

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N° ...../SNV/2019

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

Présenté par

M<sup>elle</sup> Bentadja Mansouria et M<sup>elle</sup> Oueld kaddour khaira

Pour l'obtention du diplôme de

### MASTER EN BIOLOGIE

**Spécialité: Génétique fondamental et appliqué**

#### THÈME

**La biodégradation des mégots de cigarette  
par la bactérie (*Bacillus megaterium*)**

Soutenue publiquement le 15 /07/2019

#### DEVANT LE JURY

Président	Mr Nebbache.S	MCB	U. Mostaganem
Encadreur	Mr Chibani .A	Professeur	U. Mostaganem
Examineurs	Mr Djibaoui R.	Professeur	U.Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de biologie animale et Microbiologie*

## **Remerciements**

Avant tout, je remercie Allah, le Tout Puissant et le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience, pour surmonter toutes les difficultés de ce mémoire.

\*\*\*\*\*

Mes vifs remerciement et ma profonde gratitude s'adressent à mon encadreur Dr Chibani, qui a accepté m'encadrer, ses précieuses orientations, conseils, contrôles et suivis, et ses encouragements.

Mes vifs remerciements vont aux membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail : Je tiens à exprimer ma très grande considération, et mon profond respect à Dr Nebbache qui m'a fait l'honneur de présider ce Jury. Vous trouvez ici mes expressions respectueuses et ma profonde gratitude. Je remercie Jibaoi de bien vouloir examiner ce travail. Je ne peux que sincèrement vous exprimer mon respect et ma profonde gratitude. J'adresse un grand merci aux techniciennes de laboratoires de Biologie Animal Mr Abaiadi pour tous les moments de travail passés au laboratoire et pour leurs orientations et conseils précieux. .

Un grand merci à toutes les personnes qui m'ont aidé sur le terrain pour la collecte des informations et la réalisation des questionnaires.

À tous nos enseignants depuis la première année, qui nous ont donné les bagages scientifiques nécessaires pour faire ce mémoire.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont aussi à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# *Dédicace*

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

Ma sœur Amina tu as été à mes cotés pendant toutes les étapes de ce travail, je t'en suis très reconnaissant. Aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur des sentiments fraternels et d'amour, d'attachement que j'éprouve à votre égard. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection en souvenirs de notre indéfectible union qui s'est tissée au fil des jours. Puisse dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.

Je dédie aussi ce travail à :

Mon mari : Amine

Ma grand-mère.

Mes frères, et ses femmes.

Mon beau frère : Mohamed

A mes neveux et mes nièces.

Mes oncles, mes tantes et leur famille.

Tous mes cousins et cousines.

A tous mes collègues

Mansouria

# *Dédicace*

Je dédier ce travail à tous ceux qui ont sacrifié leur noble existence pour bâtir la mienne, qui par leur précieux conseils et soutien ont su comment me guidé vers la réussite :

- ❖ Mes très chers parents, qui m'a beaucoup en courages pour la réussite dans mes études.
  - ❖ A mon frères Ali ; Ismail
  - ❖ A mes sœurs Alia ; Rachida ; Sakina et Fatma.
  - ❖ A toutes les familles Ould kaddour et Boukalal
  - ❖ A l'âme de mes chères amies Samira, Souhila, Nadia et Souria
  - ❖ A tous sans exception mes amies et tous mes collègue de la classe Master 2 surtout : Houria, Imaine, Halima ; Khadija ; Safia et Khaira.
  - ❖ Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.
- ❖ Tous les étudiants de promotion 2017-2019.

khaira

## *Résumé*

Chaque année, 72 milliards de mégots sont disséminés dans la nature. Or, ce sont des déchets qui polluent les villes, la flore et la faune, en particulier le milieu marin. Les mégots de cigarette seraient le déchet le plus retrouvé sur les plages, juste après les bouteilles en plastique.

Différentes solutions pour réduire leur impact sur l'environnement ont été proposées, sans grands résultats. Sensibiliser les fumeurs à cette pollution semble être le meilleur moyen.

Le but principale de ce travail est étudié la biodégradation de mégot de cigarette par des bactéries . Ces souche isolée et identifier sont des bacilles à gram positif ( *Bacillus mégatérium* ) capable de croitre dans la température 37°C en utilisant le polymère en mégot de cigarette come source de carbone.

La propriété analysée dans cette étude est le potentiel de formation de bio-film bactérien sur les mégots des cigarettes et ses caractéristiques physiques avant et après incubation de 3 mois.

**Mots clés :** Biodégradation, Bio-film, Mégot de cigarette, *Bacillus mégatérium*.

## Abstract

*Each year, 72 billion cigarette butts are scattered in nature. However, it is waste that pollutes cities, flora and fauna, especially the marine environment. Cigarette butts are the most common waste found on beaches just after plastic bottles.*

*Different solutions to reduce their impact on the environment have been proposed, without great results. Sensitizing smokers to this pollution seems to be the best way.*

*The aim of this work is the biodegradation of cigarette butts by bacteria. These isolated strain and identify are gram-positive bacilli (*Bacillus megaterium*) capable of growing in temperature 37 ° C using the cigarette butt polymer as a carbon source.*

*The property analyzed in this study is the potential for bacterial biofilm formation on plastic and its physical characteristics before and after incubation for several weeks.*

*Key words: Biodegradation, Bio-film, Cigarette butt, *Bacillus megaterium*.*

## الملخص

كل عام ، 72 مليار أعقاب السجائر منتشرة في الطبيعة. ومع ذلك ، فمن النفايات التي تلوث المدن والنباتات والحيوانات ، وخاصة البيئة البحرية. تعد أعقاب السجائر أكثر النفايات شيوعاً التي توجد على الشواطئ بعد الزجاجات البلاستيكية.

تم اقتراح حلول مختلفة للحد من تأثيرها على البيئة ، دون نتائج رائعة. يبدو أن تحسيس المدخنين بهذا التلوث هو أفضل طريقة.

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو التحلل الحيوي لأعقاب السجائر بكتيريا . هذه السلالة المعزولة وتحديدها هي عصيات إيجابية الجرام (*Bacillus megaterium*) قادرة على النمو في درجة حرارة 37 درجة مئوية باستخدام بوليمر عقب السجائر كمصدر للكربون. الخاصية التي تم تحليلها في هذه الدراسة هي إمكانية تكوين الأغشية الحيوية البكتيرية على أعقاب السجائر وخصائصها الفيزيائية قبل وبعد الحضانة لمدة 3 أشهر.

الكلمات المفتاحية: التحلل الحيوي ، الفيلم الحيوي ، بعقب السجائر ، *Bacillus megaterium*

# Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**BN** : Bouillon nutritif

**DO** : densité optique

**°C** : Degré Celsius

**FeCl<sub>3</sub>** : chlorure de fer

**K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : hydrogénophosphate de potassium

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : phosphate de potassium

**MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O** : magnésium sulfate heptahydrate.

**Na Cl** : chlorure de sodium.

**NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>** : nitrate d'ammonium

**g** : gramme.

**SM** : solution mère.

**H** : heure.

## **Liste des tableaux :**

**Tableau 01** : les résultats de test de turbidité pendant 3 mois.....p25.

**Tableau 02** : changement dans le poids du mégot d'une cigarette au cours de 3 mois.....p27.

**Tableau 03** : les changements physiques des mégots d'une cigarette.....p28.

# Liste des figures

<b>Figure 01:</b> composition du cigarette.....	<b>p01.</b>
<b>Figure 02 :</b> les mégots des cigarettes.....	<b>p05.</b>
<b>Figure 03 :</b> Filtre usagé de cigarette en acétate de cellulose.....	<b>p06.</b>
<b>Figure 04 :</b> Structures moléculaires d'acétate de cellulose.....	<b>p06.</b>
<b>Figure 05 :</b> Les étapes de recyclage des mégots des cigarettes.....	<b>p10.</b>
<b>Figure 06 :</b> Schéma des étapes de la dégradation en conditions aérobie et anaérobie.....	<b>p15.</b>
<b>Figure 07 :</b> Organisation générale d'une bactérie.....	<b>p18.</b>
<b>Figure 08 :</b> Les bocaux A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> , B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> .....	<b>p22.</b>
<b>Figure 09 :</b> Placement des bocaux dans incubateur.....	<b>p23.</b>
<b>Figure 10 :</b> Un spectrophotomètre (JENWAY 6715/UV, vis).....	<b>p23.</b>
<b>Figure 11 :</b> extrait bactérienne (SM) après agitation pendant 24h. ....	<b>p24.</b>
<b>Figure 12 :</b> La courbe de croissance bactérienne.....	<b>p26.</b>

**Remerciement**

**Dédicace**

**Résumé –abstract-**

**Liste des abréviations**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**SOMMAIR**

**INTRODUCTION GENERAL**

**CHAPITRE 01 : Mégot de cigarette**

**I. Généralités de cigarette .....p01.**

**I.1. Historique de cigarette .....p02.**

**I.2. La dépendance à la cigarette serait génétique.....p03.**

**II.1.Définition du mégot .....p05.**

**II.2.La composition d'un mégot de cigarette.....p06.**

**II.3.La durée de vie d'un mégot .....p07.**

**II.4.La durée de vie d'un mégot dans la mer .....p08.**

**II.5.Les conséquences écologiques du mégot.....p08.**

**II.6. Recyclage .....p10.**

**CHAPITRE 02 : Biodégradation.**

**III.1.Biodégradable : La définition.....p12.**

**III.1.1.Dégradation .....p12.**

**III.1.2.Biodégradation .....p13.**

**III.2.Mécanisme général de la biodégradation .....p13.**

**III.3.Les étapes de la biodégradation .....p14.**

**III.3.1.Les paramètres qui influencent la biodégradation .....p16.**

III.3.1.1.Paramètres physico-chimique du milieu .....	p16.
III.3.2.1.Les facteurs biologiques de la biodégradation.....	p17.
III.3.2.1. Les bactéries .....	p18.
III.3.2.2.Généralités de <i>B.megaterium</i> .....	p19.
III.3.2.3.Classification de <i>B. megaterium</i> .....	p20.
III.4.Dégradation d'un mégot de cigarette .....	p21.
Chapitre 03 : matériel et méthode.	
IV. Objectif.....	p22.
V. Les milieux de culture.....	p22.
VI. Protocol .....	p22.
VII. La mesure de turbidité .....	p24.
Chapitre 04 : résultat et discussion.	
VIII. Test mécanique .....	p25.
IX. La formation du bio-film bactérienne.....	p26.
X. La mesure de la turbidité.....	p26.
Conclusion	

# Introduction

Le mégot est situé parmi les premiers déchets au monde ; n'est pas gros mais pollue beaucoup. On les retrouve hélas quasiment partout. Que ce soit en ville, à la campagne, à la montagne ou au bord de la mer, les mégots colonisent notre planète. Ils ne sont pas seulement là où les gens les laissent. Car le vent, les cours d'eaux, les eaux pluviales peuvent les charrier sur de grandes distances... C'est pourquoi on retrouve beaucoup de mégots sur les plages et dans les océans. Lorsque sont effectuées des campagnes de nettoyage ce sont hélas les mégots qui remportent la palme du déchet le plus ramassé. En 2009, **2 189 252** mégots ont été ramassés lors de la journée mondiale de nettoyage du littoral (organisée par Ocean Conservancy). Et en montagne par exemple, certains bergers se plaignent que leurs moutons et brebis les ingèrent. Sans compter que dans la nature, les mégots parfois mal éteints peuvent causer de graves incendies. Rappelons qu'un mégot peut se consumer pendant encore 3h s'il a mal été éteint. **(Moerman, 2009).**

En relation avec l'écologie, avec la gestion des déchets, de la et de l'environnement naturel, avec la bio-remédiation. La biodégradation est maintenant couramment associée avec des produits respectueux de l'environnement qui sont capables de se décomposer de nouveau en éléments naturels sont met le fabricant Max a mis au point des nouveaux **filtres à cigarette permettant au mégot de se dégrader plus rapidement dans la nature** .Une **dégradation en 1 mois** contre environ 2 ans pour un mégot classique, sont des filtre biodégradable et plus écologique.

Donc l'utilisation de produits dérivés de l'agrochimie contribuera à prolonger l'existence des ressources fossiles pour les générations à venir, en accord avec le développement durable.

## I. Généralités de cigarette :

Une cigarette, c'est un boudin de feuilles de tabac roulées dans un papier fin. De plus en plus on y ajoute un filtre, souvent en acétate de cellulose. Litre et cigarette sont réunies par le papier "manchette" qui entoure le filtre. Il est souvent coloré en jaune pour imiter le liège qui entourait jadis le filtre des cigarettes de luxe. Une cigarette contient entre 0,5 et 1 g de tabac selon les marques. Le tabac sec contenant entre 15 et 23mg de nicotine par gramme, la cigarette en contient donc entre 8 et 20 mg. **Figure 01** : Présent la composition d'une cigarette.

Cela n'a rien à voir avec ce qui est affiché sur les paquets, actuellement limité à 1mg. Cette valeur est un rendement mesuré par une machine à fumer. De même, le tabac ne contient pas de goudrons, qui sont formés lors de la combustion. 90% des cigarettes vendues dans le monde ont un filtre. Presque tous les filtres consistent en une tige de nombreuses (> 12 000) fibres d'acétate de cellulose analogues à du plastique. Lors de la fabrication de cigarettes à grande vitesse, des fragments d'acétate de cellulose constituant l'embouchure d'une tige de filtre deviennent séparé du filtre sur la face d'extrémité. La surface coupée du filtre de presque toutes les cigarettes a ces des fragments.

En fumant une cigarette de la manière habituelle, certains de ces fragments sont libérés pendant soufflant. En plus des fragments d'acétate de cellulose, des particules de carbone sont également émises par certaines particules. Marques de cigarettes qui ont un filtre à charbon. Les cigarettes avec des filtres qui libèrent de l'acétate de cellulose ou des particules de carbone dans des conditions de fumage normales sont défectueuses. (Pauly *et al*, 2002)



**Figure 01** : Composition de la cigarette (Smith, 2003)

## **I.1. Historique de cigarette :**

Dans l'antiquité, le tabac était inconnu en Europe. Pourtant, les hommes brûlaient diverses herbes dont ils utilisaient la fumée pour soigner ou pour prier. On a même retrouvé à Pompéi des fresques prouvant l'usage de pipes. En Amérique, les Indiens connaissaient le tabac, qu'ils considéraient comme une plante précieuse. Ils l'utilisaient lors de rituels pour la purification des adultes et pour entrer en communication avec le «Grand Esprit». Le tabac était aussi utilisé comme plante médicinale.

En 1492, Christophe Colomb découvre l'Amérique et s'aperçoit que les Indiens fument une plante nommée petum sous forme d'un tube de feuilles roulées. Ils utilisent de longues pipes ou chiquent les feuilles de tabac. Christophe Colomb raconte que les Indiens brûlent une plante avec de petits morceaux de charbon et en aspirent la fumée odorante ; d'autres utilisent des bâtons creux remplis de feuilles hachées ; d'autres encore fument des calumets, chiquent ou respirent une sorte de poudre.

En 1527, Bartolomé de Las Casas raconte qu' « après avoir allumé le bout de ces chalumeaux qu'ils appellent tabacos ou petums, les indigènes aspirent à l'autre extrémité par la bouche, ce qui provoque de la stupeur, une sorte d'intoxication et, selon eux, enlève la fatigue.

En 1493, le missionnaire espagnol Fray Romano Pane accompagne Christophe Colomb dans son deuxième voyage au Nouveau Monde, pour y convertir les habitants au christianisme. Il envoie du tabac à Charles Quint. L'Espagne choisit alors Cuba pour y faire pousser son tabac. Plus tard, quand le bateau accoste sur les côtes portugaises, l'équipage a pris l'habitude de consommer du tabac, dont il vante les mérites. ( **MARINE ,2015**).

Alors la cigarette contient une grande quantité de substances toxiques et cancérigènes pour notre organisme dont le goudron, l'arsenic ou le plomb... Lorsqu'elle est fumée, le filtre qu'elle contient lui aussi nocif en réalité. ( **Pauly et al, 2002** )

La cigarette est un enjeu de santé bien connu, mais qui est également très néfaste pour l'environnement. Chaque année près de 3 000 000 000 mégots sont consommés. ( **Marie Chatard, 2006** ). Après l'usage de cigarette on jette le mégot, un petit déchet, mais un gros problème. Dans le monde, les mégots des cigarettes sont jetés dans les rues chaque année soit 137 000 mégots par seconde (compteur). En moyenne, il faut 12 ans pour que ces mégots se dégradent complètement. Une vraie plaie pour l'environnement et les budgets municipaux. ( **OMS 2011** ).

## I.2. La dépendance à la cigarette serait génétique :

Le nombre de cigarettes consommées par un fumeur dépendrait directement d'un gène chargé de dégrader la nicotine dans l'organisme. Cette découverte faite par des chercheurs japonais et confirmée récemment par une étude française pourrait ouvrir des pistes de sevrage tabagique plus individualisées.

Être un gros fumeur serait inscrit dans nos gènes en ingérant la fumée de cigarette, le fumeur s'expose à différents composés très toxiques et cancérigènes. Parmi eux, la nicotine est le principal agent responsable de la dépendance à la cigarette. Très actif sur le système nerveux, ce composé peut néanmoins être dégradé dans l'organisme en une substance au contraire inactive, la cotinine. Suite à cette transformation, la chute des taux de nicotine dans le sang et le liquide cérébro-spinal (entourant le cerveau et la moelle épinière) est alors à l'origine du besoin plus ou moins irrésistible d'en "griller une". À l'origine de la dégradation nicotine-cotinine, on trouve une enzyme synthétisée par le gène CYP2A6.

Partant de ces constatations, une équipe japonaise a étudié les différentes formes de ce gène et les habitudes tabagiques de 200 japonais fumeurs de 50 ans ou plus qui avaient fumé l'équivalent d'au moins un paquet par jour pendant 10 ans. (Minematsu, 2006).

Résultat : un quart de ces fumeurs possèdent deux copies normales de ce gène. C'est chez ces sujets-là, dont la dégradation de la nicotine n'est pas ralentie, que se recrutent les plus gros fumeurs (près de deux paquets par jour en moyenne).

À l'inverse, la combinaison de deux variations particulières (retrouvée chez 3,5 % des fumeurs) est associée à la consommation journalière la plus basse (un peu moins d'un paquet par jour). Les autres combinaisons et les autres formes se situent entre ces deux extrêmes.

Une autre étude confirme que ce même gène CYP2A6 affecte directement le niveau de nicotine des personnes qui ont un patch à la nicotine. (Morel, 2014).

Les patients qui dégradent plus lentement la nicotine se retrouvent avec des taux sanguins plus élevés.

Gènes et dépendance : vers des traitements plus personnalisés l'enzyme CYP2A6 peut donc se présenter sous plusieurs formes, ce qui a une influence sur le taux de dégradation de la nicotine, et donc sur le degré de dépendance au tabac. Selon les chercheurs japonais, cette découverte pourrait mener à l'amélioration des méthodes pour arrêter de fumer.

Selon les résultats de ces deux études, on peut demain imaginer la mise au point de programmes de désaccoutumance mieux adaptés aux besoins de chacun, c'est-à-dire basé sur

le profil génétique. Selon les chercheurs japonais, cela devrait même "*constituer la première étape concrète d'un programme de désaccoutumance tabagique afin d'ajuster les méthodes de substitution nicotinique*".

La rechute, une affaire de génétique une équipe de chercheurs français, en collaboration avec des chercheurs italiens, américains et canadiens, a récemment publié dans la revue scientifique *Current Biology* une étude montrant le lien entre une mutation génétique et un plus fort risque de rechute après le sevrage tabagique. La mutation en question affecte une partie du récepteur neuronal à la nicotine : le gène *CHRNA5* impliqué dans le comportement de rechute. Les porteurs de cette mutation génétique ont donc plus de risques de faire une rechute après le sevrage tabagique. À noter que l'expérimentation a été testée sur des souris mais que les auteurs de l'étude estiment pouvoir sans difficultés l'étendre à l'humain.

Cette découverte capitale vient confirmer l'idée selon laquelle les gènes influenceraient le comportement du fumeur. Pour l'instant, il n'existe encore aucun sevrage tabagique spécialement conçu selon le profil génétique des fumeurs. (David , 2014).

## II.1.Définition du mégot :

Bout de cigare ou de cigarette qu'on a fini de fumer. (**Dictionnaire de français Larousse**)

**Figure 02** présentes les mégots des cigarettes.

Il ya deux types de mégot :

- **Cigarette avec filtre** : le mégot mesure moins du tiers de la longueur de la cigarette et se compose du filtre (tube de tissu synthétique ordinairement coloré en périphérie par le fabricant et en son cœur par les goudrons retenus), de quelques restes de **tabac** en partie consommés et de cendre.

Selon l'intensité avec laquelle la cigarette a été fumée, le mégot a joué plus ou moins longtemps son rôle filtrant et s'est chargé plus ou moins des éléments toxiques qu'il est censé retenir.

- **Cigarette sans filtre** : le mégot, composé d'un peu de tabac, du papier et de cendres, est plus petit ; fabrication industrielle, fabrication personnelle : le mégot moins ferme

est pincé côté lèvres et vaguement cylindrique. Dans ce cas, l'usage d'un fume-cigarette permet d'éviter la formation d'un mégot par la combustion complète du tabac.

Une étude toxicologique australienne a en 2006 montré des différences de toxicité significatives à importantes entre des mégots provenant de marques ou types différents de cigarette, cette toxicité variant aussi selon l'espèce-modèle testée : ainsi les lixiviats de mégots provenant de 19 cigarettes de marques différentes, artificiellement fumées en laboratoire se sont montrés jusqu'à 2,9 fois plus toxique (dans le pire des cas, par rapport au mégot le moins toxique) pour un crustacé cladocère . **(Rath et al ,2012)**



**Figure 02 : les mégots des cigarettes. (Freeman , Fleming, 2014)**

## **II.2.La composition d'un mégot de cigarette :**

La cigarette en général est composée de 4000 substances nocives pour la santé de l'homme, comme le goudron ou des métaux lourds voire radioactifs. Le mégot possède des résidus de ces substances en y ajoutant le filtre et le papier l'entourant. Autant dire qu'un mégot est un vrai cocktail de mort pour un écosystème.

Alors les trois composants nécessaires du mégot d'une cigarette sont :

1 - Le filtre (98% des cigarettes vendus sont avec filtre) : ce filtre, n'est pas en coton, mais fabriqué avec de l'acétate de cellulose. **Figure 03** présents filtres usagés de cigarette en acétate de cellulose.

L'acétate de cellulose est un plastique conçu par modification chimique de la cellulose (un polymère naturel) .**Figure 04** présent structures moléculaires d'acétate de cellulose.

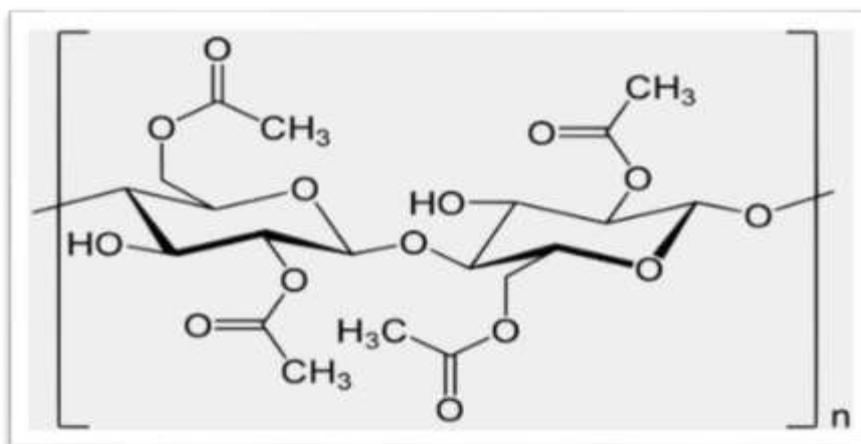
Les fibres de l'acétate de cellulose sont traitées avec un toxique, le dioxyde de titane, avant d'être densément compactées avec une substance irritante, la triacétine, pour former le filtre. Enfin, le filtre est enroulé d'un papier qui contient également plusieurs substances chimiques.

2 - Le reliquat de tabac (des restes de tabac)

3 - Le papier qui entoure le filtre. ( **Moerman, 2009**).



**Figure 03** : Filtre usagé de cigarette en acétate de cellulose (**Akroti,2006**).



**Figure 04** : Structures moléculaires d'acétate de cellulose.(**Yikrazuul, 2009**)

### II.3.La durée de vie d'un mégot :

Se pose maintenant la question de la décomposition du mégot. On peut néanmoins supposer qu'un mégot n'est pas vraiment biodégradable. Rappelons qu'un matériau est dit biodégradable lorsqu'il a la capacité intrinsèque à être dégradé par une attaque microbienne qui va simplifier progressivement sa structure et finalement le convertir en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et/ ou CH<sub>4</sub> et/ou une nouvelle biomasse.

D'autre part, les données concernant la durée de décomposition des mégots varient elles aussi selon les sources. Ce qui est certain, c'est qu'elle est relativement lente. Un mégot mettrait minimum 18 mois à se dégrader dans des conditions idéales; C'est-à-dire dans un environnement ensoleillé. Mais lorsqu'il tombe dans un endroit où il y a très peu de lumière, sa décomposition peut durer jusqu'à 50 ans selon certaines sources. En effet un mégot atterrissant au fond de l'océan aura une durée de vie particulièrement longue et difficilement quantifiable.

Comme dit précédemment le mégot fumé aura récupéré une bonne partie des substances nocives propres à la cigarette. Sans énumérer les substances unes à unes, la nicotine, le goudron, le polonium, le radium, l'ammoniac ne peuvent en aucun embellir un environnement. De ce fait ce mégot contaminé est une véritable bombe pour un écosystème. Ces substances se répandent dans l'eau par les égouts, la terre ou l'air. (**Richard et al, 2010**).

### II.4.La durée de vie d'un mégot dans la mer :

Cela dépend de la composition du mégot et des paramètres de l'eau de mer dans laquelle il se trouve. En moyenne, il faut 3 à 4 mois pour qu'un mégot de cigarette sans filtre se décompose totalement dans l'eau de mer, et entre 1 et 2 ans pour un mégot avec filtre, car les filtres sont composés d'acétate de cellulose, une matière plastique dont la dégradation par les micro-organismes demande plus de temps. Ces temps de décomposition peuvent sembler courts par rapport à ceux d'autres déchets, mais il ne faut surtout pas croire que la pollution provoquée par un déchet est proportionnelle à sa durée de vie !

Avec les nombreux produits chimiques très toxiques qu'il libère, un seul mégot pollue jusqu'à 500 litres d'eau de mer (soit l'équivalent de deux baignoires pleines), et peut contaminer voire tuer de nombreux organismes marins. (**Jean , 2007**)

## **II.5. Les conséquences écologiques des mégots :**

Les filtres des cigarettes ont été ajoutés à celles-ci dans les années 1950 afin de réduire le taux de goudron et de nicotine dans les cigarettes. Le message de l'époque de l'industrie du tabac ? Les cigarettes avec filtre sont moins dangereuses pour la santé. Au final, cela s'est révélé totalement faux. Tout d'abord parce que les fumeurs ont changé leur façon de fumer en aspirant des bouffées plus fréquentes et plus profondes. Ensuite parce qu'il s'avère que les fibres de plastique (souvent de l'acétate de cellulose) dont sont constitués ces filtres sont dangereuses pour la santé : des fragments sont en effet inhalés et ont pu être retrouvés dans les poumons de personnes souffrant d'un cancer pulmonaire. En outre, ces filtres qui se retrouvent dans la nature constituent une grave pollution.

On estime en que 845 000 tonnes de mégots terminent en débris chaque année. Aux Etats-Unis, les mégots représentent entre 28% et 33% du total des déchets ramassés. Contrairement à ce que pensent de nombreux fumeurs qui trouvent complètement normal de jeter n'importe où leurs mégots, ces derniers ne sont pas biodégradables. Ils sont juste photodégradables et la matière première ne disparaît pas complètement : elle se dilue au contact de l'eau ou du sol. Les mégots envahissent les villes, où les jeunes enfants et les animaux domestiques peuvent les ingérer. Et la nicotine qu'ils contiennent est toxique et peut entraîner des vomissements.

Les mégots terminent souvent leur vie dans les océans, du fait du parcours des égouts - ils représentent ainsi 40 % des déchets présents dans la mer Méditerranée -, polluant les eaux. En effet, ces filtres ont absorbé une partie des 4000 substances nocives présentes dans la cigarette, dont la nicotine, l'éthylphénol, des résidus de pesticides, des métaux lourds, des gaz toxiques tels que l'ammoniaque et l'acide cyanhydrique...Autant de substances qui se retrouvent dans l'eau et menacent la faune et la flore. Une étude récente a montré qu'un seul mégot contenait suffisamment de poison pour tuer la moitié des petits poissons mis dans un litre d'eau en seulement 96 heures.

De plus, les animaux marins peuvent ingérer les mégots, ce qui peut entraîner leur mort ou en tout cas provoquer un faux sentiment de satiété –les animaux ne régurgitent pas forcément ce type d'élément- et donc une sous-nutrition., (Elli, 2011). Un seul mégot de cigarette peut polluer jusqu'à 500 litres d'eau dans les océans ou rivières.

Les mégots jetés à terre dans la rue sont, pour beaucoup, emportés par le vent et la pluie jusque dans les fleuves et les océans. 80 % des déchets trouvés en mer ont une origine continentale. Ce petit geste que beaucoup de fumeurs reproduisent sans y penser est lourd en conséquence.

Une étude conduite par des chercheurs de l'Université de San Diego en Californie a montré que la moitié de leurs poissons mourraient dans une eau polluée par des mégots à hauteur de seulement un mégot par litre d'eau. Pire encore, presque la totalité des poissons (80%) mourraient dans une eau polluée par seulement deux mégots par litre d'eau ! (Temps de trempage des mégots de cigarettes dans l'eau : 96 heures. Expérience réalisée en laboratoire).

Contrairement à ce qu'on pense, il est plus dangereux de fumer des cigarettes avec filtre que sans. Cela s'explique par trois raisons : le filtre, composé de plastique, contient des composants aux effets toxiques pour la santé humaine. Ces derniers se retrouvent chauffés à haute température dans la fumée respirée par le fumeur; il est nécessaire d'aspirer plus fort la fumée lorsqu'on fume avec un filtre. Les aspirations étant plus profondes, la fumée de cigarette s'infiltré plus profondément dans les poumons.

Ainsi, il a été découvert que, chez les fumeurs de cigarettes sans filtre, les poumons sont atteints de manière bien plus superficielle (principalement la trachée et les premières bronches) que chez les fumeurs avec filtre; ayant accumulé leurs propres composants toxiques et ceux du tabac lui-même, les filtres représentent un déchet très toxique pour l'environnement, mais pas seulement.

Les pollutions environnementales dont les mégots sont responsables peuvent être dangereuses de manière directe pour les humains. Tout comme pour les métaux lourds, il existe une bioaccumulation de ces composants au fil de la chaîne alimentaire : les gros poissons en bout de chaîne (saumons, thons, etc.) contiennent dans leur chair les substances toxiques que les petits poissons qu'ils mangent ont mangés. Par ailleurs, les mégots de cigarettes polluent les nappes phréatiques, et donc l'eau que nous consommons.

## **II.6. Recyclage :**

Dans un premier temps, les mégots sont broyés pour séparer les résidus des cendres, on dépollue le tabac et le papier des filtres. Ces derniers sont ensuite lavés dans plusieurs bains

d'eau, en circuit fermé, puis séchés et à nouveau broyés avant un thermo-compressage. Les polluants, eux, sont évacués en déchets dangereux.

Résultat, des plaques d'acétate de cellulose marron, parsemées de marbrures, avec lesquelles l'entreprise fabrique par exemple des bancs à installer dans des zones fumeurs autour de cendriers. Et lorsque le banc est abîmé, il suffit de le broyer pour pouvoir le thermo-compresser à nouveau et créer une nouvelle plaque. **Figure 05** : présent Les étapes de recyclage des mégots de cigarettes.



**Figure 05** : Les étapes de recyclage des mégots de cigarettes. . (Minzae, 2014).

Plusieurs initiatives similaires commencent à émerger dans le monde où les mégots sont, soit recyclés en acétate de cellulose, soit transformés en matériaux pour l'isolation des bâtiments. Mais l'opération reste encore très compliquée.

En décembre 2017, l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) mettait ainsi en garde : « Il est aujourd'hui difficile, sur la base du peu d'éléments disponibles, notamment concernant la performance des procédés de lavage des filtres, d'évaluer leur pertinence et leur respect du cadre réglementaire existant. »

### III.1.Biodégradable : La définition

La biodégradabilité s'apprécie en prenant en compte à la fois le degré de décomposition d'une substance et le temps nécessaire pour obtenir cette décomposition.

La biodégradabilité est la qualité d'une substance biodégradable. Elle s'apprécie en tenant compte à la fois le degré de décomposition d'une substance et le temps nécessaire pour obtenir cette décomposition.

Une substance est dite biodégradable si, sous l'action d'organismes vivants extérieure à sa substance, elle peut se décomposer en éléments divers dépourvus d'effets dommageables sur le milieu naturel. (Pometto ,1999).

#### III.1.1.Dégradation :

Le terme dégradation désigne de manière générale toutes les altérations d'origine chimique et/ou physique qu'un matériau est susceptible de subir. Cependant, il est important de différencier les altérations que subit ce matériau au cours de son utilisation que l'on pourra assimiler à un phénomène de vieillissement non désiré, de celles qu'il subit lorsqu'il est traité en fin d'utilisation par stockage dans un milieu particulier (le compost par exemple) afin de le faire disparaître de manière définitive ou partielle. C'est pour ce dernier cas que nous emploierons le terme dégradation.

D'après le Comité Européen de Normalisation (CEN), la notion de dégradation est décrite comme suit : «La dégradation est un processus irréversible entraînant un changement significatif dans la structure du matériau, ce changement est classiquement caractérisé par une perte des propriétés initiales (poids moléculaire, structure moléculaire, résistance à la traction) et/ou une fragmentation.

Le terme dégradation rassemble donc l'ensemble des phénomènes biotiques et abiotiques que le matériau subit lorsqu'il est placé dans un milieu particulier pour être traité en fin de vie, sans distinction d'origine. Un « plastique dégradable » peut donc être défini comme suit : «Un matériau est considéré comme dégradable dans certaines conditions s'il subit une dégradation quelconque déterminée dans un temps donné et selon une méthode de mesure standardisée adaptée» (Pagga, et al, 1996).

### III.1.2. Biodégradation :

De façon générale, le composé chimique supporte la croissance et sert comme source de carbone et d'énergie aux microorganismes (**Bending et al ,2007**). Le succès de ce type de métabolisme dépend entre autre de la capacité du composé à induire la synthèse de l'enzyme requise. On met souvent l'emphase sur la spécificité des enzymes comme catalyseurs. Cependant, il n'est pas rare pour les enzymes de se lier à des substrats contenant des groupements fonctionnels xéno-biotiques analogues aux substrats naturels. Cela dépend du degré de similarité de la structure entre le composé xéno-biotique et le substrat naturel (**Alexander ,1973**). Si le composé xéno-biotique est incapable d'induire l'enzyme nécessaire, alors la biodégradation se produira seulement en présence de l'inducteur naturel. Cela peut sévèrement limiter les applications de la capacité enzymatique. Pour que les microorganismes d'une seule espèce effectuent continuellement la dégradation du composé organique en tant que seule source de carbone et d'énergie, ils doivent être absolument en mesure de soutirer cette énergie. S'ils en sont incapables, ils ne pourront pas maintenir leur intégrité cellulaire causant ainsi la mort éventuelle de la culture.

Dans cette situation, la seule façon pour que les microorganismes puissent dégrader constamment le composé xéno-biotique est l'utilisation d'une source additionnelle de carbone, ajoutée au milieu ou l'action d'autres organismes dans une communauté mixte (**Aislabie et al ,1995**).

### III.2. Mécanisme général de la biodégradation :

Les microorganismes peuvent seulement réaliser des activités pour lesquelles ils ont une « programmation » génétique. De plus, ils ne peuvent pas tout faire et l'environnement demeure un facteur déterminant dans la réaction pouvant être effectuée par un organisme apte à le faire. D'abord, un organisme susceptible de dégrader doit être présent, ensuite une opportunité doit exister pour que les enzymes nécessaires soient synthétisées. Enfin, les conditions environnementales doivent être appropriées pour que les réactions enzymatiques s'effectuent à une vitesse significative (**Labrecque ,2003**).

### III.3. Les étapes de la biodégradation :

La dégradation est affectée par les paramètres environnementaux et se déroule en plusieurs étapes sont les suivantes :

#### 1ère étape : fragmentation du matériau

Sous l'action de phénomènes érosifs anthropiques et/ou naturels plus ou moins sévères les matériaux en voie de biodégradation sont déchirés (brisés) en lambeaux (morceaux) de quelques décimètres à quelques millimètres, sans pertes importantes de leurs qualités physicochimiques.

#### 2ème étape : dégradation du matériau :

Il s'agit d'une étape de modification des qualités physico-chimiques des matériaux suite à un clivage chimique de leurs macromolécules. Six facteurs essentiels interviennent dans cette dégradation:

- L'humidité et le pH au sein du milieu de dégradation
- La lumière et plus particulièrement le rayonnement UV
- La température qui accélère la dégradation lorsque sa valeur augmente
- L'oxygène, indispensable à la dégradation oxydative
- La présence d'enzymes exogènes La dégradation peut être abiotique (si elle est purement physico-chimique) et/ou biotique (si à un moment quelconque elle fait intervenir des organismes vivants tels bactéries, champignons et/ou algues. Très généralement, en conditions naturelles, les deux types de dégradation vont de concert. Cette dégradation est essentiellement hydrolytique ou (photo /thermo) - oxydative (d'autres modes existent comme par exemple attaques acides par Thiobacillus)

#### 3ème étape : bio-assimilation du matériau :

C'est la dernière étape du processus de biodégradation. Les macromolécules ont été réduites en molécules suffisamment petites pour pénétrer dans les cellules vivantes et être intégrées aux cycles physiologiques anaboliques (construction, maintien et réorganisation de la biomasse) et cataboliques (source d'énergie) Les équations simplifiées de bio assimilation cataboliques peuvent s'écrire de la manière suivante :

a) En présence d'oxygène (milieu aérobie) :  $C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \rightarrow 6 CO_2 + 6 H_2O + \text{énergie}$   
(production de gaz carbonique)

( Calmon, 1998.)

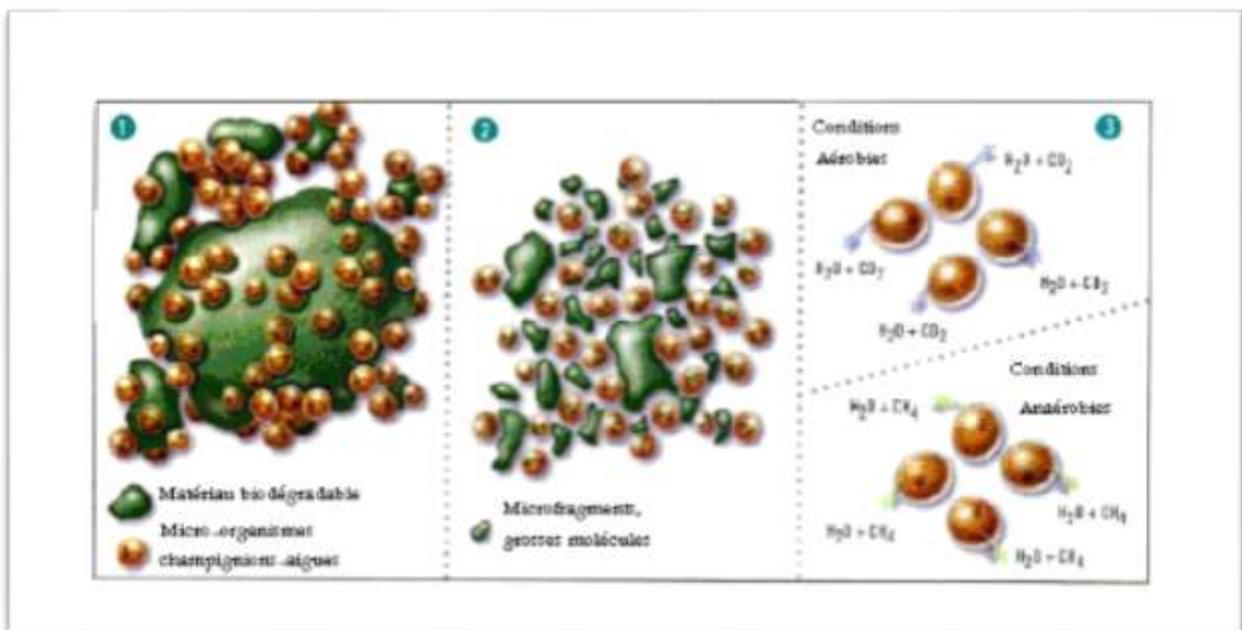
b) En absence d'oxygène (milieu anaérobie) :  $C_6H_{12}O_6 + 3 H_2O \rightarrow 3 CH_4 + 3 H_2O + 3 CO_2 + \text{énergie}$   
(production de méthane et de  $CO_2$ )  
 $3 H_2CO_3 + 12 H_2 \rightarrow 3 CH_4 + 9 H_2O + \text{énergie}$   
(production de méthane) (Moerman, 2009)

Trois caractéristiques essentielles illustrent le stade ultime de la biodégradation :

La production de  $CO_2$  (en milieu aérobie).

La consommation d' $O_2$  (en milieu aérobie)

La production de  $CH_4$  et de  $CO_2$  (en milieu anaérobie)



**Figure 06** : Schéma des étapes de la dégradation en conditions aérobie et anaérobie.

(Gu, 2003)

### III.3.1. Les paramètres qui influencent la biodégradation :

#### III.3.1.1. Paramètres physico-chimique du milieu :

##### La teneur relative en eau :

La teneur relative en eau est évidemment un facteur limitant de la croissance des microorganismes et donc du taux de dégradation d'un polymère. C'est le taux d'humidité relative

qui va faciliter ou non l'accessibilité des micro-organismes du milieu au substrat à dégrader. Dans le cas d'un test de biodégradation en milieu liquide sous agitation constante, le polymère à dégrader sera forcément en contact avec les micro-organismes alors que dans un milieu solide (à base de compost ou de sol) agité périodiquement par l'action de l'opérateur, le polymère est moins facilement accessible. (**Fayt et al , 1989**).

D'autres études ont observé l'influence du taux d'humidité d'un compost sur la disparition de film d'acétate de cellulose avec un degré de substitution de 1,7. Pour des taux d'humidité de 60, 50 et 40%, les films disparaissent respectivement au bout de 6, 16 et 30 jours. Une diminution du taux d'humidité réduit donc de manière drastique la biodégradabilité de film de d'acétate de cellulose (**Eberiel et al, 1993**).

### **Température :**

Les températures élevées sont, en général, un facteur qui favorise l'ensemble des réactions abiotiques comme l'oxydation des films de polyéthylène . (**Jakubowicz et al, 2003**).

Lorsque la température du milieu est supérieure à la température de transition vitreuse du polymère, l'absorption d'eau est favorisée du fait de la mobilité des chaînes favorisant ainsi l'hydrolyse chimique (**Agarwal et al,1998**).

Cela a logiquement pour conséquence d'accélérer le rendement final du processus de biodégradation. Cela est particulièrement vrai pour le PLA dont le taux de dégradation abiotique augmente avec la température. (**Agarwal et al,1998**).

Des tests de biodégradation effectués à 40°C, 50°C et 60 °C sur ce polymère montrent que l'on observe une diminution de la masse molaire mais pratiquement aucune perte de masse sur les échantillons placés à 40°C et 50°C en présence de microorganismes.

Au contraire, à 60°C, température supérieure à la température de transition vitreuse du matériau (environ 58°C), on constate une perte de masse significative. Cela peut s'expliquer par le fait que les petits oligomère, libérés par l'hydrolyse due à l'absorption de l'eau dans le matériau, peuvent dans ce cas migrer vers le milieu extérieur du fait de l'état caoutchoutique du matériau.

Les mêmes résultats ont été observés par d'autres auteurs dans des environnements biotiques pour des tests à 28, 40 et 55°C ( **Pometto et al,1999**).

On observe des résultats similaires pour plusieurs types de polymères biodégradables.

( **Nishide, et al,1999**)

#### **pH :**

Pour garantir la survie de la flore microbienne dans le milieu, il est nécessaire de maintenir un pH proche de la neutralité. Les tests en milieu liquide sont donc effectués dans des solutions tamponnées. Il en est de même pour l'utilisation de milieux solides inertes qu'il est nécessaire de compléter avec un milieu minéral tamponné. Le compost étant un milieu complexe, aussi bien d'un point de vue organique que minéral, il est en général « naturellement » tamponné à un pH proche de 7 en fin de phase de maturation par les très nombreuses espèces chimiques qui le composent. ( **Oliveira et al, 2004**).

Il a été aussi montré que le PLA présente une meilleure dégradation hydrolytique dans un milieu tamponné à pH 7,4 plutôt qu'à 3,7 ( **Carthy et al, 1999**).

Ceci serait dû à une meilleure absorption de l'eau dans le cœur du matériau dans le cas du milieu tamponné à pH 7.4, ce qui favorise évidemment la rupture des liaisons ester par hydrolyse.

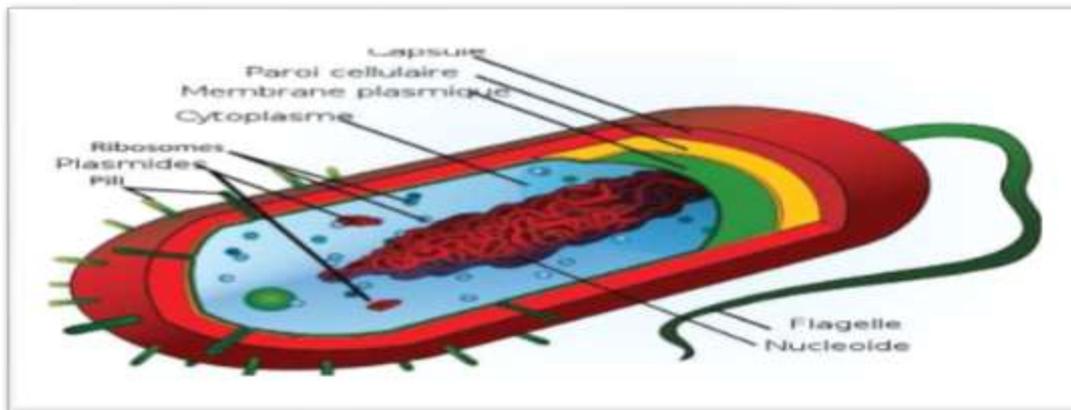
#### **III.3.2.1.Les facteurs biologiques de la biodégradation :**

Il apparaît de plus en plus clairement que les micro-organismes jouent un rôle majeur dans l'organisation, le fonctionnement et l'évolution de la plupart des écosystèmes. Le terme de « micro-organismes » englobe un groupe d'êtres vivants de taille microscopique et pour la plupart unicellulaires. Deux grands ensembles se distinguent : les **Procaryotes** et les **Eucaryotes**. Les Procaryotes sont caractérisés par des cellules dépourvues de noyau. Ces cellules renferment un seul chromosome formé d'acide désoxyribonucléique (ADN) situé dans le cytoplasme. Par contre, la **cellule eucaryote** contient un noyau, organe limité par une enveloppe, renfermant le matériel génétique sous forme d'ADN, molécule majeure des chromosomes. Les bactéries sont des Procaryotes et les autres organismes (algues, mycètes, protozoaires, plantes et animaux supérieurs) sont des Eucaryotes.

### III.3.2.1. Les bactéries :

Les Bactéries sont des organismes unicellulaires microscopiques se distinguant des autres protistes par un certain nombre de caractères cyto-physiologiques essentiels: absence de mitochondries intra-cytoplasmiques, appareil nucléaire différent dans sa structure, sans membrane nucléaire, et dans sa physiologie, sans mitose.

La cellule bactérienne comprend obligatoirement un cytoplasme avec des inclusions, un appareil nucléaire, une membrane de nature cytoplasmique, dite membrane cytoplasmique, une paroi et, facultativement, une spore thermorésistante, des cils, une capsule, et dans certains groupes, des organites de reproduction tels que conidies, micro-cystes et corpuscules reproducteurs. Les bactéries sphériques sont appelées "coccus" (cocci au pluriel, coque), les bactéries cylindriques allongées sont des "bacilles", et les bactéries en spirales ou hélicoïdales sont des "spirilles". Les variations sérologiques distinguables des bactéries sont appelées sérotypes. (**Dictionnaire biologie**).



**Figure 07** : Organisation générale d'une bactérie. (Andy, 2016)

### III.3.2.2. Généralités de *B. megaterium* :

*Bacillus megaterium* a été décrit pour la première fois par Anton De Bary il y a plus d'un siècle, en 1884 (**Bary, 1884**). Nommé pour sa grande taille, un "mégat (h) erium" (grec pour grand animal) de 1,5 par 4  $\mu\text{m}$ , ce microorganisme est le plus grand de tous les bacilles. Bien avant l'introduction de *Bacillus subtilis* en tant qu'organisme modèle Gram positif, *B. megaterium* a été utilisé pour des études de biochimie ainsi que de bactériophages ( **Clarke et**

*al*, 1952). Le microbiologiste français Maurice Lemoigne a découvert en 1925 que le polyhydroxybutyrate de polyester de *B. megaterium* était une molécule de stockage d'énergie importante dans les bactéries (Lemoigne *et al*, 1950). Andre Lwoff avait découvert l'induction par UV d'un bactériophage dans une souche de *B. megaterium* lysogène (Lwoff *et al*, 1950). En raison de la grande taille de ses cellules, *B. megaterium* convient bien aux recherches sur la morphologie cellulaire, telles que la biosynthèse de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique, la sporulation, la structure et l'organisation cellulaire des spores, le partitionnement de l'ADN et la localisation des protéines (Christie *et al*, 2010). Dans les années 1960, *B. megaterium* était utilisé pour étudier la sporulation, car il sporule et germe efficacement (Foerster *et al*, 1996). En raison de son utilisation biotechnologique dans la production de plusieurs substances, le *B. megaterium* non pathogène présente un intérêt général pour l'industrie (Bunk *et al*, 2010).

Contrairement aux organismes à Gram négatif comme *E. coli*, *B. megaterium* ne produit pas d'endotoxines associées à la membrane externe, ce qui, combiné à sa croissance sur diverses sources de carbone et sur des milieux simples, en a fait un cheval de bataille dans la production alimentaire et pharmaceutique. des procédés pendant des décennies (par exemple, les amylases  $\alpha$  et  $\beta$  utilisées pour la modification de l'amidon dans l'industrie de la boulangerie et les acylases de pénicilline essentielles à la synthèse du nouvel antibiotique du  $\beta$ -lactame, entre autres (Panbangred *et al*, 2000).

De plus, il est l'un des producteurs de vitamine B12 les plus efficaces (Vary, 1994). *B. megaterium* a fait l'objet d'études génétiques approfondies et se prête à la manipulation génétique (Vary *et al*, 2007). Des centaines d'auxotrophes, de mutants de division, de mutants résistants aux antibiotiques et sensibles aux UV ont été caractérisés et ont déjà été cartographiés dans QM B1551 (Gamer *et al*, 2009).

La souche QM B1551 se classe juste derrière *B. subtilis* en ce qui concerne le nombre de souches caractérisées multi-marquées disponibles auprès du *Bacillus* Genetic Stock Center (collection Vary, BGSC, Ohio State University; . Plusieurs mutants biotechnologiques ont été construits dans la souche DSM319 et sont disponibles dans le commerce . Une analyse récente utilisant une analyse phylogénétique basée sur les gènes de l'ARNr 16S a conduit à la division du genre *Bacillus* en 4 familles et 37 genres différents. Même après la réorganisation taxonomique, *Bacillus* est un genre diversifié avec une teneur en G + C allant de 34 à 35%

(*Bacillus cereus* et agents pathogènes associés) à 44% (*B. subtilis*) et des espèces qui diffèrent radicalement dans leurs modes de vie et propriétés métaboliques. La plupart des génomes de *Bacillus* séquencés sont étroitement apparentés à *B. cereus* ou à *B. subtilis*.

Récemment, Porwal et al. ont montré que *B. megaterium* (avec une teneur en G + C de 38 à 39%) n'avait un lien significatif que entre les groupes *B. cereus* et *B. subtilis* et qu'il était plus profondément enraciné dans l'arbre phylogénétique que prévu (**Porwal et al, 2009**).

Pour mieux comprendre l'évolution du génome et la polyvalence métabolique facilitant les applications biotechnologiques, nous avons séquencé les génomes complets des souches QM B1551 et DSM319 de *B. megaterium*.

Ces informations utilisées pour examiner de manière très détaillée la diversité génétique, la dynamique du génome et les relations phylogénétiques au sein de *B. megaterium* et entre les membres du genre. Notre analyse génomique révèle de nouveaux résultats génétiques jamais vus auparavant chez *Bacillus* et qui ont abouti à un modèle raffiné d'évolution du génome et d'adaptation de *B. megaterium*.

### III.3.2.3. Classification de *B. megaterium* :

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Embranchement</b>	Firmicute
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	Bacillus

### III.4. Dégradation des mégots des cigarettes :

Très longtemps pour ce que c'est, compte-tenu du temps passé à fumer une clope! De l'ordre de 26 000 fois le temps nécessaire à la fumer au minimum.

Si c'est une sans filtre, il faut compter entre 6 mois et un an, car les matières à décomposer sont du papier (cellulose) et des fibres végétales de tabac. La durée de décomposition est variable en fonction des conditions de température et d'humidité, mais c'est à peu près la

même que celle des feuilles des arbres. Bien sur dans des conditions particulières (montagne ou extrême nord), il n'y a pas de décomposition. Si c'est une cigarette avec filtre, le temps de dégradation du filtre est beaucoup plus long. En effet, le filtre est composé d'acétate de cellulose, une matière synthétique résistante et capable de fixer les molécules (goudrons et nicotine...). Avec le temps, l'acétate de cellulose (aussi utilisée comme support des photos argentiques et couleurs) se dégrade en émettant de l'acide acétique (vinaigre), puis sous l'action des UV va devenir cassante et se réduire sous forme particulaire et volante. A terme, son oxydation sera totale mais il faudra compter une dizaine d'années. **(Baltshazzar , 2009).**

#### IV. Objectif :

Le but principale de ce travail est étudié la biodégradation de mégot de cigarette par des bactéries.

#### V. Les milieux de culture :

La composition des milieux de culture utilisés dans cette étude est citée dans l'annexe.

#### VI. Protocol :

Préparation de la solution mère (SM) :

A l'aide d'une anse de platine nous repiquons une colonie bactérienne dans un flacon qui contient 50 ml de bouillon nutritif. Incuber dans un agitateur à 37°C pendant 24 heures.

Ensuite ce dernier sont été placé dans des bocaux comme suite :

1ère lot bocaux (A) : 5 ml d'extrait bactérien +100ml milieu minérale + 3 mégot de cigarette=0,331g (répliqué une foi).

#### Témoin :

2ème lot bocaux (B) : contient 100 ml de milieu minéral+5 ml d'extrait bactérien (répliqué un fois).

3ème lot bocaux (C) : contient 100 ml de milieu minéral+ 3 mégot de cigarette=0,331g (répliqué une fois).



**Figure 08** : Les bocaux A<sub>1</sub>,A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>,B<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>,C<sub>2</sub>

Bactérie +les mégots de cigarette + MM : (A<sub>1</sub> + A<sub>2</sub>)

Bactérie + MM : (B<sub>1</sub>+ B<sub>2</sub>)

Des mégots de cigarette + MM : (C<sub>1</sub>+ C<sub>2</sub>)

Ces bocaux ont été mis dans agitateur à une température de 37°C . (Laisser le couvercle des bocaux légèrement ouvert).



**Figure 09** : Placement des bocaux dans incubateur

#### **VII. La mesure de turbidité :**

Il est possible d'utiliser un spectrophotomètre (**JENWAY 6715/UV, vis**) visible ou UV-visible comme opacimétrie pour mesurer des concentrations des cellules (biomasse), à longueur d'onde 600 nm.



**Figure 10** : Un spectrophotomètre (**JENWAY 6715/UV, vis**).

**VII. Test mécanique :**

Après une période de 3 mois d'agitation on relève les mégots de cigarette qui on dans les boucaux :

**A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub>** chaque boucaux porte 3 mégots de cigarette.

**B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>** ya aucune mégots de cigarette.

Le poids sec de mégot de cigarette au début et à la fin d'agitation a été incluse dans la tableau suivant :

**Tableau 02 :** changement dans le poids du mégot d'une cigarette au cours de 3 mois.

➤ Chaque boucaux porte 3 mégots.

Les boucaux	Poids initial	Poids final
B <sub>1</sub>	/	/
B <sub>2</sub>	/	/
C <sub>1</sub>	0,331g	0,330 g
C <sub>2</sub>		0,331 g
A <sub>1</sub>		0 ,196 g
A <sub>2</sub>		0,204 g

Par ce tableaux on remarque : la perte du poids pour les boucaux **A<sub>1</sub>** et **A<sub>2</sub>** et pour C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> le poids des mégots de cigarette il reste stable.

Après une période de 3 mois, un certain nombre de modifications ont été apportées à les mégots de cigarette sont :

- Rétrécissement des mégots des cigarettes.
- Blanc sur les cotés des mégots des cigarettes.

Les changements physiques des mégots des cigarettes pour chaque boucaux sont résumé dans ce tableau suivant :

**Tableau 03 :** les changements physiques des mégots des cigarettes.

Les boucaux	Rétrécissement	Blanc sur les cotés
A <sub>1</sub>	+	+
A <sub>2</sub>	+	+
B <sub>1</sub>	+	+
B <sub>2</sub>	+	+
C <sub>1</sub>	-	-
C <sub>2</sub>	-	-

+ : présent.

- : absent

Nos résultats montrent que les caractéristiques physiques et changement dans le poids des boucaux (A<sub>1</sub>,A<sub>2</sub>,B<sub>1</sub>,B<sub>2</sub>,C<sub>1</sub>,C<sub>2</sub>) après agitation de trois mois ont été changées par :

- La formation de bio-film bactérien sur les bords.
- La dégradation des mégots des cigarettes.



**Figure 12** : La formation du bio-film bactérienne.

### VIII. La formation du bio-film bactérienne:

Selon (Costeron *et al*, 1995) et (Myszka *et al*, 2011) Dans la nature, la plupart des microorganismes vivent au sein de communautés microbiennes appelées bio-film.

Les bio-films sont des structures hétérogènes constituées par des populations bactériennes englobées dans une matrice extracellulaire, fixées sur des surfaces naturelles ou artificielles.

Les principales caractéristiques du bio-films sont rappelées et les techniques d'études son présentées. Elles ont permis d'établir un modèle du développement des bio-films en cinq étapes : adhésion réversible des bactéries de la phase planctonique à une surface, irréversibilité de l'adhésion correspondant à la synthèse de structures à la surface des bactéries, formation de micro-colonies, puis développement de ces micro-colonies traduisant le stade de maturation du bio-film et colonisation de nouvelles surfaces.

Les coopérations métaboliques entre cellules et les échanges d'informations sont évoquées. Les aspects négatifs des bio-films sont décrits dans le domaine de la santé humaine et vétérinaire et celui de l'industrie, mais ils jouent également un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes, en participant notamment aux cycles du carbone, de l'eau et de l'azote. (Agnès, 2006)

### **IX. La mesure de la turbidité :**

La spectrophotométrie est une méthode d'analyse qui permet de déterminer l'absorbance d'une substance chimique en solution, c'est-à-dire sa capacité à absorber la lumière qui la traverse.

L'absorbance d'une substance chimique dépend de la nature et de la concentration de cette substance ainsi que de la longueur d'onde à laquelle on l'étudie. (Nathalie , 2013)

A l'aide d' un spectrophotomètre on mesure la densité optique pour chaque boucaux dans des conditions techniques précises. La densité optique des cultures est mesurée à 600 nm à des intervalles réguliers : chaque semaine.

-Les boucaux suivants :

Bactérie +les mégots de cigarette + MM (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>)

Bactérie + MM (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>)

Des mégots de cigarette + MM (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>)

**Tableau 01** : les résultats de test de turbidité pendant 3 mois.

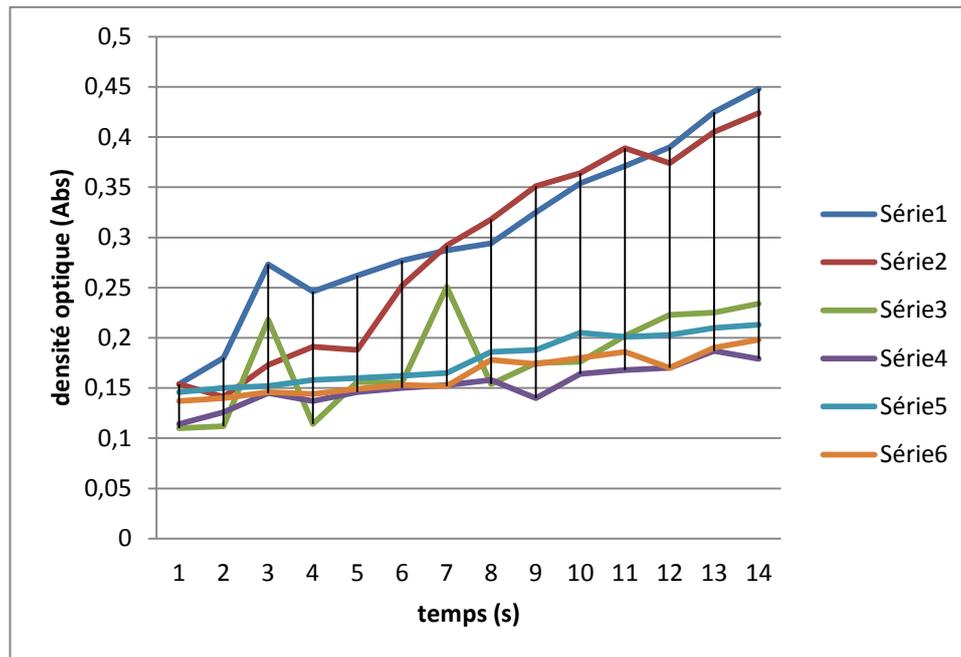
Semaine	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
1	0,154	0,154	0,110	0,114	0,146	0,137
2	0,180	0,141	0,112	0,126	0,150	0,140
3	0,273	0,173	0,218	0,145	0,152	0,146
4	0,246	0,191	0,114	0,137	0,158	0,144
5	0,262	0,188	0,156	0,146	0,160	0,149
6	0,277	0,252	0,155	0,150	0,162	0,153
7	0,287	0,292	0,251	0,153	0,165	0,152
8	0,294	0,318	0,154	0,158	0,186	0,178
9	0,325	0,351	0,175	0,140	0,188	0,174
10	0,354	0,364	0,176	0,164	0,205	0,180
11	0,371	0,389	0,202	0,168	0,201	0,186
12	0,390	0,374	0,223	0,170	0,203	0,170
13	0,425	0,405	0,225	0,187	0,210	0,190
14	0,448	0,424	0,234	0,179	0,213	0,198

Ces valeurs on le résumé dans le graphe suivant :

Série 1 et 2 (bleu, rouge) représente les boucaux A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>.

Série 3 et 4 (verte, violet) représente les boucaux B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>.

Série 5 et 6 (bleu clair, orange) représente les boucaux C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>.



**Figure 12 :** La courbe de croissance bactérienne

### Résultats et discussion du graphique :

Le graphique suivant représente les variations de la densité optique, estimées en unité (Abs) en fonction du temps estimé par l'unité de la semaine (S).

Où l'on note une augmentation significative (la phase exponentielle) par les semaines pour les courbes (bleue) et (rouge) et les seigneurs ( $A_1$ ) et ( $A_2$ ) respectivement, alors on a la bactérie dans un milieu minéral avec des mégots de cigarette, donc toutes les conditions sont présentes pour sa croissance, le mégot de cigarette se dégrade par la bactérie pour être une source de carbone et d'énergie pour elle.

L'absence de phase latence démontre une adaptation plus rapide des souches étudiées au de source de carbone utilisée (les mégots des cigarettes).

Par contre aux courbes (verte) et (violette) : ( $B_1$ ) et ( $B_2$ ) une augmentation progressive mais inférieure à ( $A_1$ ) et ( $A_2$ ), les bactéries ne sont présentes que dans un milieu minéral, alors il faut le temps pour dégrader les minéraux qui sera une source de carbone d'énergie et à l'absence de mégots de cigarettes, donc sa croissance est lente.

Et pour les courbes (bleu clair) et (orange) : (C<sub>1</sub>) et (C<sub>2</sub>), la densité optique est presque inexistante au fil des semaines, les mégots de cigarette ne sont présentes que dans un milieu minéral donc Il n'y a pas de changement car le milieu est exempt de bactéries.

## Conclusion

Malgré les effets néfastes sur l'environnement, de nombreuses personnes continuent à jeter dans la nature leurs déchets. Bien que certains produits soient biodégradable, la plupart d'entre eux mettent de très nombreuses années avant d'être biodégradé et certains ne le sont pas du tous. Il est donc indispensable que chacun fasse l'effort de ramener ses déchets.

Une substance biodégradable est une substance qui peut, sous l'action d'organismes vivants, se décomposer en éléments divers dépourvus d'effet dommageable sur le milieu naturel. La biodégradabilité s'apprécie en prenant en compte à la fois le degré de décomposition d'une substance et le temps nécessaire pour obtenir cette décomposition.

L'objectif de ce travail dégradation des mégots de cigarette sous l'action de bactérie. Le filtre de mégot, contrairement aux apparences qui évoquent le coton, est fabriqué à partir d'*acétate de cellulose*. C'est une matière plastique obtenue par modification chimique de la cellulose (**un polymère naturel**) donc la bactérie utilisé *Bacillus Megaterium* spécifique pour dégrader le plastique.

Après cette durée en le remarque la formation du bio-film et la perte du poids c'est la dégradation du mégot donc en résulte cette dernière est un déchet biodégradable.

Ce qui est intéressant ici, c'est de voir le cycle de vie de mégot laissé dans la nature va progressivement se déchiqeter pour réduire les fibres d'acétate de cellulose en particules suffisamment fines et légères pour pouvoir être mises en suspension dans l'air. Je rappelle que la propriété de base de l'acétate de cellulose dans les cigarettes est de fixer les goudrons, donc cette fonction sera aussi assurée dans l'atmosphère jusqu'à ce que les particules soient saturées (comme une éponge se gonfle d'eau) en goudrons et autres polluants organiques (benzène, ...). Les particules d'acétate chargées aboutiront indistinctement sur les feuilles des plantes, sur le linge, les façades, dans les sols, dans vos poumons et contribueront directement à la dégradation de vos poumons si vous les inhalez ou indirectement à travers la chaîne alimentaire.

En conclusion, même une fois une cigarette fumée, elle est toujours dangereuse et jeter les mégots dans une poubelle est un geste citoyen et de santé publique.

**Références**

**Bibliographiques**

**A. De Oliveira, J.B. Tanchette, ,( 2004).**Rapport de projet tutoré, licence agrotechniques végétales .

**Andy Coghlan (2016),** Lung bacteria's sense of touch tells them when to turn nasty,p 13.

**Agnès ROUX et Jean-Marc GHIGO , (16 mars 2006),** *Journal of applied polymer science* 47p. 1709-1719 .

**Aislabie J., Lloyd-Jones G.,( 1995).** A review of bacterial degradation of pesticides. *Aust. J. Soil Res*, 33: 925-942.

**Alexander M., (1973).** No biodegradable and other recalcitrant molecules. *Biotechnol .Bioeng*, 15: 611-615.

**Baltshazzar .D (2009)***Matières plastiques*. Paris, Dunod : L'usine nouvelle, 241 p.

**.Bary, A, (1884),** Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozen und bacterien. Wilhelm Engelmann, Leipzig, Germany.

**Bending, G. D., Rodríguez-Cruz, M.S., (2007).** Microbial aspects of the interaction between soil depth and biodegradation of the herbicide isoproturon. *Chemosphere*, 66 : 664- 671

**Bunk, B., R. Biedendieck, D. Jahn, and P. S. Vary. (2010).** *Bacillus megaterium* and other bacilli: industrial applications, p. 1–15. *Encyclopedia of industrial biotechnology: bioprocess, bioseparation, and cell technology*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ.).

**Calmon-Decriaud A., Bellon-Maurel V., Silvestre F., (1998).** Standard test method for determining anaerobic biodegradation of plastic material under high solid anaerobic digestion conditions 2006, ASTM D 5511-94

**Christie, G., H. Gotzke, and C. R. Lowe. (2010).** Identification of a receptor subunit and putative ligand-binding residues involved in the *Bacillus megaterium* QM B1551 spore germination response to glucose. *J. Bacteriol.* 17: 4317–4326).

**Clarke, N. A., and P. B. Cowles. (1952).** Studies on the host-virus relationship in a lysogenic strain of *Bacillus megaterium*. II. The relationship between growth and bacteriophage production in cultures of *Bacillus megaterium*. *J. Bacteriol.* 63:177–186).

**David Bème (27 Juin 2014),** *La dépendance à la cigarette serait génétique* , *Journal Doctissimo*, Parie .

**Dictionnaire biologie** publier (27/03/2018).

**Elli Slaughter, Richard M Gersberg, Kayo Watanabe, John Rudolph, Chris Stransky, Thomas E Novotny,(2011)** Toxicity of cigarette butts and their chemical components to the marine and freshwater fishes, *Atherinops affinis* and *Pimephales promelas*, .

**Foerster, H. F., and J. W. Foster. (1966).** Response of Bacillus spores to combinations of germinative compounds. *J. Bacteriol.* 91:1168–1177).

**Freeman MK, Fleming TD (8 janvier 2014)** « *Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries, 1980-2012* », *Journal of the American Medical Association*, vol. 311, no 2, p. 183-192

**Gamer, M., D. Frode, R. Biedendieck, S. Stammen, and D. Jahn. (2009).** A T7 RNA polymerase-dependent gene expression system for Bacillus megaterium. *Appl. microbiol. Biotechnol.* 82:1195–1203.)

**Gu J.-D., (2003)** ,Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances, *International biodeterioration & biodegradation* 52 (2), p. 69-91.

**Gübitz G. M., Paulo A. C., (2003).** New substrates for reliable enzymes: enzymatic

**H. Nishide, K. Toyota, M. Kimura,(1999)**, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 45, 963.

**Jean-charles,( 2007)** planchenault chargé de mission Education de l'association .

**Jung, P. K. Shin, H.K. Bae,(1999)** *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 9, 464. **.I.**

**Jakubowicz.I**

**,(2003)** Polymer degradation and stability, 80, 39p **.J.D. Gu, D.T. Eberiel, S.P. McCarthy, R.A. Gross, (1993),** *Journal of Environment, Polymer Degradation*, 1, 143, .

**K.L.G. Ho, A.L. Pometto, (1999),** *Journal of Environmental Polymer degradation*, 7, 101.

**Labrecque M. H.,( 2003).** Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène. Mémoire (M. Sc). Université Laval (Québec).

**Lemoigne, M., C. P. Lenoel, and M. Croson,(1950).** Assimilation of acetylacetic acid and beta-hydroxybutyric acid by B. megatherium. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 78:705–710. (In French.)).

**Lwoff, A., L. Siminovitch, and N. Kjeldgaard. (1950).** Induction of the production of bacteriophages in lysogenic bacteria. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 79:815–859. (In French.)).

**M. Agarwal, K.W. Koelling, J.J. Chalmers, (1998),** *Biotechnologies Progress*, 14, 517.

**Marie Chatard (2006),** (COMMUNIQUÉ DE PRESSE POUR DIFFUSION IMMÉDIATE). P87.

MARINE GASC (27 OCTOBRE 2015), *Microbial degradation of materials* : general processes, Uhlig's corrosion handbook, second edition, R. Winston Revie editor, p. 349-365.

**Minematsu.N, H. Nakamura, M. Furuuchi, T. Nakajima, S. Takahashi, H. Tatenno, A. Ishizaka,** (2006), Étude "Limitation of cigarette consumption by CYP2A6\*4, \*7 and \*9 polymorphisms.

**Minzae L, Gil-Pyo K, Hyeon DS, Soomin P, Jongheop Y(2014)** , « *Preparation of energy storage material derived from a used cigarette filter for a supercapacitor electrode* »,

**Moerman.J** , (Mars 2009) Qualité du sol — Vocabulaire — Partie 1 : Termes et définitions relatifs à la protection et la pollution du sol.

**Moerman.J,** (2009) , Analysis of Metals leached from smoked cigarette litter .

**Morel.C, L. Fattore, S. Pons, Y.A. Hay, F. Marti, B. Lambolez, M. De Biasi, M.**

**Lathrop, W. Fratta, U.Maskos, P. Faure,(2014),** Étude "Nicotine consumption is regulated by a human polymorphism in dopamine neurons.

**Nathalie Mayer (12 mars 2013)** *Communication scientifique et technique*, Chimie, Spectrophotométrie , Absorbance ,Canada

**Novotny,** (2009) ,pollutions causées par les mégots de cigarettes p155.

**OMS , Ocean Conservancy ,(2011),** Analysis of Metals leached from smoked cigarette litter

**Panbangred, W., K. Weeradechapon, S. Udomvaraphant, K. Fujiyama, and V.**

**Meevootisom. (2000),**High expression of the penicillin G acylase gene (pac) from *Bacillus megaterium* UN1 in its own pac minus mutant. *J. Appl. Microbiol.* 89:152–157.

**Pauly, Mepani, Lesses, 2002** Tobacco Control P11.

**Porwal, S., S. Lal, S. Cheema, and V. C. Kalia, (2009).** Phylogeny in aid of the present and novel microbial lineages: diversity in *Bacillus*. *PLoS One* 4:e4438. )

**R. Fayt, R. Jerome, P. Teyssie,(1989)** ACS Symposium Series, 395, 38, .

**Rath, J.M, Rubenstein R.A, Curry L.E, Shank S.E & Cartwright J.C (2012)** Cigarette litter : smokers' attitudes and behaviors p102.

**Richard Gersberg, Thomas Novotny et Todd Anderson (2010)** , Toxicity of cigarette butts and their chemicals components to the marine and freshwater fishes *Atherinops affinis* and *Pimephales promelas* », Ellie Slaughter, Thèse présentée à la faculté de San Diego p 63 .

**S.M. Li, S. Mc Carthy,(1999)** *Biomaterials*, 20, 35 .

**Smith, T. A. Perfettia, R. Gargb et C. Hansch,(2003)** « IARC carcinogens reported in cigarette mainstream smoke and their calculated log P values », *Food and Chemical Toxicology*, Volume 41, Issue 6, p. 807-817.

**U. Pagga, D.B. Beimborn, M. Yamamoto, (1996),***Journal of Environmental Polymer degradation* , 4, 173.

**Vary, P. S. (1994).** Prime time for *Bacillus megaterium*. *Microbiology* 140: 1001–1013.).

**Vary, P. S. (2007).** *Bacillus megaterium*: from simple soil bacterium to industrial protein production host. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76:957–967.).

# Annexe

## Composition des milieux de culture

### Bouillon nutritif :

- Extrait de viande.....1g
- Extrait de la levure.....2.5g
- Peptone.....5g
- NaCl.....5g
- Eau distillé.....1L
- Ph.....7

### Gélose nutritif :

- Extrait de viande.....1g
- Extrait de la levure.....2.5g
- Peptone.....5g
- NaCl.....5g
- Eau distillé.....1L
- Agar .....18g
- Ph.....7

### Milieu minérale :

Le milieu minéral de Bushnell-Hass «BH» (Atlas ,2005).Contenant par 2.5L.

- 2.5g.....KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>
- 2.5g.....K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>
- 2.5g.....NH<sub>4</sub> NO<sub>3</sub>
- 0.5g.....MGSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O
- 0.125g.....Fe Cl<sub>3</sub>
- 0.05.....Ca Cl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O
- Ph.....7



**Incubateur**



**Bouillon nutritive**



**Balance ordinaire**



**les boucaux en verre**



**Boite de pétrie contient la souche bactérienne**