

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1

Faculté des Sciences de la

Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1

كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N° :/SNV/2025

Mémoire

Présenté par :

NEKAZ Rahil

ZIEM Amel

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

**Thème : Dégradation des hydrocarbures par les
biosurfactants bactériens : une approche durable
pour la dépollution pétrolière**

Soutenu publiquement le 02/07/2025

Devant le jury

Mr SILINI Allaoua

Mme CHERIF-SILINI Hafsa

Mlle SAADAOUI Nora

Mr BOUCHARB Samir

Pr. UFA Sétif 1

Pr. UFA Sétif 1

Dr. UFA Sétif 1

MRB URFA-CRT

Président

Promotrice

Co-Promotrice

Examineur

Laboratoire de Microbiologie Appliquée

2024 / 2025

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier **Allah** le tout puissant, sans la grâce duquel ce travail n'aurait pu être achevé.

En second lieu, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé du près ou de loin à la réalisation de ce travail, et plus particulièrement à :

Pr CHERIF-SELINI Hafsa

Professeure en Microbiologie à université Ferhat Abbas Sétif 1 et notre directrice de recherche, pour sa patience, ses précieux conseils, son soutien indéfectible, sa disponibilité et sa confiance en nous. Sa rigueur scientifique et sa passion pour la recherche nous ont beaucoup inspirée.

Pr SILINI Allaoua

Professeur en Microbiologie à université Ferhat Abbas Sétif 1 et notre président de jury, pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant la soutenance de notre mémoire, pour ses judicieux conseils et pour ces remarques constructives.

Dr SAADAoui Nora

Docteur en Microbiologie à université Ferhat Abbas Sétif 1 et notre co-promotrice de jury, pour avoir été toujours là pour nous guider, pour ses idées et ses encouragements, ses précieux conseils et surtout son soutien indéfectible.

Dr BOUCHAREB Samir

Docteur en Chimie à université Ferhat Abbas Sétif 1 et notre examinateur de ce travail, pour son aide précieux, ses informations et ses conseils judicieux.

Mme HAMOUDI Souraya et Mr BEDARI Sofiane

Pour leur aide et conseils.

Dédicaces

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah et à dire Alhamdoulillah.

Je dédie ce mémoire qui est le fruit de 18 années d'étude et de diligence avec tout mon amour à :

Moi-même

❖ Rahil, je dis félicitation et je suis très fière de moi.

Mes chers parents, abati LYAZID et omi FARIDA

❖ À vous qui avez été mes premiers guides dans cette vie, mes piliers de force et mes sources d'inspiration, à vous qui m'avez donné vos rêves avant les miens, et qui avez tracé le chemin de mes ambitions, pour tous les sacrifices silencieux que vous avez faits, pour chaque nuit blanche passée à veiller sur moi, pour vos mains tendues dans mes moments de doute, et votre foi inébranlable en ce que je pouvais devenir. Vous m'avez appris que l'amour ne se mesure pas en mots, mais en gestes quotidiens, en présence constante, en cette chaleur du foyer que vous avez créé, et en ces valeurs précieuses que vous m'avez transmises.

❖ Aujourd'hui, chaque pas que je fais porte votre empreinte, chaque réussite reflète votre dévouement, car je suis le fruit de votre amour patient, le reflet de votre générosité et de votre sagesse, que dieu vous garde pour nous.

Mes complices de vie, mes deux frères ABDERRAHIM et ABDELMOUNIM

❖ Vous êtes mes confidents naturels, ceux qui me connaissent sans masque, qui ont vu mes forces et mes faiblesses et qui m'acceptent tel que je suis. Mes trésors précieux, car la vie m'a fait le plus beau cadeau : Celui d'avoir deux frères comme vous, je vous aime.

Ma fierté, ma sœur RADWA

❖ À toi, ma seule et unique sœur, tu es l'une des plus belles choses de ma vie, une source de bonheur infinie. Depuis ton arrivée dans notre famille, tu as illuminé chaque journée, avec tes rires cristallins d'enfant et ta façon unique de comprendre le monde. Je t'aime.

Toutes les personnes chères à mon cœur, mes enseignants, l'équipe de laboratoire et mes jolies bactéries.

RAHIL

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail et exprime ma profonde gratitude :

- ❖ Avant tout à Allah le Tout-Puissant, à qui je rends grâce et louanges pour sa miséricorde infinie, sa guidance et la force qu'Il m'a accordée tout au long de ce parcours.
- ❖ Ce succès est le fruit de votre amour et de votre soutien inconditionnel. À mes chers parents, mon père Azzedine et ma mère Dalila, pour vos sacrifices, votre confiance inébranlable et votre présence constante, merci du fond du cœur.
- ❖ À mes chères tantes Souad et Habiba, qui m'ont élevée et éduquée avec la même tendresse et dévotion qu'une mère. Votre amour, vos encouragements et votre présence bienveillante ont été un pilier fondamental dans ma vie et m'ont soutenue à chaque étape. Merci pour tout.
- ❖ À mes chères sœurs Amani, Yasmine et Sanaa, les mots suffisent à peine pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que j'ai pour vous. Mes anges gardiens et fidèles compagnons dans les moments les plus sensibles de cette vie mystérieuse.
- ❖ À mes grands-parents, pour leur tendresse et leurs prières, je leur souhaite une santé florissante et une longue vie remplie de joie.
- ❖ À mes tantes, mes oncles et mes cousins, votre affection et votre soutien ont toujours été précieux.
- ❖ Je remercie sincèrement l'ensemble de mes enseignants qui ont jalonné mon parcours académique, pour leur savoir, leur patience et leur dévouement.
- ❖ À ma binôme Rahil, avec qui j'ai partagé ce voyage académique.
- ❖ À toutes mes amies et mes proches, pour votre présence, vos encouragements et vos précieux moments partagés.
- ❖ Enfin, à mes amies de laboratoire, celles qui sont les plus chères à mon cœur, les plus gentilles, les plus sincères et les plus fidèles : Hanine, Amillia, Hadil, Nada, Aya, Rahil, Zineb, Dahabia et Imane. Merci pour les rires, le soutien mutuel et les souvenirs inoubliables. Votre amitié est un trésor.

Amal

Table de matières

المخلص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	1
1. Revue bibliographique	3
1.1. Les biosurfactants	3
1.1.1. Définition.....	3
1.1.3. Classification des biosurfactants	7
1.1.4. Organismes producteurs des biosurfactants	13
1.1.5. Biosynthèse des biosurfactants	15
1.1.6. Avantages et inconvénients des biosurfactants	16
1.1.7. Facteurs influençant la production des biosurfactants.....	18
1.1.8. Application des biosurfactant	20
1.2. Les hydrocarbures.....	22
1.2.1. Définition.....	22
1.2.2. Classification	22
1.2.3. Origine des hydrocarbures.....	27
1.2.4. Impact de la pollution par les hydrocarbures	28
1.2.5. Devenir des hydrocarbures dans l'environnement	28
1.2.6. Traitements abiotiques des hydrocarbures	29
1.2.7. Biodégradation des hydrocarbures par les micro-organismes	31
1.2.8. Avancées dans la bioremédiation	36
2. Matériel et méthodes	37
2.1. Matériel biologique	37

2.2. Criblage des souches bactériennes productrices de biosurfactants	37
2.2.1. Production de biosurfactant sur milieu solide	37
2.2.2 Production de biosurfactant sur milieu liquide.....	39
2.2.3. Criblage secondaire	40
2.3. Evaluation de la production de biosurfactants lors de la dégradation de différents substrats	41
2.3.1. Test de l'indice d'émulsification	43
2.3.2. Test de dispersion d'huile	44
2.4. Application	44
2.4.1. Test de biodégradation du pétrole	44
2.4.2. Test de phytotoxicité	44
2.5. Analyse statistique	44
3. Résultats et discussion	45
3.1. Résultats	45
3.1.1. Criblage primaire des souches bactériennes productrices du biosurfactants.....	45
3.1.2. Criblage secondaire	52
3.1.3. Évaluation de l'activité métabolique des souches D7 et MN6 sur différents substrats...	54
3.1.4. Application	61
3.2. Discussion.....	63
4. Conclusion et perspectives.....	70
Références bibliographiques.....	74
Annexes	

المخلص

يهدف هذا العمل إلى تقييم إمكانية إنتاج المواد الخافضة للتوتر السطحي في السلالات البكتيرية لتطبيقها في التحلل الحيوي للمركبات الكارهة للماء. تم إخضاع ما مجموعه 45 عزلة، تنتمي إلى أجناس *Bacillus* و *Pseudomonas*، من التربة القاحلة، للفحص المظهري من أجل تقييم أنشطتها الانحلالية والتحلل الدهني والبيتيد الدهني. تم إجراء اختبارات وظيفية تكميلية لقياس مؤشر الاستحلاب (E24%) ، وقدرة تشتت الزيت، وكذلك النشاط الأيضي في وجود ركائز مختلفة كارهة للماء. ومن بين السلالات التي تم اختبارها، *Bacillus subtilis* D7 و *Acinetobacter* sp. وقد ثبت أن MN6 هو الأكثر كفاءة وتم اختياره لاختبارات التحلل البيولوجي للنفط الخام وتقييم السمية النباتية لمنتجات التحلل. أظهرت هاتان السلالتان نشاطاً أيضاً عالياً وزيادة في قدرة تشتيت الزيت وانخفاضاً واضحاً في مرحلة الزيت. وأظهرت اختبارات السمية النباتية انخفاضاً كبيراً في سمية الزيت المتحلل، على الرغم من ملاحظة تأثير متبقي على نمو الجذور والأوراق للشجيرات. تشير هذه النتائج إلى أن السلالات التي تمت دراستها، وخاصة MN6 ، لديها إمكانات قوية للتطبيقات في المعالجة الحيوية للهيدروكربونات والتثمين الزراعي المستدام .

الكلمات المفتاحية: المواد الخافضة للتوتر السطحي، *Bacillus subtilis*، *Acinetobacter* sp.، المعالجة الحيوية، المركبات الكارهة للماء، تحلل البترول.

Résumé

Ce travail vise à évaluer le potentiel de production de biosurfactants chez des souches bactériennes en vue de leur application dans la biodégradation de composés hydrophobes. Un total de 45 isolats, appartenant aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas*, issus de sols arides, ont été soumis à un criblage phénotypique afin d'évaluer leurs activités hémolytiques, lipolytiques et lipopeptidiques. Des tests fonctionnels complémentaires ont été réalisés pour mesurer l'indice d'émulsification (E24 %), la capacité de dispersion d'huile, ainsi que l'activité métabolique en présence de divers substrats hydrophobes. Parmi les souches testées, *Bacillus subtilis* D7 et *Acinetobacter* sp. MN6 se sont révélées les plus performantes et ont été sélectionnées pour des essais de biodégradation du pétrole brut et d'évaluation de la phytotoxicité des produits de dégradation. Ces deux souches ont montré une activité métabolique élevée, une capacité accrue de dispersion du pétrole et une réduction visible de la phase pétrolière. Les tests de phytotoxicité ont mis en évidence une diminution significative de la toxicité du pétrole dégradé, bien qu'un effet résiduel sur la croissance racinaire et foliaire des plantules ait été observé. Ces résultats suggèrent que les souches étudiées, en particulier MN6, présentent un fort potentiel pour des applications en bioremédiation des hydrocarbures et en valorisation agricole durable.

Mots-clés : Biosurfactants, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter* sp., Bioremédiation, Composés hydrophobes, Dégradation du pétrole.

Abstract

This work aims to evaluate the potential of production of biosurfactants in bacterial strains for their application in the biodegradation of hydrophobic compounds. A total of 45 isolates, belonging to the genera *Bacillus* and *Pseudomonas*, from arid soils, were subjected to phenotypic screening in order to evaluate their hemolytic, lipolytic and lipopeptide activities. Complementary functional tests were performed to measure the emulsification index (E24%), oil dispersion capacity, as well as metabolic activity in the presence of various hydrophobic substrates. Among the strains tested, *Bacillus subtilis* D7 and *Acinetobacter* sp. MN6 proved to be the most efficient and were selected for crude oil biodegradation tests and evaluation of phytotoxicity of degradation products. These two strains showed high metabolic activity, increased oil dispersal capacity and a visible reduction in the oil phase. Phytotoxicity tests showed a significant decrease in the toxicity of degraded oil, although a residual effect on root and leaf growth of seedlings was observed. These results suggest that the strains studied, in particular MN6, have a strong potential for applications in bioremediation of hydrocarbons and sustainable agricultural valorization.

Keywords : Biosurfactants, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter* sp., Bioremediation, Hydrophobic compounds, Petroleum degradation.