

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire  
En vue de l'obtention du diplôme de Master  
Domaine : Science de la nature et de la vie  
Filière : Microbiologie  
Spécialité : Biologie Moléculaires des Microorganismes

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Revue bibliographique sur les Rhamnolipides synthétisés par  
*Pseudomonas aeruginosa***

---

Présenté par : BOUCHELAGHEME Hadil

Le 22 / 06/2022

HIMER Imane

ARRAR Hidaya

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** M<sup>me</sup> GUERGOURI I. (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** M<sup>me</sup> BOUCHELOUKH W. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** M<sup>me</sup> BOUZERAIB L. (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire  
2021 - 2022**

# **REMERCIEMENTS**

*Nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donnée la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude et remercier madame **GUERGOURII**. Maître-assistant à l'université des Frères Mentouri Constantine 1 pour avoir*

*Accepté d'encadrer notre travail, pour ses conseils, et son aide ainsi que pour sa gentillesse et sa disponibilité, et confiance tout au long du chemin pour que ce travail puisse voir le jour,*

*Nos sincères considérations et nos vifs remerciements vont également aux membres du jury : M<sup>me</sup> **BOUCHLOUKH W.** Maître de conférences et M<sup>me</sup> **BOUZERAIB L.** Maître-assistant à l'université des Frères Mentouri Constantine 1 qui ont bien voulu honorer ce modeste travail en tant que membres examinateurs.*

*Nous remercions le chef de Département de microbiologie M<sup>elle</sup> **ABDELAZIZO**. Ainsi que tous les enseignants qui nous ont enseigné durant le cursus universitaire, particulièrement ceux de la spécialité BMM et tout le personnel de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université des Frères Mentouri Constantine 1.*

*Ces remerciements ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# **DEDICACES**

*Avec un énorme plaisir, On dédie ce modeste travail à nos très chers parents, source de tendresse, de noblesse et d'amour, aux personnes les plus chères et la plus douces avec lesquelles on a vécu les beaux moments de nos vies, nos mères qui nous ont appris la confiance en soi,*

*A nos chers papas, MEKHLOUF, MOSSBAH et ZOHIR, aucune dédicace ne saurait exprimer notre respect, notre amour et notre considération pour tous les efforts que vous avez consenti pour notre instruction et notre bien être*

*Une dédicace sincère à nous IMANE, HADIL et HIDAYA pour nos efforts afin de suivre nos ambitions et atteindre nos objectifs avec souhaits de bonté et brillance à l'avenir*

*Nous dédions ceci particulièrement à tous nos frères et sœurs, oncles et tantes, cousines et cousins et toute la famille BOUHELAGHEME, HIMER et ARRAR, pour leurs soutien moral, et leurs sacrifices le long de notre formation.*

*On ne saura terminer sans citer nos très chères amies : NOUSSA, DOUNIA, MAROUA, INESS, DALEL, RAYANE, ANFEL, DJEHAINA, AYA, SOUNDOUS, BARAA, HAYEM, CHAHINEZ, KHAOULA, LINA, NESSRINE, IKRAM, AMANI, WAFIA, SORAYA, SAMAH, NASSIMA, MANEL, MERIEME, AMIRA, ROUMAÏSSA, ASMA, RANDA en souvenir de notre profonde amitié et des moments agréables que nous avons passée ensemble.*

*Nos dédicaces vont aussi à tous les professeures du primaire les plus douces M<sup>mes</sup> W. MAROUANIE, M. SEGHIR et K. SAIDI qui nous ont suivis à notre jeune âge.*

*Enfin nous le dédions à toutes les promotions de l'SNV de 2017 et toute personne qu'on n'a pas cités et à tous ceux qui nous  
Connaissent.*

*A tous ceux qu'on aime*

## Résumé

Les nouvelles recherches s'orientent vers l'étude de molécules d'origine microbienne entre autres celles présentant une activité de surface (Biosurfactants) qui attirent de plus en plus l'attention par rapport aux tensioactifs chimiques. Notre travail est une recherche bibliographique sur l'un des principaux types de biosurfactants qui sont les rhamnolipides, contenant du rhamnose comme fragment sucré lié aux chaînes d'acides gras hydroxylés. Ils ont des applications variées dans de nombreuses industries notamment pharmaceutique, alimentaire, cosmétique, agricole, pétrolière et ne représentant à l'heure actuelle qu'une faible part du marché global des surfactants. *Pseudomonas aeruginosa* est le producteur le plus compétent de rhamnolipides. La production à l'échelle industrielle par des souches de *P. aeruginosa* isolées de différents endroits nécessite une optimisation des conditions de fermentation et une amélioration des souches par diverses stratégies de mutagenèse et d'ingénierie métabolique afin de diminuer le coût global et accroître le rendement et la disponibilité de ces rhamnolipides à des coûts compétitifs.

## Mots clés

Rhamnolipides, industries, *Pseudomonas aeruginosa*, fermentation, optimisation.

## **Abstract**

New research is oriented towards the study of molecules of microbial origin, among others those with surface activity (Biosurfactants), which are attracting more and more attention compared to chemical surfactants. Our work is bibliographic research on one of the many types of biosurfactants which are Rhamnolipids containing rhamnose as a sugar fragment linked to hydroxy fatty acid chains. They have varied applications in many industries including pharmaceutical, food, cosmetics, agricultural, petroleum and currently represent only a small part of the global surfactants market. *Pseudomonas aeruginosa* is the most proficient producer of Rhamnolipids. Production on an industrial scale by strains of *P. aeruginosa* isolated from different locations requires optimization of fermentation conditions and improvement of strains by various strategies of mutagenesis and metabolic engineering in order to reduce overall cost and increase yield and the availability of these rhamnolipids at competitive costs.

## **Keywords**

Rhamnolipids, industries, *Pseudomonas aeruginosa*, fermentation, optimization.

## ملخص

البحوث الجديدة موجهة نحو دراسة الجزيئات ذات الأصل الميكروبي من بينها تلك ذات النشاط السطحي والتي تجذب المزيد والمزيد من الاهتمام مقارنة بالمواد الكيميائية الخافضة للتوتر السطحي. عملنا عبارة عن بحث نظري حول أحد الأنواع الرئيسية من المواد الحيوية الخافضة للتوتر السطحي وهي رامنوليبيدات تحتوي على الرامنوز كقطعة سكر مرتبطة بسلاسل الأحماض الدهنية الهيدروكسيلية. لها تطبيقات متنوعة في العديد من الصناعات بما في ذلك الأدوية والأغذية ومستحضرات التجميل والزراعة والبتروكيمياويات إلا أنها حاليًا لا تمثل سوى حصة صغيرة من سوق المواد الخافضة للتوتر السطحي العالمية *Pseudomonas aeruginosa* هو المنتج الأكثر كفاءة الرامنوليبيدات يتطلب الإنتاج على النطاق الصناعي بواسطة سلالات *P. aeruginosa* المعزولة في مواقع مختلفة تحسين ظروف التخمر وتحسين السلالات من خلال استراتيجيات مختلفة من الطفرات والهندسة الأيضية من أجل تقليل التكلفة الإجمالية وزيادة العائد و توفير الرامنوليبيدات بأسعار تنافسية.

### الكلمات المفتاحية

رامنوليبيدات ، الصناعات ، *Pseudomonas aeruginosa* ، التخمر ، التحسين.

# Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 1

## Chapitre I : Généralités

1. Définition..... 3

2. Rhamnolipides..... 4

2.1. Définition..... 4

2.2. Découvert de RH..... 4

2.3. Structure chimique de RH..... 5

2.4. Biosynthèse de RH..... 6

2.4.1. Biosynthèse de dTDP-L-rhamnose..... 6

2.4.2. Biosynthèse de précurseur lipidique..... 6

a. Estérification..... 6

b. Glucosylation..... 6

c. Couplage..... 7

2.5. Rôle de quorum sensing (QS) dans la régulation de la biosynthèse du RH..... 7

3. Microorganismes producteurs..... 8

3.1. Méthodes de criblage des bactéries productrices..... 8

3.1.1. Méthode qualitatives..... 8

3.1.1.1. Mesure de tension superficielle..... 8

3.1.1.2. Méthode d'effondrement de goutte (DCM)..... 9

3.1.1.3. Teste sur gélose au bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB)..... 9

3.1.1.4. Essai déplacement d'huile (OST)..... 9

3.1.1.5. Substance active au bleu de méthylène(MBAS)..... 9

|   |    |
|---|----|
| 3.1.1.6. Test hémolytique.....  | 9  |
| 3.1.2. Méthode quantitative.....  | 10 |
| 3.1.2.1. Méthode spectrophotométriques.....   | 10 |
| 3.1.3. Méthode chromatographiques.....  | 10 |
| 3.1.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....  | 10 |
| 3.1.3.2. Chromatographie couplé à la spectrométrie de masse.....  | 10 |
| 3.1.4. Méthode spectroscopique.....   | 10 |
| 3.2. Quelques exemples des bactéries productrices.....  | 10 |
| 4. Les caractéristiques physicochimiques.....   | 11 |
| 4.1. Tension superficielle.....   | 12 |
| 4.2. Concentration Micellaire Critique.....   | 12 |
| 4.3. Activité d'émulsification.....   | 12 |
| 4.4. Comportement moussant.....   | 13 |
| 4.5. Nombre d'équilibre hydrophile-lipophile (HLB)/ propriété déviation hydrophile-lipophile (HLD)..... | 13 |
| 5. Applications des rhamnolipides.....  | 13 |
| 5.1. Agriculture.....   | 14 |
| 5.2. Alimentaire.....   | 14 |
| 5.3. Cosmétique.....  | 14 |
| 5.4. Elimination des métaux lourds.....   | 15 |
| 5.5. Récupération du pétrole.....   | 15 |
| 5.6. Pharmaceutique.....  | 15 |
| 5.6.1. Antimicrobien.....   | 15 |
| 5.6.2. Antifongique.....  | 15 |
| 6. Marché des RH.....   | 16 |
| 6.1. Enregistrement des brevets de production des RH.....   | 17 |

## **Chapitre II : *Pseudomonas aeruginosa***

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 1. Généralités sur la bactérie..... | 20 |
|-------------------------------------|----|



|   |    |
|---|----|
| 1.1. Découverte.....  | 20 |
| 1.2. Biologie de la bactérie.....                                       | 20 |
| 1.2.1. Morphologie.....   | 21 |
| 1.2.2. Caractères cultureux.....  | 21 |
| 1.2.3. Caractères biochimiques.....                                     | 22 |
| 1.2.4. Caractères génomiques.....                                       | 22 |
| 2. Pathogénicité de la bactérie.....                                    | 22 |
| 2.1. Facteurs de virulence cellulaire.....                              | 22 |
| 2.1.1. Flagelle.....  | 23 |
| 2.1.2. Pili de type IV.....   | 23 |
| 2.1.3. Fimbriae.....  | 23 |
| 2.1.4. Lipopolysaccharide (LPS).....                                    | 23 |
| 2.2. Facteurs de virulences extracellulaires.....                       | 23 |
| 2.2.1. Exotoxine.....   | 23 |
| 2.2.2. Elastases.....   | 24 |
| 2.2.3. Protéase IV.....   | 24 |
| 2.2.4. Protéase alcaline.....   | 24 |
| 2.2.5. Phospholipase C.....   | 24 |
| 2.2.6. Rhamnolipides.....   | 24 |
| 2.2.7. Sidérophores.....  | 24 |
| 2.2.8. Pigments.....  | 25 |
| a. Pyoverdine.....  | 25 |
| b. Pyocyanine (PCN).....  | 25 |
| 2.2.9. Alginate.....  | 25 |
| 3. Rôle physiologique des Rhamnolipides chez <i>P. aeruginosa</i> ..... | 25 |
| 3.1. Motilité.....  | 25 |
| 3.2. Création du biofilm.....   | 25 |
| 3.3. Virulence.....   | 26 |

|   |    |
|---|----|
| 3.4. Impact de Rhamnolipide sur les surfaces microbiennes.....                  | 26 |
| 3.5. Activité antimicrobienne.....  | 26 |
| 3.6. Absorption et biodégradation.....  | 26 |
| 3.7. Solubilisation.....  | 27 |
| 3.8. Bioremédiation.....  | 27 |
| 4. Exploitation du potentiel de l'espèce <i>P. aeruginosa</i> en industrie..... | 27 |
| 4.1. Vanilline.....   | 27 |
| 4.2. Lipase.....  | 27 |
| 4.3. Rhamnolipides.....   | 27 |
| 4.4. Protéases.....   | 28 |
| 4.5. Biopigments.....   | 28 |

### **Chapitre III : Production des Rhamnolipides**

|   |    |
|---|----|
| 1. Procédé de production de RH.....               | 29 |
| 1.1. Isolement des souches.....                   | 29 |
| 1.2. Conservation des souches.....                | 30 |
| 1.3. Préparation de l'inoculum.....               | 30 |
| 1.4. Fermentation.....                            | 31 |
| 1.4.1. Substrat.....                              | 32 |
| 1.4.2. Stratégies de fermentation.....            | 33 |
| 1.5. Extraction et purification.....              | 34 |
| 1.5.1. Extraction par solvant.....                | 34 |
| 1.5.2. Précipitation au sulfate d'ammonium.....   | 35 |
| 1.5.3. Précipitation au sulfate du zinc.....      | 35 |
| 1.5.4. Précipitation acide.....                   | 35 |
| 1.5.5. Chromatographie d'adsorption.....          | 35 |
| 1.6. Identification des Rhamnolipides.....        | 35 |
| 1.6.1. Chromatographie sur couche mince.....      | 35 |
| 1.6.2. Analyse structurale des Rhamnolipides..... | 36 |

|   |           |
|---|-----------|
| 2. Enjeux de la production des Rhamnolipides et l'optimisation.....                   | 36        |
| 2.1. Souche productrice.....  | 36        |
| 2.1.1. Identification de la souche.....   | 36        |
| 2.1.2. Pathogénicité.....   | 37        |
| 2.2. Coût de matière premier.....   | 37        |
| 2.3. Bioprocédés.....   | 38        |
| 2.3.1. Facteurs influençant le rendement de la fermentation et leur optimisation..... | 38        |
| 2.3.2. Formation de la mousse.....  | 39        |
| 2.3.3. Purification.....  | 40        |
| 3. Discussion.....  | 41        |
| <b>Conclusion.....</b>  | <b>43</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>   | <b>44</b> |

## Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau01:</b> Les souches bactériennes produisent les RH selon les différentes sources de carbone.....  | 11 |
| <b>Tableau02:</b> Les entreprises productrices des biosurfactants dans le monde.....  | 18 |
| <b>Tableau 03 :</b> Composition et condition de croissance du biosurfactants dans différentes études.....   | 31 |
| <b>Tableau 04 :</b> Production de biotensioactifs à partir de déchets contenant du sucre.....   | 32 |
| <b>Tableau 05 :</b> Rendement de production des rhamnolipides par différentes souches bactériennes en système de fermentation Fed-batch ou Batch..... | 33 |
| <b>Tableau06 :</b> Les facteurs agissant sur la production des RH.....  | 38 |

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 01 :</b> Schéma montrant les différents types de biosurfactants.....  | 4  |
| <b>Figure 02 :</b> Les différentes structures des Rhamnolipides.....  | 5  |
| <b>Figure 03 :</b> Illustration schématique de la biosynthèse des rhamnolipides à partir de molécule Précurseurs dérivés du métabolisme primaire..... | 7  |
| <b>Figure 04 :</b> Applications potentielles des rhamnolipides .....  | 14 |
| <b>Figure 05 :</b> Observation de <i>P.aeruginosa</i> en microscope électronique.....   | 21 |
| <b>Figure 06:</b> Schéma montre les procédures de production des rhamnolipides.....   | 29 |

## Liste des abréviations :

**AHL** : Acyle-homosérine-Lactones.

**BS** : Biosurfactants

**CMC** : Concentration Micellaire Critique.

**CAGR** : un taux global annule.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CTAB** : Gélose au bromure de cétyl-triméthyl-ammonium.

**OD** : Oxygène dissoute.

**FTIR** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

**FAS II** : Voie métabolique de synthèse *de novo* des acides gras.

**HAA** : 3-(3-Hydroxyalcanoyloxy) alcanooates

**HLB** : Le nombre d'équilibre hydrophile-lipophile (HLB)

**HLD** : la propriété déviation hydrophile-lipophile(HLD)

**LB** :MilieuLuriaBertani.

**Lps** : Lipopolysaccharides.

**MS** : la spectrométrie de masse.

**MEOR** : récupération microbienne assisté du pétrole.

**mN/m** :Milli-newton/mètre.

**PBS** :Solutionsaline stérile tamponnée au phosphate

**PCU** : Unité de contrôle primaire.

**PQS** : *Pseudomonas* quinolone signal.

**PMM** : Polymorphonucléaire.

**PLC** : phospholipide C.

**PilA** : Monomères de piline.

**PMN** :Leucocytes Polymorphonucléaire.

**QS**: Quorum sensing.

**RH**: Rhamnolipide.

**RSM** : la méthodologie de surface de réponse.

**rpm:** Rotations par minute.

**TSB :** Bouillon de soja trypsique stérile.

**UHT :** Ultra haut température.

# **INTRODUCTION**



### Introduction

Selon Li (2017), « les préoccupations environnementales et les risques de réduction des ressources énergétiques et alimentaires découlant de la vie quotidienne et des applications industrielles sont devenus des sujets importants. Les produits chimiques sont des éléments indispensables dans la société parce qu'ils sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et de nombreuses autres applications industrielles. Comment produire un tel produit chimique et comment éliminer son effet sur l'environnement sont très préoccupant en raison des effets indésirables potentiels sur l'environnement et la santé humaine [traduction] ».

Généralement, les tensioactifs sont des agents de surface utilisés dans différentes industries pour leur rôle dans divers et importants secteurs comme l'industrie du pétrole, du savon, des détergents, des aliments et des boissons. Le marché mondial des tensioactifs n'a cessé d'augmenter au cours du siècle dernier à la fois dans la production et dans la gamme des produits disponibles (Eslami et al., 2020).

La demande mondiale en surfactants est énorme, elle est estimée à 30,64 milliards USD en 2016 et à 39,86 milliards USD en 2021, la plupart des surfactants sont synthétisés par voie chimique à partir d'huiles végétales, graisses animales et produits pétrochimiques, ils sont de nature difficile à dégrader, ce qui peut constituer une menace potentielle pour l'environnement vu leur toxicité. Cet aspect négatif a poussé les chercheurs à trouver un moyen de résoudre ces problèmes en recherchant des alternatives aussi efficaces que les tensioactifs synthétiques tout en étant respectueux à l'environnement et utiliser pleinement les ressources renouvelables d'origine biologique appelés biosurfactants (Khalfallah et Madjrli, 2021).

Les biosurfactants ont un grand potentiel en raison de leurs structures similaires aux tensioactifs synthétiques et à leur non-toxicité. Il existe de nombreux types de biosurfactants tel que la surfactine, la lichenysine, la mycosubtiline, le plipastatin, le sophorolipide et les rhamnolipides. Ces deux dernières molécules sont deux groupes de biosurfactants d'importance particulière (Eslami et al., 2020).

Les rhamnolipides (RH) sont les biosurfactants glycolipidiques, devenues un sujet de recherche de nombreuses études, notamment la caractérisation de leur structure, leur diversité, leur biosynthèse, leurs propriétés physicochimiques, leur production industrielle et leurs

## Introduction

---

applications potentielles. Ce sont des composés efficaces avec une ou deux molécules d'acide  $\beta$ -hydroxydécanoïque produits par *Pseudomonas sp.* Majoritairement par l'espèce *P. aeruginosa* (Yun et Li, 2018).

L'introduction de nouveaux produits sur le marché est toujours un challenge, les chercheurs ont supposé que ce soit particulièrement vrai pour les biomatériaux tels que les rhamnolipides. Bien qu'ils présentent de nombreux avantages par rapport à leurs homologues chimiques, leur utilisation à l'échelle commerciale se heurte à certains obstacles.

Alors, est-il possible de s'en passer des surfactants chimiques et les remplacer par des molécules tensioactives d'origine microbienne tout en couvrant l'ensemble des besoins du marché pour ces produits à activité de surface ?

L'objectif principal de ce mémoire est d'accroître les connaissances sur les rhamnolipides synthétisés par la bactérie *P. aeruginosa* pour atteindre une meilleure compréhension de leurs propriétés de ce qui entrave leur production à l'échelle industrielle.

Le présent mémoire se subdivise en trois chapitres

- Le premier chapitre est une revue bibliographique où sont exposées les données relatives aux biosurfactants précisément Rhamnolipides.
- Le deuxième chapitre est concerné à la bactérie *P. aeruginosa*, comme souche productrice des Rhamnolipides.
- Le troisième chapitre est réservé à quelques exemples de procédures de synthèse des rhamnolipides, aux problèmes auxquels est confronté ce secteur à l'échelle industrielle et aux solutions existantes.

# **Chapitre I : Généralités**

### 1. Définition

Les surfactants sont définis selon Larousse comme des molécules amphiphiles qui, placées en solution diluée dans l'eau, abaissent sa tension superficielle. Les surfactants (de l'anglais : surface-active agent), surfactifs ou bien agents surfactants, sont des molécules les plus utilisables à l'industrie chimique (Chong et Li, 2017) qui peuvent abaisser la tension superficielle entre deux liquides non miscibles grâce à leurs caractéristiques structurales. Désignées de molécules amphiphiles puisqu'ils ont un groupement hydrophobe (une partie lipophile non polarisée soluble dans les solutions apolaires) et un groupement hydrophile (polarisée soluble dans les solutions aqueuses) (Beldjlali et Touahria, 2021).

Les biosurfactants sont des molécules biologiques amphiphiles dont la partie hydrophobe est un acide gras ou un dérivé et la partie hydrophile peut être un peptide, un sucre, un groupement carboxylique ou un groupement ester (Carlos, 2019), produits par différents microorganismes (bactéries, champignons), comme sécrétions extracellulaires ou liés aux surfaces cellulaires. Ils rendent l'organisme capable de s'accumuler entre les phases fluides (exemple : huile/eau) réduisant la tension superficielle et interfaciale par l'augmentation de concentration jusqu'à atteindre la concentration micellaire critique (CMC) selon les mêmes mécanismes que les surfactants chimiques (Fakruddin, 2014). Le CMC est la concentration de surfactant à laquelle la tension superficielle stable la plus faible est atteinte et des assemblages moléculaires organisés, appelés micelles, sont formés (Santos et al., 2016). Les différents types de biosurfactants sont présentés dans la figure 01.

Les biosurfactants possèdent de nombreux avantages par rapport à ceux de leurs homologues d'origine chimique : biodégradabilité, spécificité et résistance aux conditions extrêmes (Moutinho et al., 2020). D'autres avantages sont la moindre toxicité que les surfactants, la biocompatibilité environnementale ainsi que la disponibilité de la matière première pour leur production (Saadia, 2018).

En fonction de la nature de la charge de la partie polaire il y a des tensioactifs non anioniques, anioniques (négatives), cationiques (positives) et des tensioactifs amphotères appelés zwitterioniques (chargés positivement et négativement) (Khalfallah et Madjrali, 2021).

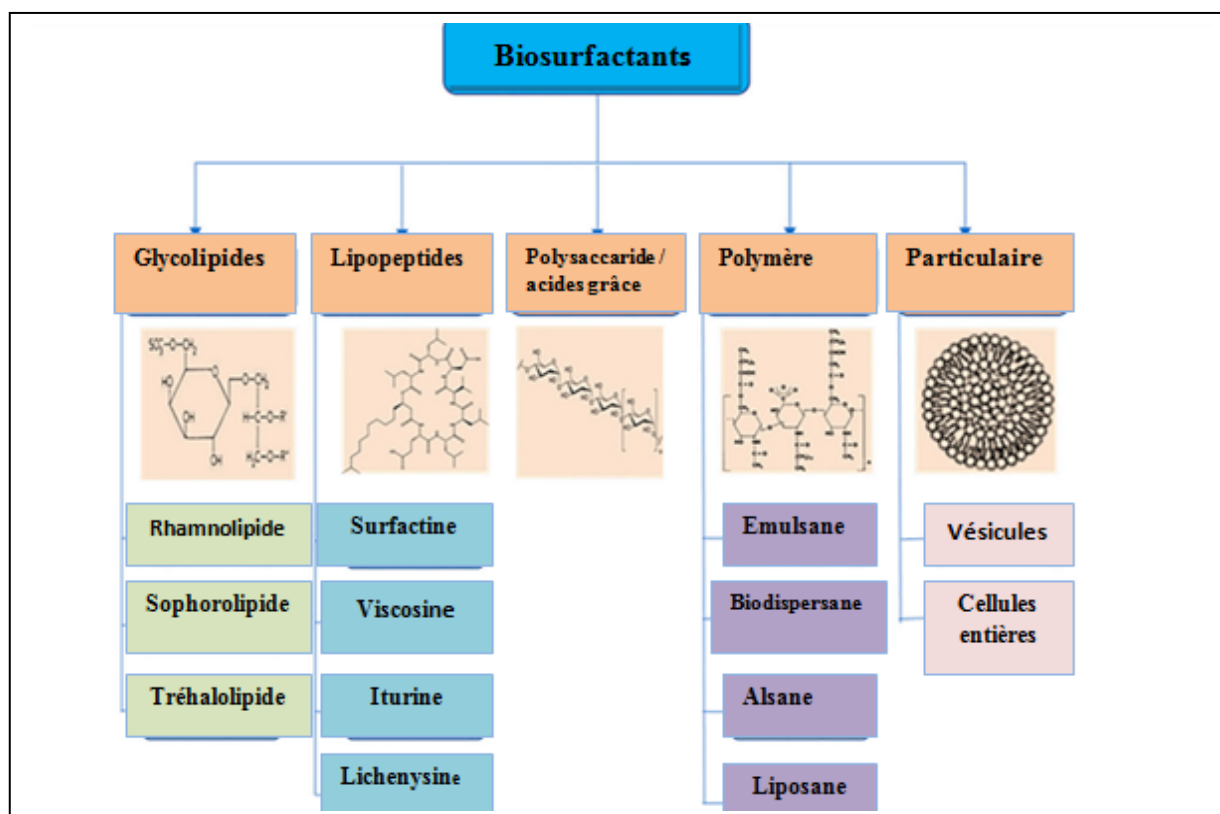


Figure 01 : Schéma montrant les différents types de biosurfactants(Sharma et al.,2021).

## 2. Rhamnolipides (RH)

### 2.1. Définition

Les RH sont des biosurfactants extracellulaires composées d'un groupement hydrophile constitué d'un ou deux rhamnoses et un groupement hydrophobe constitué d'un deux ou trois acides gras 3-hydroxy (de 6 à 16 carbones).C'est une molécule anionique due à la présence de l'ion carboxylate qui est chargé négativement (Schellenberger, 2019), produits par peu d'espèces bactériennes comme des métabolites secondaires, principalement par les genres *Pseudomonas sp.* et *Burkholderia sp.* (Carlos, 2019).

### 2.2. Découverte de RH

Les RH ont été découverts en 1946 par Bergström dans un glycolipide huileux nommé acide pyolipique produit par *Pseudomonas pyocyanea* renommée plus tard *Pseudomonas aeruginosa*. En suite la nature chimique de ces biosurfactants a été déterminée par Jarvis et ses collaborateurs puis par Edwards (Eslami, 2020).

### 2.3. Structure chimique de RH

La structure chimique des RH est variée selon le nombre et la longueur de fragment de rhamnose et de lipide et le degré de saturation des constituants :

- Selon le rhamnose : il y a deux types de structures, mono- RH (une seule molécule rhamnose) et di- RH (deux rhamnose).
- Selon le lipide : cette partie composée de chaîne d'acide gras hydroxylé (saturés, mono-ou polyinsaturés) (Edwards et Hayashi, 1965).

Ainsi, compte tenu des structures mentionnées ci-dessous, la définition des RH peut être comme suit : ce sont des glycosides composés de rhamnose (partie glycone) et d'un lipide (partie en aglycone) reliés entre eux par une liaison O-glycosidique. La partie glycone est composée d'un ou deux rhamnose (mono- ou di-RH) reliés par une liaison  $\alpha$ -1,2-glycosidique. La partie aglycone, cependant, est principalement une ou deux voire trois chaînes d'acides gras  $\beta$ -hydroxy avec une longueur variant de C8 à C16 (saturées, mono-, ou polyinsaturées) liés les unes aux autres par un lien ester formé entre le groupe  $\beta$ -hydroxyle de la chaîne distale (par rapport au glycosidique) avec le groupe carboxyle de la chaîne proximale. Dans la plupart des cas, le groupe carboxyle et le 2-hydroxyle de la chaîne distale du groupe rhamnose restent libres (Abdel-Mawgoud et al., 2010).

Les variations des structures chimiques des RH présentées dans Figure 02, conduisent à l'émergence de plusieurs homologues de RH presque 60 structures (Schellenberger, 2019).

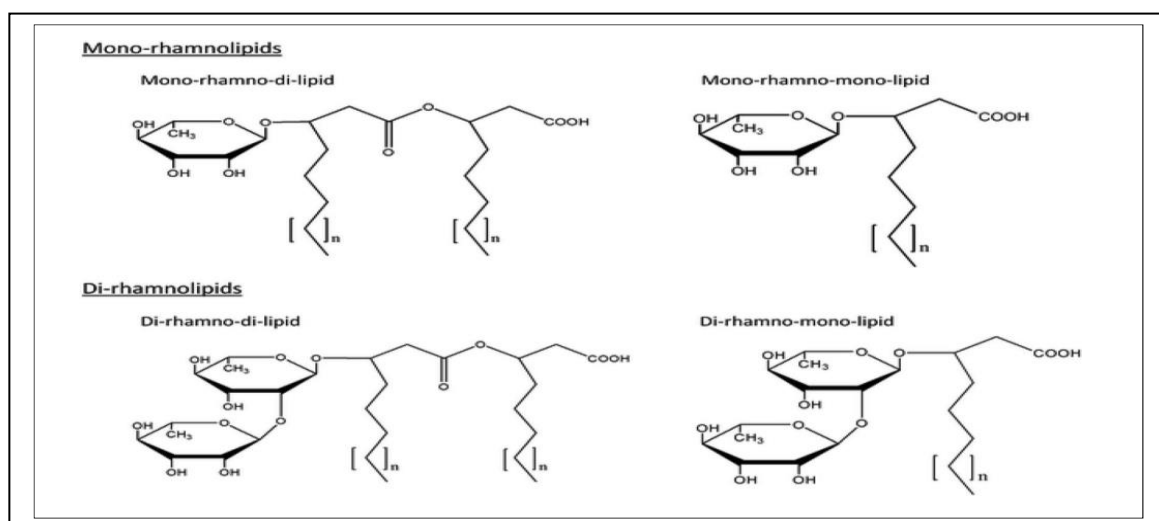


Figure 02 : Les différentes structures des Rhamnolipides (Eslami, 2020).

### 2.4. Biosynthèse de RH

La biosynthèse des RH chez *P. aeruginosa* qui est présentée dans la figure 02 se produit au cours de phase exponentielle tardive et stationnaire de croissance (Herbi et al., 2020), elle peut produire deux types différents de rhamnolipides (le mono-RH et le di-RH), la production de RH implique plusieurs étapes :

#### 2.4.1. Biosynthèse de dTDP-L-rhamnose

Le glucose peut être utile pour la production du RH en raison de sa capacité de conversion à des précurseurs nécessaires à leur synthèse. Il peut être transformé en sucre dTDP-L-rhamnose (Tiso et al., 2017) et passe par :

La catalyse de la transformation du nucléotide glucose-6-phosphate en glucose-1-phosphate par l'AlgC, ensuite l'enzyme RmlA (pour glucose-1-phosphate thymidyle transférase) intervient pour la transformation du nucléotide thymidyle mono-phosphate en glucose-1-phosphate et l'enzyme RmlB (pour dTDP-D-glucose 4,6-déshydratase) catalyse l'oxydation de C4 de groupe hydroxyle de D-glucose suivie par une déshydratation résulte la formation de dTDP-4-céto-6-désoxy-D-glucose, puis l'enzyme RmlC (pour dTDP-4-céto-6-désoxy-D-glucose 3,5-épipimérase) fait une double suppression de C3 et C5, il en résulte 4-céto-6-désoxy-D-glucose, finalement l'enzyme RmlD (dTDP-4-céto-désoxy-L-mannose réductase) réduit le C4 de 4-céto-6-désoxy-L-mannose pour fournir le dTDP-L-rhamnose, c'est le premier composé de RH (Shah et al., 2012).

#### 2.4.2. Biosynthèse de précurseur lipidique

La fraction lipidique du rhamnolipide est synthétisée par la synthase classique d'acides gras de type II (FAS II) qui existe dans la plupart des bactéries (Chong et Li, 2017)

##### a. Estérification.

Le premier processus commence par une estérification de deux précurseurs d'acides gras 3-hydroxylés (Wittgens et Rosenau, 2020), ensuite le RhlA (codé par le gène *rhlA*) est impliqué dans la synthèse du dimère d'acide gras HAA[3-(3-Hydroxyalcanoyleoxy)alcanoates] des RH.

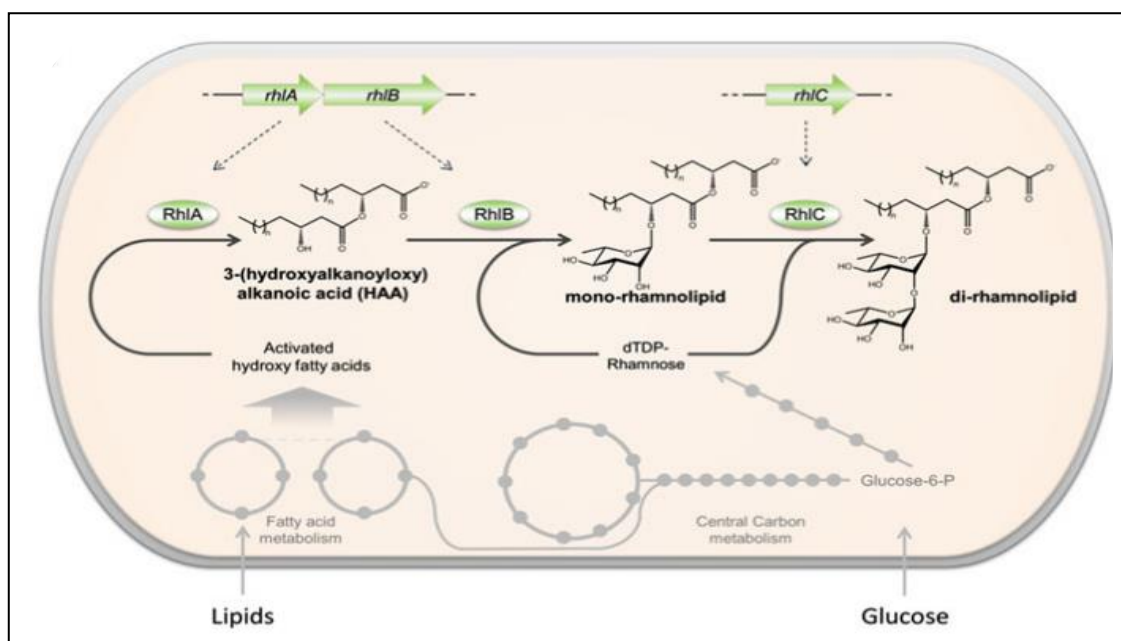
##### b. Glucosylation

RhlB est une rhamnosyltransférase capable de catalyser la réaction entre le HAA et le dTDP-L-rhamnose pour former des mono-rhamnolipides (Chong et Li, 2017).

**c. Couplage**

Enfin une deuxième molécule de dTDP-L-rhamnose est ajoutée par l'enzyme RhIC( Tiso et al., 2017) (codé par le gène *rhlC*) aux mono-RH pour fourni une di-RH.

Les deux premiers enzymes (RhIA et RhIB) sont codés par l'opéron *rhlAB*(Abdel-Mawgoud et al., 2010)qui est régulier par des gènes régulateurs appelées *rhlR* et le *rhlI* (Varjani et Upasani, 2017) et le dernier enzyme (RhIC) se trouve sur un autre opéron codé avec *PA1131*(Wittgens et Rosenau, 2020).



**Figure 03 :**Illustration schématique de la biosynthèse des Rhamnolipides à partir de molécule précurseurs dérivées du métabolisme primaire ( Tiso et al., 2017).

**2.5. Le rôle de quorum sensing (QS) dans la régulation de la biosynthèse des RH**

Le système de détection QS est un système de communication bactérien (Varjani et Upasani, 2017). Ce système comporte un signale synthase d'une protéine, réceptrice de signale et les molécules de signale (Chong et Li, 2017).

La régulation de la synthèse de RH de QS qui nécessite deux systèmes réguliers similairement. Le système *lux* (chez *Vibrio fischeri*) qui requiert une protéine LuxI responsable de la synthèse de molécule Acyl-homosérine-Lactones (AHL) et une protéine LuxR(Greenberg, 1994),quand la densité cellulaire locale augment et atteint au seuil la AHL devient comme auto-inducteur ,l'activation de LuxR résulte une transcription de l'opéron lux



qui aide la formation d'une boucle de l'auto-inducteur, ainsi que d'une protéine LuxR qui régule l'expression des gènes (activation ou inhibition) (Lee et Zhang, 2014) pour parvenir à l'adaptation des cellules aux changements des conditions environnementales par plusieurs variétés de phénotype (Camilli et Bassler, 2013).

Chez *P. aeruginosa* le même mécanisme intervient avec trois systèmes de régulation *rhl*, *las* et *pqs* qui affectent la production de RH (Lee et Zhang, 2014) :

- 1) Les synthèses *RhlI* et *LasI* produisent des molécules signal correspondantes, homosérine lactones 3OC<sub>12</sub>-HSL et C<sub>4</sub>-HSL, (qui relie et modulent les modulateurs *LasR* et *RhlR*).
- 2) *LasR* peut affecter la biosynthèse des Rhamnolipides par la suppression *LasI* et *LasR*.
- 3) Le système *rhl* directement contrôle la biosynthèse des Rhamnolipides par le facteur de transcription *RhlR* et son autoinducteur C<sub>4</sub>-HSL. (C<sub>4</sub>-HSL forme un complexe avec *RhlR* pour activer la transcription des gènes *rhlAB* pour initier biosynthèse des Rhamnolipides (Chong et Li, 2017).

D'une part, le système *rhl* est l'homologue de LuxI qui contrôle l'expression de *rhlC* et l'opéron *rmIBDAC* (Rahim et al., 2001). Le RhII (l'homologue de LuxI) participe à la synthèse de l'auto-inducteur qui est attaché avec le régulateur RhIR (l'homologue de LuxR), ce dernier provoque la transcription des gènes dont *rhlI* et *rhlAB* (Herbi et al., 2020). Le régulateur LasR du système *las* contrôle l'activation *rhl* et l'opéron *pqs* code pour une protéine EqsE qui assure l'activation du RhIR (Carlos, 2019).

### 3. Les microorganismes producteurs

#### 3.1. Méthodes de criblage des bactéries productrices

Plusieurs techniques peuvent être employées possédant chacune des avantages et des inconvénients. Quelques-unes sont représentées ci-dessous

##### 3.1.1. Méthodes qualitatives

###### 3.1.1.1 Mesure de la tension superficielle

Elle est basée sur les propriétés tensioactives des RH, cette méthode est généralement effectuée avec un tensiomètre de type Du-Nouy utilisé pour détecter la présence des RH grâce leur capacité à abaisser la tension de surface (réduire la tension de surface de l'eau de 72 jusqu'à -30mNm), inconvénients : car cela prend du temps et ne s'applique pas au haut débit projections (Abdel-Mawgoud et al., 2011).

### 3.1.1.2. Méthode d'effondrement de goutte

Ce test est réalisé par l'ajout d'un bouillon de la culture sur une microplaque de polystyrène (Abdel-Mawgoud et al., 2011) avec des petits puits, l'effondrement des gouttelettes dans les puits huilés indique la présence de RH (Eslami et al., 2020). C'est une méthode très efficace et facile car elle utilise des simples équipements (microplaque) et faible quantité d'échantillon.

### 3.1.1.3. Test sur gélose au bromure de cétyl-triméthyl-ammonium (CTAB)

Dans cette méthode les RH anioniques forment un complexe insoluble avec ce sel de bromure cationique (Abdel-Mawgoud et al., 2011). Les souches productrices de RH sont révélées par un halo bleu foncé autour de la colonie mais l'inconvénient est que le CTAB est nocif et inhibe la croissance de certains microorganismes (Eslami et al., 2020).

### 3.1.1.4. Essai déplacement d'huile

Cette technique basée sur la corrélation entre la quantité des biosurfactants et la zone de la clarification, consiste à appliquer l'eau distillée aux boîtes de Pétri, ensuite l'ajout de d'huile brute à la surface de l'eau, puis le surnageant sur la surface de l'huile. Malgré qu'elle est simple et rapide mais elle n'est pas spécifique (Belaref et al., 2020).

### 3.1.1.5. Substance active au bleu de méthylène

Une courbe de calibration indique la concentration de RH. Ce test est utile et pas coûteux mais le chloroforme à grande quantité est toxique pour l'homme et l'environnement (Abdel-Mawgoud et al., 2011).

### 3.1.1.6. Test hémolytique.

Des plaques de gélose au sang sur lesquelles les bactéries sont directementensemencées, la formation d'une zone claire formant un halo autour de la colonie peut indiquer la présence de RH (Abdel-Mawgoud et al., 2011).

Le test hémolytique et les méthodes de test sur gélose CTAB sont les principales méthodes utilisées en raison de leur capacité de économiser le temps et le coût supplémentaire (Irorere et al., 2017). Mais restent toutefois peu précises en raison de résultats positifs observés par certains travaux, même en absence des RH (Abdel-Mawgoud et al., 2011).

### 3.1.2. Méthodes quantitatives

#### 3.1.2.1. Méthodes spectrophotométriques

Cette technique est basée sur la préparation d'un mélange de l'échantillon avec le réactif orcinol qui sera agité puis chauffé (Eslami et al., 2020). Le rhamnose de RH est hydrolysés et transformés en méthylfurfural. Ce dernier réagit avec l'orcinol et produit une couleur bleu-vert qui est mesurée par spectrophotométrie à 421 nm (Abdel-Mawgoud et al., 2011).

#### 3.1.3. Méthodes chromatographiques

##### 3.1.3.1. Chromatographie sur couche mince

C'est une approche qui permet de révéler les composants des RH qui sont dilué dans le chloroforme puis appliquer sur deux plaques chromatographiques, séchées puis placées sur un système de solvant (méthanol : chloroforme), l'une des deux en jarre saturées par vapeur d'iode pour la détection des lipides la deuxième plaque est pulvérisée par l'antrone et placée dans une étuve pour la détection du rhamnose (Eslami et al., 2020).

##### 3.1.3.2. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

Cette technique emploie la spectrométrie de masse (MS) comme détecteur couplée avec une chromatographie liquide (Abdel-Mawgoud et al., 2011).

#### 3.1.4. Méthodes spectroscopiques

FTIR est une Technique d'analyse rapide des RH fonder sur les bandes d'absorption IR, résonance magnétique nucléaire (RMN) utilisé des champs magnétique pour mesure l'absorption de la radiofréquence (Abdel-Mawgoud et al., 2011). Ces méthodes aident à quantifier les RH est leur congénères (Irorere et al., 2017).

### 3.2. Quelques exemples des bactéries productrices

*P. aeruginosa* étant considérée comme l'espèce majeure productrice des RH (Abdel-Mawgoud et al., 2010), mais il en existe d'autres appartenant aux phylums : *Proteobacteria*, *Deinococcobacteria* et *Actinobacteria* (Carlos, 2019). ces micro-organismes producteurs peuvent utiliser les hydrocarbures hydrophobes comme source de carbone (Chong et Li, 2017), plusieurs exemples de souches productrices des RH et les sources de carbone utilisées sont cités dans le tableau 01.

**Tableau01** : les souches bactériennes produisent les RH selon les différentes sources de carbone (Hentati, 2019).

| Microorganisme                               | Source de carbone                                   | Références                          |
|--|---|-------------------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1           | Huile de tournesol (2,5%,m/v)                       | Muller <i>et al.</i> 2011.          |
| <i>Pseudomonas chlororaphis</i> NRRLB-30761  | Glucose (2%, m/v)                                   | Gunther <i>et al.</i> 2005          |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> HW-6          | Hexadécane (1,5%, m/v)                              | Vasileva-Tonkova <i>et al.</i> 2006 |
| <i>Pseudomonas indica</i> MTCC 3714          | Son de riz + son de riz déshuilé + glucose (4%,m/v) | Abouseoudet <i>et al.</i> 2008      |
| <i>Pseudomonas luteola</i> B17               | Mélasses (5%, m/v)                                  | Onbaslilet <i>et al.</i> 2009       |
| <i>Pseudomonas putida</i> B12                | Mélasses (5%, m/v)                                  | Onbaslilet <i>et al.</i> 2009       |
| <i>Pseudomonas nitroreducens</i>             | Glucose (4%, m/v)                                   | Onwosiet <i>et al.</i> 2012         |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i>                  | Mannitol (1%, m/v) + charbon (1%, m/v) charbon      | Singh <i>et al.</i> 2013            |
| <i>Burkholderiagluma</i> e                   | Huile de canola (2%, m/v)                           | Costa <i>et al.</i> 2011            |
| <i>Burkholderia kururiensis</i> KP23T        | Glycérol (3%, m/v)                                  | Tavareset <i>et al.</i> 2013        |
| <i>Burkholderiaplantarii</i> DSM 9509T       | Glucose (1%, v/v)                                   | Hormannet <i>et al.</i> 2010        |
| <i>Burkholderiapseudomallei</i> NCTC 10274   | Glycérol (4%, v/v)                                  | Haussleret <i>et al.</i> , 1998     |
| <i>Acinetobacter</i> sp. YC-X 2              | <i>n</i> -hexadécane (0,186%,m/v)                   | Chen <i>et al.</i> 2012             |
| <i>Enterobacterasburiae</i> NRRL B-59189     | Citrate de sodium (2%, m/v)                         | Rooneyet <i>et al.</i> 2009         |
| <i>Nocardioide</i> sp. A-8                   | <i>n</i> -paraffine (2%, v/v)                       | Vasileva-Tonkova <i>et al.</i> 2005 |
| <i>Pantoeastewartii</i>                      | Glycérol (1%, v/v)                                  | Rooneyet <i>et al.</i> 2009         |
| <i>Pseudoxanthomonas</i> sp. PNK-04          | Mannitol (2%, m/v)                                  | Nayaket <i>et al.</i> 2009          |
| <i>Renibacteriumsalmoninarum</i> 27BN        | <i>n</i> -hexadécane (2%, m/v)                      | Christova <i>et al.</i> 2004        |
| <i>Serriatiarubidaea</i> SNAU02              | Mannitol (2,931%, m/v)                              | Naliniet <i>et al.</i> , 2013       |
| <i>Streptomyces</i> sp. ISP2-49 <sup>E</sup> | Glucose (0,4%, m/v)                                 | Yan <i>et al.</i> 2014              |
| <i>Tetragenococcuskoreensis</i> sp. nov.     | Glucose (1%, m/v) + acétate de sodium (1%,m/v)      | Lee <i>et al.</i> 2005              |
| <i>Thermusaquaticus</i> CCM 3488             | Huile de tournesol (0,2%,m/v)                       | Řezanka <i>et al.</i> 2011          |
| <i>Meiothermusruber</i> CCM 2842             | Huile de tournesol (0,2%,m/v)                       | Řezanka <i>et al.</i> 2011          |

## 4. Caractéristiques physicochimiques

Les caractéristiques physicochimiques des RH qui ont conduit à l'utilisation dans de nombreux domaines sont leur tension superficielle, leur concentration critique en micelles, leur comportement moussant et leur activité d'émulsification (Tiso et al., 2017).

### 4.1. Tension superficielle

La tension superficielle est une propriété des liquides qui permet de maintenir en équilibre leur surface libre par la formation des gouttes sphériques, représentée par le symbole  $\gamma$  leur dimension est en force par unité de longueur [N/m].Plusieurs techniques peuvent

mesurer la tension superficielle ou la tension interraciale comme la méthode de la plaque de Wilhelmy, la méthode de l'anneau de Du Nouy et la méthode de la pression des bulles ou la méthode du volume de goutte (Tiso et al., 2017). L'eau pure a une tension superficielle élevée environ de 72,8 mN/ m (Mouffok et Kabouche, 2016), tandis que les tensioactifs ont une tension superficielle qui dépend de la température, des groupes ionisables et de la valeur du Ph (Tiso et al., 2017).

Les RH diminuent considérablement la tension superficielle entre deux surfaces non miscibles de 25 et 30 mN/m (Haba et al., 2003) grâce à leur propriété amphiphile (Carlos, 2019) ils réduiraient aussi celle de l'eau jusqu'à 35, 28 mN/m (Tiso et al., 2017).

### 4.2. Concentration micellaire critique

La concentration micellaire critique (CMC) donnée par mg/L, est définie comme la concentration de tensioactifs (Tiso et al., 2017) qui abaisse l'énergie de liaison hydrogène par les portions hydrophobes (Mouffok et Kabouche, 2016), donc diminue la tension superficielle et augmente la solubilité des composés organiques hydrophobes. Elle dépend de la température, du pH, de la concentration des sels et de la présence d'impuretés organiques. Pour déterminer la CMC mesure la conductivité, la solubilité, la viscosité, la diffusion de la lumière et la tension superficielle (Tiso et al., 2017). La CMC faible indique l'efficacité du biosurfactants (Pacwa-Płociniczak et al., 2011). Pour les Rhamnolipides, les valeurs de CMC rapportées se situent entre 5 et 200 mg/L (Haba et al., 2003), la valeur CMC de 5 mg/L pour le di-rhamnolipide et 40 mg/L pour le mono-rhamnolipides. La CMC varie selon le microorganisme producteur par exemple les RH produits par *P.aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* et *Enterobacter asburiae* ont une CMC de 56, 15 et 21 mg/L respectivement (Tiso et al., 2017).

### 4.3. Activité d'émulsification

L'activité émulsifiante des biosurfactants a été évaluée par une méthode de Cooper et Goldenberg, sur le n-hexadécane, huile d'olive, le kérosène, le diesel pétrole, l'huile de moteur et le pétrole brut (Rupshikha et al., 2016), elle est caractérisé les propriétés émulsifiantes des biotensioactifs. Les RH de *P. aeruginosa DNI* et *P. aeruginosa SP4* ont une activité d'émulsification meilleure sur les hydrocarbures et les huiles végétales (huile de soja, huile de noix de coco et huile d'olive) respectivement (Tiso et al., 2017).

La mesure de l'activité d'émulsification est une technique qui joue un rôle important pour l'évaluation de la productivité des biosurfactants par des microorganismes (Thilleli et Eamireche, 2017).

#### 4.4. Comportement moussant

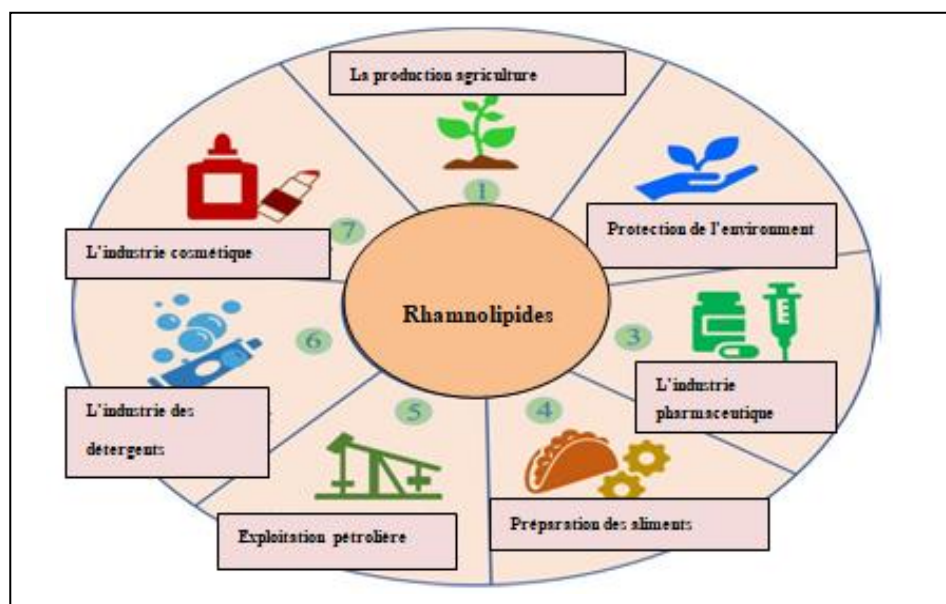
Le comportement moussant est la formation des mousses qui apparaît en mélangeant du gaz dans la phase aqueuse. Cette propriété donne une importance industrielle aux biosurfactants dans différentes applications par exemple, la préparation des soins corporels, le nettoyage industriel, la flottation et la lutte contre les incendies (Tiso et al., 2017), au même temps elle a un effet néfaste sur la production de RH (Xu et al., 2020). Elles sont détectées par plusieurs méthodes comme le test de Bikerman, la méthode de Ross-Miles, la méthode de microscopie confocale et la technologie de renforcement de la résistance (Tiso et al., 2017). Les RH ont une forte formation de mousse qui limite le rendement et donc augmente les coûts de production (Xu et al., 2020), pour éliminer cette concentration, on applique la méthode fractionnement (Sodagari, 2013).

#### 4.5. Nombre d'équilibre hydrophile-lipophile / Propriété déviation hydrophile-lipophile

Le nombre d'équilibre hydrophile-lipophile (HLB) est une propriété importante pour la classification des tensioactifs non-ioniques émulsifiants : si le HLB est élevé ceci indique que le tensioactif non-ionique est hydrophile et si le HLB est faible il est lipophile. Il est déterminé par certaines méthodes comme la constante diélectrique, le titrage du phénol, la chromatographie en phase gazeuse... Pour les microémulsions la propriété déviation hydrophile-lipophile (HLD), qui indique l'affinité du tensioactif pour les phases huileuse et aqueuse (Tiso et al., 2017).

### 5. Applications de RH

Les tensioactives chimiques sont largement appliqués dans nombreux secteurs présentés dans la figure 04, mais à cause de leur effet néfaste sur l'environnement des alternatives sont recherchées (Chong et Li, 2017). Avec le développement de la biotechnologie, les biosurfactants sont proposés par rapport à leurs avantages (Fakruddin, 2012) entre autres le fait qu'ils n'affectent pas la structure et la fonction des enzymes industriels ( $\alpha$ -amylase, cellulase...) (Madsen et al., 2015), ils sont biodégradables et à faible toxicité (Saadia, 2018), donc ces biomolécules peuvent servir dans beaucoup de domaines (Carlos, 2019).



**Figure 04** : Applications potentielles des Rhamnolipides (Gong et al., 2021).

### 5.1. Agriculture

Les RH améliorent la qualité des produits agricoles grâce leur activité bio-pesticide comme les fongicides appliqués contre le flétrissement des plantes de tomate (fongicide Zonix), les antiparasites qui protègent la plante contre la propagation pathogène et donc augmente la disponibilité des nutriments. Les RH peuvent être appliqués sur le sol ou sur la plante directement (Herbi et al., 2020).

### 5.2. Alimentaire

Les RH sont des additifs alimentaires biologiques, utilisés pour améliorer la texture et conserver les produits à base d'amidon et de matières grasses. L'ajout de RH améliore les produits comme la crème au beurre et les confiseries glacées et solubilisent les huiles aromatiques (Abdel-Mawgoud et al., 2010). Ils sont considérés comme une source de L-rhamnose qui est utilisé comme précurseur du 2,5-di-méthyle-4-hydroxyfuran-3-one (d'un des arômes sucrés) (Walter et Hausmann, 2010).

### 5.3. Cosmétique

Les RH très demandés dans l'industrie de la beauté car ils se trouvent dans différents produits de soins et de santé comme, agents émulsifiants, mouillants, agents moussants, antimicrobiens et pour le traitement cosmétique de peau comme le tampon contre l'acné (Irorere et al., 2017). De plus, dans les antirides et anti-âge (par exemple, dans les coussinets d'acné) et peuvent guérir des brûlures (Randhawa et Pattanathu, 2014).

### 5.4.Élimination des métaux lourds

Les biosurfactants cationiques et anioniques éliminer les métaux lourds des sols contaminés, avec deux mécanismes différents, les cationiques forment des complexes avec les métaux anioniques, les biosurfactants anioniques éliminent le métal par une technique de désorption (Kiran et al., 2015).

### 5.5. Récupération de pétrole

Les RH ont large gamme des applications biotechnologies dans l'industrie pétrolier dans l'amélioration de leur récupération et l'extraction de pétrole (Almeida et al., 2016).Il ya deux méthodes de (MEOR), MEOR *en situ* qui est une technique sélective où un bouillon de fermentations est injecté dans le réservoir d'huile classiques, MEOR *in situ*, où la bactérie est appliquée directement. Le producteur de Rhamnolipide *P.aeruginosa* utilise le nitrate et le soufre dans le pétrole brut comme accepteurs d'électrons(Tiso et al., 2017).

### 5.6. Pharmaceutique

Le secteur médical dépend des RH à cause de leurs propriétés anti- fongique, antimicrobienne, antivirale.

#### 5.6.1. Anti microbienne

Leur effet contre plusieurs microbes représenté par une augmentation de la perméabilité de la membrane qui provoque la lyse cellulaire (Sotivora et al., 2012),par exemple *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rhodococcus erythropolis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ( Tiso et al.,2017), *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* (Randhawa et Pattanathu, 2014).

#### 5.6.2. Antifongiques

Contre *Chaetomium globosum*, *Penicillium funiculosum*, *Fusarium solani*, mais il a une faible toxicité contre les spores d'*Aspergillus niger* et *Candida albicans* (Tiso et al., 2017).

Les RH réparent la cicatrisation des brûlures, par une augmentation du temps de fermeture et diminution du taux de collagène de la plaie .De plus, la production de psoriasine et le traitement des infections à la tuberculose( Tiso et al., 2017).

Ils peut aussi être utilisé sous forme de nettoyant (shampoings et savants)et détergent domestique (Hentati, 2019).



### 6. Marché des RH

Les surfactants chimiques présentent un marché de plusieurs milliards de dollars(Nadjib, 2016),ils ont étaient estimés à 30,64 milliards USD en 2016 et ontatteint 39,86 milliards USD en 2021 (Hentati, 2019) grâce à leur efficacité et leurs multiples applications(Nadjib, 2016). Ces utilisations permettent de donner une image sur l'importance de ces composés dans la vie quotidienne, la croissance de ce marché revient au :

- développement du tiers monde dans le domaine industriel.
- variation des produits.
- amélioration de niveau de vie dans nombreux pays
- explosion démographique mondiale.

En raison de l'utilisation massive de ces composés néfastes, il était nécessaire de trouver des molécules alternatives plus écologiques, facilement biodégradables et moins toxiques ce sont les biosurfactants, il y a aussi des raisons économiques pour les entreprises productrices et la rareté des ressources pétrolières brutes qui sont la matière première de cette industrie.

En 2013, le marché mondial des biosurfactants était de 3, 44,068.40 tonnes et a atteint 4, 61,991.67 tonnes en 2020, avec un taux global annule (CAGR) de 4,3% entre 2014 et 2020(Nadjib, 2016).

Les RH couvrent une faible part du marché global de surfactants en raison de leur coût de production élevé qui entrave sa production à grande échelle (Carlos, 2019). Cela est due au prix de matière premier (sucre comme source de carbone) constituant 50%de coût de procédé(Chong et Li, 2017), le faible rendement de la production du biosurfactants par les microorganismes et la forte consommation de l'énergie durant la production (Herbi et al. 2020)et la pathogénicité de bactérie productrice tous cela affecte le processus de marché mondial des RH (Irorere et al., 2017).

Selon l'agence de presse américaine (PRNewswire), le marché des RH devrait croître à un CAGR de plus de 5 % à cause de la demande croissante de ce glycolipide et avec augmenter taille de 35,86 millions USD entre 2021 et 2026 cela est due à des nombreuses utilisations dans divers applications principalement dans le secteur du pétrole et du gaz, dans les produits de soins personnels, dans les produits de beauté (<https://au.news.yahoo.com/rhamnolipids-market-size-grow-usd-014000475.html>).

La région Asie-Pacifique est le dominant sur le marché des RH mondiale due à leur demande croissante et leurs divers utilisations dans différents secteurs, la Chine était le plus grand consommateur des biosurfactants, l'Inde est le plus grand producteur de savon tensioactifs au monde, la consommation par habitant de savon de toilette/de bain dans les pays est d'environ 800 grammes (<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/rhamnolipidsmarket>)

Allemagne et le Royaume-Uni sont les principaux du marché des RH 39% en Europe, les consommateurs préfèrent les détergents liquides de nature biologique par rapport les détergents synthétiques, le type mono Rhamnolipides couvrait la plus grande part de marché en 2021, due à sa large application dans le domaine de l'industrie, le pétrole, l'alimentation, l'agriculture et la biorémediation (<https://au.news.yahoo.com/rhamnolipids-market-size-grow-usd-014000475.html>).

### **6.1. Enregistrement des brevets de production des rhamnolipides**





Le brevet est un outil pour écarter les concurrents du marché, il est utilisé par les entreprises comme un moyen de protection et pour obtenir des informations et suivre l'évolution de l'industrie ou d'un domaine technologique (Corbel, 2014).

Shete et al. (2006) trouve que les brevets sur biosurfactants étaient aux environs de 255 brevets (33%) sont appliqués dans l'industrie du pétrole, (15%) dans les cosmétiques, (12%) dans les agents antimicrobiens et de la médecine, (11%) dans la biorémediation. (24%) pour Les Sophorolipides, (13%) pour la surfactine et (12%) pour les Rhamnolipides (Nadjib, 2016).





Les brevets surveillent les pratiques juridiques et les applications des RH dans le monde entier, voici quelques exemples des entreprises productrices des biosurfactants dans le tableau 02.

## Chapitre I : Généralités

**Tableau 02** : les entreprises productrices des biosurfactants dans le monde.

| Entreprise  | Siège | Les produits   | Applications  | Site web   |
|---|-------|--|---|--|
| TeeGene Biotech  TeeGene Biotech | UK    | Rhamnolipides et lipopeptides  | Produits pharmaceutiques, cosmétiques, antimicrobiens et ingrédients anticancéreux, les antiviraux, les détergents, la bioremédiation, le traitement de l'eau et des eaux usées, l'alimentation, gestion des déchets municipaux | <a href="http://www.teegene.co.uk/">www.teegene.co.uk/</a>   |
| AGAE Technologies LLC            | USA   | Rhamnolipides (R95, un HPLC/MS grade rhamnolipidique)  | Pharmaceutique, cosmétique, soins personnels, bioremédiation (in situ & sur site) Récupération assistée du pétrole (EOR)  | <a href="http://www.agaetech.com/">www.agaetech.com/</a>   |
| Jeneil Biosurfactant Co. LLC     | USA   | Rhamnolipides (ZONIX, un biofongicide et RECO, un rhamnolipide utilisé dans nettoyer et récupérer l'huile de réservoirs de stockage) | Produits de nettoyage, EOR, agriculture, bioremédiation, cosmétique et antimicrobienne  | <a href="http://www.jeneilbiotech.com/">www.jeneilbiotech.com/</a>   |
| Paradigm Biomédical Inc.        | USA   | Rhamnolipides.   | Applications pharmaceutiques  | <a href="http://www.paradigmbiopharma.com/about-us/leadership/">www.paradigmbiopharma.com/about-us/leadership/</a> |

## Chapitre I : Généralités

|  |                            |  |   |  |
|--|----------------------------|--|---|--|
| <p>Allied Carbon Solutions</p>  | <p>USA</p>                 | <p>Sophorolipide</p>   | <p>Agriculture, antimicrobienne, alimentation, Récupérations du pétrole, médecine, cosmétique et comme détergents</p> | <p><a href="http://www.allied-c-s-usa.com">-www.allied-c-s-usa.com</a></p>                               |
| <p>GlycoSurf, LLC</p>           | <p>USA</p>                 | <p>rhamnolipides, rhamnosides, xylolipids, xylosides, glucolipids, and galactolipids</p> | <p>Nettoyage, cosmétique, bioremédiation</p>  | <p><a href="http://www.glycosurf.com">-www.glycosurf.com</a></p>   |
| <p>Biotensidon</p>              | <p>Suisse et Allemagne</p> | <p>Rhamnolipides</p>   | <p>Les productions environnementales, agriculture, cosmétique pharmaceutique, l'alimentation animale</p>              | <p><a href="http://www.biotensidon.com/en/home/">www.biotensidon.com/en/home/</a></p>                    |
| <p>Evonik</p>                   | <p>Allemagne</p>           | <p>Rhamnolipides</p>   | <p>Les produits de soins personnels et de nettoyage, agriculture, pharmaceutique, alimentation ...</p>                | <p><a href="http://www.corporate.evonik.com/en/company">www.corporate.evonik.com/en/com<br/>pany</a></p> |

**Chapitre II: *Pseudomonas***  
***aeruginosa***

### 1. Généralités sur la bactérie

En (1895) Walter Migula a proposé le genre *Pseudomonas* pour un bacille à Gram négatif, aérobie en forme de bâtonnet et multi flagellés, ce genre comprend une large gamme d'espèces comme par exemple : *P. aeruginosa*, *P. alcaligenes*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes* et *P. flavescens* (Neves et al., 2014), le genre *Pseudomonas*, appartient au phylum Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria, ordre des Pseudomonadales, famille des Pseudomonadaceae avec l'espèce type *P. aeruginosa* (Novik et Savich, 2015).

*Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudomonas* est la "fausse unité", du grec « pseudo » signifiant faux et du latin « monas » signifiant unité et « aeruginosa » en latin pour la rouille du cuivre) (Neves et al., 2014), cet agent pathogène bactérien (*Bacillus pyocyaneus*) provoque des maladies chez les plantes, les animaux et les humains (Wu et Li, 2014). Il a été étudié depuis long temps et considéré aujourd'hui comme une souche modèle (Besse et al., 2017).

#### 1.1. Découverte

*Pseudomonas aeruginosa* a été découverte la première fois par Sédillot en 1850, qui a observé une coloration bleue sur les pansements chirurgicaux des soldats, ensuite Fordos en 1860, a extrait le pigment bleu et l'associé à des organismes en forme de bâtonnets par Lucke. En 1882, Carle Gessard a indiqué que les pigments de ce microbe sont solubles dans l'eau, et deviennent fluorescents sous lumière ultraviolette (Olivares, 2018).

#### 1.2. Biologie de la bactérie

*P. aeruginosa* est un micro-organisme ubiquitaire qui peut survivre dans l'environnement eaux, surface, air, aliments précisément dans les zones humides. En milieu hospitalier *P. aeruginosa* peut être rencontrée dans l'environnement proche du malade et peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée pharyngée (Olivares, 2018). Voici l'observation microscopique électronique de *P. aeruginosa* dans la figure 05.



**Figure 05** :Observation de *P.aeruginosa* en microscope électronique(Olivares, 2018).

### 1.2.1. Morphologie

*P.aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif bacille bâtonnet, de 0,5 à 0,8  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1 à 3 $\mu\text{m}$ , de long (Darghout et Metheni, 2016) dépourvue de spores et de capsules . Elle pousse bien à 25 °C à 37°C et développe à 42 °C par rapport aux autres espèces du genre avec une apparence nacrée et une odeur de raisin (Wu et Li, 2014), contient un flagelle polaire qui fournit la motilité ,il se caractérise par la synthèse d'un certain nombre de pigments, dont la pyocyanine (bleu-vert), la pyoverdine (jaune-vert) (Olivares, 2018).

Leur paroi est constituée d'une :

- Membrane externe : formée de Lipopolysaccharides (LPS), de phospholipides (PL), desporines et de pompes d'efflux
- Espace péri-plasmique peptidoglycane (Darghout et Metheni, 2016)

### 1.2.2. Caractères cultureux

En général, elle peut croître rapidement sur des milieux synthétiques simples ou bien sur un milieu sélectif à base de cétrimide (ammonium quaternaire) à de grandes variations de température entre 5 et 42°C avec un optimum de 30°C et à de moindres variations de pH (6,5 à 7,5) avec un pH optimal de 7,2.

L'observation de *P.aeruginosa* sur milieux solides donne trois types de colonies, des colonies larges de 2 à 3 mm de diamètre, des colonies plus petites lisses ainsi que colonies muqueuses (Darghout et Metheni, 2016).

### 1.2.3. Caractères biochimiques

*P.aeruginosa* est une bactérie aérobie stricte mais qui peut utiliser le nitrate et l'arginine comme accepteurs d'électrons final dans les conditions d'anaérobiose (Neves et al., 2014), une oxydase positif qui oxyde le glucose sur milieu MEVAG, une nitrate-réductase, une arginine di -hydrolase et incapable à fermenter les glucides (Darghout et Metheni, 2016). *P.aeruginosa* est caractérisée par métabolisme polyvalence capable de métaboliser un grand nombre des substrats et des substances organiques toxiques (Neves et al., 2014). Une autre caractéristique importante de *P. aeruginosa* est la production d'une variété de pigments dont la pyocyanine pigment bleu-vert non fluorescent (Darghout et Metheni., 2016) spécifique de l'espèce *P.aeruginosa* soluble dans le chloroforme et l'eau (Neves et al., 2014), et la pyoverdine qui est un pigment jaune-vert commun au genre *Pseudomonas* fluorescents, insoluble dans le chloroforme mais soluble dans l'eau (Darghout et Metheni, 2016) (Neves et al., 2014).

### 1.2.4. Caractères génomiques

Le génome de *P. aeruginosa* est relativement grand constitué d'un seul chromosome circulaire (Wu et Li, 2014) qui comprend 6,3 millions paires de bases (Darghout et Metheni, 2016) le génome contenant 5570 gènes (Besse et al., 2017) environ 8 % du génome code pour des gènes régulateurs, nécessaire à la bactérie pour résister à des conditions extrêmes de l'environnement (Wu et Li, 2014) ,90% sont des gènes spécifiques de l'espèce, et 10% semblable aux autres gènes bactérien (Rhorfi, 2011).

## 2. Pathogénicité de la bactérie

*P. aeruginosa* est un micro-organisme pathogène grâce leurs différents facteurs de virulence qui interviennent aux cours de l'infection et jouent un rôle importante dans la colonisation, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus (Khalifa et al., 2011), cette bactérie provoque des infections aiguës ou chroniques (Olivares, 2018).

### 2.1. Facteurs de virulence cellulaire

Dans l'infection par *P.aeruginosa* deux facteurs interviennent dans ce phénomène un récepteur eucaryote spécifique de la cellule une adhésine capables d'interférer avec le système immunitaire et préférer l'invasion bactérienne (Besse et al., 2017).



### 2.1.1. Flagelles

Le flagelle est un organite responsable de la mobilité bactérienne qui joue un rôle important dans l'induction de la réponse pro-inflammatoire de l'hôte (Rhorfi, 2011), l'adhérence aux cellules épithéliales respiratoires et participe dans le développement du biofilm bactérien (Darghout et Metheni, 2016).

### 2.1.2. Pili de type IV

Le pili de type IV est le principale adhésine de *P.aeruginosa* qui comprend des monomères de piline (PilA), responsable de l'adhésion aux cellules épithéliales et assurant l'infection bactérienne en facilitant l'adhésion de la bactérie à la surface de la cellule hôte (Besse et al., 2017) et assurant la mobilité de la bactérie (Biquand, 2018).

### 2.1.3. Fimbriae

Le pili de type fimbriae est essentiel à l'adhérence des bactéries aux surfaces abiotiques, comme le verre et le plastique. Ce facteur assemblé par trois systèmes CupA, CupB et CupC, mais également dans la formation du biofilm (Darghout et Metheni, 2016).

### 2.1.4. Lipopolysaccharide (LPS)

Lipide majeur de la membrane externe des bactéries les protègent contre la lyse par la production des cytokines (Besse et al., 2017), constituée de trois parties :

- Le lipide A qui est une endotoxine possède des propriétés toxiques et provoque un choc septique.
- L'antigène O qui est un poly saccharique qui protège la phagocytose et participe dans la réponse inflammatoire.
- Le core oligosaccharidique (Rhorfi, 2011).

*P. aeruginosa* produit deux formes de LPS, le LPS A et le LPS B. qui précisent le phénotype (Besse et al., 2017).

## 2.2. Facteurs de virulence extracellulaires

### 2.2.1. Exotoxine

Chez *P.aeruginosa* le système de sécrétion de type III permet à la bactérie d'injecter directement ses toxines à l'intérieur de la cellule, parmi ces toxines : l'ExoA, ExoS, ExoT, ExoU et l'ExoY (Darghout et Metheni, 2016).

### 2.2.2. Elastases

Chez *P. aeruginosa* l'activité élastase repose sur deux enzymes LasB qui sécrète par le système de sécrétion de type II à activité protéolytique très importante capable de déclencher plusieurs systèmes immunitaires comme les IgA et IgG, LasA facilitent la réception de LasB du composé majeur de l'épithélium respiratoire l'élastine, ce qui va rendre la membrane perméable et plus sensible à d'autres facteurs de virulence (Biquand, 2018)

### 2.2.3. Protéase IV (lysylendopeptidase)

La protéine IV une protéase à sérine. Elle dégrade plusieurs protéines comme le fibrinogène, le plasminogène, l'immunoglobuline (Rhorfi, 2011).

### 2.2.4. Protéase alcaline

Une métalloprotéine, sécrétée par le système de type I et dégrade les cytokines qui participent dans la réponse immunitaire (Rhorfi, 2011).

### 2.2.5. Phospholipases C

La phospholipase C (PLC) est une molécule sécrétée par le système de sécrétion de type I dans le milieu dépourvu de phosphate contenant des ions zinc (Darghout et Metheni, 2016), de spécificité de substrats différente (Besse et al., 2017).

### 2.2.6. Rhamnolipides

Les RH sont des molécules glycolipidiques extracellulaires thermostables ayant un pouvoir détergent sur les phospholipides pulmonaires (Biquand, 2018) dont un rôle importants dans la pathogénicité bactérienne qui sont nécessaires dans la mobilité de type "swarming" et participent dans le développement du biofilm et l'invasion du tissu pulmonaire humain par *P. aeruginosa* (Carlos, 2019) de plus, peuvent se trouver dans le crachat des patients atteints de mucoviscidose ou ils modifient l'hydrophobicité de la surface cellulaire et participent dans la solubilisation du *Pseudomonas* quinolone signal (PQS), l'activité antimicrobienne et activité hémolytique. En outre, ils inhibent la phagocytose et provoquent la nécrose des leucocytes Polymorphonucléaire (PMN) (Chaker, 2012).

### 2.2.7. Sidérophores

C'est une molécule qui capte le fer à partir de toutes protéines de l'hôte comme l'hémoglobine nécessaire à la croissance de la bactérie dans l'environnement extracellulaire pour obtenir le ferri-sidérophore et l'introduire dans le cytoplasme. *P. aeruginosa* produit deux types de sidérophores : la pyoverdine et la pyocheline (Besse et al., 2017).

### 2.2.8. Pigments

**a. Pyoverdine** : est un pigment fluorescent de couleur jaune-vert, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme (Darghout et Metheni, 2016), est considéré comme le principale Sidérophores produit par *P. aeruginosa* joue un rôle régulateur dans la sécrétion de certains facteurs de virulence (exotoxine A et la protéase) ainsi que sa propre sécrétion (Chaker, 2012).

**b. Pyocyanine (PCN)** : est un pigment non fluorescent de couleur bleu-vert soluble dans l'eau et le chloroforme qui produite par *P. aeruginosa* uniquement, il est impliqué dans nombreuse mécanismes pathogène dont il induit l'apoptose des neutrophiles et augmente la sécrétion d'interleukine IL-8. De plus, le PCN inhibe la catalase dans les cellules épithéliales respiratoires et les cellules endothéliales(Olivares, 2018).

### 2.2.9. Alginate

L'alginate un exo polysaccharide mucoïde nécessaire pour l'adaptation du *P. aeruginosa* dans différents environnements dans l'infection chronique, l'alginate facilite l'adhésion de la bactérie aux cellules épithéliales et aussi la protection contre la phagocytose(Besse et al., 2017).

## 3. Rôles physiologiques des RH chez *P.aeruginosa*

La production des RH joue différents rôles biologiques chez les bactéries productrices, essentiellement chez *P. aeruginosa* les quelles :

### 3.1. Motilité

Chez *P. aeruginosa*, la motilité sur une surface semi-solide nécessite des flagelles ainsi que la production d'un agent mouillant (exemple : le précurseur lipidique HAA et RH).

Les di-RH aide la formation et la migration des vrilles agissant comme des attractifs chimiotactiques autoproduits, contrairement aux précurseur HAA qui repoussant les vrilles grouillantes et le mono-RH est un agent mouillant (Abdel-Mawgoud et al., 2010).

### 3.2. Création de biofilm

Dans un mode de vie sessile la cellule vie sous forme de biofilm ; une structure cellulaire complexe qui possède des avantages physicochimiques et métaboliques comme la communication cellulaire, le transfère génétique et la coopération métabolique (Chrzanowski et al., 2012). Chez *P.aeruginosa* les RH participent à la formation initiale de micro-colonies et la maturation de la structure du biofilm(Abdel-Mawgoud et al., 2010).

### 3.3. Virulence

*P. aeruginosa* provoque des infections chez les patients immunodéprimés, les individus atteints de la fibrose kystique et les personnes souffrant de mucoviscidose (Abdel-Mawgoud et al., 2010). Les RH sont impliqués dans la colonisation par *P. aeruginosa* en détruisant la structure de l'épithélium respiratoire et facilitent l'invasion par les bactéries qui forment une niche infectieuse, une fois il y a une infection la réponse immunitaire favorise la migration polymorphonucléaire (PMM) vers le site d'infection ce qui induit une grande production de toxine par le biofilm bactérien cause une nécrose des PMM et une inflammation (Koren et al., 2017).

Une corrélation a été démontrée entre la quantité de RH et l'aggravation de l'état clinique du patient atteints de mucoviscidose colonisé par *P. aeruginosa* (Abdel-Mawgoud et al., 2010)

### 3.4. Impact de RH sur les surfaces microbiennes

Les RH augmentent l'hydrophobicité de la surface cellulaire par la diminution d'acide gras de *P. aeruginosa* par sécrétion de LPS qui facilite l'adhésion de cellule différent surface et le contact avec les hydrocarbures (Chrzanowski et al., 2012).

### 3.5. Activité antimicrobienne

Les RH présentent une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négative comme *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* ainsi que les champignons comme *Candida albicans*, *Candida neoformans*, grâce à la similarité de structure chimique de phospholipide (Carlos, 2019). Chez les Gram positif le mécanisme d'action des RH se traduit par une insertion et subversion de la bicouche lipidique membranaire biologique (déstabilisation de la structure) par leur effet perméabilisant (Sotivora et al., 2012) mais chez les Gram négatif grâce à la présence de LPS, leur membrane est plus résistante contre ces biosurfactants. Autre effet reliée à la concentration de RH est l'inhibition de croissance et changement de morphologie cellulaire (Carlos, 2019).

### 3.6. Absorption et la biodégradation

Les BS produits pendant la croissance par des bactéries spécialement les RH (Déziel, 1996) permettent la solubilisation des substrats hydrophobes et l'absorption des hydrocarbures (Abdel-Mawgoud et al., 2010). Ces molécules amphiphiles augmentent la surface de contact entre les cellules et la source de carbone à cause de l'augmentation de l'hydrophobicité (Carlos, 2019).

### 3.7. Solubilisation

C'est un mode d'action qui dépend de la compétence des micelles à développer la solubilité des contaminants hydrophobes, c'est le mécanisme préféré pour traiter les sols qui nécessitent l'injection de grandes quantités de solutions tensioactives. Cela a un gros impact sur les coûts de dépollution (Nadjib, 2016).

### 3.8. Biorémediation

Les RH peuvent remédier différents types de contaminations précisément d'origine anthropique, les plus évidentes sont les hydrocarbures (Tiso et al., 2017).

## 4. Exploitation du potentiel de l'espèce *P. aeruginosa* en industrie

*P. aeruginosa* est utilisé dans de nombreux domaines industriels et commerciaux y compris la récupération de pétrole et l'industrie des produits agricoles. Elle est également utilisée en dégradation des déchets, pour nettoyer les rejets ou effluents sanitaires et domestiques et les fosses septiques, les métabolites de *P. aeruginosa* jouent un rôle importants dans l'industrie dans la fabrication des différents composés comme : vanilline, Rhamnolipides, lipase, etc (Anayo et al., 2019).

### 4.1. Vanilline

C'est un arôme naturel synthétisé par *P. aeruginosa* ISPC2 de sol à partir l'iso eugénol. Ce composé est utilisé en produits agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Anayo et al., 2019).

### 4.2. Lipase

Ce sont des hydrolases d'ester de glycérol (EC 3.1.1.3) qui peuvent hydrolyser les liaisons ester glycérides ; leur importance dans différents domaines est due à leur structure moléculaire et leurs propriétés catalytiques. Ils sont appliqués en biotechnologiques et en cosmétologie, au recyclage des déchets dans l'environnement et transestérification de l'huile dans le secteur alimentaires (Anayo et al., 2019).

### 4.3. Rhamnolipides

Les RH ont des utilisations bénéfiques dans diverses applications industrielles notamment

- Stabilisent l'émulsion des aliments.
- Comme la conservation de lait de soja à ultra haute température et le fromage,
- Inhibent la croissance des moisissures et des bactéries.

- Le mélange de nisine et RH élimine d'une façon directe ou indirecte la contamination des aliments par l'intercalant dans la composition des produits de nettoyage de surface.
- Améliorent les propriétés de la crème au beurre et diminue la tension des aliments.
- De plus, les RH utilisés dans la stabilisation de structure et le volume du pâte chez la boulangerie et la confiserie, aussi bien ils améliorent la texture et la durée de conservation des produits fabriqués par l'amidon par le changement du propriétés rhéologiques de pâte de blé et la stabilisation de l'aération (Anayo et al., 2019).

#### 4.4. Protéases

*P.aeruginosa* est capable de produire des protéases utilisées pour décomposer les acides aminés en ajoutant de l'eau via des liaisons peptidiques. Ces enzymes protéolytiques jouent un rôle majeur dans la stimulation des peptides également dans la croissance et la différenciation cellulaire (Anayo et al., 2019).

#### 4.5. Bio pigments

Les pigments produits par *P.aeruginosa* telles que la pyocyanine, pyoverdine, pyorubine et pyomélanine sont à bon qualités biotechnologiques, ils sont appliqués également comme agents redox -actifs dans les applications bio-électrochimiques. Le pigment qui est bien étudié pour les applications industrielles est la pyocyanine qui peut être utilisé en pharmacologie comme un agent antimicrobien (Anayo et al., 2019).

# **Chapitre III: Production des RH**

### Chapitre III : Production des RH

Dans ce chapitre, nous essayons d'illustrer le procédé de production par deux exemples de souches bactériennes appartenant à l'espèce *P. aeruginosa*.

Pour produire des RH à l'échelle industrielle, une démarche combinée de diverses techniques est utilisée (Belaref et al., 2020) représentée dans la figure 06.

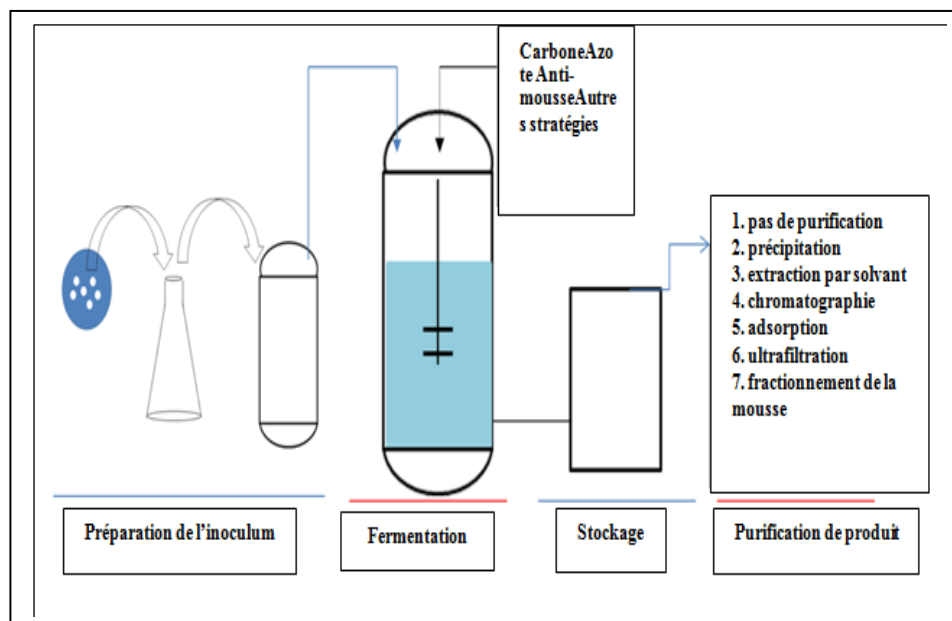


Figure 06: Schéma montrant la procédure de production des Rhamnolipides (Chong et Li, 2017).

#### 1. Procédé de production de RH

Selon (Nadjib, 2016), la production des RH est divisée en quatre phases :

- Isolement des souches.
- Préparation du l'inoculum.
- Fermentation, extraction et purification des RH.
- Optimisation de la production.
- Identification, caractérisation du produit et l'estimation de son activité de surface.

##### 1.1. Isolement des souches

*P. aeruginosa* est une espèce très rencontrée dans différents écosystèmes tel que ; les eaux usées contenant des huiles, les sols contaminés par le pétrole et rhizosphère du riz (Eslami et al., 2020).



Les souches *P. aeruginosa* E03-40 et HAK02 sont deux exemples de bactéries ayant été utilisées pour la synthèse des RH par deux travaux scientifiques de Sodagari (2013) et Bazsefidpar et al. (2019).

- *P. aeruginosa* E03-40 une souche d'une productivité élevée des Rhamnolipides sélectionnée à partir d'échantillons de sol prélevés dans une usine de biodiesel près de Ralston, Iowa, Etats-unis par les travaux de (Sodagari, 2013).

-Un autre exemple est une souche de *P. aeruginosa* HAK02 isolée à partir des déchets urbains du site de Kahrizak au sud de Téhéran (Bazsefidpar et al., 2019).

La première étape est une préparation d'une suspension de ces échantillons des souches bactériennes avec une solution saline stérile tamponnée au phosphate (PBS) sous agitation.

Ensuite, la capacité de ces souches à produire des RH est testée sur gélose CTAB sur lequel, les souches productrices des RH donneront des halos bleu foncé. Ce sont ces souches qui sont sélectionnées et identifiées (Gunther et al., 2005).

### 1.2. Conservation des souches

- Conservation à courte durée : Les souches pures ont été repiquées sur milieu Luria Bertani (LB) solide et conservées à +4 °C.

- Conservation à longue durée : À partir d'une culture en fin de phase exponentielle de croissance, les souches sont conservées dans du bouillon LB en présence de 25% de glycérol à -80 °C (Sahel et Djebbar, 2018).

### 1.3. Préparation de l'inoculum

En général, l'inoculum se prépare par revivification de la culture congelée dans un milieu adéquat à température déterminée et sous agitation optimale (Sodagari, 2013). L'inoculum sera ensuite cultivé dans un d'Erlenmeyer contenant le milieu de culture pour la fermentation (Sodagari et al., 2017). Ci-dessous quelques exemples de protocoles appliqués :

La préparation de l'inoculum de *P. aeruginosa* HAK02, a été faite dans un bouillon nutritif incubé à 30 °C sous agitation à 180 rpm. Après 24 h d'incubation, 3 % (v/v) ont été inoculées dans un milieu de production (Bazsefidpar et al., 2019)

Chez *P. aeruginosa* E03-40 la culture a été activée dans 10 ml de bouillon (TSB) soja tryptique stérile et 15 % de glycérol pendant 8 h à 34 C° sous agitation à 280 tr / min. Il a ensuite été ajouté à 90ml de TSB, dans un Erlenmeyer de 500 ml et cultivé pendant 20 h dans des conditions similaires .La culture préparée a ensuite été utilisée comme inoculum pour la fermentation(Sodagari, 2013).

#### 1.4. Fermentation

La production industrielle des biosurfactants Rhamnolipidiques est soumise à plusieurs facteurs. Afin d'améliorer le rendement de la production, ces facteurs doivent être contrôlés : la source de carbone, le type d'alimentation des substrats , le pH, la température, le taux d'aération, l'oxygène dissous, la densité cellulaire et la capacité de l'extraction de produit (Eslami et al., 2020), voici les compositions des milieux et les conditions de fermentation dans le tableau 03.

**Tableau 03** : Compositions des milieux et conditions de fermentation.

| Souche                         | Substrat et condition de croissance  | Référence                  |
|--------------------------------|--|----------------------------|
| <i>P. aeruginosa</i><br>HAK02  | -Milieu de culture (g/L) : huile de tournesol (Nina, une société) aNO <sub>3</sub> (Merck, C99.5%) 5, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Merck, 99.5 -100.5%) 0.2, et MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O (Merck, C 98.0%) 0.2.<br><br>-180tr/min,30°C, 24h   | (Bazsefidpar et al., 2019) |
| <i>P. aeruginosa</i><br>E03-40 | -Milieu de culture (g/L): huile végétale 100, NHCl 5.72, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 6.0, Na Cl 1.5, MgSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O 0.9, FeSO <sub>4</sub> ,7 H <sub>2</sub> O 0.1, CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O 0.03, MnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O 0.03, extrait de levure 5, 0. peptone 5,0 et 2 ml d'une solution d'oligo-éléments.<br><br>-800tr/min ,32 °C,pH 7.0 | (Sodagari et al., 2017).   |

**1.4.1. Substrat**

Les matières premières (sources de carbone) sont importantes dans la production des Rhamnolipides chez tous les microorganismes producteurs et leur utilisation varie d'une espèce à l'autre (Belaref et al., 2020). *P. aeruginosa* est capable d'utiliser plusieurs types de substances hydrophobes parmi eux les huiles végétales qui sont considérées comme une meilleure source de carbone avec un taux de production élevé : huile de tournesol, arachide, maïs, noix de coco, huile de soja et d'olive. Pour réduire le coût de la production, on peut utiliser la matière première renouvelable, les sous-produits agro-industriels comme les huiles usagées et les déchets agricoles à base de glucose (Jiang et al., 2020). De plus, les sucres tel que la cellulose peuvent être utilisés comme matière première alternative due à leur coût faible et moindre étapes de purification (Tan et Li, 2018). Sur le tableau 04 quelques exemples de substrats utilisés par différentes souches de *P.aeruginosa* avec leur rendement de production.

**Tableau 04 :** Production de bio tensioactifs à partir de déchets contenant du sucre (Tan et Li, 2018).

| Source de sucre          | La souche                     | Rendement des biosurfactants | Référence                |
|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Pulpe d'orge             | <i>P.aeruginosa</i> ATCC9027  | 9.3g/L                       | (Kaskatepe et al, 2017)  |
| Noix de cajou jaune      | <i>P.aeruginosa</i>           | 7.1–9.3g/L                   | (Iroha et al, 2015)      |
| Lactosérum de fromage cr | <i>P.aeruginosa</i> ATCC10145 | 9.6g/L                       | (Colak et al., 2013)     |
| Lactosérum de pain       | <i>P.aeruginosa</i> SR17      | 2.7–4.8g/L                   | (Patowary et al., 2016)  |
| Lactosérum caillé        | <i>P.aeruginosa</i> BS2       | 0.92g/L                      | (Dubey et al., 2001)     |
| Mélasse                  | <i>P.aeruginosa</i> GS3       | 0.24g/L                      | (Patel et al., 1997)     |
| Mélasse                  | <i>P.aeruginosa</i> marine    | 3.4–3.9g/L                   | (Azran et al., 2014)     |
| Vinasse de canne à sucre | <i>P.aeruginosa</i> PA1       | 2.7g/L                       | (Naspolini et al., 2017) |
| La paille de blé         | <i>P.aeruginosa</i> NCIM2036  | 9.38g/L                      | (Prabu et al., 2015)     |

**1.4.2. Stratégies de fermentation**

Les modes batch, Fed-batch et continus sont les trois principaux systèmes de fermentation. Premièrement batch ou discontinue est un système fermé avec agitation, les nutriments sont ajoutés au milieu de culture avant le début de la culture et tout au long de la fermentation le volume du milieu de culture reste constant (Herbi et al., 2020). Le deuxième système est la fermentation semi-continue ou Fed-batch (Eslami et al., 2020) ou l'ajout du milieu de culture se fait au cours de la fermentation, quand la cuve du bioréacteur est pleine, la fermentation est arrêtée (Herbi et al., 2020), ce système est plus efficace pour améliorer la productivité et le rendement des RH (Eslami et al., 2020). Le dernier système de fermentation microbienne est le continu ou le système ouvert, ou l'ajout des nutriments se fait de manière continue au fermenteur au même temps il ya un soutirage de même volume donc le milieu de culture reste constant dans la cuve (Herbi et al., 2020). Le tableau 05 montre le rendement de production de RH.

**Tableau05** : rendement de production des rhamnolipides par différentes souches bactériennes en système de fermentation Fed-batch ou batch.

| <b>Souche</b>                  | <b>Rendement<br/>Maximum</b> | <b>Substrat</b>                              | <b>les systèmes de<br/>fermentation</b>                         | <b>Référence</b>          |
|--------------------------------|------------------------------|--|---|---------------------------|
| <i>P. aeruginosa</i><br>E03-40 | 55,7±2,6                     | Huile<br>végétale                            | Fed-batch-<br>alimentation en<br>huile végétale.                | (Sodagari et al., 2017).  |
| <i>P. aeruginosa</i><br>HAK02  | 22,5<br>240                  | Huile<br>tournesol<br><br>Huile<br>tournesol | Batch Culture<br><br>Fed-batch sous contr<br>strict<br>de l'OD. | (Bazsefidpar et al.,2019) |

- Chez *P. aeruginosa* E03-40, la fermentation a été réalisée dans un fermenteur Fed-batch (Eslami et al., 2020) (BIOFLO 110 New Brunswick Scientifique) de 2 L. La température du bouillon a été réglée à 32°C par plaque chauffante et la conduite d'eau de refroidissement est connectée au bain réfrigéré (Fischer), le pH a été ajusté à 6.7 par l'ajout de NaOH 1N ou

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(Xu et al., 2020). L'agitation se fait par deux turbines à six pales à une vitesse de 600 tr/min. Les paramètres de fermentation sont contrôlés par unité de contrôle primaire (PCU) : la concentration en oxygène dissous (OD) a été fixée à 10 % (saturation en air) avec réglage automatique du débit d'oxygène pur et la OD peut fluctuer dans la plage de 5% - 30% sous ce contrôle( Sodagari et al., 2017).

- Chez *P. aeruginosa* HAK02, la fermentation a été réalisée dans un fermenteur batch et Fed-batch de 5 l avec contenance de 2 l. La culture était inoculée avec 3% v/v de l'inoculum. Le taux d'aération de 1 à 1,5 vvm et la vitesse d'agitation de 500-1000 tr/min a été utilisé pour régler la concentration d'OD à une valeur spécifiée, le pH du milieu de culture a été ajusté par NaOH 6N et d'acide phosphorique à 20%, la température a été maintenue par bain réfrigéré circulateur, l'huile de silicone a été utilisée comme anti mousse pendant la fermentation des rhamnolipides (Bazsefidpar et al., 2019).

### 1.5. Extraction et purification

Les RH peuvent être récupérés par nombreuses méthodes, les opérations d'extraction et purification représentent 60 à 80 % du coût globale de la production et sont affectées par la charge ionique et les types de métabolites ; intracellulaires ou extracellulaires (Zheng et al., 2020).

La technique d'extraction par solvant est considérée comme la meilleure technique pour la récupération, par rapport aux autres techniques (Shah et al., 2016), qui sont la précipitation avec l'acide, le sulfate d'ammonium ou le sulfate de zinc, la fractionnement de mousse, la chromatographie d'adsorption et la chromatographie d'échange d'ions (Zheng et al., 2020).

#### 1.5.1. Extraction par solvant

La culture acellulaire est traitée par les solvants comme chloroforme/méthanol, butanol, acétate d'éthyle (Nadjib, 2016), puis une évaporation rotative est appliquée à 200 tr/min et à 30°C pendant 5h (Belarefet al., 2020). Le résultat obtenu est une précipitation de deux couches, enfin la couche inférieure est récupérée puis séchée pour obtenir une poudre (Shah et al., 2016).

C'est le cas notamment des deux exemples de souches bactériennes *P. aeruginosa* HAK02 et E03-40.

- L'inoculum de *P. aeruginosa* HAK02 a été centrifugé à 25°C à une vitesse de 7000rpm pendant 12 min puis séché dans l'étuve à 105°C pendant 2h. Le pH du surnageant (sans cellules) est ajusté à 2 avec HCl 1 N puis incubé à 4°C une nuit. Pour purifier les

Rhamnolipides après 24 heures, une seconde centrifugation à 4 °C à une vitesse de 15 000 tr/min pendant 25 min, et les extrait par l'acétate d'éthyle (Bazsefidpar et al., 2019).

- Chez *P. aeruginosa* E03-40 le surnageant de bouillon recueilli centrifugée et dilué dans la plage de 3 à 90 mg/l de Rhamnolipides. Le pH du surnageant a été ajusté à 2 à 3 par addition de HCl 1N puis extrait par 4 fois le volume d'acétate d'éthyle et recueilli et vaporisé pour éliminer le solvant (Sodagari, 2013).

### 1.5.2. Précipitation au sulfate d'ammonium

Le surnageant est traité avec le sulfate d'ammonium à 40 % pour obtenir une précipitation, incubée pendant 24h à 4 °C, ensuite centrifugée à 10000 rpm, 4 °C pendant 30 min pour avoir une poudre de couleur blanche après le séchage (Shah et al., 2016).

### 1.5.3. Précipitation au sulfate de zinc

Pour précipiter les Rhamnolipides le surnageant est mélangé avec le sulfate de zinc à 40 % (p/v) après l'incubation pendant 24h à 4°C, le précipité est centrifugé à 4°C, 10000 rpm pendant 30 min puis séché(Shah et al., 2016).

### 1.5.4. Précipitation acide

L'acidification du surnageant s'effectue par la solution de HClN, jusqu'à pH 2. Le mélange est ensuite incubé(24 heures à 4°C) pour donner un précipité qui sera centrifugé à 10000 rpm, à 4°C pendant 30 min, ensuite séché pendant 24h. À la fin une pâte de couleur noire est obtenu (Shah et al., 2016).

### 1.5.5. Chromatographie d'adsorption

La chromatographie d'adsorption est utilisée pour séparer et purifier les RH avec la résine en phase normale et des solvants apolaires. En raison de l'efficacité de cette technique, les Rhamnolipides obtenus sont plus applicables dans les secteurs alimentaires et médicales(Zheng et al., 2020).

## 1.6. Identification des Rhamnolipides

Après l'extraction des RH par la technique d'extraction de l'acétate d'éthyle comme a été mentionné ci-dessus été analysée par un spectromètre de masse (MS) en suivant les procédures utilisées dans ce laboratoire ( Sodagari et al., 2017).

### 1.6.1. Chromatographie sur couche mince

Une quantité précise de rhamnolipide purifié a été dissoute dans du chloroforme et 10 µl de cette solution ont été placés sur une plaque TLC. Après séchage, la plaque a été placée dans un solvant d'hexane. Ensuite l'une des plaques été saturée de vapeurs d'iode, pour détecter les lipides sous forme de taches jaunes, pour détecter la présence de peptides sous

forme de taches rouges et de glucides sous forme de taches bleu-vert, respectivement deux autres plaques ont été pulvérisées avec les réactifs ninhydrine et anthrone à 110 °C pendant 10 min ( Sodagari et al., 2017).

### 1.6.2. Analyse structurale des Rhamnolipides

La structure chimique du RH purifié a été identifiée par LC-MS dans un module de séparation Waters Alliance 2695 couplé à un spectromètre de masse triple quadripôle Micro mass Quattro Micro. Pour séparation, chromatographie en phase inverse sur Eclipse XDB C18 (5 lm) ,150 mm a été utilisé à 35°C. Le débit a été fixé à 0,5 ml/min(Bazsefidpar et al., 2019).

## 2. Enjeux de la production des Rhamnolipides et l'optimisation

La production des RH à l'échelle industrielle est confronté à plusieurs défis qui induisent des rendements faibles et des coûts élevés de production (Tan et Li, 2018). Parmi ces défis ,l'identification et la pathogénicité des souches productrices, le coût des matières premières ainsi que les conditions défavorables du bioprocédé et la formation des mousses en grande quantité(Chong et Li, 2017).

Plusieurs stratégies sont proposées pour rendre le coût des biosurfactants compétitifs à celui des surfactants chimiques :

- Trouver des matières premières alternatives comme par exemple la mélasse, l'huile de cuisson usagée. Ça permet au même temps de réduire l'impact des rejets industriels sur l'environnement,

- Développer et optimiser l'efficacité du bioprocédé.

- Economiser l'énergie pour réduire le coût de l'électricité consommées pour l'agitation par la diminution du nombre de cuves de fermentation (Moutinho et al., 2020).

### 2.1. Souche productrice

#### 2.1.1. Identification de la souche

Pour identifier les microorganismes producteurs de RH, des tests phénotypiques et biochimiques comme : la coloration de Gram, la morphologique, les galeries biochimiques tel que Biolog GEN III, API...etc, sont appliqués mais ils restent peu ou pas efficaces due à la variété des phénotypes avec les conditions environnementales.

- Test API 20E et les propriétés de fluorescence ont été utilisés pour classer les organismes identifiés comme producteurs de Rhamnolipides comme *P. aeruginosa* P.B:2 et *P. fluorescens* PV:10. Les rapports récents montrés que les isolats identifiés comme *P. fluorescens* par le test l'API 20E étaient identifiées comme *P. synxantha* et *P.*

*brassicacearum* par utilisation de séquençage de l'ADN ribosomique 16S (ADNr). Sont en fait des espèces non répertoriées sur la base de données API 20E cela dépasse toute fois le cadre de cet examen. Le séquençage de l'ADNr 16S améliore l'identification et caractérisation des isolats producteurs de RH .Mais il reste limité (Irorere et al., 2017).

#### 2.1.2. Pathogénicité

L'ingénierie métabolique permet de résoudre certains problèmes liés à la pathogénicité cellulaire par exemple l'inhibition de la pyocyanine chez *P.aeruginosa* est une importante stratégie pour supprimer son impact toxique. La synthèse de ce pigment est à travers une cascade de réactions complexes impliquant plusieurs gènes tels que *phzABCDEFG* et *phzHMS* qui régulée par les systèmes QS inhibition de leur biosynthèse se fait à partir de l'acide shikimique voie de biosynthèse de l'express opérons *phz*, ou bien fait le traitement de pyocyanine par une pyocyanine déméthylase (PodA) qui perturbe la formation de biofilm(Chong et Li, 2017).

Des modifications génétiques exercées par la technique de clonage des gènes responsables de la production (*rhlAB* chez *P. aeruginosa*) ont été effectuées sur des bactéries non pathogènes tel que *P. fluorescens*, *P. putida* et *E. Coli* pour acquérir une excellent propriété de la production de RH. Malgré ces solutions, le rendement de la production chez les souches recombinantes reste inférieure comparativement à *P. aeruginosa*(Tan et Li, 2018).

D'autre part, la mutagénèse constitue une technique basée sur des méthodes chimiques ou radiologiques appliquées sur les souches pour provoquer des mutations dans le but d'augmenter le rendement de RH.

Par exemple la souche *P. aeruginosa MM1011* avec un rendement primaire 1.2 g/l qui traité par une mutagenèse aléatoire , donne un rendement égal à 12.5g/l de rhamnolipides (Eslami et al., 2020).

#### 2.2. Coût de matière première

La quantité et le type de matière première affecte le cout de la production qui représente généralement 50 % du coût global (Carlos, 2019).Pour diminuer les coûts de production des Rhamnolipides, des sources de carbone économiques et des substrats renouvelables être utilisés (Chong et Li, 2017) comme les déchets agricoles, les huiles végétales( huile de colza,huile de soja et huile de maïs) et différent déchets de raffinerie d'huile comme les déchets d'huile de tournesol ...(Herbi et al., 2020). À titre d'exemple, le taux le plus élevé jamais rapporté était de 112 g/l qui obtenu à partir de la fermentation de



*P. aeruginosa* à partir d'huile de soja comme source de carbone dans un milieu limité en N et exempt de  $Ca_2^+$  à 30 °C et pH de 6,3 (Chong et Li, 2017).

### 2.3. Bioprocédé

L'économie de la production de BS peut être améliorée en optimisant les conditions du procédé avec ses deux étapes ; fermentation et récupération/purification du RH(Sharma et al., 2017).

#### 2.3.1. Facteurs influençant le rendement de la fermentation et leur optimisation

Le type, la quantité, la composition et l'activité émulsifiante des RH produits varient selon la souche productrice, mais aussi selon la composition du milieu (Source de carbone ou autres nutriments) et les conditions de culture (température, agitation, pH, etc.)(Thilleli et Eamireche, 2017), quelque facteurs influençant la production des RH représentent dans le tableau 06.

**Tableau06** : Les facteurs agissant sur la production des RH.

|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Source de carbone</b> | La nature de substrat affecte le type, la qualité et la nature du biosurfactants (Sahel et Djebbar, 2018).Glycérol, glucose, mannitol et éthanol sont des sources de carbone solubles dans l'eau peu utilisées pour la production de Rhamnolipides par <i>Pseudomonas</i> sp., par rapport aux substrats insolubles dans l'eau, tels que les n-alcanes et les huiles en raison de leur faible efficacité de la production. Les huiles végétales sont parmi les substrats qui fournissent des taux de production de RH les plus élevés lorsqu'ils sont utilisés comme seule source de carbone par quelques souches de <i>P. aeruginosa</i> (Hachaichi et Sadouk, 2008).   |
| <b>Source d'azote</b>    | L'azote est important pour la croissance microbienne et la synthèse des métabolites. Des composés azotés tels que l'urée, peptone, l'extrait de levure, le sulfate d'ammonium, le nitrate d'ammonium, le nitrate de sodium, la farine de soja, le glutamate de sodium et extrait de viande sont utilisés pour la préparation du milieu de culture. Selon plusieurs études la biosynthèse des Rhamnolipides se produit quand il y a un taux élevé de carbone dans le milieu ou l'azote est réduit (Thilleli et al, 2017). Les résultats de l'étude de Manresa et al. (1991) montrent qu'il est important d'avoir un rapport C/N idéal, variant de 16/1 à 18/1, alors qu'ils n'ont pas observé de production pour des rapports inférieurs à 11/1, où l'azote n'a pas été limitant (Hachaichi et Sadouk, 2008). |
| <b>Sels minéraux</b>     | L'apport en quantités limitées des sels minéraux comme les ions magnésium, calcium, potassium et sodium optimise la production des RH (Sahel et Djebbar,   |

|  |   |
|--|---|
|  | 2018).  |
| <b>PH</b>                              | Le pH est un facteur important qui affecte la production des biosurfactants, soit positivement ou négativement en agissant sur l'activité du microorganisme producteur et la dégradation des hydrocarbures. Le pH optimal de <i>P. aeruginosa</i> est situé entre 6,0 et 6,5. La structure des Rhamnolipides est corrélée à la variation du pH, lorsqu'il est égal à 5,5 la structure de RH est de forme lamellaire mais plus il augmente, la forme devient vésiculaire(Thilleli et Eamireche, 2017). |
| <b>Température</b>                     | La biodégradation des hydrocarbures, son état physique, structure chimique et l'activité physiologique des microorganismes sont fortement influencés par la température et par conséquent la production des RH. Il y a une corrélation positive entre la température et la vitesse de biodégradation (si la valeur de température diminue la vitesse diminue), expliquée par la croissance et la décroissance de l'activité enzymatique(Thilleli et Eamrieche, 2017).                                 |
| <b>Vitesse d'agitation et aération</b> | L'aération et l'agitation sont des facteurs importants qui influent sur la production des biosurfactants assurant le transfert d'oxygène. Pour les bactéries, une augmentation de la vitesse d'agitation induit une augmentation des vitesses d'un rendement en RH faible (Hachaichi et Sadouk, 2008).  |

L'optimisation des paramètres de fermentation a également été utile pour augmenter le rendement des BS par la méthodologie de surface de réponse (RSM) qui étudie l'impact des paramètres nutritionnels et environnementaux, la nature et la concentration des matières première de carbone et d'azote, le pH du milieu, la taille de l'inoculum, le temps d'incubation et la températuresur le rendement et permetd'avoir les meilleures conditions opératoires en peu d'expériences répétées(Sharma et al., 2017).

### 2.3.2. Formation de la mousse

Un autre problème rencontré lors de la fermentation aérobie étant la forte formation de la mousse lors de la production à l'échelle industrielle ce qui inhibe la croissance cellulaire aussi l'accumulation de produit provoque la diminution de l'oxygène au cours de la fermentation ce qui entraine la perte de milieu de culture, de Rhamnolipides et de cellules. Au cours des dernières années, une des solutions appliquées est l'ajout d'agents anti-mousse chimiques qui diminue la stabilité de mousse, cependant, les grandes quantités de mousse formées nécessite de grands volumes d'anti-mousse ce qui est plus coûteux et affecte la

récupération et la qualité des RH(Xu et al., 2020), de moussage mécanique par briseurs de mousse. De plus, l'éthanol a une action anti-mousse utilisée comme traitement d'urgence rapide et efficace, Comme les RH sont hautement sensibles aux changements, l'ajout d'acide les précipitant dans le bouillon, est cette précipitation diminue la capacité de mousse (Jingjing et al., 2020).

Selon (Xu et al., 2020) plusieurs approches sont appliquées pour résoudre ce problème on peut citer :

-La réalisation d'une fermentation anaérobie pour diminuer le débit d'air et réduire la formation de mousse, mais ceci affecte la productivité des Rhamnolipides due à la limitation en oxygène.

-L'élimination synchrone des rhamnolipides au cours de fermentation contrôle bien la formation de mousse mais les problèmes du faible rendement et du coût élevé persistent.

-Le système de contrôle de la mousse ex-situ semble être plus efficace pour réduire la formation de mousse sans ajout d'agent anti-mousse.

#### 2.3.3. Purification

La récupération du produit est basée sur la charge ionique, la solubilité dans l'eau et la localisation du produit (intracellulaire, extracellulaire ou lié à la membrane cellulaire). Au fur et à mesure que les Rhamnolipides sont récupérés du bouillon de fermentation, un mélange complexe se forme contenant des substrats non fermentés : sels, acides aminés, protéines et autres produits métaboliques ce qui rends la purification des RH très difficile nécessitant un temps long et des opérations complexes avec plusieurs réactifs. Malgré ces complexités, il est toujours possible de purifier les RH avec une pureté élevée en utilisant diverses stratégies proposées telles que le fractionnement de la mousse.

Le coût de purification du produit peut être réduit si :

- Le bouillon de fermentation acellulaire remplace les Rhamnolipides purifiés pour des applications industrielles comme la récupération de pétrole (MEOR).

- ou bien l'utilisation directe de micro-organismes producteurs de Rhamnolipides comme pour la décontamination de sites pollués ou comme additifs pour l'alimentation animale(Chong et Li, 2017).

### 3. Discussion

À travers les deux exemples de fermentation abordés (*P. aeruginosa* HAK02 de Bazsefidpar et al (2019) et *P. aeruginosa* E03-40 de Sodagari et al (2017)) et quelques autres travaux, il apparaît que :

Pour atteindre l'objectif principal d'une production de RH en utilisant une souche *Pseudomonas aeruginosa*, à l'échelle industrielle, plusieurs défis doivent être relevés.

La pathogénicité des souches est l'une des principales limites, les scientifiques essaient d'appliquer des variations génétiques et de l'ingénierie métabolique sur des souches productrices afin d'obtenir un bioproduit moins risqué pour le consommateur,

Les deux souches isolées ont été identifiées comme productrices des RH. Ils ont la capacité d'utiliser des sources de carbone telles que l'huile de tournesol et l'huile végétale. Cependant, l'utilisation de l'huile de soja comme source de carbone a montré les meilleurs résultats, la formation de mousse a été réduite de moitié et le rendement en rhamnolipides a augmenté à 35 %, comparativement avec les fermentations à base de glycérol à un rendement d'environ 10 %.

Les caractéristiques de production des RH chez *P. aeruginosa* E03-40 et HAK02 sont étudiées et leur rendement varie selon la source de carbone et la stratégie de fermentation. L'huile végétale (source de carbone) pour la première souche E03-40 dans le système de fermentation de Fed-batch donne un rendement de 55.7g/l, l'autre souche HAK02 donne dans les deux systèmes batch et Fed-batch avec le même substrat carboné (huile de tournesol), les rendements respectifs de 22.5g/l et 240g/l. Cela confirme l'idée de Eslami et al (2020) que le système de Fed-batch est le plus efficace pour une meilleure productivité.

La revalorisation des déchets des autres industries, contenant du sucre semble être une bonne façon de récupérer ceux-ci et de réduire le coût de production, malgré le faible rendement qui doit être amélioré. La production des RH sur déchets contenant du sucre a été étudiée par Tan et Li (2018). La souche *P. aeruginosa* ATCC10145 donne un rendement de 9.6g/l à partir de lactosérum de fromage cru comme source de carbone.

La comparaison des techniques d'extraction du produit après fermentation montre des différences au niveau du rendement. Ceci est confirmé par les travaux de Shah et al (2016) ayant conclu que l'extraction par solvant (acétate d'éthyle) était la meilleure technique dans leur étude.

La formation de la mousse est aussi l'un des problèmes rencontrés lors de la fermentation aérobie. Elle est liée aux paramètres de fonctionnement tels que le pH,

l'agitation et même la source de carbone qui doivent être optimisés. À côté de ceci, l'usage d'anti-mousse peut légèrement améliorer la productivité volumétrique des Rhamnolipides(Sodagari et al., 2017).

Chez la souche *P. aeruginosa* HAK02, les valeurs optimales pour une meilleurs production sont : pH = 8.5, température= 25 C° et vitesse d'agitation = 240 rpm.

Pour *P. aeruginosa* E03-40, un pH entre 5,5 et 5,7, une température de 32C°et une vitesse d'agitation de 600 tr /min seront les meilleurs.

L'effet de concentrations d'OD variant entre 5%, 10% et 30% chez la souche HAK02 n'était pas très significatif mais étant donné que la croissance cellulaire était faible à 5 % d'OD et que la formation de mousse était importante à 30 % d'OD, l'OD de 10 % a été considérée comme plus appropriée pour le rendement(Bazsefidpar et al., 2019).

Pour la souche E30-40, le meilleur rendement était observé à 40% d'OD ( Sodagari et al., 2017).

# **Conclusion**

### Conclusion

L'utilisation des biosurfactants Rhamnolipidiques produits par *P.aeruginosa* de nombreux secteurs industrielles comme émulsifiants alimentaires, agents antioxydants, agents anti-film, agents antimicrobiens et antiadhésifs, antirides et anti-âge...est due à leurs différentes propriétés physicochimiques et leurs moindre toxicité par rapport aux tensioactifs chimiques.

D'après plusieurs études réalisées, les efforts d'optimisation de production des RH par les scientifiques afin de promouvoir le marché mondiale des biotensioactifs ne sont pas encore arrivés de conquérir les surfactant chimique à cause de leur coût élevé, faible rendement, la pathogénicité des bactéries productrices ainsi que les problèmes rencontrés à la cour de fermentation tell que la formation des mousses.

Les chercheurs continuent à proposer, test et mettre en œuvre des plants de recherche visant à résoudre ces problèmes en faisant appelle a des techniques les plus récents de la biotechnologie et de génie génétique .Ceci permettra dans le future de remplacer tout ce qui chimique et néfaste par ce qui est biologique et sécurisé.

# **Références bibliographiques**



### Références bibliographiques

- Abdel-Mawgoud, A., Hausmann, R., Lépine, F., Meuller, M., Déziel, E. (2011). *Biosurfactants and Bioengineering of Production*. In México : G. Sobero. Chapitre 2 : Rhamnolipids : Detection , Analysis , Biosynthesis , Genetic Regulation , and Bioengineering of Production. pp, 13–56. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-14490-5>
- Abdel-Mawgoud, A. M., Lépine, F., Déziel, E. (2010). Rhamnolipids: Diversity of structures, microbial origins and roles. *Microbiology and Biotechnology*, 86(5), 1323–1336. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2498-2>
- Almeida, D. G. De, Silva, R. de C. F. S. Da, Luna, J. M., Rufin, R. D., Santos, V. A., Banat, I. M., Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: Promising molecules for petroleum biotechnology advances. *Frontiers in Microbiology*, 7, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01718>
- Anayo, O. F., Scholastica, E. C., Peter, O. C., Nneji, U. G., Obinna, A., Mistura, L. O. (2019). *Pseudomonas Aeruginosa: An Armory Within*. In London : D. Sriramulu. Chapitre 7: Les rôles bénéfiques de Pseudomonas en médecine ,pp. 1–13.
- Bazsefidpar, S., Mokhtarani, B., Panahi, R., Hajfarajollah, H. (2019). Overproduction of rhamnolipid by fed-batch cultivation of Pseudomonas aeruginosa in a lab-scale fermenter under tight DO control. *Biodegradation*, 30(1), 59–69. <https://doi.org/10.1007/s10532-018-09866-3>
- Belaref, S., Faci, D., Ouradi-iddir, L., Mouri-hadidi, L., Yaloui-guellal drifa, G. (2020). *Techniques de criblage des bactéries productrices des biosurfactants et méthodes de caractérisation de ces biomolécules*. Mémoire. Science biologique. Université de Akli mohand oulhadj-Bouira.
- Beldjilali, R., Touahria, N. (2021). *Les biosurfactants des bactéries lactiques*. Mémoire. Sciences Biologiques. Université de Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

## Références bibliographiques

---

- Belhaoudjet, S., Arar, I. (2018). *Etude de la production des biosurfactants issus des bactéries halophiles et leur caractérisation*. Mémoire. Biologie. Université de Ziane Achour – Djelfa.
- Besse, A. (2016). *Interactions microbiennes et adaptations en milieu extrême : peptides antimicrobiens d'archées halophiles*. Thèse de doctorat. Microbiologie et Parasitologie. Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme.
- Biquand, A. (2018). *Les infections à Pseudomonas aeruginosa et leurs traitements en 2017*. Thèse de doctorat. Pharmacie. Université de Rennes 1.
- Camilli, A., Bassler, B. L. (2013). Bacterial small-molecule signaling pathways. *PMC Journal*, 1113–1116. <https://doi.org/10.1126/science.1121357>
- Carlos Eduardo. (2019). *Étude des mécanismes d'approvisionnement des précurseurs lipidiques des rhamnolipides et caractérisation mutationnelle de l'enzyme RhIA de Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire. Science biologie. Université de Québec.
- Chaker, H. (2012). *Régulation de l'adaptation de la bactérie Pseudomonas aeruginosa à son hôte : implication des métabolites du tryptophane*. Thèse de doctorat. Sciences agricoles. Université de Grenoble.
- Chamy, R., Rosenkranz, F. (2012). *Biodégradation life of science*. In Croatie : Chamy, Ronaldo
- Rosenkranz, Francisca. Chapitre 2 : Biosurfactants: Production and Applications. p, 31-62. <http://dx.doi.org/10.1039/C7RA00172J><https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics><http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.014>
- Chong, H., Li, Q. (2017). Microbial production of rhamnolipids : opportunities , challenges and strategies. *Microbial Cell Factories*, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0753-2>
- Chrzanowski, Ł., Ławniczak, Ł., Czaczyk, K. (2012). Why do microorganisms produce rhamnolipids? *Microbiology and Biotechnology*, 28(2), 401–419. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0854-8>

## Références bibliographiques

---

- Corbel, P. (2014). Le brevet : *un outil de coopération/exclusion*. In Paris : le Goff .Chapitre 2 : Stratégies concurrentielle : le renouveau théorique en pratique, pp. 23–47. <https://doi.org/10.13140/2.1.3903.2000>
- Darghout, S., Metheni, A. (2016). *Caractérisation morphologique, biochimique et mutagenèse des souches de Pseudomonas aeruginosa dans la région de Constantine*. Mémoire. Biologie Animale. Université de Frères Mentouri Constantine.
- Déziel, E. (1996). *Etude de la production de biosurfactants par des souches bactériennes métabolisant les hydrocarbures aromatiques polycycliques*. Mémoire. Microbiologie Appliquée. Université de Quebec.
- Edwards, J. R., Hayashi, J. A. (1965). Structure of a rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 111(2), 415–421. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(65\)90204-3](https://doi.org/10.1016/0003-9861(65)90204-3)
- Eslami, P., Hajfarajollah, H., Bazsefidpar, S. (2020). Recent advancements in the production of rhamnolipid biosurfactants by *Pseudomonas aeruginosa*. *RSC Advances*, 10(56), 34014–34032. <https://doi.org/10.1039/d0ra04953k>
- Fakruddin. (2012). Biosurfactant: Production and Application. *Petroleum & Environmental Biotechnology*, 03(04), 06. <https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000124>
- Gong, Z., Yang, G., Che, C., Liu, J., Si, M., He, Q. (2021). Foaming of rhamnolipids fermentation: impact factors and fermentation strategies. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01516-3>
- Greenberg, E. P. (1994). Quorum Sensing in Bacteria: the LuxR-LuxI Family of Cell Density-Responsive Transcriptional Regulators. *Bactériologie*, 176(2), 269–275.
- Gunther, N. W., Nun, A., Fett, W., & Solaiman, K. Y. (2005). Production de Rhamnolipides par *Pseudomonas chlororaphis*. *ASM Journals*, 71, 2288–2293. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2288>
- Gunther, N. W., Nun, A., Fett, W., Solaiman, K. Y. (2005). Production de Rhamnolipides par *Pseudomonas chlororaphis*. *ASM Journals*, 71, 2288–2293. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2288>

## Références bibliographiques

---

- Haba, E., Pinazo, A., Jauregui, O., Espuny, M. J., Manresa, A. (2003). Caractérisation physicochimique et Propriétés antimicrobiennes des rhamnolipides Produit par *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnologie Bioeng*, 81, 316–322.
- Hachaichi., Sadouk, Z. (2008). *Isolement et Caractérisation de Biosurfactants Bactériens*. Thèse de doctorat. Microbiologie. Université de Science et de la technologie houari boumediéne (U.S.T.H.B).
- Hentati, D. (2019). *Isolement et caractérisation des bactéries marines hydrocarbonoclastes , production des biosurfactants et étude de la biodiversité microbienne au sein de trois ports de Sfax*. Thèse de doctorat. Microbiologie et Parasitologie. Université de Montpellier.
- Herbi, C., Ouelhadj, A., Tazdait, D., Bouacem, K. (2020). *Etude bibliographique portant sur la production de biosurfactants par les microorganismes hydrocarbonoclastes*. Mémoire. Biochimie-Microbiologie. Université de Mouloud Mammer de Tizi-Ouzou.
- Irorere, V. U., Tripathi, L., Marchant, R., Mcclean, S., Banat, I. M. (2017). Microbial rhamnolipid production : a critical re-evaluation of published data and suggested future publication criteria. *Microbiol Biotechnol*, 101, 3941–3951. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8262-0>
- Jiang, J., Zu, Y., Li, X., Meng, Q., Long, X. (2020). Recent progress towards industrial rhamnolipids fermentation: Process optimization and foam control. *Bioresource Technology*, 298, 42. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122394>
- Khalfallah, Y., Madjrili, H. (2021). *Caractérisation , production de Biosurfactants : application pour la récupération du pétrole*. Mémoire. Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Larbi Ben M'hidi Oum el bouaghi.
- Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., Khedher, M. (2011). Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: Mécanismes et modes de régulations. *Annales de Biologie Clinique*, 69(4), 393–403. <https://doi.org/10.1684/abc.2011.0589>
- Kiran, G., Ninawe, A., Lipton, A., Pandian, V., Selvin, J. (2015). Biosurfactants rhamnolipidiques: implications évolutives, applications et perspectives d'avenir à partir de ressources marines inexploitées, *Critical reviews in biotechnology*, 1(19), 17.

## Références bibliographiques

---

- Lee, J., Zhang, L. (2014). The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Prtein et Cell*, 16. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0100-x>
- Madsen, J. K., Pihl, R., Møller, A. H., Madsen, A. T., Otzen, D. E., Andersen, K. K. (2015). The anionic biosurfactant rhamnolipid does not denature industrial enzymes. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00292>
- Maysam Sodagaril , Krutika Invally, L.-K. J. (2017). Maximise la production de rhamnolipides avec un faible moussage et un rendement élevé. *Enzyme and Microbial Technology*, 110, 1–8.
- Messaoudi, N., Elhamzaoui, S., Tellal, S., Rhorfi, A. (2011). *Etude épidémiologique des infections à Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Pharmacie. Université de Mohammed V.
- Mouffok, S., Kabouche, F. (2016). *Cinétique de production de biosurfactant(s) par une souche de Pseudomonas cultivée sur milieux empiriques et évaluation de deux effets : antimicrobien et stimulateur de croissance*. Mémoire. BMC. Université de Mouloud
- Moutinho, L. F., Moura, F. R., Silvestre, R. C., Silva, A. (2020). Microbial biosurfactants: A broad analysis of properties, applications, biosynthesis, and techno-economical assessment of rhamnolipid production. *Biotechnology Progress*, 37(2), 34. <https://doi.org/10.1002/btpr.3093>
- Nadjib, C. (2016). *Production des Biosurfactants par les Microorganismes et leurs Applications*. Thèse de doctorat. Science biologie. Université de Djillali liabes de sidi bel abbes.
- Neves, P., McCulloch, J., Mamizuka, E., Lincopan, N. (2014). *Biodégradation life of science*. In Croatia : R. Chamy, F. Rosenkranz. Chapitre 2 : Biosurfactants : Production and Applications. pp, 31-62 Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00283-4>
- Olivares, E. (2018). *Évaluation de l'impact des antibiotiques sur la formation de biofilms par P. aeruginosa : place de l'Antibiofilmogramme*. Thèse de doctorat. Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie. Université de Strasbourg.

## Références bibliographiques

---

- Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G. A., Piotrowska-Seget, Z., Cameotra, S. S. (2011). Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(1), 633–654. <https://doi.org/10.3390/ijms12010633>
- Rahim, R., Ochsner, U. A., Olvera, C., Graninger, M., Messner, P., Lam, J. S., Soberón-Chávez, G. (2001). Cloning and functional characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* rhIC gene that encodes rhamnolipin transferase 2, an enzyme responsible for di-rhamnolipid biosynthesis. *Molecular Microbiology*, 40(3), 708–718. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02420.x>
- Randhawa, K. K. S., Pattanathu, R. K. S. M. (2014). Rhamnolipid biosurfactants-past, present, and future scenario of global market. *Frontiers in Microbiology*, 5, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00454>
- Rupshikha Patowary<sup>1</sup>, Kaustuvmani Patowary<sup>1</sup>, Mohan Chandra Kalita<sup>2</sup>, S. D. (2016). Utilization of Paneer Whey Waste for Cost-Effective Production of Rhamnolipid Biosurfactant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 180(3), 383–399. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2105-9>
- Sahel, H., Djebbar, Y. (2018). *Optimisation de la production d'un biosurfactant issu d'une souche bactérienne isolée localement*. Mémoire. Génie des Procédés. Université de Blida 1.
- Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: Multifunctional biomolecules of the 21st century. *Molecular Sciences*, 17(3), 1–31. <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>
- Schellenberger, R. (2019). *Identification et caractérisation des acteurs protéiques de la membrane plasmique impliqués dans la perception des rhamnolipides chez Arabidopsis thaliana*. Thèse de doctorat. Biologie moléculaire et cellulaire. Université de Reims Champagne-Ardenne.
- Shah, M. U. H., Sivapragasam, M., Moniruzzaman, M., Yusup, S. B. (2016). A comparison of Recovery Methods of Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas Aeruginosa*. *Procedia Engineering*, 148, 494–500. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.06.538>

## Références bibliographiques

---

- Sharma, J., Sundar, D., Srivastava, P. (2021). Biosurfactants: Potential Agents for Controlling Cellular Communication, Motility, and Antagonism. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.727070>
- Sodagari, M. (2013). Optimization of production and recovery of rhamnolipids and study of their effect on bacterial attachment. *Chimical Engineering*, 8(1), 170.
- Sotirova, A., Avramova, T., Stoitsova, S., Lazarkevich, I., Lubenets, V., Karpenko, E., Galabova, D. (2012). The Importance of Rhamnolipid-Biosurfactant-Induced Changes in Bacterial Membrane Lipids of *Bacillus subtilis* for the Antimicrobial Activity of Thiosulfonates. *Current Microbiology*, 65, 8. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0191-7>
- Tan, Y. N., Li, Q. (2018). Microbial production of rhamnolipids using sugars as carbon sources. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0938-3>
- Thilleli, B., Eamireche, S. (2017). *Optimisation de l'effet de biosurfactant produit par la souche Pseudomonas sp sur la croissance de Lens culinaris*. Mémoire. Biotechnologie Microbienne. Université de Mouloud mammeride Tizi Ouzou.
- Tiso, T., Thies, S., Müller, M., Tsvetanova, L., Carraresi, L., Bröring, S., Jaeger, K. (2017). Rhamnolipids: Production, Performance, and Application. In *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* (pp. 587–622). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-50436-0>
- Tiso., Zauter, R., Tulke, H., Leuchtle, B., Li, W., Behrens, B., Wittgens, A., Rosenau, F., Hayen, H., Blank, M. (2017). Designer de rhamnolipides par réduction de la diversité des congénères : production et caractérisation. *Usines de Cellules Microbiennes*, 1–14.
- Varjani, S., Upasani, V. (2017). Revue critique sur l'analyse, la purification et la caractérisation des biosurfactants en utilisant le rhamnolipide comme biosurfactant modèle. *Bioressources Technologie*, 232, 389–397.
- Walter, V., Leitermann, F., Syldatk, C., Hausmann, C. (2010). *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. In Berlin : K. Timmis. Chapitre 49 : Rhamnolipides. pp, 3037-3053. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-775874>

## Références bibliographiques

---

- Wittgens, A., Rosenau, F. (2020). Heterologous Rhamnolipid Biosynthesis : Advantages , Challenges , and the Opportunity to Produce Tailor-Made Rhamnolipids. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.594010>
- Wu, M., Li, X. (2014). *Molecular Medical Microbiology*. In Tokyo : Y. Tang, M. Sussman, D. Liu, L. Poxton, J. Schwartzman. Chapitre 87 : *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. pp, 1547-1565. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00087-1>
- Xu, N., Liu, S., Xu, L., Zhou, J., Xin, F., Zhang, W., Qian, X., Li, M., Dong, W., Jiang, M. (2020). Enhanced rhamnolipids production using a novel bioreactor system based on integrated foam-control and repeated fed-batch fermentation strategy. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01716-w>
- Zheng, H., Fan, S., Liu, W., Zhang, M. (2020). Production and separation of *pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids using coupling technology of cyclic fermentation with foam fractionation. *Pre-Proof*, 148, 35. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.107776>
- Zhu, Y., Gan, J. J., Zhang, G. L., Yao, B., Zhu, W. J., Meng, Q. (2007). Reuse of waste frying oil for production of rhamnolipids using *Pseudomonas aeruginosa* zju.u1M. *Journal of Zhejiang University: Science A*, 8(9), 1514–1520. <https://doi.org/10.1631/jzus.2007.A1514>

### Sites-web

- 1- <https://au.news.yahoo.com/rhamnolipids-market-size-grow-usd-014000475.html>
- 2- <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/rhamnolipidsmarket>
- 3- <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/rhamnolipids-market>
- 4- <https://www.maximizemarketresearch.com/market-report/global-rhamnolipid-market/103014/>
- 5- <https://www.jeneilbiotech.com/>
- 6- <https://corporate.evonik.com/en/company>
- 7- <https://biotensidon.com/en/home/>
- 8- <https://www.agaetech.com/>



## Références bibliographiques

---

- 9- <https://www.glycosurf.com/about>
- 10- <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/surfactant/75698>

|  |   |
|--|---|
| <p align="center"><b>Année universitaire : 2021-2022</b></p>   | <p align="center"><b>Présenté par : BOUCHELAGHEME Hadil</b></p> <p align="center">HIMER Imane</p> <p align="center">ARRAR Hidayah</p> |
| <p align="center"><b>Titre : Revue bibliographique sur les Rhamnolipides synthétisés par <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b></p>   |   |
| <p align="center"><b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biologie moléculaire des microorganismes</b></p>   |   |
| <p><b>Résumé</b></p> <p>Les nouvelles recherches s'orientent vers l'étude de molécules d'origine microbienne entre autres celles présentant une activité de surface (Biosurfactants) qui attirent de plus en plus l'attention par rapport aux tensioactifs chimiques. Notre travail est une recherche bibliographique sur l'un des principaux types de biosurfactants qui sont les rhamnolipides, contenant du rhamnose comme fragment sucré lié aux chaînes d'acides gras hydroxylés. Ils ont des applications variées dans de nombreuses industries notamment pharmaceutique, alimentaire, cosmétique, agricole, pétrolière et ne représentent à l'heure actuelle qu'une faible part du marché global des surfactants. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> est le producteur le plus compétent de rhamnolipides. La production à l'échelle industrielle par des souches de <i>P. aeruginosa</i> isolées de différents endroits nécessite une optimisation des conditions de fermentation et une amélioration des souches par diverses stratégies de mutagenèse et d'ingénierie métabolique afin de diminuer le coût global et accroître le rendement et la disponibilité de ces rhamnolipides à des coûts compétitifs.</p> |   |
| <p><b>Mots-clés :</b> Rhamnolipides, industries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, fermentation, optimisation.</p>  |   |
| <p><b>Encadreur :</b> M<sup>me</sup> GUERGOURI I. (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p> <p><b>Examineur 1 :</b> M<sup>me</sup> BOUCHELOUKH W. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p> <p><b>Examineur 2 :</b> M<sup>me</sup> BOUZERAIB L. (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>   |   |