

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

LAMRI Fatima et LEZOUL Melissa

Thème

*Propriétés biologiques des biosurfactants produits par des
bactéries hydrocarbonoclastes*

Soutenu le : 06/07 / 2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mme. IDER Djamila

MCB.

Univ. de Bouira

Présidente

Mme. MOURI-HADIDI Lila

MCB.

Univ. de Bouira

Examinatrice

Mme. YALAOUI-GUELLAL Drifa

MCA.

Univ. de Bouira

Promotrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions premièrement ALLAH le tout puissant qui nous a donné la santé, la force, le courage et qui nous a aidé pour finaliser et rédiger ce mémoire de fin d'étude.

Les plus vifs remerciements et la profonde gratitude vont bien évidemment à Mme YALAOUI-GUELLAL Drifa pour avoir accepté de nous encadrer, son dynamisme, sa disponibilité, son aide et ses précieux conseils, nos ont permis d'avancer, elle a suivi sans relâche et avec beaucoup d'intérêt le déroulement de ce travail.

Nos remerciements vont également à Mme IDER Djamila pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury qui va juger Ce travail.

Nous adressons nos remerciements à Mme MOURI-HADIDI Lila pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci à toutes les personnes qui ont contribué et participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

*J'ai l'honneur et l'immense plaisir de dédier ce travail si modeste a vous, lumière de ma vie, le plus beau don de dieu, avec vous je partage le plus sacré lien spirituel et affectif :
mes parent que dieu vous garde*

A ma chère sœur Silia, à qui je tiens énormément pour ton grand cœur et ta générosité, que ce travail soit l'expression de mon grand attachement et ma gratitude pour tout moment de joie partagé ensemble, sache que je suis fière de toi, et que je t'aime et je te respecte énormément, je te souhaite une brillante réussite dans ta vie professionnelle, une bonne santé et une vie inondée de bonheur

A toute la petite et la grande famille

A tous mes cousins et cousines

A tous mes amis

Je cite particulièrement mon cher binôme LEZOUL Milessa

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A mes chers parents qui je témoigne mon immense respect
ma profonde gratitude et reconnaissance pour tous ceux
qu'ils ont fait pour moi, et leur sacrifices pour ma réussite, je
prie Dieu de les protéger et de leur procurer que du bonheur*

*A ma meilleur amie NUMIDIA LEZOUL qui m'a toujours
soutenu durant ces longues années d'étude à qui je tiens
énormément pour ton grand cœur et ta générosité, que ce
travail soit l'expression de mon grand attachement et ma
gratitude pour tout moment de joie partagé ensemble,
sache que je suis fière de toi, et que je t'aime et je te
souhaite une brillante réussite dans ton avenir, une bonne
santé, et une vie inondée de bonheur*

A tout la petite et la grande famille

A tous mes cousin et cousines

A tous mes amis

Je cite particulièrement mon cher binôme LAMRI FATIMA

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la
réalisation de ce travail.*

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
<i>Partie 1 : Synthèse bibliographique</i>	
<i>I. Généralité sur les biosurfactants.....</i>	3
I.1. Définition des biosurfactants.....	3
I.2. Structure des biosurfactants	3
I.3. Classification des biosurfactants	3
I.3.1. Selon le poids moléculaire.....	4
I.3.2. Selon la charge ionique de la molécule	5
I.3.3. Selon la structure chimique	5
I.4. Production microbienne de biosurfactants	8
I.4.1. Les micro-organismes producteurs de biosurfactants	8
I.4.2. Mécanisme de production du biosurfactants	10
I.4.3. Effet de divers facteurs dans la production de biosurfactants microbiens	11
I.4.3.1. Facteurs nutritionnels.....	11
I.4.3.2. Paramètre physique.....	13
I.5. Propriétés biologiques des biosurfactants	14
I.5.1. Activité superficielle et interfaciale.....	15
I.5.2. Tolérance à la température, au pH et à la force ionique	15
I.5.3. Faible toxicité et biodégradabilité	15
I.5.4. Les biosurfactants formateur d'émulsions ou briseurs	16
I.5.5. Agents et antibiofilm antiadhésifs	17
I.5.6. Agents anti-tumoral et antiviral.....	18
I.5.7. Agent anti-inflammatoire	19
<i>II. Application des biosurfactants dans l'industrie.....</i>	20
II.1. Les biosurfactants comme agent bioémulsifiants dans la formulation alimentaire	20
II.1.1. Structure d'émulsions.....	21
II.1.1. Rôle des bioémulsifiants dans la formation et la stabilité des émulsions	22

II.1.2. Indice d'émulsification(E_{24}).....	22
II.1.3. Formulation de sauces mayonnaise à base de bioémulsifiants	23
II.2. Biosurfactants dans l'industrie médicale	24
II.2.1. Activité antimicrobienne des biosurfactants	25
II.2.2. Activité anti-adhérente et antibiofilm	26
II.2.3. Agent antitumorales et anticancéreuse des biosurfactants	27
II.2.4. Activité anti-inflammatoire	28
II.3. Biosurfactants dans l'industrie pétrochimie et textile.....	28
II.3.1. Élimination des polluants organiques hydrophobes dérivés du pétrole par les biosurfactants	29
II.3.2. Élimination des métaux lourds par des biosurfactants	30
II.3.3. Application des biosurfactants comme agent anticorrosion	32
II.3.3.1. Corrosion bactérienne	33
<i>Partie II: Procédure expérimentales</i>	
<i>III. Matériel et méthode.....</i>	36
III.1. Matériel	36
III.2. Méthodes.....	36
III.2.1. Production et extraction des biosurfactants.....	36
III.2.2. Préparation de biosurfactants.....	37
III.2.3. Mesure de l'activité d'émulsification (E_{24}).....	37
III.2.4. Activité anti-inflammatoire.....	38
III.2.5. Stabilisation des membranes.....	40
III.2.5.1. Préparation des globules rouges.....	40
III.2.5.2. Hémolysé induite par l'hypotonicité.....	40
III.2.5.3. Hémolysé induite par la chaleur.....	41
III.2.6. Activité antimicrobienne.....	43
III.2.6.1. Préparation des suspensions bactériennes.....	43
III.2.6.2. Test des puits.....	44
III.2.6.3. Test des spots.....	44
III.2.6.4. Test de diffusion par disque.....	44
<i>IV. Résultats et discussions.....</i>	45

IV.1. production des biosurfactants.....	45
IV.2. Index de l'émulsification (E ₂₄).....	46
IV.3. Activité anti-inflammatoire.....	47
IV.4. Stabilisation des membranes.....	48
IV.5. Test d'activité antimicrobienne du biosurfactants.....	50
Conclusion.....	54
Références bibliographiques.....	56
<i>Annexe</i>	
<i>Résumé</i>	

Liste des tableaux

Tableau 1: divers biosurfactants produits par des micro-organismes	9
Tableau 2: utilisation des biosurfactants dans différentes industries.....	20
Tableau 3: Formulation de mayonnaise avec ajout de biosurfactant produit par <i>C. guilliermondii</i>	23
Tableau 4: Poids sec des biosurfactants produits par les souches étudiées.....	45

Liste des figures

Figure 1: Les biosurfactants de faible et haut poids moléculaire	4
Figure 2: Structure tensioactifs générales	5
Figure 3: Structure chimique des biosurfactants	6
Figure 4: Mécanismes de production des biosurfactants	11
Figure 5: Tension interfaciale et superficielle du monomère tensioactifs (tête polaire et queue hydrocarbonée); formation de micelles dans l'eau et l'huile	15
Figure 6: Les deux types d'émulsion de base	16
Figure 7: Formation d'un biofilm	17
Figure 8: L'empêchement de biosurfactants la formation d'un biofilm.....	18
Figure 9: Simple et double émulsion	21
Figure 10: Application de la valeur HLB (balance hydrophile-lipophile) aux E/H et H/E ...	22
Figure 11: Application des biosurfactants dans différents domaines.....	24
Figure 12: Réduction de l'adhésion bactériennes et la formation d'un biofilm	26
Figure 13: Illustration de l'action des biosurfactants sur le pétrole.....	29
Figure 14: Mécanisme d'élimination des métaux lourds par les biosurfactants.....	31
Figure 15: Corrosion générale (rouille) d'une pièce en acier	32
Figure 16: Exemple de bactéries responsable de la corrosion bactérienne	33
Figure 17: Activités des biosurfactants.	34
Figure 18: Production de biosurfactants par milieu MSM.....	37
Figure 19: Test de l'indice d'émulsification.	38
Figure 20: Test de l'activité anti-inflammatoire.	39
Figure 21: Test de l'hémolyse induite par l'hypotonicité.	41
Figure 22: Test de l'hémolyse induite par la chaleur.....	42
Figure 23: Test de l'activité antimicrobienne.	43
Figure 24: Pourcentage d'indice d'émulsification chez différentes souches.	46
Figure 25: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine.	47
Figure 26: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse induite par l'hypotonicité.	48
Figure 27: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse induite par la chaleur.	49

Figure 28: Test d'activité antimicrobienne par la méthode de puits.....	51
Figure 29: Test d'activité antimicrobienne par la méthode de spots.	51
Figure 30: Test d'activité antimicrobienne par la méthode de disques.	52

Liste des abréviations

BS: Biosurfactant.

BF : Bactéries ferreuses.

BSR : Bactéries sulfato-réductrices.

BOM : Bactéries oxydantes du manganèse.

BSA : Sérum bovin albumine.

CL50: La concentration létale.

C/N : Carbone/azote.

CMC : La Concentration Micellaire Critique.

CaWO₄ : Tungstate de calcium.

CaCO₃ : Carbonate de sodium.

E/H : L'eau dans l'huile.

E/H/E : Eau dans l'huile dans l'eau.

EPS : Exo-polysaccharidique.

FTIR: La spectroscopie infrarouge à transformée de fourie.

FeSO₄: Sulfate de fer.

GR : Globule rouge.

H/E : Huile dans l'eau.

H/E/H : Huile dans l'eau dans l'huile.

HLB : Hydrophilic-Lipophilic Blance.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

IL-2 : Interleukine 2.

MgSO₄: Sulfate de magnésium.

MSM: Milieu Minimum Salé (Mineral Salt Medium).

NaCl: Chlorure de sodium.

PBS : Tampon phosphate salin.

TNF- α : Facteurs de nécrose tumorale.

TLR-2: Récepteur de type toll.

Tris-HCl : Trisaminométhane hydrochloride

VIH : Virus immunodéficiencie .

Introduction

Les biosurfactants sont des molécules amphiphiles produits généralement par des organismes vivants à savoir les bactéries, les champignons et les levures (**Marchant et Banat, 2012**). La plupart des biosurfactants sont des agents extracellulaires, ils sont excrétés par les microorganismes dans le milieu de culture à la suite de leur biosynthèse (**Salihu et al., 2009**). Ces composés d'origine microbienne sont classés selon leurs poids moléculaires, leurs propriétés, et leur mode d'action. Parmi les biosurfactants les plus connus on cite les glycolipides, les lipopeptides (**Mouffok et al., 2016**).

Depuis plusieurs années et grâce à l'essor de la biotechnologie, la production des tensioactifs produits par les microorganismes suscite un grand intérêt par les scientifiques. Ceci est dû principalement aux avantages présentés par ces biomolécules par rapport à leurs homologues chimiques, à savoir la biodégradabilité, la faible toxicité, l'efficacité dans des conditions extrêmes (pH, température et salinité) et la production en présence des ressources renouvelables (**Makkar et al., 2011**).

Les biosurfactants ont un large éventail d'application biotechnologiques dans diverses industries : pétrolière, alimentaire, cosmétique, médicale, pharmaceutique, détergence, textile, ainsi que dans beaucoup d'applications environnementales grâce à leur biodégradation et l'absence de toxicité, il est aussi indispensable de citer que les biosurfactants ont une activité antimicrobienne vis-à-vis des levures des champignons et des bactéries, de nombreux genres bactériens ont été recensés à être sensible à certains type de biosurfactants.

Dans ce contexte notre travail a été mené, dont son objectif principal est d'étudier les propriétés biologiques des biosurfactants produits par des microorganismes, tels que, l'étude de l'activité anti-inflammatoire, la stabilisation de membranes, et l'activité antimicrobienne. Notre mémoire s'articule en deux parties :

La première partie est consacrée à une recherche bibliographique, elle est subdivisée en deux chapitres : le premier chapitre représente une description générale sur les biosurfactants, leur définition leur structures, classification, mécanisme de production, et ses propriétés biologiques. Le deuxième chapitre est consacré à l'application industrielle des biosurfactants dans les différents domaines : alimentaire comme un bioémulsifiant, médical comme un agent antimicrobien, antiadhésif, antibiofilm, anticancéreux, antiviral, anti-inflammatoire, textile et pétrochimie dans la bioremédiation et comme un agent anticorrosion.

La deuxième partie est destinée à la partie expérimentale, elle contient deux chapitres : le troisième chapitre, est réservé à la présentation de matériel et des méthodes utilisés dans la pratique et dernier chapitre présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Nous terminerons cette étude par une conclusion et des perspectives, suivie d'une liste des références bibliographiques et une liste des annexes.

Partie I:
Recherche bibliographique

Chapitre I

Chapitre I

I. Généralité sur les biosurfactants

I.1. Définition des biosurfactants

Les biosurfactants sont des molécules amphiphiles comportant des parties hydrophiles et hydrophobes (**Lang, 2002 ; Satpute et al., 2010 ; Santos et al., 2016**). Cette composition leur confère des propriétés tensioactives telles que la réduction de la tension superficielle et interfaciale dans les solutions aqueuses et les mélanges hydrocarbures (**Desai et Banat, 1997 ; Banat et al., 2000**). Les biosurfactants sont des homologues des surfactants chimiques, ils sont synthétisés par voies biologiques tels que : les plantes, les animaux, et les microorganismes (**Marchant et Banat, 2012**). Les biosurfactants d'origine microbienne, sont produits, à partir d'un certain nombre d'espèces, comme des métabolites secondaires, qui restent soit collés à la surface de la cellule microbienne ou bien sécrétés à l'extérieur des cellules (**Bhuvaneshwari et al., 2016 ; Leite et al., 2016**).

I.2. Structure des biosurfactants

Sur le plan structural les composés tensioactifs se présentent comme des molécules amphiphiles composées de deux domaines de polarité différente, l'un hydrophile, polaire : affinité pour l'eau, et un autre hydrophobe, apolaire : affinité pour les lipides (**Morelli et Szajer, 2000**).

Les biosurfactants microbiens, d'origine diverses, englobent une grande variété de structures chimiques qui conduisent à des propriétés multifonctionnelles, la partie hydrophile polaire (groupe de tête) est composée de sucre, d'acides aminés, de peptides, de protéines ou de groupes fonctionnels polaires comme l'acide carboxylique. La partie hydrophobe peut être constituée d'acide gras ou d'alcools gras saturés, insaturés et/ou hydroxylés (**Abdel-Mawgoud et al., 2010 ; Lang, 2002**).

I.3. Classification des biosurfactants

Il existe certains critères pour la classification des biosurfactants, qui varient en fonction du poids moléculaire (élevé ou faible), du type de sécrétion de la cellule (intracellulaire, extracellulaire ou adhérente aux cellules microbiennes), de la charge ionique de la molécule (anionique, cationique, non ionique ou neutre) et de la structure chimique (**Najmi et al., 2018**).

I.3.1. Selon le poids moléculaire

Les biosurfactants sont divisés en deux types en fonction du poids moléculaire (Figure 01) (Sáenz-Marta et al., 2015):

I.3.1.1. Les composés de faible poids moléculaire

Ils abaissent la tension superficielle interfaciale, Les glycolipides, les lipopeptides et les phospholipides constituent la majorité des biosurfactants de faible masse.

I.3.1.2. Les composés de poids moléculaire élevé

Ils réduisent la tension superficielle, les polymères de poids moléculaire élevé qui sont les agents stabilisateurs les plus efficaces, les tensioactifs particuliers et polymérique font partie des biosurfactants de grande masse.

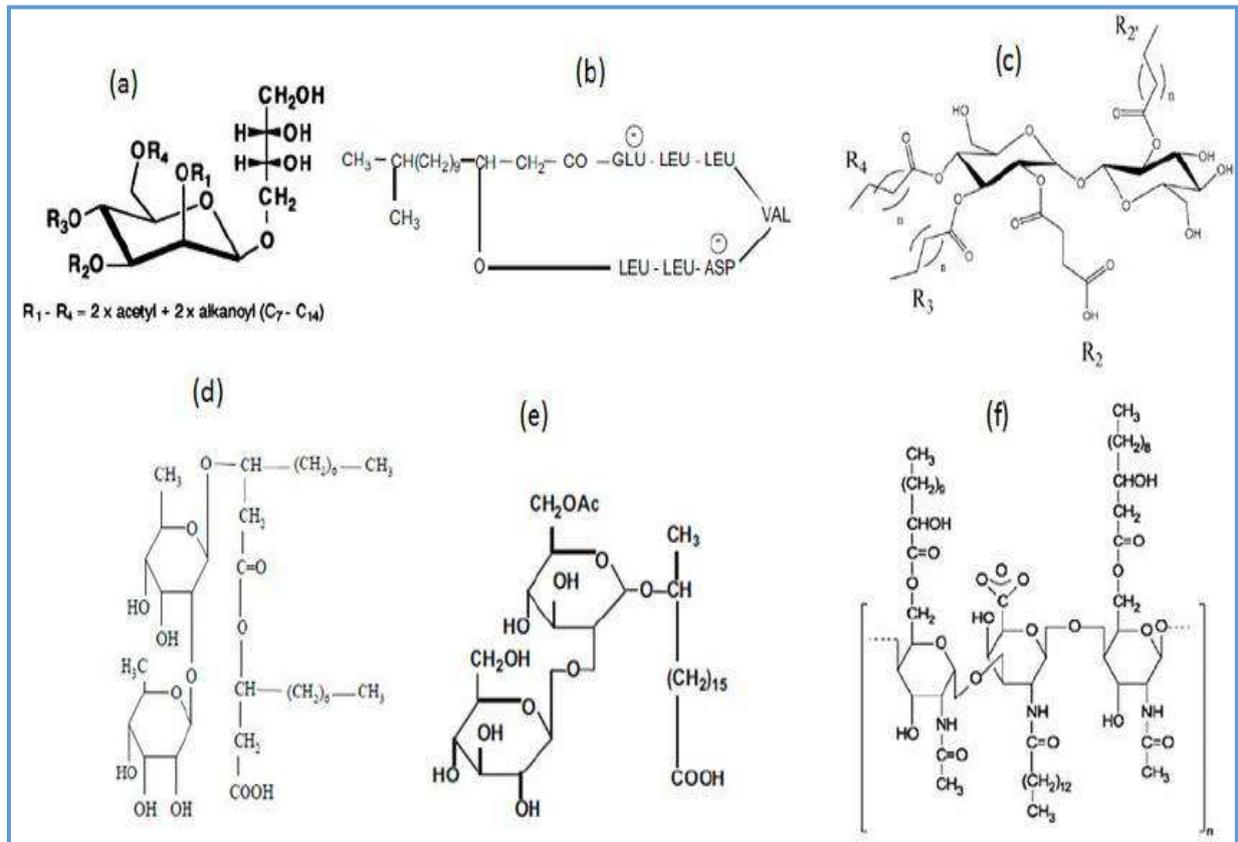


Figure 1: Les biosurfactants de faible et haut poids moléculaire (Fakruddin, 2012).

(a) lipide Mannosylérythritol, (c) surfactine, Lipide trehalose, (d) Sophorolipide, (e) Rhamnolipide et (f) Emulsan.

I.3.2. Selon la charge ionique de la molécule

Selon nature de la charge sur la partie hydrophile (Figure 02), les tensioactifs biologiques ou chimiques peuvent être classés en (Rahman et Gakpe, 2008) :

- Tensioactifs anioniques sont chargés négativement.
- Tensioactifs non ioniques manquent de constituant ionique et la majorité de tous les non ioniques sont des produits de polymérisation.
- Tensioactifs cationiques sont caractérisés par un groupe qui est chargé positivement.
- Tensioactifs amphotère (zwitterioniques) à des fragments chargés positivement et négativement dans la même molécule.

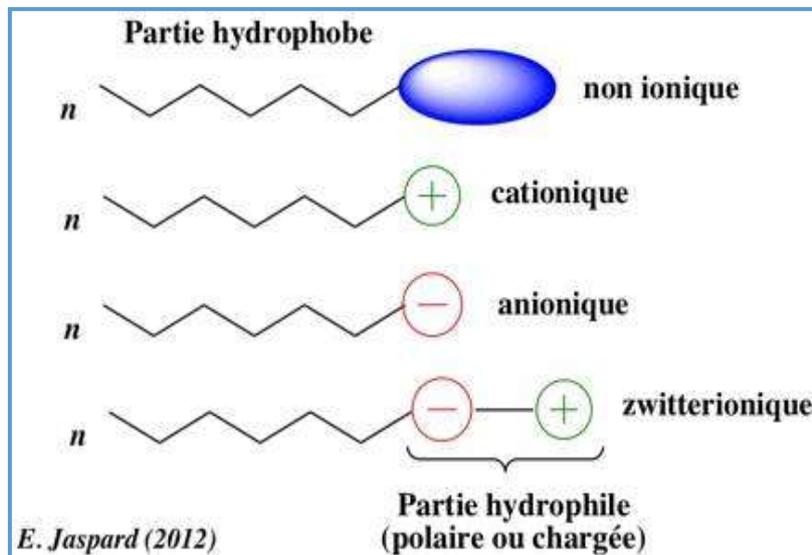


Figure 2: Structure tensioactifs générales (Jaspard et al., 2012).

I.3.3. Selon la structure chimique

Les biosurfactants sont généralement classés principalement par leur composition chimique et leur origine microbienne (Kedidi, 2014). Pour ces molécules d'origine microbienne, la structure chimique est considérée comme la base de la classification (Figure 03) en tant que lipopolysaccharide, lipoprotéine, biopolymère, phospholipide ou glycolipide (Najmi et al., 2018). Les glycolipides et les lipopeptides sont les groupes les plus largement explorés dans la littérature en raison des rendements de production élevés et du potentiel d'application considérable dans les domaines les plus divers (Souza et al., 2017).

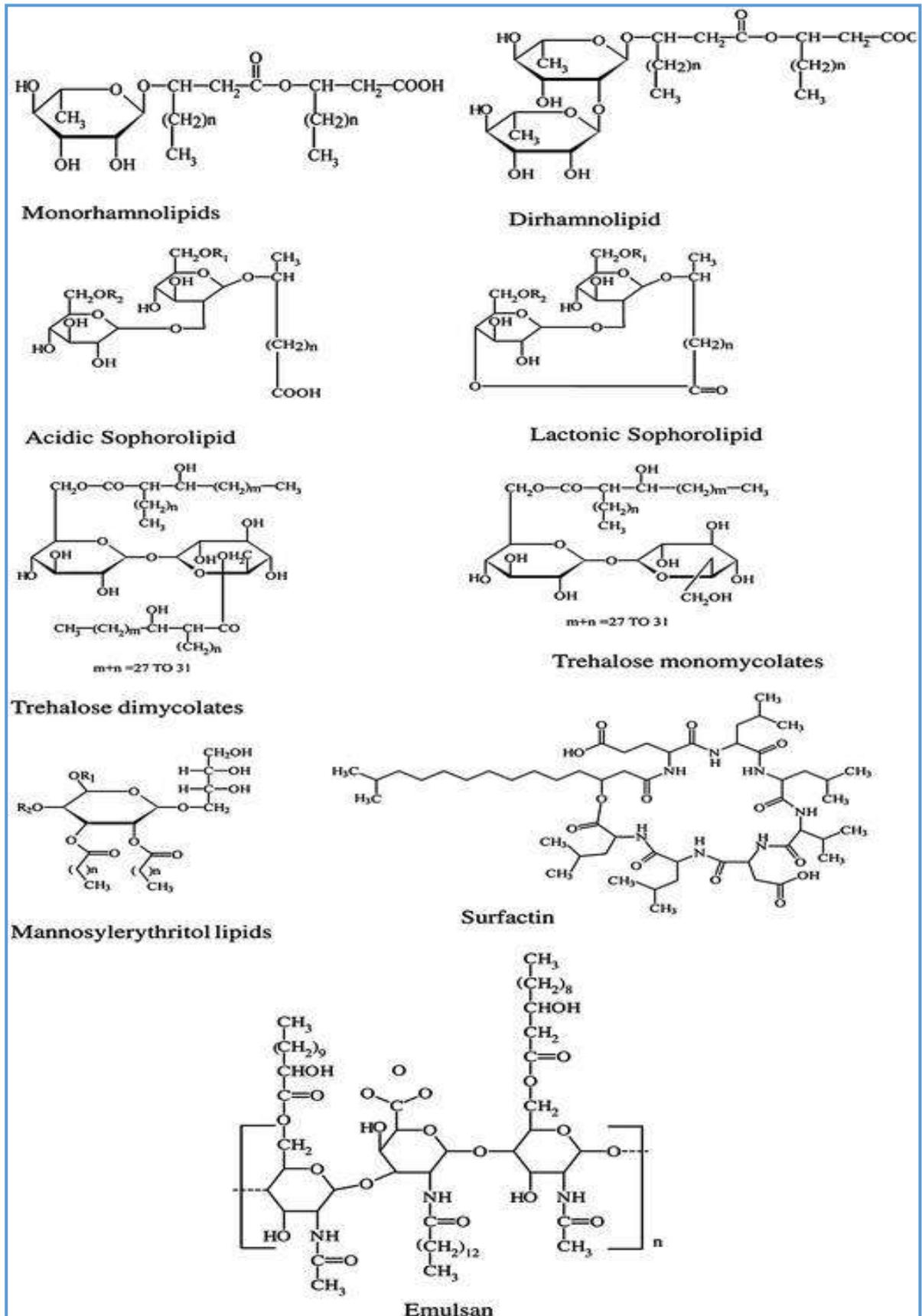


Figure 3: Structure chimique des biosurfactants (Banat et al., 2010).

I.3.3.1. Les glycolipides

Ils ont une longue chaîne d'acides aliphatiques. Ils forment une liaison soit avec un groupe ester, soit avec un groupe éther. Parmi les glycolipides on trouve les sophrolipides produits par *Candida bombicola*, *Candida apicola*, les rhamnolipides produits par *Pseudomonas aeruginosa* et les tréhalolipides synthétiser par *Rhodococcus erithropoli*, *Arthobacter sp.* (Sharma et al., 2016).

I.3.3.2.Lipopeptides et lipoprotéines

Un grand nombre de lipopeptide cyclique, y compris des antibiotiques décapeptides (gramicidine) et des antibiotiques lipopeptides (polymyxine) produits par des bactéries, *Bacillus brevis* et *Bacillus polymysca*, qui ont des propriétés tensioactives remarquable. Ils sont constitués d'un lipide attaché à une chaîne polypeptidique (Desai et Banat, 1997 ; Muthusamy et al., 2008).

I.3.3.3.Acides gras, phospholipides et lipides neutre

Plusieurs bactéries et levures produisent de grandes quantités d'acides gras et de phospholipides de type surfactant pendant leur croissance sur le substrat n-alcanes. Les acides gras produits à partir d'alcane sont le résultat d'oxydations microbiennes qui ont été considérée comme de tensioactifs en dehors de ces acides à chaîne droite, les micro-organismes produisent des acides gras complexes contenant des groupes OH et des branches Alkyle, les acides corynomuoliques étant un exemple de ces acides complexes (Rahman et Gakpe, 2008).

I.3.3.4.Phospholipide

Ils sont des composants majeurs des membranes microbiennes, lorsque certaines bactéries ou levures dégradant les hydrocarbures sont cultivées sur des substrats de l'alcane le niveau des phospholipides augmente considérablement, lorsque la bactérie *Acinetobacter PS* cultivée sur un substrat d'hescadécane, elle produit des phospholipides, principalement de la phosphotidyléthanolamine (Muthusamy et al., 2008).

I.3.3.5.Tensioactifs microbiens polymères

Les biosurfactants polymères sont des biosurfactants de haut poids moléculaire ont un squelette de trois ou quatre sucres répétés avec des acides gras attachés aux sucres. Les biosurfactants polymères les mieux étudiés sont les émulsanes. L'émulsane est un émulsifiant

extracellulaire soluble dans l'eau produit par les bactéries *Acinetobacter calcoaceticus*, le liposan produit par *Candida lipolytica*, la mannoprotéine produit par *Acinetobacter calcoaceticus* (**Bognolo, 1999**).

I.4. Production microbienne de biosurfactants

I.4.1. Les micro-organismes producteurs de biosurfactants

Les micro-organismes utilisent un ensemble de source de carbone et d'énergie pour leur croissance. La combinaison de source de carbone avec des substrats insolubles facilite la diffusion intracellulaire et la production de différentes substances (**Deleu et paquot, 2004 ; Chakraborty et Das, 2014**) Les micro-organismes comme les levures, les bactéries et certains champignons filamenteux sont capables de produire des biosurfactants avec différentes structures moléculaires et activités de surface (**Campos et al., 2013**).

Au cours des dernières décennies, il y a eu une augmentation de l'intérêt scientifique concernant l'isolement de micro-organismes qui produisent des molécules tensioactives avec de bonnes caractéristiques, tensioactives telles qu'une faible CMC, une faible toxicité et une activité émulsifiante élevée. La littérature décrit les bactéries des genres *Pseudomonas* et *Bacillus* comme de grands producteurs de biosurfactants (**Silva et al., 2014**). Cependant, la plupart des biosurfactants d'origine bactérienne ne sont pas adaptés à une utilisation dans l'industrie alimentaire en raison de leur éventuelle nature pathogène (**Shepherd et al., 1995**).

Candida bombicola et *Candida lipolytica* sont parmi les levures les plus étudiées pour la production de biosurfactants. L'un des principaux avantages de l'utilisation de levures, telles que *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Kluyveronuces lactis*, réside dans leur statut Generally Recognized As Safe (GRAS). Les organismes ayant le statut GRAS ne présentent aucun risque de toxicité ou de pathogénicité, ce qui permet leur utilisation dans les industries alimentaire et pharmaceutique (**Campos et al., 2013**). Le tableau 01 présente une liste de plusieurs micro-organismes qui produit des biosurfactants.

Tableau 1: Divers biosurfactants produits par des micro-organismes (Desai et Banat, 1997).

Classe	Type de biosurfactants	Microorganismes
Les glycolipides	Rhamnolipid	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Les sophorolipides	<i>Torulopsis bombicola</i>
	Trehalolipids	<i>T. apicola</i>
Lipopeptides et lipoprotéines	Peptide-lipide	<i>Bacillus licheniformis.</i>
	Viscosine	<i>Pseudomonas fluorescens.</i>
	Surfactine	<i>Bacillus subtilis.</i>
	Subtilisine	<i>Bacillus subtilis.</i>
	Gramicidine	<i>Bacillus brevis.</i>
	Polymyxine	<i>Bacillus polymyxa.</i>
	Serrawettine	<i>Serratia marcescens.</i>
Acides gras, lipides neutres et phospholipides	Acide gras	<i>Corynebacterium lepus.</i>
	Lipides neutres	<i>Nocardia erythropolis.</i>
	Phospholipides	<i>Thiobacillus thiooxidans.</i>
Biosurfactants polymères	Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus.</i>
	Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus.</i>
	Liposane	<i>Candida lipolytica.</i>
	Carbohydrate-lipide-protéine	<i>Pseudomonas fluerescens.</i>
	Mannane-lipide-protéine	<i>Candida tropicalis.</i>
Biosurfactants particulaire	Vésicules	<i>Acinetobacter calcoaceticus.</i>

I.4.2. Mécanisme de production du biosurfactants

Les microorganismes se sont adaptés en termes d'équipements enzymatiques de régulation pour utiliser deux voies métaboliques: les voies des hydrocarbures et des glucides comme source de carbone et d'énergie pour leurs croissance (**Jemil et al., 2017**), et impliqué dans la synthèse des fractions hydrophobe (acide gras à long chaîne, hydroxy-acide gras, alkyl- β -hydroxy-acide gras) et des hydrophiles (glucide, acide carboxylique, phosphate, acide amine, cyclopeptide, alcool) puis sont fusionnés pour former une structure amphipathiques (**Cameotra et Makkar, 1998**).

La biosynthèse et la régulation génétique de la production des biosurfactants sont mal connues (**Hewald et al., 2006**). Alors que l'aspect génétique de la production de rhamnolipides par *Pseudomonas aeruginosa* est la voie métabolique la plus étudiée au niveau génétique (**Lang et Wullbrandt, 1999**).

La production de rhamnolipides par *P. aeruginosa* utilise les voies métaboliques principales (Figure 04), telles que la synthèse des acides gras et les sucres activés par la TDP (**Maier et Soberon-Chavez, 2000**) La synthèse est assurée par l'enzyme rhamnosyltransférase, dont les gènes codant ont été découverts par (**Ochsner et al., 1994**). Ces gènes ont été identifiés comme l'opéron rhAB cette enzyme catalyse le transfert de TDP-L-rhamnose au 13 hydroxydécanoyl. RhIB est la protéine catalytique de la rhamnosyltransférase et rhIA est indispensable pour la synthèse du rhamnolipide (**Deziel et al., 2003**).

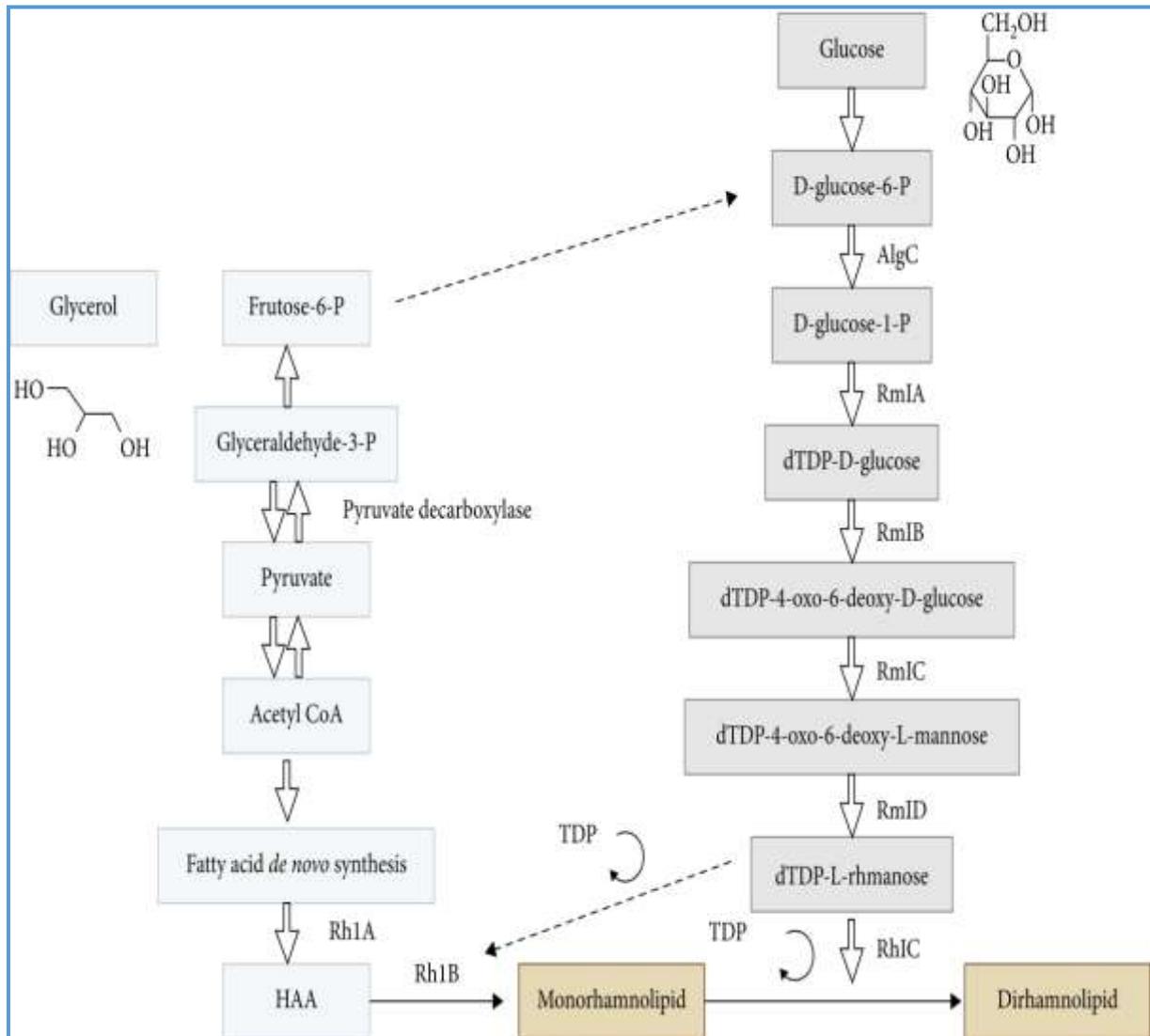


Figure 4: Mécanismes de production des biosurfactants (Gogoi et al., 2016).

I.4.3. Effet de divers facteurs dans la production de biosurfactants microbiens

I.4.3.1. Facteurs nutritionnels

La fermentation est un processus d'une grande importance biotechnologique. Dans les matières premières (telles que les sucres et les huiles) sont transformées en différents produits à l'aide de micro-organismes (bactéries, champignons, levures) (Soetaert et Vandamme., 2006). Pour que les micro-organismes puissent développer et produire des composés d'intérêt commercial, ils doivent disposer de l'eau, du carbone, de l'azote, des ions inorganiques, des vitamines et de l'oxygène (pour les organismes aérobies) et les paramètres adéquats de pH, de température, d'agitation et de la salinité (Nurfarahin et al., 2018).

Dans ce contexte, étant donné que les tensioactifs biologiques sont obtenus à partir de micro-organismes, les biosurfactants sont considérés comme des produits naturels, la production de tensioactifs biologiques est influencée par les facteurs mentionnés, les paramètres fermentaires doivent donc être évalués, pour déterminer les meilleures conditions de cultures pour une production de ces composés (Mulligan et al., 2014 ; Kosaric Sukan, 2014 ; Jimoh et Lin, 2019 ; Santos et al., 2016).

a. Source de carbone : La source de carbone joue un rôle important dans la croissance et la production de biosurfactants par les micro-organismes et varie d'une espèce à l'autre, un rendement très faible a été constaté lorsque seul le glucose ou l'huile végétale était utilisé pour la production d'un biosurfactant par *Torulopsis bombicala*, mais le rendement a augmenté à 70 g/L lorsque les deux sources de carbone étaient fournies ensemble (Cooper et Paddock, 1984).

La synthèse des rhamnolipides par *Pseudomonas sp* nécessite des sources de carbone hydrosolubles telles que le glycérol, le glucose, le mannitol et l'éthanol, ainsi que des substrats insolubles dans l'eau tels que les n-alcanes et l'huile d'olive (Desai et Banat, 1997). Les sources de carbone de type pétrolier sont utilisées pour obtenir le rendement le plus élevé de rhamnolipides, mais l'utilisation de sources de carbone moins chères et renouvelables, telles que la lignocellulose ou des déchets de raffinage agricole de l'huile de palme, serait une stratégie intéressante pour réduire les coûts de production (Li, 2017 ; Radzuan et al., 2017).

b. Source d'azote : c'est le deuxième complément le plus important pour la production de biosurfactants par les micro-organismes. Dans le processus fermentaire, les rapports C/N affectent l'accumulation de métabolites. Un rapport C/N élevé (c'est-à-dire une faible teneur en azote) limite la croissance bactérienne, favorisant le métabolisme cellulaire vers la production de métabolites. En revanche, un excès d'azote conduit à la synthèse de matériel cellulaire et limite l'accumulation de produit (Robert et al., 1989).

c. Les ions inorganiques : En plus du carbone et de l'azote les micro-organismes ont besoin d'autres composés tels que le potassium, le magnésium, le fer, le manganèse, le cobalt et le zinc, soit en grande quantité, soit en petite quantité. Par conséquent, la production de biosurfactants, des micro-organismes les plus divers est également affectée par ces éléments. Gudiña et ses collaborateurs ont prouvé que la quantité de biosurfactants produits par *B. subtilis* était environ 3 à 4 fois plus importante lorsque les sels métalliques de fer (à partir de

FeSo₄), manganèse (à partir de MnSo₄), et le magnésium (à partir de MgSo₄) étaient utilisés. Ces métaux agissent comme des cofacteurs pour les enzymes impliquées dans la synthèse de la surfactine, et l'amélioration observée concernait aussi bien l'utilisation individuelle que la combinaison de ces trois ions dans un même produit (Gudiña et al., 2015).

I.4.3.2. Paramètre physique

De la même manière que les aspects nutritionnels des milieux fermentaires influent sur les biosurfactants, les aspects physiques influent également sur la production microbienne de composés biotechnologique la température, le pH, l'agitation l'aération, la salinité et la concentration de l'inoculum sont quelques aspects physiques couramment contrôlés pendant la production de biosurfactants en raison de leur influence sur le produit final (Jimoh et Lin, 2019).

a. La salinité : La salinité ou la concentration en sel présente dans le milieu fermentaire affecte la production de biosurfactant de différentes manières (Osman et al., 2019). Almansoori et ses collaborateurs ont réalisé une étude avec *S.marcescens* pour évaluer l'effet de différente concentration de NaCl (1-5%), confirmant que la salinité est un facteur critique pour la production de biosurfactants (Almansoori et al., 2017). Hu et ses collaborateurs ont montré qu'en l'absence de NaCl, le microorganisme producteur *Vibrio sp.* ne se développait pratiquement pas, d'où le rendement le plus faible du produit. Néanmoins, à des concentrations élevées, la tension superficielle était altérée (Hu et al., 2015).

b. La température : En plus d'influencer les performances du bioprocédé, la température modifie également la composition des biosurfactants (Chen et al., 2015). Il s'agit d'un paramètre très important dans les processus de fermentation comme l'ont démontré Mohamed Abdel-Mawgoud et ses collaborateurs, qui ont analysé le comportement de *B. Subtilis* à différentes températures. Bien que la souche ait présente une forte croissance cellulaire élevée dans toutes les conditions testées, la température la plus favorable à la production de surfactine était de 30 C° (Abdel-Mawgoud et al., 2008). les chercheurs ont étudié le biosurfactants excrété par *S. marcescens* dans des milieux à 20, 25, 30, 35 et 40C°, et leur condition optimale était également à 30C° (Almansoori et al., 2017).

Dans le travail développé par Hassan et ses collaborateurs, avec *P. aeruginosa*, la température était un facteur qui influençait de manière significative la production de

rhamnolipides. La production maximale a été obtenue à 30C°, mais des effets indésirables ont été observés à des températures plus élevées (**Hassan et al., 2016**).

c. Potentiel d'hydrogène pH :Le pH du milieu de fermentation des micro-organismes est d'une grande importance car ce paramètre a un impact sur la croissance cellulaire et la production de différents métabolites (**Sen et Swaminathan, 1997**). Vigneshwaran et ses collaborateurs ont mené une étude sur *Brevibacillus Sp.* afin d'évaluer l'influence des variations de pH (sur une échelle de 4 à 8) sur le micro-organisme et le biosurfactant obtenu les auteurs ont constaté que le pH affectait le métabolisme cellulaire, réduisant ainsi l'efficacité de l'obtention du bioproduit. Il y a une augmentation du rendement pour des valeurs de pH égale ou supérieur à 4 ; cependant, le rendement a diminué lorsque le pH était supérieur à 7, le rendement maximal était enregistré à un pH neutre, ce qui prouve que les micro-organismes analysés ont un rendement plus significatif à un pH proche de la neutralité (**Vigneshwaran et al., 2018**).

d. L'aération et l'agitation : Facteur essentiels pour la production de biosurfactants (**Jimoh et Lin, 2019**). Silva et ses collaborateurs ont évalué les effets de l'aération et de l'agitation sur la production de biosurfactants par *P. aeruginosa*. Pour les deux vitesses évaluées (150 et 200 rpm). Les résultats montrent une accumulation de bioproduits (6,5 g/L) à la vitesse de 200 rpm. L'aération a été évaluée à 60, 80 et 90%, mais il n'y a eu aucun changement dans la concentration de biosurfactant (**Silva et al., 2010**).

I.5. Propriétés biologiques des biosurfactants

Les biosurfactants sont des biomolécules tensioactives qui sont mises en œuvre dans de nombreuses industries différentes en raison de leur propriétés (**Vijayakumar et Saravanan, 2015**). Ils ont la capacité de former des micelles. Cela leur permet d'avoir des structures morphologiquement et augmente leur spécificité. Leur capacité à réduire la tension de surface et la tension interfaciale les rend aptes à des applications commerciales (**Cortés-Sánchez et al., 2013**).

Les biosurfactants pourraient éventuellement être utilisés dans diverses applications thérapeutiques grâce à leurs propriétés biologiques comme agent anti-inflammatoire, antibiofilm et antiadhérent, antivirales, antitumorale. La tolérance à la température et au pH est importante pour la plupart des systèmes, et la biodégradabilité des biosurfactants est une autre raison pour laquelle il est nécessaire de les utiliser (**Liu et al., 2010**).

I.5.1. Activité superficielle et interfaciale

Les tensioactifs aident à diminuer la tension superficielle et la pression interfaciale (Figure 05). La surfactine produite par *B. subtilis* peut réduire la tension superficielle de l'eau à 25 mN/m et la pression interfaciale eau/hexadécane à moins de 1 mN/m (Cavalero et Cooper, 2003).

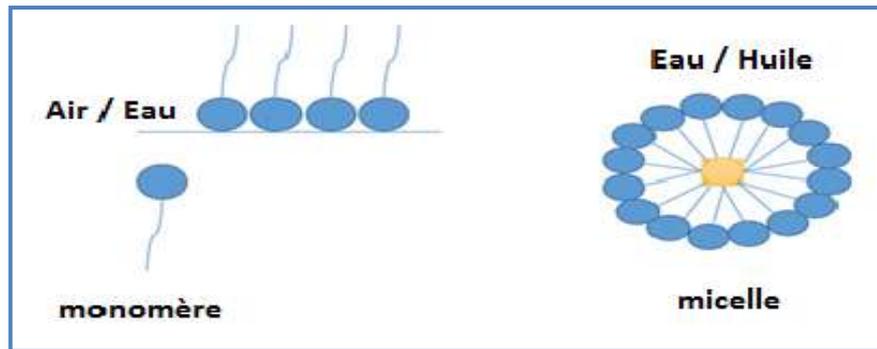


Figure 5: Tension interfaciale et superficielle du monomère tensioactifs (tête polaire et queue hydrocarbonée); formation de micelles dans l'eau et l'huile (Sanchez et al., 2021).

I.5.2. Tolérance à la température, au pH et à la force ionique

La plupart des biotensioactifs sont résistants aux facteurs environnementaux extrêmes tels que la température, la salinité et le pH (Banat et al., 2000).

I.5.3. Faible toxicité et biodégradabilité

Bien qu'il n'y ait pas eu beaucoup de travaux écrits sur la toxicité des biosurfactants, on pense généralement qu'ils sont peu ou pas nocifs et qu'ils peuvent être utilisés à des fins pharmaceutiques, correctives et alimentaire (Roy, 2017). Des études qui ont montré que la toxicité supérieure du tensioactif d'origine chimique, dont la CL50 contre *Photobacterium phosphoreum* était 10 fois inférieure à celle des rhamnolipides. Le faible profil de toxicité des biosurfactants, des sophorolipides de *Candida bombicola* les rend utiles dans les entreprises d'alimentation (Roy, 2017).

Les composés dérivés des microbes peuvent être facilement dégradés par rapports aux tensioactifs synthétiques et sont appropriés pour des applications naturelles telles que la bioremédiation, biosorption (Desai et Banat, 1997 ; Edwards et Hayashi, 1965). Une étude récente menée par Rodríguez-López et ses collaborateurs un biosurfactant contenu dans un

extrait brut a été soumis à une étude de biodégradation. Sans ajout de biomasse microbienne externe, tout en faisant varier la température, le pH et le temps de biodégradation. La biodégradabilité du biosurfactant a été mesurée en pourcentage et calculée sur la base de l'augmentation de la tension de surface de d'échantillons de l'extrait brut, avec des valeurs atteignant 80 % (Rodríguez-López et al., 2020).

Moldes et ses collaborateurs ont mené une étude sur l'utilisation de biosurfactants pour la biorémédiation de sols contaminé par de l'octane. Après 15 jours de traitement, les biosurfactants de *Lactobacillus pentosus* réduisaient la concentration d'octane dans le sol à environ 60%, tandis qu'après 30 jours de traitement, 76% de l'octane dans le sol était biodégradé. En l'absence de biosurfactants, le taux d'élimination était au moins trois fois plus lent (Moldes et al., 2011).

I.5.4. Les biosurfactants formateur d'émulsions ou briseurs

Une émulsion est un système hétérogène constitué d'un liquide non miscible dispersé dans un autre liquide sous forme de gouttelettes dans le diamètre dépasse généralement 0,1 nm, il existe deux type d'émulsion de base (Figure 06): huile dans l'eau et eau dans l'huile. Les émulsions ont une stabilité minimale, mais l'ajout de biosurfactants peut conduire à une émulsion qui reste stable pendant des mois, voire des années (Velikonja et Kosaric, 1993).

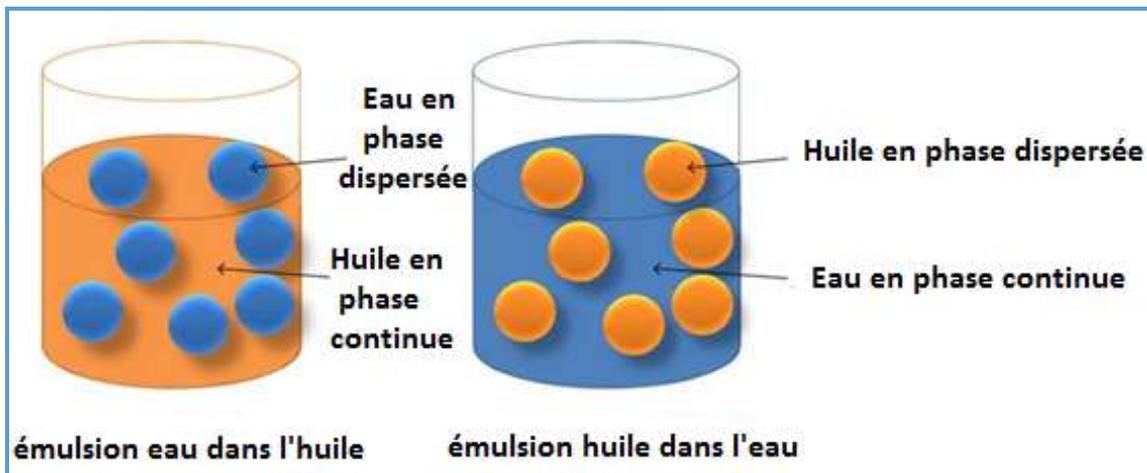


Figure 6: Les deux types d'émulsion de base (Yahaya Khan et al., 2014).

I.5.5. Agents antibiofilm et antiadhésifs

Un biofilm peut être décrit comme un groupe de microbes/autres matières organiques qui se sont agrégés sur une surface quelconque (**Jadhav et al., 2011**). L'étape initiale de la fondation d'un biofilm est l'adhésion bactérienne (Figure 07) sur la surface, qui est influencée par différents éléments, notamment le type de microorganismes, l'hydrophobie et les charges électriques de la surface, les conditions écologiques et la capacité des microorganismes à délivrer des polymères extracellulaires qui peuvent être utilisés pour la formation de biofilms aident les cellules à s'accrocher aux surfaces (**Kachholz, 1987**).

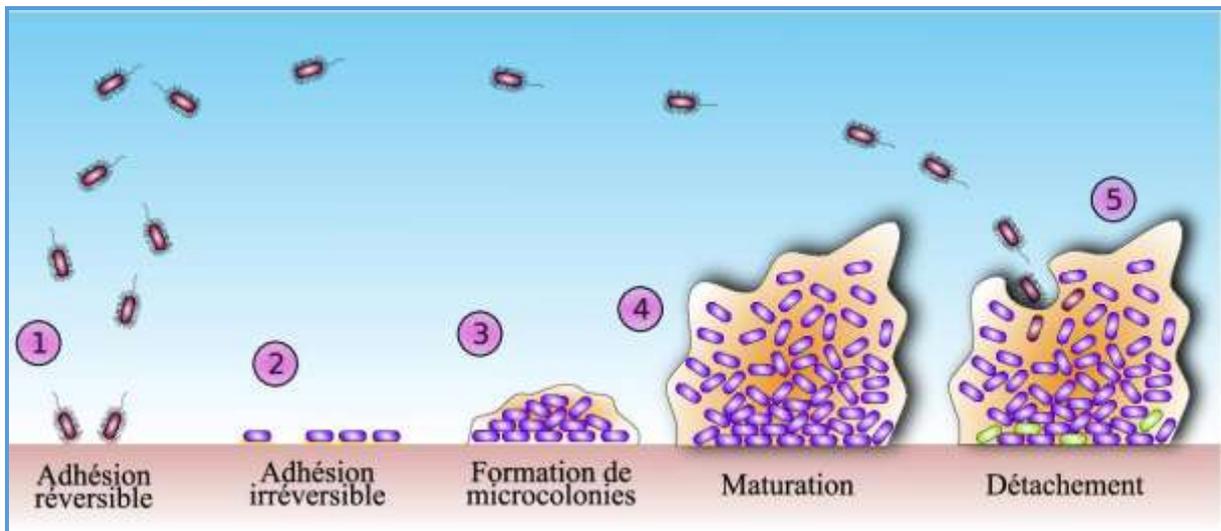


Figure 7: Formation d'un biofilm (**Boudarel, 2018**).

Les biosurfactants peuvent être utilisés pour modifier l'hydrophobie de la surface, ce qui influe sur la fixation des micro-organismes sur la surface (Figure 08). Un tensioactif issu de *Streptococcus thermophilus* freine la colonisation de l'acier par l'autre souche thermophile de *Streptococcus*, responsable de l'encrassement. De même, un biosurfactant issu de *Pseudomonas fluorescens* a empêché la connexion de *Listeria monocytogenes* à la surface de l'acier (**Konishi et al., 2008**).

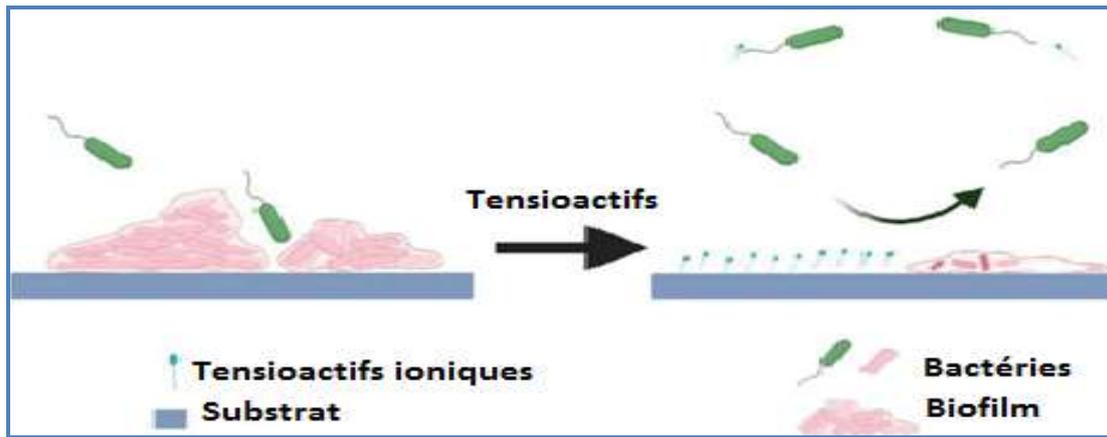


Figure 8: L'empêchement de biosurfactants la formation d'un biofilm (Chen et al., 2021).

I.5.6. Agents anti-tumoral et antiviral

Certains BS inactivent les virus grâce à des réactions physico-chimiques (Vollenbroich et al., 1997). Cette hypothétique nature ne se produit que dans les virus enveloppés. En général, il est dit que la BS perturbe les structures membranaires virales et perturbe le revêtement externe (Shah et al., 2005). La nature hydrophile de la BS est due à la présence de groupes acétyles qui favorisent l'activité antivirale (Borsanyiova et al., 2016). De même, l'hydrophobe avec un nombre spécifique d'atomes de carbone inactive les effets virucides (Kracht et al., 1999). L'activité antivirale des BS a été approuvée et des brevets ont été obtenus pour le traitement de divers virus (Bonvila et al., 2009 ; Gross et Shah, 2007). Naruse et ses collaborateurs ont analysé le potentiel antiviral d'un biosurfactant produit par *B. subtilis*, sur le virus de l'herpès, Ils ont rapporté une forte activité antivirale de ce composé (Naruse et al., 1990).

L'une des découvertes les plus intéressantes concernant les biosurfactants est leur capacité à contrôler diverses fonctions des cellules de mammifères. Et par conséquent, leur potentiel d'action en tant que agents antitumoraux interférant avec certains processus de progression du cancer En effet, il a été démontré que les biosurfactants de type lipopeptides, sont particulièrement intéressant à raison de leurs activités de surface élevées, Ces biosurfactants jouent des rôles, antiviraux et antitumoraux, et les inhibiteurs de toxines (Ongena et Jacques, 2008).

I.5.7. Agent anti-inflammatoire

Les caractéristiques structurelles amphiphiles de la surfactine lui permettent d'interagir avec les membranes cellulaires et les macromolécules, comme les enzymes et les lipopolysaccharides (LPS) (**Chang et al., 2011**). De nombreuses recherches ont permis d'établir que la surfactine inhibe l'effet inflammatoire de l'interaction directe des LPS avec les cellules (**Seydlová et Svobodová, 2008 ; Kim et al., 2006**).

I.5.8. Agent anticorrosion

Les tensioactifs qui peuvent s'adsorber sur la surface des métaux constituent une classe spécifique d'inhibiteurs organiques de la corrosion des métaux en raison de leur activité de surface aqueuse. Ces tensioactifs sont particulièrement utiles dans décapage acide du fer et de l'acier, le nettoyage et le traitement chimique des minerais et l'acidification des puits de pétrole. À ce jour, différents types de tensioactifs ont été mis au point à cette fin en employant divers groupes hydrophobes d'hydrocarbures et des groupes de tête hydrophiles, L'adsorption d'un tel tensioactif est motivée par les facteurs suivants rôle électrostatique et/ou donneur d'électrons coordonné de l'hydrophile contenant S, O et/ou N, ce qui conduit à bloquer les sites actifs de la corrosion (**Li et al., 2009**).

Tandis que d'autre part, la partie hydrophobe forme une couche très compacte en tant que barrière isolante pour empêcher l'eau et les espèces corrosives d'entrer en contact avec le produit. Ce qui renforce encore l'effet anticorrosion (**Asefi et al., 2010 ; Heakal et al., 2017**).

Un rapport existant de Liu et ses collaborateurs démontré une efficacité modérée d'inhibition de la corrosion de 92,32 %.en utilisant un tensioactif amphotère contenant du perfluorooctanesulfonyle (**Liu et al., 2016**).

Chapitre II



II. Application des biosurfactants dans l'industrie

Les biosurfactants ont un large éventail d'applications, notamment dans les industries alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, dans la bioremédiation, biomédicale et nanotechnologique. Ils peuvent présenter des avantages par rapport à leurs équivalents synthétiques, car les premiers sont respectueux de l'environnement. En raison de leur biodégradabilité et de leur faible toxicité, l'utilisation des biosurfactants a augmenté, dans le domaine de la biotechnologie. Le tableau 02 présente un résumé des utilisations des biosurfactants dans différentes industries (Vecino et al., 2017 ; Jimoh et Lin, 2019).

Tableau 2: Utilisation des biosurfactants dans différentes industries.

Industrie	Application	Référence
Environnement	Bioremédiation ; opérations de nettoyage des déversements d'hydrocarbures	(Silva et al., 2014 ; Pacwa-Plociniczak et al., 2011)
Pétrole	Récupération assistée du pétrole, Émulsification des huiles, abaissement de la tension interfaciale, réduction de la viscosité, dispersion des huiles, inhibition de la corrosion dans les équipements.	(Pacwa-Plociniczak et al., 2011 ; Souza, et al., 2014)
Médicale	Microbiologie, Produits pharmaceutiques et thérapeutiques	(Ławniczak et al., 2013)
Alimentaire	Emulsification, Solubilisation des huiles détergence, moussage, épaississant.	(Campos et al., 2013)
Agriculture	Bio-contrôle; Engrais	(Sachdev et Cameotra, 2013)

II.1. Les biosurfactants comme agent bioémulsifiants dans la formulation alimentaire

Les biosurfactants ont suscité un intérêt considérable au cours des dernières décennies en raison de leurs propriétés avantageuses, favorisant leur application comme bioémulsifiants dans l'industrie alimentaires (Garg et al., 2018 ; Felix et al., 2019).

La capacité d'émulsification est une propriété très attractive de ces biomolécules pour les produits alimentaires. Les termes " biosurfactants " et " bioémulsifiants " sont souvent utilisés de manière interchangeable. Cependant, ceux qui réduisent la tension superficielle à l'interface air-eau sont appelés biosurfactants et ceux qui conduisent à l'émulsification sont appelés bioémulsifiants (Mujumdar et al., 2019).

Les biosurfactants sont également efficaces pour solubiliser les huiles végétales, stabiliser les graisses pendant les processus de cuisson, et améliorer les propriétés organoleptiques du pain. Les biomolécules peuvent être utilisées dans les formulations de crèmes glacées (Pessôa et al., 2019) les biscuits pour remplacer les additifs synthétiques (Zouari et al., 2016), et les vinaigrettes, comme émulsifiant (Campos et al., 2019).

Dans les aliments farineux, l'utilisation d'émulsifiants d'origine microbienne a émergé pour réduire l'utilisation des émulsifiants actuellement commercialisés et améliorer la rhéologie des produits (Kieliszek et al., 2017).

II.1.1. Structure d'émulsions

Les émulsions sont des systèmes dispersés constitués de deux phases non miscibles, l'une est dispersée dans l'autre sous forme de petites gouttelettes tel que l'eau et l'huile (McClements, 2014).

Il existe deux principaux types d'émulsions (Figure 09): eau dans l'huile (E/H) et huile dans l'eau (H/E) (Yamashita et al., 2017). Des émulsions multiples peuvent se former : E/H/E : eau dans l'huile dans l'eau ou H/E/H : huile dans l'eau dans l'huile (Tamnak et al., 2016), Les émulsions doubles présentent un intérêt particulier pour l'industrie alimentaire (Cofrades et al., 2013 ; Devanthi et al., 2018).

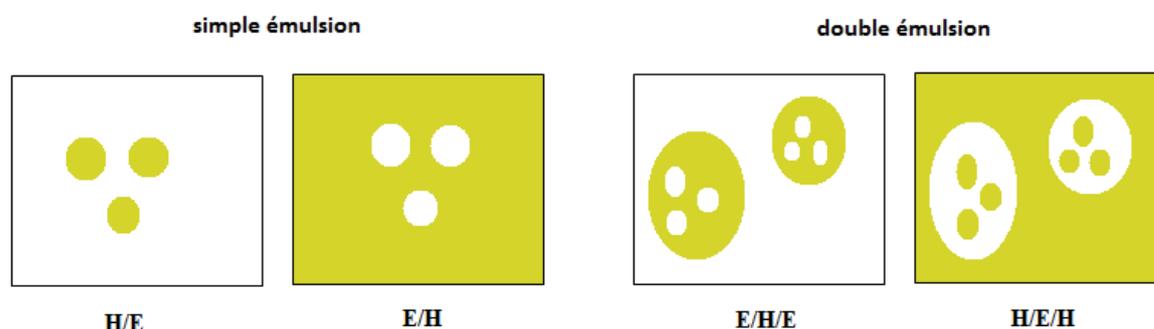


Figure 9: Simple et double émulsion (Daniels et Knie 2007).

II.1.1. Rôle des bioémulsifiants dans la formation et la stabilité des émulsions

Le rôle principale des bioémulsifiants est d'abaisser la tension interfaciale, ce qui permet la formation de petites gouttelettes et confèrent leurs stabilisation (Figure 10), les bioémulsifiants sont capable de s'absorber à l'interface entre l'huile et l'eau, réduisant les interactions défavorable entre ces molécules et permettent la dispersion des gouttelettes d'une phase dans la seconde (McClements et Jafari, 2018), le HLB est une méthode qui permet de chiffrer l'équilibre existant entre la partie hydrophile et hydrophobe de tensioactif, l'équilibre lié à la solubilité dans l'eau, l'échelle varie de 0 à 20 plus la valeur est élevée plus la solubilité dans l'eau est grande, si on obtient une HLB comprise entre 1 et 6 on aura une émulsion de type E/H, pour une HLB supérieur à 10 on aura une émulsion de type H/E (Griffin, 1949). Ce qui traduit par une stabilité accrue de l'émulsion (Goodarzi et Zendehboudi, 2019).

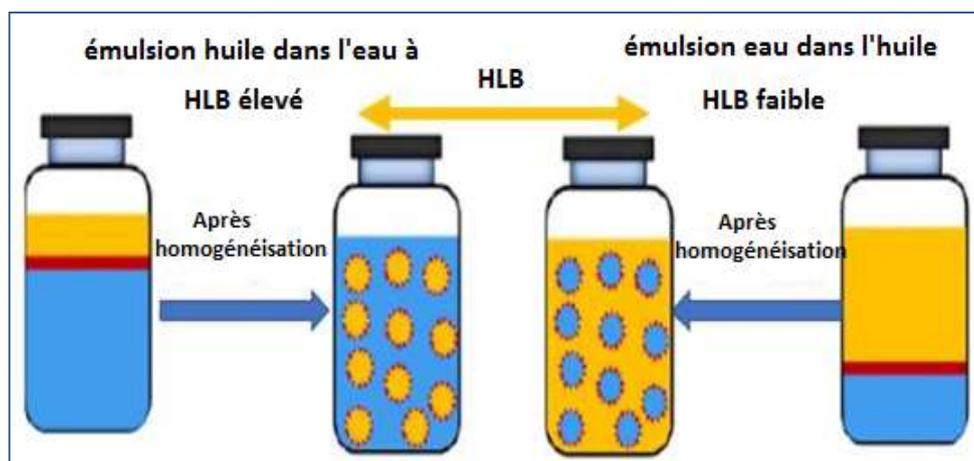


Figure 10: Application de la valeur HLB (balance hydrophile-lipophile) aux E/H et H/E (Nour et al., 2018).

II.1.2. Indice d'émulsification ($E_{24}\%$)

La capacité de stabilisation de l'émulsion d'un tensioactif est évaluée sur sa capacité à maintenir au moins 50% du volume original de l'émulsion pendant 24 heures après sa formation. Plusieurs auteurs considèrent, un pourcentage d'émulsification plus élevé (supérieur à 50%) indique une meilleure activité émulsifiante d'un biosurfactant La valeur de l'indice d'émulsification est déterminée par la formule suivante (Campos et al., 2015) :

$$E_{24} \% = [\text{Hauteur de la couche émulsifiée} / \text{Hauteur totale du liquide}] \times 100$$

Le biosurfactant produit par *Candida guilliermondii* a été capable de former des émulsions stables avec de l'huile de maïs (50%), de l'huile de tournesol (54%), de l'huile de soja (48%) et de l'huile de moteur (71,4%), ce qui indique une direction pour des études ultérieures et d'application dans l'industrie. En analysant un biosurfactant produit par *C. utilis* cultivé dans un milieu supplémenté avec, huiles moteur, maïs et soja, a trouvé des indices d'émulsification de 78%, 21% et 24% (Campos et al., 2015).

II.1.3. Formulation de sauces mayonnaise à base de bioémulsifiants

La propriété émulsifiante du biosurfactant produit par *C. guilliermondii* a été testée dans la formulation de sept types différents de sauce mayonnaise obtenue à partir d'échantillons commerciaux des ingrédients suivants (p/v) : 40% d'huile de tournesol, 40,3% d'eau, 10% de vinaigre, 4% d'œufs en poudre 2% de sucre, 2% de sel, 1% de farine de moutarde et 0,2% de gomme de guar et 0,5% d'amidon instantané. La concentration du biosurfactant isolé était comprise entre 0,2 et 0,8 % (p/v). Les formules ont ensuite été stockées à 4 °C pendant un mois (Shepherd et al., 1995).

Toutes les formules se sont révélées stables pendant la période de stockage (réfrigération) et aucune séparation de phase n'a pu être observée. Le tableau 03 représente la formulation de mayonnaise avec ajout de biosurfactant produit par *C. guilliermondii* dans un milieu complété par 5% de mélasse, 5% de liqueur de maïs et 5% d'huile de friture usagée, après 30 jours de refroidissement (Lira et al., 2021).

Tableau 3: Formulation de mayonnaise avec ajout de biosurfactant produit par *C. guilliermondii* (Lira et al., 2021).

Concentration de biosurfactant (p/v) et formulation mayonnaise	Séparation de phases
0.2	(-)
0.3	(-)
0.4	(-)
0.5	(-)
0.6	(-)
0.7	(-)
0.8	(-)

(-) absence de la séparation (+) présence de la séparation

La demande d'utilisation d'ingrédients naturels et sains dans les produits alimentaires augmente en raison de la sensibilisation à l'importance d'une alimentation (Lam et Nickerson, 2013). Pour cela de nombreux fabricants de produits alimentaires tentent de remplacer les émulsifiants synthétiques par des bioémulsifiants, Leurs propriétés et leur application potentielle, ont encouragé de nombreux chercheurs à améliorer leur production et sont devenus les biosurfactants les plus étudiés (Zgoła-Grześkowiak et al., 2011).

II.2. Biosurfactants dans l'industrie médicale

Les biosurfactants ont également été utilisés dans différentes applications biologiques et thérapeutiques (Figure 11) en raison de leurs propriétés fongicides, bactéricides, insecticides et antivirales, ainsi que de leur utilisation comme agents antiadhésifs (West et Harwell, 1992 ; Austard et Taugbøl, 1995 ; Rangarajan et Sen, 2013).

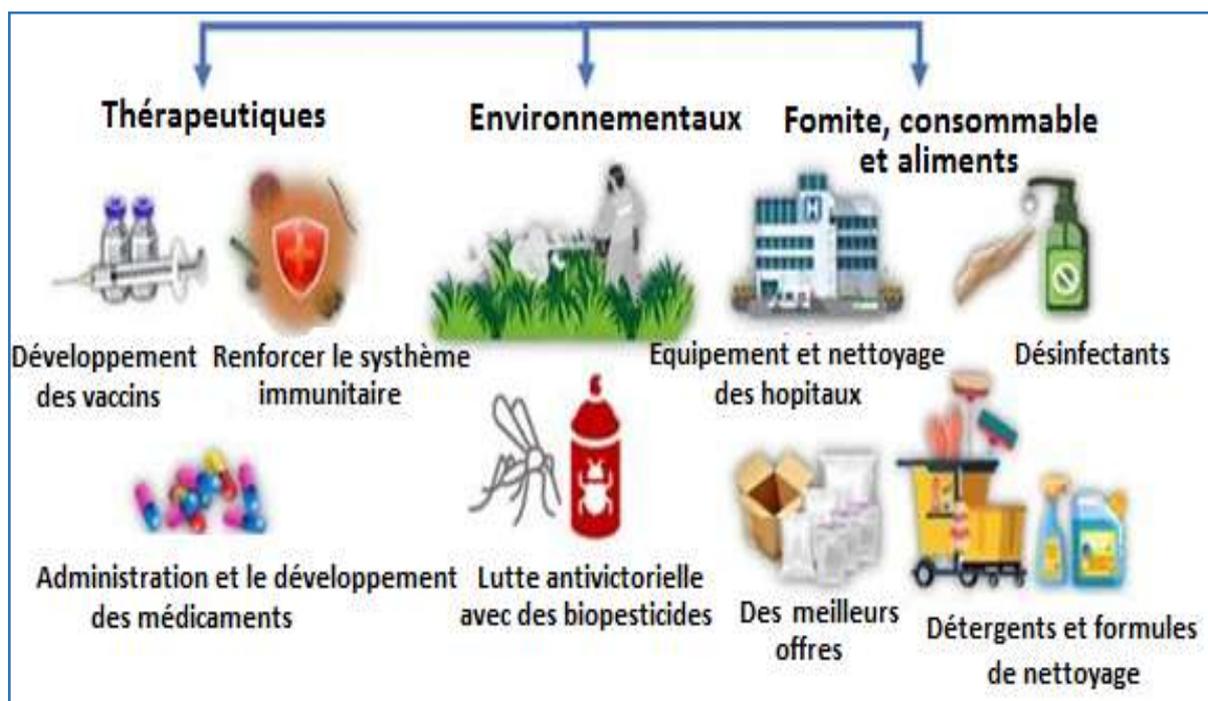


Figure 11: Application des biosurfactants dans différents domaines (Çelik et al., 2020).

Abalos et ses collaborateurs ont identifié six rhamnolipides dans des cultures de *P. aeruginosa* AT10 cultivées sur des résidus de raffinerie d'huile de soja et ils ont évalué leurs propriétés antimicrobiennes (Abalos et al., 2001). Ces rhamnolipides ont présenté d'excellentes propriétés antifongiques contre différents champignons (Joshi-Navare et Prabhune, 2013).

Certains lipopeptides, comme la daptomycine, ont atteint un statut d'antibiotique commercial (**Robbel et Marahiel, 2010**). La daptomycine est un lipopeptide cyclique ramifié isolé de cultures de *Streptomyces roseosporus* et produit par Cubist Pharmaceuticals sous le nom de Cubicin® (**Tally et al., 1999**). L'activité anti-adhérente, qui est la capacité d'inhiber l'adhérence des micro-organismes pathogènes aux surfaces solides ou aux sites infectieux, a également été rapportée pour les biosurfactants, conduisant à une réduction des infections hospitalières sans besoin de médicaments ou d'agents chimiques synthétiques (**Mnif et Ghribi, 2015**).

Meylheuc et ses collaborateurs ont étudié un biosurfactant obtenu à partir de *P.fluorescens* ayant des propriétés inhibitrices concernant l'adhérence de *Listeria monocytogenes* à des surfaces en acier inoxydable et en polytétrafluoroéthylène (**Meylheuc et al., 2001**).

Les sophorolipides de *C. bombicola* ont été étudiés en raison de leurs activités spermicides et cytotoxiques ainsi que de leur action anti-VIH qui peut réduire la prolifération du syndrome d'immunodéficiences acquises (SIDA). Les sophorolipides ont également été étudiés comme agents anti-inflammatoires pour les patients atteints de maladies immunitaires (**Muthusamy et al., 2008 ; Kitamoto et al., 2009**).

II.2.1. Activité antimicrobienne des biosurfactants

Des auteurs ont montré que des biosurfactants ont une activité antimicrobienne très efficace contre *Listeria monocytogenes*, lié à la contamination alimentaire. Plusieurs biosurfactants ont montré une action antimicrobienne contre des bactéries, des champignons ainsi que des virus. Un mélange de rhamnolipides obtenue de *Pseudomonas aeruginosa* a montré une activité inhibitrice contre les bactéries *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* et *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens* et *Mycobacterium phlei* ainsi que *Staphylococcus epidermidis*. Un surfactant glycolipide de *Candida antartica*, a montré une activité antimicrobienne particulièrement contre les bactéries à Gram positif (**Kitamoto et al., 1993**).

Des études menées par Gan et ses collaborateurs ont mis en évidence l'utilité des *Lactobacilles* et son biosurfactant dans la prévention de l'infection des implants chirurgicaux in vivo (**Gan et al., 2002**). Sharma et ses collaborateurs ont étudié l'activité antimicrobienne des biosurfactants des (*Lactobacillus. helveticus MRTL91*) qui est isolé à partir de plusieurs sources, puis criblés pour produire le biosurfactant. Les résultats ont montrés qu'une inhibition presque complète a été observée pour différentes concentrations de biosurfactant

comprises entre 1,56 et 25 mg/ml. La plus forte concentration de biosurfactant testée, à savoir 25 mg/ml, a montré le plus haut pourcentage d'inhibition pour *Escherichia coli* (90,4 %), *Pseudomonas aeruginosa* (75,6%), *Salmonella typhi* (78,6%), *Shigella flexneri* (70,2%), *Staphylococcus aureus* (92,5 %), *Staphylococcus epidermidis* (98,4 %), *Listeria monocytogenes* (99,5 %), *Listeria innocua* (99,7 %) et *Bacillus cereus* (99%). En outre, il est remarquable qu'un degré élevé d'inhibition de la croissance a été observé (de 73,2 à 100%) avec la concentration de biosurfactant testée (25 mg/ml) (Sharma et al., 2016).

II.2.2. Activité anti-adhérente et antibiofilm

Les biosurfactants et surfactine se sont avérés capables de réduire l'adhérence bactérienne (Figure 12) à des surfaces de polystyrène plus efficaces que le laurylsulfate de sodium, tensio-actif chimique. En outre, les rhamnolipides purifiée, inhibent pratiquement 100% de la croissance de la souche *Listeria monocytogenes* adhérente (Araujo et al., 2011).

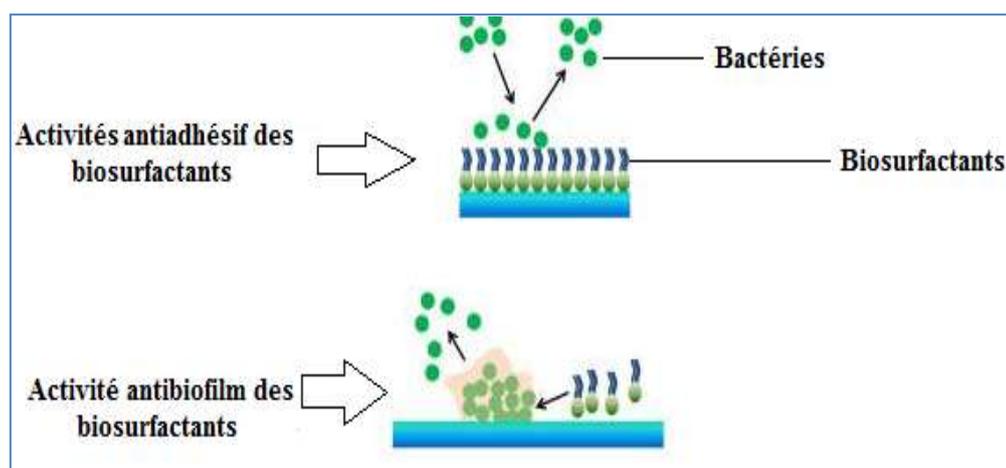


Figure 12: Réduction de l'adhésion bactériennes et la formation d'un biofilm (Atul Kumar et al., 2022).

Velraeds et ses collaborateurs ont également signalé qu'un biosurfactant riche en protéines de type surlactine provenant de *Lb. Acidophilus RC14* qui est un candidat idéal pour le développement de revêtements biologiques anti-adhésifs pour les dispositifs médicaux de type cathéter (Velraeds et al., 1998).

Golek et ses collaborateurs ont signalé que *Lb. casei* peut produire une glycoprotéine de type biosurfactant riche en nature protéique avec un polysaccharide comme l'une des principales fractions. Ils ont également signalé la présence de biosurfactants à partir de *Lb.*

fermenti 126, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* subsp. *Rhamnosus* CCM 1825 et ont montré leurs activités anti-adhésives contre *Klebsiella pneumonia* sur des cellules épithéliales intestinales (Golek et al., 2009).

Walencka et ses collaborateurs ont également isolé un biosurfactant produit par *Lb. acidophilus* qui inhibe le développement de biofilms chez *S. aureus* et *S. epidermidis* en affectant l'adhésion initiale, la formation du biofilm et la dispersion des cellules. Il a été suggéré que l'addition de biosurfactant à des biofilms préformés conduit à une dispersion rapide et modifie les changements morphologiques des structures du biofilm en raison de l'altération de l'hydrophobie de la surface des cellules des bactéries testées. Cela peut finalement entraver le taux de dépôt ainsi que le développement du biofilm (Walencka et al., 2008).

Le biosurfactant associé aux cellules brutes dérivé de *Lb. rhamnosus* inhibe les biofilms produits par des bactéries potentiellement bactéries pathogènes, à savoir *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Les biosurfactants associés aux cellules agissent de manière efficace sur la croissance et l'activité antibactérienne et anti-adhésive. Des études ont démontré la production de biosurfactant acellulaire (structure non déterminée) à partir de *Lb. brevis* (CV8LAC) qui empêche l'adhésion de *C. albicans* sur des disques en élastomère de silicone de qualité médicale. Les auteurs ont ainsi prouvé que le biosurfactant est un espoir pour les approches biomédicales. A une concentration de 2000mg /ml, le biosurfactant a également réduit la formation des biofilms par *C. albicans* de 89 et 90% après 24 et 72 heures d'incubation (Ceresa et al., 2015).

II.2.3. Agent antitumorales et anticancéreuse des biosurfactants

Dans le monde, la prévalence de différents types de cancer est en augmentation. L'une des principales préoccupations concernant les médicaments synthétiques utilisés pour traiter le cancer est le risque de toxicité potentielle pour les cellules normales et les problèmes liés à l'efficacité des médicaments. Des études récentes ont rapporté des activités antitumorales et anticancéreuses de surfactants microbiens avec moins d'effets secondaires toxiques. La perturbation du processus apoptotique conduit à la formation de tumeurs malignes. Les biosurfactants agissent en inhibant la croissance des cellules cancéreuses et tumorales ou en induisant l'apoptose. Par exemple, le glycolipide lipidique de type mannosyl érythritol induit l'apoptose et l'arrêt de la croissance dans les cellules de mélanome de souris (Zhao et al., 2000 ; Cao et al., 2010).

Chiewpattanakul et ses collaborateurs ont démontré l'activité antiproliférative des biosurfactants monooléine contre la leucémie et le cancer du col de l'utérus (**Chiewpattanakul et al., 2010**). Christova et ses collaborateurs ont également observé une activité antiproliférative, suivie de la mort cellulaire, du lipide biosurfactant tréhalose sur des lignées cellulaires tumorales humaines (**Christova et al., 2015**).

De même, l'activité antitumorale des glycoprotéines dérivées de *Lb. paracasei* a été évaluée sur deux lignées cellulaires de cancer du sein, une diminution de la viabilité cellulaire a été observée après 48 heures. De plus, un arrêt du cycle cellulaire a été observé dans les deux lignées cellulaires (**Duarte et al., 2014**).

II.2.4. Activité anti-inflammatoire

Les infections à COVID-19 sont caractérisées par des réponses inflammatoires pulmonaires et systémiques qui provoquent des tempêtes de cytokines. Il en résulte une hypersensibilité et la mort d'autres cellules saines, ce qui conduit à la manifestation du syndrome de détresse respiratoire aiguë sévère et de la coagulation intravasculaire disséminée, qui sont les principales causes de mortalité au cours de l'infection. Ces tempêtes peuvent être dues à une augmentation des niveaux de molécules inflammatoires telles que l'IL-2, le TNF- α et l'IL-6. Parallèlement, une faible réponse inflammatoires peut favoriser une réponse modérée des lymphocytes T (**García, 2020**).

Le rôle anti-inflammatoires et antiviral des biosurfactants de type glycolipides synthétiser par *Rhodococcus ruber* a été démontré par le biais des cytokines (TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 et IL-1 β) et des récepteurs Toll-like-2 (TLR-2). Après une réponse inflammatoires, ces facteurs peuvent provoquer la sécrétion de protéines à charge cationique et d'autres espèces réactives de l'oxygène, dont le lysozyme, qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques. Les espèces réactives de l'oxygène produites ont des propriétés anti-inflammatoires et antivirales qui peuvent être utilisées comme agents thérapeutiques contre les maladies virales. Elles peuvent être utilisées dans la gestion de la tempête de cytokines, qui est une cause de dommages dans les poumons comme on le trouve chez de nombreux patients atteints de COVID-19 (**Subramaniam et al., 2020**).

II.3. Biosurfactants dans l'industrie pétrochimie et textile

Les déversements d'hydrocarbures se produisent lors du transport de marchandises ou sous la forme de déversements d'huiles industrielles et de sous-produits. Le pétrole affecte

négativement les membranes cellulaires des organismes vivants, posant des risques considérables de contamination des écosystèmes marins et terrestres (Silva et al., 2014).

L'Environmental Protection Agency des États-Unis propose différentes techniques physiques, chimiques et biologiques pour traiter les sols contaminés, et l'une des techniques les plus étudiées est la bioremédiation (Dermont et al., 2008).

La bioremédiation peut également être réalisée par bioaugmentation, où des micro-organismes natifs (ex situ) sont ajoutés à un environnement pollué pour accélérer et compléter la dégradation des polluants. Des études ultérieures ont démontré l'importance d'utiliser des tensioactifs pour améliorer la biodégradation du pétrole (Satpute et al., 2010).

II.3.1. Élimination des polluants organiques hydrophobes dérivés du pétrole par les biosurfactants

Les biosurfactants améliorent l'élimination des hydrocarbures (Figure 13) par biodégradation, solubilisation, écoulement ou émulsification (Pacwa-Plociniczak et al., 2011)

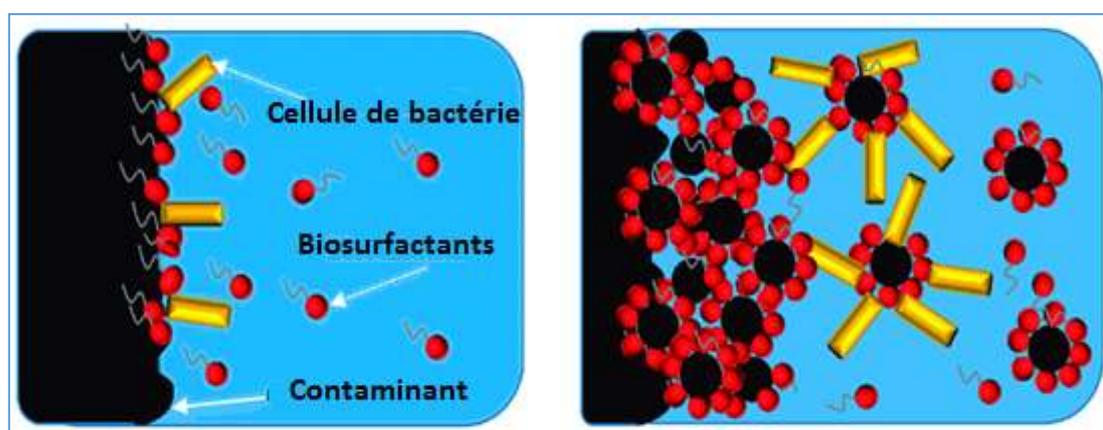


Figure 13: Illustration de l'action des biosurfactants sur le pétrole (Santos et al., 2016).

La capacité de solubilisation dépend de la capacité du tensioactif à augmenter la solubilité du composant hydrophobe dans la phase aqueuse. Cette capacité est significativement augmentée par rapport à la Concentration Micellaire Critique(CMC) du fait de la séparation des hydrocarbures dans la partie hydrophobe des micelles. Dans ce processus, des concentrations plus élevées de tensioactif sont généralement nécessaires, car la solubilité

des composants d'hydrocarbures en solution dépend entièrement de la concentration de tensioactif (**Pacwa-Plociniczak et al., 2011**).

La mobilisation se produit à des concentrations inférieures à la Concentration Micellaire Critique(CMC) et se divise en déplacement et dispersion. Le déplacement implique la libération de gouttelettes liées aux hydrocarbures du milieu aqueux en raison de la tension interfaciale réduite (**Bai et al., 1997**).

L'efficacité d'élimination des tensioactifs des composés hydrophobes dépend également du pH et de la force ionique de la solution, qui peut altérer l'alignement des micelles agrégées et l'adsorption des tensioactifs sur le sol, limitant ainsi la migration des espèces hydrophobes. Hydrocarbures produits par les tensioactifs. Différents biosurfactants ont été testés pour éliminer les produits pétroliers du sol et de l'eau contaminés. Les rhamnolipides ont été utilisés avec succès dans les procédés de purification biotechnologiques (**Abdel-Mawgoud et al., 2010 ; Silva et al., 2014 ; Rosa et al., 2015**).

II.3.2. Élimination des métaux lourds par des biosurfactants

Les métaux lourds et les radionucléides sont des polluants persistants du sol. Des niveaux accrus de métaux lourds dans le sol ont été signalés dans de nombreux pays industrialisés. Les métaux et les métalloïdes, tels que le chrome, le cadmium, le mercure et le plomb, peuvent menacer les écosystèmes et la santé humaine par le biais de la chaîne alimentaire ou par contact direct avec des sols et de l'eau contaminés (**Chakraborty et Das, 2014 ; Mao et al., 2015**).

Les biosurfactants peuvent être utilisés pour éliminer la matière organique et les métaux lourds (**Mulligan et Wang, 2006 ; Hazra et al., 2012**). Qui sont principalement adsorbés à la surface du sol sous forme de précipitation d'ions ou de composés métalliques. L'élimination du sol par complexation associée aux tensioactifs (**Ochoa-Loza, et al., 2001**) et par échange d'ions (**Swarnkar et al., 2012**). Les tensioactifs, en solution, facilitent la dissolution, la dispersion et la désorption des contaminants et permettent la réutilisation du sol (**Hashim et al., 2011**). Les propriétés ioniques, la biodégradabilité, la faible toxicité et les excellentes propriétés de surface permettent au biosurfactant d'être adapté à l'élimination des métaux lourds des sédiments et des sols (**Sabatini et al., 2000**).

Les Mécanismes d'élimination des métaux lourds par les biosurfactants sont multiples (Figure 14), tels que (Kitamoto et al., 2002).

*Sorption du biosurfactant à la surface du sol et complexation avec le métal ;

*Détachement du métal du sol vers la solution ;

*Association avec les micelles. Les métaux lourds sont piégés dans les micelles par des interactions électrostatiques et peuvent être facilement récupérés par des méthodes de précipitation ou de séparation par membrane.

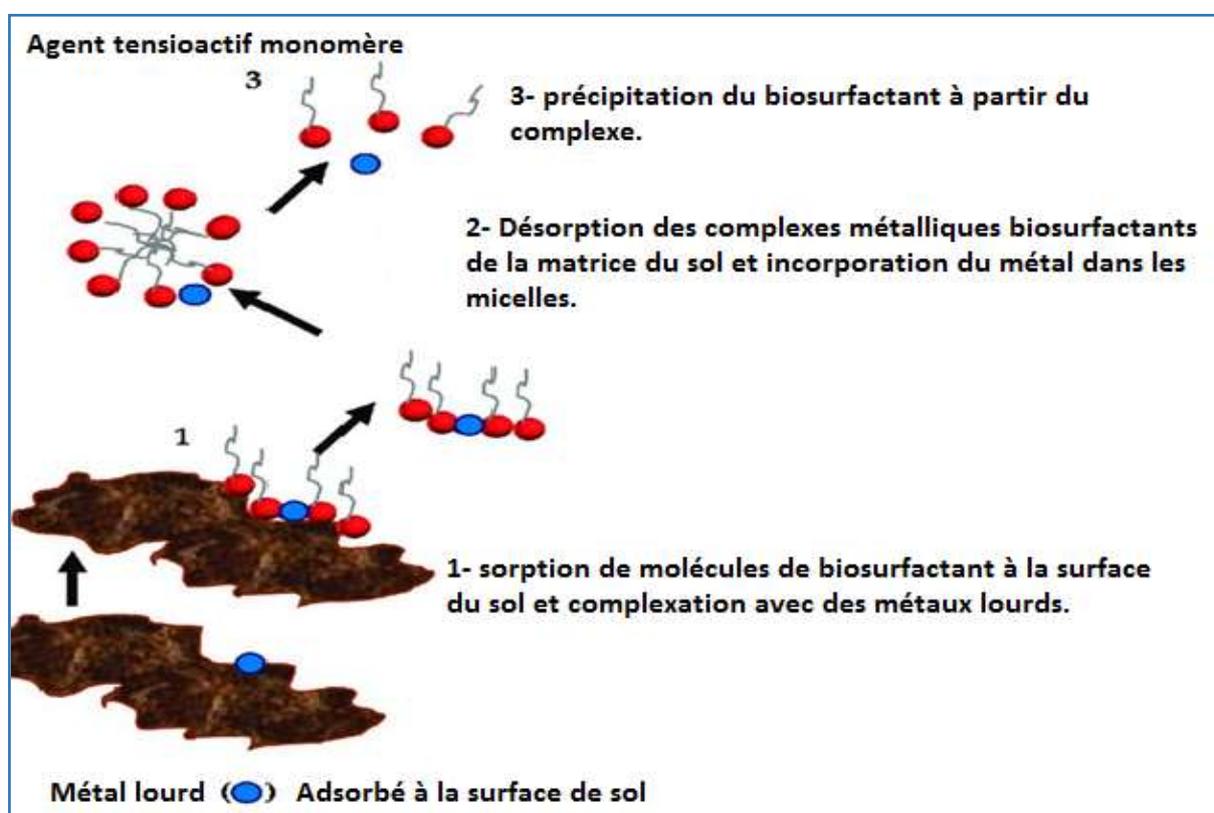


Figure 14: Mécanisme d'élimination des métaux lourds par les biosurfactants (Santos et al., 2016).

Les biosurfactants anioniques créent des complexes non ioniques avec les métaux par le biais de liaisons ioniques. Comme ces liaisons sont plus fortes que celles entre le métal et le sol, le complexe métal-biosurfactant est détaché du sol en raison de la réduction de la tension interfaciale. Les biosurfactants cationiques peuvent remplacer les complexes non ioniques de façon similaire (Summers, 2011).

Les biosurfactants cationiques peuvent remplacer les ions métalliques de charge similaire par un échange d'ions (compétition pour les surfaces chargées négativement). Les micelles de tensioactifs peuvent également être utilisées pour éliminer les ions métalliques de la surface du sol (**Summers, 2011**).

Les biosurfactants ont également été utilisés dans les processus miniers. Le tensioactif produit par *Pseudomonas* sp. Et *Alcaligenes* sp. ont été utilisés pour la séparation par flottation de la calcite et du chélate, le taux de récupération de tungstate de calcium (CaWO_4) est de 95 % et le taux de récupération de carbonate de sodium (CaCO_3) est de 30 %, et les réactifs chimiques conventionnels ne peuvent pas séparer ces deux minéraux (**Nitschke et Pastore, 2002**).

II.3.3. Application des biosurfactants comme agent anticorrosion

La corrosion est un problème majeur dans l'industrie pétrolière. Toutes les machines utilisées dans les usines pétrochimiques, la récupération des puits et le transport sont corrodées, ce qui affecte négativement les investissements dans l'industrie pétrolière (**Holmberg et al., 2002 ; Abbasov et al., 2015**).

La corrosion commence également par l'accumulation de protons à la surface du métal (Figure 15) et la réaction électrochimique irréversible des atomes métalliques. Les cations du métal se dissolvent dans la phase bleue ou réagissent avec les anions, y compris le soufre, exposant ainsi une plus grande partie de la surface du métal à d'autres attaques (**Holmberg et al., 2002**). Pendant de nombreuses années, la recherche s'est concentrée sur les inhibiteurs de corrosion en tant que méthode de prévention la plus importante (**Saji, 2010; Malik et al., 2011**).



Figure 15: Corrosion générale (rouille) d'une pièce en acier (**Ropital, 2009**).

De nombreux biosurfactants ont des propriétés anti-corrosion, de sorte que les métaux utilisés dans les climatiseurs peuvent retarder le processus de corrosion (Korenblum et al., 2012 ; Araujo et al., 2013). Dans l'étude du comportement à la corrosion des surfaces métalliques réalisé par Dogbert et ses collaborateurs, ils ont décrit que la présence de biosurfactants produits par *Pseudomonas fluorescense* retardait significativement la corrosion des aciers inoxydables AISI 304 sur les surfaces métalliques (Dagbert et al., 2006).

II.3.3.1. Corrosion bactérienne

Il existe d'énormes espèces microbiennes corrosives (Figure 16), les bactéries sulfato-réductrices (BSR), les bactéries ferreuses (BF), les bactéries oxydantes du manganèse (BOM), les bactéries productrices d'acide, les archées,...etc. (Beech et Sunner, 2004 ; Rajasekar et al., 2010). Les taux de corrosion sur les surfaces métalliques peuvent être accélérés ou modifiés (Narenkumar et al., 2017 ; Rajasekar et al., 2017).

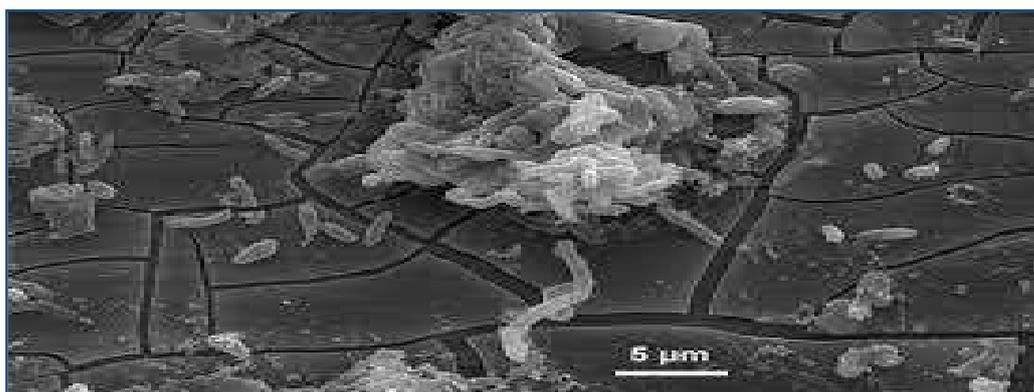


Figure 16: Exemple de bactéries responsable de la corrosion bactérienne (Florence et al., 2016).

La corrosion microbienne représente environ 30 à 40 % de tous les problèmes de corrosion rencontrés dans l'industrie pétrolière et gazière. Elle commence dans un état de croissance constructive avec de nombreuses espèces microbiennes formant des biofilms sur les surfaces métalliques, qui sont continuellement entourées de polymères extracellulaires souvent de nature exo-polysaccharidique (EPS). Dans certaines conditions, les biofilms et leurs métabolites peuvent altérer les propriétés électrochimiques des surfaces métalliques, entraînant une corrosion sévère. Ceci est suivi d'une détérioration du métal et d'une défaillance structurelle (Zarasvand et Rai, 2014 ; Parthipan et al., 2017).

II.3.3.2. Mécanismes d'inhibition de la biocorrosion par un biosurfactant

Le processus d'inhibition de la biocorrosion commence par l'inhibition de la croissance bactérienne et de son développement sous forme de biofilm (Figure 17.a et b). Il est bien étudié que les biosurfactants ont une activité antibactérienne et anti-biofilm contre de nombreuses bactéries, ils absorbent la membrane externe de la cellule bactérienne et bloquent la réaction biologique, les perturbent et les conduisent à la mort (Shaban et al., 2013).

Le processus de corrosion à base chimique a été inhibé par un processus dans lequel, en général, la tête hydrophile des molécules de biosurfactant (groupe polaire ou ionique) s'absorbe sur la surface du métal et sa tête hydrophobe s'éloigne de la solution et elle forme une couche très compacte en tant que barrière isolante pour empêcher les espèces corrosives d'entrer en contact avec le métal (Figure 17. c), afin que la protection ultérieure soit assurée par le développement d'une série de queues hydrophobes (Asefi et al., 2010 ; Heakal et al., 2017).

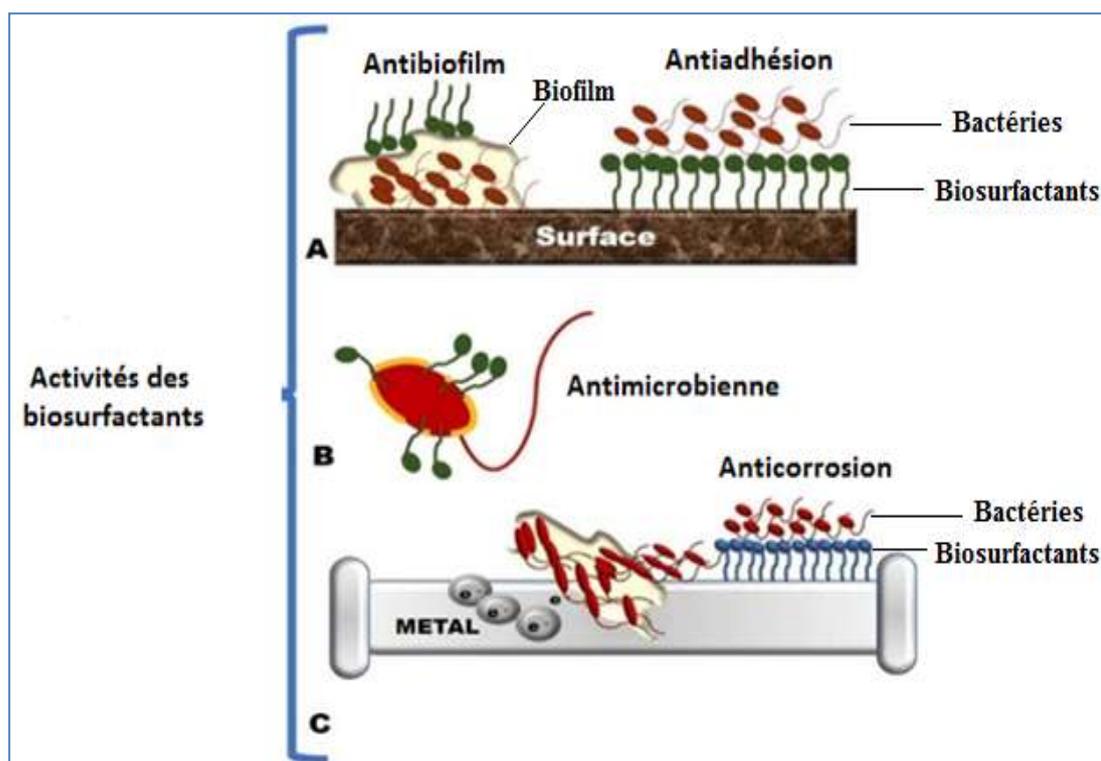


Figure 17: Activités des biosurfactants.

(a) *Activité anti-biofilm et anti-adhésive*, (b) *Activité antimicrobienne* et (c) *activité anticorrosion* (Maria da Gloria et Sarubbo, 2021).

Il est bien connu l'adsorption des molécules de biosurfactants sur la surface du métal est une phase initiale du mécanisme d'inhibition dans le cas des métaux. La présence de plusieurs pics, qui représentent O-H, CH₂, CH₃, COO⁻, C-O, C-O- par l'analyse FT-IR, dans le produit de corrosion confirme que l'inhibiteur, le biosurfactant, forme un film protecteur sur la surface du métal (**Ituen et al., 2016**).

L'adsorption des molécules de biosurfactant sur la surface du métal est due à l'énergie d'interaction élevée entre les molécules de biosurfactant et le métal. Il a révélé que l'activité d'inhibition de la corrosion des biosurfactants est due à l'adsorption des groupes fonctionnels du biosurfactant sur la surface du métal (**Olajire, 2017**).

Partie II:
Procédures expérimentales

Procédures expérimentales

Chapitre III



III. Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université Akli Mohand Oulhadj-Bouira.

L'objectif principal de ce travail est l'étude des propriétés biologiques des biosurfactants produits par différentes souches microbiennes qui sont isolées et purifiés par notre équipe de recherche de laboratoire de microbiologie de Laboratoire de Biomathématiques, Biophysique, Biochimie et Scientométrie (L3BS), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia.

III.1. Matériel

Le matériel et la verrerie dans notre étude sont présentés dans l'annexe N°01. Les milieux de cultures utilisés dans la réalisation de l'activité antimicrobienne sont présentés dans l'annexe N°02.

III.2. Méthodes

III.2.1. Production et extraction des biosurfactants

La production de biosurfactants par l'utilisation de milieu de culture MSM, a été réalisée selon le protocole décrit par Yalaoui-Guellaet ses collaborateurs. Bréviement, la fermentation a été réalisée dans des flacons de 250 ml contenant 100 ml de MSM supplémenté par 2% de glucose et 0,1 g/l d'extrait de levure (Annexe 02). Le milieu de production a été inoculé à 30 ° C/ 150 rpm pendant 7 jours (Figure 18). Les mouts de fermentation obtenus après 7 jours (168h) d'incubation ont été récupérés par centrifugation à 8000 g/ 20 min), Une fois les 20 minutes sont achevées, le surnageant récupéré a été acidifié à pH 2,5 par l'HCl à 6N, laissé à 4°C pendant une nuit, puis lyophiliser (**Yalaoui-Guellal et al., 2018**).

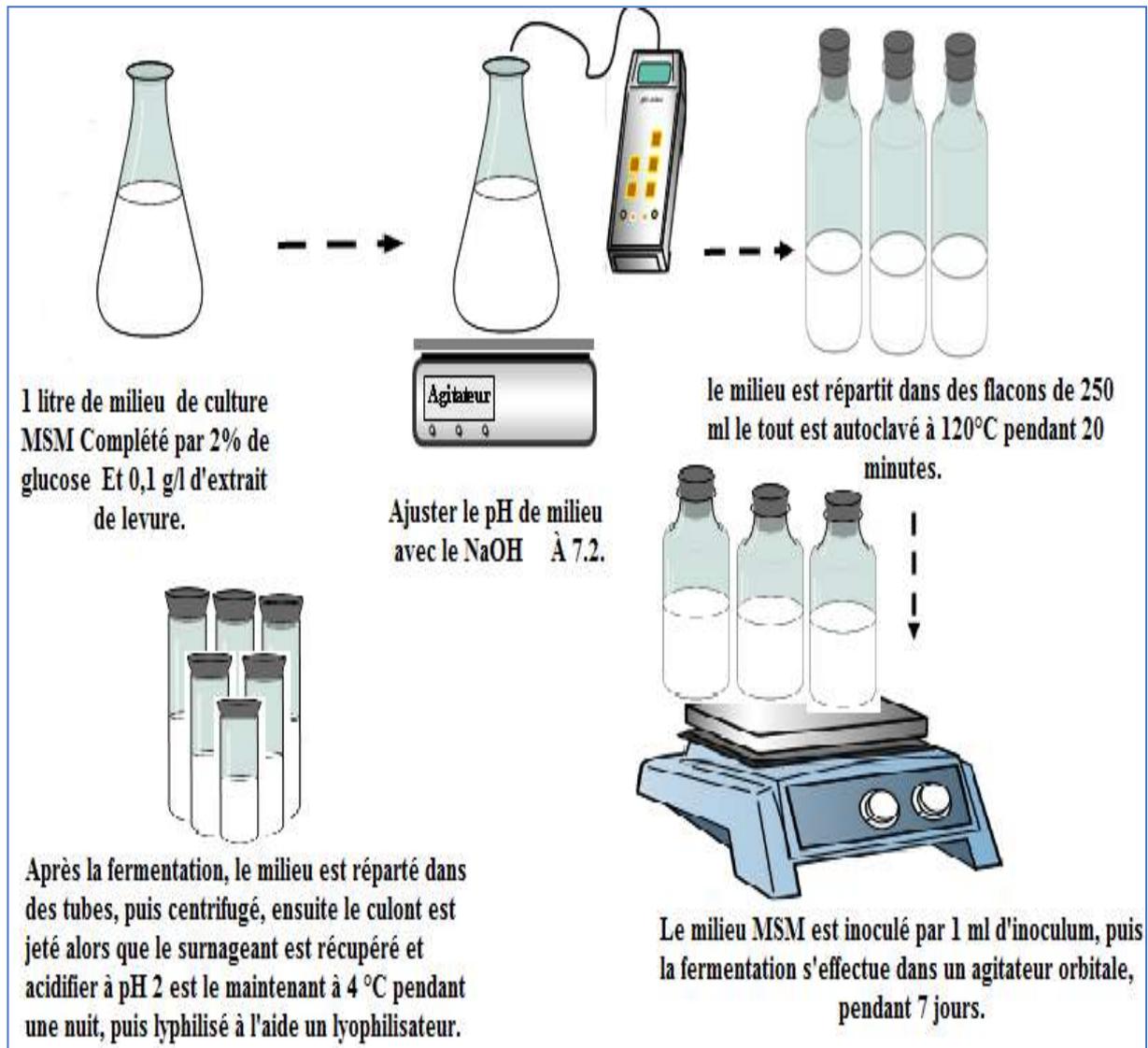


Figure 18: Production de biosurfactants par milieu MSM.

III.2.2. Préparation de biosurfactants

Un extrait brut de chaque biosurfactants, codés BS1, BS2, BS3 et BS5, a été préparé dans l'eau distillée à 2% (p/v), et conservé dans des flacons de verre stériles séparés. Ces solutions stocks ont été utilisées pour déterminer les activités biologiques de chaque biosurfactant (Yalaoui-Guellal et al., 2020).

III.2.3. Mesure de l'activité d'émulsification (E_{24})

L'activité d'émulsification a été déterminée selon la méthode de Yalaoui-Galluel et ses collaborateurs. Le Protocol du test consiste à mélanger 2 ml de la solution stock de biosurfactant, codés BS1, BS2, BS3 et BS5, dans un tube à essai puis rajouter 2 ml de pétrole,

le mélange est homogénéisé à l'aide d'un vortex à une grande vitesse pendant 2 minutes, et laissé au repos (Figure 19).

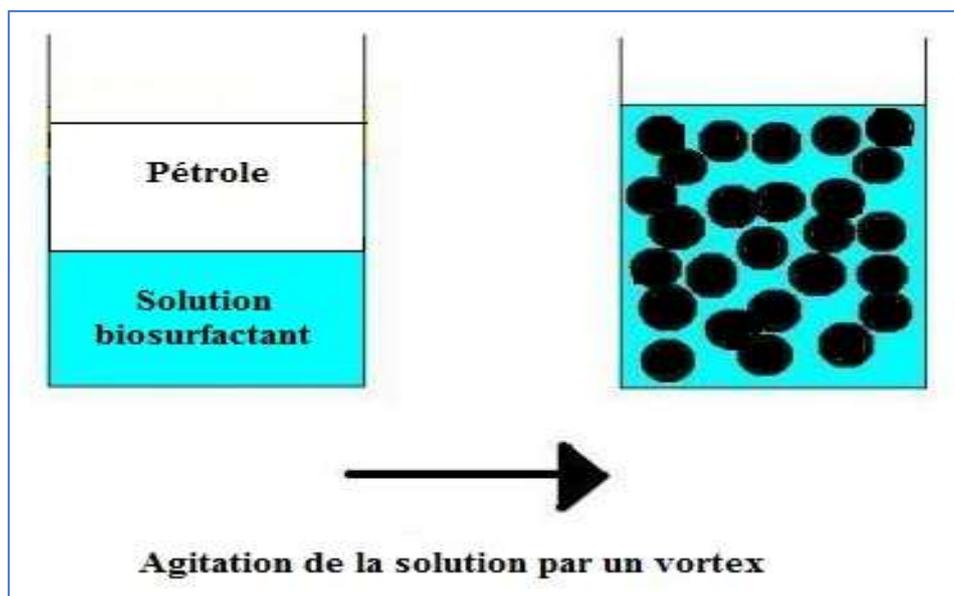


Figure 19: Test de l'indice d'émulsification.

Après 24 heures, la hauteur (h) de la couche d'émulsion stable est mesurée. L'indice d'émulsion calculé, E_{24} , est le rapport de la hauteur de la couche d'émulsion et la hauteur totale du liquide (Yalaoui-Guellal et al., 2018).

$$E_{24} \% = [h \text{ émulsion} / h \text{ total}] \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

III.2.4. Activité anti-inflammatoire

Selon les méthodes de Karthik, de Rani et ses collaborateurs, l'activité anti-inflammatoire des biosurfactants, codés BS1, BS2, BS3 et BS5, a été étudiée en utilisant la technique d'inhibition de la dénaturation de l'albumine avec quelques modifications (Figure 20).

Le mélange réactionnel contenait 1 ml de biosurfactants d'une concentration de 2mg/ml, en utilisant de l'eau distillée comme solvant, et on ajoute 1 ml de solution aqueuse à 0,2% d'albumine de sérum bovin (BSA) préparé dans le tris-HCL (0,05M, pH 6,8) (Annexe 03).

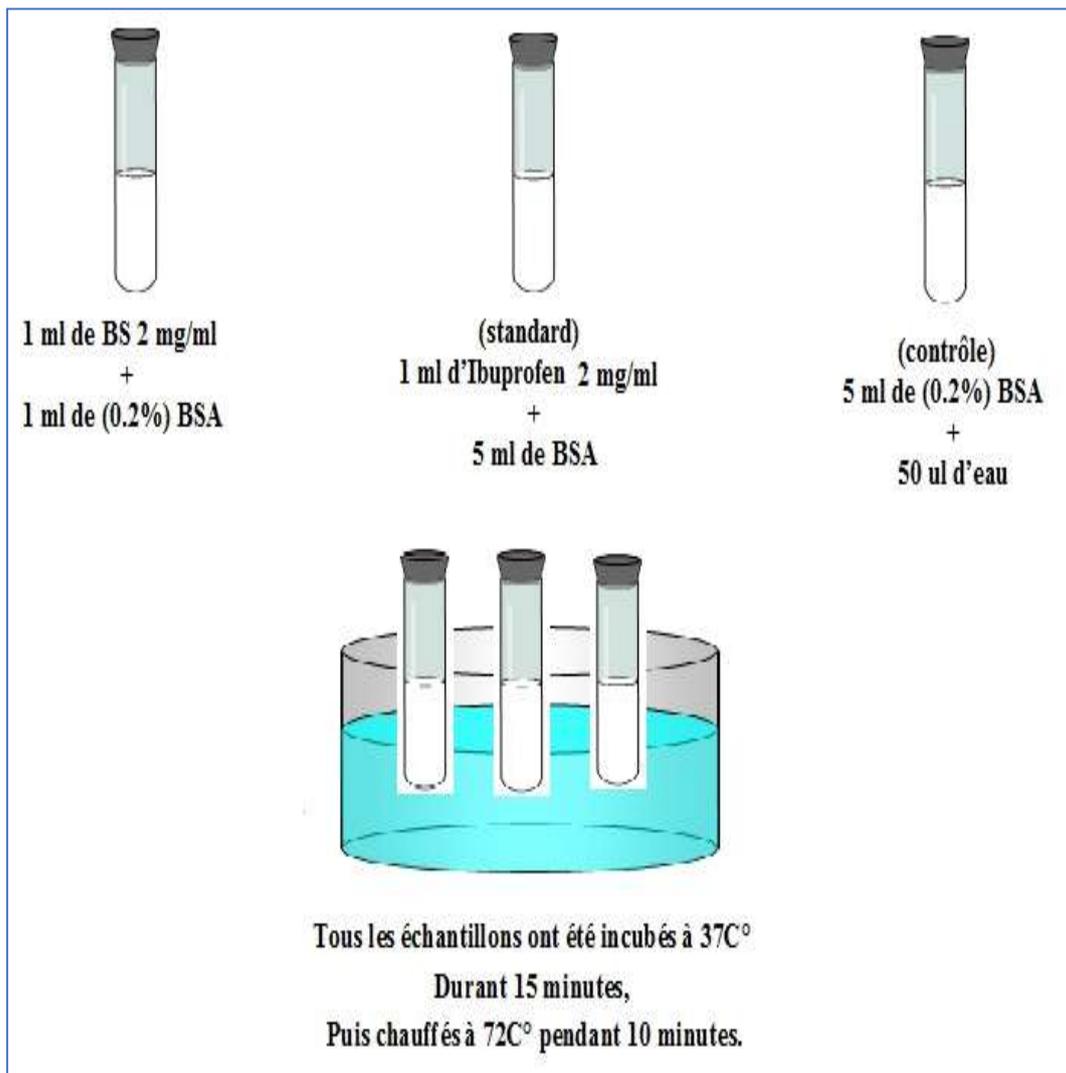


Figure 20: Test de l'activité anti-inflammatoire.

Le Standard l'Ibuprofen (2 mg/ml) a été mélangé avec 5 ml de solution BSA (0, 2%). 50 µl d'eau distillée ont été mélangée avec 5 ml de BSA et utilisée comme contrôle (**Karthik 2013 ; Rani et al., 2014**).

Tous les échantillons ont été incubés à 37°C durant 15 minutes, puis chauffés à 72°C pendant 10 minutes. Après 10 minutes de refroidissement on mesure la turbidité à 660 nm, dans spectrophotomètre UV/ Vis. A l'aide de la formule suivante on détermine, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines :

$$\% \text{ Inhibition} = [(Abs_1 - Abs_2) / Abs_1] \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

Où Abs₁ est l'absorbance du contrôle positif, Abs₂ est l'absorbance de l'échantillon.

III.2.5. Stabilisation des membranes

III.2.5.1. Préparation des globules rouges

Un prélèvement de sang sur des individus en bonne santé, dans des tubes héparinés, a été effectué, la préparation des suspensions de globules rouges a été réalisée comme suit :

-Après la centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes, les tubes ont été lavés trois fois avec 2 volumes de solution saline normale (10mM, 154mM NaCl, pH 7,4).

-Après lavage, le volume de sang a été reconstitué sous forme de suspension d'érythrocytes à 10% avec du sérum physiologique (PBS isosaline) (Umapathy et al., 2010 ; Abd-Alrahman et al., 2013 ; Rani et al., 2014).

III.2.5.2. Hémolyse induite par l'hypotonicité

Le test d'hémolyse induite par l'hypotonicité a été réalisé selon la méthode de Oyedapo et ses collaborateurs et Rani et ses collaborateurs avec quelques modifications (Figure 21) (Oyedapo et al., 2010 ; Rani et al., 2014).

***Expérience 01:** Le mélange réactionnel était composé de 1 ml biosurfactants 2 mg/ml, puis on ajoute :

-1 ml d'isosaline (solution tampon phosphate 10 mM, 154 Mm NaCl pH = 7,4) (Annexe 03).

-2 ml d'hyosaline (solution tampon phosphate 10 mM, 50 mM NaCl pH = 7,4) (Annexe 03).

-0,5 ml de globule rouge à 10% préparé dans l'isosaline.

***Expérience 02:** l'anti-inflammatoire Ibuprofen (2mg/ml) a été utilisé comme standard.

***Expérience 03:** Témoin, 1 ml d'isosaline a été utilisé comme test de contrôle.

Tous les tubes préparés ont été incubés pendant 30 minutes, dans un bain marie à 37C°. Centrifugation à 2500 g pendant 5 minutes. Après 10 minutes de refroidissement on mesure la turbidité à 560 nm, dans spectrophotomètre UV/ Vis. Le calcul de pourcentage d'inhibition de l'hémolyse par la formule (2) ci-dessus.

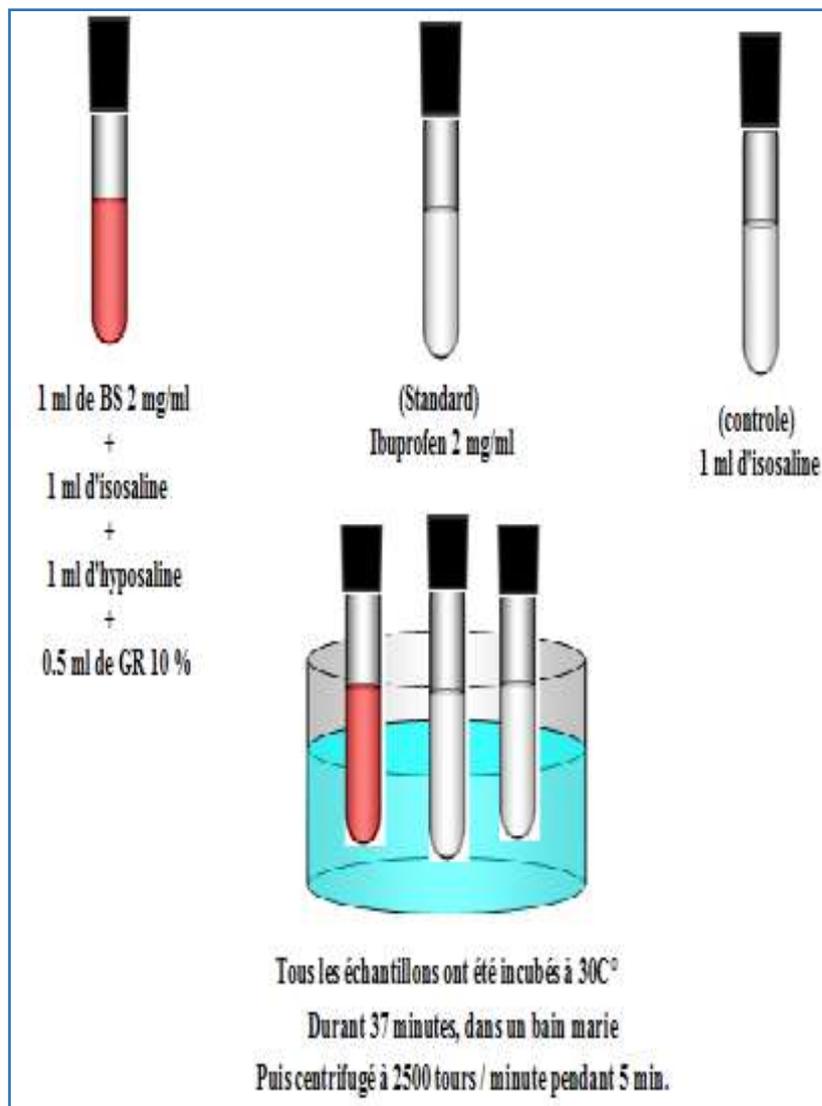


Figure 21: Test de l'hémolyse induite par l'hypotonicité.

III.2.5.3. Hémolyse induite par la chaleur

Le test d'hémolyse induite par la chaleur a été réalisé selon la méthode de Rani et ses collaborateurs avec quelques modifications (Figure 22) (Rani et al., 2014).

***Expérience 01 :** 500 μ L de suspension de globule rouge à 10% ont été ajoutés à 500 μ l de biosurfactants 2 mg/ml.

***Expérience 02 :** l'anti-inflammatoire Ibuprofen (2 μ g/ml) a été utilisé comme standard.

***Expérience 03 :** Témoin, Le contrôle a été mesuré avec 500 μ l de suspension de GR (10%) avec une solution isosaline.

Les expériences ont été incubées à 56°C pendant 30 minutes dans un bain marie. Après refroidissement des tubes à essai, une centrifugation à 2500 tour/minute pendant 5 minutes a été effectuée. En suite l'absorbance du surnageant a été mesurée à 560 nm au spectrophotomètre. Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse a été calculé selon l'équation ci-dessus, formule (2).

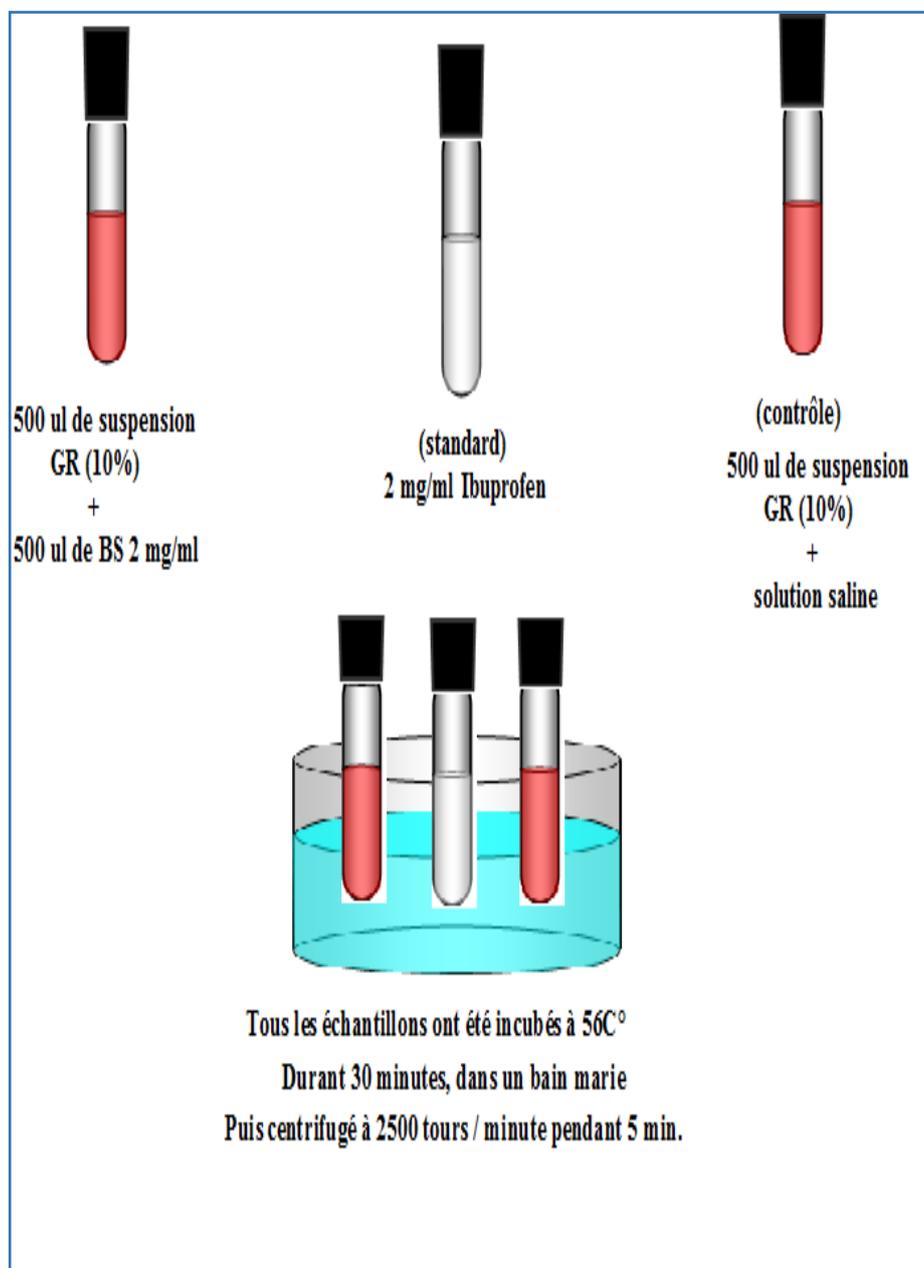


Figure 22: Test de l'hémolyse induite par la chaleur.

III.2.6. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'effet antimicrobien a été adoptée selon la méthode décrite précédemment par Yalaoui-Guellaet ses collaborateurs. Pour réaliser cette activité antibactérienne (Figure 23), les solutions stocks des biosurfactants (BS1, BS2, BS3, BS5) d'une concentration de 2 mg/ml ont été passées à travers un filtre à membrane de 0,22 µm pour stérilisation (Yalaoui-Guellal et al., 2020).

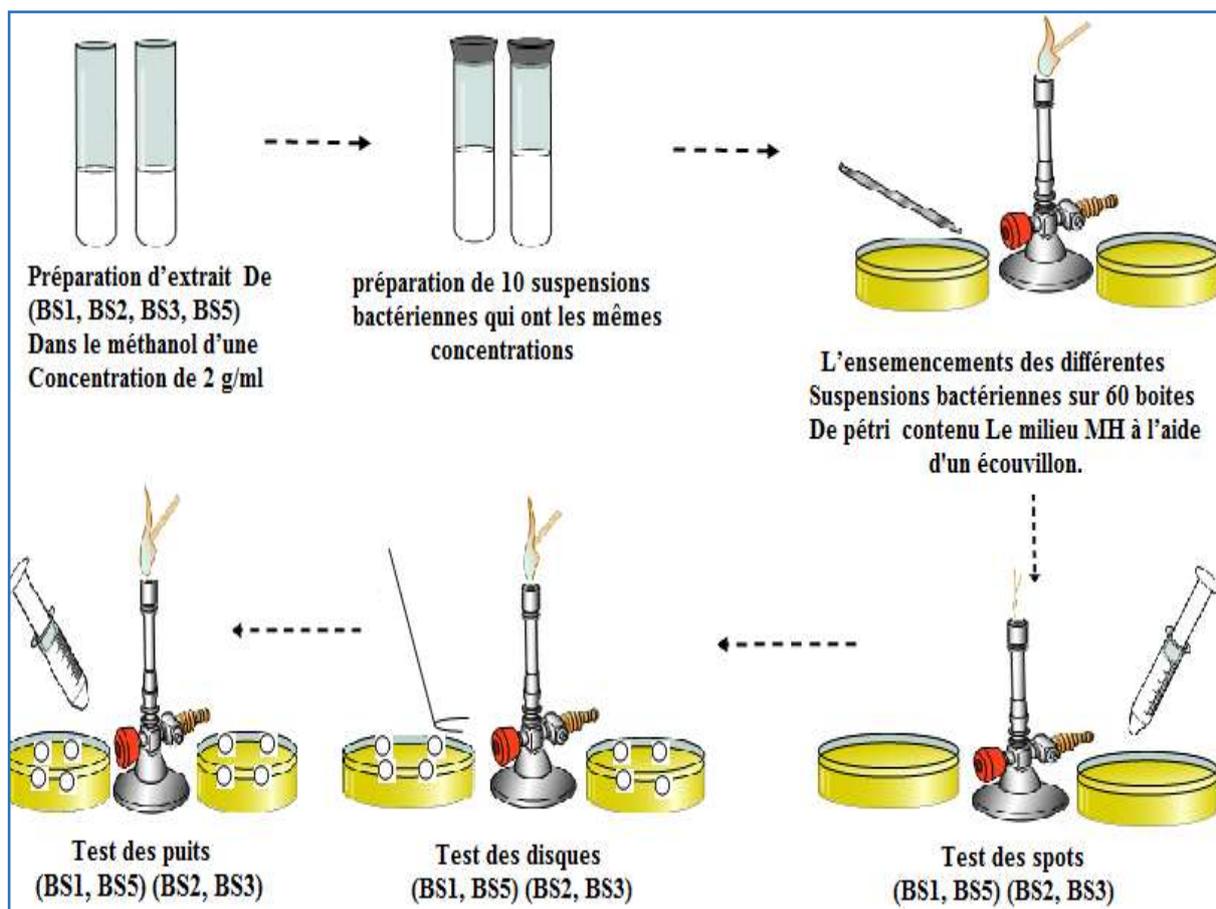


Figure 23: Test de l'activité antimicrobienne.

III.2.6.1. Préparation des suspensions bactériennes

Les bactéries testées comprenaient les bactéries Gram positives suivantes : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA), *Staphylococcus aureus* (S4 et SA) et *Bacillus subtilis* (S8 et BS). Les bactéries Gram négatives étaient : *Escherichia coli* (S1 et EC), *Pseudomonas aeruginosa* (S3), *Klebsiella pneumoniae* (S7) et *Shigella flexneri* (Shi). Pour les expériences, les bactéries testées ont été enrichies puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Ces cultures étaient celles utilisées pour tester l'activité antimicrobienne des solutions

stocks de biosurfactants (2 mg/ml) et la densité optique a été ajustée à des normes de turbidité de 0,5 McFarland. Ensuite, un ensemencement par écouvillonnage a été réalisé sur milieu Muller Hinton. Cette activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode des puits, la méthode des spots et parla méthode de diffusion par disque (Brahmi et al., 2020 ;Yalaoui-Guellalet al., 2020).

III.2.6.2. Test des puits

A l'aide d'un emporte-pièce, des puits de 6 mm de diamètre chacun ont été creusés dans le milieu Muller Hinton préalablement ensemencé par écouvillonnage avec les bactéries testes. Une quantité de 25 µl des solutions stocks de biosurfactants (BS1, BS2, BS3 et BS5) ont été déposée dans chaque puits. Les boîtes sont placées à 4°C pendant 2h pour permettre la diffusion des substances actives (biosurfactant) tout en arrêtant momentanément la croissance des germes cibles, puis incubées à 37°C pour les bactéries. Les diamètres d'inhibitions autour du puits ont été mesurés après 18 h à 24 heures.

III.2.6.3. Test des spots

Dans la méthode des spots, un volume de 5 µl des solutions stocks de biosurfactants (BS1, BS2, BS3 et BS5) ont été déposé directement sur le milieu Muller Hinton préalablement ensemencé par écouvillonnage avec les bactéries testes après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré.

III.2.6.4. Test de diffusion par disque

Pour la méthode de diffusion sur disque, des disques filtrants stériles (diamètre 6 mm) ont été imprégnés de 5 µL de solutions stocks de biosurfactants (BS1, BS2, BS3 et BS5) et placés stérilement sur le milieu Muller Hinton préalablement ensemencé par écouvillonnage avec les bactéries testes. Après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré.

Chaque expérience a été réalisée en duplicata et le diamètre moyen de la zone d'inhibition a été enregistré.

Chapitre IV



IV. Résultats et discussions

IV.1. Production des biosurfactants

La production de biosurfactant par différentes souches a été réalisée dans un bouillon MSM complété par 2% (v/v) de glucose et 0,1 g/L d'extrait de levure. Les cellules ont été incubées à 30°C sous agitation à 150 rpm pendant 96 h. Après extraction par précipitation acide une quantité de biosurfactant brut lyophilisé a été obtenu et enregistré dans le tableau suivant.

Tableau 4 : Poids sec des biosurfactants produits par les souches étudiées.

Souches étudiées	Poids sec des biosurfactants (g/L)
S1	1,13±0,0013
S2	2,24±0,0014
S3	1,98±0,0012
S4	1,54±0,0021
S5	2,97 ±0,0036
S12	1,75±0,0026

Le poids sec de biosurfactant le plus élevé était trouvé chez la souche S5 qui a produit $2,97 \pm 0,0036$ g/L de biosurfactant brut, suivi de souche S2 ($2,24 \pm 0,0014$ g/L). Les souches S3, S4 et S12 ont produit $1,98 \pm 0,0012$, $1,54 \pm 0,0021$ et $1,75 \pm 0,0026$ g/L respectivement. La production la plus faible a été enregistrée chez la souche S1 avec $1,13 \pm 0,0013$ g/L.

Des rendements importants de 2.7 g/l en biosurfactants et forte stabilité des émulsions étaient obtenus dans les travaux de Sifour et ses collaborateurs sur *Pseudomonas aeruginosa* lorsque la source de carbone utilisée était l'huile végétale et pas l'hydrocarbure (Sifour et al., 2007).

D'après les différentes recherches précédentes les chercheurs on prouve, que avait un meilleurs rendement en utilisant les déchets agroalimentaire comme une source renouvelable, et peu couteuse.

IV.2. Index de l'émulsification (E₂₄)

Dans le but d'estimer la production des biosurfactants chez les souches isolées, le test d'émulsification (E₂₄) est mis en évidence. Ce dernier consiste à l'homogénéisation d'un volume de milieu de culture MSM avec le même volume de pétrole, le résultat maximal a été observé chez la souche S5 avec un pourcentage de 52.38, et le résultat minimum été observé chez la souche S4 avec un pourcentage de 47.61 et pour la suite des souches S1, S2, S12, S3 on a observé des résultats (52.27%, 52.17%, 50%, 47.82%) respectivement (Figure 24).

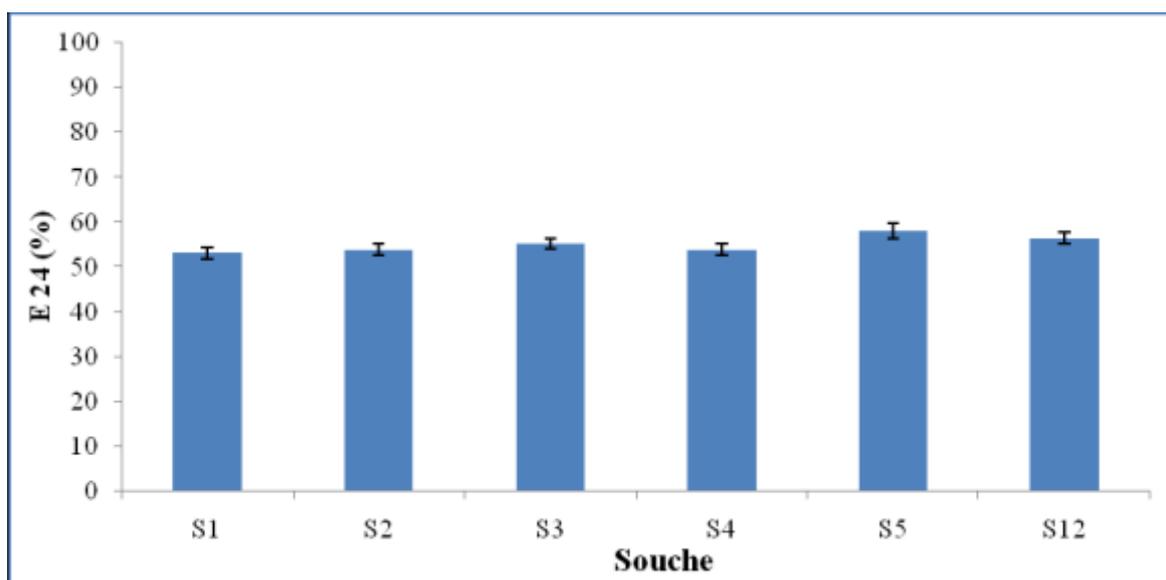


Figure 24: Pourcentage d'indice d'émulsification chez différentes souches.

Des résultats proches ont été enregistrés par (**Benincasa et Accorsini, 2008**) chez l'espèce *B.subtilis* avec un index d'émulsion de 50% et 58% respectivement. Des études ont rapporté que différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont dotées de pouvoir émulsifiant et stabilisateur de plusieurs types d'hydrocarbures et des huiles (**Patel et Desai, 1997**).

Pereira et ses collaborateurs ont isolé une souche appartenant au genre de *B.subtilis* à partir d'un champ pétrolier au Brésil, avec un pouvoir émulsifiant de n-hexadecane de 52.7 % (**Pereira et al., 2013**).

IV.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un processus complexe, fréquemment associé à la douleur, qui implique des phénomènes tels que l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la dénaturation des protéines et l'altération des membranes (Dold et al., 2002). La dénaturation des protéines est une cause bien documentée d'inflammation (Mizushima et Kobayashi, 1968).

Les biosurfactant provenant des produits naturels synthétisés par des microorganismes ont été signalés comme ayant de multiples activités biologiques, y compris des propriétés anti-inflammatoires, la (Figure 25) représente la courbe d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de concentrations (2mg/ml) des biosurfactants.

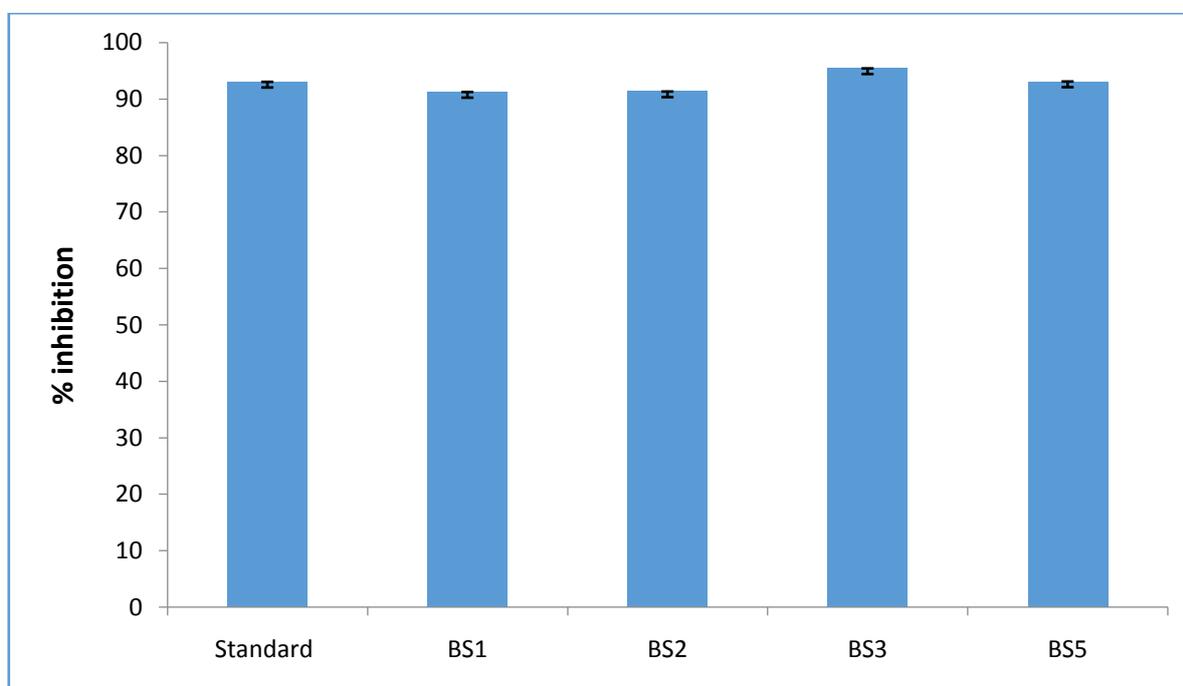


Figure 25: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine.

D'après nos résultats tous les biosurfactants ont inhibé la dénaturation de l'albumine, et une concentration testée de 2 mg/mL donne une inhibition de $95,43 \pm 0,002\%$ avec le BS3 qui était approximativement plus élevées que celles des médicaments standards de (l'Ibuprofen), le médicament anti-inflammatoire donnant une inhibition de $93,04 \pm 0,004\%$ avec une concentration de 2 mg/mL suivi par le BS5 $93,10 \pm 0,005\%$. Une inhibition de $91,33 \pm 0,006\%$, $91,24 \pm 0,008\%$ a été observé chez le BS1, BS2.

La capacité de biosurfactant à réduire la dénaturation thermique des protéines est peut-être un facteur contribuant à son activité anti-inflammatoire, et qu'ils pouvaient être un agent thérapeutique potentiel pour les troubles inflammatoires. Les données de nos études suggèrent que les biosurfactants ont montré une activité anti-inflammatoire significative par les méthodes *in vitro* testées. Le BS a également montré des effets anti-inflammatoires significatifs sur la protéine BSA, Les biosurfactants devraient être exploré comme un nouvel agent anti-inflammatoire à utiliser dans les médicaments.

Par ailleurs, l'évaluation des effets anti-inflammatoires sur la dénaturation des protéines a été entreprise par Umapathy et ses collaborateurs, en utilisant l'extrait de plante *Albuca setosa* leurs résultats à la dose de 500 et 125 µg/ml a montré une inhibition significative de la dénaturation des protéines de l'albumine (59 et 65 % respectivement). L'indométhacine a montré une inhibition de 48% par rapport au contrôle, La capacité de l'extrait à inhiber la dénaturation thermique et hypotonique des protéines peut contribuer à ses propriétés anti-inflammatoires (Umapathy et al., 2010).

IV.4. Stabilisation des membranes

Pour confirmer l'action stabilisatrice de la membrane de BS, des expériences ont été réalisées sur la membrane de l'érythrocyte, la (Figure 26) représente la courbe d'inhibition de l'hémolyse induite par l'hypotonicité et la (Figure 27) représente une courbe d'inhibition de l'hémolyse induite par la chaleur.

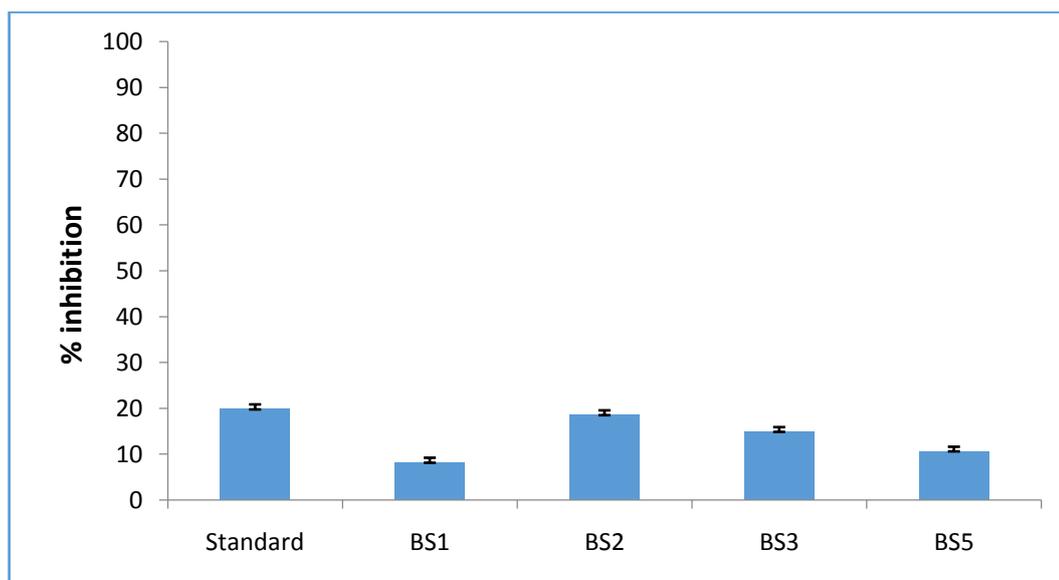


Figure 26: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse induite par l'hypotonicité.

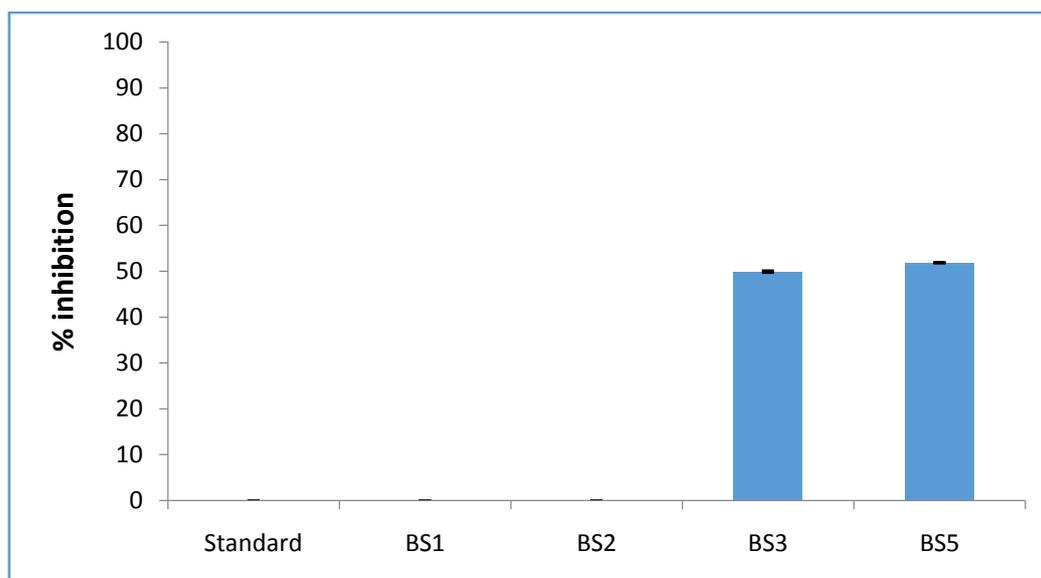


Figure 27: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse induite par la chaleur.

Dans l'expérience, réalisée sur la membrane de l'érythrocyte, montrent que les biosurfactants ont inhibé l'hémolyse des érythrocytes induite à la fois par une solution hypotonique et par la chaleur. Les biosurfactants ont présenté une stabilité membranaire minimale de $8.26 \pm 0,02\%$ et une activité maximale de $18.59 \pm 0.02\%$ de l'hémolyse induite par l'hypotonie, le médicament anti-inflammatoire standard (Ibuprofen) à 2 mg/mL a exercé une stabilité membranaire maximale de $19.86 \pm 0.02\%$. De plus, les biosurfactants montrent une stabilité membranaire de l'hémolyse induite par la chaleur maximale de $51.9 \pm 0.1\%$ avec une concentration de 2 mg/ml, qui est un résultat approximativement plus élevées que celles des médicaments standards $0 \pm 0\%$. Les biosurfactants ont également montré des effets sur la stabilisation des membranes érythrocytaires exposées à l'hémolyse induite par la chaleur et l'hypotonie, donc il a été confirmé que les biosurfactants possèdent de propriétés de stabilisation de la membrane.

D'après Umaphathy et ses collaborateurs les résultats de l'extrait de plante *Albuca setosa* aux concentrations de 500 et 250 $\mu\text{g/ml}$, ont montré une protection de 38 et 34 %, respectivement, alors que l'indométhacine à 100 $\mu\text{g/ml}$ a montré une inhibition de 24 % de l'hémolyse des globules rouges induite par la chaleur. Et aussi Les résultats montre que l'extrait *Albuca setosa* à la concentration de 500 et 250 $\mu\text{g/ml}$, ont montré une protection de 30% alors que l'indométhacine à 100 $\mu\text{g/ml}$ a montré une inhibition de 34% de l'hémolyse des RBC, la plante *Albuca setosa* possède une propriété de stabilisation de la membrane, car elle

offre une protection significative de la membrane des globules rouges humains contre la lyse induite par la chaleur ou le milieu hypotonique (**Umapathy et al., 2010**).

Un aspect clé de la réponse inflammatoire est l'infiltration cellulaire en raison du rôle central joué par les leucocytes. Comme dans le cadre de leur rôle défensif pendant l'inflammation, ces cellules libèrent leur contenu lysosomal, ce qui provoque des dommages tissulaires et l'inflammation (**Okoli et al., 2008 ; Chou, 1997**).

Une telle lésion de la membrane cellulaire rendra la cellule plus sensible aux dommages secondaires. Les protéines membranaires sont en grande partie responsables des propriétés physiques de la membrane cellulaire et peuvent contribuer à la régulation du volume et de la teneur en eau des cellules en contrôlant le mouvement des ions sodium et de potassium (**Okoli et al., 2008 ; Rowman, 1996**).

L'inhibition de l'hémolyse des GR fournira de bonnes informations sur le processus inflammatoire d'autant plus que les deux événements sont également consécutifs à une blessure. La lésion de la membrane du lysosome déclenche généralement la libération de la phospholipase A2 qui agit pour produire des médiateurs inflammatoires (**Umukoro et al., 2006 ; Aitadafoun et al., 1996**).

La stabilisation des membranes de ces cellules inhibe la lyse et la libération du cytoplasme ce qui limite les dommages tissulaires et l'exacerbation de la réponse inflammatoire (**Okoli et al., 2008**).

IV.5. Test d'activité antimicrobienne du biosurfactant

Le test de sensibilité antimicrobienne a permis de montrer la présence d'une activité contre des bactéries Gram négatif et Gram positif, La mesure des diamètres de zones de lyse obtenues sont représentés dans les graphes ci-dessous.

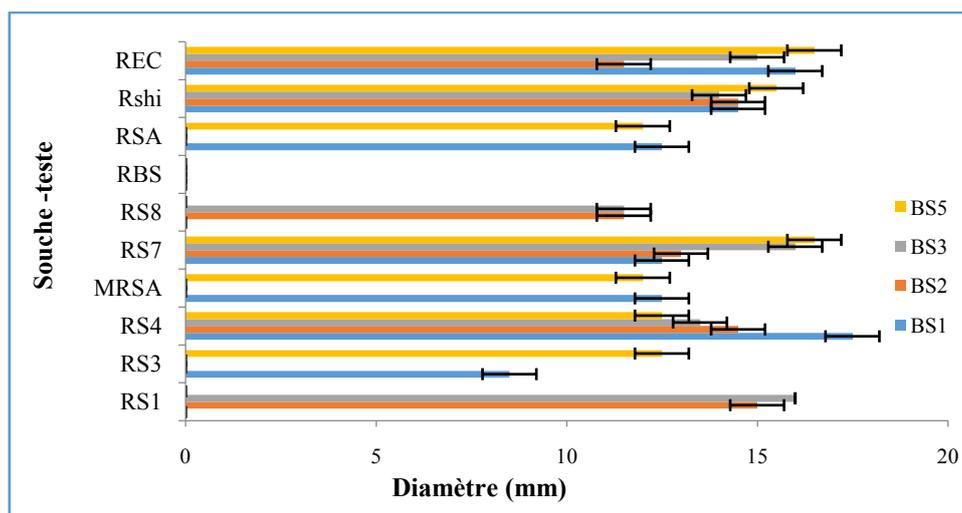


Figure 28: Test d'activité antimicrobienne par la méthode de puits.

Les résultats de test d'activité antimicrobienne pas la méthode de puits ont montré que les meilleurs zones d'inhibitions été remarqué chez la souche *Staphylococcus aureus* (RS4) par le BS1 avec un diamètre de 18 mm, suivi de la souche *Klebsiella pneumanie*(RS7), *Escherichia coli* (REC) par le BS5 avec une valeur de 17 mm, et une faible d'inhibition été observé chez la souche *Pseudomonas aeroginosa* (RS3) par le BS1, et aucun effet n'a été observé chez les souches RS1, RS1, RS3,RS5, RS8, RBS, RSA par les biosurfactants, BS5, BS2, BS3, BS2, BS3, BS1, BS1, BS2, BS3, BS5, BS2, BS3 respectivement.

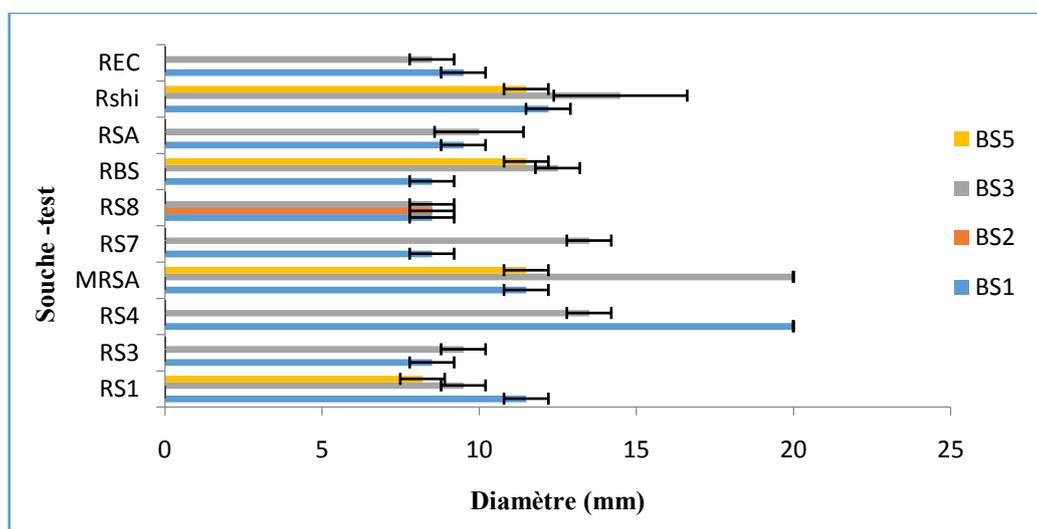


Figure 29: Test d'activité antimicrobienne par la méthode de spots.

Les résultats de test d'activité antimicrobienne pas la méthode de spots ont montré que les meilleurs zones d'inhibitions été remarqué chez la souche *Escherichia coli*(REC) par le

BS2 avec un diamètre de 16 mm, suivi de la souche *Shigella flexneri* (Rshi), par le BS2 avec un diamètre de 15 mm et *Staphylococcus aureus* (RS4) par le BS3 avec une valeur de 15 mm, et une faible d'inhibition été observé chez la souche *Bacillus subtilis* (RS8) par le BS2, et BS3 suivi de la souche *Bacillus subtilis*(RBS) par le BS3,BS5 aucun effet n'a été observé chez les souches (RS1 par BS1)(RS1, BS2),(RS1, BS3), (RS1, BS5), (BS3, avec le BS1, BS2, BS3, BS5) (RS4, par BS1, BS5) (RS5, avec le BS1,BS2,BS3, BS5), (RS7, BS1,BS2,BS3,BS5), (RS8, BS1, BS5), (RBS, BS2), (RSA, BS1,BS2,BS3,BS5), (Rshi, BS1, BS5), et (REC, par BS1, BS5).

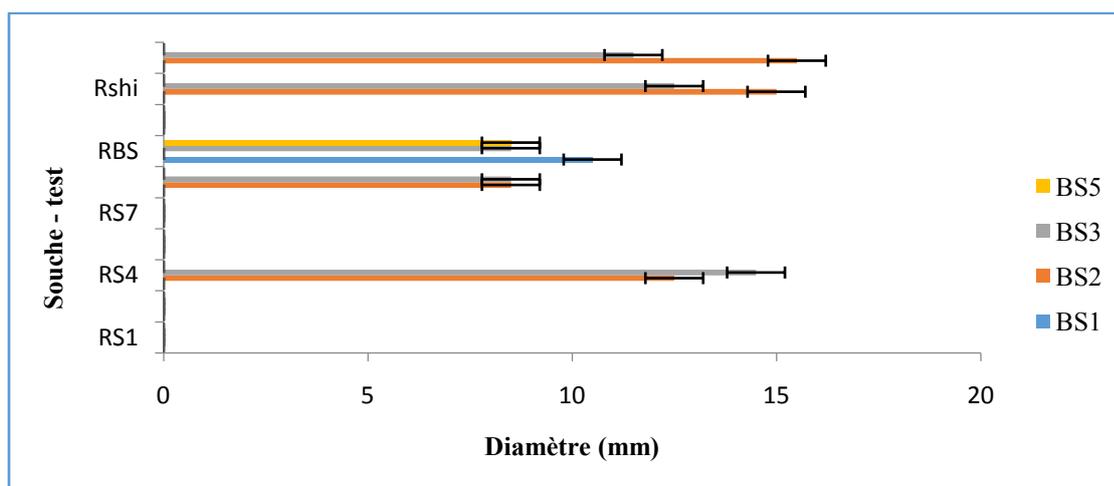


Figure 30: Test d'activité antimicrobienne par la méthode de disques.

Les résultats de test d'activité antimicrobienne pas la méthode de puits ont montré que les meilleurs zones d'inhibitions été remarqué chez la souche *Staphylococcus aureus* (MRSA) par le BS3 et *Staphylococcus aureus* (RS4) par le BS1 avec un diamètre 20 mm, suivi de la souche *Shigella flexneri* (Rshi), par le BS3 avec une valeur de 15 mm, et une faible d'inhibition été observé chez la souche (RS1 par BS5) (RS7, BS1), (RS8, BS1, BS2, BS3), (RBS, BS1), et aucun effet n'a été observé chez les souches (RS1, BS2), (RS3, BS2, BS5), (RS4, BS2, BS5), (RS5, BS2), (RS7, BS2, BS5), (RS8, BS5), (RBS, BS2), (RSA, BS2, BS5), (Rshi, BS2), (REC, BS2, BS5).

D'après les différentes méthodes utilisées de l'activité antimicrobienne, on a remarqué que la meilleure méthode c'est la diffusion par puits, car elle a arrivé à inhiber presque la plupart des souches testées, la méthode par disques à monter des moyens valeurs d'inhibition, ainsi que la méthode des spots à monter des faible valeurs d'inhibition.

Dans les travaux de Bradshaw, les biosurfactants testés envers les microorganismes ont montré une faible activité contre *S. aureus*, une activité élevée contre *E. coli* de même, une activité antibactérienne minimale a été montrée contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 9 mm et une activité antibactérienne maximale contre *K. pneumoniae* (Bradshaw LJ, 1992).

Giri et ses collaborateurs ont montré que les deux biosurfactants effectueux contre les souches testées à différents degrés BS-VS16 ont donné la plus grande zone d'inhibition (12,6 mm) contre *S. aureus* ATCC 29523, tandis que BS-VSG4 a montré la plus grande zone d'inhibition contre *E. coli* MTCC 65 (13 mm). Les deux biosurfactants ont très effectivement inhibé la croissance des bactéries Gram-positives et Gram-négatives testées (Giri et al., 2019)

Les biosurfactants produits par *B. subtilis* B38 ont présenté un effet bactéricide contre d'importantes bactéries d'altération des aliments et des agents pathogènes d'origine alimentaire, notamment *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* et *Salmonella enteritidis* (Tebbene et al., 2010)

Singh et Cameotra, ont montré une activité non sélective contre les souches bactériennes Gram-positives et Gram-négatives. Ceci est tout à fait contraire aux rapports précédents sur les actions antimicrobiennes des biosurfactants où les LPBS ont été rapportés comme étant actifs principalement contre les souches bactériennes Gram-positives ou Gram-négatives. Cela peut être dû à la production de différentes isoformes de LPBs, qui montrent un effet antagoniste sur les souches Gram-positives et Gram-négatives. Il a été rapporté précédemment que différentes isoformes des LPBs sont produites en fonction du microorganisme, du substrat utilisé et des conditions de culture employées (Singh et Cameotra, 2004).

Conclusion

Les biosurfactants sont des molécules biotechnologiques importantes produites à partir de microorganismes, ils sont classés en plusieurs types: les glycolipides, les phospholipides, les lipopeptides ...), leur effet direct sur la tension interfaciale et superficielle leur ouvre un champ d'applications très large, en industrie, en médecine et à l'environnement.

Ce travail est une synthèse bibliographique de différents travaux de recherche sur les biosurfactants, leur structure, leur classification, ainsi que leur mécanisme de production, La présence d'études a suscité beaucoup d'informations importantes sur l'évolution de la production des biosurfactants et de leurs propriétés biologiques. Parmi les différentes propriétés biologiques des biosurfactants nous avons mentionné l'activité anti-inflammatoire, l'activité antimicrobienne, l'activité anti-biofilm, l'activité antiadhésif, l'activité anticorrosion, l'activité antiviral et anticancéreuse.

L'objectif de notre travail c'est l'étude des propriétés biologiques des biosurfactants produits pas des bactéries hydrocarbonoclastes, on a commencé par la production des biosurfactants par l'utilisation de 06 souches bactériennes différentes (S1, S2, S3, S4,S5,S12) et on a obtenu un meilleur rendement de production par la souches S5 avec une quantité de 2.57 g/l puis on a suivi le test d'indice d'émulsification (E_{24}), ce qui nous permis de savoir l'évolution de la production du biosurfactants. Le test d'activité anti-inflammatoire de biosurfactants BS1, BS2, BS3, BS5 ont montré une meilleur inhibition de la dénaturation de l'albumine, avec une valeur maximale de $95.43 \pm 0.07\%$ et une valeur minimal de $91.24 \pm 0.1\%$, tandis que un effet maximale de $18.59 \pm 0.05\%$ été observé dans la stabilisation de membranes d'hémolyse induite par l'hypotonicité, et un effet minimal de $8.26 \pm 0.09\%$ ainsi que une meilleur valeur de $51.9 \pm 0.1\%$ été observé dans le test d'hémolyse induite par la chaleur. Le test d'activité antimicrobienne a été réalisé sur 10 souches différentes, les meilleurs zones d'inhibition étaient observé (plus grande zone de lyse, 20 mm)correspond aux BS1 et BS3 contre la souche Staphylococcus aureus(RS4, RS5).

Le travail a été réalisé dans une durée limitée et avec un manque de moyens de matériel et de produit; et à la lumière de cette étude, il est souhaitable de compléter ce travail par des expérimentations au laboratoire et des approches plus approfondies, plusieurs perspectives peuvent être dégagées à savoir :

-Séquencer et identifier les gènes responsables de production des biosurfactants.

-Utilisation des déchets de l'industrie pour optimiser la production et donner des biosurfactants avec des faibles couts.

-Optimisation des techniques d'extraction et de purification ;

-Optimisation des milieux de production ;

-Exploiter la production de biosurfactants dans des bioréacteurs à grande échelle dans la perspective d'améliorer les rendements de production en utilisant divers matières moins coûteux.

-Réalisation de tests de toxicité ;

-Mettre en œuvre des applications de ces biosurfactants dans le domaine biotechnologique, agroalimentaire, environnemental, médical.

*Références
bibliographiques*

A

- Almansoori A.F., Hassan H.A., Idris M. Abdullah S.R.S., Anuar N. Tibin E.M.M. et Ind J. Eng. Chem.** 47 (2017) 272, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2016.11.043>.
- Abd-Alrahman S. H., Salem-Bekhit M. M., Elhalwagy M. E., Abdel-Mageed, W. M. et Radwan. A. A. (2013).** Phytochemical screening and antimicrobial activity of EthOH/water Ziziphus jujuba seeds extracts. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7, 823-828.
- Abalos A., Pinazo A., Infante M.R., Casals M., Garcia F. et Manresa A. (2001).** Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. *Langmuir*, 17(5), 1367-1371.
- Abbasov V. M., Aliyeva L. I., Hany M. et Ismayilov I. T. (2015).** Some surfactants based on the vegetable oils as CO₂ corrosion inhibitors for mild steel in oilfield formation water. *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*, 4(2), 162-175.
- Abd-Alrahman S. H., Salem-Bekhit M. M., Elhalwagy M. E., Abdel-Mageed W. M. et Radwan A. A. (2013).** Phytochemical screening and antimicrobial activity of EthOH/water Ziziphus jujuba seeds extracts. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7, 823-828.
- Abdel-Mawgoud A. M., Aboulwafa M. M. et Hassouna N. A. H. (2008).** Optimization of surfactin production by *Bacillus subtilis* isolate BS5. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 150(3), 305-325.
- Abdel-Mawgoud A. M., Lépine F. et Déziel E. (2010).** Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. *Applied microbiology and biotechnology*, 86(5), 1323-1336.
- Araujo De L. V., Abreu F., Lins U., Santa Anna L. M. D. M., Nitschke M. et Freire D. M. G. (2011).** Rhamnolipid and surfactin inhibit *Listeria monocytogenes* adhesion. *Food Research International*, 44(1), 481-488.
- Araujo L. V. D., Freire D. M. G. et Nitschke M. (2013).** Biosurfactants: anticorrosive, antibiofilm and antimicrobial properties. *Quimica Nova*, 36, 848-858.

- Asefi D., Mahmoodi N. M. et Arami M. (2010).**Effect of nonionic co-surfactants on corrosion inhibition effect of cationic gemini surfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 355(1-3), 183-186.
- Austad T. et Taugbøl K. (1995).**Chemical flooding of oil reservoirs 1. Low tension polymer flood using a polymer gradient in the three-phase region. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 101(1), 87-97.
- Aitadafoun M, Mounieri C, Heyman SF, Binitisc C, Bon C (1996).** 4alkoxy benzamides as new potent phospholipase A2 inhibitors. *J. Biochem. Pharmacol.* 51: 737-42.
- Atul Kumar., Sunita Devi., Satish Khasa. et Surender Duhan (2022).** Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science. *Biomedical Application of Biosurfactant in Medical Sector.* 515-527.

B

- Banat I. M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M. G., Fracchia L. et Marchant R. (2010).** Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied microbiology and biotechnology*, 87(2), 427-444.
- Bonvila XR., Roca SF. Et Pons RS. (2009).** inventors; NOVACYT, assignee. Antiviral use of cationic surfactant. *United States patent application US 12/375,774.*
- Banat I. M., Makkar R. S. et Cameotra S. S. (2000).**Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied microbiology and biotechnology*, 53(5), 495-508.
- Beech I. B. et Sunner J. (2004).** Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. *Current opinion in Biotechnology*, 15(3), 181-186.
- Benincasa M. et Accorsini F. R. (2008).** Pseudomonas aeruginosa LBI production as an integrated process using the wastes from sunflower-oil refining as a substrate. *Bioresource Technology*, 99(9), 3843-3849.
- Bhuvanewari M., Sivagurunathan P. et Uma C. (2016).**Isolation and characterization of biosurfactant producing pseudomonas SP isolated from porto novo coastal region-Cuddalore. *INDO AMERICAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, 3(11), 1399-1403.
- Bognolo G. (1999).** Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 152(1-2), 41-52.

Borsanyiova M., Patil A., Mukherji R., Prabhune A. et Bopegamage S. (2016). Biological activity of sophorolipids and their possible use as antiviral agents. *Folia microbiologica*, 61(1), 85-89.

Bradshaw LJ 1992. Laboratory Microbiology. Fourth Edition. U.S.A. 13-55.

Boudarel H. (2018). *Caractérisation in situ du développement d'un biofilm par suivi de microbilles à l'aide d'une méthode de corrélation d'images numériques: In situ characterization of biofilm development by tracking microbead using a digital image correlation method* (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne(2017-2020).

Brahmi F., Adjaoud A., Marongiu B., Falconieri D., Yalaoui-Guellal D., Madani K. et Chibane M. 2016. Chemical and biological profiles of essential oils from *Mentha spicata* L. leaf from Bejaia in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*. 28(3): 211-220.

Bai, G., Brusseau M.L. et Miller R.M. Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil. *J. Contam. Hydrol.* 1997, 25, 157–170.

C

Cameotra S. S. et Makkar R. S. (1998). Synthesis of biosurfactants in extreme conditions. *Applied microbiology and Biotechnology*, 50(5), 520-529.

Campos J. M., Stamford T. L. M. et Sarubbo L. A. (2019). Characterization and application of a biosurfactant isolated from *Candida utilis* in salad dressings. *Biodegradation*, 30(4), 313-324.

Campos J. M., Stamford T. L., Rufino R. D., Luna J. M., Stamford T. C. M. et Sarubbo L. A. (2015). Formulation of mayonnaise with the addition of a bioemulsifier isolated from *Candida utilis*. *Toxicology Reports*, 2, 1164-1170.

Campos J. M., Montenegro Stamford T. L., Sarubbo L. A., de Luna J. M., Rufino R. D. et Banat I. M. (2013). Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnology progress*, 29(5), 1097-1108.

Cao X. H., Wang A. H., Wang C. L., Mao D. Z., Lu M. F., Cui Y. Q. et Jiao R. Z. (2010). Surfactin induces apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells through a ROS/JNK-mediated mitochondrial/caspase pathway. *Chemico-biological interactions*, 183(3), 357-362.

- Cavalero D. A. et Cooper D. G. (2003).** The effect of medium composition on the structure and physical state of sophorolipids produced by *Candida bombicola* ATCC 22214. *Journal of biotechnology*, 103(1), 31-41.
- Çelik P. A., Manga E. B., Çabuk A. et Banat I. M. (2020).** Biosurfactants' potential role in combating COVID-19 and similar future microbial threats. *Applied Sciences*, 11(1), 334.
- Ceresa C., Tessarolo F., Caola I., Nollo G., Cavallo M., Rinaldi M. et Fracchia L. (2015).** Inhibition of *Candida albicans* adhesion on medical-grade silicone by a *Lactobacillus*-derived biosurfactant. *Journal of applied microbiology*, 118(5), 1116-1125.
- Chakraborty J., et Das S. (2014).** Biosurfactant-based bioremediation of toxic metals. In *Microbial biodegradation and bioremediation* (pp. 167-201). Elsevier.
- Chang C. C., Chen W. C., Ho T. F., Wu H. S. et Wei Y. H. (2011).** Development of natural anti-tumor drugs by microorganisms. *Journal of bioscience and bioengineering*, 111(5), 501-511.
- Chen P., Lang J., Franklin T., Yu Z. et Yang R. (2021).** Reduced biofilm formation at the air–liquid–solid interface via introduction of surfactants. *ACS Biomaterials Science & Engineering*.
- Chen W. C., Juang R. S. et Wei Y. H. (2015).** Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. *Biochemical Engineering Journal*, 103, 158-169.
- Chiewpattanakul P., Phonnok S., Durand A., Marie E. et Thanomsub B. W. (2010).** Bioproduction and anticancer activity of biosurfactant produced by the dematiaceous fungus *Exophiala dermatitidis* SK80. *Journal of microbiology and biotechnology*, 20(12), 1664-1671.
- Christova N., Lang S., Wray V., Kaloyanov K., Konstantinov S. et Stoineva I. (2015).** Production, structural elucidation, and in vitro antitumor activity of trehalose lipid biosurfactant from *Nocardia farcinica* strain. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(4), 439-447.

- Chou CT (1997).** The anti-inflammatory effect of *Tripterygium wilfordii* Hook F on adjuvant-induced paw edema in rats and inflammatory mediators release. *Phytother. Res.* 11: 152-154.
- Cofrades S., Antoniou I., Solas M. T., Herrero A. M., et Jiménez-Colmenero F. (2013).** Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food chemistry*, 141(1), 338-346.
- Cooper D. G., et Paddock D. (1984).** Production of a biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. *Applied and environmental microbiology*, 47(1), 173-176.
- Cortés-Sánchez., De Jesus Alejandro. Et al :** Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives. *Microbiol Res* 2013, 168: 22-32, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.07.002>.

D

- Dagbert C., Meylheuc T., et Bellon-Fontaine M. N. (2006).** Corrosion behaviour of AISI 304 stainless steel in presence of a biosurfactant produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Electrochimica Acta*, 51(24), 5221-5227.
- Deleu M., et Paquot M. (2004).** From renewable vegetables resources to microorganisms: new trends in surfactants. *Comptes Rendus Chimie*, 7(6-7), 641-646.
- Daniels R. et Knie U. (2007).** Galenics of dermal products--vehicles, properties and drug release. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2007;5(5):367–83.
- Dermont G., Bergeron M., Mercie, G. et Richer-Lafleche M. (2008).** Metal-contaminated soils: remediation practices and treatment technologies. *Practice periodical of hazardous, toxic, and radioactive waste management*, 12(3), 188-209.
- Desai J. D. et Banat I. M. (1997).** Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular biology reviews*, 61(1), 47-64.
- Devanthi P. V. P., Linforth R., El Kadri H. et Gkatzionis K. (2018).** Water-in-oil-in-water double emulsion for the delivery of starter cultures in reduced-salt moromi fermentation of soy sauce. *Food chemistry*, 257, 243-251.
- Deziel E., Lepine F., Milot S. et Villemur R. (2003).** rhlA is required for the production of a novel biosurfactant promoting swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa*: 3-(3-

hydroxyalkanoyloxy) alkanolic acids (HAAs), the precursors of rhamnolipids. *Microbiology*, 149(8), 2005-2013.

Duarte C., Gudiña E. J., Lima C. F. et Rodrigues L. R. (2014). Effects of biosurfactants on the viability and proliferation of human breast cancer cells. *AMB express*, 4(1), 1-12.

Dold AP, Cocks ML (2002). The trade in medicinal plants in the Eastern Cape Province, South Africa. *South Afr. J. Sci.* 98.

E

Edwards J. R. et Hayashi J. A. (1965). Structure of a rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of biochemistry and biophysics*, 111(2), 415-421.

F

Felix A. K. N., Martins J. J., Almeida J. G. L., Giro M. E. A., Cavalcante K. F., Melo V. M. M. et de Santiago Aguiar R. S. (2019). Purification and characterization of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* in cashew apple juice and its application in the remediation of oil-contaminated soil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 175, 256-263.

Florence Mercier-Bion ., Leon Yoanna., Neff Delphine., Urios Laurent., Wittebroodt Charles., Flachet Margot. et Dillmann Philippe (2016). *Matériaux et Techniques* 104, 511. DOI: 10.1051/mattech/2017019 www.mattech-journal.org.

Fakruddin Md. (2012). Biosurfactant : Production and Application. *Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology*, 3 :124-5 pages.

G

Gan B. S., Kim J., Reid G., Cadieux P. et Howard J. C. (2002). *Lactobacillus fermentum* RC-14 inhibits *Staphylococcus aureus* infection of surgical implants in rats. *The Journal of infectious diseases*, 185(9), 1369-1372.

García L. F. (2020). Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Frontiers in immunology*, 11, 1441.

Garg M., et Chatterjee M. (2018). Isolation, characterization and antibacterial effect of biosurfactant from *Candida parapsilosis*. *Biotechnology Reports*, 18, e00251.

- Gogoi D., Bhagowati P., Gogoi P., Bordoloi N. K., Rafay A., Dolui S. K. et Mukherjee A. K. (2016).** Structural and physico-chemical characterization of a dirhamnolipid biosurfactant purified from *Pseudomonas aeruginosa*: application of crude biosurfactant in enhanced oil recovery. *RSC advances*, 6(74), 70669-70681.
- Golek P., Bednarski W., Brzozowski B. et Dziuba B. (2009).** The obtaining and properties of biosurfactants synthesized by bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Annals of microbiology*, 59(1), 119-126.
- Gross R. A. et Shah V. (2007).** Anti-Herpes Virus Properties of Various Forms of Sophorolipids. Patent No 2007/130738A1.
- Goodarzi F. et Zendejboudi S. (2019).** A comprehensive review on emulsions and emulsion stability in chemical and energy industries. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 97(1), 281-309.
- Gudiña E. J., Fernandes E. C., Rodrigues A. I., Teixeira J. A. et Rodrigues L. R. (2015).** Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* using corn steep liquor as culture medium. *Frontiers in microbiology*, 6, 59.
- Giria S. S., Ryua EC., Sukumarab V. et Parka S.C. (2019).** Antioxidant, antibacterial, and anti-adhesive activities of biosurfactants isolated from *Bacillus* strains. *Microbial Pathogenesis*, 132, 66-72.
- Griffin WC. (1949).** Classification of Surface-Active Agents by HLB, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 1, 311.

H

- Hashim M. A., Mukhopadhyay S., Sahu J. N. et Sengupta B. (2011).** Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. *Journal of environmental management*, 92(10), 2355-2388.
- Hassan M., Essam T., Yassin A. S. et Salama A. (2016).** Optimization of rhamnolipid production by biodegrading bacterial isolates using Plackett–Burman design. *International journal of biological macromolecules*, 82, 573-579.
- Hazra C., Kundu D. et Chaudhari A. (2012).** Biosurfactant-assisted bioaugmentation in bioremediation. *Microorganisms in Environmental Management*, 631-664.

Hewald S., Linne U., Scherer M., Marahiel M. A., Kämper J. et Bölker M. (2006). Identification of a gene cluster for biosynthesis of mannosylerythritol lipids in the basidiomycetous fungus *Ustilago maydis*. *Applied and environmental microbiology*, 72(8), 5469-5477.

Holmberg K., Shah D. O. et Schwuger M. J. (Eds.). (2002). *Handbook of applied surface and colloid chemistry* (Vol. 1). Wiley-Blackwell.

Hu X., Wang C. et Wang P. (2015). Optimization and characterization of biosurfactant production from marine *Vibrio* sp. strain 3B-2. *Frontiers in microbiology*, 6, 976.

Heakal F. E. et Elkholy A.E. Gemini surfactants as corrosion inhibitors for carbon steel, *J. Mol. Liq.* 230 (2017) 395-407.

I

Ituen E., Akaranta O. et James A. (2016). Green anticorrosive oilfield chemicals from 5-hydroxytryptophan and synergistic additives for X80 steel surface protection in acidic well treatment fluids. *Journal of Molecular Liquids*, 224, 408-419.

J

Jadhav M., Kalme S., Tamboli D. et Govindwar S. (2011). Rhamnolipid from *Pseudomonas desmolyticum* NCIM-2112 and its role in the degradation of Brown 3REL. *Journal of Basic Microbiology*, 51(4), 385-396.

Jaspard E., Macherel D. et Hunault G. (2012). Computational and statistical analyses of amino acid usage and physico-chemical properties of the twelve late embryogenesis abundant protein classes. *PloS one*, 7(5), e36968.

Jemil N., Ben Ayed H., Manresa A., Nasri M. et Hmidet N. (2017). Antioxidant properties, antimicrobial and anti-adhesive activities of DCS1 lipopeptides from *Bacillus methylotrophicus* DCS1. *BMC microbiology*, 17(1), 1-11.

Jesús Cortés-Sánchez A., Hernández-Sánchez H. et Jaramillo-Flores M. E. (2013). Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives. *Microbiological research*, 168(1), 22-32.

Jimoh A. A. et Lin J. (2019). Biosurfactant: A new frontier for greener technology and environmental sustainability. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 184, 109607.

Joshi-Navare K., et Prabhune A. (2013). A biosurfactant-sophorolipid acts in synergy with antibiotics to enhance their efficiency. *BioMed research international*, 2013.

K

Kedidi A. (2014). Effets de salinité sur la stabilité des biosurfactants produits par des souches bactériennes telluriques en présence du gasoil. Mémoire de Master en Microbiologie appliquée. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 38p.

Karthik I. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method.

Kim S. D., Cho J. Y., Park H. J., Lim C. R., Lim J. H., Yun H. I. et Rhee M. H. (2006). A comparison of the anti-inflammatory activity of surfactin A, B, C, and D from *Bacillus subtilis*. *Journal of microbiology and biotechnology*, 16(10), 1656-1659.

Kretschmer A., Bock H. et Wagner F. (1982). Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *Applied and environmental microbiology*, 44(4), 864-870.

Kitamoto D., Isoda H. et Nakahara T. (2002). Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants-from energy-saving materials to gene delivery carriers-. *Journal of bioscience and bioengineering*, 94(3), 187-201.

Kitamoto D., Morita T., Fukuoka T., Konishi M. A. et Imura T. (2009). Self-assembling properties of glycolipid biosurfactants and their potential applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14(5), 315-328.

Konishi M., Fukuoka T., Morita T., Imura T. et Kitamoto D. (2008). Production of new types of sophorolipids by *Candida batistae*. *Journal of oleo science*, 57(6), 359-369.

Korenblum E., de Araujo L. V., Guimarães C. R., De Souza L. M., Sasaki G., Abreu F. et Seldin L. (2012). Purification and characterization of a surfactin-like molecule produced by *Bacillus* sp. H2O-1 and its antagonistic effect against sulfate reducing bacteria. *BMC microbiology*, 12(1), 1-13.

Kosaric N. et Sukan F. V. (Eds). (2014). *Biosurfactants: production and utilization-processes, technologies, and economics* (Vol. 159). CRC press.

Kracht M. A. R. E. N., Rokos H., ÖZEL M., KOWALL M., Pauli G. et VATER J. (1999). Antiviral and hemolytic activities of surfactin isoforms and their methyl ester derivatives. *The Journal of antibiotics*, 52(7), 613-619.

Kieliszek M., Kot A.M., Bzducha-Wróbel A., Blazejak S., Gientka I. Et Kurcz, A.(2017). Biotechnological use of *Candida* yeasts in the food industry: a review. *Fung. Biol. Rev.* 31,185–198. doi:10.1016/j.fbr.2017.06.001.

Kitamoto D., Yanagishita H., Shinbo T., Nakane T., Kamisawa., Kretschmer A., Bock H. et Wagner F. (1993). Chemical and physical characterization of interfacial active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkane. *Appl. Environ. Microbiol*, 44: 864–870.

Kachholz T., Schingmann M. E., Kosaric N., Cairns W. L. et Gray N. C. C. (1987). Biosurfactants and Biotechnology. *Possible food and agricultural application of microbial surfactants: an assessment*, 25, 183-208.

L

Lam R. S., et Nickerson M. T. (2013). Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food chemistry*, 141(2), 975-984.

Lang S., et Wullbrandt D. (1999). Rhamnolipids-biosynthesis, microbial production and application potential. *Applied microbiology and biotechnology*, 51(1), 22-32.

Lang S. (2002). Biological amphiphiles (microbial biosurfactants). *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 7(1-2), 12-20.

Ławniczak Ł., Marecik R. et Chrzanowski Ł. (2013). Contributions of biosurfactants to natural or induced bioremediation. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(6), 2327-2339.

Leite G. G., Figueirôa J. V., Almeida T. C., Valões J. L., Marques W. F., Duarte M. D. et Gorlach-Lira K. (2016). Production of rhamnolipids and diesel oil degradation by bacteria isolated from soil contaminated by petroleum. *Biotechnology Progress*, 32(2), 262-270.

Li Q. (2017). Rhamnolipid synthesis and production with diverse resources. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 11(1), 27-36.

- Li X., Deng S., Fu H. et Li T. (2009).** Adsorption and inhibition effect of 6-benzylaminopurine on cold rolled steel in 1.0 M HCl. *Electrochimica Acta*, 54(16), 4089-4098.
- Lira I. R. D. S., Santos E. M. D. S., dos Santos J. C., da Silva R. R., da Silva Y. A., Durval I. J. B. et de Luna, J. M. (2021).** Production of Biosurfactant by *Candida Guillhermondii* and Application in a Mayonnaise Emulsion. *Chemical Engineering Transactions*, 87, 259-264.
- Liu J., Huang X. F., Lu L. J., Xu J. C., Wen Y., Yang D. H. et Zhou Q. (2010).** Optimization of biodemulsifier production from *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 and its application in breaking crude oil emulsion. *Journal of hazardous materials*, 183(1-3), 466-473.
- Liu J. Y., Wang Z. S., Yang W. Y. et Zhou X. (2016).** Inhibition performance of amphoteric fluorinated surfactant and its mixed systems on carbon steel in hydrochloric acid. *Journal of Surfactants and Detergents*, 19(6), 1297-1304.

M

- Maier R. M. et Soberon-Chavez G. (2000).** *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 54(5), 625-633.
- Malik M. A., Hashim M. A., Nabi F., Al-Thabaiti S. A. et Khan Z. (2011).** Anti-corrosion ability of surfactants: a review. *Int. J. Electrochem. Sci*, 6(6), 1927-1948.
- Mao X., Jiang R., Xiao, W. et Yu J. (2015).** Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: a review. *Journal of hazardous materials*, 285, 419-435.
- Marchant R. et Banat I. M. (2012).** Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants. *Biotechnology letters*, 34(9), 1597-1605.
- Maria da Gloria C. et Sarubbo L. A. (2021).** Synthetic and Biological Surfactants Used to Mitigate Biofouling on Industrial Facilities Surfaces.
- McClements D. J. (2004).** *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.

- McClements D. J. et Jafari S. M. (2018).**Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in colloid and interface science*, 251, 55-79.
- Md F. (2012).** Biosurfactant: production and application. *J Pet Environ Biotechnol*, 3(4), 124.
- Meylheuc T., Van Oss C. J. et Bellon-Fontaine M. N. (2001).**Adsorption of biosurfactant on solid surfaces and consequences regarding the bioadhesion of *Listeria monocytogenes* LO28. *Journal of Applied Microbiology*, 91(5), 822-832.
- Mnif I. et Ghribi D. (2015).**Microbial derived surface active compounds: properties and screening concept. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(7), 1001-1020.
- Moldes A. B., Paradelo R., Rubinos D., Devesa-Rey R., Cruz J. M. et Barral M. T. (2011).** Ex situ treatment of hydrocarbon-contaminated soil using biosurfactants from *Lactobacillus pentosus*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(17), 9443-9447.
- Morelli J. J. et Szajer G. (2000).**Analysis of surfactants: Part I. *Journal of Surfactants and Detergents*, 3(4), 539-552.
- Mujumdar S., Joshi P. et Karve N. (2019).**Production, characterization, and applications of bioemulsifiers (BE) and biosurfactants (BS) produced by *Acinetobacter* spp.: a review. *Journal of Basic Microbiology*, 59(3), 277-287.
- Mulligan C. N., Sharma S. K. et Mudhoo A. (2014).**Biosurfactants. *Research Trends and Applications*. CRC Press, Boca Raton, 34.
- Mulligan C. N. et Wang S. (2006).**Remediation of a heavy metal-contaminated soil by a rhamnolipid foam. *Engineering Geology*, 85(1-2), 75-81.
- Muthusamy K., Gopalakrishnan S., Ravi T. K. et Sivachidambaram P. (2008).**Biosurfactants: properties, commercial production and application. *Current science*, 736-747.
- Mizushima Y (1964).** Inhibition of protein denaturation by antirheumatic and antiphlogistic agents, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 149: 1-7.

Mouffok M., MESLI A., Abdelmalek I. et Gontier E. (2016). Effect of the formulation parameters on the encapsulation efficiency and release behavior of p-aminobenzoic acidloaded ethylcellulose microspheres. *J. Serb. Chem. Soc.* 81 (10) 1183–1198 p.

Makkar R.S., Cameotra S.S. et Banat I.M. (2011). Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. *AMB express*, 1(1), 5.

N

Najmi Z., Ebrahimipour G., Franzetti A. et Banat I. M. (2018).In situ downstream strategies for cost-effective bio/surfactant recovery. *Biotechnology and applied biochemistry*, 65(4), 523-532.

Narenkumar J., Sathishkumar K., Sarankumar R. K., Murugan K. et Rajasekar A. (2017). An anticorrosive study on potential bioactive compound produced by *Pseudomonas aeruginosa* TBH2 against the biocorrosive bacterial biofilm on copper metal. *Journal of Molecular Liquids*, 243, 706-713.

Naruse N., Tenmyo O., Kobaru S., Kamei H., Miyaki T., Konishi M. et Oki T. (1990).Pumilacidin, a complex of new antiviral antibiotics production, isolation, chemical properties, structure and biological activity. *The Journal of antibiotics*, 43(3), 267-280.

Nitschke M. et Pastore G. M. (2002).Biosurfactantes: propriedades e aplicações. *Química nova*, 25, 772-776.

Nour A. H., Yunus R. M. et Farhan A. H. (2018).Biosurfactants as promising multifunctional agent: A mini review. *International Journal of Innovative Research and Scientific Studies*, 1(1).

Nurfarahin A. H., Mohamed M. S. et Phang L. Y. (2018).Culture medium development for microbial-derived surfactants production-an overview. *Molecules*, 23(5), 1049.

O

Ochoa-Loza F. J., Artiola J. F. et Maier R. M. (2001). Stability constants for the complexation of various metals with a rhamnolipid biosurfactant. *Journal of environmental quality*, 30(2), 479-485.

- Ochsner U. A., Fiechter A. et Reiser J. (1994).** Isolation, characterization, and expression in *Escherichia coli* of the *Pseudomonas aeruginosa* rhlAB genes encoding a rhamnosyltransferase involved in rhamnolipid biosurfactant synthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 269(31), 19787-19795.
- Olajire A. A. (2017).** Corrosion inhibition of offshore oil and gas production facilities using organic compound inhibitors-A review. *Journal of Molecular Liquids*, 248, 775-808.
- Ongena M., et Jacques P. (2008).** Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in microbiology*, 16(3), 115-125.
- Osman M. S., Ibrahim Z., Japper-Jaafar A. Z. U. R. A. I. E. N. et Shahir S. H. A. F. I. N. A. Z. (2019).** Biosurfactants and its prospective application in the petroleum industry. *Journal of Sustainability Science and Management*, 14(3), 125-140.
- Oyedapo O. O., Akinpelu B. A., Akinwunmi K. F., Adeyinka M. O. et Sipeolu F. O. (2010).** Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(4), 46-51.
- Okoli CO, Akah PA, Onuoha NJ, Okoye TC, Nwoye AC, Nworu CS (2008).** *Acanthus montanus*: An experimental evaluation of the antimicrobial, anti-inflammatory and immunological properties of a traditional remedy for furuncles. *BMC Complementary. Alternative. Med.* 8:27 doi:10.1186/1472-6882-8-27.

P

- Patel R. M. et Desai A. J. (1997).** Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* GS3 from molasses. *Letters in Applied Microbiology*, 25(2), 91-94.
- Pacwa-Płociniczak M., Plaza G. A., Piotrowska-Seget Z. et Cameotra S. S. (2011).** Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *International journal of molecular sciences*, 12(1), 633-654.
- Pessôa M. G., Vespermann K. A., Paulino B. N., Barcelos M. C., Pastore G. M. et Molina G. (2019).** Newly isolated microorganisms with potential application in biotechnology. *Biotechnology advances*, 37(2), 319-339.
- Pereira J.F.B., Gudiña E. J., Costa R., Vitorino R., Teixeira J. A. , Coutinho J.A.P et Rodrigues L.R. (2013).** Optimization and characterization of biosurfactant production

by *Bacillus subtilis* isolates towards microbial enhanced oil recovery applications. *Fuel* 111 (2013) 259–268.

Parthipan P., Narenkumar J., Elumalai P., Preethi P.S., A.U.R. Nanthini A.U.R., A. Agrawal A. et Rajasekar A. Neem extract as a green inhibitor for microbiologically influenced corrosion of carbon steel API 5LX in a hypersaline environments, *J. Mol. Liq.* 240 (2017) 121–127.

R

Rani AA., Punitha SMJ., Rema M. Anti-inflammatory activity of flower extract of *Cassia auriculata* –an in-vitro study. *Int Res J Pharm Appl Sci.* 2014;4:57–60.

Radzuan M. N., Banat I. M. et Winterburn J. (2017). Production and characterization of rhamnolipid using palm oil agricultural refinery waste. *Bioresource Technology*, 225, 99-105.

Rahman P. K. et Gakpe E. (2008). Production, characterisation and applications of biosurfactants-Review. *Biotechnology*.

Rajasekar A., Anandkumar B., Maruthamuthu S., Ting Y. P. et Rahman P. K. (2010). Characterization of corrosive bacterial consortia isolated from petroleum-product-transporting pipelines. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(4), 1175-1188.

Rajasekar A., Xiao W., Sethuraman M., Parthipan P. et Elumalai P. (2017). Airborne bacteria associated with corrosion of mild steel 1010 and aluminum alloy 1100. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(9), 8120-8136.

Rangarajan V. et Sen R. (2013). An inexpensive strategy for facilitated recovery of metals and fermentation products by foam fractionation process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 104, 99-106.

Rani A. A., Punitha S. M. J. et Rema M. (2014). Anti-inflammatory activity of flower extract of *Cassia auriculata*-an in-vitro study. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 4(1), 57-60.

Robbel L. et Marahiel M. A. (2010). Daptomycin, a bacterial lipopeptide synthesized by a nonribosomal machinery. *Journal of Biological Chemistry*, 285(36), 27501-27508.

- Robert M., Mercade M. E., Bosch M. P., Parra J. L., Espuny M. J., Manresa M. A. et Guinea J. (1989).**Effect of the carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1. *Biotechnology Letters*, 11(12), 871-874.
- Rodríguez-López L., Rincón-Fontán M., Vecino X., Moldes A. B. et Cruz J. M. (2020).**Biodegradability study of the biosurfactant contained in a crude extract from corn steep water. *Journal of Surfactants and Detergents*, 23(1), 79-90.
- Rosa da C. F., Freire D. M. et Ferraz H. C. (2015).**Biosurfactant microfoam: Application in the removal of pollutants from soil. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(1), 89-94.
- Roy A. (2017).** Review on the biosurfactants: properties, types and its applications. *J. Fundam. Renew. Energy Appl*, 8, 1-14.
- Rowman RM (1996).** The blood and bone marrow. In Muir's Textbook of Pathology 13th edition. Edited by: MacSween RMN, Whaley K. India: Thomas. *Press Ltd*, pp. 585-644.
- ROPITAL F.** Corrosion et Dégradation des Matériaux Métalliques, Yves CHAUVIN, Edition Technip, (2009).

S

- Sabatini D. A., Knox R. C., Harwell J. H. et Wu B. (2000).**Integrated design of surfactant enhanced DNAPL remediation: efficient supersolubilization and gradient systems. *Journal of contaminant hydrology*, 45(1-2), 99-121.
- Sachdev D. P. et Cameotra S. S. (2013).**Biosurfactants in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(3), 1005-1016.
- Sanches M. A., Luzeiro I. G., Alves Cortez A. C., Simplicio de Souza É., Albuquerque P. M., Chopra H. K. et Braga de Souza J. V. (2021).** Production of biosurfactants by Ascomycetes. *International Journal of Microbiology*, 2021.
- Sáenz-Marta C. I., de Lourdes Ballinas-Casarrubias M., Rivera-Chavira B. E. et Nevárez-Moorillón G. V. (2015).**Biosurfactants as useful tools in bioremediation. *Advances in bioremediation of wastewater and polluted soil*, 5, 94-109.
- Saji V. S. (2010).** A review on recent patents in corrosion inhibitors. *Recent Patents on Corrosion Science*, 2(1).

- Santos Dos. B. F., Ponezi A. N. et Fileti A. M. F. (2016).** Strategy for waste management in the production and application of biosurfactant through surface response methodology. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 18(3), 787-795.
- Santos D. K. F., Rufino R. D., Luna J. M., Santos V. A. et Sarubbo L. A. (2016).** Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International journal of molecular sciences*, 17(3), 401.
- Satpute S. K., Banat I. M., Dhakephalkar P. K., Banpurkar A. G. et Chopade B. A. (2010).** Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms. *Biotechnology advances*, 28(4), 436-450.
- Soetaer W. et Vandamme. Biotechnol. J. 1 (7-8) (2006) 756, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/biot.200600066>.**
- Sen R. et Swaminathan T. (1997).** Application of response-surface methodology to evaluate the optimum environmental conditions for the enhanced production of surfactin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47(4), 358-363.
- Seydlová G. et Svobodová J. (2008).** Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications. *Central European Journal of Medicine*, 3(2), 123-133.
- Shaban S. M., Saied A., Tawfik S. M., Abd-Elaal A. et Aiad I. (2013).** Corrosion inhibition and biocidal effect of some cationic surfactants based on Schiff base. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 19(6), 2004-2009.
- Shah V., Doncel G. F., Seyoum T., Eaton K. M., Zalenskaya I., Hagver R. et Gross R. (2005).** Sophorolipids: novel glycolipid preventive agents for conception and sexual transmission. *Antimicrob. Agents Chemother*, 49, 4093-4100.
- Sharma D., Saharan B. S. et Kapil S. (2016).** *Biosurfactants of lactic acid bacteria*. Cham: Springer.
- Shepherd R., Rockey J., Sutherland I. W. et Roller S. (1995).** Novel bioemulsifiers from microorganisms for use in foods. *Journal of Biotechnology*, 40(3), 207-217.
- Silva R. D. C. F., Almeida D. G., Rufino R. D., Luna J. M., Santos V. A. et Sarubbo L. A. (2014).** Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills. *International journal of molecular sciences*, 15(7), 12523-12542.

Silva S. N. R. L., Farias C. B. B., Rufino R. D., Luna J. M. et Sarubbo L. A. (2010). Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(1), 174-183.

Souza K. S. T., Gudiña E. J., Azevedo Z., de Freitas V., Schwan R. F., Rodrigues L. R. et Teixeira J. A. (2017). New glycolipid biosurfactants produced by the yeast strain *Wickerhamomyces anomalus* CCMA 0358. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 154, 373-382.

Summers D. (2011). Enhancing Oil Recovery: A Look at Stripper Wells. *Oil price*, 20.

Swarnkar V., Agrawal N. et Tomar R. (2012). Sorption of chromate and arsenate by surfactant modified erionite (E-SMZ). *Journal of dispersion science and technology*, 33(6), 919-927.

Subramaniam M.D., Venkatesan D., Iyer M., Subbarayan S., Govindasami V., Roy A., Narayanasamy A., Kamalakannan S., Gopalakrishnan A.V., Thangarasu R. et al. Biosurfactants and anti-inflammatory activity: A potential new approach towards COVID-19. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health* 2020.

Sifour M., Majid H., Al-Jilawi., Ghazi M. et Aziz. (2007). Emulsification Properties of Biosurfactant Produced from *Pseudomonas aeruginosa* RB 28. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10: 1331-1335.

Singh P, Cameotra S. S, (2004). Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences. *Trends Biotechnol.* 22 : 142.

Souza E.C., Vessoni-Penna T.C. et de Souza Oliveira, R.P. Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: an overview, *Int. Biodeter. Biodegr.* 89 (2014) 88–94.

Salihu A., Abdulkadir I. et Almustapha M.N. (2009). An investigation for potential development on biosurfactants. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 4(5), 111-117.

T

Tally F. P., Zeckel M., Wasilewski M. M., Carini C., Berman C. L., Drusano G. L. et Oleson Jr F. B. (1999). Daptomycin: a novel agent for Gram-positive infections. *Expert opinion on investigational drugs*, 8(8), 1223-1238.

Tamnak S., Mirhosseini H., Tan C. P., Amid B. T., Kazemi M. et Hedayatnia S. (2016). Encapsulation properties, release behavior and physicochemical characteristics of water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsion stabilized with pectin-pea protein isolate conjugate and Tween 80. *Food Hydrocolloids*, 61, 599-608.

Tabbene O., I. Karkouch, S. Elkahoui, P. Cosette, M.-L. Mangoni, T. Jouenne, F. Limam, A new antibacterial and antioxidant S07-2 compound produced by *Bacillus subtilis* B38, *FEMS Microbiol. Lett.* 303 (2010) 176–182.

U

Umapathy E., Ndebia E. J., Meeme A., Adam B., Menziwa P., Nkeh-Chungag B. N. et Iputo. J. E. (2010). An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *J Med Plants Res*, 4(9), 789-795.

Umukoro S, Ashorobi RB (2006). Evaluation of the anti-inflammatory and membrane stabilizing effect of *Eupatorium odoratum*. *Int. J. Pharmacol.* 2(5): 509-512.

V

Vecino X., Cruz J. M., Moldes A. B. et Rodrigues L. R. (2017). Biosurfactants in cosmetic formulations: trends and challenges. *Critical reviews in biotechnology*, 37(7), 911-923.

Velikonja J. O. R. A. N. et Kosaric N. A. I. M. (1993). Biosurfactants in food applications. *Biosurfactants: production, properties, applications*, 48.

Velraeds M. M., Van de Belt-Gritter B., Van der Mei H. C., Reid G. et Busscher H. J. (1998). Interference in initial adhesion of uropathogenic bacteria and yeasts to silicone rubber by a *Lactobacillus acidophilus* biosurfactant. *Journal of Medical Microbiology*, 47(12), 1081-1085.

Vigneshwaran C., Sivasubramanian V., Vasantharaj K., Krishnanand N. et Jerold M. (2018). Potential of *Brevibacillus* sp. AVN 13 isolated from crude oil contaminated soil for biosurfactant production and its optimization studies. *Journal of environmental chemical engineering*, 6(4), 4347-4356.

Vijayakumar S. et Saravanan V. (2015). Biosurfactants-types, sources and applications. *Research Journal of Microbiology*, 10(5), 181.

Vollenbroich D., Özel M., Vater J., Kamp R. M. et Pauli G. (1997). Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from *Bacillus subtilis*. *Biologicals*, 25(3), 289-297.

W

Walencka E., Różalska S., Sadowska B. et Różalska B. (2008). The influence of *Lactobacillus acidophilus*-derived surfactants on staphylococcal adhesion and biofilm formation. *Folia microbiologica*, 53(1), 61-66.

West C. C. et Harwell J. H. (1992). Surfactants and subsurface remediation. *Environmental Science & Technology*, 26(12), 2324-2330.

Y

Yahaya Khan M., Abdul Karim Z. A., Hagos F. Y., Aziz A. R. A. et Tan I. M. (2014). Current trends in water-in-diesel emulsion as a fuel. *The Scientific world journal*, 2014.

Yalaoui-Guellal D., Brahmi F., Touati A., De Champs C., Banat I. M. et Madani K. (2018). Production of Biosurfactants by Hydrocarbons degrading bacteria isolated from Soummam watershed Sediments of Bejaia in Algeria. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 37(1), 189-195.

Yalaoui-Guellal D., Fella-Temzi S., Djafri-Dib S., Brahmi F., Banat I. M. et Madani K. (2020). Biodegradation potential of crude petroleum by hydrocarbonoclastic bacteria isolated from Soummam wadi sediment and chemical-biological proprieties of their biosurfactants. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 184, 106554.

Yamashita Y., Miyahara R. et Sakamoto K. Emulsion and Emulsification Technology, in: K. Sakamoto, R.Y. Lochhead, H.I. Maibach, Y. Yamashita (Eds.), *Cosmet. Sci. Technol. Theor. Princ. Appl.*, Elsevier Inc., 2017: pp. 489–506. doi:10.1016/B978-012-802005-0.00028-8.

Z

Zarasvand K. A. et Rai V. R. (2014). Microorganisms: induction and inhibition of corrosion in metals. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 87, 66-74.

Zgola-Grzeškowiak A. et Kaczorek E. (2011). Isolation, preconcentration and determination of rhamnolipids in aqueous samples by dispersive liquid–liquid microextraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Talanta*, 83(3), 744-750.

Zhao X., Geltinger C., Kishikawa S., Ohshima K., Murata T., Nomura N. et Yokoyama K. K. (2000). Treatment of mouse melanoma cells with phorbol 12-myristate 13-acetate counteracts mannosylerythritol lipid-induced growth arrest and apoptosis. *Cytotechnology*, 33(1), 123-130.

Zouari R., Besbes S., Ellouze-Chaabouni S. et Ghribi-Aydi D. (2016). Cookies from composite wheat–sesame peels flours: Dough quality and effect of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant addition. *Food chemistry*, 194, 758-769.

Annexes

Annexe 01 : liste des appareils et de verrerie**Liste des appareils**

- Agitateur-plaque chauffante : mélange.
- Autoclave ou Etuve : stérilisation.
- Bain marie : chauffage.
- Balance analytique : pesée.
- Bec bunsen : stérilisation.
- Centrifugeuse : séparation solide – liquide.
- Hotte chimique : protection.
- Incubateur orbital : agitation.
- Spectrophotomètre UV-Visible : mesure de l'absorbance.
- pH mètre : pH.
- Réfrigérateur : conservation.
- Vortex : agitation.

Liste des petits matériels et verrerie

- Bêchers
- Boîtes de pétri
- Epprouvettes de 100 ml
- Erlenmeyer de 1000ml
- Fiole de 100 ml
- Flacons de 100 ml, 200 ml, 250 ml
- Micropipettes de 20µl, 200µl, 1ml
- Papier absorbant
- Papier aluminium
- Papier film
- Pipette pasteur
- Sac en plastique
- Tube conique
- Tube à essai

Annexe 02 : Les milieux de culture**Milieu Salé Minéral (MSM)**

NaCl.....	30 g
KH ₂ PO ₄	2,0 g
NH ₄ NO ₃	1,0 g
Na ₂ HPO ₄	3.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0.7 g
Solution de traces d'éléments...	1.0 ml
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,2 ± 0,2	

Milieu Mueller-Hinton II (g/l)

Hydrolysate de caséine.....	17,5 g
Extrait de viande.....	2,0 g
Amidon.....	1,5 g
NaCl.....	200 g
Agar.....	17,0 g
pH=7.3 ± 0.2 à 25°C	

Annexe 03 : Les réactifs**Tris-HCL (0.05M, pH 6.8)**

Tris.....	0.6057 g
Eau distillé.....	100 ml
pH = 6.8	

BSA (0.2%)

BSA.....	0.2 g
Eau distillé.....	100 ml

Chlorure de Barium

BrCl.....0.5 g
Eau distillé.....50 ml

Mc Farland 0.5 %

BrCl₂.....0.6 ml
H₂So₄.....99.4%

Tampon 10 mM, NaCl 154 mM

NaH₂Po₄.....0.24 g
Eau distillé.....200 ml
NaCl.....1.8 g
Eau distillé.....200 ml

Acide Sulfurique

H₂So₄.....2 ml
Eau distillé.....200 ml

Tampon 10 mM, NaCl 50 mM

Na₂HPO.....0.28 g
Eau distillé.....200 ml
NaCl.....0.582 g
Eau distillé.....200 ml

Résumé: Dans cette étude, nous avons traité le thème des biosurfactants qui sont considérés comme des produits naturels synthétisés par des microorganismes, on a fait une production des biosurfactants par l'utilisation de milieu Minimum Salé, La mesure de la production des biosurfactants est effectuée par le calcul de l'indice d'émulsification (E24), Et l'évaluation de ses propriétés biologiques d'activité anti-inflammatoire, de la stabilisation des membranes, et d'activité antimicrobienne. Les biosurfactants sont bien adaptés pour une large gamme d'applications telles que: les applications industrielles, médicales et environnementales. Leur importance dans l'industrie est due à leur pouvoir d'émulsification, solubilisation et réduction de la tension superficielle et interfaciale. Dans le domaine médical, les biosurfactants sont utilisés pour la formation des composés pharmaceutiques comme les antibiotiques, les anticancéreux et les anti-adhésifs. Et dans l'environnement, les biosurfactants jouent un rôle important dans la bioremédiation des sols contaminés.

Mots clés : biosurfactants, application industriel, propriétés biologiques, activité anti-inflammatoire, stabilisation des membranes, activité antimicrobienne.

Abstract: In this study, we dealt with the topic of biosurfactants which are considered as natural products synthesized by microorganisms, we made a production of BS by using MSM medium, The measurement of biosurfactant production is performed by calculating the emulsification index (E24), And evaluating its biological properties of anti-inflammatory activity, membrane stabilization, and antimicrobial activity. Biosurfactants are well suited for a wide range of applications such as: industrial, medical and environmental applications. Their importance in industry is due to their emulsification, solubilization and surface tension reduction. In the medical field, biosurfactants are used for the formation of pharmaceutical compounds such as antibiotics, anticancer agents and anti-adhesives. And in the environment, biosurfactants play an important role in the bioremediation of contaminated soil.

Keywords: biosurfactants, industrial application, biological properties, anti-inflammatory activity, membrane stabilization, antimicrobial activity.

ملخص: في هذه الدراسة ، تناولنا موضوع المواد الخافضة للتوتر السطحي والتي تعتبر من المنتجات الطبيعية التي يتم تصنيعها بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ، قمنا بإنتاج المواد الحيوية باستخدام الحد الأدنى من الملوحة المتوسطة يتم قياس إنتاج المواد الحيوية عن طريق حساب مؤشر الاستحلاب وتقييم خواصه البيولوجية للنشاط المضاد للالتهابات ، وتثبيت الأعشبية ، والنشاط المضاد للميكروبات. تعتبر المواد الخافضة للتوتر السطحي مناسبة تمامًا لمجموعة واسعة من التطبيقات مثل: التطبيقات الصناعية والطبية والبيئية. ترجع أهميتها في الصناعة إلى قدرتها على الاستحلاب والذوبان وتقليل التوتر السطحي والسطحي. في المجال الطبي، تُستخدم المواد الخافضة للتوتر السطحي لتشكيل المركبات الصيدلانية مثل المضادات الحيوية ومضادات السرطان ومضادات اللصق. وفي البيئة، تلعب المواد الخافضة للتوتر السطحي دورًا مهمًا في المعالجة الحيوية للتربة الملوثة.

الكلمات المفتاحية: العوامل الحيوية ، التطبيقات الصناعية ، الخصائص البيولوجية ، النشاط المضاد للالتهابات ، تثبيت الأعشبية ، النشاط المضاد للميكروبات.