État de la pollution bactériologique de la corniche oranaise: Cas des plages d'Aïn El Turck, de Bou Sfer et de Maddagh

N. Moufok *, A . Boutiba, Z. Boutiba.

* *Laboratoire Réseau de Surveillance Environnementale,Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université d'Es Sénia, Oran, Algérie, email :* Moufok_nb@yahoo.fr

RESUME

Ce travail consiste en une étude de contamination bactériologique de l'eau de mer au niveau de trois sites situé le long de la corniche oranaise «la plage d'Aïn El Turck, Bou Sfer plage, et la plage de Maddagh», où des prélèvements bimensuels ont été réalisés durant deux période de l'année: le premier en saison estivale; le second en période automnale.

Cette étude a porté, d'une part, sur l'évolution de la contamination d'origine fécale par le dénombrement des: Coliformes totaux, Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux, et d'autre part, sur la recherche de certains germes pathogènes «Salmonelles et Vibrions».

Les analyses bactériologiques ont mis en évidence la présence de germes bactériens qui témoignent de l'existence d'une pollution d'origine fécale importante pendant la période estivale, et plus particulièrement pour les sites : d'Aïn El Turck plage et de Bou Sfer plage. En revanche, les teneurs les moins élevées sont enregistrées durant la période automnale dans les sites : de Bou Sfer plage et de Maddagh plage (zone pilote épargnée de toute pollution).

État de la pollution bactériologique de la corniche oranaise: Cas des plages d'Aïn El Turck, de Bou Sfer et de Maddagh

N. Moufok *, A . Boutiba, Z. Boutiba.

* *Laboratoire Réseau de Surveillance Environnementale,Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université d'Es Sénia, Oran, Algérie, email :* Moufok_nb@yahoo.fr

RESUME

Ce travail consiste en une étude de contamination bactériologique de l'eau de mer au niveau de trois sites situé le long de la corniche oranaise «la plage d'Aïn El Turck, Bou Sfer plage, et la plage de Maddagh», où des prélèvements bimensuels ont été réalisés durant deux période de l'année: le premier en saison estivale; le second en période automnale.

Cette étude a porté, d'une part, sur l'évolution de la contamination d'origine fécale par le dénombrement des: Coliformes totaux, Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux, et d'autre part, sur la recherche de certains germes pathogènes «Salmonelles et Vibrions».

Les analyses bactériologiques ont mis en évidence la présence de germes bactériens qui témoignent de l'existence d'une pollution d'origine fécale importante pendant la période estivale, et plus particulièrement pour les sites : d'Aïn El Turck plage et de Bou Sfer plage. En revanche, les teneurs les moins élevées sont enregistrées durant la période automnale dans les sites : de Bou Sfer plage et de Maddagh plage (zone pilote épargnée de toute pollution).

INTRODUCTION

La mer a été toujours considérée comme le réceptacle universel de toutes les formes de pollution, générées par les activités humaines. Les déversements des eaux usées vers le milieu marin sans traitement préalable et le nombre important des estivants, ont entraîné systématiquement une pollution bactérienne au niveau du littoral. Ainsi, il se crée un déséquilibre écologique ayant des conséquences néfastes sur la santé publique par des manifestations pathogènes et des épidémies .

ZONE D'ETUDE

Le littoral oranais se situe dans la partie nord occidentale de l'Algérie, il s'allonge sur les 180 km avec une largeur moyenne de 20 à 25 km (GOURINARD, 1954)

Oran est la deuxième ville polluante au niveau du littoral oust algérien (BOUDERBALA , 1997). Elle est citée parmi les 120 principales villes côtières du bassin méditerranéen, qui sont dépourvues de systèmes d'épuration efficace, où 90% des rejets d'eaux usées rejoignent directement la mer sans épuration (BENDAHMANE , 1995) .La pollution par les hydrocarbures atteint un seuil critique dans la région d'Arzew qui est en parfaite continuité avec la baie d'Oran (BOUTIBA. et *al* , 2003).

METHODE DE TRAVAIL

Les points d'échantillonnages les plus utilisées sont les zones où la baignade est élevée. C'est entre le bord de mer où se trouvent la plupart des enfants et les vagues qui viennent se briser apportant en suspension avec elles une forte concentration de particules de sable et de sédiments, et les points à 2 mètres de profondeur, zone où les baigneurs ont pied.

La méthode d'analyse utilisée est basée sur le Test de Fermentation des Tubes Multiples (=Nombre le plus probable :NPP), des tubes identiques du milieu de culture approprié reçoivent des dilutions décimales d'un échantillon d'eau, les densités bactériennes sont alors calculées avec des formules de probabilité qui président le nombre le plus probable de bactéries nécessaires pour produire les combinaisons des tubes positifs et négatifs réellement observés lors de l'analyse des dilutions décimales identiques, le nombre le plus probable (NPP) est obtenue à l'aide des tables de NPP correspondantes (OMS/PNUE ,1995) .

RESULTATS

On remarque dans les trois graphe (Fig 01. 02 .03) un fort taux de pollution fécale durant les mois les plus chauds de l'année, de juin à août. avec un pic durant le mois d'août. Par contre une diminution progressif de la contamination bactérienne durant les mois d'octobre et de novembre.

Dans le site de Maddagh (Fig 03) il y a une quasi absence des deux germes « Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux ».

Selon nos résultats on peut dire que :

Aïn El Turck (Fig 01) est particulièrement polluée par les égouts d'eaux usées qui sont expulsés directement vers la mer pendant toute l'année. On a détecté la Présence de ***Salmonella*** durant le mois d'août.

La plage de Bou Sfer (Fig 02) est polluée pendant la période estivale avec l'arrivée des estivants, et la masse considérable de rejets des eaux usées.

Le site de Maddagh (Fig 03) est une zone pilote (zone de référence) éloigné de toute agglomération .

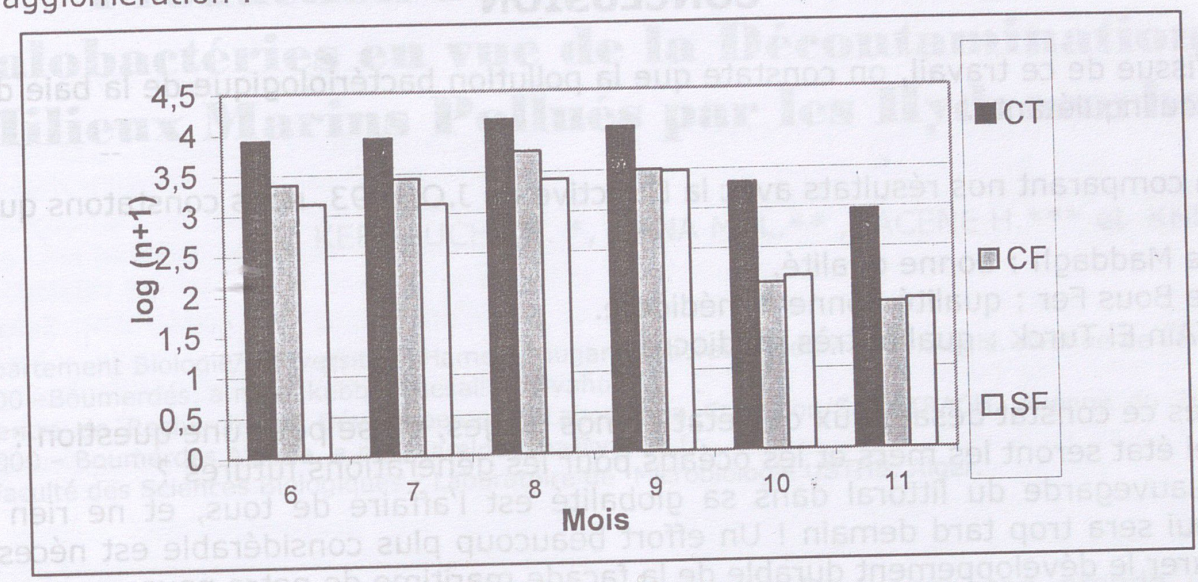
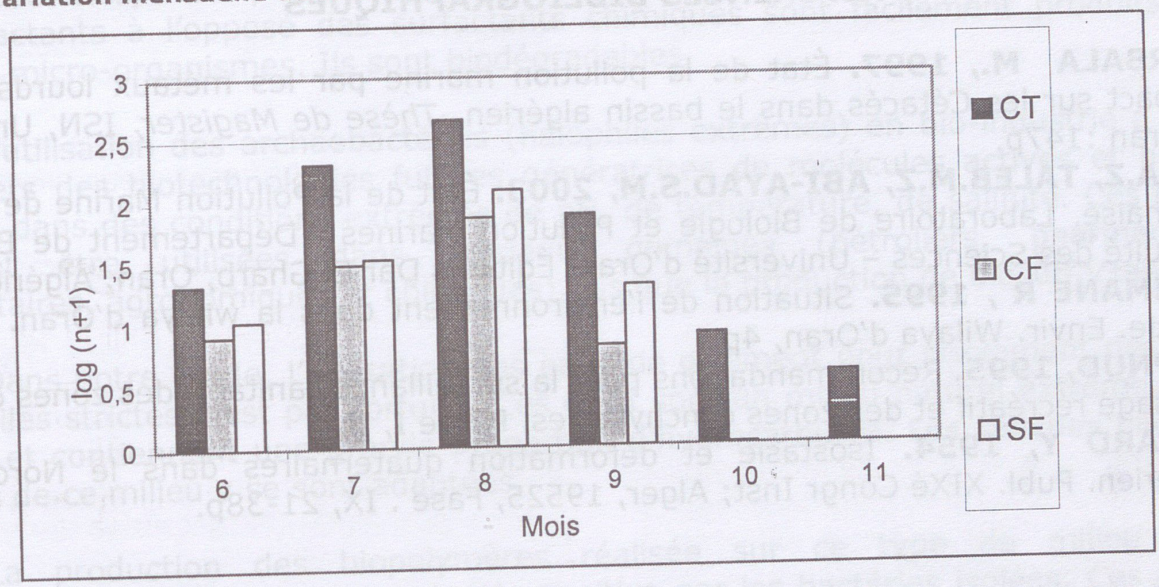


Fig 01 : variation mensuellede la contamination bactériologique de la plage de Ain . Turck

Fig 02 : Variation mensuelle de la contamination bactériologique de la plage de Bou Sfer.



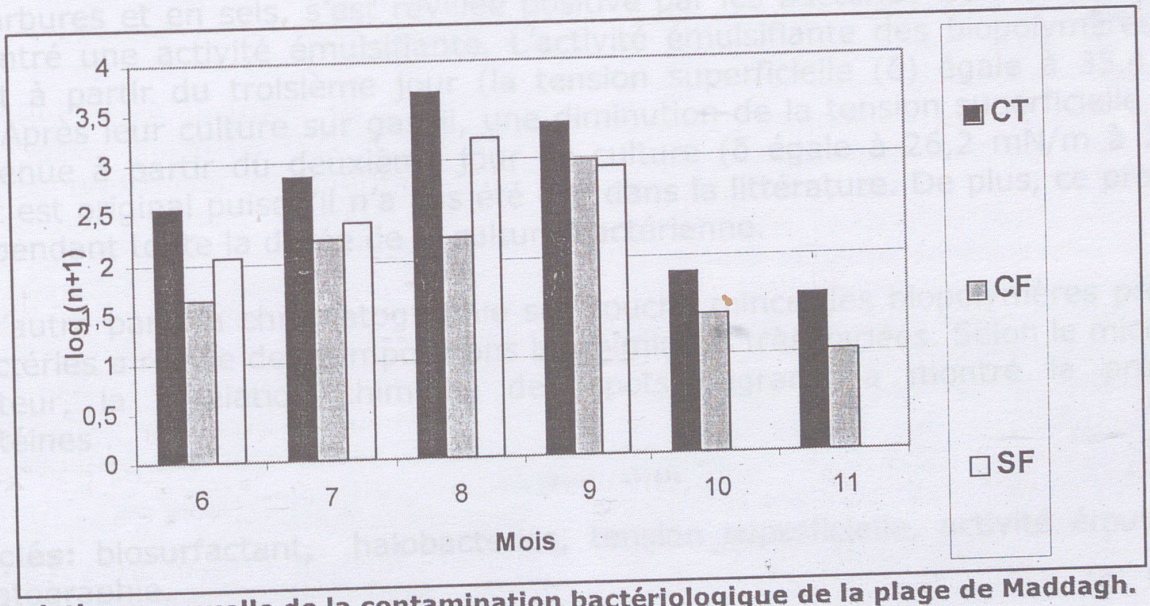


Fig 03 : Variation mensuelle de la contamination bactériologique de la plage de Maddagh.

CONCLUSION

A l'issue de ce travail, on constate que la pollution bactériologique de la baie d'Oran est plus qu'inquiétante.

En comparant nos résultats avec la Directive du J.O.1993, nous constatons que :

Le site de Maddagh : bonne qualité.
Le site de Bous Fer : qualité bonne à médiocre.
Le site d'Aïn El Turck : qualité très médiocre.

Après ce constat désastreux de l'état de nos plages, on se pose une question : Dans quel état seront les mers et les océans pour les générations futures ?

La sauvegarde du littoral dans sa globalité est l'affaire de tous, et ne rien faire aujourd'hui sera trop tard demain ! Un effort beaucoup plus considérable est nécessaire pour assurer le développement durable de la façade maritime de notre pays.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BOUDERBALA M., 1997. État de la pollution marine par les métaux lourds et son impact sur les Cétacés dans le bassin algérien. *Thèse de Magister,* ISN, Université d'Oran :147p.

BOUTIBA.Z, TALEB.M.Z, ABI-AYAD.S.M, 2003. État de la Pollution Marine de la Côte oranaise. Laboratoire de Biologie et Pollution Marines ; Département de Biologie-Faculté des Sciences – Université d'Oran. Éditions Dar El Gharb, Oran, Algérie :69p.

BENDAHMANE R , 1995. Situation de l'environnement dans la wilaya d'Oran. Journ;. Étude. Envir. Wilaya d'Oran, 4p.

OMS & PNUD, 1995. Recommandations pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles. Partie I, II.

GOURINARD Y, 1954. Isostasie et déformation quaternaires dans le Nord-Ouest algérien. Publ. XIXé Congr Inst; Alger, 19525, Fase . IX, 21-38p.

Production des Biosurfactants par les Halobactéries en vue de la Décontamination des Milieux Marins Pollués par les Hydrocarbures

KEBBOUCHE S. *, GANA M. L.** ,HACENE H.*** et KHEMILI S.*

* Département Biologie/ Université M'Hamed Bougara/Laboratoire de microbiologie. Avenue de l'indépendance 3500 –Boumerdés. a.mail :kebbouchesalima@yahoo.fr
** Centre de Recherche et Développement/ Laboratoire Corrosion/SONATRACH. Avenue du 1er novembre 35000 – Boumerdes Algérie. a.mail :aminegana@yahoo.fr
*** Faculté des Sciences Biologiques - Laboratoire de Microbiologie USTHB, Alger.

Les biosurfactants sont des tensioactifs synthétisés par une grande variété de micro-organisme connus, comme les bactéries, les levures et les moisissures. Chez les archaebactéries, la production des biosurfactants est moins rencontrée. Les biosurfactants à l'opposé des surfactants chimiques sont facilement produits par ces mêmes micro-organismes. Ils sont biodégradables.

L'utilisation des archaebactéries (halophiles extrêmes) en bio-industrie a ouvert la voie vers des biotechnologies futures génératrices de molécules actives et hautement stables dans des conditions extrêmes de pH, de température, de salinité. Ces molécules peuvent être utilisées dans plusieurs domaines (pétroliers, pharmaceutiques, alimentaires, agronomiques et chimiques) tels que la production de biosurfactants.

Dans notre étude, l'utilisation des eaux de gisement pour l'isolement des bactéries halophiles strictes n'est pas fortuite. Ces eaux sont un milieu naturel extrême, chargées en sel et contiennent une grande proportion d'hydrocarbures. Les souches bactériennes isolées de ce milieu y se sont adaptées.

La production des biopolymères réalisée sur ce type de milieu riche en hydrocarbures et en sels, s'est révélée positive par les bactéries isolées. Ces polymères ont montré une activité émulsifiante. L'activité émulsifiante des biopolymères produits apparaît à partir du troisième jour (la tension superficielle (δ) égale à 35,4 mN/m à 25°C). Après leur culture sur gasoil, une diminution de la tension superficielle du milieu est obtenue à partir du deuxième jour de culture (δ égale à 26,2 mN/m à 25°C). Ce résultat est original puisqu'il n'a pas été cité dans la littérature. De plus, ce produit reste stable pendant toute la durée de la culture bactérienne.

D'autre part, la chromatographie sur couche mince des biopolymères produits par nos bactéries a révèle des compositions biochimiques très variées. Selon le microganisme producteur, la révélation chimique des spots migrants a montré la présence de lipoprotéines .

Mots clés: biosurfactant, halobacteries, tension superficielle, activité émulsifiante et chromatographie.

Les surfactants chimiques sont des composés tensioactifs ou agents de surface, ont, du fait de leur structure, la propriété de s'absorber aux interfaces et donc de diminuer les tensions superficielles ou inter faciales des milieux. Ils ne sont pas de dérivés du pétrole, ils sont rapidement produits par les micro-organismes, ils sont biodégradables et plus acceptés écologiquement (1). Le surfactant microbien ou biosurfactant est produit par une variété de micro-organismes telles que les bactéries, les levures et les moisissures (2). Selon plusieurs auteurs, les biosurfactants sont des polymères de nature biochimique ayant une structure complexe. Ils sont des produits microbiens extracellulaires. Ils peuvent être excrétés dans le milieu de culture ou restent attachés la surface cellulaire (3) (4). L'intérêt de l'utilisation des bio surfactants, vient de leur propriété inter faciale qui une conséquence de leur structure moléculaire, ils sont des composés amphiphiles (ayant un pole hydrophile et un pole hydrophobe), qui leur confèrent un pouvoir émulsifiant extraordinaire (5, 6) qui permet la dispersion des particules d'hydrocarbures dans l'eau et la diminution de la tension inter faciale. La tension superficielle de l'eau pure est 72,80 mN/m à 20°C et en présence d'un biosurfactant, elle peut atteindre approximativement une valeur de 28 mN/m (1). Ainsi la partie hydrophile du biosurfactant peut être constituée de mono, oligo ou polysaccharides, aminoacides ou peptides, ou groupe carboxylate ou phosphate. Tandis que la partie hydrophile est composée d'un acide gras hydroxylé saturé ou insaturé, ou d'un alcool gras (6). Les biosurfactant présentent plusieurs avantages par rapport aux surfactants chimiques, ils sont peu toxiques (7), biodégradables (8), avec une meilleure compatibilité avec l'environnement (9), présentent un pouvoir moussant très important (10) et une activité spécifique à des températures, pH et salinité extrêmes (11), (12), ils peuvent êtres produits sur des sous produits agro-alimentaires bon marché (13). Dans les milieux de culture, les hydrocarbures sont souvent utilisés comme substrat ou source de carbone afin de stimuler la production des biosurfactants (14), l 'objectif de cette étude se consacre à la production de biosurfactant par une souche bactérienne halophile extrême, en milieu liquide, la détermination de l'index de l'émulsification et l'abaissement de la tension superficielle des biosurfactants produits sont recherchés et suivis d'une caractérisation partielle des biosurfactants produits.

MATERIEL ET METHODES

Microganisme. La souche D21 utilisée dans cette étude est isolée à partir d'une eau de gisement de pétrole de la région de Ouargla (sud d'Algérie). L'isolement a été effectué au niveau du centre de recherche et de développement de sonatrach. Selon le Bergy's manuel (15), cette bactérie appartient à la famille des Halobacteriaceae du groupe des Achea. La souche est conservée en tube incliné à 4°C est repiquée chaque mois.

Milieux de culture. Cette souche est isolée en utilisant le milieu S-G [composé en (g/l) : 250g NaCl, 2g KCl, 20g $MgSO_4 \times 7H_2O$, 10g casaminoacides, 7,5g extraits de levures, 3g citrate de sodium ; Sehgal et Gibbons, 1960. La composition des milieux de culture liquides utilisée pour la production des biosurfactants est donnée dans le tableau 1

Tableau 1. Composition des milieux de culture utilisés pour la production de biosurfactants

Composant du milieu (g/l)	M1	M2	M3
NaCl	250	250	250
KCl	2	2	2
MgSO4x 7H2O	20	20	20
Casaminoacides	10	10	10
Extraits de levures	7,5	7,5	7,5
Citrate de sodium	3	3	3
Gasoil (%, vol/vol)	0	0,2	0
Pétrole brut (%,vol/vol)	0	0	0,2

Conditions de culture. Après revivification de la souche D21 en milieu solide, elle est ensemencée dans un erlenmeyer de 100 mL contenant 10 mL du milieu de culture liquide, l'incubation de la préculture se fait à 40°C, pendant 3 jours, sous une agitation de 150 rpm, la préculture obtenue sert d'inoculum d'une culture en erlenmeyer de 500 mL, remplit au dixième de milieu liquide, l'incubation de la préculture se fait à 40°C, pendant 10 jours, sous une agitation de 150 rpm.

Test d'émulsification. Le test consiste à mélanger dans un tube à essai, 4 ml d'eau distillée avec 6 ml de kérosène (ou autre liquide immiscible à l'eau). Le mélange est

agité à l'aide d'un vortex, après une heure, la proportion de la phase kérosène émulsifiée est comparée au volume total de kérosène ajouté. La production des biosurfactants par la souche D21 est recherchée en mélangeant 2 mL du moût de fermentation avec 2 mL d'eau distillée et 6 ml de kérosène, le même test en tant que témoin est refait avec la même quantité de milieu de culture non inoculé. L'index d'émusification est calculé par le rapport de la hauteur de l'émulsion formée sur la hauteur totale multipliée par 100 (16).

Mesure de la tension de surface. La tension de surface est mesurée à 25 ° C par un tensiomètre (modèle 21 ; FisherScientific ¨Pittsburg, Pa.), le moût de fermentation est séparé des hydrocarbures ajoutés, la présence de ces derniers affecterait la lecture(16)

Extraction des biosurfactants. Les biosurfactants sont récupérés du moût de fermentation par la technique modifiée utilisée par Horowitz et *al.* (17) (18), le moût de fermentation est séparé des hydrocarbures ajoutés. Les cellules sont séparées du moût de fermentation par centrifugation (6300 rpm, 10°C, 15 min). Le surnageant (2 mL est acidifié à pH 2 par l'ajout du HCl concentré), le précipité formé à 4 °C et récupéré après centrifugation (6300 rpm, 4°C, 20 min) avec ajout de 1mL d'eau acidulée (HCl, pH 2). Les biosurfactants sont récupérés avec un mélange de chloroforme-methanol 2 :1 (2-3 mL). La phase organique est concentrée est analysée par chromatographie sur couche mince.

Chromatographie sur couche mince. La chromatographie unidimensionnelle (TLC) est utilisée avec du silicagel (Si 60 F_{254}, 0,2 mm, Merck). Le concentré est dissout dans du chloroforme ensuite spoté sur une plaque de gel de silice de format (20 x 20 cm) par petites fractions, à l'aide d'une seringue, puis séchés sous courant d'air froid. Le système solvant éluant est composé de chloroforme-methanol-acide acétique avec des proportions variables. Les spots sont visualisés après la pulvérisation de réactifs de révélation. :(acide sulfurique-methanol, 5:85) suivi d'un chauffage à 125°C, la ninhydrine et la vapeur d'iode sont également utilisées pour la détection des spots.

RESULTATS ET DISCUSSION

Description de la souche. les cellules sont pigmentées, pléomorphiques, les bâtonnets mesurent 0,5-1,5 x 2-8 µm, les cocci mesurent 1,25-2 µm de diamètre, les cellules sont G^- et immobiles, la température optimale de croissance est de 4O °C, cette bactérie peut croître en milieu saturé en sel, l'optimum de croissance est compris entrè [3,5 - 4M] de NaCl, le pH optimum de croissance est compris entre pH 9-11

Propriétés émulsifiantes et index d'émulsion. Ce test préliminaire nous renseigne sur l'aptitude d'un microganisme à produire des émulsifiants, il est à la fois qualitatif et quantitatif, la phase du milieu et une phase d'émulsion dont la hauteur diffère d'un milieu à un autre. Des résultats positifs ont été obtenus dans tous les cas étudiés. De nombreux chercheurs ont observé que lors de la fermentation, l'émulsion de l'hydrocarbure dans l'eau est liée à la présence de biosurfactants produits par les cellules bactériennes dans le moût (11, 14).

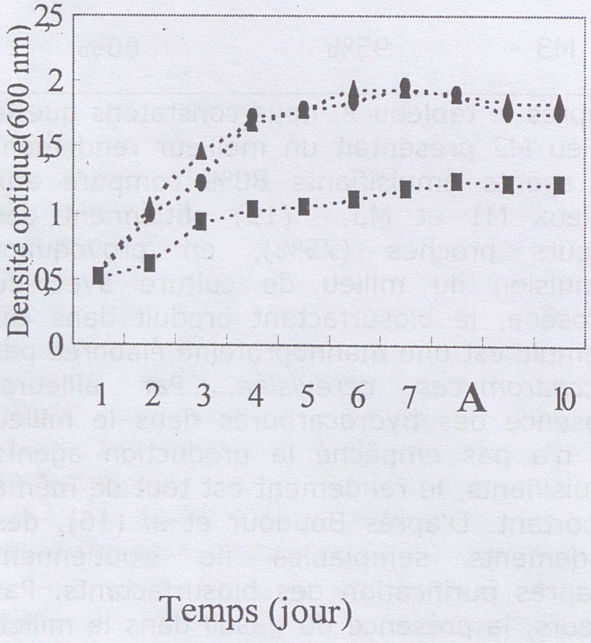
Tableau 2 : Rendement du test d'émulsification

Milieu	% de kérosène dans la phase émulsifiée	%kérosène de la phase émulsifiée
M1	97%	76%
M2	98%	80%
M3	95%	60%

D'après le tableau 2, nous constatons que le milieu M2 présentait un meilleur rendement en agents émulsifiants 80% comparé aux milieux M1 et M3. (19) obtiennent des valeurs proches (75%), en provoquant l'émulsion du milieu de culture avec du kérosène, le biosurfactant produit dans cet exemple est une mannoproteine élaborée par *Saccharomyces cerevisiae*. Par ailleurs, l'absence des hydrocarbures dans le milieu M1 n'a pas empêché la production agents émulsifiants, le rendement est tout de même important. D'après Boudour et *al* (16), des rendements semblables ne s'obtiennent qu'après purification des biosurfactants. Par ailleurs, la présence du gasoil dans le milieu M2 a probablement favorisé la production des biosurfactants. La croissance des microorganismes sur des hydrocarbures stimule la production des biosurfactants extracellulaires. (5, 21). Dans certains travaux, il a été signalé que les halobactéries produisaient des exopolysaccharides (EPS)

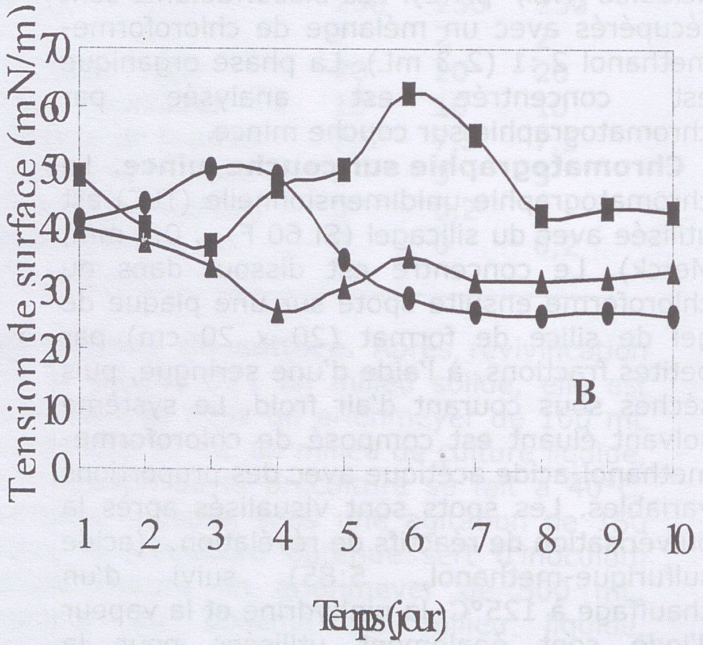
qui ont d'excellentes propriétés rhéologiques et résistent aux températures, salinités et pH extrêmes. Ces métabolites sont utilisés en tant qu'agents émulsifiants et surfactants et ont une large application dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (17, 22). Par ailleurs, il faut noter que les biosurfactants produits sont parfois instables à l'effet du sel, par exemple, la concentration de sel rendant instable les mannoproteines élaborées par *Saccharomyces cerevisiae* est de 5% (19). Un nouveau biosurfactant de nature lipopetidique est produit par une espèce halotolérante de *Bacillus licheniformis*, cette espèce ne peut supporter qu'une concentration de 13% NaCl (23). Par contre, les biosurfactants produits par la bactérie halophile D21 ont été obtenus dans des conditions de salinité très élevées (saturation), ce qui leurs confère une importance majeure dans les applications industrielles agro-alimentaires et dans la récupération du pétrole.

Mesure de tension superficielle. Le suivi de l'évolution de tension de surface au cours des différentes fermentations réalisées en présence des différents milieux M1, M2 et M3 (Fig.1A), nous a permis de noter que la valeur de la tension de surface à temps t_0, est variable d'un milieu à un autre(Fig.1B),



légère augmentation de la tension superficielle à partir du cinquième jour jusqu'à la fin de fermentation. De nombreux chercheurs ont observé que lors de la fermentation, l'émulsion de l'hydrocarbure

elle varie de 40 mN/m à 49 mN/m (milieu M3 additionné de pétrole brut).
D'après Kretschmer et *al* (24), la présence des électrolytes et des sels dissous augmenterait d'une manière proportionnelle les valeurs de tension de surface dans les milieux aqueux, ce qui explique cette variation, les inocula des précultures utilisés pour l'ensemencement présentaient probablement des concentrations en sels (NaCl) dissous variables. La réduction de la tension de surface est due à la force d'adsorption du biosurfactant à l'interface air-liquide. De plus, les biosurfactants ont une structure moléculaire particulière (pôle hydrophile et lipophile), qui leur confèrent un pouvoir émulsifiant important (22, 25). En absence d'hydrocarbure (milieu M1), la tension de surface passe de 40,3 à 26,2 mN/m dés le troisième jour, ensuite augmente en fin de fermentation. Par contre, en présence du gasoil (M2), la tension de surface diminue au cours de la fermentation jusqu'à atteindre une valeur de 26,1 mN/m le cinquième jour, cette dernière reste stable et constante jusqu'à la fin de fermentation, ce résultat reste élevé en comparaison aux valeurs de tension de surface obtenues par la culture de *Flavobacterium sp.* Strain MTN11 dont γ est egale à 40,7 (16). Concernant le milieu M3, on remarque une



dans l'eau est liée à la présence de biosurfactant produit par les cellules bactériennes dans le moût (16,26). Certains paramètres peuvent influer sur les propriétés du biosurfactant. Selon BANAT et *al* (1997),

la solubilisation des biosurfactants dans l'eau ou dans les hydrocarbures dépend du nombre de liaison C -C présentes dans la partie lipophile de la molécule du biosurfactant. De plus, La croissance sur hydrocarbure peut influencer non seulement la production de biosurfactants, mais aussi la nature du biosurfactant de la surface cellulaire. De plus, des conséquences métaboliques de la croissance sur hydrocarbures sont aussi observées. En effet le biosurfactant microbien offre un avantage de survie en émulsifiant le substrat hydrocarboné et en augmentant la surface interfaciale entre le micro-organisme et le substrat. Ceci ne signifie pas que le biosurfactant est produit seulement dans le but d'émulsifier le substrat. Dans la plus part des cas, ils sont les produits normaux intermédiaires au finaux du métabolisme microbien.

Chromatographie analytique sur couche mince. Après la révélation des lipides polaires, nous avons utilisé un solvant de migration composé de chloroforme-methanol-acide acétique (80:18:2.vol/vol) considéré comme solvant éluant polaire, car les volumes du méthanol et d'acide acétique utilisés sont importants Les résultats des valeurs de R_f sont donnés dans le tableau 3. De taches visibles pour les extraits spotés, ce qui confirme la production de substances extracellulaires de nature lipidique à affinité polaire, il peut s'agir de glycolipides, lipoprotéines ou de phospholipides. Ces derniers forment les lipides membranaires et sont produits généralement chez tous les micro-organismes. Cependant il y a peu d'exemples significatifs de production extracellulaire (26, 27).

Tableau. 3 : Valeurs de Rf obtenues après révélation des lipides polaires

	Système éluant
Révélateur	Chloroforme methanol-acide acétique (80:18:2. vol/vol)
Vapeur d'iode	
	Valeur du R_f
	0,62

Selon les auteurs, la composition et le type de phospholipide produit par les différentes espèces de bactéries, levures et fungi, dépendent de la source de carbone utilisée et des conditions de culture de croissance, à savoir la valeur de pH de croissance (1, 2). Quant à la révélation des lipides apolaires, nous avons varié la proportion des liquides éluants chloroforme-methanol-acide acétique (97:2:1. vol /vol), après observation des chromatographes, aucune tache n'a été décelée après migration. Selon les auteurs, les acides gras et les lipides neutres (mono et diglycérides) sont retrouvés chez les micro-organismes et sont souvent des produits extracellulaires (26, 28)Les acides gras se divisent en quatre groupes (acides gras à chaîne droite ou ramifiée; acides gras insaturés; acides gras formés d'un cycolopropane). La nature des biosurfactants produits dépend de la nature de la source de carbone utilisé dans le milieu de culture (22, 29, 30, 31). Par ailleurs, la pulvérisation des plaques pour la révélation des glucides n'a montré aucune tache visible à l'œil nu, dans ce cas le biopolymére produit ne continent pas de glucides. Par contre la révélation des protéines s'est montrée positive (R_f 0,82). Les taches obtenues de couleur mauve, nous indiquent bien qu'il y'ait présence de protéines, d'acides aminés ou de peptides. Les molécules peptidiques révélées ont un R_f important, ce qui implique un poids moléculaire faible, il s'agir probablement de peptides polaires. Par ailleurs, on peut supposer qu'il s'agit d'un lipopeptide Chez à la bactérie D21, la révélation des glucides s'est montrée négative, le biopolymére produit peut être composé soit d'un phospholipide, d'un lipide neutre ou acides gras ou bien d'un lipoprotéine, la production d'un mélange varié n'est pas à exclure.

Il est couramment connu que la plus part des biosurfactants sont produits par des microganismes sont de nature biochimique très variée. La majorité des biosurfactants sont des glycolipides , ils incluent les rhamnolipides, les trehaloses lipides, and les sophoroses lipides. Les rhamnolipides sont produits uniquement par *P. aeruginosa* (32, 33); les trehaloses lipides sont produits seulement par un nombre restreints de genres apparentés telques, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Tsukamurella*, *Gordonia*, *Mycobacterium*, and *Arthrobacter*, appartenant tous à la division des *Firmicutes* (34 35, 36, 37); les sophoroses lipides sont produits par quelques espèces du genre *Candida* (16). Un nouveau glycolipides appelé mannosylerthritol lipide est produit les genres

Candida and *Ustilago maydis* (16). La seconde classe des biosurfactants qui comprends les lipoprotéines, constituée de surfactine, iturine, fengycine et la lichenysine, produits uniquement par *Bacillus* sp. (16). D'autres genres produisant les lipoprotéines incluant *Actinoplanes*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* et *Serratia* (16). La production des biosurfactants polymériques est retrouvée chez certaines espèces appartenant aux *Eubacteria*, *Eucaryotes et Archaea* constitué des genres *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Candida*, *Halomonas*, *Methanobacterium*, *Phormidium*, *Pseudomonas*, *Saccharomyces*, and *Sulfolobus* (16).
D'autres travaux en cour d'études sont et seront menés sur la nature des métabolites produits par la souche D21. Une purification complète du biosurfactant est nécessaire pour déterminer la concentration micellaire critique (CMC), ainsi qu'une caractérisation détaillée. En effet, les perspectives de cette étude montreraient qu'ils pourraient s'agir de biomolécules différentes de celles déjà connues.

REFERENCES

1. **Atlas, R. M.** 1991. Microbial hydrocarbon degradation—bioremediation of oil spills. J. Chem. Technol. Biotechnol. **52:**149–156.
2. **Desai, D. et I.M. Banat.** 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. Microbiology and Molecular Biology Reviews Vol. **61**, 47–64.
3. **Bodour, A. A., et R. M. Maier.** 2002. Biosurfactants: types, screening methods, and applications, p. 750–770. *In* G. Bitton (ed.), Encyclopedia of environmental microbiology. John Wiley and Sons, New York, N.Y.
4. **Abu-Ruwaida, A. S., I. M. Banat, S. Haditirto, et A. Khamis.** 1991 Nutritional requirements and growth characteristics of a biosurfactant producing *Rhodococcus bacterium*. World J. Microbiol. Biotechnol. **7:**53–61.
5. **Maier, R. M.** 2003. Biosurfactants: evolution and diversity. Adv. Appl. Microbiol.**52:**101–121.
6. **Banat, I. M.** 1995. Characterization of biosurfactants and their use in pollution removal—state of the art. Acta Biotechnol. **15:**251–267.
7 **Van Dyke, M. I., S. L. Gulley, H. Lee, et J. T. Trevors**. 1993. Evaluation of microbial surfactants for recovery of hydrophobic pollutants from soil. J. Ind. Microbiol. **11:**163–170.
8. **Zajic, J. E., H. Gignard, et D. F. Gerson**. 1977. Properties and biodegradation of a bioemulsifier from *Corynebacterium hydrocarboclastus*. Biotechnol. Bioeng. **19**:1303–1320.
9. **Georgiou, G., S. C. Lin, et M. M. Sharma.** 1990. Surface active compounds from microorganisms. Bio/Technology **10**:60–65.
10. **Razafindralambo, H., M. Paquot, A. Baniel, Y. Popineau, C. Hbid, P. Jacques, et P. Thonart**. 1996. Foaming properties of surfactin, a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus subtilis*. J. Am. Oil Chem. Soc. **73**:149–151. 48:325–336..
11 **. Kretschmer, A., H. Bock, and F. Wagner**. 1982. Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on *n*-alkane. Appl. Environ. Microbiol. **44**:864–870.
12 **. Velikonja, J., et N. Kosaric**. 1993. Biosurfactant in food applications, p 19–446. *In* N. Kosaric (ed.), Biosurfactants: production, properties, applications. Appl. Biochem. **23**:13–18.
13. **Desai, J. D. 1987**. Microbial surfactants: evaluation, types and future applications. J. Sci. Ind. Res. **46**:440–449. Production of a Peptidoglycolipid Bioemulsifier by *Pseudomonas aeruginosa*
14. **Ilori ., M. et D. ,Amund** .2001.Production of a Peptidoglycolipid Bioemulsifier by *Pseudomonas aeruginosa* Grown on Hydrocarbon Z. Naturforsch. **56**c, 547-552p
15. **Grant .WD.,** 2001. The archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria ; in Bergy's Manual of systematic bacteriology ; 2 ème edition . vol. 1 .
16 **Bodour,A.A, Guerrero-Barajas C. , Jiorle,B.V., Malcomson,M.E., Arpad Somogyi,A.K., Trinh,L.N., Bates,R.B. et R.M. Maier.** 2004. Structure and Characterization of Flavolipids, a Novel Class of Biosurfactants Produced by *Flavobacterium* sp. Strain MTN11, American Applied and Environmental Microbiology, **70.**. 114–120 .
17. **Horowitz, S ; Gibert,J.N. et Griffin,W.M.**1990 Isolation and characterization of surfactant produced by *Bacillus licheniformis* 86. J Ind. Microbiol. **6 :**243-248,
18. **Horowitz, S. et Griffin,W.M.** 1991. Structural analysis of *Bacillus licheniformis* 86 surfactant. J. Ind. Microbiol.,**7**: 45 – 52.
19. **Cameron, D. R., D. G. Cooper, et R. J. Neufeld.** 1988. The mannoprotein of

Saccharomyces cerevisiae is an effective bioemulsifier. Appl. Environ. Microbiol. **54:**1420–1425.

21. **Herman, D. C., R. J. Lenhard, et R. M. Miller.** 1997. Formation and removal of hydrocarbon residual in porous media: effects of bacterial biomass and biosurfactants. Environ. Sci. Technol. **31:**1290–1294.

22. **Al-Tahhan, R., T. R. Sandrin, A. A. Bodour, et R. M. Maier.** 2000. Rhamnolipid-induced removal of lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa*: effect on cell surface properties and interaction with hydrophobic substrates. Appl. Environ. Microbiol. **66:**3262–3268.

23. **Yakimov, M. M., K. N. Timmis, V. Wray, et H. L. Fredrickson.** 1995 Characterization of a new lipopeptide surfactant produced by thermotolerant and halotolerant subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50. Appl. Environ Microbiol. **61:**1706–1713.

24 . **Kretschmer, A., H. Bock, et F. Wagner.** 1982. Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on *n*-alkane. Appl. Environ. Microbiol. **44**:864–870.

25. **Lang, S., et F. Wagner.** 1993. Bioconversion of oils and sugars to glycolipids, p. 205–227. *In* N. Kosaric (ed.), Biosurfactants: production, properties, applications. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.

26. **Kim,S.-Y., Oh,D.-K.,Lee,H. et Kim,J.H.**. 1997. Effect of soybean oil and glucose on sophorose lipid fermentation by *Toulposis bombicola* in continuous culture. Applied Microbiology and Biothechnology, **48** 23-26

27. **Li, Z. Y., S. Lang, F. Wagner, L. Witte, et V. Wray.** 1984. Formation and identification of interfacial-active glycolipids from resting microbial cells of *Arthrobacter* sp. and potential use in tertiary oil recovery. Appl. Environ Microbiol. **48:**610–617

28. **MacElwee, C. G., H. Lee, et J. T. Trevors.** 1990. Production of extracellular emulsifying agent by *Pseudomonas aeruginosa* UG-1. J. Ind. Microbiol **5:**25–52.

29. **Herman, D. C., Y. Zhang, et R. M. Miller.** 1997. Rhamnolipid (biosurfactant) effects on cell aggregation and biodegradation of residual hexadecane under saturated flow conditions. Appl. Environ. Microbiol. **63:**3622–3627.

30. **Jenny, K., O. Ka¨ppeli, et A. Fiechter.** 1991. Biosurfactants from *Bacillus licheniformis*: structural analysis and characterization. Appl. Microbiol. Biotechnol. **36:**5–13.

31. **Richter, M., J. M. Willey, R. Sussmuth, G. Jung, et H.-P. Fiedler.** 1998. Streptofactin, a novel biosurfactant with aerial mycelium inducing activity from *Streptomyces tendae* Tu 901/8c. FEMS Microbiol. Lett. **163:**165–171.

32. **Martell, A. E., et R. M. Smith.** 1977. Critical stability constants, vol. 3. Other organic ligands. Plenum Press, New York, N.Y.

33. **Maurer, P. J., et M. J. Miller.** 1982. Microbial iron chelators—total synthesis of aerobactin and its constituent amino acid, *N*6-acetyl-*N*6-hydroxylysine. J. Am. Chem. Soc. **104:**3096–3101.

34. **Bax, A., et M. F. Summers.** 1986. H-1 and C-13 assignments from sensitivity-enhanced detection of heteronuclear multiple-bond connectivity by 2D multiple quantum NMR. J. Am. Chem. Soc. **108:**2093–2094.

35. **Deleu, M., H. Razafindralambo, Y. Popineau, P. Jacques, P. Thonart, et M. Paquot.** 1999. Interfacial and emulsifying properties of lipopeptides from *Bacillus subtilis*. Coll. Surf. **152:**3–10.

36. **Martell, A. E., et R. M. Smith.** 1982. Critical stability constants, vol. 5. Other organic ligands. Plenum Press, New York, N.Y.

37. **Rapp, P., H. Bock, V. Wray, et F. Wagner.** 1979. Formation, isolation and characterization of trehalose dimycolates from *Rhodococcus erythropolis* grown on *n*-alkanes. J. Gen. Microbiol. **115:**491–503.