqu'il y avait un excès de carbone dans le milieu ou lorsque l'azote peut être apporté sous différentes formes selon les bactéries productrices (LANG et WULLBRANDT, 1999). [79]

Pour avoir des rendements de production optimum, il est donc nécessaire d'avoir un Rapport C/N idéal, et surtout que l'azote soit un facteur limitant (stress) pour favoriser la Production de biosurfactant (GABET, 2004). [72]

2-3-2-c. Influence du pH :

Pour une souche de ***Pseudomonas aeruginosa***, le pH du milieu de culture doit se situer Entre 6,0 et 6,5. A des pH inférieurs ou supérieurs, la production de biosurfactants chute Rapidement. D'autres souches comme ***Norcardiacorynbacteroides***sont inaffectées par des pH variant de 6,5 à 8,0.

2-3-2-d. Influence des sels minéraux :

Il semblerait qu'une concentration limitante en ions magnésium, calcium, potassium Sodium ou éléments traces induise une augmentation de production en petite quantité.

2-3-2-e. 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.

2-3-2-f. Influence de la vitesse d'agitation :

Les milieux de culture sont agités lors de la production de biosurfactant. Pour les Bactéries, une augmentation de la vitesse d'agitation induit une augmentation des vitesses De cisaillement et donc un rendement moindre. L'effet inverse est observé lorsque les Organismes producteurs sont des levures (DESAI et BANAT, 1997). [1]

2-4-Extraction des biosurfactants du milieu de croissance :

Pour extraire le biosurfactant du milieu de croissance, il est d'abord nécessaire de séparer les Bactéries de ce milieu de culture (par centrifugation ou par solvants : chloroforme/méthanol, butanol, acétate d'éthyle, etc. ou des techniques reposant sur la précipitation du biosurfactant. Ces extractions peuvent ont par exemple). La récupération des biosurfactants dépend principalement de leur charge ionique, de leur solubilité et de leur localisation (intracellulaire, extracellulaire ou lié aux cellules). Les techniques les plus utilisées sont des extractions par solvants : chloroforme/méthanol, butanol, acétate d'éthyle, Figure 02 : Représentation schématique d'une micelle de biosurfactant (GABET, 2004). etc. ou des techniques reposant sur la précipitation du biosurfactant. Ces extractions peuvent être réalisées directement ou après sédimentation des cellules productrices (DESAI et BANAT, 1997).

2-5- Propriétés physico-chimiques des biosurfactants

2-5-1-Concentration Micellaire Critique (CMC) :

La CMC est par définition la concentration en solution d'un agent de surface au-dessus De laquelle une partie des molécules dispersées au sein de la solution se rassemblent pour Former des micelles. Les micelles se forment lorsque les portions hydrophobes, incapables de former des Liaisons hydrogène en phase aqueuse, créent une forte augmentation de l'énergie libre du Système. Une façon d'abaisser cette énergie est d'isoler la partie hydrophobe de l'eau par Adsorption sur des matrices organiques ou de former des micelles (HAIGH, 1996).[78]

En effet, dans les micelles, les parties hydrophobes se regroupent vers le centre, et les portions hydrophiles restent en contact avec l'eau.

La CMC peut également être définie comme étant la concentration pour laquelle la Tension superficielle devient minimale (environ 30 mN.m-1en solution aqueuse). Pour de Nombreux biosurfactants, la tension superficielle minimale est à peu près identique mais là CMC varie en fonction de leur structure. Les CMC obtenues pour les biosurfactants varient de 1 à 200 mg. L-1.

La CMC d'un biosurfactant varie avec sa structure, la température de la solution, la Présence d'électrolytes ou de composés organiques (EDWARDSetal., 1991). [77]

Les effets des électrolytes sur la CMC sont plus prononcés pour les biosurfactants Ioniques. La variation de la taille de la région hydrophobe est un facteur important et en Général, la CMC diminue lorsque le caractère hydrophobe du surfactant augmente (HAIGH, 1996). [78]

2-5-2- Structure des biosurfactants et paramètres influençant leur micellisation Les micelles de biosurfactants s'arrangent en différentes microstructures sphériques, globulaires ou cylindriques, mais des vésicules sphériques et irrégulières, des bicouches tubulaires ou structure lamellaires sont le plus souvent rencontrées

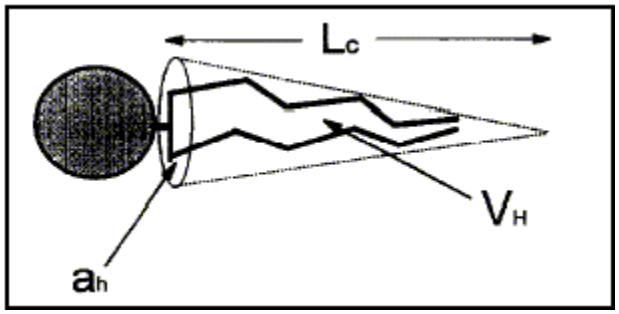


Figure 7 : Représentation schématique d'une molécule de biosurfactant**.**

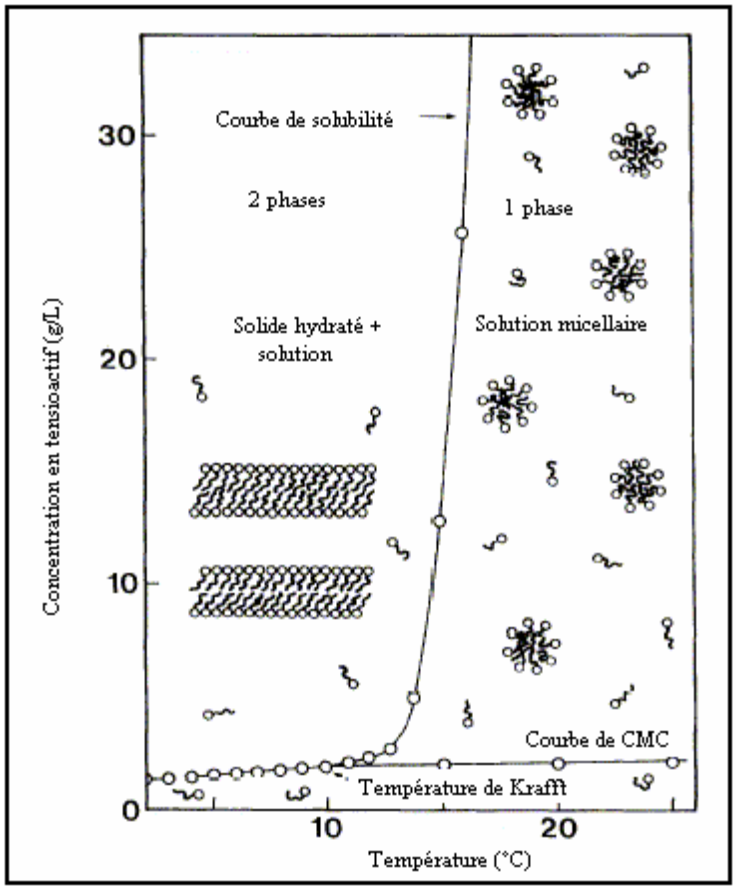


Figure 8 : Solubilité d'un biosurfactant ionique en fonction de la température

Le volume intérieur des micelles dépend de la forme des micelles et du nombre d'agrégation (nombre de monomères constituant la micelle). Généralement, il faut de 50 à 100 Monomères pour former une micelle (CHRISTOFI et IVSHINA, 2002).[70]

Le nombre d'agrégation augmente quand l'aire de la section transversale de la partie Hydrophile (ah) diminue Représente la longueur de la chaîne hydrophobe et VHle volume occupé par celle-ci.

La forme de la micelle dépend également de la structure du biosurfactant. À l'aide d'une Approche géométrique, la forme de la micelle peut être déterminée par le rapport VH/(ah*Lc), Si ce rapport est inférieur à 1/3, la micelle est de forme sphérique (BAI et al., 1998).[75]

Quand le nombre d'agrégation augmente, le volume intérieur de la micelle augmente.

La morphologie des agrégats varie avec le pH, la concentration en biosurfactant, la concentration en biosurfactant, la température ou la force ionique.

2-5-3- Solubilité des biosurfactants en fonction de la température :

Pour les biosurfactants ioniques, la courbe représentant la solubilité en fonction de la Température fait apparaître un comportement irrégulier : à partir d'une certaine température **Tk**, dite température de Krafft, la solubilité augmente brusquement. Sur ce même graphe, la courbe représentant la CMC en fonction de la température a été ajoutée.

En dessous du point de Krafft, la solubilité est faible ; elle est uniquement due aux Monomères présents en solution. Lorsque ces derniers atteignent la saturation (à la CMC), le biosurfactant précipite sous forme de solide hydraté. Au-dessus de Tk, la solubilité croît Rapidement avec la température : ceci est lié à la formation de micelles puisque l'activité desMicelles reste constante.

Ce sont les micelles qui font croître la solubilité. Le biosurfactant se retrouve à la fois Sous forme de micelles et de monomères (GABET, 2004). [72]

Les biosurfactants non ioniques ne présentent pas de température de Krafft, mais se Caractérisent par une température appelée point de trouble (GABET, 2004). [72]

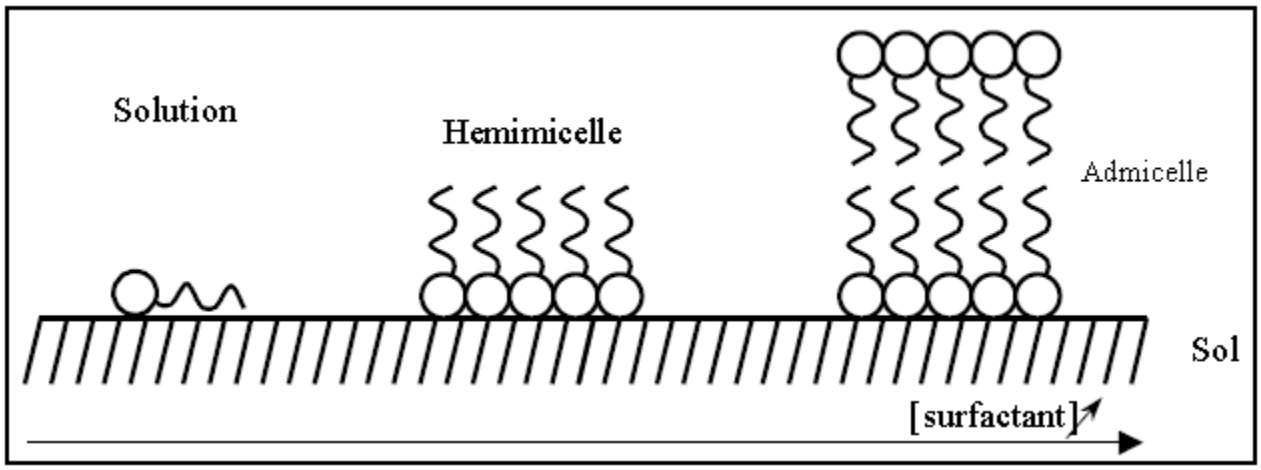


Figure 9 : Représentation schématique de l'adsorption de biosurfactant sur un sol

2-5-4- Sorption des biosurfactants sur les solides :

Les biosurfactants utilisés lors des traitements de sols pollués voient leur efficacité Diminuer suite à deux phénomènes principaux : la précipitation du biosurfactants ou là Sorption de ce dernier au sol. Ces deux phénomènes aboutissent à une réduction en phase Aqueuse de la concentration active en surfactant pour mobiliser et transporter les contaminants organiques dans les sols et parallèlement à une augmentation des coûts de dépollution (WEST et HARWELL, 1992). [86]

L'adsorption résulte d'interactions "énergétiquement" favorables entre l'adsorbat (le Sol) et le soluté. C'est un processus complexe car il peut être influencé par tout composé Solide, solvant ou soluté présent dans le système. Cette adsorption peut-être de nature Physique ou chimique, la différence entre les deux dépendant de la nature des forces mises en jeu

(KARICKHOFFetal., 1979 ; SOMASUNDARAN et KRISHNAKUMAR, 1997). Plusieurs auteurs (ABDUL et GIBSON, 1991[74] ; WEST et HARWELL, 1992. [83]

EDWARDS et al. 1994) [77] travaillant avec des surfactants chimiques anioniques ont proposé unmodèle selon lequel l'adsorption des surfactants comprendrait trois étapes.

La première serait un recouvrement partiel de la surface des sols ou sédiments par des Monomères. Cette étape est contrôlée par des interactions électrostatiques entre les Monomères anioniques du surfactant et les sites de surface de charge opposée. Au fur et à Mesure de l'augmentation de la concentration en surfactant, les monomères s'auto-associent sous l'effet de forces électrostatiques et hydrophobes, pour donner des hémimicelles puis des admicelles.

Une fois que la concentration en surfactant sorbé à la surface du sol est maximale, tout Ajout supplémentaire de surfactant restera en solution pour solubiliser les HAP.

Le type de surfactant influe sur sa sorption. SOMASUNDARAN etKRISHNAKUMAR (1997) [83] indiquent que l'adsorption des surfactants non ioniques diffère de celle des surfactants ioniques du fait de l'absence d'interactions électrostatiques.

Les biosurfactants anioniques sont préférentiellement choisis lors des traitements de sols pollués car ils se sorbent moins aux surfaces minérales, mais ils ont la particularité de Précipiter et de déstabiliser les particules fines des sols.

2-5-5- Toxicité et biodégradabilité :

Des tests de toxicité réalisés par HABA et al ont montré que les rhamnolipides Produits par une souche de ***Pseudomonas aeruginosa*** étaient classés comme produits non Irritants et non toxiques.

Une étude réalisée par DESCHENESetal., (1996)[76] reporte que l'UG2, biosurfactant Produit par une souche de ***Pseudomonas aeruginosa*** n'affectait pas l'activité microbienne Globale, même à de fortes concentrations. Ces auteurs indiquent de plus que ce biosurfactant était biodégradable.

2-5-6- Remobilisation des HAP par utilisation des biosurfactants :

Bien qu'utilisés dans de nombreux domaines, les surfactants d'origine biologique Voient une utilisation de plus en plus prometteuse dans les techniques de remédiation des sols (GABET, 2004). [72]

La remédiation assistée par les biosurfactants présente de nombreux avantages. WEST Et HARWELL (1992) [86] indique que les biosurfactants cationiques se sorbent fortement aux Sols. Or, les molécules d'origine biologique ont le plus souvent un caractère non ionique ou anionique qui les rend moins sensibles à la sorption sur les sols. De plus, ils ont des CMC Moindres que leur homologue chimique, ce qui les rend efficaces à de plus faibles Concentrations. Enfin le caractère peu toxique et biodégradable des biosurfactants facilite leur utilisation.

2-6- Modes d'action

Les biosurfactants agissent de façons différentes : par mobilisation et par solubilisation.

2-6-a. Mobilisation Par définition, la mobilisation dépend de la capacité des biosurfactants à diminuer les Tensions inter faciales entre les NAPL (non aqueuse phase liquides) et l'eau lorsque les Molécules de tensioactifs se partagent à la surface du NAPL (MC CRAY et al. 2001). [82]

La mobilisation se subdivise en deux étapes : une étape de déplacement et une étape De dispersion. Le déplacement correspond à la libération des gouttes de NAPL du milieu poreux grâce à la réduction des tensions inter faciales. La dispersion est le processus au cours Duquel les NAPL se dispersent dans la phase aqueuse sous forme de fines émulsions (BAIet Al., 1997). [75]

2-6- b. Solubilisation

La solubilisation est le mode d'action privilégié pour traiter les sols ; elle résulte de la Formation de micelles. La solubilisation est basée sur la capacité des solutions micellaires à Augmenter la solubilité des contaminants hydrophobes (GABET, 2004).[72]

Généralement, en deçà de la CMC, les monomères en solution n'ont pas ou peu D'effets sur la plupart des hydrocarbures. Au-dessus de la CMC, le phénomène d'incorporation des hydrocarbures dans les Micelles apparaît, permettant ainsi une augmentation de leur solubilité apparente (GABET, 2004).[72] Ainsi, pour que les micelles se forment, il faut ajouter suffisamment de biosurfactant Pour que la concentration en phase aqueuse atteigne la CMC réelle. La sorption dépend donc De la concentration de biosurfactant en solution (VAN DYKE etal., 1993)[85]. BAI et al. (1998)[75] indiquent qu'à de fortes concentrations, la solubilisation est le mécanisme principal

2-7-Extraction des biosurfactants du milieu de croissance :

Pour extraire le biosurfactant extracellulaire du milieu de croissance, il est d'abord nécessaire De séparer les bactéries de ce milieu de culture (par centrifugation par exemple). Il est bien connu que la majorité des produits de fermentation sont libérés dans la phase Aqueuse diluée. Par conséquent et dans plusieurs cas, le processus précité comprend environ 60% du rendement total du produit. Dus à des considérations économiques, la majorité des Applications de biosurfactants fait appel soit à la culture microbienne en bouillon ou bien la préparation brute. De plus, l'interférence due à la présence d'autres substances dans l'activitédes préparations de biosurfactant brut est négligée (kosraic et al. 1993). [71]

Le choix de la méthode de récupération d'un biosurfactant particulier, dépends de sa charge Ionique, de sa solubilité dans l'eau ainsi que du fait qu'il soit lié à la cellule ou extracellulaire.

Les méthodes utilisées sont listées dans le tableau au-dessous. Ça comprend l'extraction aux Solvants organiques, l'adsorption suivie d'extraction aux solvants, la précipitation, la Cristallisation, la centrifugation, le fractionnement de mousse. La majorité des

biosurfactantsSont secrétés dans le milieu, et isolés après filtration ou bien suite à une centrifugation qui Élimine les cellules (kosraic et al. 1993). [71]

Méthodes
a. Extraction à partir d'une fermentation en batch - Extraction aux solvants - Cristallisation - Précipitation au sulfate d'ammonium - Précipitation acide - Précipitation éthanol-acide acétique - Précipitation acétone
b. Extraction à partir d'une fermentation continue - Centrifugation - Séparation de mousse et précipitation - Diafiltration et précipitation - Adsorption

Tableau 4 : les méthodes communes employées dans la récupération de biosurfactants

Les méthodes discutées au-dessous pour la récupération de biosurfactants sont bien étudiées Et classiquement utilisées dans le recouvrement de plusieurs produits de la biotechnologie.

Il est possible d'extraire les glycolipides comme précipités ou cristaux à partir du surnageant D'une culture de *Pseudomonasaeruginosa* par addition d'acide suivie d'une incubation à Basse température. Récemment, les glycolipides produits par une population microbienne mixte et les rhamnolipides formés par P. aeruginosa et Candida lipolytica ont été isolés par Acidification du surnageant de la culture puis une extraction aux solvants organiques tels que Le mélange chloroforme-méthanol ou bien l'éthyl acétate. (kosraic et al, 1993). [71]

La récupération de plusieurs substances à activité de surface par précipitation été documenté dans la littérature. C'est le cas pour la surfactine synthétisée par Bacillus subtilis et la pseudosurfactine synthétisée par B. lichenoformis. (kosraic et al, 1993)[71]

Rôle des biosurfactants pour la bactérie :

Le principal rôle physiologique du tensioactif est de permettre aux micro-organismes de se Développer sur des substrats insolubles en réduisant la tension interfaciale entre l'eau et le Substrat, rendant ce dernier plus facilement accessible (Fiechter, 1992 ; Mata-Sandoval et al, 2000). [72]

2-8- Utilisation des biosurfactants :

Les biosurfactants sont reconnus pour être non toxiques, biodégradables et peuvent être Utilisés dans des conditions extrêmes (Banat et al, 2000)[69]. C'est pourquoi ils peuvent être

Utilisés dans de nombreux domaines. Cependant, il semblerait que les biosurfactants soient Principalement utilisés par l'industrie pétrochimique (Christofi et Ivshina, 2002)[70]

Fonction	**Champs d'application**
Emulsifiant et dispersant	Cosmétiques, peintures
Solubilisant et micro-émulsions	Pharmaceutique, articles de toilette
Agent mouillant et pénétrant	Pharmaceutique, industrie textile, peinture
Détergent	Nettoyants ménagers, produits de L'agriculture ou de haute technologie
Agent moussant	Cosmétiques, articles de toilette, flottation De minerais
Dispersant	Séparation des mélanges goudron/pétrole où Goudron/eau
Aide à la croissance bactérienne	Fermentation

Tableau 5 : Utilisations potentielles des biosurfactants

2-9- Application biomédicale et thérapeutique et activité antimicrobienne des biosurfactants :

Selon Sneha (2012)[71], plusieurs biosurfactants ont montré une action antimicrobienne contre Des bactéries, des algues, des champignons ainsi que des virus.

Le lipopeptide iturine de Bacillus subtilis avait montré une activité antifongique L'inactivation de l'enveloppe virale de l'herpès et du rétrovirus était observée avec 80 mM of surfactine (Vollenbroich et al, 1997). [71]

Les Rhamnolipides répriment la croissance d'algues nocives à la floraison des arbres tels queHeterosigmaakashivo and Protocentrumdentatum à des concentrations variant de 0.4 à 10.0mg/l.

Un mélange de rhamnolipides obtenue de Pseudomonas aeruginosa a montré une activité Inhibitrice contre les bacteries Escherichia coli, Micrococcusluteus et Alcaligenesfaecalis (32 mg/ml), Serratiamarcescens et Mycobacteriumphlei (16mg/ml) ainsi queStaphylococcusepidermidis (8 mg/ml) en plus d'excellentes propriétés antifongiques contre Aspergillus niger (16 mg/ml), Chaetoniumglobosum, Penicillium crysogenum,

Aureobasidiumpullulans (32 mg/ml) et les phyto-pathogènes Botrytis cinerea and Rhizoctoniasolani(18mg/ml) (Kosaric et Al, 1993).[71]

Les rhamnolipides et sophorolipides ont montré leur efficacité en tant qu'agents antifongiques contre les phyto-pathogènes des graines. Un surfactant glycolipide de Candida antartica, montré une activité antimicrobienne particulièrement contre les bactéries à Gram positif.

Conclusion : Les surfactants sont des agents à activité de surface synthétisés chimiquement ou par voie Biologique (biosurfactant). Ces molécules sont principalement produites par des microorganismes Qui se développent de manière aérobie dans un milieu contaminé contenant une ou Plusieurs sources de carbone.

Les biosurfactants constituent une classe de molécules biologiques ayant divers Intérêts dans plusieurs domaines, allant de l'industrie agro-alimentaire, chimique, cosmétique, Pharmaceutique…etc., à l'application dans domaines plus critiques ; biomédicale et thérapeutique.

Dans notre travail on s'intéresse à la dégradation des pesticides par un biosurfactant produit par des souches microbiennes.

Chapitre 3

Partie expérimentale

Chapitre 3 : partie expérimentale

3-1-introduction :

Notre travail est focalisé sur la production des biosurfactants en utilisant trois souches bactériennes dans le but de faire la dégradation des pesticides en milieux aqueux.

Mais malheureusement on n'a pas pu arriver à cause de la situation du pays, alors nous allons parler uniquement sur la production du biosurfactant qu'on a fait.

3-2-materiel et méthodes :

3-2-1-microrganismes utilisés :

Dans notre travail nous avons utilisé trois souches connues pour faire la production de notre biosurfactant

3-2-1-a-*pseudomonas aerugenosa ATCC1919* : autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique, bacille du pus bleu ou pyo, est une bactérie gram-négative du genre Pseudomonas .Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature mono triche ; dépourvus de spore et de capsule.la culture de cette bactérie sur une gélose nutritive donne des colonies verte ou un pigment vert avec une odeur piquante.la figure suivante montre l'aspect de cette bactérie.



Figure 10 : aspect du *Pseudomonas aeruginosa*ATCC 27853sur GN

3-2-1-b-*klebtiellapneumoniae* ATCC25922: Le genre *klebtiella,*de la famille des entérobactéries ,comporte cinq espèces dont l'espèces –type est *klebtiellapneumoniae* qui est la plus fréquente des bactéries a gram-négatif .cette bactérie est fréquemment isolée de l'environnement (eaux usées ,sol,…ext).la culture sur une gélose nutritive donne des colonies d'aspect muqueux comme le montre la figure suivantes.



Figure11 : aspect de *klebtiellapneumoniae ATCC25922*

3-2-1-c-souche teste *La Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644 :*

La Marinobacterhydrocarbonoclasticus a été isolée d'un milieu marin contaminé par les hydrocarbures au niveau du port de Khmisti, c'est une bactérie gram-négative en forme de batonnet,qui n'est Pas capable de sporuler ,extrêmement halotolérante ,elle peut pousser dans un environnement avec une concentration de Na cl de 0,08 à3,5M.les bactéries se développent habituellement et vivent dans un environnement a une température de 10 à 45 C° et un pH de 6 à9,5.

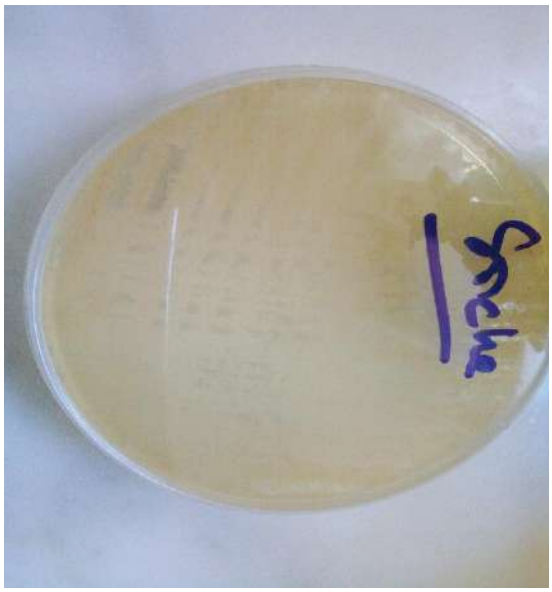


Figure11 : aspect de la Marinobactercarbonohydroclasticus SdK644

***Réactifs chimiques utilisés :**

***Appareillage :** bain-marie, balance, spectrophotomètre UV –visible, autoclave, balance, agitateur magnétique.

***Verrerie :** fioles, béchers, flacons stérilisés,

3-3-Caractérisation de l'échantillon :

Les pesticides utilisé dans notre étude sont des produits fournis par (la direction des forêts, et la DDA de Médéa), sont les plus utilisés en Algérie.

3-3-1-Metrixon (métribuzine 70%) : Herbicide sous forme de poudre granulée

3-3-2-lazer (lambda-cyhalothrine 5% + pyrimicarbe 10%) : Insecticide sous forme d'une émulsion.

3-3-3- Acetamipride 20% insecticides Sous forme de poudre.

Les caractéristiques physico-chimiques de ces produits sont présentées dans le (tableau4

Pesticides	Metribuzine	Lambda-cyhalothrine + pyrimicarbe	Acetamipride
La famille chimique	Traizines	Pyréthrinoïdes + carbamates	Néonicotinoïdes
La formule chimique	$C_8H_{14}N_4OS$	$\underline{C_{23}H_{19}ClF_3NO_3}$ + $\underline{C_{11}H_{18}N_4O_2}$	C10H11CLN4
La masse molaire (g /mol)	214.3	449.85 + 238.28	222.67
Solubilité dans l'eau a 20C°	1.05 g/l	3.0 ml /l	4.25g/l
Longueur d'onde ƛ (nm)	295	282.5	244

Tableau 6 : caractéristiques des pesticides utilisés

3-4-Etablissement des courbes d'étalonnages :

Avant d'établir les courbes d'étalonnages du métribuzine 3, lazer et acétamipride par spectrophotomètre, balayage est nécessaire afin de déterminer les longueurs d'ondes maximales d'adsorption qui sont, 295 nm d'herbicidemétribuzine, et 282.5 nm pour l'insecticide lazer, et 244 nm pour le pesticide Acétamipride.

Pour tous les composés étudiés, nous avons procédé la même méthode qui consiste à préparer d'abord une solution mère de concentration connue, à partir de laquelle nous préparons par dilution successives, une série de solutions de concentrations bien déterminées

✓ **Pour la métribuzine :**

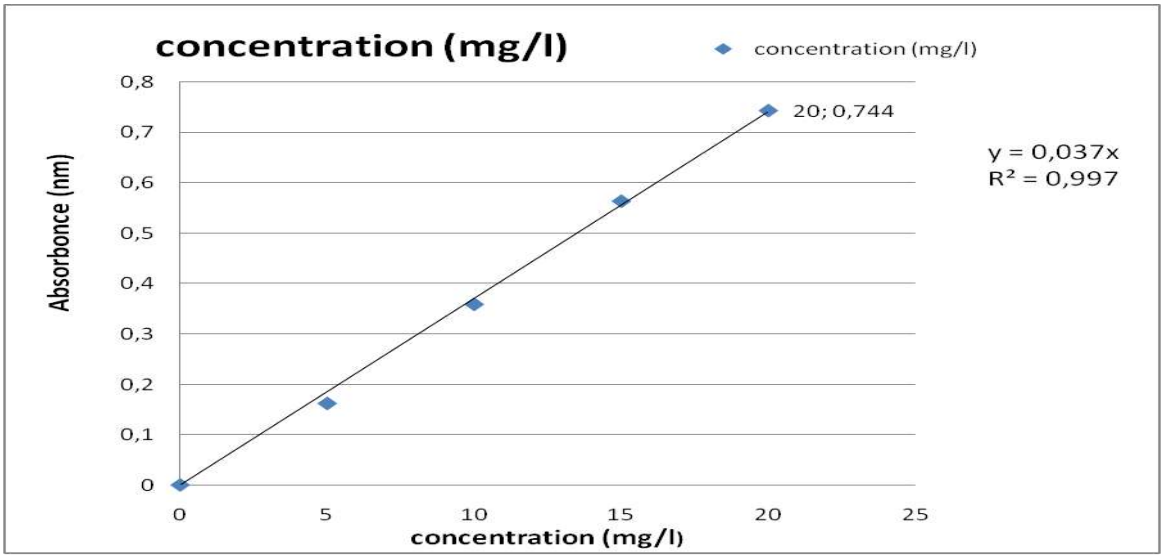


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de metrixone

✓ **Pour lazer :**

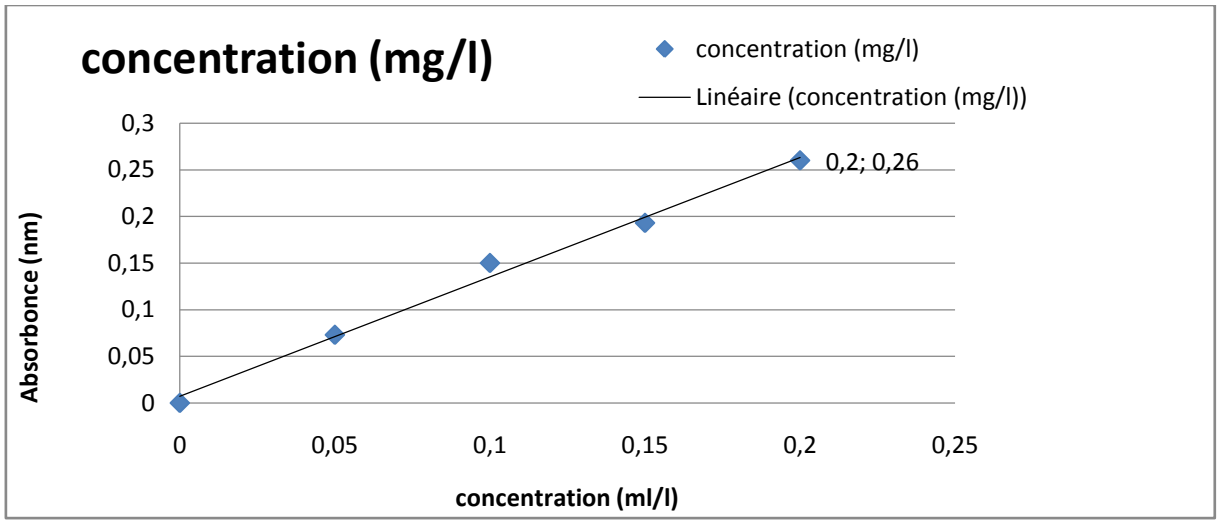


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de lazer

- ✓ **Pour l'acétamipride :**

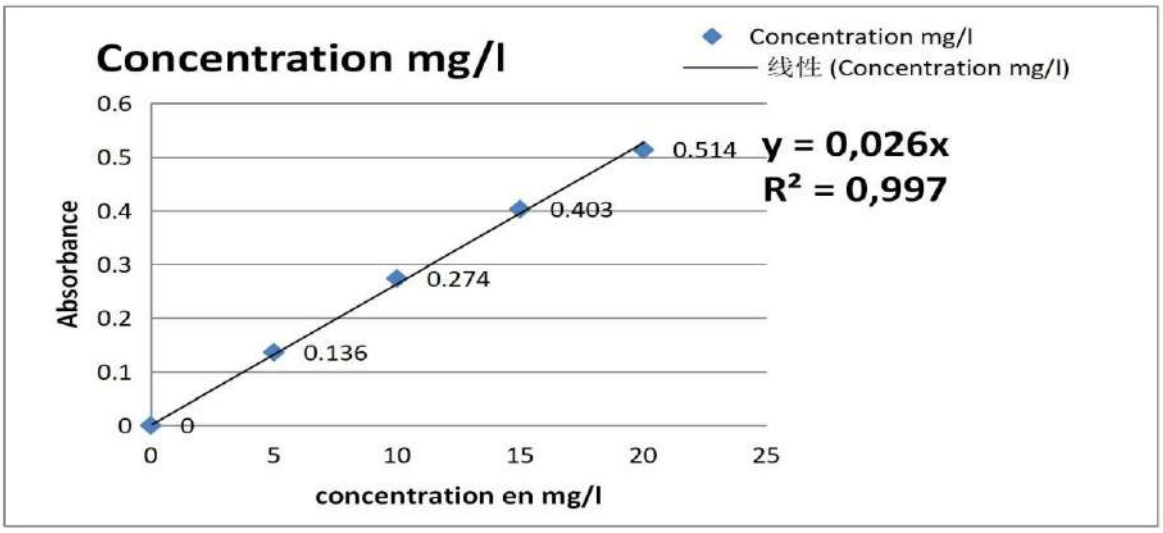


Figure 14 : courbe d'étalonnage de l'acétamipride

3-5- Production du biosurfactant :

3-5-a. Préparation de l'inoculum :

Dans un environnement stérile, et à partir d'une culture sur gélose nutritive on prélève Une surface d'environ 10 cm^2de la meilleure souche productrice sélectionnée, au moyen d'un Fil à boucle stérilisé et on l'introduit dans un flacon de 250 ml contenant 100 ml de Bouillon nutritif préalablement autoclavé.

Ce milieu de culture appelé LB (LuriaBertani) est composé de 10g de peptone ,5g d'extrait de levure,23g de NaCl, dans un volume de 1000ml. Le pH de cette solution doit être égale à 7, alors en utilisant un pH-mètre et une solution de NaOH 1M on fait l'ajustement du PH à 7 L'étape suivante est de faire la stérilisation ou autoclavage, alors on doit partager les milieux dans des petits flacons de 200 ml et les introduire dans l'autoclave comme suit :



Figure15 : milieu LB

La stérilisation est faite dans l'autoclave à une température de 120 C° pendant 20 minutes.



Figure 16 : l'autoclave

Les colonies sélectionnées sont alors introduites dans le milieu LB stérile devant un bec benzène pour éviter la contamination et incuber les flacons dans une étuve a une température 30 degré pendant 24 heures.

3-5-b-La préparation du milieu minéral MM : ce milieu est préparé selon le tableau suivant

Composants	**Quantité en gramme**
Na Cl	23
NH_4Cl	0.4
K_2HPO_4	0.3
KH_2PO_4	0.3
$MgCl_2$	0.33
$CaCl_2$	0.05
HCl à 35%	6.7 ml

Tableau 7 : composition du milieu MM

Après la pesé et sous agitation les composés sont introduits dans 1l d'eau distillée



Figure 17 : milieu minérale

Ce milieu est supplémenté de 1 ml d'une solution des éléments traces métalliques ou des oligo-éléments préparé suivant le tableau suivant. Le pH du milieu est ajusté à 7 avec une solution de soude caustique (NaOH 1M). Afin d'éviter la précipitation des sels après autoclavage.

Composants	**Quantités en mg**
$FeCl_2$	1500
$CoCl_2$	190
$MnCl_2$	100
$ZnCl_2$	70
$H3BO_3$	6
$MaMoO_4$	36

Tableau 8 : composition de la solution des oligoéléments



Figure18 : solution des oligoéléments

3-5-c- Milieu de production et conditions de culture

La production de biosurfactant s'effectue dans des flacons de 200 ml contenant 100 ml de milieu MM (dont la composition est donnée dans le tableau précédant) Additionné de 1 % d'huile d'olive qui a été séparément stérilisée sur filtre seringue de 0.45 µm comme seule source de carbone. Ce milieu est aussi préalablement stérilisé dans l'autoclave a une température de 120 c° pendant 20 minutes. Comme le montre la figure suivante.



Figure19 : milieu de production

Par la suite on ajoute 2% de l'inoculum bactérien au milieu MM prépare avant. Les cultures sont maintenues à 30C° sous une agitation de 150tr /min.la production de biosurfactant a été suivie pendant 3jours. L'incubateur utilisé est donné sur la figure suivante.



Figure20 : incubateur agité

3-5-d- Evaluation de la production de biosurfactant :

La détection de biosurfactant a été évaluée par plusieurs techniques : tel que test de déplacement du pétrole par la mesure de diamètre de déplacement du pétrole (DDP), Mesure de la tension de surface (TS) et l'activité émulsifiante par l'indice d'émulsification (E24), Mesure de la densité optique.

Pratiquement, un volume bien déterminé de la culture bactérienne a été centrifugé à 3900 tr/min. le surnageant. Ainsi récupéré a été filtré sur papier filtre ordinaire (20µm de porosité).

3-6-Test de déplacement de pétrole :

Ce test est essentiellement basé sur la caractéristique du biosurfactant à changer l'angle de contact à l'interface huile-eau. La pression de surface du biosurfactant est capable de déplacer l'huile. Un volume de 20 µl du pétrole brut est déposé à la surface de 20 ml d'eau distillée contenue dans une boite de Pétri (90 mm de diamètre). Une fine couche d'huile se forme immédiatement. Par la suite,10 µl de la solution de l'échantillon (surnageant filtré de la culture), sont déposés au centre délicatement, entraînant le déplacement d'huile et la formation d'un halo clair. Le diamètre ainsi formé est mesuré.

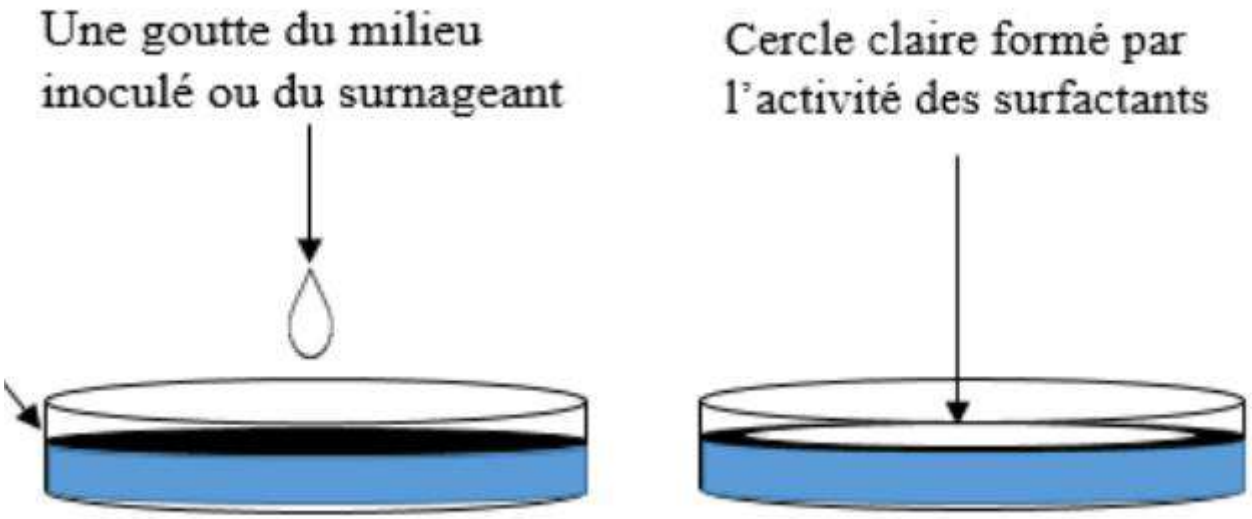


Figure 21 : test de déplacement du pétrole.

A-Indice d émulsification: un volume de 4ml de surnageant de culture est mélangé avec 4ml de substrat hydrophobe (gasoil, pétrole, ext). Et agité au vortex pendant 2mn

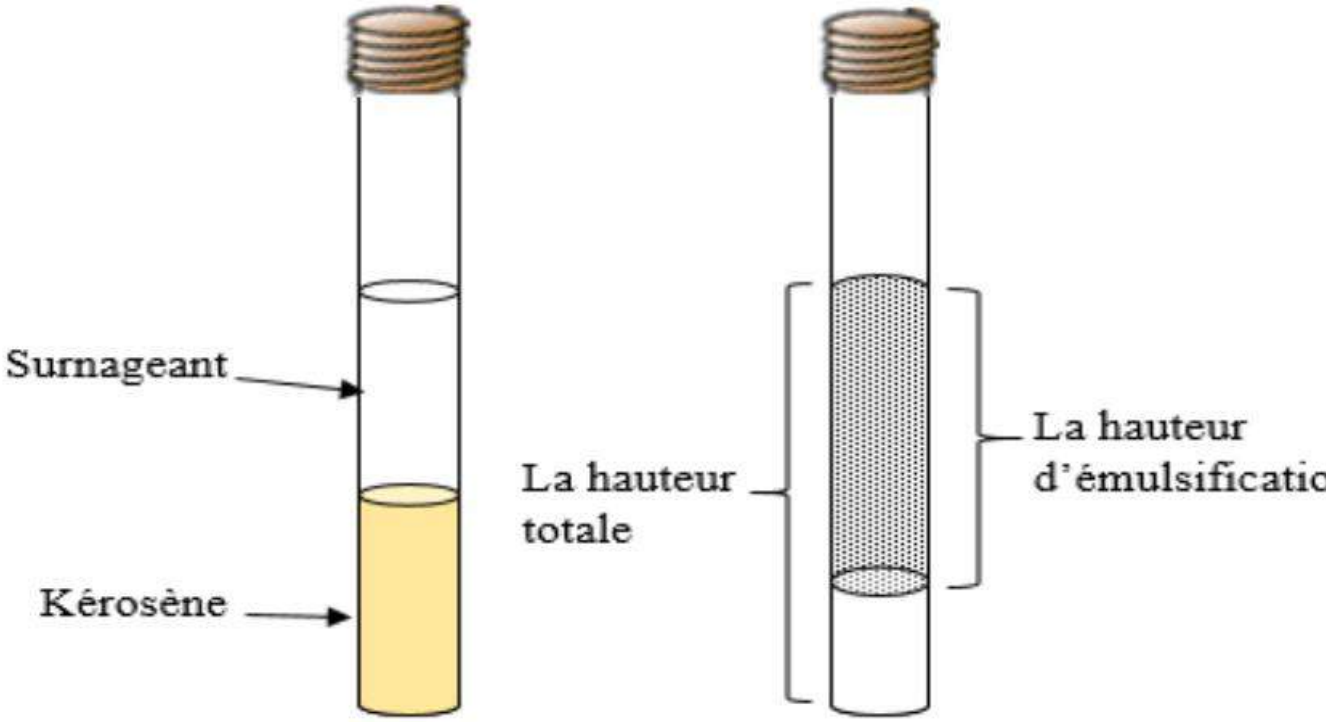


Figure 22 : indice d'émulsion

Le calcul d'E24 est effectué selon la relation suivante :
E24 = (he / ht) x 100
he : hauteur de l'émulsion.
ht : hauteur totale du mélange.

B-Détermination de la tension superficielle :

La tension superficielle est définie comme étant un état résultant des interactions s'exerçant entre les molécules à la surface d'un liquide au repos. Cette tension provient des forces intermoléculaires qui exercent une traction vers le bas sur les différentes molécules en surface. La méthode utilisée consiste à prélever un échantillon de culture toutes les 24 heures et ce pour une durée de3 jours pour le suivi de la tension superficielle. Ce procédé devrait être réalisé pour chaque souche bactérienne étudiée.

3-7-Extraction et purification partielle du biosurfactant :

Après trois jours de culture et lorsque l'activité de biosurfactant est maximale dans le milieu (cela est vérifié par un examen rapide avec le test de déplacement de pétrole), le volume entier de la culture est éliminé de la biomasse par centrifugation à une vitesse de 3900tr/min pendant 30 min suivi par une filtration ordinaire. Le surnageant correspondant au biosurfactant brut est partiellement purifié selon le protocole suivant :

*Dans le premier protocole, nous avons tenté de précipiter le biosurfactant par acidification à pH 2 à l'aide d'une solution de HCL (6M), une conservation à froid à +4C° pendant une nuit et une centrifugation à vitesse maximale de 3900 tr/min.

*le deuxième protocole est l'extraction par l'acétone. Alors après une centrifugation à 6000 tr/min le liquide récupéré est précipité par l'acetone, 3volume d'acétone sur 1 volume du surnagent sous agitation avec utilisation de la glace à 4C°.Le mélange est refroidi pendant 24 heures en suivi par une centrifugation à 200 tr/min, le solide a été séché dans l'étuve pendant 48 heures à 37 C°.la poudre est récupérée dans des tubes sec. (Figure30)

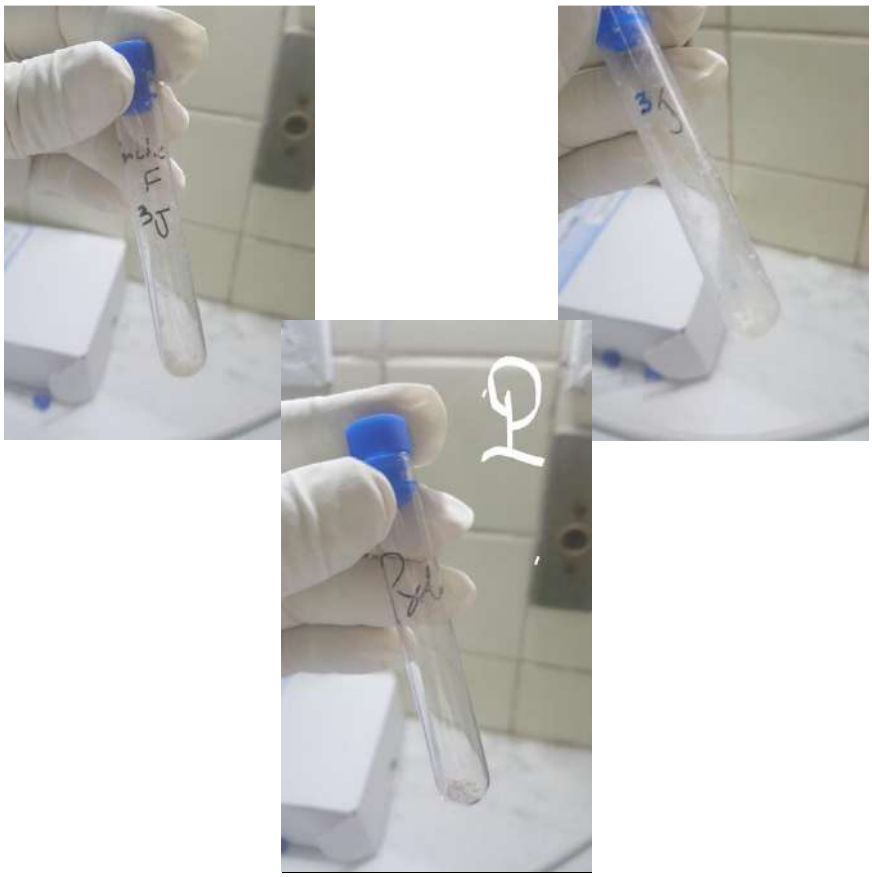


Figure 23 : biosurfactant produit

3-8-Résultats et discussion :

3-8-1-Test de déplacement de pétrole :

Le test de déplacement de pétrole testé pour les souches a été déterminé par mesure du diamètre de l, halo clair formé, on remarque que les diamètres pour les 3 souches sont comme suite :

*****Test de déplacement pour *Pseudomonas* donne un diamètre de 70 mm comme le montre la figure 24

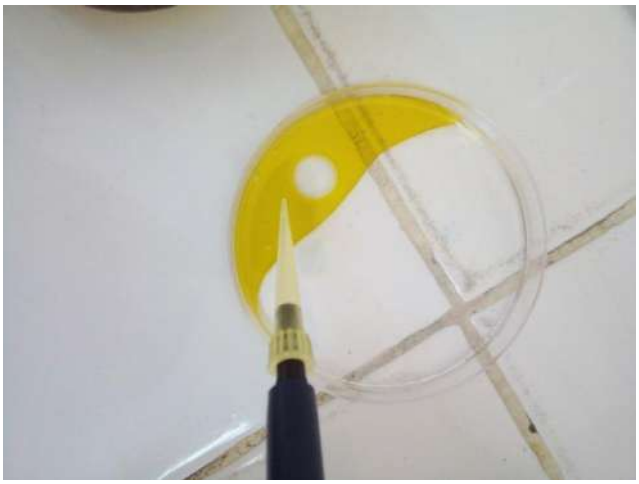


Figure : 24

*Test de déplacement de la souche***Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644***est environ 82mm de diamètre

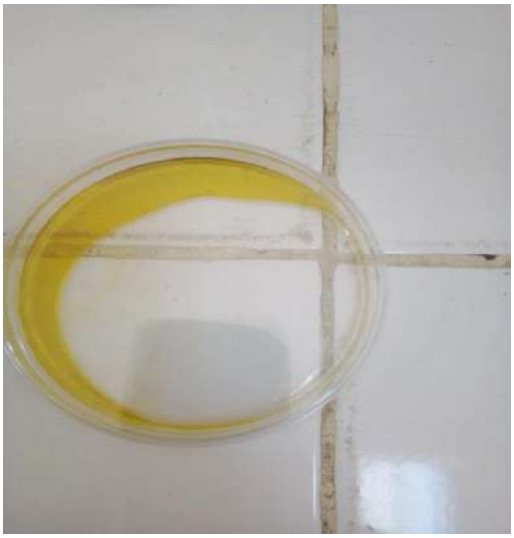


Figure 25 : test de déplacement de la***MarinobacterhydrocarbonoclasticusSdK644***

3-8-2-L'Indice d'émulsification :

L'indice d'émulcification de la première souche a donné le résultat suivant :

- ✓ Pour *la* ***Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644*** **:**

E24= (6/8)*100=75%

- ✓ Pour la***Pseudomonas aeruginosa :***

E24= (5.5/8) *100=68%

- ✓ Pour la ***klebtiellapneumoniae***
- ✓ E24= (3.5/8) *100=44%

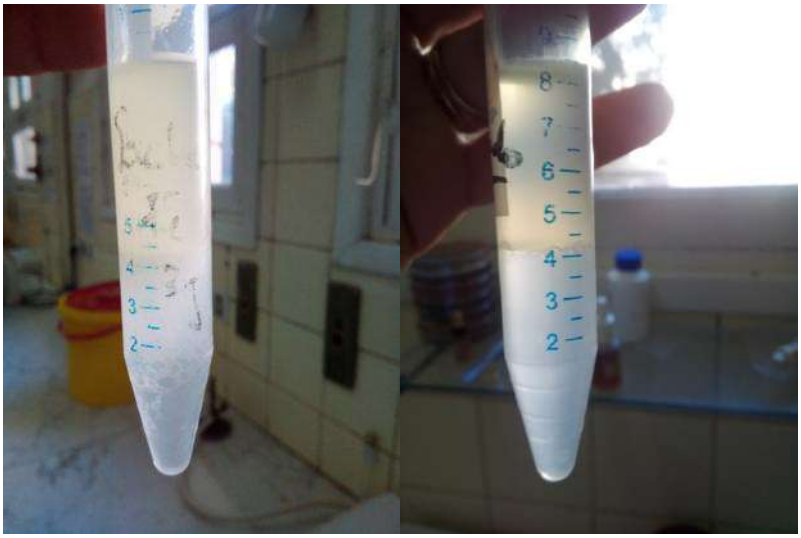


Figure26 : E24 de la***MarinobacterhydrocarbonoclasticusFigure27 :*** E24de***seudomonas***

3-8-3-Mesure de la densité optique de la solution filtré :

En utilisant un spectrophotomètre UV-visible nous avons mesuré la densité optique des trois solutions obtenues après filtration avant de faire l'extraction du biosurfactant.

La longueur d'onde ƛ (nm)=288 nm avec une absorbance maximale de DO=0.117 de la solution vierge chaque 12h, mais à cause de non disponibilité de spectrophotomètre cette mesure a été faire après 72h.

Les densités optiques pour les trois souches utilisées sont comme suite sur le tableau suivant :

Souche bactérienne	**Densité optique**
Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644	0.628
Pseudomonas aeruginosa	0.485

klebtiellapneumoniae	0.428

Tableau 10 : DO des trois souches

3-9-Remarque ou discussion des résultats :

Les résultats obtenus montrent que la souche la plus productrice du biosrfactant est la ***MarinobacterhydrocarbonoclasticusSdK644*** suivi par la ***Pseudomonas aeruginosa.***

La quantité de biosurfactant requise est donnée sur le tableau suivant :

*Pour la tension superficielle on n'a pas pu la mesurer (non disponibilité de l'appareil au niveau du hall technologique

Les souches	**Quantité en gramme (g)**
-pseudomonasaerugenosa	0.5 g pour 200ml de surnagent
La Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644	0.9g pour 200ml de surnagent
-klebtiellapneumoniae	0.3g pour 100ml de surnagent

Tableau 9 : quantité du biosurfactant en poudre

Conclusion :

L'objectif de notre travail était l'élimination ou la dégradation des pesticides qui est toxique pour la santé et l'environnement de l'être humain mais a causes de la situation sanitaire actuelle on est uniquement arrivé à la production du biosurfactant sans réaliser l'application qui consiste à préparer des solutions contenant les pesticides utilise à des concentrations bien définies et suivre leur dégradation en introduisant le biosurfactantproduit par les souches :***pseudomonasaeruginosa , Marinobactercarbonoclasticus SdK644, klebtiellapneumoniae***.

Des études ont été réalisé par d'autre chercheur sur la production de biosurfactant par la *pseudomonas*à titre d'exemple la thèse faite par Meriem Boudoune [66], l'étude de la production de biosurfactant par des bactéries hydrocarbonoclastes a donné une quantité de 2.4g/l de biosurfactant en utilisant huiled'olive et huile de soja comme source de carbone.

Par contre nous avons obtenu une quantité de 2.5 g/l en utilisant uniquement huile d'olive comme source de carbone avec la mêmesouche.

Pour la thèse de ZinatiBillal [87] la quantité requise de biosurfactant est de 4.93 g/l produit par la *Marinobacterhydrocarbonoclasticus SdK644* en utilisant huiled'olive et huile de friture et 0.34g/l en utilisant *la pseudomonasaeruginosa* avec l,huile de friture comme source de carbone.

La culture de ces trois souches en présencehuiled'olive comme substrat a permis la production d'une quantité importante de biosurfactant ayant un bon index demulsification.Le biosurfactant HF644 [87] possède un bon pouvoir émulsifiant contre l'huile d'olive (E24 = 73%), suivi par l'essence (E24 = 48%), le pétrole (E24 = 40%) avec la Marinobactercarbnoclasticus SdK644

Et notre résultat est E24=75% en utilisant le gasoil et E24=68% pour la *pseudomonasaeruginosa ATCC27853*et E24=44% pour la *klebtiellapneumoniaeATCC25922.*

Un diamètre de déplacement de pétrole (DDP) égal à 5,7 et 4,5 cm pour l'huile d'olive et l'huile de friture, respectivement pour la *Marinobactercarbonoclasticus*concernant lathèse *de* Zenati ,notre diamètre est de 8.2 cm pour la même souche et de 7 cm pour la pseudmonasaeruginosa .

Parmi les applications des biosurfactant est la dégradation des hydrocarbures, et d'autres produits organique tel que les pesticides qui est l'objectif voulu de notre travail mais malheureusement la situation sanitaire du pays nous a empêcher de continuer.

Reference bibliographique

Reference bibliographique

*[1]-**Desai and Banat**: Microbial production of surfactants and their commercial potential . Microbiology and Molecular Biology Reviews, 61, (1), 47-64, (1997)*

*[2]- **Makkar, R.S. etCameotra, S.S.,** "An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications". App. Microbiol. Biotechnol., V. 58, n° 4, (March 2002), 428-434.*

***[3]- GUEDOU ABDESAMIE**évaluation de la toxicité des pesticides par l'utilisation d'un biosurfactantpresenté par juin 2017 univrsité de Bejaia.*

***[4]-BERRAH Awatef** ;Etude sur les pesticides, Mémoire Master 2 en toxicologie appliquée. Université de Tébessa, Algérie, 2011, P 2-*

***[5]-Comité sécurité Alimentaire d'Aprifel**: pesticides, risques et sécurité alimentaire**,** http://www.aprifel.com/userfiles/file/pesticides_risques_securite_a.pdf, Vu le 02/04/2017 à 23h00, P 07*

***[6]-Pesticides, 7e édition,** Strasbourg, 1992, P10 Conseil de l'Europe*

***[7]- JEROEN Boland et al**Les pesticides Composition, utilisation et risques, Fondation Agromisa (Agrodok 29), Wageningen.2004, P7*

***[8]- CALVET Raoul et al** Les pesticides dans le sol (conséquences agronomique), Ed : France agricole, France, 2005, P 22,23-*

***[9]- JEROEN Boland et al**Les pesticides Composition, utilisation et risques,Op.cit, P7*

***[10]- JEROEN Boland et al**Les pesticides composition, utilisation et risques,Op.cit, P 8*

***[11]-BERRAH Awatef**Etude sur les pesticides, Op.cit, p3*

***[12]- MAMANE Ali**Effets sanitaire aigus de l'exposition aux pesticides en milieu rural - étude dans un pays du nord - Thèse présentée pour obtenue le grade de docteur, l'université de bordeaux, France, 2015, P17*

***[13]- MAMANE Ali :** Effets sanitaire aigus de l'exposition aux pesticides en milieu rural - étude dans un pays du nord - Op.cit, P 20-*

***[14]-Pesticides, risques et sécurité alimentaire**, Op.cit., P 9- Comité sécurité Alimentaire d'Aprifel*

[15]-*Eduterre.ens-lyon.fr/nappe/html/Ressources/pesticides, Vu le 19/03/2017 à 22 h 43*

[16]- Christine Cottard*Les pesticides encore appelées produits phytosanitaires, institut français de l'éducation, 2008, P 4.*

[17]-Pesticides, risques et sécurité alimentaire*, Op.cit, P11 Comité sécurité Alimentaire d'Aprifel*

[18]- M. Porta et E. Zumeta*Implementing the Stockholm treaty on persistent organicpollutants, Occupational and environmental medicine, 2002, P 59.*

[19]-Agroforestrie des arbres et des cultures, *Edition FranceAgricole, P318, 2008 Dupraz Christian et Liagre Fabian*

[20]-*http://tpe-pesticides.e-monsite.com/pages/pesticides/i-domaines-et-differents-types-de-pesticides.html, Vu le 23 /03/ 2017, à 14 :57*

[21]-*http://environnement.doctissimo.fr/proteger-la-terre/pesticides/Qui-sont-les-pesticides-.html, Vu le 08/03/2017 à 22 :16h*

[22]- LACHEUR Eliane*Les produits phytosanitaires : distribution et application (les différentes méthodes de lutter), Editions educagri, France, 2011, P9.*

[23]- BATSCH Dorothée*L'impact des pesticides sur la santé humaine, Thèse pour obtenir le Diplôme de docteur d'Etat en Pharmacie, Faculté de pharmacie, Université Henri Poincare-Nancy 1, 2011, P 7 ,8 .*

[24]- ***SOCORRO Joanna****Etude de la réactivité hétérogène de pesticides adsorbés sur desparticules modèles atmosphériques : cinétiques et produits de dégradation, Thèse de doctorat, Marseille, 2015, P24 .*

[25]- Christian et Liagre Fabian*Agroforestrie des arbres et des cultures, Edition FranceA-gricole, P318, 2008*

[26]- AKTAR Md. Wasim ,Dwaipayan*Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards, ToxicolInterdiscip, Slovak Toxicology Society SETOX, Inde, 2009, p15.*

[27]- . VINCENT Charles et al*La lutte physique en Phytoprotection. Institut national de la recherche agronomique, Paris, 2000, p 8.*

[28]-Ministère de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer *: Commissariat général au Développement durable, Les impacts des pesticides, Agriculture, France, 2015.*

[29]- E. KEGLY Susan:*Ecological Impacts of pesticides In California. californians for pesticides reform, pesticides action Network (Group), CALIFORNIA,1999, p 19.*

[30]-El BAKOURI Hicham*Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par l'utilisation des Substances Organique Naturelle (S.O.N.), thèse pour l'obtention du doctorat en sciences de l'environnement, universiteabdelmalekessaadi Tanger, Maroc, 2006, p16-17*

[31]- CALVET Raoul et al*Les pesticides dans le sol (conséquences agronomique), édition France agricole, France, 2005, p31 .*

[32]- BETTATI Mario*Le droit international de l'environnement, édition ODILE JAKOP, PARIS 2012, p33.*

[33]- FLORENT Lamiot*Les pesticides dans l'air : quels enjeux ? Pollution atmosphérique N° 170, 2001, p 237-246 .*

[34]- CALVET Raoul et al*Les pesticides dans le sol (conséquences agronomique), Ed France agricole, France, 2005, p 29 .*

[35]-*Ministère de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer, Commissariat général au Développement durable, Les impacts des pesticides, Op.cit, p2*

[36]- KREUGER Jenny, LNDERBERG Ivar et ANDERS Johnson*Pesticides et eaux de surface, conseil de l'Europe, Allemagne, 1995, p39.*

[37]- ISENRING Richard*les pesticides et la perte de biodiversité, Comment l'usage intensif des pesticides affecte la faune et la flore sauvage et la diversité des espèces, Pesticide Action Network Europe, Belgium, 2010, p3, 4.*

[38]-Organisation des Nations Unies de l'alimentation et de l'agriculture (FAO) *: la situation mondiale de l'alimentation et l'agriculture, Rome, 2008, p81*

[39]- JAKUBOSKI Samantha*The dangers of pesticides. Green science (Musings of a Young conservastionist) , 2011 .*

[40]- VINCENT Charles et al*La lutte physique en phytoprotection. Institut national de la recherche agronomique (Paris), France, 2000, p10.*

[41]- ISENRING Richard*Les pesticides et la perte de biodiversité, Comment l'usage intensif des pesticides affecte la faune et la flore sauvage et la diversité des espèces,Op.cit, p11, 12.*

[42]- AMINE L*Des pesticides dans vos assiettes ! Danger sur la santé, Le Quotidien d'Oran, 2009, file:///D:/danger%20p.htm, Vu le 16/05/2017 à 16 :00h .*

[43]- COMBRIS Pierre et al*Les fruits et légumes dans l'alimentation : Enjeux et déterminants de la consommation, Expertise scientifique collective INRA, éditions Quae , 2007, p36.*

[44]- CHRISTOS A*Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. Int J Environ RES Public Health, 2011, Vol 8, N° 5, p2. Damalas and EleftherohorinosIlias G*

[45]- STELLMAN Jeanne Mager*Encyclopédie de sécurité et de santé au travail, 3eme édition française, traduction de la 4eme édition anglaise, Genève, Bureau international du travail, vol 4, 2000*

[46]- JUREWICZ et al*Adverse health effects of children's exposure to pesticides : what do we really know and what can be done about it, ActaPaediatrSuppl , 2006 .*

[47]- CHRISTOS A. Damalas and EleftherohorinosIliasG.*Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators.Op.cit, P 4*

[48]- LACHUER Eliane*Les produits phytosanitaires distribution et application : l'application d'un produit phytosanitaire et la législation de produits, Op.cit, p 53, p43 .*

[49]- MOUNDOSSO Albert*Message de la sécurité –santé au travail, op.cit, p 206,205-*

[50]-L'impact des pesticides sur la santé humaine*, Op.cit, P63, p 70, p42 BATSCH Dorothée*

[51]-Les produits phytosanitaires distribution et application*, Op. cit, p43. LACHUER Eliane*

[52]-Neurotoxicity of pesticides *: its relationship with neurodegenerative diseases, Med Sci , Paris, 2013, p3 ,p5,p2, THANY Steeve H., REYNIER Pascal et LEANERS Guy*

[53]-*Etude de la réactivité hétérogène de pesticides adsorbés sur des particules modèles atmosphériques : cinétiques et produits de dégradation, Thèse en vue de l'obtention du diplôme de docteur, France 2015, p 36.* ***SOCORRO Joanna***

[54]-LEILANIE Lu Jinky*Analysis of Trends of the Types of Pesticide Used, Residues and Related Factors among Farmers in the Largest Vegetable Producing Area in the Philippines, J* ***Rural Med.*** *20101* ***HURLEY P M*** *: Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents, Environmental Health Perspectives, Aug* ***1998***

[55]-PENG J, Stevenson FF, O ML, Andersen JK *: Iron-enhanced paraquat-mediated dopaminergic celldeath due to increased oxidative stress as a consequence of microglial activation. Free RadicBiol Med, 2009*

[56]-*Epidemiology and occupationalriskfactors of neurodegenerativediseases, Archice des maladies professionnelles et de l'environnement (2014), Vol 75, N° 5, P3* ***ELBAZl Alexis,KAB Sofiane, Moisan Frédéric***

[57]-*Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease, Annals of Neurology , 2006*

[58]-ASCHERIO AlbertoLori Alton*Diseases linked to pesticides. J Natural health, 2016, p122-130.*

[59]-VERIN Marc*la maladie de Parkinson, monographie de neurologie (2éme édition), Edition* ***: ElsevierMasson, 2011****, p6 LAC defebuve.*

[60]-Monat- Caroline, Deschamps Frederic*Nervous system disorders induced by occupational and environmental toxic exposure.scientific research , 2008, P P 272-278 DESCAMPS*

[61]-Monat- Caroline, Deschamps Frederic*Superoxide dismutase (SOD)-mimetic is protective in cell and fly models of paraquat* ***toxicity.J. Biol. Chem,*** *2016 DESCAMPS*

[62]-Rhône-Alpes ,2007*les pesticides : observation régionale de la santé.*

[63]-Les pesticides *: composition, utilisation et risque. Agrodok 29 (2004).*

[64]-benaichouchesamiha*Thése : production et caractérisation d'un biosurfactant. Application comme inhibiteur de corrosion (2018-2019, université de blida.*

[65]-pésticides, agriculture et environnement *: expertise scientifique collective (décembre 2005).*

[66]-Boudoune Meriem *Etude de la production du biosurfactant par des bactéries hydrocarboclastes,(2018),université de Constantine.*

[67]-MeghidManel*Impact des pesticides utilisés dans la plasticulture sur la santé humaine en Algérie,(2016-2017) université de Constantine.*

[68]-Banat M, Makkar R.S, Cameotra S.S, (2000*). Potential commercial applications of microbial surfactants, Appl. Microbiol. Biotechnol., 53 : 495-508.*

[69]-Christofi N, Ivshina I.B, (2002). *A review: microbial surfactants and their use in fieldstudies of soilremediation, Journal of AppliedMicrobiology, 93 : 915-929.*

[70]-Djerbaoui A.N, (2011)*. Utilisation de souches bacteriennes autochtones dans la production de biosurfactant et la bioremediation des sols de Hassi Messaoud contaminent par les hydrocarbures. Mémoire magister : biologie. Ouargla : université kasdimerbah-Ouargla.*

[71]-Fiechter A, (1992). *Biosurfactants: moving to wardsindustrial application*

[72]-Gabet S, (2004). *Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de doctorat deI'universite de Limoges, spécialité Chimie et Microbiologie de I 'Eau, p.177.*

[73]-Healy M.G, Devine C.M, Murphy R, (1996*). Microbial production of biosurfactants. Resources, Conservation and Recycling, 18 : 41-57.*

[74]-ABDUL A. A. et GIBSON T. L., (1991)*. Laboratorystudies of surfactant-enhanced washing of biphenylfromsandymaterial, Environ. Sci. Technol., 25 (4) : 665-671*

[75]-BAI G., BRUSSEAU M. L. et MILLER R. M., (1997)*. Biosurfactant-enhanced removal of residualhydrocarbonfromsoil, J. Contam. Hydrol., 25. 157-170.*

[76]-DESCHENES L., LAFRANCE P., VILLENEUVE J.-P. et SAMSON R., (1996).*Adding sodium dodecyl sulfate and Pseudomonas aeruginosa UG2 biosurfactantsinhibitspolycyclicaromatichydrocarbonbiodegradation in aweatheredcreosote-contaminatedsoil. Appl.Microbiol. Biotechnol., 46 : 638-646.*

[77]-EDWARDS D. A., LUTHY R.G. et LIU Z., (1991)*. Solubilization of polycyclic aromatichydrocarbons in micellarnonionic surfactant solutions, Environ. Sci. Technol., 25 : (1), 127- 133.*

[78]-HAIGH S.D., (1996). *A review of the interaction of surfactants withorganic contaminants in soil. The Science of the Total Environment, 185 :161-170.*

[79]-LANG S. et WULLBRANDT D., (1999).*Rhamnoselipidsbiosynthesis – Microbial production and application potential. Appl. Microbiol. Biotechnol., 51, 22-32.*

[80]-MERCADE M.E. et MANRESA M.A., (1994)*. The use of agroindustrial by-products for biosurfactant production, J.A.O.C.S., 71 (1) : 61-64.*

[81]-MATA-SANDOVAL J. C., KARNS J. et TORRENTS A., (2000)*. Effect of rhamnolipidsproduced by Pseudomonas aeruginosa UG2 on the solubilizationofpesticides, Environ. Sci.Technol., 34 (23) : 4923-4930.*

[82]-MCCRAY J. E., BAI G., MAIER R. M. et BRUSSEAU M. L., (2001)*. Biosurfactant-enhancedsolubilization of NAPL mixtures, J. Contam. Hydrol., 48 : 45-68.*

[83]-SOMASUNDARAN P. et KRISHNAKUMAR S., (1997). *Adsorption of surfactants andpolymersat the solid-liquid interface, Colloids and Surfaces A: Physicochemical andEngineering aspects, 123-124 : 491-513.*

[84]-THANGAMANI S. et SHREVE G. S., (1994)*. Effect of anionicbiosurfactant on hexadecanepartitioning in multiphasesystems, Environ. Sci. Technol., 28 (12) : 1993-2000*

[85]-VAN DYKE M. I., COUTURE P., BRAUER M., LEE H. et TREVORS J. T., (1993).*Pseudomonas aeruginosaUG2 rhamnolipidbiosurfactants: structural characterization and their use in removinghydrophobic compounds fromsoil. Can. J. Microbiol., 39 : 1071-1078.*

[86]-WEST C.C. et HARWELL J.H., (1992), *Surfactants and subsurfaceremediation, Environ.Sci. Technol., 36 (12) : 2324-2330.*

[87]-ZINATI BILLAL :*étude de la biodégradation des hydrocarbures pétroliers par des bactéries marines : Application en traitement des eaux de mer contaminées par le pétrole.*