

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Blida -1-
Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie
Département de Biotechnologie



Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du diplôme de Master 2 en biotechnologies
Option : Biotechnologie microbienne

THEME

**Implication de la microbiologie en
biotechnologie environnementale**

Présenté par

Kouidri Linda

Zaibak Sarah

Membres de jury :

Mme Krimi. Z	Professeur	USDB1	Présidente
Mme Benousaid. N	MCB	USDB1	Examinatrice
Mme Tafifet. L	MCB	USDB1	Promotrice

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Nous voudrions remercier notre promotrice Dr. Tafifet.L qui nous a suivis dans la réalisation de ce travail. Nous la remercions pour son soutien, ses conseils, ses efforts et surtout ses encouragements.

Professeur Krimi. Z nous tenons à vous présenter nos sincères remerciements pour votre soutien, votre enseignement, d'avoir enrichi nos connaissances et de nous avoir orienté par vos conseils tout au long de notre cursus. Nous voulons vous dire que vos étudiants garderont toute leur vie un très bon souvenir de ces années d'études. Merci Chère Professeur de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos vifs remerciements s'adressent également à Dr. Benousaid. N d'avoir accepté de participer à ce jury autant qu'examinatrice.

Nous adressons nos remerciements à tous nos enseignants Pr.Krimi, Pr. Benchabene, Dr.Ammad, Dr.Bouchnek, Dr.Ayadi, Mme Benchabane, Mme Benkortby et Mme Sabri. Nous avons grandement reconnu votre soutien, vos conseils et votre qualité d'enseignement, tout au long de notre cursus universitaire.

Un grand merci à nos collègues de la promotion Biotechnologie Microbienne 2021, ainsi qu'à toute personne qui a aidé de près ou de loin à la réalisation de ce présent travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A l'âme de mon père 'Kouidri Rabah'

Cher papa, comme j'aurais aimé que tu sois avec moi et me voir dans la position que tu as souhaitée pour moi, je ne t'oublierai jamais, et je n'oublierai jamais tes encouragements et tes conseils que tu as donné tout au long de mes études, tu m'as appris que je dois toujours viser ma place avec les meilleurs. Je te promets de poursuivre le chemin jus 'qua la réalisation de votre rêve Insha-Allah.

A ma mère 'Boudries fetta'

Qui m'a toujours encouragé et m'a fourni toutes les conditions de réussite, tu es ma source de force. Merci pour tous vos sacrifices maman. Je t'aime.

A ma sœur Marwa et mon frère Amir

Merci pour vos encouragements, je vous souhaite tous les bonheurs.

Parfois les mots ne suffisent pas pour exprimer nos remerciements
les plus sincères.

'Alhamdolilah' pour toutes les chances qui m'a donné pour m'aider dans les mauvais moments que j'ai traversées. Merci **Allah**.

'Kouidri Linda'

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, reconnaissance envers mes parents

A ma chère mère

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice, Tes conseil ont toujours guidé mes pas vers la réussite, j'espère ne jamais te décevoir. Que dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, et te protège de tout mal.

A mon père

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serais demain et je ferais toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect. Que dieu te préserve des malheurs de la vie afin que tu demeures le flambeau illuminant mon chemin.

A ma Famille

Ma sœurs ; mes amies et plus particulièrement à ma une amie qui est très chère à mon cœur Fella, Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour exprimer mon affection, Tu es toujours là pour moi. Une présence chaleureuse, bienveillante, qui sait me faire du bien, Tu es la main qui m'aide à me relever quand je me sens triste, Merci pour tout. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

'Zaibak Sarah'

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Table des matières	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Glossaire	
Introduction.....	1
Chapitre I : Pollution et biotechnologie environnementale	4
1 Problèmes environnementaux mondiaux	4
2 Pollution environnementale.....	4
2.1 Origine de la pollution	4
2.1.1 Pollution d'origine naturelle.....	5
2.1.2 Pollution d'origine anthropique	5
2.2 Types de polluants.....	5
2.2.1 Polluants organiques	5
2.2.2 Polluants inorganiques.....	5
3 Dépollution de l'environnement.....	6
3.1 Choix de la méthode de dépollution.....	7
3.2 Types des traitements de la pollution	7
3.2.1 Traitements physiques	7
3.2.2 Traitements thermiques.....	8
3.2.3 Traitements chimiques.....	8
4 Dépollution biologique	9
4.1 Bio-dépollution et biotechnologie environnementale	10
4.2 Biotechnologie environnementale enjeux et implications	10
4.3 Méthodes de biorémédiation	11
4.3.1 Phytoremédiation	11
4.3.2 Remédiation animale.....	11
5 Biorémédiation par les microorganismes.....	11
5.1 Facteurs affectant la biorémédiation	12
5.1.1 Facteurs biologiques.....	12
5.1.2 Facteurs environnementaux	12
5.2 Types de biorémédiation par les microorganismes	13
5.2.1 Biorémédiation ex-situ	13
5.2.1.1 Biopiling.....	13

5.2.1.2	L'enfouissement (landfarming).....	13
5.2.2	Biorémédiation <i>in-situ</i>	13
5.3	Modes de biorémédiation.....	13
5.3.1	Bio-stimulation.....	14
5.3.2	Bio-augmentation	14
5.3.3	Compostage.....	14
5.3.4	Méthanisation.....	15
5.3.4	Biolixiviation	14
5.3.5	Biofiltration.....	15
5.4	Sélection, caractérisation du site et le choix de la méthode de biorémédiation	15
Chapitre II : Dépollution des sols contaminés par les métaux lourds par la biorémédiation.....		17
1	Métaux lourds	18
2	Biodégradation du Chrome (Cr)	19
2.1	Au niveau extracellulaire	19
2.2	Au niveau intracellulaire	19
2.3	Déterminants de résistance au chromate (CRD)	20
3	Exemple d'une étude de la biodégradation du chrome par <i>Pseudomonas</i> sp.	21
3.1	Screening des souches	22
3.2	Caractéristiques physiologiques et biochimiques et identification moléculaire	22
3.3	Efficacité d'élimination de Cr ⁶⁺ par <i>Pseudomonas</i> sp. Cr ¹³	22
4	Bioproduits utilisés pour la dépollution	23
Chapitre III : dépollution de déversements des hydrocarbures dans le milieu marin par la biorémédiation.....		25
1	Marée noire	26
2	Hydrocarbures pétroliers	26
2.1	Classification des hydrocarbures	26
3	Microorganismes marins hydrocarbonoclastes	27
4	Biodégradation bactérienne des hydrocarbures.....	29
4.1	Biodégradation du naphthalène un hydrocarbure aromatique polycyclique a deux noyaux aromatiques	29
4.1.1	Régulation génétique.....	30
4.1.2	Voies biochimiques	30
5	Exemple d'une étude de la dégradation du naphthalène par <i>Pseudomonas</i> sp.....	32
5.1	Site d'échantillonnage	32
5.2	Criblage de bactéries dégradantes du naphthalène.....	32
5.3	Test de viabilité bactérienne à l'aide du colorant TTC (Chlorure de triphényltétrazolium)	32
5.4	Caractérisation et identification des isolats potentiels	33

5.4.1	Coloration de Gram et identification biochimiques	33
5.4.2	Identification moléculaire	33
5.5	Test de biodégradation.....	34
5.5.1	Préparation de l'inoculum	34
5.5.2	Dosage de naphthalène	34
5.5.3	Extraction du naphthalène.....	35
5.6	Efficacité de dégradation de naphthalène	35
6	Bio-surfactants, des biomolécules à forte potentialité d'application dans la dégradation des hydrocarbures.....	36
7	Exemple de production d'un surfactant microbien par la souche SdK644 de <i>Marinobacter hydrocarbonoclasticus</i> pour améliorer la solubilisation du pétrole brut	37
7.1	Milieux et conditions de culture	37
7.2	Site d'échantillonnage	38
7.3	Isolement des bactéries marines.....	38
7.4	Criblage d'isolats capables de se développer sur du pétrole brut et produire des biosurfactants.....	38
7.5	Séquençage de l'ARNr 16S et analyse phylogénétique.....	39
7.6	Application des biosurfactants pour améliorer la solubilisation du pétrole brut.....	40
7.6.1	Production de biosurfactants.....	40
7.6.2	Caractérisation partielle du biosurfactant	41
7.6.3	Solubilisation du pétrole brut améliorée par les biosurfactants	42
7.6.4	L'effet de traitement de solubilisation	43
7.6.5	Effet globale de traitement	44
	Conclusion.....	46
	Références bibliographiques.....	48

Implication de la microbiologie en biotechnologie environnementale

Résumé

La pollution environnementale représente l'un des défis mondiaux les plus graves qui affecte la biodiversité, les écosystèmes, l'aspect socioéconomique et la santé humaine.

Ce problème environnemental nécessite une considération croissante à adopter des techniques de dépollution de l'environnement. Cependant, la dépollution par les techniques traditionnelles sont très coûteuses et peuvent présenter des impacts sur la santé humaine et la biodiversité.

Les chercheurs se sont maintenant orientés vers la dépollution biologique par l'utilisation des techniques de biotechnologie environnementale.

Il existe différentes méthodes de biodépollution telles que la phytoremédiation, la remédiation animale et les procédés de biorémédiation qui font appel aux capacités naturelles des micro-organismes en particulier les bactéries dont les *Pseudomonas* spp. sont les plus potentiels et les champignons, permettant de dégrader par plusieurs mécanismes certains polluants comme les métaux lourds et les hydrocarbures.

La méthode de biorémédiation des métaux lourds et les hydrocarbures pétroliers, est approuvée avec des résultats très importants, mais l'utilisation à grande échelle reste faible et moins appliquée.

Les biorémédiateurs peuvent sécréter des biomolécules comme les exopolysaccharides (EPS) et les biosurfactants qui peuvent dégrader des polluants tels que les métaux lourds et les hydrocarbures pétroliers.

Dans ce contexte, nous avons traité 3 articles scientifiques récents sur : la dégradation de chrome par *Pseudomonas* sp. Cr13, la dégradation de naphthalène par *Pseudomonas* sp.SA3 et la production de biosurfactants par *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*.

Mots clés : Environnement, pollution, biotechnologie environnementale, *Pseudomonas* spp.

Implication of microbiology in environmental biotechnology

Abstract

Environmental pollution is one of the most serious global challenges affecting biodiversity, ecosystems, socio-economics and human health.

This environmental problem requires increasing consideration to adopt environmental remediation techniques. However, depollution by traditional techniques is very expensive and can have impacts on human health and biodiversity.

Researchers have now turned to biological remediation with environmental biotechnology techniques.

There are different bio-pollution methods such as phytoremediation, animal remediation and bioremediation methods, which call on the natural capacities of microorganisms, in particular bacteria including *Pseudomonas* spp., are the most potential and fungi, allowing the degradation by several mechanisms of certain pollutants such as heavy metals and hydrocarbons.

The method of bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons is approved with very important results, but large-scale use remains weak and less applied.

Bioremediators can secrete biomolecules like exopolysaccharides (EPS) and biosurfactants, which can degrade pollutants such as heavy metals and petroleum hydrocarbons.

In this context, we treated 3 recent scientific articles on: chromium degradation by *Pseudomonas* sp. Cr13, degradation of naphthalene by *Pseudomonas* sp.SA3 and production of biosurfactants by *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*.

Key words : Environment, pollution, environmental biotechnology, *Pseudomonas* spp.

تأثير التكنولوجيا الحيوية في علم الأحياء الدقيقة البيئي

المخلص

يعد التلوث البيئي أحد أخطر التحديات العالمية التي تؤثر على التنوع البيولوجي والنظم الإيكولوجية والاقتصاد الاجتماعي وصحة الإنسان.

تطلب هذه المشكلة البيئية مزيداً من الاهتمام لاعتماد تقنيات المعالجة البيئية. ومع ذلك، فإن إزالة التلوث عن طريق التقنيات التقليدية مكلف للغاية ويمكن أن يكون له آثار على صحة الإنسان والتنوع البيولوجي.

هناك طرق مختلفة لإزالة التلوث البيولوجي مثل المعالجة النباتية، والمعالجة الحيوانية وعمليات المعالجة البيولوجية التي تتطلب القدرات الطبيعية للكائنات الدقيقة، ولا سيما البكتيريا والفطريات، لتحطيم بعض الملوثات مثل المعادن الثقيلة والهيدروكربونات من خلال عدة آليات.

تمت الموافقة على طريقة المعالجة الحيوية للمعادن الثقيلة والهيدروكربونات البترولية بنتائج مهمة للغاية، لكن الاستخدام على نطاق واسع لا يزال منخفضاً وأقل تطبيقاً.

يمكن للمعالجات الحيوية أن تفرز الجزيئات الحيوية مثل عديدات السكاريد الخارجية (EPS) والمواد الخافضة للتوتر السطحي التي يمكن أن تحلل الملوثات مثل المعادن الثقيلة والهيدروكربونات البترولية.

في هذا السياق، عالجتنا 3 مقالات علمية حديثة حول تحلل الكروم بواسطة *Pseudomonas sp. Cr13*، تحلل النفثالين بواسطة *Pseudomonas sp. SA3* وإنتاج المواد الخافضة للتوتر السطحي بواسطة *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*.

الكلمات المفتاحية: البيئة، التلوث، التكنولوجيا الحيوية البيئية، *Pseudomonas spp.*، المنتجات الحيوية.

Liste des Figures

Figure 1 : Pollution environnementale causé par des déchets et les activités industrielles	4
Figure 2 : Pyramide des effets à long terme sur la santé respiratoire de la pollution atmosphérique et de leurs conséquences sur la prise en charge et le recours aux soins Error! Bookmark not defined.	
Figure 3 : Facteurs impliqués dans le choix d'une technologie d'assainissement.....	16
Figure 4 : Mécanisme de biodégradation du Cr(VI)	20
Figure 5 : Représentation schématique du principal contexte génomique des gènes chr chez certaine bactéries	21
Figure 6 : Classification des hydrocarbures	27
Figure 7 : Régulation des deux opérons « supérieur et méta » sur le plasmide NAH7 de <i>Pseudomonas putida</i> Gl	30
Figure 8 : Voie métabolique de dégradation du naphthalène par les bactéries	31
Figure 9 : Arbre phylogénétique des isolats potentiels des souches <i>Pseudomonas</i> sp. SA3 et SB5	34
Figure 10 : Biodégradation du naphthalène par <i>Pseudomonas</i> sp. SA3 et <i>Pseudomonas taiwanensis</i> SB5.	36
Figure 11 : Arbre phylogénétique basé sur des séquences de gènes d'ARNr 16S dans le rayonnement du genre <i>Marinobacter</i> et d'autres genres microbiens	40
Figure 12 : Effet de la concentration de biosurfactant sur les changements de tension superficielle et la détermination de la concentration micellaire critique.....	42
Figure 13 : Chromatogramme montrant l'abondance des composés aliphatiques dans l'échantillon de pétrole brut	43
Figure 14 : Évaluation de la solubilisation des hydrocarbures saturés du pétrole brut suite aux traitements appliqués.....	44
Figure 15 : Évaluation de la solubilisation des hydrocarbures saturés du pétrole brut suite aux traitements appliqués.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux polluants organiques et inorganiques	6
Tableau 2 : Principales techniques de dépollutions utilisées actuellement.....	9
Tableau 3 : Principaux microorganismes de biodégradation des métaux lourds.....	18
Tableau 4 : Types de sols dans le Bassin fluvial Xijiang dans la région de Guangxi Zhuang, en Chine.....	22
Tableau 5 : Principales souches bactériennes commercialisées pour les EPS.....	23
Tableau 6 : Exemples des microorganismes qui dégradent les hydrocarbures.....	27
Tableau 7 : Composition des milieu de cultures.....	37

Liste des abréviations

AcSIR : Académie de la Recherche Scientifique et Innovante.

BTEX : Benzène, Toluène, Ethylbenzène et *o*, *m*, *p*-Xylènes.

CMM : Charge Mondiale de Morbidité.

CSIR : Institut central de recherche sur le sel et les produits chimiques marins.

EDTA : Acide Ethyle Diamine-Tétra Acétique

EPS : Exopolysaccharides

GC-MC : Chromatographie en phase gazeuse-spectrophotométrie de masse.

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Oxydase

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

OHCBS : Bactéries hydrocarbonoclastes obligatoires.

PIB : Produit intérieur brute.

pMOL28 : plasmide MOL32

ppm : Parties par million.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

SCHR : Small Chromate Ion Transporter

tnpR : Transposase Revolvase

TPF : Triphényl formazan.

TTC : Chlorure de triphényltétrazolium.

Glossaire

Analyse de variance ANOVA : Méthode statistique permet d'étudier le comportement d'une variable quantitative à expliquer en fonction d'une ou de plusieurs variables qualitatives, aussi appelées nominales catégorielles.

Biocapteurs : Dispositif se compose d'un transducteur et d'un élément biologique qui peuvent être une enzyme, un anticorps ou un acide nucléique.

Biofilm bactérien : Communauté multicellulaire plus ou moins complexe, souvent symbiotique, de micro-organismes, adhérant entre eux et à une surface, et marquée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice. Il se forme généralement dans l'eau ou en milieu aqueux.

Biosurveillance : Méthode utilisant le vivant (organisme ou ensemble d'organismes à tous les niveaux d'organisation biologique moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique et écologique) pour surveiller l'évolution, des modifications, des altérations, ou la stabilité de la qualité d'un milieu.

Différence significative minimale de Fisher : Méthode statistique est utilisée dans le cadre d'une ANOVA pour créer des intervalles de confiance pour toutes les différences deux à deux entre des moyennes de niveau de facteur.

Excavation : Action de creuser un terrain, un sol, et son résultat. Une excavation peut être exécutée de main d'homme, ou être le résultat de phénomènes naturels.

Mangrove : Ecosystème de marais maritime incluant un groupement de végétaux spécifiques principalement ligneux.

Stratosphère : C'est la seconde couche de l'atmosphère terrestre.

Troposphère : C'est la couche de l'atmosphère terrestre comprise entre la surface du globe et la stratosphère.

Xénobiotiques : Molécules chimiques polluantes et parfois toxiques à l'intérieur d'un organisme, y compris en faibles voire très faibles concentrations. Deux cas typiques de xénobiotiques sont les pesticides, les médicaments, en particulier les antibiotiques.

Introduction

Le problème écologique est une modification de l'environnement naturel, entraînant des impacts anthropiques ou des catastrophes naturelles ; conduisant à une perturbation de la structure et du fonctionnement de la nature. Parmi les problèmes environnementaux mondiaux les plus importants auxquels l'homme est confronté : La pollution environnementale **(Kovalenko et Kovalenko, 2018)**.

La pollution est l'accumulation de polluants toxiques dans l'air, le sol et le milieu marin, provoquant la réduction de la capacité des sites contaminés à réaliser les fonctionnements biologiques **(Pushpanathan et al., 2014)**. La pollution représente l'un des défis mondiaux les plus graves qui affecte la biodiversité, les écosystèmes et la santé humaine **(Jan et al., 2016 ; Pandey et Singh, 2019)**. Afin de réduire ces conséquences, l'application des techniques de dépollution de l'environnement est indispensable.

La dépollution de l'environnement a pour but de restituer les sites dans un état aussi proche que possible de l'état antérieur à la pollution. le traitement mis en œuvre est souvent une combinaison de différentes techniques physiques, thermiques et chimiques **(Samaksaman et al., 2016)**.

Les techniques traditionnelles de traitement des sols et milieux aquatiques pollués sont très compliquées avec des coûts souvent élevés **(Origo et al., 2012)**. Ainsi le traitement de certains polluants par des méthodes conventionnelles telles que la dégradation chimique peuvent générer d'autres contaminants. Ces problèmes déterminent une considération croissante à accorder au développement des alternatives de traitements biologiques économiques et fiables **(Dervash et al., 2020)**.

La biotechnologie environnementale est l'une des options utilisée pour minimiser la dégradation de l'environnement **(Dervash et al., 2020)**. La principale raison du développement de la biotechnologie environnementale et de la microbiologie au fil des années est la potentialité des méthodologies avancées qui ont été rapidement et efficacement adaptées à l'environnement **(Joydeep, 2014)**.

Il existe différentes technologies de la biodépollution telles que la phytoremédiation, la remédiation animale et la biorémédiation par l'exploitation des microorganismes dits bioremédiateurs pour la biodégradation des polluants **(Endeshaw et al., 2017)**.

Les procédés de biorémediation font appel aux capacités naturelles des micro-organismes à dégrader certains polluants (David, 2013). De nombreux travaux de recherche ont été menés afin de caractériser ces microorganismes et d'identifier leurs métabolites de biodégradation afin de les utiliser en bio-dépollution (Dhahri, 2014). Ces méthodes peuvent s'effectuer *ex-situ* (hors site) ou *in-situ* (sur site) par différents modes tels que la biostimulation, la bioaugmentation, compostage, la biolexiviation et la biofiltration. Ces techniques ont reçu une attention considérable ces dernières années en tant que stratégies de biodépollution (Lacalle et al., 2020).

Il existe différents types des polluants tels que Les métaux lourds qui constituent un groupe de polluants chimiques inorganiques, leur présence dans un environnement élimine les molécules biologiques présentes, ce qui entraîne une augmentation de la toxicité pour les plantes et l'environnement (kure et al., 2018). D'autre part, le pétrole qui constitue une source importante de carbone et d'énergie très abondant dans l'environnement marin, permettant la croissance de nombreux microorganismes (Zenati, 2018).

Certains micro-organismes possèdent des mécanismes potentiels de dégradation des métaux lourds et les hydrocarbures comme des espèces de genre *Xanthobacter*, *Penicillium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Mycrobacterium*, *Nitrosomonas* (kure et al., 2018). Et les bactéries marines hydrocarbonoclastes dites "bactéries hydrocarbonoclastes obligatoires" (Obligate Hydrocarbonoclastic Bacteria, OHCBs) (Zenati, 2018).

Les nouvelles approches des techniques de biodépollution indiquent qu'il existe des microorganismes capables de sécréter des biomolécules tels que les exopolysaccharides (EPS) et les biosurfactants utilisés largement dans la biodégradation des métaux lourd et les hydrocarbures pétrolières (Zenati 2018 ; Zaheer et al., 2019).

Notre étude bibliographique prend toute son importance en mettant l'accent sur la pollution et les différentes méthodes classiques de dépollution de l'environnement, la biodépollution et les différents types de biorémediation.

D'autre part, nous avons traité trois articles comme exemples d'étude sur le plan pratique des agents potentiels de biodégradation de polluants en particulier :

- ✓ La biodégradation de chrome (Cr) par la bactérie *Pseudomonas* sp. Cr13
- ✓ La biodégradation de naphthalène par la bactérie *Pseudomonas* sp. SA3.
- ✓ La production des biosurfactants par bactérie *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*.



Chapitre I

**Pollution et biotechnologie
environnementale**

1 Problèmes environnementaux mondiaux

Le problème écologique est une modification de l'environnement naturel, entraînant des impacts anthropiques ou des catastrophes naturelles ; conduisant à une perturbation de la structure et du fonctionnement de la nature. Parmi les problèmes environnementaux mondiaux les plus importants auxquels l'homme est confronté : La pollution environnementale, problèmes de déchets, réduction du patrimoine génétique de la biosphère etc (**Kovalenko et Kovalenko, 2018**) (**Figure 1**).



Figure1 : Pollution environnementale causé par des déchets et les activités industrielles (**Noix, 2021**).

2 Pollution environnementale

La pollution de l'environnement est un problème majeur du monde, elle influe principalement sur la santé humaine, des animaux et des écosystèmes (**Malik Muhammad et al., 2017**). Le mot pollution vient du latin polluere "salir, souiller" et pollutio "salissure, souillure", c'est au 18^e siècle seulement qu'apparaît l'emploi actuel de ce mot (**Carbonnel, 1997**). Selon **Kumar (2020)**, la pollution de l'environnement est caractérisée comme «l'altération des parties physiques et organiques du cadre terre / air à un tel degré, que les procédures environnementales ordinaires sont influencées de manière antagoniste ce qui entraîne une pollution de l'air, de l'eau et du sol et un effet néfaste sur la biodiversité.

2.1 Origine de la pollution

Les sources de polluants environnementaux varient considérablement de naturelles à anthropiques.

2.1.1 Pollution d'origine naturelle

Il existe plusieurs sources naturelles de pollution, à savoir : Les sources normales de dioxyde de soufre incluant les dégagements des volcans, la décomposition biologique et les feux de forêts. Ainsi, l'ozone est un polluant photochimique secondaire formé au niveau du sol à cause de réactions chimiques avec le soleil. En outre, les sources naturelles de pollution peuvent être constituées de particules en suspension comme les orages de poussières, des composés organiques volatils (COVs) qui sont produits naturellement par les plantes comme l'isoprène émis par la végétation et le pollen avec une concentration plus importante pendant la période de croissance (**Rebouh, 2017**).

2.1.2 Pollution d'origine anthropique

La contamination anthropique est une forme de pollution produite directement par les activités humaines (**Ngozi et Arihilam, 2019**). La propagation de la pollution est due à divers polluants, dont les principaux facteurs sont principalement l'explosion démographique, l'augmentation de l'agriculture, l'utilisation des automobiles, déversements et fuites, les déchets industriels et agricoles et l'urbanisation.

Cependant, l'élimination des déchets et le traitement des effluents industriels est un problème mondial auquel toutes les industries sont confrontées. (**Sakshi et al., 2018**).

2.2 Types de polluants

Les polluants peuvent être classés selon leurs natures en polluants organiques et inorganiques (**Tableau 1**).

2.2.1 Polluants organiques

Les polluants organiques (PO) comptent parmi les substances chimiques les plus dangereuses rejetées par l'homme dans l'environnement ainsi que dans les tissus vivants par bioaccumulation. Les polluants organiques sont principalement les dioxines, les hydrocarbures, les dérivés du phénol (bisphénol-A), les pesticides, les surfactants et les principes actifs. Chaque famille de polluants présente des propriétés physico-chimiques différentes qui déterminent leur devenir dans les sols, dans l'air ou en milieu aqueux et essentiellement leur comportement dans l'environnement (**Fedeila, 2019**).

2.2.2 Polluants inorganiques

Les substances minérales formées à partir de l'ensemble des éléments chimiques (une centaine environ), ne forment malgré leur diversité qu'un nombre beaucoup plus restreint de composés et dont les masses moléculaires restent limitées. Ces composés peuvent se classer en

deux catégories en fonction de leur polarité : Les anions de polarité négative largement hydrosolubles se retrouvant rapidement dans les nappes phréatiques et les cations de polarité positive qui sont présent fréquemment aujourd'hui dans la famille des métaux lourds

En effet, la pollution par les métaux serait plus importante que celles cumulées des déchets organiques et radioactifs. Que ce soit dans les effluents gazeux, dans l'air ambiant, dans les gaz à émission ou dans les sols ; les métaux lourds s'adsorbent, s'amalgament et se complexent. Ils sont pour la plupart très nocifs, même à l'état de traces. Leur toxicité dépend de leur concentration mais aussi de leur forme chimique que l'on appelle spéciation des métaux. (Jullien, 2014).

Tableau 1 : Principaux polluants organiques et inorganiques (Jullien, 2014).

Polluants organiques	Polluants inorganiques	
<ul style="list-style-type: none"> • Hydrocarbures aliphatiques (alcanes, acènes). • Hydrocarbures aromatiques monocycliques (benzène, toluène, xylènes). • Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). • Hydrocarbures halogènes (solvants chlorés, chlorobenzènes, dioxines, furannes). • Hydrocarbures oxygénés (acides, esters, aldéhydes, alcools). • Hydrocarbures azotes (pesticides). • Hydrocarbures soufre (pesticides). 	Anions de polarité positive.	Anions de polarité négative.
	<p>Les métaux lourds :</p> <ul style="list-style-type: none"> Le plomb (Pb). Le mercure (Hg). Le cadmium. (Cd). Le zinc (Zn). Le nickel (Ni). Le chrome (Cr). Le cuivre (Cu). 	<ul style="list-style-type: none"> Les chlorures. Les phosphates. Les nitrates. Les nitrites. Les cyanures. Les Sulfates.

La pollution présente une menace la stabilité des écosystèmes de la terre, compromet le développement économique et social des nations et met en danger la santé de milliards de personnes (Rockström et al., 2013). Ces conséquences exigent l'intervention de différentes techniques pour la dépollution de l'environnement.

3 Dépollution de l'environnement

La dépollution permet de restituer les sites dans un état aussi proche que possible de l'état antérieur à la pollution. En outre, la ou les techniques de traitement ne doivent pas être plus polluantes que le résultat de la dépollution.

Les critères auxquels doivent répondre les techniques de dépollution sont :

- Enlever ou neutraliser les matières incriminées et peser aussi peu que possible sur les ressources mises en œuvre (eau, air, énergie, capital...).

- Ne pas provoquer d'émissions secondaires (eau et air du processus) contenant des polluants.
- Obtenir un taux important de recyclage du matériau traité,
- Minimiser la quantité et le danger potentiel des matières résiduelles
- Ne pas produire de nouvelles substances toxiques par l'enlèvement ou le transfert de celles déjà existantes (**Nouri et Haddioui, 2016**).

3.1 Choix de la méthode de dépollution

Il est très difficile d'associer une technologie à un type de pollution. Par ailleurs, pour répondre aux exigences de temps, d'efficacité et d'espace ; le traitement mis en œuvre est souvent une combinaison de différentes techniques. D'une manière générale, le choix de la technique (ou filière de traitement) dépendra des caractéristiques intrinsèques des techniques (rendement, mise en place) et des contraintes spécifiques au site (**Colombano et al., 2010**). Parmi les principales propriétés : Les caractéristiques environnementales du site (géologie, hydrogéologie, topographie, hydrologie, météorologie), les polluants présents (nature, quantité, comportement physicochimique, toxicité), les objectifs de la qualité de milieu (eau, gaz, sol), délais d'exécution, les paramètres liés à l'environnement (odeurs, bruits, poussier...etc.), contexte économique et réglementaire, les usages présents et futures du site (sensible, non sensible) et les critères sociopolitique (**Daoud, 2015**).

Par la suite, le choix d'une technique sera validé si nécessaire par des essais d'orientation et d'évaluation permettant de déterminer les conditions d'applicabilité dans le site et l'efficacité des objectifs de réhabilitation. Par la suite, ces essais sont suivis des études plus détaillées c'est-à-dire un avant-projet détaillé. Ce choix devra être accepté par toutes les parties prenantes du projet. (**Colombano et al., 2010**)

3.2 Types des traitements de la pollution

Trois principales méthodologies peuvent s'appliquer pour le traitement de polluants (**Tableau 2**) dont : les traitements physiques, thermiques et chimiques (**Nouri et Haddioui, 2016**).

3.2.1 Traitements physiques

Les méthodes physiques constituent la grande majorité des techniques utilisées. Certaines techniques ont pour principe d'immobiliser la pollution sur place en la confinant, la solidifiant ou en le stabilisant. D'autres méthodes transfèrent et concentrent la pollution vers

des points de récupération par des flux pour leur transport. Ces techniques combinent la plupart du temps les trois principes d'application : *in-situ*, *sur site* et *hors site*. Les actions sur place servent généralement pour le traitement de l'air et de l'eau (Daoud, 2015).

La technique physique la plus répandue actuellement consiste à injecter des fluides dans le sol afin de transférer et concentrer la pollution vers des points de récupération. Cette technique de «lavage des sols» préalablement excavés peut être réalisée à pression normale ou haute pression. L'eau est ensuite dépolluée par passage dans une station d'épuration adaptée au polluant, l'air chargé en vapeurs toxiques est filtré sur le charbon actif. Cette méthode s'applique sur la plupart des polluants des sols granuleux. Elle atteint des rendements de 80 % et peut être améliorée si elle est associée à un traitement biologique ou en ajoutant des tensioactifs (Race et al., 2016).

3.2.2 Traitements thermiques

Le traitement thermique est une technologie réalisable en raison de sa méthode commune et élimine efficacement les contaminants (Samaksaman et al., 2016). Ces traitements utilisent la chaleur pour détruire le polluant (incinération), l'isoler (désorption thermique), ou le rendre inerte (vitrification) (Colombano et al., 2010)

Ces techniques peuvent être réalisées sur le site même «*on-site*» ou sur des sites appropriés «*hors-site*» comme une usine d'incinération. Cette méthode est adaptée aux sols contaminés par des composés organiques facilement oxydables et convertibles en CO₂ et H₂O. Il est nécessaire de procéder à une excavation des sols, un broyage et un tamisage avant le traitement thermique. Il existe deux méthodes de chauffage :

- Le chauffage direct où le sol est chauffé à 1 000°C directement en introduisant de l'oxygène.
- Le chauffage indirect où le sol est mis dans un four étanche sans contact avec la source de chaleur. La température avoisine les 800 °C, suffisante pour extraire les polluants par l'intermédiaire des vapeurs dégagées (Samaksaman et al., 2016).

3.2.3 Traitements chimiques

Le traitement chimique est évidemment lié au nettoyage humide mais implique dans ce cas une réaction chimique entre le liquide appliqué (généralement à base d'eau) et le polluant à éliminer. Cette réaction peut être obtenue tout simplement en ajustant le pH de l'eau ou la réaction peut être plus sophistiquée. Un agent chélateur tel que l'acide oxalique ou l'acide

éthyle diamine-tétra acétique (EDTA) peuvent être utilisés pour entourer et solubiliser des cations spécifiques (Turner-Walker, 2012).

L'extraction par solvant est une technologie prometteuse pour la dépollution des sols. Il s'agit d'un processus de séparation et de concentration *ex-situ* (hors site), dans lequel un liquide non aqueux est utilisé pour éliminer les contaminants organiques. L'efficacité de l'extraction des polluants du sol dépend de la réalisation d'un contact étroit entre le sol et le mélange de solvants (Silva et al., 2005).

Tableau 2 : Principales techniques de dépollutions utilisées actuellement (Daoud, 2015).

Techniques	<i>In situ</i>	<i>Ex situ</i> ou on site
Physiques	<ul style="list-style-type: none"> • Ventilation de la zone non saturée. • Extraction double phase • Barbotage <i>in situ</i> (ou injection et bullage d'air <i>in situ</i>). • Pompage et traitement. • Pompage/écrémage. • Confinement par couverture. • Confinement vertical. • Piège hydraulique ou confinement hydraulique. • Solidification/stabilisation <i>in situ</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> • Excavation des sols. • Tri granulométrique. • Lavage à l'eau. • Encapsulation on site • élimination en centres de stockage des déchets. • Solidification/stabilisation.
Chimiques	<ul style="list-style-type: none"> • Lavage <i>in situ</i>. • Oxydation chimique <i>in situ</i>. • Réduction chimique <i>in situ</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mise en solution • Extraction chimiques. • Oxydation et réduction chimiques.
Thermiques	<ul style="list-style-type: none"> • Vitrification • Désorption thermique <i>in situ</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> • Incinération. • Désorption thermique. • Vitrification. • Pyrolyse.

4 Dépollution biologique

Le choix prioritaire des techniques biologiques pour dépolluer les sols s'explique grandement par leur coût moyen nettement inférieur aux autres techniques. Les traitements biologiques font appel aux capacités naturelles des micro-organismes à dégrader certains polluants, plus particulièrement, des bactéries ou des biofilms bactériens pour éliminer les polluants toxiques des différents milieux naturels (David, 2013).

La réussite d'une bio-dépollution repose sur la présence de ces bactéries capables à biodégrader les polluants présents. Toutefois, dans les sites contaminés par des éléments toxiques, des bactéries résistant aux polluants présents et réussissant à les métaboliser, ont été isolées. De nombreux travaux de recherche ont été menés afin de caractériser ces microorganismes et d'identifier leurs métabolites de biodégradation afin de les utiliser en bio-dépollution (**Dhahri, 2014**).

4.1 Bio-dépollution et biotechnologie environnementale

La durabilité environnementale est l'un des plus grands problèmes auxquels l'humanité est confrontée. Il est nécessaire de faire de la planète un écosystème durable et habitable pour les générations futures par l'amélioration des méthodes existantes, mais également en traitant des ressources naturelles polluées par des moyens naturels (**Dervash et al., 2020**).

Malheureusement, certains contaminants environnementaux sont persistants et toxiques et peuvent s'accumuler dans l'environnement. De plus, le traitement de certains polluants par des méthodes conventionnelles, telles que la dégradation chimique, l'incinération ou la mise en décharge, peuvent générer d'autres contaminants, qui s'accumulent à la grande variété de déchets nocifs présents dans l'environnement. Ces problèmes déterminent une considération croissante à accorder au développement d'une combinaison avec des alternatives de traitements biologiques économiques et fiables.

La biotechnologie environnementale est l'une des options qui permet de minimiser la dégradation de l'environnement (**Dervash et al., 2020**). La principale raison du développement de la microbiologie environnementale et de la biotechnologie au fil des ans est l'émergence de méthodologies avancées en biotechnologie qui ont été rapidement et efficacement adaptées à l'environnement (**Joydeep, 2014**).

4.2 Biotechnologie environnementale enjeux et implications

Des techniques avancées sont désormais possibles pour le traitement de déchets et la dégradation des polluants par l'utilisation des organismes vivants, ou pour le développement des produits, des procédés de recyclage.

Ces techniques permettent de préserver les ressources naturelles non renouvelables et l'énergie grâce à : l'amélioration des traitements des déchets solides et des eaux usées, la biorémediation (nettoyage des contaminations), la phytoremédiation, la biosurveillance, une

production plus propre (fabrication avec moins de pollution ou moins de matières premières) et le génie génétique pour la protection et le contrôle de l'environnement (Ji dong, 2021).

4.3 Méthodes de biorémediation

Il existe différentes méthodes de bio-dépollution telles que la phytoremédiation, la remédiation animale et la biorémediation par les microorganismes.

4.3.1 Phytoremédiation

Afin de pallier les principales limitations des méthodes actuellement disponibles dans les stratégies de dépollution, les recherches s'orientent depuis quelques années vers l'utilisation de plantes supérieures. Certaines plantes dites métalphytes utilisées dans cette méthode sont appelées hyper accumulateurs (Mishra *et al.*, 2020). Ces plantes sont capables de se développer normalement sur des sites fortement contaminés par divers métaux. Ces végétaux peuvent également stocker massivement les métaux dans leurs parties aériennes et peuvent être utilisées sur des substrats solides (sols pollués), liquides (eaux contaminées) ou gazeux (filtration d'air chargé en composés nocifs volatils) (Abedelly, 2006 ; Mahar *et al.*, 2016).

4.3.2 Remédiation animale

La remédiation animale dépend des caractéristiques de certains animaux inférieurs adsorbant et dégradant les métaux lourds, donc éliminant et inhibant leur toxicité. Les vers de terre représentent une composante majeure de la macrofaune du sol dans la plupart des écosystèmes terrestres. Les vers de terre augmentent la disponibilité des métaux lourds dans certaines situations et aident à maintenir la structure et la qualité du sol. L'introduction de vers de terre dans les sols contaminés par des métaux a été suggérée comme une aide pour les processus de phytoremédiation (Lemtiri, 2015).

5 Biorémediation par les microorganismes

Les micro-organismes sont largement distribués sur la biosphère en raison de leur capacité métabolique très impressionnante et ils peuvent facilement se développer dans un large éventail de conditions environnementales. La polyvalence nutritionnelle des micro-organismes peut également être exploitée pour la biodégradation des polluants. la biorémediation se poursuit en fonction de la capacité de certains micro-organismes à transformer, modifier et utiliser des polluants toxiques afin d'obtenir une production d'énergie et de biomasse (Endeshaw *et al.*, 2017).

Les biorémédiateurs sont des agents biologiques utilisés pour la biorémediation afin de nettoyer les sites contaminés. Les bactéries, les archées et les champignons sont typiques de la biorémediation principale impliqués par leurs voies enzymatiques en agissant comme des biocatalyseurs et facilitant la progression des réactions biochimiques qui dégradent le polluant (**Strong et Burgess, 2008 ; Endeshaw et al., 2017**). D'autre part, l'utilisation de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) capables de croître en présence de divers contaminants, offre une solution durable et écologique (**Sayed, 2015**).

5.1 Facteurs affectant la biorémediation

Le contrôle et l'optimisation des processus de biorémediation est un système complexe en raison de nombreux facteurs biologiques et environnementaux.

5.1.1 Facteurs biologiques

Le taux de dégradation du polluant dépend souvent de la concentration du contaminant et de la quantité de catalyseur qui représente le nombre d'organismes capable de métaboliser le contaminant ainsi que la quantité d'enzyme (s) produite par chaque cellule. L'expression d'enzymes spécifiques par les cellules peut augmenter ou diminuer le taux de dégradation des contaminants. En outre, le degré de métabolisme des enzymes spécifiques aux contaminants doit être pris en compte et leur «affinité» pour le contaminant ainsi que la disponibilité du contaminant sont largement nécessaires. Aussi, d'autres facteurs incluent la mutation, le transfert horizontal de gènes, l'interaction par compétition, succession et prédation, sa croissance jusqu'à ce que la biomasse critique soit atteinte, la taille et la composition de la population (**Boopathy, 2000 ; Madhav et Mohini, 2012**).

5.1.2 Facteurs environnementaux

Les caractéristiques métaboliques des microorganismes et les propriétés physico-chimiques des contaminants ciblés déterminent les interactions possibles au cours du processus. L'interaction réelle réussie entre les deux, cependant, elle dépend des conditions environnementales du site de l'interaction.

La croissance et l'activité des microorganismes sont affectées par le pH, la température, l'humidité, la structure du sol, la solubilité dans l'eau, les nutriments et les caractéristiques du site. Ainsi, leur activité dépend aussi du potentiel redox, la teneur en oxygène, le manque de ressources humaines qualifiées dans ce domaine et la biodisponibilité physico-chimique des

polluants (concentration de contaminants, type, solubilité, structure chimique et toxicité) (Endeshaw *et al.*, 2017).

5.2 Types de biorémediation par les microorganismes

Les procédés de biorémediation peuvent s'effectuer en *ex-situ* (hors site) ou *in-situ* (sur site).

5.2.1 Biorémediation ex-situ

La biorémediation *ex situ* comprend des techniques telles que l'enfouissement, le biopiling et le traitement par des bioréacteurs ainsi que des processus thermiques, chimiques et physiques (Koning *et al.*, 2000). La biorémediation *ex situ* est une technique plus approfondie, mais en raison des coûts associés non seulement aux processus d'assainissement, à l'excavation et au transport du sol, de nombreuses personnes se tournent vers des techniques d'assainissement *in situ*.

5.2.1.1 Biopiling

Technologie dans laquelle les sols excavés sont empilés et généralement construits dans une zone de traitement qui consiste en un système de collecte et d'aération des lixiviats. Elle est généralement pour réduire les concentrations de composants pétroliers dans les sols en utilisant le processus de biodégradation (Dufresne, 2013).

5.2.1.2 L'enfouissement (landfarming)

Processus de traitement ex-situ des déchets qui s'effectue dans la zone supérieure du sol ou dans des cellules de biotraitement (Nouri et Haddioui, 2016).

5.2.2 Biorémediation in-situ

La biorémediation *in-situ* est le traitement biologique des sols et des eaux souterraines contaminés sans excavation du sol ou sans pompage et traitement des eaux souterraines au-dessus du sol. Cette technique est basée sur l'utilisation de microbes ou de plantes pour dégrader ou immobiliser les contaminants *in situ*, et la technologie associe une combinaison de sciences microbiologiques, chimiques, géologiques et de l'ingénierie (Jørgensen, 2011).

5.3 Modes de biorémediation

Il existe différents types de technologies ou de techniques de traitement dans le cadre de processus de biorémediation, dont la biostimulation, bioaugmentation, compostage, biolixiviation et biofiltration.

5.3.1 Bio-stimulation

Ce type de stratégie est caractérisée par l'injection de nutriments spécifiques sur le site (sol / eau souterraine) pour stimuler l'activité des microorganismes. La biostimulation se concentre sur la stimulation de la communauté bactérienne ou fongique indigène ou naturelle. Cette technique se réalise d'abord en fournissant des engrais, des compléments de croissance et des oligo-éléments. Par la suite, d'autres exigences environnementales sont fournies comme le pH, la température et l'oxygène, pour accélérer leur taux de métabolisme et leur voie (**Kumar et al., 2011 ; Adam et al., 2015**).

5.3.2 Bio-augmentation

La bio-augmentation est l'un des mécanismes de biodégradation réalisée par l'ajout de micro-organismes dégradant les polluants afin d'augmenter la capacité de biodégradation des populations microbiennes indigènes sur la zone contaminée. Cette technique permet d'augmenter rapidement la croissance de la population de micro-organismes naturels et d'améliorer la dégradation qui se nourrit préférentiellement du site de contaminants. Les microbes sont collectés sur le site d'assainissement, cultivés séparément, modifiés génétiquement et ré-inoculer sur le site (**Niu et al., 2009**).

5.3.3 Compostage

Le compostage est une technique contrôlée de la dégradation des constituants organiques d'origine végétale et animale, par une succession de communautés microbiennes évoluant en condition aérobies. Ce processus entraîne une augmentation de température conduisant à l'élaboration d'une matière organique humifiée et stabilisée. Le produit ainsi obtenu est appelé compost (**Francou, 2004**).

5.3.4 Méthanisation

La méthanisation est un processus de décomposition des polluants (dégradables) par des bactéries qui agissent en l'absence d'air. Ce processus de décomposition est dit « fermentation anaérobie ». Ce procédé permet de générer une énergie renouvelable, du biogaz qui comporte entre autres du méthane (50% à 70% de CH₄) et du dioxyde de carbone (CO₂) ainsi que du compost utilisé comme fertilisant (**Francou, 2004**).

5.3.5 Biolixiviation

La biolixiviation comprend l'utilisation de micro-organismes pour des procédés d'extraction de métaux à partir de minerais sulfurés. Au cours de ces processus complexes, les sulfures sont oxydés en sulfates avec la génération de chaleur. En conséquence, l'or, l'argent

et d'autres métaux précieux sont libérés de la matrice sulfurée, améliorant leur récupération après un traitement supplémentaire (**Johanna et Johnny, 2019**).

5.3.6 Biofiltration

Le principe de la bio-filtration repose sur l'utilisation d'un matériau filtrant de type granulaire colonisé par une biomasse épuratrice et à travers lequel transite l'effluent à traiter. Les procédés techniques de bio-filtration, développés par les différents constructeurs, se distinguent par leurs modes de fonctionnement. Le type de biomasse épuratrice présente au sein du massif filtrant dépend des conditions de fonctionnement du biofiltre comme la forme de l'oxydant et type de pollution à traiter (**Rocher et al., 2008**).

5.4 Sélection, caractérisation du site et le choix de la méthode de biorémediation

Un travail d'enquête doit être effectué avant de proposer une biorémediation (**Figure 3**). Ce travail doit au minimum englober les facteurs suivants : l'étendue horizontale et verticale de la contamination, les paramètres et les sites d'échantillonnage, la justification de choix et la description des méthodes à utiliser pour l'acquisition et l'analyse des échantillons à effectuer (**Endeshaw et al., 2017**). L'enquête doit comprendre aussi la concentration, les caractéristiques et le type de contaminant / contamination, le niveau de risque posé pour la santé humaine ou l'environnement, la possibilité d'application *in situ* ou *ex situ* et l'utilisation ultérieure du site et les ressources disponibles (**Gavrilescu, 2009**).

Le taux d'efficacité du traitement choisi dépendra de l'assemblage des caractéristiques particulières de la situation étudiée et les avantages présentés par la technologie retenue (**Dufresne, 2013**).

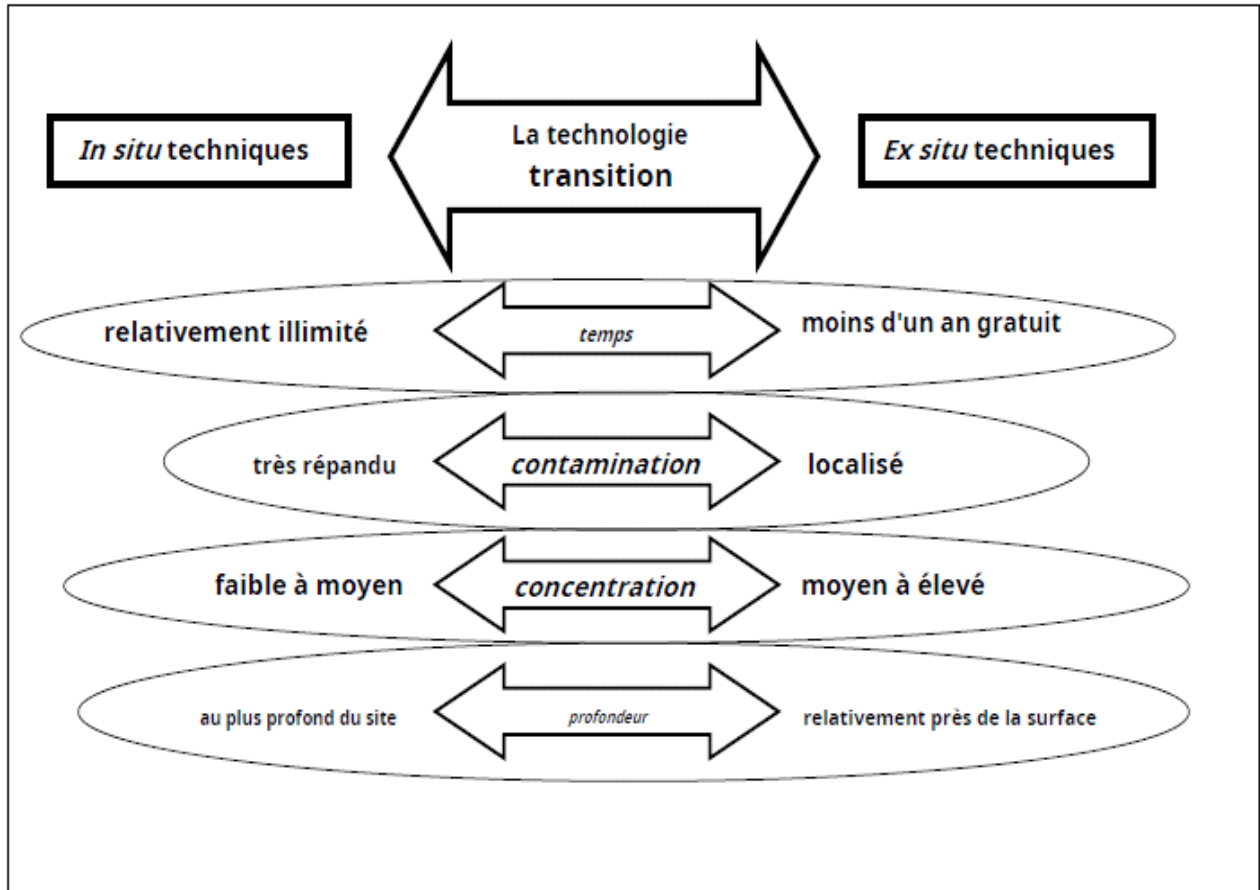


Figure 3 : Facteurs impliqués dans le choix d'une technologie d'assainissement (Gavrilescu, 2009).

Chapitre II

**Dépollution des sols contaminés
par les métaux lourds par la
biorémédiation**

Chapitre II : Dépollution des sols contaminés par les métaux lourds par la biorémédiation

1 Métaux lourds

Le terme « Métaux lourds » est largement utilisé pour le groupe des métaux et des métalloïdes dont la densité atomique est supérieure à 4 g/cm³ (Aprile et Bellis, 2020). Les métaux lourds présents dans le sol comprennent le mercure (Hg), le plomb (Pb), le chrome (Cr), l'arsenic (As), le zinc (Zn), le cadmium (Cd), l'uranium (U), le sélénium (Se), l'argent (Ag), l'or (Au), le cuivre (Cu) et le nickel (Ni) (Srivastava et al., 2017).

La biorémédiation des métaux lourds par les microorganismes dépend de la nature du site et des produits chimiques présents dans le sol. Cependant, cette technique reste le procédé le plus rentable pour réduire les polluants en matériaux non dangereux (Tableau 3).

Tableau 3 : Principaux microorganismes de biodégradation des métaux lourds

Espèces	Métaux	Références
<i>Aspergillus niger, Ascophyllum nodosum, Bacillus firmus, Chlorella fusca, Oscillatoria angustissima</i>	Pb, Zn, Cd, Cr, Cu, Ni	Ahluwalia et Goyal (2007)
<i>Aspergillus versicolor</i>	Cr, Ni, Cu	Tastan et al. (2010)
<i>Bacillus cereus</i>	Cd, Zn, Cr	Hryniewicz et al. (2012), Kanmani et al. (2012)
<i>Bacillus sp., Streptococci, Salmonella, Pseudomonas, Micrococcus, E. coli</i>	Cd, Cu, Fe	Fulekar et al. (2012)
<i>Bradyrhizobium sp. Rhizobacteria sp</i>	Cd, Pb, Cu	Dary et al. (2010)
<i>Burkholderia sp</i>	Cd, Pb	Jiang et al. (2008)
<i>Cladophora fascicularis, Cladonia rangiformis (lichen)</i>	Pb	Deng et al. (2007), Ekmekyapar et al. (2012)
<i>Ganoderma lucidum, Penicillium sp.</i>	Ar	Loukidou et al. (2003)
<i>Halomonas sp.</i>	Sr	Achal et al. (2012)
<i>Hydrodictyon, Oedogonium Rhizoclonium sp.</i>	V, As	Saunders et al. (2012)
<i>Kocuria flava</i>	Cu	Achal et al. (2011)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	U	Choudhary and Sar (2011)
<i>Penicillium canescens</i>	Cr	Say et al. (2003)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cr, Ni, Cu, Zn	Machado et al. (2010)
<i>Serratia marcescens</i>	U	Kumar et al. (2011a, b)
<i>Spirogyra sp. Spirulina sp.</i>	Cr, Cu, Fe, Mn, Zn	Mane et Bhosle (2012)

2 Biodégradation du Chrome (Cr)

Le chrome est un élément métallique naturel de la croûte terrestre. Seuls les Chrome III et Chrome VI sont retrouvés de manière significative dans l'environnement. Pour le chrome VI, les principales sources de rejets dans l'environnement sont les activités industrielles. La réduction bactérienne du Cr⁶⁺ en Cr³⁺ est un mécanisme d'importance spécifique car il transforme les substances du chrome toxiques Cr⁶⁺ en Cr³⁺ qui sont inoffensives et immobiles (**Ahemad, 2014**). A l'aide d'enzymes non spécifiques codées par le chromosome ou le plasmide. Ces enzymes sont principalement des oxydoréductases telles que le chromate réductases, la nitro réductase NADH-dépendante, la ferro réductase, les quinones réductases, les hydrogénases et les flavines réductases NADH/NADPH (**Rahman et Thomas, 2020**).

Les activités biologiques de biodégradation du Cr(VI) (**Figure 4**) peuvent se produire au niveau extracellulaire et à l'intérieur des cellules (**Rahman et Thomas, 2020**).

2.1 Au niveau extracellulaire

Le Cr(VI) est éjectée par des pompes d'efflux spécifiques puis rentre dans la cellule, ce qui empêche son accumulation. Un autre mécanisme de résistance est dû à la présence d'enzymes capables de catalyser le Cr(VI) en Cr(III), en donnant des électrons au Cr(III), ou transportant des électrons en tant que cofacteur (**Tang et al., 2021**). Le Cr(VI) est régulée par des protéines solubles (cytoplasmiques) exportées vers le milieu extracellulaire (**Rahman et Thomas, 2020**).

2.2 Au niveau intracellulaire

Le Cr(VI) est réduit en Cr(V) via les réducteurs cellulaires (l'acide ascorbique, le glutathion et les flavoenzymes). Ce mécanisme s'accompagne par la réduction de l'oxygène moléculaire en peroxyde qui produit à son tour du peroxyde d'hydrogène avec le Cr(III) comme produit final (**Viti et al., 2014**).

La réduction enzymatique du Cr(VI) en Cr(III) peut également produire des concentrations variables des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Cependant, différentes activités enzymatiques réductases possèdent une certaine capacité à atténuer les effets des espèces réactives de l'oxygène (**Rahman et Thomas, 2020**).

Chapitre II : Dépollution des sols contaminés par les métaux lourds par la biorémédiation

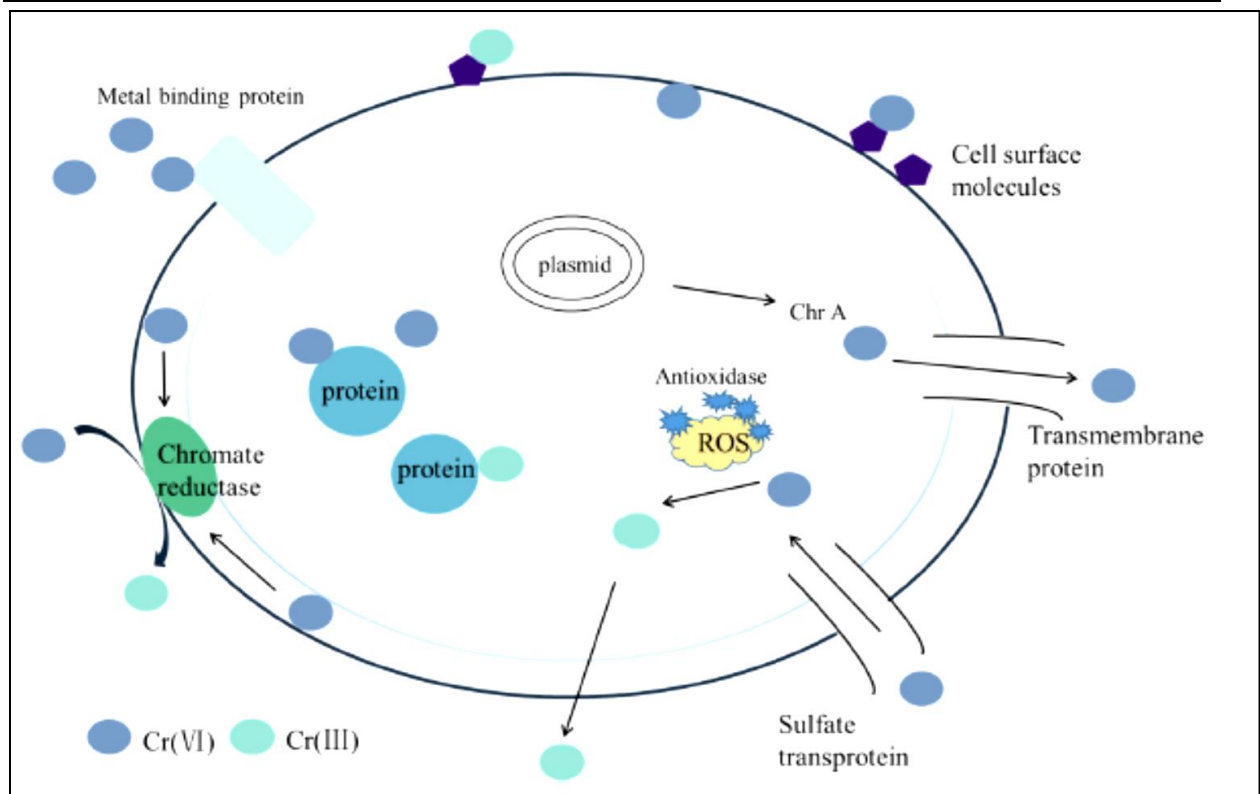


Figure 4 : Mécanisme de biodégradation du Cr(VI) (Tang *et al.*, 2021).

2.3 Déterminants de résistance au chromate (CRD)

Les Déterminants de résistance au chromate (CRD) ont été identifiés chez les Archées, les bactéries. Ils sont constitués de gènes appartenant à la famille du transport d'ions chromate (CHR) (**Figure 5**). En général, les CRD comprennent le gène *chrA* qui peut être localisé sur l'ADN chromosomique, plasmidique ou les deux et organisés généralement en opérons avec d'autres gènes *chr*. La protéine *ChrA* a été caractérisée en détails chez les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Cupriavidus metallidurans*, *Shewanella sp.*

Chez *Cupriavidus metallidurans*, les gènes impliqués dans la résistance aux métaux lourds sont présents sur le plasmide pMOL28 d'une taille de 34 kb, où ils sont organisés soit dans le cluster *chrFECAB*, ou dans un opéron chromosomique *chr2* (*chrB2*, *chrA2*, *chrF2* gènes) (Viti *et al.*, 2014).

L'expression des gènes portés par les bactéries peut prévenir efficacement les dommages cellulaires, Le promoteur *Chr* est induit par le Cr(VI) en particulier pour *ChrA* est capable d'expulser le Cr(VI) pour inhiber l'accumulation de Cr. La protéine de transport du Cr codée

Chapitre II : Dépollution des sols contaminés par les métaux lourds par la biorémédiation

par le gène plasmidique ChrA confère la capacité de pompage du Cr intracellulaire. Par ailleurs, la nitroréductase, un chromate réductase, possède toujours le pouvoir de réduire le Cr(VI), et la protéine de résistance au chromate ChrB.

Cependant en présence de Cr(VI), les gènes fonctionnels sont affectée négativement (**Tang et al., 2021**).

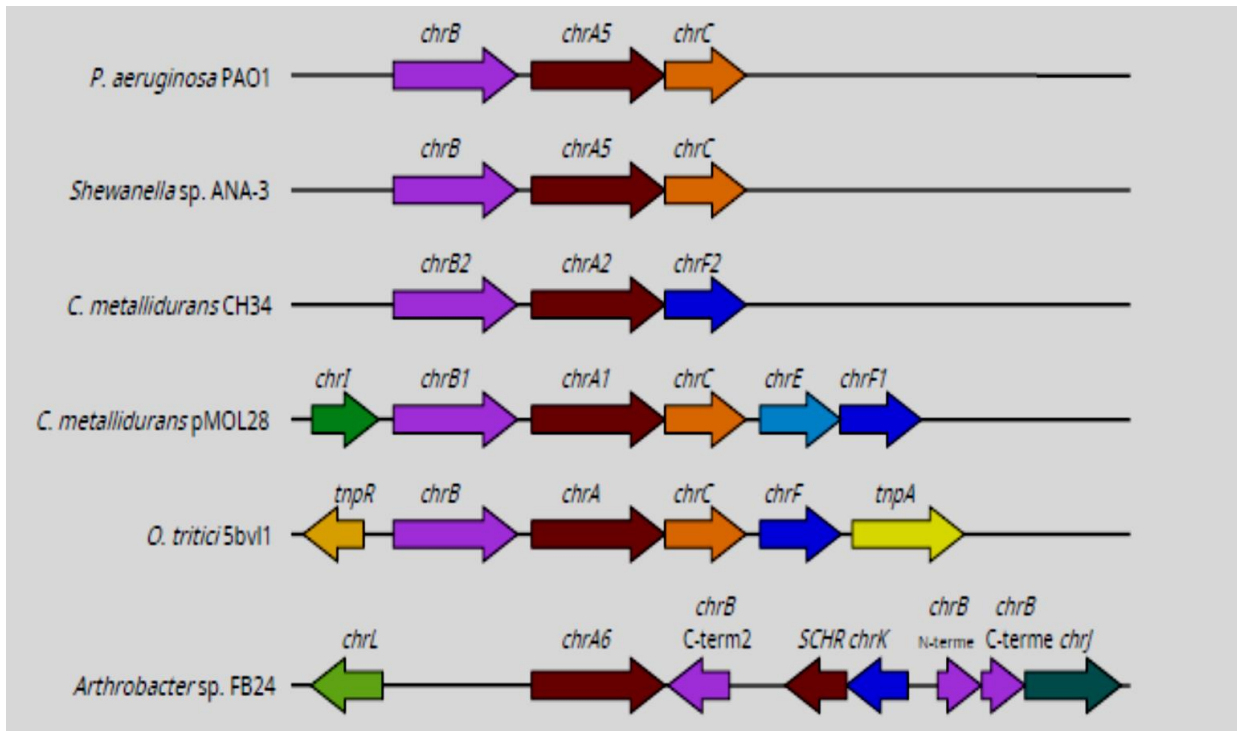


Figure 5 : Représentation schématique du principal contexte génomique des gènes chr chez certaines bactéries (**Viti et al., 2014**)

chrA : transporteur d'ions chromate, qui code pour une protéine putative d'efflux de chromate , **chrB** : régulateur sensible au chrome, **chrC** : la superoxyde dismutase, **chrE** : hypothétiquement impliqué dans le clivage de certains complexes chrome-glutathion, **chrI**: protéine régulatrice, **chrJ** : malate putatif:quinone réductase, **chrK** : protéine contenant des répétitions d'hélice bêta, **chrL** : lipoprotéine probablement conservée (famille LppY/LpqO), **SCHR** : petit transporteur d'ions chromate , **tnpA** : transposase, **tnpR** : résolvasse.

3 Exemple d'une étude de la biodégradation du chrome par *Pseudomonas* sp.

Une étude réalisée par Dafei et al., (2020) en chine ; au 'College of Life Science, Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection', sur les caractéristiques de la bactérie *Pseudomonas* sp. Cr13, à partir des sols contaminés par des métaux lourds notamment le chrome (Cr) étant principalement toxique et dangereux pour les organismes. Le choix de cette bactérie a été élaboré à partir des résultats antérieurs qui

Chapitre II : Dépollution des sols contaminés par les métaux lourds par la biorémédiation

suggèrent que *Pseudomonas* sp. Cr13 est une bactérie potentielle ayant une capacité importante de biorémédiation du métal lourd Cr à l'avenir.

3.1 Screening des souches

Les sols contaminés par les mines proviennent de quatre sites situés à Dachang, en Chine (Tableau 5). Une série de dilutions successives des échantillons de sol contaminés ont été effectuées à l'aide d'eau distillée stérile, puis des concentrations diluées appropriées de chaque sol ont étéensemencées sur le milieu de culture solide LB (Luria-Bertani).

Parmi la collection obtenue, une souche de *Pseudomonas* sp. nommée Cr13 a été isolée avec différentes concentrations de Cr.

Tableau 4 : Types de sols dans le Bassin fluvial Xijiang dans la région de Guangxi Zhuang, en Chine (Dafei et al., 2020)

Types de sols	teneurs en Cr
sol minier	104,2 mg/kg
sol de rizières	91,06 mg/kg
sol naturel	82,66 mg/kg
sol de montagne	74,52 mg/kg

3.2 Caractéristiques physiologiques et biochimiques et identification moléculaire

La souche *Pseudomonas* sp. Cr13 a été soumise à une série de tests physiologiques et biochimiques. Les résultats ont permis de caractériser la bactérie *Pseudomonas* sp. Cr13 à Gram-négatif, catalase positive et présentant une réaction de Voges-Proskauer négative.

Cette souche Cr13 a été identifiée par PCR en se basant sur l'ADNr 16S puis séquencée (Blast). La séquence l'ADNr 16S (numéro d'accès GenBank, MT673845) de la souche obtenue a été soumise à base de données NCBI.

3.3 Efficacité d'élimination de Cr⁶⁺ par *Pseudomonas* sp. Cr13

Une série de concentrations de Cr⁶⁺ (20 mg / l, 50 mg / l, 100 mg / l, 150 mg / l et 200 mg / l) a été appliquée pour étudier l'efficacité de l'élimination du Cr. Le résultat a indiqué que l'efficacité d'élimination du Cr ne cesse de réduire en fonction de l'augmentation des concentrations de Cr⁶⁺.

Chapitre II : Dépollution des sols contaminés par les métaux lourds par la biorémédiation

La souche *Pseudomonas* sp. Cr13 isolée du sol, pourrait tolérer une forte concentration de Cr6+ (jusqu'à 250 mg/l) avec des taux maximum d'élimination pouvant atteindre jusqu'à 94,26% dans les sols contaminés.

L'efficacité d'élimination était de 28,80 % et de 18,05 % aux concentrations de Cr6+ (50 mg/l et 100 mg/l). Cela indique que *Pseudomonas* sp. Cr13 présente un potentiel de biorestauration de la pollution par les métaux lourds.

En effet, *Pseudomonas* sp. Cr13 était polyvalente en raison de la forte résistance à deux métaux lourds Cadmium (Cd) et le chrome (Cr) mais plus particulièrement au Cr. Par conséquent, la souche Cr13 présente un grand potentiel de biorémédiation aux métaux lourds en particulier Cr.

En outre, les résultats de la résistance vis-à-vis d'autres métaux lourds (Cuivre (Cu), Nickel (Ni) et Cadmium (Cd)) indiquent une faible résistance de la souche Cr13 à Cu2+ et Ni2+. Cependant, la croissance de la souche Cr13 était forte lorsque la concentration de Cd2+ atteignait jusqu'à 50 mg/l.

4 Bioproduits utilisés pour la dépollution

Les bactéries productrices d'exopolysaccharides (EPS) sont largement utilisées dans la biorémédiation et le traitement des eaux usées industrielles et publiques, dans le nettoyage des effluents formés à cause de l'exploitation minière pour traiter les métaux lourds (**Tableau 5**). Les EPS sont également utilisées dans la dégradation anaérobie de différents polluants organiques (**Mariam et al., 2019**).

Les exopolysaccharides protègent les bactéries contre les stress environnementaux tels que la toxicité des métaux lourds, la sécheresse et la salinité. Des micro-organismes tels que *Agrobacterium* spp., *Alcaligenes faecalis*, *Xanthomonas campestris*, *Bacillus* spp., *Zygomonas mobilis*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas* spp. et *Acetobacter xylinum* ont été identifiés comme des micro-organismes producteurs d'EPS.

Tableau 5 : Principales souches bactériennes commercialisées pour les EPS (**Javid et al., 2021**).

EPS	Espèce bactérienne commercialisée
Alginate	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> FRD1, <i>Azotobacter vinelandii</i> DSM576
Gellan	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> ATCC31461

Chapitre II : Dépollution des sols contaminés par les métaux lourds par la biorémédiation

Hyaluronan	<i>Pasteurella multocida</i> pmHAS, souches atténuées de <i>streptocoques</i>
Xanthan	<i>Xanthomonas campestris</i> ATCC1395
Fucopol	<i>Enterobacter</i> A47

La production d'EPS est associée à des processus tels que la production de biofilms, qui est essentielle dans la biosorption et la biominéralisation des ions métalliques. Il est nécessaire d'étudier la capacité de la chélation des ions métalliques des micro-organismes producteurs d'EPS, car ils pourraient produire des polysaccharides puissants riches en groupes anioniques, qui amélioreraient l'élimination des métaux toxiques de l'environnement (**Javid et al., 2021**)

Chapitre III

**Dépollution de déversements des
hydrocarbures dans le milieu
Marin par la biorémédiation**

1 Marée noire

Les déversements d'hydrocarbures sont des accidents probables, se produisant lorsque de grandes quantités d'hydrocarbures pétroliers fuient dans l'environnement à partir des réservoirs de stockage, du processus de forage, des pratiques d'élimination des déchets, du lessivage des décharges, etc (**Pontes et al., 2013 ; Li et al., 2017 ; Baniasadi et mousavi, 2018**). Ceux-ci peuvent provenir du processus de nettoyage de l'équipement et de l'unité ou des résidus dans des conteneurs et des produits chimiques périmés et des accidents pendant le transport (**Helmy et al., 2015**). Les déversements d'hydrocarbures en mer et sur le rivage sont les plus courants, car le pétrole est généralement transporté par voie maritime (**Baniasadi et mousavi, 2018**).

2 Hydrocarbures pétroliers

Le pétrole, en latin "petroleum" qui signifie «huile de roche» (**Vieira et al., 2007**), est un liquide naturel, huileux et inflammable composé principalement d'hydrocarbures. Il est généralement obtenu sous la surface de la terre (**Gad, 2014**).

2.1 Classification des hydrocarbures

Les hydrocarbures sont les composés organiques les plus simples qui ne contiennent que le carbone et l'hydrogène. Ils sont divisés en deux catégories principales sur la base de la structure et constituants chimiques en aliphatiques et aromatiques (**Figure 6**). Les aliphatiques appelés également « paraffines » présentent des chaînes d'atomes de carbone reliées entre elles, tandis que les aromatiques contiennent un ou plusieurs cycles benzéniques liés ensembles (**Riskuwa-Shehu, 2018**).

Les hydrocarbures mono-aromatiques sont des molécules ubiquistes dans l'environnement, tels que les Benzène, Toluène, Ethylbenzène et *o, m, p*-Xylènes (BTEX) (**Paralovo et al., 2016**). Tandis que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des composés organiques comportant au moins deux cycles benzeniques. Ces deux types d'hydrocarbures sont classés comme polluants prioritaires selon l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (**Hazrati et al., 2016**).

Les composés polaires correspondent à des molécules hétérocycliques, et représentent 5 à 25% de la composition des pétroles bruts (**Colati et al., 2013**). les asphaltènes correspondent à une classe de composés de hautes masses moléculaires essentiellement constitués des molécules de carbone et d'hydrogène (**Schuler et al., 2015**).

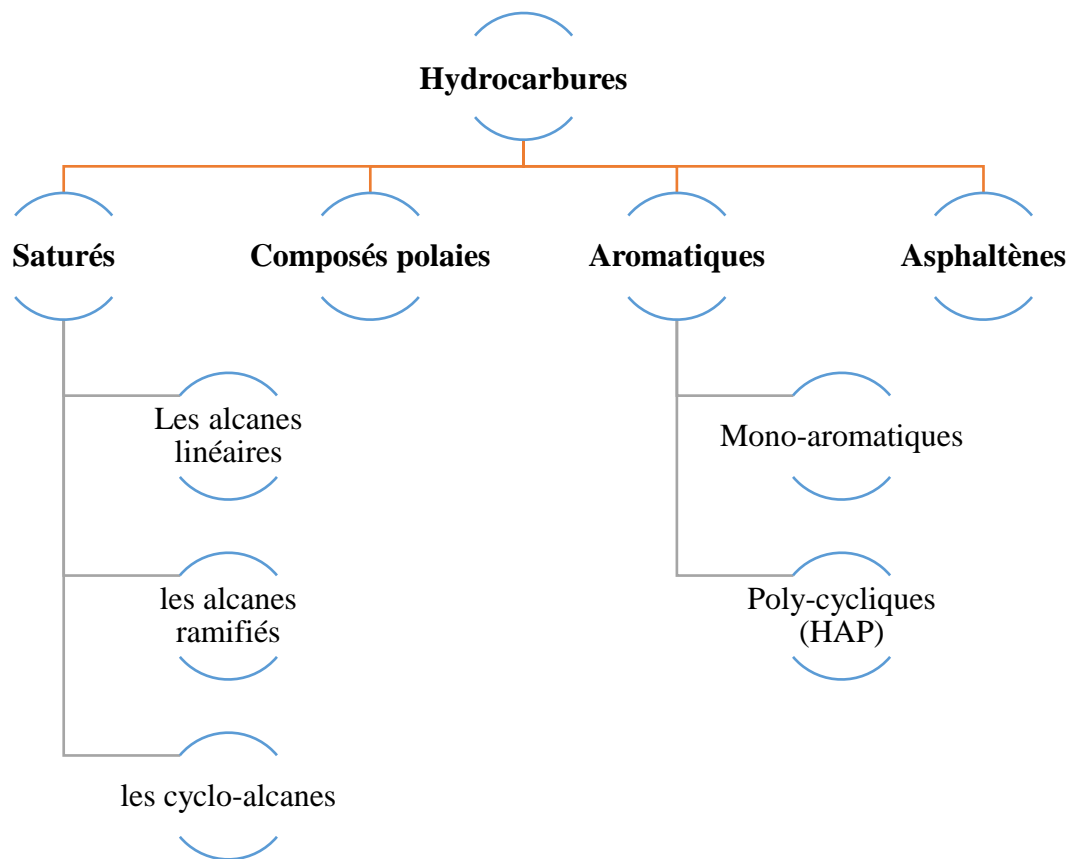


Figure 6 : Classification des hydrocarbures (photo personnelle).

3 Microorganismes marins hydrocarbonoclastes

Le pétrole, une source riche de carbone et d'énergie, très abondant dans l'environnement marin, permet la croissance de nombreux microorganismes. Ces microorganismes s'adaptent avec le temps et exercent des capacités métaboliques spécifiques afin d'utiliser les hydrocarbures comme source de carbone et d'énergie. Contrairement aux agents biodégradeurs d'hydrocarbures terrestres qui utilisent généralement une large batterie de substrats, les bactéries marines hydrocarbonoclastes sont pour la plupart hautement spécialisées, utilisateurs obligatoires d'hydrocarbures, dites "bactéries hydrocarbonoclastes obligatoires" (Obligate Hydrocarbonoclastic Bacteria, OHCBs) (Zenati, 2018).

Plus de 100 genres et 200 espèces de microorganismes dégradeurs d'hydrocarbures pétroliers ont été recensées (bactéries, champignons, microalgues, etc.) (Tableau 6).

Tableau 6 : Exemples des microorganismes qui dégradent les hydrocarbures.

Chapitre III : Dépollution de déversements des hydrocarbures dans le milieu marin

Microorganismes	Composant	Référence
<i>Achromobacter denitrificans</i> PheN1	Phénanthrène	Zhang <i>et al.</i> , 2020
<i>Alcaligenes odorans</i> ,	Phénol. Huile	Singh <i>et al.</i> , 2013
<i>Arthobacter</i> sp.	Diesel.	Sukumar et Nirmala., 2016
<i>Acinetobacter junii</i> CH005 <i>Acinetobacter</i> sp.	Toluène Essence, Diesel et Toluène.	Singh <i>et al.</i> , 2018 Safiyanu <i>et al.</i> , 2015 Sani <i>et al.</i> , 2015
<i>Bacillus sonorensis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	Naphtalène Naphtalène Huile brute.	Rabani <i>et al.</i> , 2020 Rabani <i>et al.</i> , 2020 Elborai <i>et al.</i> , 2016
<i>Bacillus fusiformis</i> BFN <i>Bacillus subtilis</i> .	Naphtalène Phénol.	Lin <i>et al.</i> , 2010 Singh <i>et al.</i> , 2013
<i>Bacillus cereus</i> .	Diesel, Huile brute.	Kehind <i>et al.</i> , 2016
<i>Bacillus cereus</i> A <i>Bacillus sphaericus</i> .	Diesel. Huile brute.	Malihi <i>et al.</i> , 2013 Elborai <i>et al.</i> , 2016
<i>Bacillus</i> sp.	Diesel.	Sukumar et nirmala., 2016
<i>Chlorella vulgaris</i>	Huile brute	Kalhor <i>et al.</i> , 2017
<i>Citrobacter koseri</i> .	Diesel, Huile brute.	Kehind <i>et al.</i> , 2016
<i>Candida viswanathii</i>	Phénanthrène. Benzopyrène.	Hesham <i>et al.</i> , 2012
<i>Candida glabrata</i> . <i>Candida krusei</i> .	Huile brute.	Burghal <i>et al.</i> , 2016
<i>Coprinellus radians</i>	Méthylnaphtalène, Dibenzofuranes.	Aranda <i>et al.</i> , 2010
<i>Corynebacterium propinquum</i> .	Phénol. Huile	Singh <i>et al.</i> , 2013
<i>Dietzia species</i> CN-3.	Alcanes. Huile brute.	Chen <i>et al.</i> , 2017
<i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium</i> sp.	Hydrocarbures. Huile	Al-jawhari, 2014 Simarro <i>et al.</i> , 2013
<i>Flavobacterium</i> .	Essence, Diesel et Toluène.	Safiyanu <i>et al.</i> , 2015 Sani <i>et al.</i> , 2015
<i>Gleophyllum striatum</i> .	Striatum Pyrène. Anthracène. 9-méthylanthracène.	Yadav <i>et al.</i> , 2011
<i>Gleophyllum trabeum</i> ,	Hydrocarbures	Karigal et Rao, 2011
<i>Halomonas pacifica</i> souche Cnaph3.	Naphtalène.	Cheffi <i>et al.</i> , 2020
<i>Microbacterium</i> sp.	Hydrocarbures aromatiques.	Simarro <i>et al.</i> , 2013
<i>Paraburkholderia aromaticivorans</i> BN5	Naphtalène	Lee <i>et al.</i> , 2018
<i>Pseudomonas mendocina</i> <i>Pseudomonas alcaligenes</i> . <i>Pseudomonas veronii</i> .	Naphtalène Essence, diesel et HAP Toluène. Benzène, Xylène.	Barman <i>et al.</i> , 2017 Safiyanu <i>et al.</i> , 2015 Sani <i>et al.</i> , 2015
<i>Pseudomonas putida</i> <i>Pseudomonas funiculosus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Diesel Phénol, Huile Diesel Hydrocarbures aromatiques.	Sarang <i>et al.</i> , 2013 Al-jawhari, 2014 Singh <i>et al.</i> , 2013 Sukumar et nirmala., 2016
<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> KH6.	Huile brute Diesel, Huile brute	Simarro <i>et al.</i> , 2013 Elborai <i>et al.</i> , 2016
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylène. Composés phénoliques.	Abdulsalam <i>et al.</i> , 2013 Pedro <i>et al.</i> , 2014
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Biphényle. Triphénylméthane.	Erika <i>et al.</i> , 2013
<i>Ralstonia</i> sp	Hydrocarbures aromatiques.	Simarro <i>et al.</i> , 2013
<i>Serratia ficaria</i> .	Diesel, Huile brute.	Kehind <i>et al.</i> , 2016
<i>Shewanella algae</i> NI	Naphtalène	Hassanshahian et Boroujeni., 2016

4 Biodégradation bactérienne des hydrocarbures

La biodégradation microbienne des hydrocarbures pétroliers exige l'intervention d'un système dioxygénases membranaire afin d'initier l'étape d'oxydation d'un tel composé. Ceci nécessite systématiquement, un contact direct ou l'adhésion entre le microorganisme et la phase hydrocarbonée.

Afin de comprendre les propriétés particulières de la surface cellulaire des bactéries qui leurs permettent de se développer sur les hydrocarbures. Il est nécessaire de considérer la dynamique de la dégradation du pétrole dans les milieux naturels. À la suite d'un déversement d'hydrocarbures dans la mer, les hydrocarbures remontent à la surface et entrent en contact avec l'air. Certains d'entre eux présentant un faible poids moléculaire se volatilisent ; le reste est métabolisé relativement d'une manière rapide par des microorganismes qui absorbent les hydrocarbures solubles. Ces bactéries n'adhèrent pas aux pétroles à cause de leur faible hydrophobicité de surface.

L'étape suivante de la dégradation implique des microorganismes ayant une forte hydrophobicité cellulaire, qui peuvent adhérer aux hydrocarbures résiduels de haut poids moléculaire. L'adhésion est due aux fimbriae hydrophobes, les fibrilles, les lipides et les protéines de la membrane externe. Les capsules bactériennes et d'autres exopolysaccharides anioniques semblent inhiber l'adhésion des microorganismes aux hydrocarbures (**Ron et Rosenberg, 2014 ; Zenati, 2018**).

Dans la majorité des cas, les enzymes de dégradation sont codées par les plasmides. Une exception est faite en ce qui concerne les espèces d'*Acinetobacter* dont les systèmes de dégradation des hydrocarbures sont situés sur le chromosome (**Atlas, 1995 ; Zenati, 2018**).

Les plasmides sont impliqués dans la dégradation des hydrocarbures pétroliers tels que Q15, OCT, TOL, NAH7, pND140 et pND160 avec présence des gènes *alkA*, *alkM*, *alkB*, *theA*, *LadA*, *assA1* et *assA2* et *nahA-M*. Le gène *alkB* code pour la dégradation de l'alcane monooxygénase, le gène *xylE* pour le catéchol dioxygénase et le gène *nahAc* pour le naphthalène dioxygénase. Ce sont tous des gènes majeurs impliqués dans la dégradation microbienne des polluants hydrocarbonés (**Varjani, 2017**).

4.1 Biodégradation du naphthalène un hydrocarbure aromatique polycyclique a deux noyaux aromatiques

Le naphthalène est l'un des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) les plus simples et les plus facilement biodégradables et constitue un modèle expliquant la dégradation des autres HAPs par les bactéries.

4.1.1 Régulation génétique

Des systèmes génétiques sont impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques, en particulier le système NAH impliqué dans le catabolisme du naphthalène, de l'anthracène, du phénanthrène, du benzthiophène. Ce système est régulé par les plasmides tels que le plasmide NAH7 de *Pseudomonas putida* G1 (Danglot, 2009).

Deux opérons impliqués dans la dégradation du naphthalène ont été identifiés sur le plasmide NAH7 (Figure 7). Le premier opéron, 'nah' correspond à la voie métabolique dite « supérieure » qui permet la dégradation du naphthalène en salicylate. Le second opéron 'sal', correspond à la voie métabolique dite « méta » permettant la dégradation du salicylate en pyruvate et l'acétaldéhyde.

Les opérons *nah* et *sal* sont activés par le gène de régulation *nahR* au niveau des promoteurs P1 et P2 en présence d'un inducteur unique le salicylate. De façon surprenante, le naphthalène n'est pas un inducteur direct des opérons *nah* et *sal*. Cependant sa dégradation progressive en salicylate obtenue grâce à l'activité de base de l'opéron *nah*, permet une induction secondaire des deux opérons (Danglot, 2009).

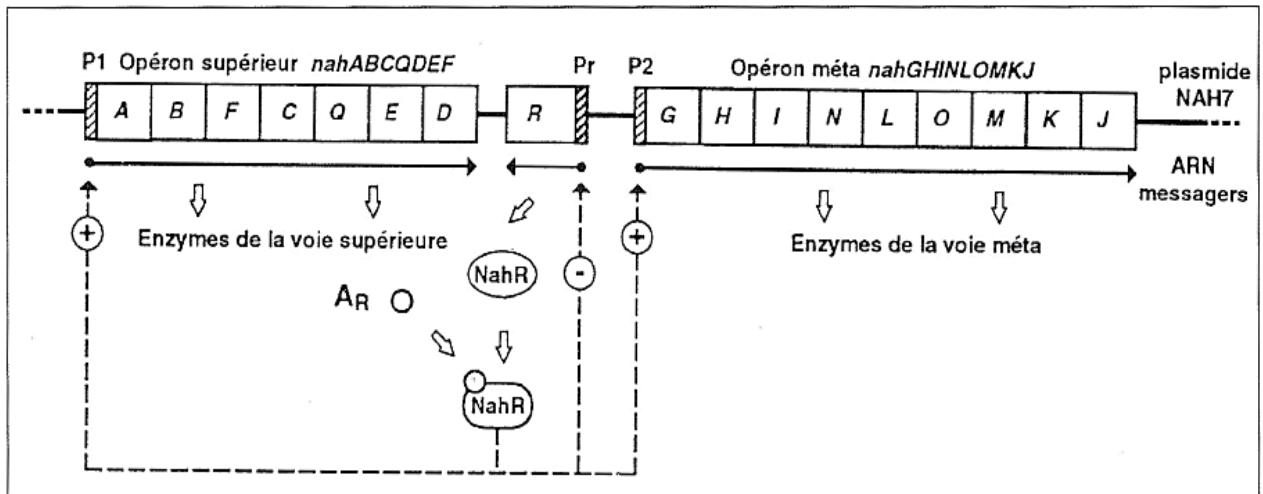


Figure 7 : Régulation des deux opérons « supérieur et méta » sur le plasmide NAH7 de *Pseudomonas putida* G1 (Danglot, 2009).

A_R : Activateur de NahR (salicylate), + : Activation de la transcription, - : Inhibition de la transcription
· → : ARN messagers.

4.1.2 Voies biochimiques

La voie biochimique se réalise en deux étapes : la voie périphérique et la voie centrale (Figure 8).

La «voie périphérique» est initiée par l'incorporation de deux atomes d'oxygène sur deux carbones adjacents du substrat via l'action du naphthalène dioxygénase, conduisant à la

formation d'un *cis*-dihydrodiol. Ce dernier est par la suite ré-aromatisé par l'intermédiaire d'une dihydrodiol déshydrogénase pour former un intermédiaire dihydroxylé, puis le noyau aromatique est clivé par une extradiol-dioxygénase. (Godon et Chamkha., 2018).

Après réarrangement, catalysé par l'isomérase et l'aldolase aboutit à la production de pyruvate et d'acide salicylique. L'acide salicylique est ensuite oxydé en catéchol ou en acide gentisique. C'est là que commence la «voie centrale» qui convertit en plusieurs étapes l'intermédiaire catécholique en acétyle coenzyme A et en acide pyruvique ou fumarique, des intermédiaires du cycle de Krebs (Martin, 2011).

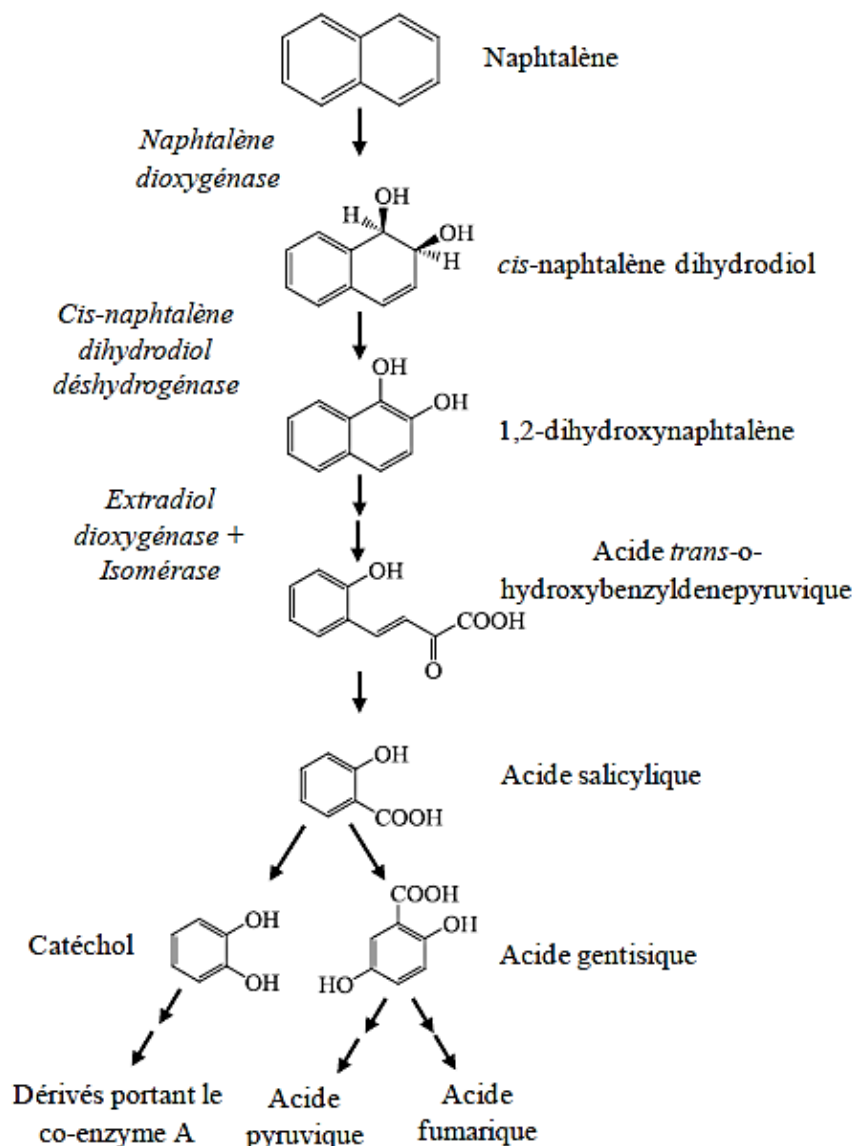


Figure 8 : Voie métabolique de dégradation du naphthalène par les bactéries (Seo *et al.*, 2009).

5 Exemple d'une étude de la dégradation du naphthalène par *Pseudomonas* sp.

Les études de biodégradation des hydrocarbures les bactéries du genre *Pseudomonas* donnent des résultats très intéressants. L'exemple a été choisi sur une étude expérimentale réalisée par Sushma Rani *et al* en mars 2021 en Inde dans le cadre d'une collaboration entre l'Académie de la Recherche Scientifique et Innovante (AcSIR) et l'Institut central de recherche sur le sel et les produits chimiques marins (CSIR).

5.1 Site d'échantillonnage

Le chantier de démolition de navires d'along-sosiya, gujarata (ASSBY) a été choisi pour l'isolement des bactéries ayant une efficacité de biodégradation de naphthalène. Les échantillons ont été prélevés de sol et d'eau et leurs paramètres physico-chimiques comme le pH, la salinité et la conductivité électrique ont été analysés au laboratoire à l'aide d'une sonde multiparamétrique.

5.2 Criblage de bactéries dégradantes du naphthalène

Des échantillons de sol et d'eau ont été traités par une technique de culture d'enrichissement pour cribler les bactéries potentielles dégradant le naphthalène.

Un échantillon de sol (1 g) et d'eau (1 ml) enrichi avec 500 ppm de naphthalène a été mis dans des erlenmeyers de 150 ml contenant 100 ml de milieu liquide 'Bushnell Haas' (BH). Celui-ci a ensuite été incubé pendant 168 h dans un agitateur d'incubateur (Scigenics Biotech Orbitek) à 120 tr/min et 37 °C.

Selon une étude menée par l'UNESCO (2004), la température moyenne la plus élevée d'ASSBY est de 34,2 °C. Par conséquent, la température de 37°C a été sélectionnée pour les expériences d'enrichissement. Après enrichissement, une aliquote de 100 ml d'échantillon a été étalée sur des plaques de gélose BH suivies d'une pulvérisation de naphthalène et incubée à 37° C pendant 168 h dans l'obscurité.

La technique d'enrichissement a permis d'isoler et de purifier 50 souches bactériennes capables d'utiliser le naphthalène.

5.3 Test de viabilité bactérienne à l'aide du colorant TTC (Chlorure de triphényltétrazolium)

Sur les 50 isolats potentiels, 15 meilleurs isolats ont été sélectionnés par le colorant TTC utilisé comme indicateur redox pour la respiration microbienne pour le dépistage des bactéries potentielles utilise le naphthalène comme la seule source de carbone. La sélection des isolats

était basée sur le développement de la couleur rose ou rouge dans les tubes à essais contenant le naphthalène, les isolats potentiels et le milieu 'Bushnell Haas' (BH).

Enfin, deux isolats codés SA3 et SB5 capables de réduire le TTC incolore en 1,3,5-triphényl formazan (TPF) rose, ont été sélectionnés pour d'autres études de dégradation du naphthalène.

5.4 Caractérisation et identification des isolats potentiels

5.4.1 Coloration de Gram et identification biochimiques

Le test de Gram et les caractéristiques biochimiques des isolats potentiels ont été effectués respectivement à l'aide du kit HiMedia K001 et du kit HiMedia KB009.

La coloration de Gram des isolats potentiels a révélé que SA3 et SB5 sont des bactéries en forme de bâtonnets à Gram négatif. La caractérisation biochimique des isolats a montré que *Pseudomonas* sp. SA3 était capable d'utiliser : l'inuline, le gluconate de sodium, le glycérol, la salicine, le rhamose, le cellobiose et le mélézitose. La souche *Pseudomonas* sp. SB5 était capable d'utiliser : le dextrose, le galactose, le mélibiose, le L-arabinose, le mannose, le D-arabinose, le citrate, malonate et sorbose.

5.4.2 Identification moléculaire

L'Extraction de l'ADN génomique des isolats potentiels et L'amplification par PCR du gène de l'ARNr 16S bactérien a été réalisée en utilisant : 50ml de mélange réactionnel de tampon PCR 10x, contenant 200 mM de MgCl₂, 200 M de dNTP, 1,25U Taq Polymerase, les amorces universelles 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), 1492R (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3') et 50 nanogram d'ADN matrice.

La température initiale dans la réaction PCR était à 95 °C pendant 2 min, suivie de 30 cycles de température de dénaturation à 95° C pendant 30 s, température d'hybridation à 55 °C pendant 30 s, une élongation à 72 °C pendant 45 s suivi d'une étape d'extension finale de 72° C pendant 10 min. Les produits amplifiés par PCR ont été contrôlés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1 %. Les amplicons ont été purifiés et séquencés de manière bidirectionnelle.

La séquence d'ARNr 16S obtenue a été alignée à l'aide du programme BLAST sur le site Web du National Center for Biotechnology Information (NCBI). L'arbre phylogénétique a été construit en utilisant les séquences de la méthode Neighbor-Joining basée sur le modèle à 2 paramètres de Kimura (Kimura, 1980). Les relations évolutives entre les séquences de souches identifiées et les plus proches voisins ont été réalisées à l'aide du logiciel MEGA X.

Le séquençage du gène de l'ARNr 16S de l'espèce *Pseudomonas* sp.SA3 présentait une identité de séquence maximale de 99,22 % avec *Pseudomonas oleovorans*. Et SB5 une similitude de 100 % avec *Pseudomonas taiwanensis*.

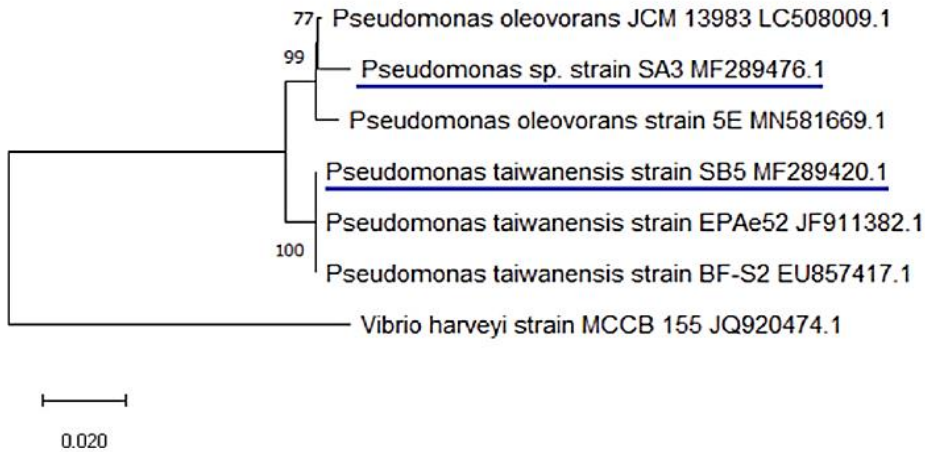


Figure 9 : Arbre phylogénétique des isolats potentiels des souches *Pseudomonas* sp. SA3 et SB5 (Tirkey et al., 2021).

5.5 Test de biodégradation

Pour étudier la capacité de dégradation du naphthalène par la souche *Pseudomonas* sp. SA3 et la souche *P. taiwanensis* SB5, des tests de biodégradation ont été réalisés.

5.5.1 Préparation de l'inoculum

Les bactéries cultivées dans du bouillon ZM après avoir atteint une densité optique de 600 nm ont été centrifugées à 5000 rpm pendant 10 min. Le culot de biomasse a été lavé deux fois et remis en suspension dans une solution stérilisée de NaCl à 0,9 %. En outre, 1 % (v/v) d'inoculum de cette suspension a été utilisé dans l'expérience de biodégradation.

5.5.2 Dosage de naphthalène

Du naphthalène à une concentration de 500 ppm a été dissous dans de l'acétone et 0,5 ml a été ajouté dans un flacon stérile de 150 ml. L'acétone s'évapore et le naphthalène à l'intérieur des flacons.

Ensuite, 50 ml de milieu liquide BH stérile et 1 % (v/v) d'inoculum ont été ajoutés au flacon. Les flacons non ensemencés contenant du milieu liquide BH et du naphthalène ont servi de témoin.

Tous les flacons ont été conservés dans un agitateur incubateur à 37 °C, 120 rpm pendant 168 h.

5.5.3 Extraction du naphthalène

Pour l'extraction du naphthalène résiduel, un volume de 10 ml de n-hexane ont été ajoutés dans les flacons et maintenus dans un incubateur -agitateur de pendant 1 h. L'extrait a ensuite été centrifugé à 8000 rpm pendant 10 min à température ambiante. La phase solvant a été collectée et analysée par chromatographie en phase gazeuse-spectrophotométrie de masse (GC-MS).

La quantification de la concentration résiduelle de naphthalène a été effectuée à l'aide d'un appareillage de chromatographie en phase gazeuse (GC) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'une colonne d'épaisseur du film 0,25 mm et 0,25 μ m.

La température initiale de la colonne était de 40° C qui a augmenté à 300° C, maintenue pendant 15 min. Les températures du détecteur et de l'injecteur est de 250 °C.

La concentration des HAP résiduels a été calculée par le pourcentage de surface du pic de naphthalène dans la GC à un temps de rétention similaire à celui du naphthalène standard. Le pourcentage de dégradation a été calculé en utilisant la formule suivante donnée par (Li et al., 2008).

$$\% \text{Dégradation} = 100 [(MI - MT) / MI]$$

MT : Concentration finale en HAP dans chaque traitement.

MI : Concentration initiale en HAP dans le milieu.

5.6 Efficacité de dégradation de naphthalène

Toutes les expériences ont été répétées trois fois (**Figure 10**). Les résultats ont été analysés par (ANOVA) à l'aide du logiciel Infostat (version 2016) et LSD Fisher.

Les résultats ont révélé une dégradation importante du naphthalène par *Pseudomonas* sp. SA3 avec un pourcentage de 98,74 % et 56,33 % pour *P. taiwanensis* SB5 après 96 h d'incubation à 37 °C et 120 tr/min. La souche SA3 a montré une dégradation de 1,7 fois plus élevée que la souche SB5 de *P. taiwanensis* après 96 h. une durée d'incubation plus longue (120 h) a été nécessaire pour *P. taiwanensis* SB5, pour atteindre 92,81% de dégradation du naphthalène.

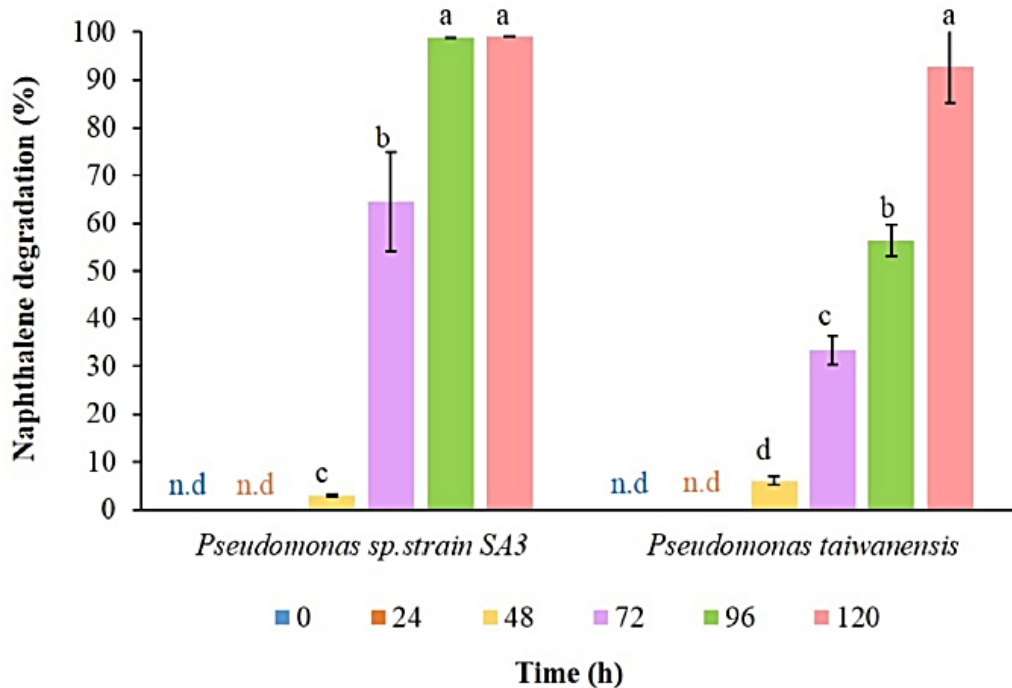


Figure 10 : Biodégradation du naphthalène par *Pseudomonas* sp. SA3 et *Pseudomonas taiwanensis* SB5. (Tirkey et al., 2021).

En raison d'un temps d'incubation plus court et d'une dégradation maximale du naphthalène, *Pseudomonas* sp. SA3 a été sélectionnée comme la meilleure souche capable de dégrader le naphthalène. Ainsi, la souche SA3 peut en outre être utilisée pour la dégradation d'autres hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en tant qu'agent potentiel pour la biorémédiation (Tirkey et al., 2021).

6 Bio-surfactants, des biomolécules à forte potentialité d'application dans la dégradation des hydrocarbures

Les biosurfactants constituent un groupe hétérogène de molécules tensioactives produits généralement par des organismes vivants à savoir les bactéries, les champignons et les levures (Marchant et Banat, 2012).

Les biosurfactants sont classés en deux catégories : agents de surface à faible poids moléculaire (glycolipides, lipopeptides et les phospholipides), qui réduisent efficacement les tensions de surface et bioémulsifiants qui sont des polymères à haut poids moléculaire qui se lient étroitement aux surfaces (Zenati, 2018).

Les bactéries productrices de bio-surfactants les plus connues sont *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter* et *Mycobacterium* (Bezza et al., 2015). Ainsi, les bactéries hydrocarbonoclastes comme *Rhodococcus erythropolis*, *Bacillus lecheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida bombicola* et *Pseudomonas fluorescense* (Paul et al., 2020).

Les biosurfactants présentent de nombreux avantages. Ils sont respectueux de l'environnement, moins toxique et biodégradable. Ils présentent des activités antimicrobiennes, antivirales, anti-tumorales, etc... Certains peuvent être actifs à des pH, des températures et des salinités extrêmes (Santos et al., 2016). Ainsi, ces biosurfactants jouent également un rôle important dans la régulation de l'attachement des microorganismes aux surfaces dans le cas de versement des hydrocarbures (Rosenberg et al., 1992 ; Ron et Rosenberg, 2014).

7 Exemple de production d'un surfactant microbien par la souche SdK644 de *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* pour améliorer la solubilisation du pétrole brut

Cette étude a été réalisée en Algérie (Tipaza) Zenati et al en 2018 ; dans le but d'examiner la capacité d'un biosurfactant produit par la souche SdK644 de *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* à améliorer le taux de solubilisation de l'eau de mer contaminée par le pétrole brut.

7.1 Milieux et conditions de culture

Différents milieux ont été préparés et ajusté à pH de 7 pour l'isolement et le criblage de microorganismes hydrocarbonoclastiques et pour la production de biosurfactants. Leur composition a été indiquée comme suit (Tableau 7) :

Tableau 7 : Composition des milieux de cultures (Zenati, 2018).

Milieu de culture	Composants
NSW	Eau de mer naturelle stérilisée par autoclavage à 120 °C pendant 20 min
Ch-NSW-CO	4 g de chitine, 18 g d'agar, 1 l de l'eau de mer naturel (NSW).

NSW-CO	18 g d'agar, 1 l de l'eau de mer naturel (NSW) avec 1 ml de l'huile brute (CO)
Luria Bertani (LB)	10 g de peptone, 5 g d'extrait de levure, 23 g de NaCl et 1 litre d'eau distillée

7.2 Site d'échantillonnage

Des bactéries marines ont été isolées à partir d'un port de pêche contaminé par des produits pétroliers (huiles lubrifiantes usagées pour moteur diesel) situé à Bou-Ismaïl, port de pêche de Khemisti (Wilaya de Tipaza, Algérie).

7.3 Isolement des bactéries marines

Pour la procédure d'isolement, 5 g de sédiment stérile superficiel ont été inoculés dans 100 ml de milieu NSW-CO. Les cultures d'enrichissement ont été incubées à 30 °C sur un agitateur rotatif à 150 tr/ min pendant 7 jours.

Après trois sous-cultures consécutives (3 ml d'aliquote) dans du milieu NSW-CO frais, la suspension a été diluée et ensemencée sur le milieu Ch-NSW-CO.

Les isolats purifiés ont été obtenus par stries des colonies plusieurs fois dans des milieux solides LB et NSW-CO et conservés à (- 80 °C) dans un bouillon LB complété par du glycérol (0,25 %).

7.4 Criblage d'isolats capables de se développer sur du pétrole brut et produire des biosurfactants

Une collection de **16** isolats bactériens a été examinée pour leur capacité à se développer sur du pétrole brut comme seule source de carbone et d'énergie.

Ces souches ont été cultivées et maintenues dans le milieu LB à 30°C et 150 tr/ min. Les cultures ont été effectuées dans des flacons contenant 100 ml de l'eau de mer naturel et de CO (1%, v/v).

Les cinétiques de croissance ont été suivies en mesurant la densité optique (DO) à 600nm.

Le culot a ensuite été remis en suspension dans 2 ml de solution physiologique stérile, mélangé par vortex à grande vitesse pendant 2 minutes et la (DO) 600 nm de la suspension a été mesurée.

Systématiquement, la production de biosurfactants, en tant qu'agents facilitant l'accès des hydrocarbures aux microorganismes, a été détectée en mesurant la tension superficielle (ST) des surnageants de culture.

Parmi les **16** isolats bactériens, la souche **SdK644** donnent une excellente croissance sur l'huile brute comme seule source de carbone et d'énergie. Ceci a été accompagné d'une réduction de la valeur de tension superficielle (ST) du milieu en dessous de 40 nm ce qui indique que l'isolat bactérien SdK644 est un producteur de biosurfactant.

7.5 Séquençage de l'ARNr 16S et analyse phylogénétique

Le gène de l'ARNr 16S de la souche SdK644 a été amplifié par PCR à l'aide d'un système PCR Stratagene (Robocycler gradient 96) avec l'ADN polymérase GoTaq (Promega, Madison, WI, USA). Les amorces universelles Fd1 (5' -AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et Rd1 (5'-AAGG AGG TGATCCAGCC-3'), ont été utilisées pour obtenir un produit PCR d'environ 1,5 kb.

La séquence du gène de l'ARNr 16S de la souche SdK644 a été déterminée et déposée dans les bases de données nucléotidiques GenBank/DDBJ/EMBL,

L'analyse phylogénétique a indiqué que la souche SdK644 est la plus étroitement associée aux membres du genre *Marinobacter* et plus spécifiquement à l'espèce *M. hydrocarbonoclasticus*, avec une similarité de séquence de 97.5% (avec le type ATCC 49840T) (**Figure 11**). Ce seuil était suffisamment élevé (> 97%) pour l'affilier comme *M. hydrocarbonoclasticus*.

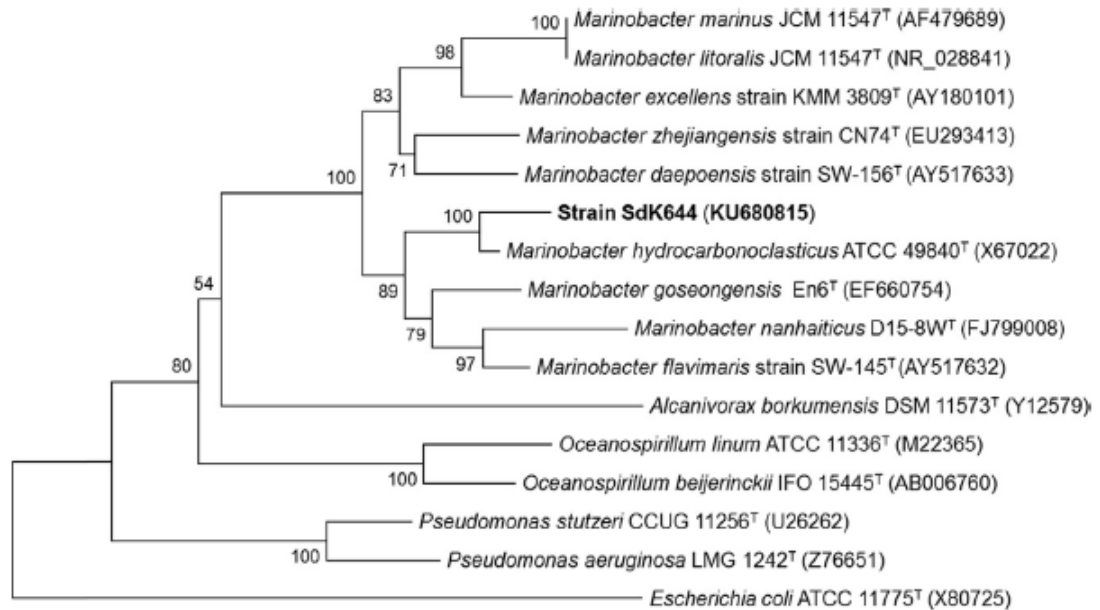


Figure 11 : Arbre phylogénétique basé sur des séquences de gènes d'ARNr 16S dans le rayonnement du genre *Marinobacter* et d'autres genres microbiens (Zenati, 2018).

7.6 Application des biosurfactants pour améliorer la solubilisation du pétrole brut

7.6.1 Production de biosurfactants

Le biosurfactant appliqué a été produit par la souche bactérienne SdK644 dans du Méthyl Sulfonyle Méthane (MSM) complété par de l'extrait de levure (0,01 %, p/v).

L'huile de friture usagée a été utilisée comme source de carbone, NH_4Cl comme source d'azote. Le milieu à pH de 7, une salinité (NaCl) de 23 g/l été réparti dans des flacons Erlenmeyer avec un volume de 2 litres et inoculé par une culture jeune de la souche SdK644 maintenue dans un bouillon LB et incubée à 30 °C et 150 tr/ min. pendant 72h.

Le biosurfactant brut a été récupéré avec une légère modification, le surnageant de culture a été extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle, concentré sous vide et le biosurfactant brut (liquide jaune visqueux) est séché et pesé.

La tension superficielle du surnageant de culture dans l'huile de friture usagée a diminué de 53,1 à 28,8 Nm, après 3 jours d'incubation.

Par conséquent, le biosurfactant synthétisé en utilisant ce substrat est plus efficace que ceux produits par la souche *Marinobacter* SdK644 sur de l'huile brute, comme source de carbone (ST de 38.0 Nanomètre, après 10 jours d'incubation).

Le biosurfactant HF644, obtenu après évaporation du solvant est un liquide jaune visqueux avec une concentration de 4,93 g/l.

7.6.2 Caractérisation partielle du biosurfactant

Une solution mère de biosurfactant a été préparée et diluée pour obtenir différentes concentrations (3-6300 mg/l). Pour chaque solution, la tension superficielle (ST) a été mesurée

La détermination de l'efficacité des bio surfactants qui est généralement évaluée en mesurant la concentration critique en micelles (CMC) pour observe plus de diminution de la tension de surface.

Le biosurfactant brut de la souche *Marinobacter* SdK644 a été analysé dans un spectromètre infrarouge et le spectre d'absorption infrarouge a été mesuré dans la région entre 400-4000 cm^{-1} .

Le spectre FTIR du biosurfactant brut a été enregistré par le logiciel OPUS en mode transmittance sous la forme d'une extension "dx" pour permettre sa manipulation ultérieure avec le logiciel.

Comme le montre la **figure 12**, la tension superficielle (ST) des solutions de biosurfactant diluées a diminué jusqu'à atteindre une valeur de 31.6 nm. Par la suite, aucune réduction significative de la tension superficielle n'a été observée. Ainsi, la CMC du biosurfactant HF644 est égale à 788 mg. Donc la surface et les propriétés micellaires du biosurfactant HF644 les rendent appropriées pour l'amélioration de la solubilisation des hydrocarbures.

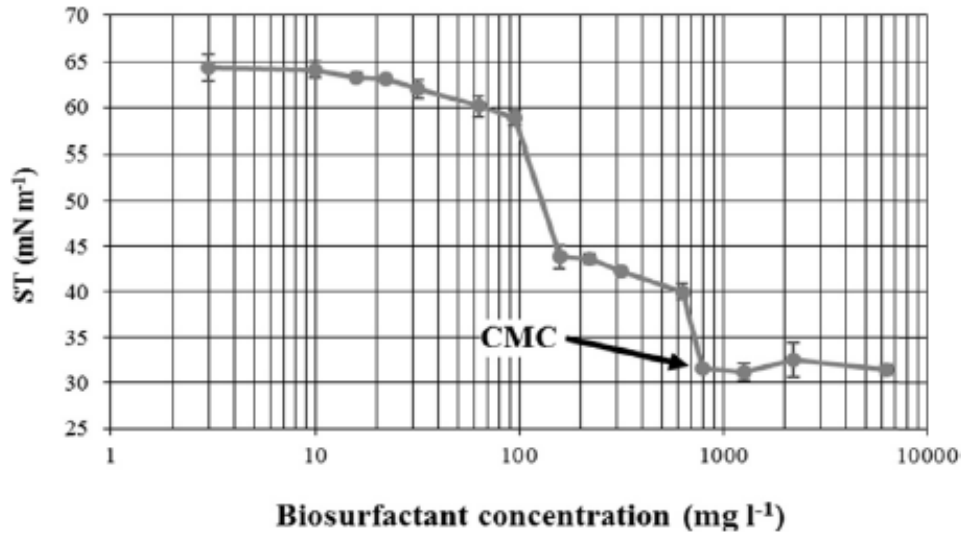


Figure 12 : Effet de la concentration de biosurfactant sur les changements de tension superficielle et la détermination de la concentration micellaire critique (Zenati, 2018).

7.6.3 Solubilisation du pétrole brut améliorée par les biosurfactants

Le test de solubilisation du pétrole brut a été réalisé en utilisant de l'eau de mer stérile (salinité de 35 g) avec le pétrole brute (CO) à une concentration de 1% (v/v).

Le biosurfactant de *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* SdK644 (désigné par HF644) a été ajouté pour atteindre sa concentration critique en micelles (CMC) dans 50 ml de milieu.

Le 'Tween 80' (surfactant) a été utilisé comme témoin positif tandis que l'eau de mer naturel (NSW) contenant du CO a été utilisé comme témoin négatif.

Les flacons ont été placés dans l'obscurité à 30 °C et 150 tr/ min pendant 24 h. Ensuite, les échantillons ont été transférés dans des ampoules à décanter et conservés pendant 24 h pour permettre la séparation des différentes phases.

En effet, un volume de 30 ml de la couche inférieure a été extrait deux fois (v/v) avec du dichlorométhane, puis séchés et concentrés sous vide et analysés par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de base (GC-MS) (Figure 13).

Le chromatogramme de l'échantillon de pétrole brut a montré l'abondance des n-alcane de longueur moyenne (de C11 à C27) et les deux biomarqueurs : pristine (Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl) et phytane (Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl).

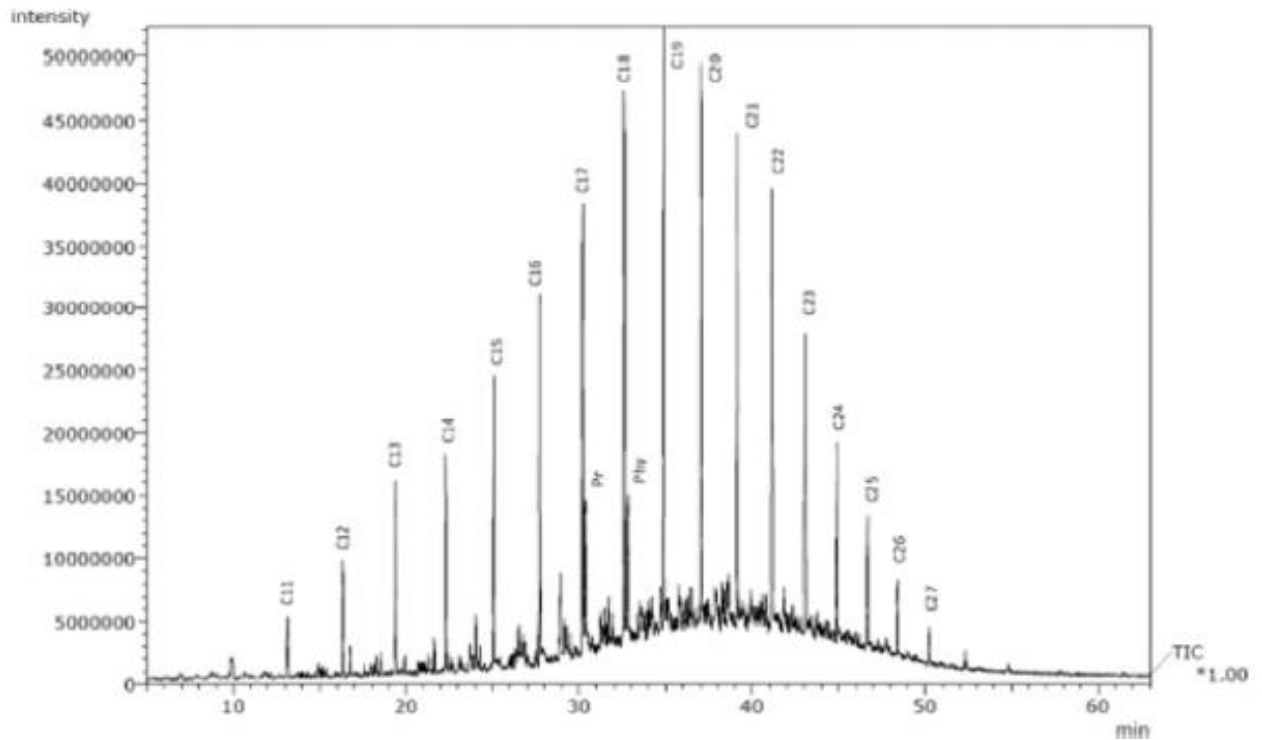


Figure 13 : Chromatogramme montrant l'abondance des composés aliphatiques dans l'échantillon de pétrole brut (Zenati, 2018).

7.6.4 L'effet de traitement de solubilisation

L'effet de traitement au biosurfactant HF644 et traitement au Tween 80 par rapport au témoin l'eau de mer est présentée dans la **figure 14**.

Le surfactant Tween 80 a permis de solubiliser la totalité des composés présents dans l'échantillon de pétrole brut (19 composés).

Cependant, le biosurfactant HF644 n'a pas pu solubiliser le pristane, le phytane et le C27 (16 composés).

Il est important de noter que l'eau de mer seule a permis la solubilisation de 15 composés saturés présents dans le pétrole brut, mais dans une moindre mesure que dans le cas des traitements par tensioactifs. De plus, le degré de solubilisation de chaque composé varie d'un tensioactif à l'autre.

En effet, C19 et C21 (nombre de composés solubilisé) ont été plus solubilisés par le biosurfactant HF644. Par contre le surfactant Tween 80, a été plus efficace dans la solubilisation de C16 (nombre de composé solubilisé)

Ce résultat pourrait s'expliquer par le comportement sélectif des tensioactifs envers les composés du pétrole brut.

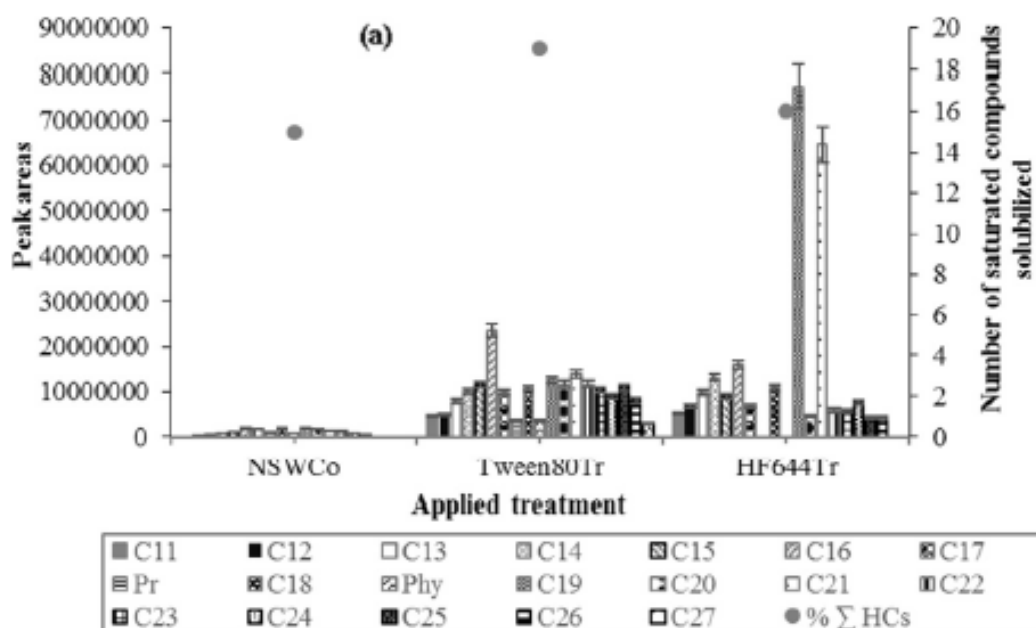


Figure 14 : Évaluation de la solubilisation des hydrocarbures saturés du pétrole brut suite aux traitements appliqués (Zenati, 2018).

(a) Histogrammes de composés individuels et nombre de composés saturés solubilisés.

7.6.5 Effet globale de traitement

La **figure 15** représente l'effet global de chaque traitement, les surfaces moyennes des composés saturés solubilisés à partir de chaque traitement.

Les résultats montrent que le biosurfactant HF644 était le plus efficace dans la solubilisation du pétrole brut. 2 fois et 13 fois plus efficace que le Tween 80 et l'eau de mer respectivement.

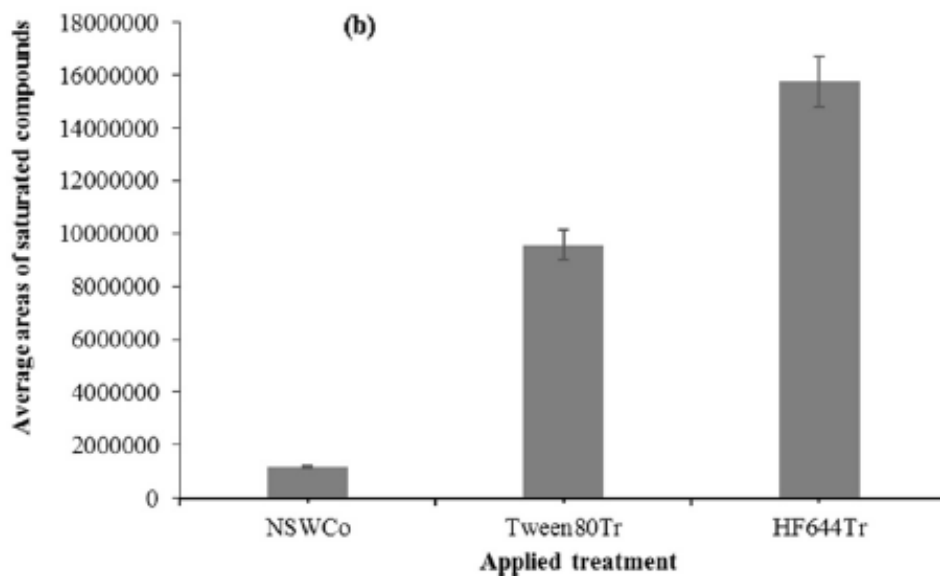
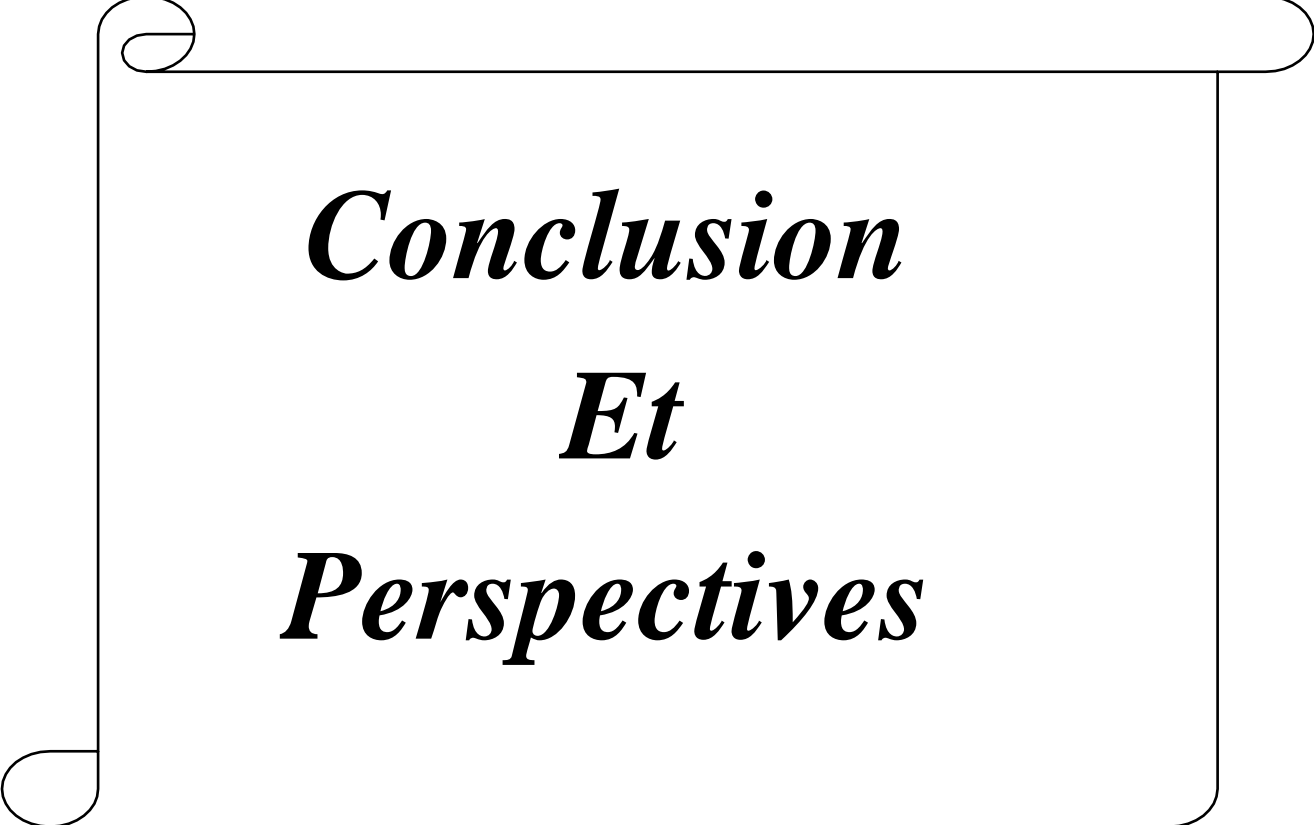


Figure 15 : Évaluation de la solubilisation des hydrocarbures saturés du pétrole brut suite aux traitements appliqués (Zenati, 2018).

(b) effet global.

Enfin, ces résultats suggèrent la souche SdK644 de *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* et son biosurfactant HF644 produit sur de l'huile de friture usagée constituent une solution adéquate pour la biorémédiation des environnements marins contaminés par des hydrocarbures pétroliers.



Conclusion

Et

Perspectives

Le procédé de dépollution biologique (biorémédiation) au moyen de microorganismes spécifiques est une technique durable permettant l'élimination des polluants. Elle utilise des bactéries, des champignons et des plantes choisis pour retirer ou neutraliser les polluants des sols ou des eaux.

D'après les 3 articles scientifiques traités dans notre travail, il existe différents microorganismes qui possèdent des capacités de dégradation des métaux lourds et les hydrocarbures. Parmi ces microorganismes les espèces bactériennes *Pseudomonas* sp. Cr13 et *Pseudomonas* sp. SA3 qui révèle des résultats très importants à l'échelle de laboratoire pour la dégradation du chrome (Cr) dans le sol, et le naphthalène un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP) dans le milieu marine respectivement.

Ainsi, certains microorganismes sont capables de sécréter des biomolécules comme le biosurfactant HF644 synthétisé par la bactérie *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* qui peuvent être utilisés dans le processus de biorémédiation.

Donc l'assainissement des sites pollués à l'aide de processus microbiens (biorémédiation) s'est avéré efficace et fiable en raison de ses caractéristiques et ayant montré des résultats intéressants et exploitables pour les études expérimentales ultérieures.

Perspectives

La majorité des recherches sur la capacité microbienne de dégradation des métaux lourds et les hydrocarbures ont été prouvées à l'échelle de laboratoire, mais il est souhaitable de développer des procédés pour les appliquer à grande échelle.

La réalisation de plusieurs études sur les mécanismes d'action impliqués par microorganismes.

La réalisation de plusieurs tests de biodégradation en fonction de différents facteurs physico-chimiques et concentrations de polluants pour observer la capacité maximale des souches à dégrader les polluants.

De plus, les recherches approfondies sont souhaitables sur l'implication des bioproduits sécrétés par les microorganismes pour la dépollution, et leurs commercialisations à l'échelle mondiale.



***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

- Abarian, M., Hassanshahian, M., et Badoei-Dalfard, A.** (2018). Isolation, screening, and characterization of naphthalene-degrading bacteria from Zarand Mine, Iran. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 38(5), 410-419.
- Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z., et Wassie, M.** (2017). The role of microorganisms in bioremediation-A review. *Open Journal of Environmental Biology*, 2(1), 038-046.
- Abbaci, S.** (2013). *Les inegalites rcologiques en milieu urbain et leur impact sur l'attractivite des quartiers cas d'etude: Annaba* (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).
- Abdelly, C.** (2007). Bioremédiation/Phytoremédiation.
- Abdulsalam, S., Adefila, S. S., Bugaje, I. M., et Ibrahim, S.** (2012). Bioremediation of soil contaminated with used motor oil in a closed system. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 3(12), 172-179.
- Adams, G. O., Fufeyin, P. T., Okoro, S. E., et Ehinomen, I.** (2015). Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3(1), 28-39.
- Adedosu, T. A., Adedosu, H. O., Sojину, O. S., et Olajire, A. A.** (2013). N-Alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) profile of soil from some polluted sites in Niger Delta, Nigeria. *Environmental earth sciences*, 68(8), 2139-2144.
- Ahemad, M.** (2014). Bacterial mechanisms for Cr (VI) resistance and reduction: an overview and recent advances. *Folia microbiologica*, 59(4), 321-332.
- AI-Jawhari, I. F. H.** (2014). Ability of some soil fungi in biodegradation of petroleum hydrocarbon. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(2), 46-52.
- Alessandrello, M. J., Tomás, M. S. J., Raimondo, E. E., Vullo, D. L., et Ferrero, M. A.** (2017). Petroleum oil removal by immobilized bacterial cells on polyurethane foam under different temperature conditions. *Marine pollution bulletin*, 122(1-2), 156-160.
- Anees, M. M., Qasim, M., et Bashir, A.** (2017). Physiological and physical impact of noise pollution on environment. *Earth Science Pakistan*, 1(1), 08-11.
- Aprile, A., et De Bellis, L.** (2020). Editorial for Special Issue “Heavy Metals Accumulation, Toxicity, and Detoxification in Plants”.

Références bibliographiques

- Aranda, E., Ullrich, R., et Hofrichter, M.** (2010). Conversion of polycyclic aromatic hydrocarbons, methyl-naphthalenes and dibenzofuran by two fungal peroxygenases. *Biodegradation*, 21(2), 267-281.
- Arihilam, N. H., et Arihilam, E. C.** (2019). Impact and control of anthropogenic pollution on the ecosystem—A review. *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*, 4(3), 54-59.
- Atlas, R. M.** (1995). Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. *Marine pollution bulletin*, 31(4-12), 178-182.
- Azubuike, C. C., Chikere, C. B., et Okpokwasili, G. C.** (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11), 1-18.
- Balasubramanian, A.** (2011). Aquatic Ecosystems-Freshwater types. *University of Mysore*.
- Baniasadi, M., et Mousavi, S. M.** (2018). A comprehensive review on the bioremediation of oil spills. *Microbial action on hydrocarbons*, 223-254.
- Barman, S. R., Banerjee, P., Mukhopadhyay, A., et Das, P.** (2017). Biodegradation of acenaphthene and naphthalene by *Pseudomonas mendocina*: Process optimization, and toxicity evaluation. *Journal of environmental chemical engineering*, 5(5), 4803-4812.
- Benkaddour, B.** (2018). *Contribution à l'étude de la contamination des eaux et des sédiments de l'Oued Chélif (Algérie)* (Doctoral dissertation, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem).
- Boopathy, R.** (2000). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource technology*, 74(1), 63-67.
- Borzenkova, I. I., et Turchinovich, I. Y.** (2009). History of atmospheric composition. *Environmental structure and function: climate system*, 2, 184-205.
- Bouabdesselam, H., Liazid, A., et Bouzidi, Y.** (2015). La politique environnementale en Algérie: Réalités et perspectives. *Déchets sci. techn*, 38, 29-33.
- Bovio, E., Gnani, G., Prigione, V., Spina, F., Denaro, R., Yakimov, M., et Varese, G. C.** (2017). The culturable mycobiota of a Mediterranean marine site after an oil spill: isolation, identification and potential application in bioremediation. *Science of the Total Environment*, 576, 310-318.

Références bibliographiques

- Burghal, A. A., Abu-Mejdad, N. M. J. A., et Al-Tamimi, W. H.** (2016). Mycodegradation of crude oil by fungal species isolated from petroleum contaminated soil. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 5(2), 1517-1524.
- Carbonnel, J. P.** (1997). «Le normal et les extrêmes dans les phénomènes naturels»-Séminaire du Comité national français de géodésie et géophysique 10 mars 1997–Paris. *Natures Sciences Sociétés*, 5(3), 70-71.
- Chaoui, S et Neghza, L.** (2020). *La Protection de l'environnement et la Législation Algérienne (Son application dans la wilaya Bordj Bou Arréridj)* (Doctoral dissertation).
- Charpin, D., Pairon, J. C., Annesi-Maesano, I., Caillaud, D., De Blay, F., Dixsaut, G., et Dalphin, J. C.** (2016). La pollution atmosphérique et ses effets sur la santé respiratoire. Document d'experts du groupe pathologies pulmonaires professionnelles environnementales et iatrogéniques (PAPPEI) de la Société de pneumologie de langue française (SPLF). *Revue des Maladies Respiratoires*, 33(6), 484-508.
- Cheffi, M., Hentati, D., Chebbi, A., Mhiri, N., Sayadi, S., Marqués, A. M., et Chamkha, M.** (2020). Isolation and characterization of a newly naphthalene-degrading *Halomonas pacifica*, strain Cnaph3: biodegradation and biosurfactant production studies. *3 Biotech*, 10(3), 1-15.
- Chen, W., Li, J., Sun, X., Min, J., et Hu, X.** (2017). High efficiency degradation of alkanes and crude oil by a salt-tolerant bacterium *Dietzia* species CN-3. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 118, 110-118.
- Cheng, Y., Wang, L., Faustorilla, V., Megharaj, M., Naidu, R., et Chen, Z.** (2017). Integrated electrochemical treatment systems for facilitating the bioremediation of oil spill contaminated soil. *Chemosphere*, 175, 294-299.
- Colati, K. A., Dalmaschio, G. P., de Castro, E. V., Gomes, A. O., Vaz, B. G., et Romão, W.** (2013). Monitoring the liquid/liquid extraction of naphthenic acids in brazilian crude oil using electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry (ESI FT-ICR MS). *Fuel*, 108, 647-655.
- Colombano, S., Saada, A., Guerin, V., Bataillard, P., Bellenfant, G., Beranger, S., et Girardeau, I.** (2010). Quelles techniques pour quels traitements-Analyse coûts-bénéfices. *Rapport final BRGM-RP-58609-FR*, 1-399.
- Danglot, C.** (1996). Le Génie génétique appliqué aux bactéries hydrocarbonoclastes. *La Houille Blanche*, (5), 39-48.

Références bibliographiques

- David, C.** (2013). Risques biologiques et biodépollution des sols. *Hygiène et sécurité du travail (Paris)*, (230), 11-16.
- Dervash, M. A., Bhat, R. A., Shafiq, S., Singh, D. V., et Mushtaq, N.** (2020). Biotechnological intervention as an aquatic clean up tool. In *Fresh Water Pollution Dynamics and Remediation* (pp. 183-196). Springer, Singapore.
- Dhahri, S.** (2013). *Analyse topographique, mécanique et électrochimique à l'échelle sub-micrométrique de processus pilotés par les bactéries* (Doctoral dissertation, Université Montpellier 2).
- Dooley, S., Heyne, J., Won, S. H., Dievart, P., Ju, Y., et Dryer, F. L.** (2014). Importance of a Cycloalkane Functionality in the Oxidation of a Real Fuel. *Energy & fuels*, 28(12), 7649-7661.
- Drapeau, A. J., Jankovic, S., et World Health Organization.** (1977). *Manuel de microbiologie de l'environnement*. Genève: Organisation mondiale de la Santé.
- Dufresne, M.** (2013). *Les technologies de traitement des sols contaminés: Lesquelles sont durables?* (Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke).
- Duran, R., et Cravo-Laureau, C.** (2016). Role of environmental factors and microorganisms in determining the fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment. *FEMS microbiology reviews*, 40(6), 814-830.
- El Fantroussi, S., et Agathos, S. N.** (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation?. *Current opinion in microbiology*, 8(3), 268-275.
- El-Borai, A. M., Eltayeb, K. M., Mostafa, A. R., et El-Assar, S. A.** (2016). Biodegradation of Industrial Oil-Polluted Wastewater in Egypt by Bacterial Consortium Immobilized in Different Types of Carriers. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25(5).
- Esrael, D.** (2015). *Dépollution des Sols par l'Extraction Multiphasique MPE: Développement d'un Modèle Numérique* (Doctoral dissertation, INSA de Lyon).
- Fedeila, M.** (2019). *Etude de la biodégradation de polluants organiques présents dans les eaux de rejets domestiques et/ou industriels* (Doctoral dissertation).
- Francou, C.** (2004). *Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains: Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage-Recherche d'indicateurs pertinents* (Doctoral dissertation, INAPG (AgroParisTech)).

Références bibliographiques

Gad, S. C. (2014). Petroleum hydrocarbons.

Garrec, J. P., He, S., Rosé, C., et Radnai, F. (2002). La pollution atmosphérique sur Pékin. Impact potentiel sur l'agriculture péri-urbaine. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, (46), 78-83.

Gavrilescu, M. (2010). Environmental biotechnology: achievements, opportunities and challenges. *Dynamic biochemistry, process biotechnology and molecular biology*, 4(1), 1-36.

Gomez, F., et Sartaj, M. (2014). Optimization of field scale biopiles for bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil at low temperature conditions by response surface methodology (RSM). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 89, 103-109.

Grimm, N. B., Chapin III, F. S., Bierwagen, B., Gonzalez, P., Groffman, P. M., Luo, Y., et Williamson, C. E. (2013). The impacts of climate change on ecosystem structure and function. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(9), 474-482.

Gu, J. D. (2021). On Environmental Biotechnology of Bioremediation. *Applied Environmental Biotechnology*, 5(2), 3-8.

Guergour, S. (2018). *Elimination des polluants organiques contenus dans les eaux usées par Electro-Fenton* (Doctoral dissertation).

Hassanshahian, M., et Boroujeni, N. A. (2016). Enrichment and identification of naphthalene-degrading bacteria from the Persian Gulf. *Marine pollution bulletin*, 107(1), 59-65.

Hazourli, S., Boudiba, L., et Ziati, M. (2007). Caractérisation de la pollution des eaux résiduaires de la zone industrielle d'El-Hadjar, Annaba. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (6).

Hazrati, S., Rostami, R., Farjaminezhad, M., et Fazlzadeh, M. (2016). Preliminary assessment of BTEX concentrations in indoor air of residential buildings and atmospheric ambient air in Ardabil, Iran. *Atmospheric environment*, 132, 91-97.

Helmy, Q., Laksmono, R., et Kardena, E. (2015). Bioremediation of aged petroleum oil contaminated soil: from laboratory scale to full scale application. *Procedia Chemistry*, 14, 326-333.

Hesham, A. E. L., Khan, S., Tao, Y., Li, D., Zhang, Y., et Yang, M. (2012). Biodegradation of high molecular weight PAHs using isolated yeast mixtures: application of meta-genomic

Références bibliographiques

methods for community structure analyses. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(8), 3568-3578.

Irfan, S., et Alatawi, A. M. M. (2019). Aquatic Ecosystem and Biodiversity: A Review. *Open Journal of Ecology*, 9(01), 1.

Jain, P. K., Gupta, V. K., Gaur, R. K., Lowry, M., Jaroli, D. P., et Chauhan, U. K. (2011). Bioremediation of petroleum oil contaminated soil and water. *Research journal of environmental toxicology*, 5(1), 1.

Jiang, D., Robbins, E. I., Wang, Y., et Yang, H. (2016). Palynological Evidence for Organic Petroleum Origin Theory. In *Petrolipalynology* (pp. 129-133). Springer, Berlin, Heidelberg.

Johanna, Z., & Johnny, Z. (2019). Effluents Treatment Generated by Biolixiviation in the Extraction of Precious Metals through Selective Recovery of Iron, Copper and Zinc. *International Journal of Mineral Processing and Extractive Metallurgy*, 4(2), 44.

Jullien, D. (2014). La recherche des polluants dans les sols. In *Séminaire "Sols Pollués"* (pp. 19-28).

Kamaludeen, S. P. B., Arunkumar, K. R., et Ramasamy, K. (2003). Bioremediation of chromium contaminated environments.

Karczewska, A., Mocek, A., Goliński, P., et Mleczek, M. (2015). Phytoremediation of copper-contaminated soil. In *Phytoremediation* (pp. 143-170). Springer, Cham.

Karigar, C. S., et Rao, S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. *Enzyme research*, 2011.

Kehinde, F. O., et Isaac, S. A. (2016). Effectiveness of augmented consortia of *Bacillus coagulans*, *Citrobacter koseri* and *Serratia ficaria* in the degradation of diesel polluted soil supplemented with pig dung. *African Journal of Microbiology Research*, 10(39), 1637-1644.

Kim, K. H., Jahan, S. A., Kabir, E., et Brown, R. J. (2013). A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment international*, 60, 71-80.

Koning, M., Hupe, K., et Stegmann, R. (2001). Thermal processes, scrubbing/extraction, bioremediation and disposal. *Biotechnology Set*, 304-317.

Références bibliographiques

- Kumar, A., Bisht, B. S., Joshi, V. D., et Dhewa, T.** (2011). Review on bioremediation of polluted environment: A management tool. *International journal of environmental sciences*, 1(6), 1079.
- Kumar, A., Kumar, A., Singh, R., Singh, R., Pandey, S., Rai, A., et Rahul, B.** (2020). Genetically engineered bacteria for the degradation of dye and other organic compounds. In *Abatement of Environmental Pollutants* (pp. 331-350). Elsevier.
- Lanzi, E., et Dellink, R.** (2019). Economic interactions between climate change and outdoor air pollution.
- Ławniczak, Ł., Marecik, R., et Chrzanowski, Ł.** (2013). Contributions of biosurfactants to natural or induced bioremediation. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(6), 2327-2339.
- Lee, Y., Lee, Y., et Jeon, C. O.** (2019). Biodegradation of naphthalene, BTEX, and aliphatic hydrocarbons by *Paraburkholderia aromaticivorans* BN5 isolated from petroleum-contaminated soil. *Scientific reports*, 9(1), 1-13.
- Lemtiri, A., Liénard, A., Alabi, T., Brostaux, Y., Cluzeau, D., Francis, F., et Colinet, G.** (2016). Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, 104, 67-78.
- Li, H., He, W., Qu, Y., Li, C., Tian, Y., et Feng, Y.** (2017). Pilot-scale benthic microbial electrochemical system (BMES) for the bioremediation of polluted river sediment. *Journal of Power Sources*, 356, 430-437.
- Lin, C., Gan, L., et Chen, Z. L.** (2010). Biodegradation of naphthalene by strain *Bacillus fusiformis* (BFN). *Journal of hazardous materials*, 182(1-3), 771-777.
- Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M. K., Lahori, A. H., Wang, Q., et Zhang, Z.** (2016). Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 126, 111-121.
- Maliji, D., Olama, Z., et Holail, H.** (2013). Environmental studies on the microbial degradation of oil hydrocarbons and its application in Lebanese oil polluted coastal and marine ecosystem. *International journal of current microbiology and applied sciences*, 2(6), 1-18.
- Malik, Z., et Ahmed, S.** (2012). Degradation of petroleum hydrocarbons by oil field isolated bacterial consortium. *African Journal of Biotechnology*, 11(3), 650-658.

Références bibliographiques

- Maneerat, S., et Phetrong, K.** (2007). Isolation of biosurfactant-producing marine bacteria and characteristics of selected biosurfactant. *Songklanakarin J Sci Technol*, 29(3), 781-791.
- Mapelli, F., Scoma, A., Michoud, G., Aulenta, F., Boon, N., Borin, S., et Daffonchio, D.** (2017). Biotechnologies for marine oil spill cleanup: indissoluble ties with microorganisms. *Trends in biotechnology*, 35(9), 860-870.
- Marchant, R., et Banat, I. M.** (2012). Microbial biosurfactants: challenges and opportunities for future exploitation. *Trends in biotechnology*, 30(11), 558-565.
- Martin, C. W., Hollis, L. O., et Turner, R. E.** (2015). Effects of oil-contaminated sediments on submerged vegetation: an experimental assessment of *Ruppia maritima*. *PLoS one*, 10(10), e0138797.
- Marzan, L. W., Sultana, T., Hasan, M. M., Mina, S. A., Islam, M. R., Rakibuzzaman, A. G. M., et Khan, M. I. H.** (2017). Characterization of furnace oil bioremediation potential of hydrocarbonoclastic bacteria isolated from petroleum contaminated sites of the Sundarbans, Bangladesh. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(1), 103-113.
- Miklaucic, C. E., et Saseen, J.** (1989). THE ASHLAND OIL SPILL, FLOREFFE, PA—CASE HISTORY AND RESPONSE EVALUATION. In *International oil spill conference* (Vol. 1989, No. 1, pp. 45-51). American Petroleum Institute.
- Mishra, A., Mishra, S. P., Arshi, A., Agarwal, A., et Dwivedi, S. K.** (2020). Plant-microbe interactions for bioremediation and phytoremediation of environmental pollutants and agroecosystem development. In *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety* (pp. 415-436). Springer, Singapore.
- Mukherjee, J.** (2014). Environmental microbiology and biotechnology: progress and prospects. *Chemie Ingenieur Technik*, 86(12), 2226-2239.
- Muthusamy, K., Gopalakrishnan, S., Ravi, T. K., et Sivachidambaram, P.** (2008). Biosurfactants: properties, commercial production and application. *Current science*, 736-747.
- Naik, M. G., et Duraphe, M. D.** (2012). Review paper on-Parameters affecting bioremediation. *International journal of life science and pharma research*, 2(3), L77-L80.
- Nesrouche, H. B.** (2017). Approche écologique. Une ville saine pour un développement durable. Cas de la ville de Constantine.

Références bibliographiques

- Ng, Y. F., Ge, L., Chan, W. K., Tan, S. N., Yong, J. W. H., et Tan, T. T. Y.** (2015). An environmentally friendly approach to treat oil spill: Investigating the biodegradation of petrodiesel in the presence of different biodiesels. *Fuel*, 139, 523-528.
- Niu, G. L., Zhang, J. J., Zhao, S., Liu, H., Boon, N., et Zhou, N. Y.** (2009). Bioaugmentation of a 4-chloronitrobenzene contaminated soil with *Pseudomonas putida* ZWL73. *Environmental Pollution*, 157(3), 763-771.
- Nouri, M., & Haddioui, A.** (2016). Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds: une revue (The remediation techniques of heavy metals contaminated soils: a review). *Maghrebien Journal of Pure and Applied Science*, 2(2), 2-2.
- Oucher, N., Kerbachi, R., Ghezloun, A., et Merabet, H.** (2015). Magnitude of air pollution by heavy metals associated with aerosols particles in Algiers. *Energy Procedia*, 74, 51-58.
- Merabet, H. Recherche et Développement. (2017)
- Padmapriya, B., Suganthi, S., et Anishya, R. S.** (2013). Screening, optimization and production of biosurfactants by *Candida* species isolated from oil polluted soils. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 13(2), 227-233.
- Pansu, M., Gautheyrou, J., et Loyer, J. Y.** (1998). *L'analyse du sol: échantillonnage, instrumentation et contrôle*.
- Paralovo, S. L., Borillo, G. C., Barbosa, C. G., Godoi, A. F. L., Yamamoto, C. I., de Souza, R. A., et Godoi, R. H.** (2016). Observations of atmospheric monoaromatic hydrocarbons at urban, semi-urban and forest environments in the Amazon region. *Atmospheric Environment*, 128, 175-184.
- Parray, J. A., Mahmoud, A. H. A. E., et Sayyed, R.** (2021). *Soil Bioremediation: An Approach Towards Sustainable Technology*. John Wiley & Sons.
- Peng, R. H., Xiong, A. S., Xue, Y., Fu, X. Y., Gao, F., Zhao, W., et Yao, Q. H.** (2008). Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS microbiology reviews*, 32(6), 927-955.
- Pereira, P., Enguita, F. J., Ferreira, J., et Leitão, A. L.** (2014). DNA damage induced by hydroquinone can be prevented by fungal detoxification. *Toxicology reports*, 1, 1096-1105.
- Ponge, J. F.** (2015). The soil as an ecosystem. *Biology and fertility of soils*, 51(6), 645-648.

Références bibliographiques

Pontes, J., Mucha, A. P., Santos, H., Reis, I., Bordalo, A., Basto, M. C., et Almeida, C. M. R. (2013). Potential of bioremediation for buried oil removal in beaches after an oil spill. *Marine pollution bulletin*, 76(1-2), 258-265.

Rabani, M. S., Habib, A., et Gupta, M. K. (2020). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Toxic Effects and Their Bioremediation Strategies. In *Bioremediation and Biotechnology, Vol 4* (pp. 65-105). Springer, Cham.

Race, M., Marotta, R., Fabbicino, M., Pirozzi, F., Andreozzi, R., Cortese, L., et Giudicianni, P. (2016). Copper and zinc removal from contaminated soils through soil washing process using ethylenediaminedisuccinic acid as a chelating agent: A modeling investigation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(3), 2878-2891.

Rahman, Z., et Thomas, L. (2020). Chemical-Assisted Microbially Mediated Chromium (Cr) (VI) Reduction Under the Influence of Various Electron Donors, Redox Mediators, and Other Additives: An Outlook on Enhanced Cr (VI) Removal. *Frontiers in Microbiology*, 11, 3503.

Rebouh, S. (2017). Impact de la pollution de l'air provoquée par la cimenterie tahar djouad sur la santé publique et le cadre bâti.

Riskuwa-Shehu, M. L., et Ismail, H. Y. (2018). Isolation of endophytic bacteria and phytoremediation of soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons using *Cajanus cajan* and *Lablab purpureus*. *Bioremediation Science and Technology Research*, 6(1), 26-30.

Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F. S., Lambin, E. F., et Foley, J. A. (2009). A safe operating space for humanity. *nature*, 461(7263), 472-475.

Ron, E. Z., et Rosenberg, E. (2014). Enhanced bioremediation of oil spills in the sea. *Current Opinion in biotechnology*, 27, 191-194.

Rosenberg, E., et Ron, E. Z. (1999). High-and low-molecular-mass microbial surfactants. *Applied microbiology and biotechnology*, 52(2), 154-162.

Rosenberg, E., Legmann, R., Kushmaro, A., Taube, R., Adler, E., et Ron, E. Z. (1992). Petroleum bioremediation—a multiphase problem. *Biodegradation*, 3(2), 337-350.

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

Références bibliographiques

- Samaksaman, U., Peng, T. H., Kuo, J. H., Lu, C. H., et Wey, M. Y.** (2016). Thermal treatment of soil co-contaminated with lube oil and heavy metals in a low-temperature two-stage fluidized bed incinerator. *Applied Thermal Engineering*, 93, 131-138.
- Sani, I., Safiyanu, I., et Rita, S. M.** (2015). Review on bioremediation of oil spills using microbial approach. *IJESR*, 3(6), 41-45.
- Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., et Sarubbo, L. A.** (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International journal of molecular sciences*, 17(3), 401.
- Schuler, B., Meyer, G., Peña, D., Mullins, O. C., et Gross, L.** (2015). Unraveling the molecular structures of asphaltenes by atomic force microscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 137(31), 9870-9876.
- Seo, J. S., Keum, Y. S., et Li, Q. X.** (2009). Bacterial degradation of aromatic compounds. *International journal of environmental research and public health*, 6(1), 278-309.
- Silva, A., Delerue-Matos, C., et Fiúza, A.** (2005). Use of solvent extraction to remediate soils contaminated with hydrocarbons. *Journal of hazardous materials*, 124(1-3), 224-229.
- Simarro, R., González, N., Bautista, L. F., & Molina, M. C.** (2013). Assessment of the efficiency of in situ bioremediation techniques in a creosote polluted soil: change in bacterial community. *Journal of hazardous materials*, 262, 158-167.
- Singh, A., Kumar, V., & Srivastava, J. N.** (2013). Assessment of bioremediation of oil and phenol contents in refinery waste water via bacterial consortium. *J Pet Environ Biotechnol*, 4(3), 1-4.
- Singh, P., Singh, V. K., Singh, R., Borthakur, A., Kumar, A., Tiwary, D., & Mishra, P. K.** (2018). Biological degradation of toluene by indigenous bacteria *Acinetobacter junii* CH005 isolated from petroleum contaminated sites in India. *Energy, Ecology and Environment*, 3(3), 162-170.
- Singh, R., et Majumdar, R. S.** (2017). Comparative study on bioremediation for oil spills using microbes. *Research & Reviews: A Journal of Bioinformatics*, 4(1), 16-24.
- Srivastava, V., Sarkar, A., Singh, S., Singh, P., Araujo, A. S., et Singh, R. P.** (2017). Agroecological responses of heavy metal pollution with special emphasis on soil health and plant performances. *Frontiers in Environmental Science*, 5, 64.

Références bibliographiques

- Strong, P. J., et Burgess, J. E.** (2008). Treatment methods for wine-related and distillery wastewaters: a review. *Bioremediation journal*, 12(2), 70-87.
- Sukumar, S., & Nirmala, P.** (2016). Screening of diesel oil degrading bacteria from petroleum hydrocarbon contaminated soil. *Int J Adv Res Biol Sci*, 3(8), 18-22.
- Tang, X., Huang, Y., Li, Y., Wang, L., Pei, X., Zhou, D., et Hughes, S.** (2021). Study on detoxification and removal mechanisms of hexavalent chromium by microorganisms. *Ecotoxicology and environmental safety*, 208, 111699.
- Tirkey, S. R., Ram, S., et Mishra, S.** (2021). Naphthalene degradation studies using *Pseudomonas* sp. strain SA3 from Alang-Sosiya ship breaking yard, Gujarat. *Heliyon*, 7(3), e06334.
- Tissot, B. P., et Welte, D. H.** (1978). Formation of Petroleum in Relation to Geological Processes. Timing of Oil and Gas Generation. In *Petroleum Formation and Occurrence* (pp. 185-201). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Turner-Walker, G.** (2012). The nature of cleaning: physical and chemical aspects of removing dirt, stains and corrosion. In *proceedings of the international symposium on cultural heritage conservation. Tainan, Taiwan: 6th-8th November*.
- Varjani, S. J.** (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource technology*, 223, 277-286.
- Vendel, F.** (2011). *Modélisation de la dispersion atmosphérique en présence d'obstacles complexes: application à l'étude de sites industriels* (Doctoral dissertation, Ecole Centrale de Lyon).
- Vieira, P. A., Vieira, R. B., De França, F. P., et Cardoso, V. L.** (2007). Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. *Journal of Hazardous Materials*, 140(1-2), 52-59.
- Viti, C., Marchi, E., Decorosi, F., et Giovannetti, L.** (2014). Molecular mechanisms of Cr (VI) resistance in bacteria and fungi. *FEMS microbiology reviews*, 38(4), 633-659.
- Wang, H., & Frenklach, M. (1994). Transport properties of polycyclic aromatic hydrocarbons for flame modeling. *Combustion and flame*, 96(1-2), 163-170.

Références bibliographiques

Wolski, E. A., Barrera, V., Castellari, C., et González, J. F. (2012). Biodegradation of phenol in static cultures by *Penicillium chrysogenum* ERK1: catalytic abilities and residual phytotoxicity. *Revista Argentina de microbiologia*, 44(2), 113-121.

Yadav, M., Singh, S. K., Sharma, J. K., et Yadav, K. D. S. (2011). Oxidation of polyaromatic hydrocarbons in systems containing water miscible organic solvents by the lignin peroxidase of *Gleophyllum striatum* MTCC-1117. *Environmental technology*, 32(11), 1287-1294.

Zaheer, M. (2019). Bacterial Exopolysaccharides: sources, production and applications. *Biologia*, 65(2), 1-15.

Zenati, B. (2018). *Biodégradation des hydrocarbures pétroliers par des bactéries marines: Application en traitement des eaux de mer contaminées par le pétrole* (Doctoral dissertation, Université Saad Dahlab Blida 1 (Algérie)).

Zhang, Z., Sun, J., Guo, H., Wang, C., Fang, T., Rogers, M. J., et Wang, H. (2021). Anaerobic biodegradation of phenanthrene by a newly isolated nitrate-dependent *Achromobacter denitrificans* strain PheN1 and exploration of the biotransformation processes by metabolite and genome analyses. *Environmental Microbiology*, 23(2), 908-923.

Zenati, B., Chebbi, A., Badis, A., Eddouaouda, K., Boutoumi, H., El Hattab, M., et Franzetti, A. (2018). A non-toxic microbial surfactant from *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* SdK644 for crude oil solubilization enhancement. *Ecotoxicology and environmental safety*, 154, 100-107.