



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Hadda Khayra.

Bellahmer Larbi.

Ikhlef Nacreddine

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Génétique fondamentale et appliquée

THÈME

La biodégradation de plastique par les
bactéries.

Soutenue publiquement le/...../2018

DEVANT LE JURY

Président	Mme Dallach . F	professeur	U. Mostaganem
Encadreur	Mr Chibani . A	Professeur	U. Mostaganem
Examineurs	Mr Bouzennad . A	Maitre de conférences .B	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de microbiologie N°3 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem (Algérie) 2018-2019.

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Allah qui nous a donné la patience, le courage et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous tenons aussi à présenter nos sincères remerciements à notre encadreur le Dr .Chibani . Pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant cet encadrement

pour sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce mémoire, pour son aide Ses critiques et ses suggestions , et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.

Nous remercions **Mme Dallache .F** ,d'avoir accepté la présidence du jury de la soutenance.

Nous remercions **Mr Bouznnad. A** , qui accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous voudrions remercier aussi le technicien du laboratoire de microbiologie Djilali Mohamed .

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous , un grand Merci.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents , qu'ils trouvent ici le témoignage de ma
profonde gratitude pour leur amour , leur encourage et leur soutien tout
au long de mes études , que DIEU les bénisse*

A mon frère Karim

A mes chers sœurs Warda , Htisseem

A tous mes collègue de promotion .

Khayra

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents pour votre patience et le sacrifice qu'ils
consenti à mon égard pendant toute la durée de mes études.*

A mes frères et mes sœurs.

A tous mes cousins et mes cousines , mes oncles et mes tante.

A toute ma famille et mes amis (es).

A toute ma promotion 2018 .

Larbi

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents pour votre patience et le sacrifice qu'ils
consenti à mon égard pendant toute la durée de mes études.*

A mes frères et mes sœurs.

A tous mes cousins et mes cousines , mes oncles et mes tante.

A toute ma famille et mes amis (es).

A toute ma promotion 2018 .

Nacreddine

LISTE D'ABRIVATIONS

ADH : arginine d'hydrolase.

ADN : acide désoxyribonucléique

Api : Interface Applicative de Programmation.

ASTM : American Society for Testing and Materials

BN : Bouillon nutritif.

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: calcium chloride dhydrate.

CEN : Comité Européen de Normalisation

CIT : citrate

DIN : Deutsches Institut für Normung

Do :densité optique.

FeCl_3 : chlorure de fer

GEL : gélatinase .

GN : Gélose nutritif.

H_2O : Dihydrogen Monoxide.

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

H_2S : sulfure d'hydrogène.

HCL : acide chlorhydrique

ISO : International Standards Organisation

K_2HPO_4 : hydrogénophosphate de potassium.

Kg : kilogramme

LISTE D'ABRÉVIATIONS

KH_2PO_4 : phosphate de potassium.

LDC : lysine décarboxylase.

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: magnésium sulfate heptahydrate.

NaCl : chlorure de sodium.

NH_4NO_3 : nitrate d'ammonium.

O_2 : oxygène.

ODC : ornithine décarboxylase.

P : phosphate

PE : Polyéthylène

PEBD : Polyéthylène basse densité

PEHD : Polyéthylène haute densité

PET : Polyéthylène téréphtalate

PP : Polypropylène

PS : polystyrène

PU : Le polyuréthane.

PVC : Polychlorure de vinyle

URE : urease.

UV : Ultraviolet

VP : vagues proskwer.

الملخص:

تعيش البشرية اليوم في نظام مدفوع بالأعمال التجارية والربح حيث يدفع إلى الإنتاج والاستهلاك الشامل لمنتجات التعبئة البلاستيكية ذات الاستخدام الواحد. حوالي 90 ٪ من البلاستيك المنتج حتى الآن لم يتم إعادة تدويره. ونتيجة لذلك، وصل تدفق المواد البلاستيكية إلى بيئتنا إلى مستوى الأزمة ، ويمكن ملاحظة الأثر المدمر لهذا التلوث بصورة أوضح في المحيطات حيث ينتهي كل عام ما بين 8 و 12 مليون طن من النفايات البلاستيكية.

الهدف من هذا العمل هو اختيار البكتيريا التي تحلل المواد البلاستيكية. هذه السلالة المعزولة والمحددة هي عصيات إيجابية الجرام قادرة على النمو في درجة الحرارة 37 درجة مئوية باستخدام بوليمر البلاستيك كمصدر وحيد للكربون. تم تحديد عزلة واحدة فقط باعتبارها *Bacillus megaterium* عن طريق بعض الاختبارات البيوكيميائية وطريقة API 20E. إن الخاصية التي تم تحليلها في هذه الدراسة هي إمكانية تكوين البيوفيلم البكتيري على البلاستيك وخصائصه الفيزيائية قبل وبعد التحضين لمدة شهرين.

الكلمات المفتاحية : التحلل الحيوي ، البيوفيلم ، البلاستيك ، *Bacillus megaterium* .

Résumé

L'humanité vit dans un système axé sur le tout-jetable ou les entreprises poussent la production et la consommation de masse de produits d'emballages plastique à usage unique. Environ 90 % du plastique produit à ce jour n'a pas été recyclé. Le flux de matières plastiques dans notre environnement a donc atteint le niveau de crise, et l'impact dévastateur de cette pollution se fait le plus sentir dans les océans où termine chaque année entre 8 et 12 millions de tonnes de déchets plastiques.

L'objectif de ce travail est de sélectionner des bactéries qui dégradent les matières en plastique. Ces souches isolées et identifiées sont des bacilles à gram positif capables de croître dans la température 37°C en utilisant le polymère en plastique comme source de carbone. Un seul isolat a été identifié comme *Bacillus megaterium* par quelques tests biochimiques et par la galerie API 20E. La propriété analysée dans cette étude est le potentiel de formation de biofilm bactérien sur le plastique et ses caractéristiques physiques avant et après incubation de deux mois.

Mots clés : Biodegradation, Biofilm, plastique, *Bacillus megaterium*

Abstract

Humanity lives in a business-driven system pushing the production and mass consumption of single-use plastic packaging products. About 90% of the plastic produced to date has not been recycled. As a result, the flow of plastics into our environment has reached the crisis level, and the devastating impact of this pollution is observed in the oceans where ends each year between 8 and 12 million tons of plastic waste.

The aim of this work was to select bacteria that degrade plastic material. These strain isolated and identified are gram-positive bacilli capable of growing in temperature of 37° C using the plastic polymer as their carbon source. Only one isolate has been identified as *bacillus megaterium* by some biochemical tests and by the API 20E gallery. The property analyzed in this study was the potential for bacterial biofilm formation on plastic and its physical characteristics before and after incubation for two months.

Key words: Biodegradation, Biofilm, Plastic, *Bacillus megaterium*

Liste des Tableaux

Tableau 01 : les résultats de test de turbidité.....	p 32
Tableau N° 02 : la biodégradation de la matière en plastique au cours de 60 jours.....	p33
Tableau. 03 : les études statistiques des valeurs de poids.....	P34
Tableau 04 :les changements physiques des plastiques.....	P35
Tableau 05 : les résultats de l'étude macroscopique des colonies isolées.....	P37
Tableau .06 : Les résultats de galerie API 20 E.....	P40

Liste des figures

Figure .01: Structures moléculaires du PE, du PS et du PP et du PVC.....	p02
Figure .02 : Structure moléculaire du PET	P03
Figure.03: Processus d'élaboration des thermoplastiques classiques	p07
Figure .04 : Mécanisme général de la biodégradation des plastiques d'après Müller.....	p17
Figure .05: Schéma des étapes de la dégradation des polymères en conditions aérobie et anaérobie.....	p18
Figure .06 : Organisation générale d'une bactérie.	p21
Figure.07 : Les échantillons de plastique (1-bouteille d'eau en plastique 2-le plastique fragile, 3-bâche en plastique).....	p24
Figure. 08 : les quatre types de plastique utiliser (1-gobelet coloré en plastique ; gobelet en plastique blanc, 3- bouteille de boisson gazeuse, 4-sachet de congélation).....	p24
Figure.09 : Placement des bocaux dans incubateur.....	p25
Figure.10: Un spectrophotomètre. 6715/vis. Spectrophotometer	p25
Figure .11 résultat d'isolement des microorganismes.....	p26
Figure .12 : Figure.12 Conservation des bactéries	p26
Figure.13 : La morphologie des colonies d'isolats.....	p27
Figure .14 : Galerie API 20 E.....	p30
Figure .15 : changement dans le poids en plastique au cours de temps.	p33
Figure.16 : La flexion de plastique.....	P34
Figure.17 : La réfraction de plastique.....	p35
Figure.18 : Biofilm bactérien blanchâtre.....	p35
Figure.19 : Biofilm bactérien noirâtre.....	P35
Figure.20 : La morphologie d'une colonie bactérienne.....	P37
Figure.21 :Observation microscopique d'une souche G × 100 après coloration de gram	P37
Figure.22 : Résultat positif pour le test catalase.....	p38
Figure.23 : Galerie API 20 E témoin	p38
Figure.24 : Les résultats finals de galerie API 20 E.....	P39

Liste des figures

Liste des figures

Remerciement

Dédicace

Résumé –abstract- ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

SOMMAIR

INTRODUCTION GENERAL

CHAPITRE 1 : le plastique

I. Le plastique	P01
I.1 Matière plastique.....	P01
I.2. Polymère et polymérisation	p02
I.3 Plastique semi-synthétique, synthétique et biosourcé	p04
I.4 Thermoplastiques et thermodurcissables	p05
I.5 Processus d'élaboration des matières plastiques synthétiques	p06
I.6 Mise en forme des plastiques	p08
I.7 Thermoplastiques courants	p10

CHAPITRE II : biodégradation du plastique

II.1. Plastique et biodégradabilité	p13
II.1.1. Dégradation.....	p13
II.1.2. Biodégradation	p15
II.2. Mécanisme général de la biodégradation	p16
II.2.1 Processus biochimiques.....	p17
II.2.2. Influence des paramètres abiotiques.....	p18
II.2.3. Influence des paramètres intrinsèques.....	p19
II.2.4. Les facteurs biologiques de la biodégradation.....	p20

II.2.4.1. Les bactéries.....	p20
------------------------------	-----

CHAPITRE III : matériels et méthodes

I. Objectif	p23
II. Les milieux de culture	P23
III. Protocol	P23
IV. Mésure de la turbidité.....	P25
V. Test mécanique des échantillons de plastique	P26
VI. Isolement bactérien sur un milieu solide	P26
VII. Conservation des souches bactériennes	P26
VII.1 -Conservation à long terme	P26
VIII. Identification morphologique des souches	P27
VIII.1. Examen macroscopique	P27
IX. Examen microscopique	P27
IX.1. Coloration de gram	P28
X. Identification biochimique	P28
X.1. Test de catalase.....	P28
X.2. Identification par galerie API 20 E	P28
X.2.1. Principe	P28
X.2.2. Préparation de l'inoculum	P29
X.2.3. Inoculation de la galerie	P29

CHAPITRE IV : résultats et discussion

I. La mesure de la turbidité	P31
II. Test mécanique.....	P31
III. Examen macroscopique	P36
V. Examen microscopique.....	P37
IV. Test de catalase	P38
VI. Identification bactérienne (utilisation de la galerie biochimique API 20E)	P40
Conclusion	

Références bibliographiques

Annexe

Introduction général

Introduction général

Les matières plastiques présentent plusieurs avantages comparativement à d'autres matériaux, notamment leur faible coût d'élaboration, leur polyvalence et leur durabilité. Elles donnent lieu à un vaste éventail de polymères ayant des propriétés et des applications particulières et diversifiées, comparativement à d'autres matériaux **(Tolinsky, 2010)**. Toutefois, plusieurs critiques leur sont faites. En effet, les matières plastiques soulèvent des problèmes liés à l'environnement, à la santé, ainsi qu'à la gestion des matières résiduelles. Leur persistance dans l'environnement a un impact notable sur la faune et sur la gestion en fin de vie de ces matières. Aussi, la présence d'additifs dans certains matériaux, comme les phtalates ou le bisphénol A, a suscité une vive controverse relativement à leurs risques toxicologiques. Plusieurs pays ont limité, voire banni, l'utilisation de certains produits plastiques. Les sacs en plastiques jetables, de même que les contenants en polystyrène (PS) expansé ont fait l'objet de telles mesures **(Lewis et Stanley, 2012)**. Les matières plastiques dérivées de ressources non renouvelables, tels le pétrole et le gaz naturel, forment la majeure partie des matières plastiques produites. Mais avant leur développement, les premiers plastiques prenaient leur origine dans le monde végétal et animal. On utilisait alors les ressources naturelles telles que la corne, le caoutchouc, le coton, le bois et le sang pour élaborer des matières plastiques. Ces matières ont été délaissées au profit de ressources pétrolières pour des raisons économiques et techniques. Ces matières ont été délaissées au profit de ressources pétrolières pour des raisons économiques et techniques. Cependant, l'utilisation de matières renouvelables connaît depuis quelques années un regain de popularité. Ceci s'explique par le choc pétrolier des années 1970, amenant l'instabilité des prix des ressources pétrolières, et la sensibilisation croissante de la population aux problèmes environnementaux. Afin de distinguer lexicalement les plastiques issus de ressources renouvelables de ceux issus de ressources non renouvelables, le terme « plastique biosourcé » est né. Le potentiel des plastiques biosourcés apparaît très important. En effet, jusqu'à 90 % des plastiques pétrochimiques pourraient être biosourcés **(Thielen, 2012)**.

CHAPITRE I

Le plastique

Le domaine des matières plastiques englobe un ensemble de champs particuliers où l'expertise est très développée dans les milieux scientifique et industriel. Cette première section présente de façon digeste plusieurs notions générales qu'il est pertinent de discuter ici afin de mieux comprendre le monde dans lequel s'inscrivent les plastiques biosourcés. Des concepts de base seront abordés, notamment en définissant ce qu'est une matière plastique et en décrivant le processus chimique de polymérisation. Les plastiques seront classés en catégories antagonistes (semi – synthétiques / synthétiques, thermoplastiques /thermodurcissables et pétrochimiques /biosourcés).

I.Le plastique :

I.1 Matière plastique

Le terme « matière plastique » définit de la manière suivante : « matière synthétique, constituée de macromolécules obtenues par polymérisation ou polycondensation et qui peut être moulée ou modelée » **(Rey, 2007)**. La définition du terme « plastique » ramène prioritairement à la notion de mise en forme : « qui a le pouvoir de donner la forme » . En fait, le terme « plastique » provient du latin *plasticus*, « relatif au modelage », emprunté du terme grec *plastikos*, « malléable, qui sert à modeler » **(Rey, 1992)**. Le terme « plastique » a d'abord été employé en tant qu'adjectif : « qui vise la reproduction ou la création de formes par modelage », se rapprochant de l'expression art plastique . Ainsi, le terme plastique semble avoir été depuis toujours associé à la mise en forme. Il est à noter que le terme « plastique », utilisé comme nom commun, constitue une ellipse de « matière plastique » . Ces deux termes sont donc équivalents. Dans la littérature scientifique, et plus spécifiquement dans le domaine de la chimie, plusieurs définitions sont proposées. Des définitions partielles, car très larges et incomplètes, sont données : « n'importe quelle matière qui peut être chauffée ou moulée et qui conserve sa forme une fois refroidie est un plastique » **(CCSP, 2009b)** ou « matière intrinsèquement sans forme pouvant être moulée ou modelée sous la chaleur et/ou la pression » **(Koch, 2013)**.

I.2. Polymère et polymérisation :

Le concept de « polymère » étant lié de très près à celui de « matière plastique », certains auteurs renvoient directement la définition de « matière plastique » à ce concept (**Helmenstine, 2012**). Les matières plastiques sont faites de polymères. Puisque la plupart des matières plastiques sont constituées d'un seul type de polymère, par exemple le polyéthylène (PE), le terme « polymère » est généralement employé par extension pour désigner celles-ci. Un polymère est un assemblage de plusieurs monomères, des molécules de base chimiquement liées en une macromolécule (**Reyne, 1998**). La longue chaîne du polymère rassemble les monomères de manière structurée (**Chemistry Encyclopedia, 2007**). La formule chimique d'un polymère rappelle la formule du monomère en ajoutant la lettre « n », précisant que le monomère est répété un fois dans la chaîne (**Olivier, 2013**). (**figure1**) . présente les formules de quatre polymères : le polyéthylène (PE), le polystyrène (PS) et le polypropylène (PP) et le polychlorure de vinyle (PVC).

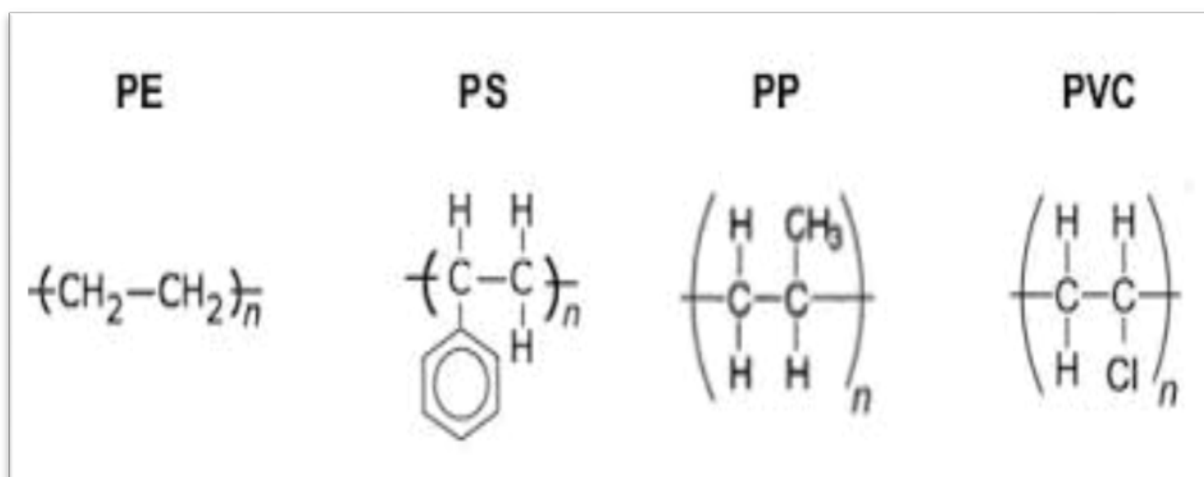


Figure .01: Structures moléculaires du PE, du PS et du PP et du PVC (Lower,2009) .

Dans les cas des PE, PS, PP et PVC de la figure 01, chaque polymère n'est formé que d'un seul type de monomère. Par exemple, le PE n'est composé que de monomères d'éthylène, le PS n'est composé que de monomères de styrène, le PP n'est composé que

de monomères de propylène et le PVC n'est composé que de monomères de chlorure de vinyle. D'autres polymères sont composés de monomères de différentes natures assemblés en alternance (**Olivier, 2013**). C'est le cas pour le polyéthylène téréphtalate (PET) qui résulte d'un assemblage d'acide téréphtalique et d'éthylène glycol. La formule chimique du PET est présentée à la (**figure 02**). Le segment d'éthylène peut être reconnu par la formation CH₂-CH₂ à droite sur l'illustration.

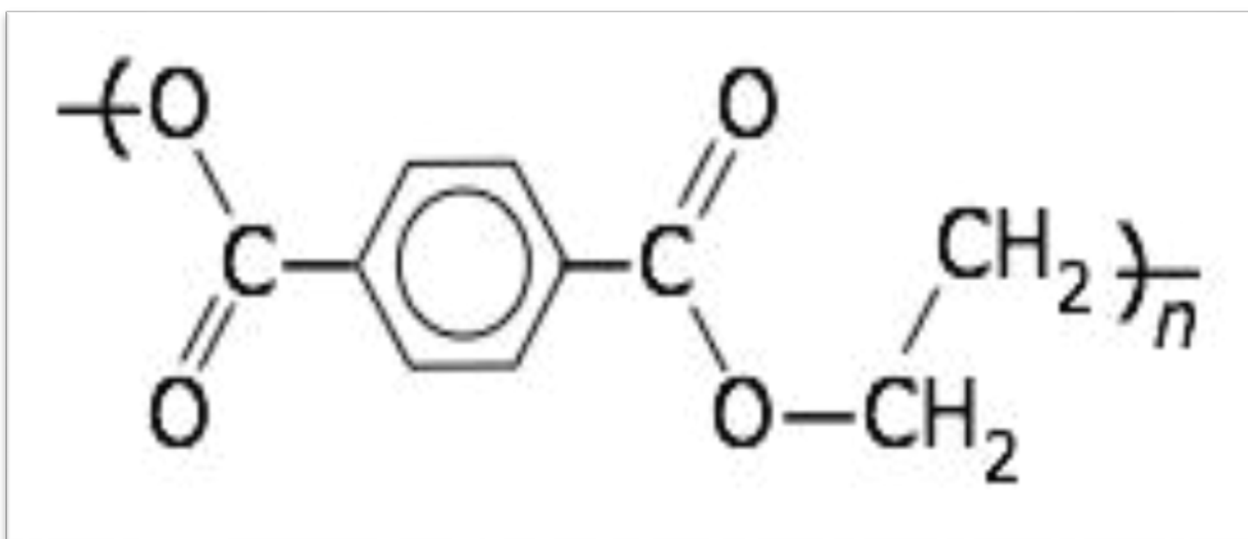


Figure .02 : Structure moléculaire du PET (Lower, 2009).

Tous les polymères courants sont formés d'une chaîne d'atomes de carbone habillée d'hydrogènes (**Reyne, 1998**). Certains polymères intègrent aussi l'oxygène ou le silicium, le chlore, le fluor, l'azote, le phosphore ou le soufre (**CCSP, 2009b**).

Un polymère est constitué d'un nombre élevé de monomères, ce qui lui confère une masse moléculaire très élevée (**Koch, 2013**), d'où le terme de macromolécule (**Olivier, 2013**). Plus le nombre de monomères fusionnés est élevé, plus les chaînes seront longues. Un polymère composé de chaînes courtes sera plus malléable alors qu'un autre de même nature chimique, dont les chaînes sont nettement plus longues, sera rigide et plus résistant à la traction.

La polymérisation est le terme générique qui décrit tout type de réaction de formation des polymères résultant de l'assemblage de monomères en de longues chaînes (**SDP, 2010**). Les plus courantes sont la polycondensation et la polyaddition (**Chemistry Encyclopedia, 2007**). La polycondensation implique des monomères de bases différentes qui se lient entre eux (**Lower, 2009**). Mais cette réaction génère une petite molécule comme résidu, qui consiste souvent en H₂O ou en HCl (**Cantor, 2011**). Par exemple, lors de la polymérisation du PET, chaque arrimage d'acide téréphtalique et d'éthylène glycol entraîne le rejet d'une molécule d'eau (**Olivier, 2013**). La polyaddition utilise plutôt l'ouverture des insaturations des monomères (liens doubles ou liens triples) pour lier successivement les monomères. Elle requiert l'initiation par un catalyseur sur un premier monomère, puis la réaction se déroule spontanément en chaîne (**Reyne, 1998**). Les matières plastiques courantes qui résultent de la polyaddition sont le PE, le PP et le PVC (**Chemistry Encyclopedia, 2007**). Peu importe le type de réaction, celle-ci se fera généralement sous l'effet de la chaleur et de la pression (**Cantor, 2011**).

I.3 Plastique semi-synthétique, synthétique et biosourcé :

Une matière plastique peut être semi-synthétique ou synthétique (**San Diego Plastics, 2010; Chemistry Encyclopedia, 2007; Mossman, 2008 et PHS, 2010**). Cependant, certains restreignent la définition de matière plastique aux seules matières synthétiques (**CCSP, 2009b et Helmenstine, 2012c**). Il est important d'expliciter la nuance entre ces termes, puisque cela permettra de saisir le concept de plastique biosourcé.

D'abord, des polymères naturels furent utilisés, par exemple la corne, l'écaille la gomme-laque, ou l'ambre, qui sont considérés comme des matières plastiques puisqu'ils peuvent être formés et moulés par la chaleur (**Mossman, 2008 et Koch, 2013**).

Puis, vinrent alors les premiers plastiques semi-synthétiques faits de polymères naturels modifiés chimiquement par des produits chimiques, tel le nitrate de cellulose (**Chemistry Encyclopedia, 2007; PHS, 2010 et Mossman, 2008**). Enfin, des matières plastiques entièrement synthétiques ont été élaborées à partir de molécules développées par l'homme, donnant notamment le PS, le PVC et le PE (**Chemistry Encyclopedia, 2007**).

Plusieurs facteurs ont contribué à l'expansion des matières plastiques synthétiques :

- leur faible prix, dû à leur facilité de production.
- leurs nombreuses applications possibles, découlant de propriétés physiques intéressantes et de leur résistance chimique .
- leur bilan énergétique faible relativement à d'autres matériaux **(Reyne, 1998)**.

Les plastiques biosourcés sont des matériaux fabriqués à partir d'une matière première de source organique renouvelable **(Huneault, 2011)**. Le plastique produit doit être composé en totalité ou en part significative de matières renouvelables **(Platt, 2012)**. Le terme équivalent en anglais est « *biobased plastics* ». Le concept de plastique biosourcé ne doit pas être confondu avec la notion de biodégradabilité, ces deux concepts n'étant pas exclusifs. En fait, un plastique biosourcé peut être biodégradable ou non, au même titre qu'un plastique pétrochimique. La source organique renouvelable peut être d'origine végétale ou animale **(Lunt, 2009)**. Par exemple, la canne à sucre peut servir à fabriquer les monomères menant au PE et le maïs peut servir à faire ceux menant au PP **(Aubry, 2004)**. Ainsi, par rapport au classement naturel/semi-synthétique/synthétique, les plastiques biosourcés peuvent constituer des plastiques semi-synthétiques, comme c'est le cas pour les plastiques à base d'amidon où le polymère naturel est modifié, ou des plastiques synthétiques, où le processus de polymérisation classique est utilisé.

I.4 Thermoplastiques et thermodurcissables :

Une catégorisation courante des matières plastiques repose sur leur réaction en réponse à l'augmentation de température **(PHS, 2010)**. Deux classes permettent de catégoriser les matières plastiques : les thermoplastiques et les thermodurcissables **(Reyne, 1998)**.

Les thermoplastiques, ou plastomères, sont des plastiques qui ramollissent sous l'effet de la chaleur, deviennent souples, malléables et prennent forme après un refroidissement. Mais ce procédé est réversible, c'est-à-dire que la structure de la matière se ramollit lorsqu'on augmente de nouveau la température . Néanmoins, ces plastiques ne sont pas recyclables à l'infini, une altération des propriétés du polymère se produisant sous l'effet répété des élévations de température . Mais, selon certains, le recyclage peut se faire tout

de même plusieurs fois sans en altérer les propriétés de façon importante **(PHS, 2010)**. Les chutes peuvent être broyées pour être réutilisées. Ce processus réversible s'explique par la faiblesse des interactions entre les macromolécules, pouvant être rompues sous l'effet de la chaleur ou de fortes contraintes **(Cap Sciences, 2006)**. Les macromolécules peuvent alors glisser les unes sur les autres jusqu'à ce que la matière refroidisse. Les thermoplastiques comportent l'avantage d'être facilement recyclables **(Reyne, 1998)**.

Les thermodurcissables, ou duromères, tout comme les thermoplastiques, prennent forme lorsqu'ils sont refroidis, mais, à l'inverse des thermoplastiques, ne peuvent être remis en forme une seconde fois, l'opération étant irréversible. En effet, chauffés de nouveau, ils ne ramolliront pas et conserveront leur forme de manière permanente **(PHS, 2010)**. En fait, lorsque chauffés de nouveau, ces duromères finissent par atteindre leur température de décomposition plutôt que de ramollir sous l'effet de la chaleur **(CCSP, 2009b)**. Ils sont le produit de polycondensation **(Aubry, 2004)**. À la différence des thermoplastiques, les polymères qui forment ces thermodurcissables comprennent un grand nombre de pontages entre les chaînes, des liens chimiques résistants qui ne peuvent être rompus **(Cap Sciences, 2006)**. Le glissement entre les chaînes lors du réchauffement est empêché par ces liaisons. Les élastomères, tel le caoutchouc, qui peuvent se comprimer ou s'étirer puis reprendre leur forme initiale, font partie des thermodurcissables.

Afin d'illustrer la différence de comportement sous l'effet de la chaleur entre les deux types de plastique, les thermoplastiques peuvent être comparés à du verre, que l'on peut refondre à haute température, et les thermodurcissables à du béton, qui ne peut être remis en forme sous l'effet de la chaleur **(Reyne, 1998)**. Les thermoplastiques sont de loin le type de plastique le plus commercialisé. Approximativement 80 % des polymères produits industriellement sont des thermoplastiques, les 20 % restants sont des thermodurcissables **(Lower, 2009)**.

I.5 Processus d'élaboration des matières plastiques synthétiques :

Les matières plastiques synthétiques sont essentiellement produites à partir de monomères issus de la pétrochimie **(Reyne, 1998)**. Cependant, elles peuvent également

être produites à partir de charbon ou de gaz naturel, bien que le pétrole soit le matériau brut le plus utilisé pour la production des matières plastiques **(PHS, 2010)**. Les raffineries créent des sous-produits dans les tours de raffinage à partir du pétrole brut **(Reyne, 1998)**. C'est à cette étape que seront séparés par distillation l'essence, les naphthes, la paraffine, le diésel et les huiles lourdes **(PHS, 2010)**. La **(figure03)** présente le processus d'élaboration des thermoplastiques courants, tels le PP, le PVC, le PE, le PET et le PS, à partir du pétrole et du gaz naturel.

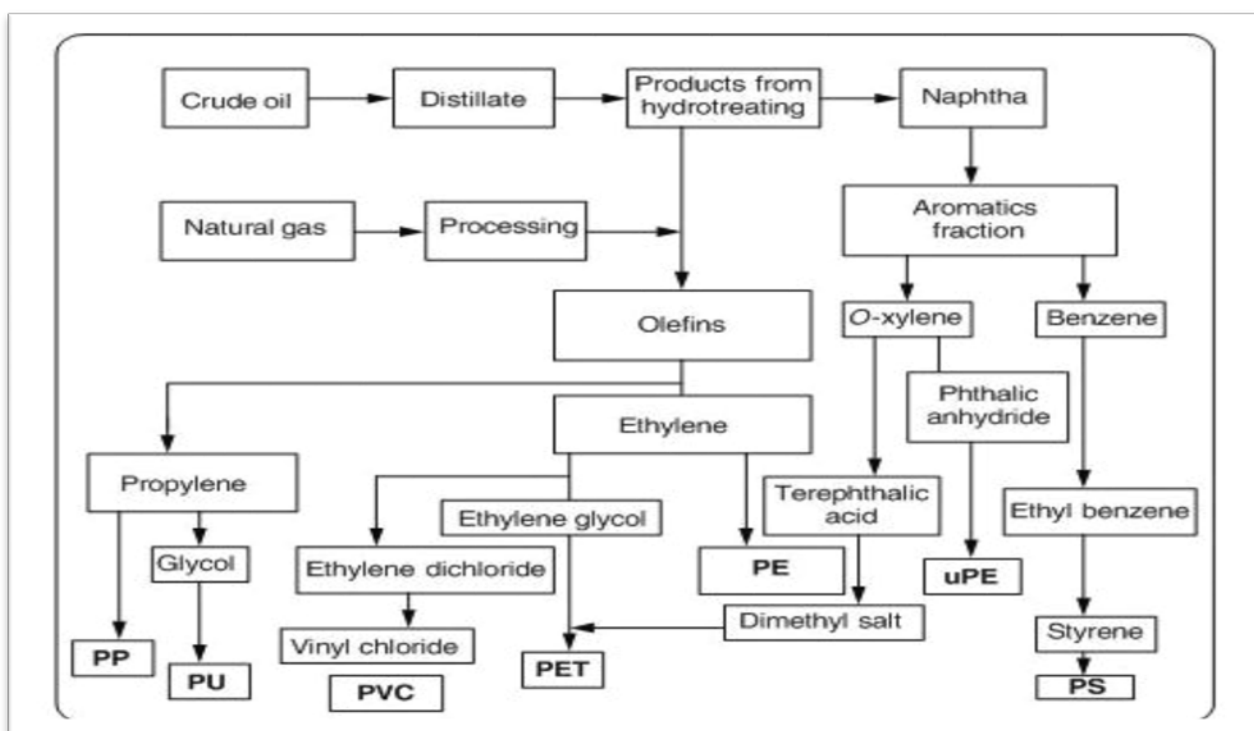


Figure.03: Processus d'élaboration des thermoplastiques classiques (Andrady, 2003b).

Le producteur de matières plastiques utilise donc comme intrant les naphthes ou les oléfines, qu'il transformera, par vapocraquage, en intermédiaires de chimie organique, les monomères tels l'éthylène, le propylène, le butène et autres hydrocarbures insaturés **(Reyne, 1998 et PHS, 2010)**. Ces monomères seront transformés en polymères, comme il a été expliqué dans la sous-section précédente, se présentant sous forme de poudre solide ou de résine liquide **(Reyne, 1998)**. L'industrie préférant utiliser les polymères

sous forme de granules, les polymères produits sous forme de poudre ou de résine doivent être soumis à travers d'un processus d'extrusion , qui sera abordé ultérieurement.

Les polymères sont rarement utilisés seuls. D'autres produits entrent dans la composition des matières plastiques **(PHS, 2010)**. Des additifs ou adjuvants sont ajoutés afin d'améliorer certaines propriétés physicochimiques **(Reyne, 1998)**. Les deux termes ne sont pas à confondre. Les additifs peuvent représenter une part importante de la matière plastique, ils sont ajoutés dans des proportions allant jusqu'à 50 % de celle-ci, tandis que les adjuvants ne seront employés que dans de faibles proportions, généralement inférieures à 2 % .

Six types d'additifs sont employés : les renforts, les charges, les plastifiants, les stabilisants, les antioxydants et les colorants . Les renforts sont utilisés pour accroître la tenue mécanique et la rigidité (p. ex. fibre de verre, carbone). Les charges sont ajoutées afin d'apporter une propriété spécifique (p. ex. talc, calcaire) ou comme matériel de charge pour réduire le coût (p. ex. farine de bois, coton, cellulose) .

Les plastifiants sont utilisés pour donner de la souplesse et réduire la fragilité (p. ex. phosphates, phtalates, adipates, sébaçates, stéarates, glycols), surtout dans les PVC; les stabilisants (p. ex. sels, stéarates), surtout dans les PVC, et les antioxydants (p. ex. amines aromatiques, dérivés phénoliques), dans les PE, PP et PS, sont utilisés contre le vieillissement. Enfin, les colorants sont utilisés pour modifier l'apparence de la matière (p. ex. pigments minéraux ou organiques) .

Les adjuvants confèrent des propriétés diverses. Les réticulants apportent une structure pontée qui mène aux thermodurcissables. Les gonflants apportent une structure cellulaire. Les solvants facilitent l'enduction ou l'imprégnation. Les anti-UV retardent la dégradation photochimique. Les antistatiques dissipent l'accumulation de charges électriques. Les tensio-actifs jouent un rôle de dispersant. Les lubrifiants facilitent le démoulage. Également, des fongicides, ignifugeants et désodorisants peuvent être ajoutés

.I.6 Mise en forme des plastiques :

Plusieurs procédés de mise en forme existent, certains sont plus adaptés aux thermoplastiques ou aux thermodurcissables. Les procédés ci-dessous sont les plus communs et conviennent aux thermoplastiques.

L'extrusion consiste d'abord à chauffer la matière plastique, puis à l'amener par une vis sans fin vers une embouchure étroite, nommée filière, produisant la forme désirée, après quoi la matière sera refroidie **(CCSP, 2009b)**. On peut comparer ce système à celui utilisé dans la confection des saucisses ou des pâtes alimentaires. Ce système de mise en forme sert notamment à la fabrication de pailles, de tuyaux, de fibres textiles, de cordes et de cadres de fenêtres. Selon sa forme, la filière de sortie produit un moulage sans fin convenant à des applications variées : fil, profilé, film, feuille, plaque, gaine et tube; il suffit de le couper à la longueur désirée **(Reyne, 1998)**. L'extrusion convient à tous les thermoplastiques, mais est plus appropriée pour le PE, le PP, le PVC, le PS et le PET.

L'injection consiste, tout comme l'extrusion, à chauffer la matière plastique qui sera amenée par une vis sans fin jusqu'à une filière de sortie, mais, à la différence de l'extrusion, celle-ci sera injectée dans un moule sous forte pression et compactée **(Reyne, 1998)**. Ce moule, refroidi par circulation d'eau, se défait en deux parties, éjectant la pièce plastique mise en forme. Il s'agit de la méthode la plus courante de mise en forme des plastiques **(CCSP, 2009b)**. L'injection convient à toutes les pièces moulées en trois dimensions (peignes, jouets, poubelles, etc.) **(Reyne, 1998)**.

Le soufflage consiste à pincer un tube extrudé par ses deux extrémités, l'une se soudant sur elle-même et l'autre s'appuyant sur une canne de soufflage par laquelle de l'air est soufflé pour déformer le tube, prenant alors la forme d'un moule. Cette méthode peut également se faire avec une feuille extrudée dont les parois seront fixées. L'air comprimé soufflera sur la feuille qui prendra forme dans un moule **(PHS, 2010)**.

Le rotomoulage consiste à faire pivoter sur un axe horizontal et vertical un moule chauffé, dans lequel la résine plastique, sous forme de poudre, y tapisse les parois **(CCSP, 2009b)**. Comme pour l'injection, le moule est refroidi à l'eau **(Reyne, 1998)**. Le

rotomoulage est moins adapté que le soufflage aux grandes séries et aux petits articles à parois minces .

Le calandrage consiste à fabriquer une feuille en continu (**Carrega, 2009**). Le mélange, constitué de résine et d'additifs, est chauffé et passe entre des jeux de cylindres chauffés, jusqu'à l'obtention de l'épaisseur désirée, puis passe finalement entre des cylindres de refroidissement (**Reyne, 1998**). La matière produite est ensuite enroulée pour l'expédition (**Carrega, 2009**).

Le thermoformage consiste en une opération inverse au soufflage. On utilise une feuille extrudée qui sera fixée par les parois, réchauffée, puis aspirée par dépression sur un moule de forme adaptée (**Reyne, 1998**).

I.7 Thermoplastiques courants

Il existe de nombreuses matières plastiques synthétiques. Certaines entrent dans la composition de nombreux produits d'usage courant, d'autres ont des utilisations plus spécifiques. Cette sous-section présente les thermoplastiques les plus courants.

Les thermoplastiques les plus utilisés sont identifiés à l'aide du ruban de Möbius, afin de faciliter la reconnaissance des matières recyclables. Il s'agit du :

- polyéthylène téréphtalate
- polyéthylène haute densité (PEHD)
- PVC
- polyéthylène basse densité (PEBD)
- PP
- PS

La structure moléculaire de chacun de ces thermoplastiques est présentée à la figure 01 (PE, PVC, PP et PS) et à la figure 02 (PET).

Le polyéthylène (PE) représente à lui seul le tiers de la production mondiale de plastique (**Cap Sciences, 2006**). Il est formé par la polyaddition de monomères d'éthylène (**Cantor, 2011**). Il existe différents polyéthylènes classés selon leur densité, qui dépend du nombre et de la longueur des ramifications présentes dans le matériau (**Cap Sciences, 2006**).

On distingue généralement deux types, soit le polyéthylène haute densité (PEHD) et le polyéthylène basse densité (PEBD). La densité, relative à la masse molaire moyenne, est attribuable au nombre de monomères composant le polymère. Par exemple, le PEBD contiendrait de 1000 à 5000 monomères, tandis que le PEHD en contient entre 20 000 et 50 000 (**Olivier, 2013**). Le PEBD se prête à plusieurs utilisations, principalement dans la fabrication des produits souples : sacs, films, sachets, récipients de toutes sortes (bouteilles de Ketchup, de shampoing, tubes de cosmétiques, etc.) (**Cap Sciences, 2006**). Le PEHD entre dans la composition d'objets rigides : bouteilles de produits nettoyants, poubelles, tuyaux, jouets, Tupperware, etc. . Le polyéthylène téréphtalate (PET) est utilisé notamment dans la fabrication des bouteilles d'eau ou de boissons gazeuses, de films plastiques, de contenants d'œufs et de fibres textiles (polyester).

Le polypropylène (PP), tout comme le PE, est formé par la polyaddition, mais de monomères de propylène plutôt que d'éthylène (**Cantor, 2011**). Il sert à la fois comme plastique et fibre (**Cap Sciences, 2006**). Il est utilisé dans le domaine automobile (pare-chocs, tableau de bord, etc.), dans les contenants de yogourt et de margarine, les bouilloires électriques, les tapis et cordes synthétiques (*ibid.*). Ses diverses utilisations sont entre autres attribuables à son point de ramollissement élevé, soit 160 °C (**CCSP, 2009b**).

Le polystyrène (PS), est polymérisé par polyaddition de monomères de styrène (**Cantor, 2011**). Il se présente sous deux formes à un point de ramollissement assez bas : rigide ou expansé. Sous forme expansée, il est aussi connu sous le nom de styromousse (**CCSP, 2009b**). Le PS rigide entre dans la composition de nombreux types de boîtes, notamment les boîtiers de disques compacts, les rasoirs jetables, les ustensiles jetables, les contenants

CHAPITRE II

BOIDUGRADATION DU PLASTIQUE

de yogourt individuels. Le PS expansé, forme cellulaire du PS, prend sa forme grâce à la vapeur d'eau ou à un solvant qui peut facilement devenir gazeux. Il est utilisé notamment comme barquette alimentaire et comme isolant thermique.

Le polychlorure de vinyle (PVC) est obtenu par la polyaddition de monomères de chlorure de vinyle (**Cantor, 2011**). Il s'agit d'un des polymères les plus utilisés (**Lower, 2009**). Le PVC souple, par l'ajout de plastifiant, peut être utilisé notamment comme gainage de câbles, revêtement de sol, cuir synthétique et rideau de douche. Le PVC rigide peut entrer dans la fabrication de tuyaux, revêtements extérieurs et cadre de fenêtres. Le PVC n'est pas thermostable, il peut se dégrader et relâcher de l'acide chlorhydrique (HCl) sous forme gazeuse (**Cantor, 2011**).

L'orientation actuelle de la recherche en matières plastiques indique un fort accroissement du développement de produits polymères biodégradables à durée de vie pré-définie. Quatre champs d'application peuvent être distingués : les matériaux d'emballage, les films de paillage, les sacs d'emballages et les applications médicales (dégradations aseptiques). Les matières plastiques sont des matières organiques qui sont obtenues en incorporant, à une « résine » de base, divers composés qui améliorent leurs caractéristiques. On ne trouve pas de matières plastiques « naturelles ». Très résistantes, elles sont difficilement dégradées. En revanche, il existe des polymères naturels ou « biopolymères » (cellulose, amidon, protéines) qui peuvent être dégradés naturellement dans l'environnement.

II.1. Plastique et biodégradabilité :

Le traitement biologique, par exemple le compostage ou la digestion, est un procédé important dans la gestion des déchets plastiques biodégradables. Les organismes internationaux de normalisation ont développé et améliorent des méthodes d'essai standard pour confirmer la biodégradabilité ou la compostabilité de matériaux **(ISO 20200, 2004)** et de produits. Les matières plastiques biodégradables répondent à des strictes afin de garantir leur biodégradabilité totale, la qualité du compost et la sécurité du produit mais aussi afin de limiter l'emploi souvent abusif du terme biodégradable. La conformité à une norme peut être déclarée par une auto-évaluation ou par la certification de tiers. La production et l'utilisation des matières plastiques biodégradables peuvent permettre de réduire considérablement l'accumulation de déchets solides toxiques pour l'environnement.

II.1.1. Dégradation :

La dégradation d'un matériau signifie la perte de ses propriétés physico-chimiques **(Vert et al., 1992)**. Dans le cas d'un matériau polymère, cette perte de propriétés peut se produire en raison de modifications physico-chimiques dans l'assemblage des macromolécules qui forment le matériau et/ou suite à une rupture de ces macromolécules.

Toutefois, il existe plusieurs situations qu'il est nécessaire de distinguer en terme de dégradation :

- ✓ Le matériau est dégradé partiellement, ce qui aboutit à la formation de fragments macromoléculaires qui peuvent être plus petits mais très semblables au matériau d'origine d'un point de vue chimique.
- ✓ Le matériau est dégradé ainsi que les macromolécules, ce qui se traduit par la rupture des chaînes macromoléculaires provoquée par un procédé chimique comme une hydrolyse ou une oxydation, ou par des agents biologiques tels que les micro-organismes ou l'action d'enzymes ,ou les deux conjugués (**Vert et al., 1992**). Les produits de dégradation résultants peuvent se trouver dispersés dans l'environnement sans former d'interactions, ou peuvent être intégrés dans des cycles biologiques et transformés en eau et en dioxyde de carbone (CO₂), ou être assimilés par des micro-organismes et ainsi contribuer à la formation d'une nouvelle biomasse.

Il existe différents types de dégradation : la dégradation abiotique causée par des facteurs physiques tels que l'oxygène, l'eau ou la lumière, et la dégradation biotique due à l'action de micro-organismes (**Calmon-Déciaud et al., 1998**). En conditions naturelles, ces deux types de dégradation peuvent être combinés et mener les polymères à différents degrés de dégradation (fragilisation, fragmentation, solubilisation).

L'ISO (International Standards Organisation) a établi des définitions pour les termes «dégradation » et « détérioration » (**ISO 472, 1988; Vert et al., 1992**). La dégradation d'un matériau peut être définie comme une « modification dans la structure chimique d'un plastique entraînant des changements de propriétés ». La détérioration est une « modification permanente dans les propriétés physiques d'un plastique mise en évidence par une altération de ces propriétés ».

De même, l'ASTM (American Society for Testing and Materials) et le CEN (Comité Européen de Normalisation) ont défini la notion de dégradation comme « un

processus irréversible aboutissant à un changement significatif de la structure du matériau particulièrement caractérisé par la perte de propriétés (intégrité, masse molaire, structure ou résistance mécanique) et/ou une fragmentation. La dégradation est influencée par les conditions environnementales et se déroule au cours d'une période comprenant une ou plusieurs étapes ».

De nombreux travaux montrent que les polymères plastiques peuvent être dégradés selon différents mécanismes tels que la photo-dégradation par les rayonnements UV ou la lumière solaire (**Shang et al., 2003**), l'oxo-dégradation par oxydation chimique ou enzymatique (**Enoki et al., 2003**), la thermo-dégradation par la chaleur (**Lacoste et Carlsson, 1992**), la dégradation mécanique sous l'effet de contraintes mécaniques (**Fare et al., 1999**) et la biodégradation induite par l'action de micro-organismes (**Bode et al., 2001**).

II.1.2. Biodégradation :

D'après Feuilleley (1999), un dictionnaire classique définit le terme biodégradable tel que : « se dit d'un produit industriel qui, laissé à l'abandon, est détruit par les bactéries ou d'autres agents biologique ». Cette définition présente le matériau biodégradable comme un matériaux capable de prendre en charge sa propre élimination.

polymères biodégradables sont devenus très populaires mais la définition de ce terme n'est pas toujours claire et donne lieu à de nombreuses interprétations. La détérioration ou la perte d'intégrité physique. Beaucoup de polymères dits "biodégradables" sont en fait "bio-érodables", "hydro-dégradables", "photo-dégradables", etc.

L'abus concernant l'emploi du terme "biodégradable" pour qualifier certains plastiques a conduit les différents organismes de normalisation (ISO, ASTM, DIN, JPBS, CEN) à l'établir des définitions sur la notion de plastiques biodégradables .

La biodégradabilité primaire (ou facile, « *ready biodegradability* ») est l'altération de la structure chimique. Le résultat se traduit par la perte de propriétés spécifiques du

polymère. Il est très important de la mesurer pour les polymères utilisés pour des applications durables (bâtiment, automobile, etc.).

La biodégradabilité ultime (ou inhérente, « *inherent biodegradability* » ou minéralisation) concerne les matériaux totalement dégradés par des micro-organismes avec la production de dioxyde de carbone (en aérobiose) ou de méthane (en anaérobiose), d'eau, de sels minéraux et de nouveaux constituants cellulaires (biomasse).

La notion d'« **acceptabilité environnementale** » a également été introduite pour établir la nuance entre les polymères biodégradables qui peuvent être totalement ou partiellement dégradés et les polymères biodégradables et acceptables par l'environnement (Swift, 1992; Yabannavar et Bartha, 1994; Calmon-Déciaud *et al.*, 1998).

Les définitions de « biodégradation » et de « biodégradabilité » concernant les plastiques peuvent être qualifiées respectivement de « procédé induit par une activité biologique qui conduit à un changement de la structure chimique du matériau en produits métaboliques naturels » et « un plastique est biodégradable si tous ses constituants organiques sont sujets à une dégradation biologique complète. Les conditions environnementales et les taux de dégradation sont évalués par des méthodes normalisées » (Müller *et al.*, 1994; DIN 54900, 1998). En règle générale, les définitions sont établies au sens le plus large possible. Cependant, si un terme peut avoir différentes significations dans d'autres contextes ou peut être mal interprété, la définition peut être limitée à son domaine d'application (Vert *et al.*, 1992).

II.2. Mécanisme général de la biodégradation :

Tous les matériaux polymères sont exposés aux conditions naturelles environnementales et leur surface est recouverte par des micro-organismes, excepté dans le cas de pièces stériles (Gu, 2003 b). Ces micro-organismes sont capables de dégrader une large gamme de polymères naturels et synthétiques.

II.2.1 Processus biochimiques

Le terme de « plastiques biodégradables » se rapporte à une attaque enzymatique par des micro-organismes des matériaux constitués à partir de polymères peu ou non solubles dans l'eau. La biodégradation des plastiques est un processus hétérogène qui se déroule en deux étapes. La première étape est une fragmentation du polymère, elle correspond à une rupture des chaînes. La deuxième étape correspond à une minéralisation des petits fragments bioassimilés par les micro-organismes. En raison d'un manque de solubilité dans l'eau et de la taille des molécules de polymères, les micro-organismes ne peuvent pas absorber directement les polymères. Ils doivent dans un premier temps excréter des enzymes extracellulaires qui vont couper les chaînes des polymères (figure04) .

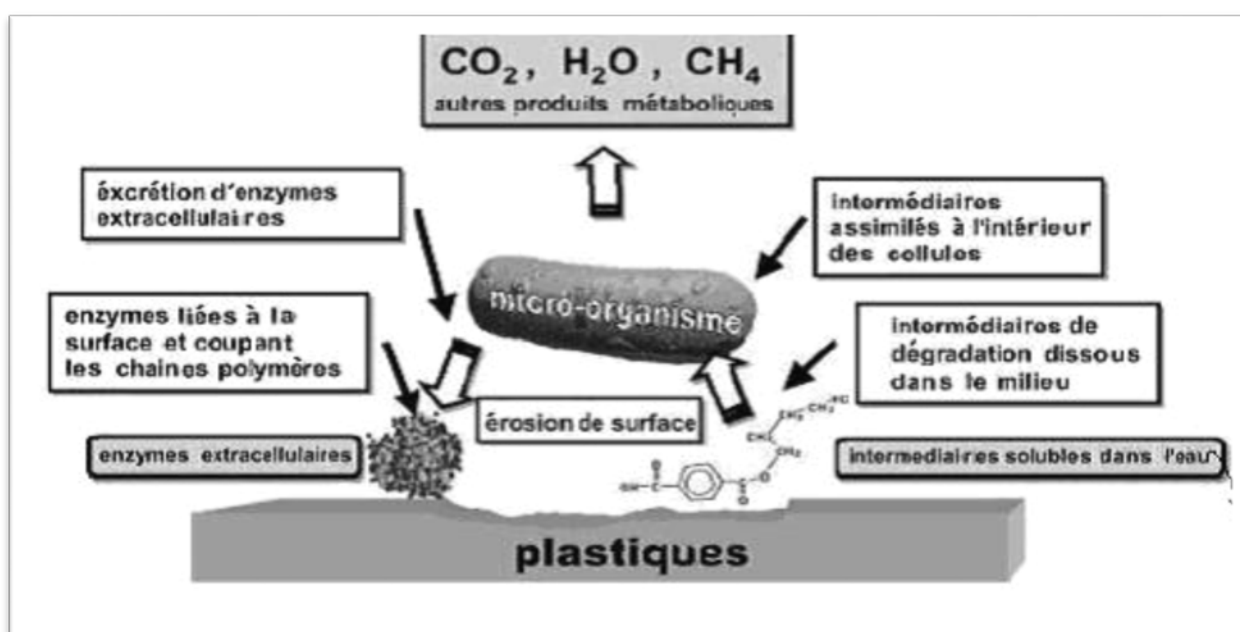


Figure .04 : Mécanisme général de la biodégradation des plastiques d'après Müller (2004).

Ainsi, les micro-organismes dégradent les polymères grâce à la production d'enzymes intra-et extracellulaires comme les dépolymérases et les hydrolases (**Gübitz et Paulo,**

2003). Les polymères sont décomposés en intermédiaires hydrosolubles de plus petite masse molaire. Ceux-ci peuvent être transportés à l'intérieur des cellules, être introduits dans la ou les voie(s) métabolique(s) appropriée(s) et assimilés (**Ratajska et Boryniec, 1998; Gu et al., 2000; Gu, 2003 a; Müller et al., 2001; Müller, 2004**).

Dans le cas d'une minéralisation complète en composés inorganiques, les produits finaux de ces processus métaboliques sont l'eau, le dioxyde de carbone et le méthane (dans le cas de la dégradation anaérobie) (**figure05**), ainsi qu'une nouvelle biomasse (**Feuilloley, 1999; Gu, 2003 a**) La biodégradabilité des polymères dépend de leur masse molaire et de leur aspect (film, poudre). Les monomères, les dimères et les oligomères sont plus facilement dégradés et minéralisés que les polymères correspondants (**Gu, 2003 a**).

Les enzymes extracellulaires sont de grosses molécules qui agissent en surface du matériau polymère. La biodégradation des plastiques est généralement un procédé d'érosion extérieure du matériau (**Ratajska et Boryniec, 1998; Gu, 2003 a; Müller, 2004**). Elles réduisent la longueur des chaînes de polymères par des réactions d'hydrolyses ou d'oxydations.

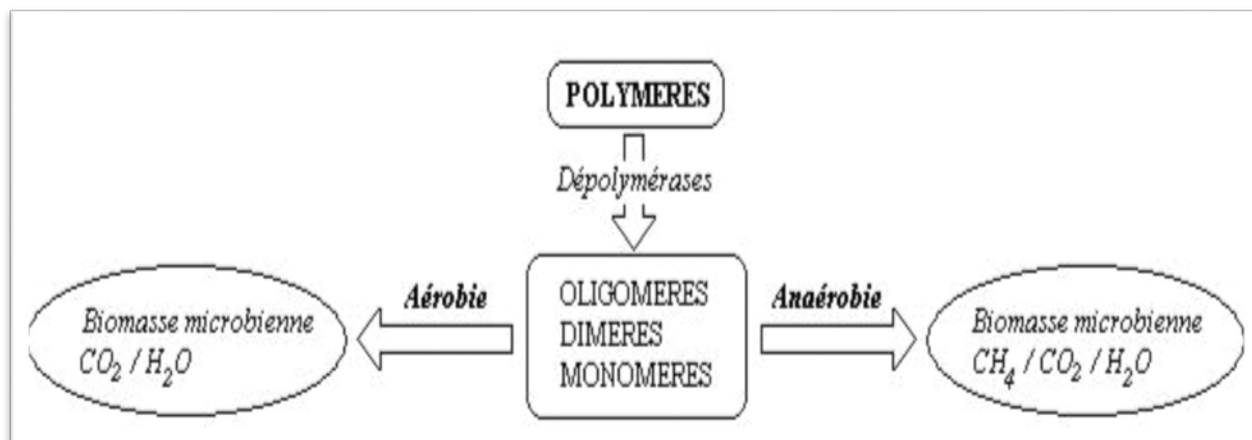


Figure .05: Schéma des étapes de la dégradation des polymères en conditions aérobie et anaérobie (Gu, 2003 a).

II.2.2. Influence des paramètres abiotiques

Parallèlement au processus de biodégradation, des processus abiotiques peuvent également intervenir dans les processus de dégradation des polymères. Ces processus abiotiques incluent l'hydrolyse chimique, la dégradation thermique, et l'oxydation ou la scission de chaînes polymères.

par irradiation (photodégradation). Pour certains matériaux polymères, ces effets sont utilisés directement pour induire le processus de biodégradation (**Weiland *et al.*, 1995; Chiellini *et al.*, 2003 a; Abd El-Rehim *et al.*, 2004; Kaczmarek *et al.*, 2004**).

L'exposition de matériaux polymères dans le milieu naturel à de tels facteurs doit également être prise en considération dans les mécanismes de biodégradation. Lors de la coexistence de processus biotiques et abiotiques, les mécanismes de dégradation de matériaux polymères peuvent être aussi désignés sous le nom de « dégradation environnementale ».

Les facteurs environnementaux ont une influence importante sur la dégradation des polymères mais également sur les populations microbiennes présentes dans l'écosystème considéré, notamment sur l'activité biologique des différents micro-organismes eux-mêmes. Les paramètres abiotiques tels que l'humidité, la température, le pH, la salinité, la présence ou l'absence d'oxygène et l'approvisionnement en différents nutriments ont des effets importants sur la dégradation microbienne des polymères. Ces conditions doivent être prises en compte lorsque la biodégradabilité des plastiques est analysée.

II.2.3. Influence des paramètres intrinsèques

Un paramètre intervenant également dans l'étude de la biodégradation de matières plastiques est la complexité de leurs structures chimiques et de leurs formulations. Les plastiques sont généralement constitués de différents polymères (mélanges) et d'additifs de faibles masses molaires (par exemple : plastifiants, colorants, antioxydants, etc.). Le polymère lui-même peut contenir différents éléments structuraux (co-polymères) et ceux-ci peuvent être distribués statistiquement le long de la chaîne polymère (co-polymères

statistiques) ou distribués alternativement (co-polymères alternés). La présence de longs blocs de chaque structure polymère (co-polymères à blocs) ou la formation de réseaux (polymères réticulés) est également possible. Pour une même composition globale, ces différentes structures de polymères peuvent influencer directement l'accessibilité des chaînes polymères au clivage enzymatique.

Tous les facteurs décrits ci-dessus influent sur les résultats et doivent être pris en compte lors des mesures de biodégradation des matériaux plastiques. Ainsi l'analyse de la biodégradabilité des matières plastiques implique différentes approches scientifiques .

II.2.4. 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.

II.2.4.1. Les bactéries

Les bactéries peuvent présenter une morphologie variable bien qu'elles soient souvent sous formes de coques et de diplocoques à peu près sphériques ou en bâtonnets. La taille des bactéries varie autant que leur forme. Les plus petites ont de 100 à 200 nm de diamètre. Certaines peuvent atteindre 500 µm de longueur (**Prescott et al., 1995**). Récemment, une bactérie d'environ 1 mm de diamètre de type sulfato-réductrice *Thiomargarita namibiensis* a été découverte dans les sédiments du fond marin

(Demarthon, 2004). Elles peuvent se développer à une température comprise entre -12°C et $+112^{\circ}\text{C}$, dans une gamme de pH qui peut varier de 1 à 12 et avec un degré de salinité allant de zéro jusqu'à saturation du milieu environnant (Schelgel et Jannasch, 1992; Nicklin et al., 2000).

Les bactéries sont des êtres unicellulaires de structure simple (figure 06). L'ADN chromosomique bactérien est constitué d'une double hélice d'ADN circulaire. A côté du chromosome, support de l'hérédité, la bactérie peut contenir des éléments génétiques (ADN) de petite taille (0,5 à 5% du chromosome bactérien), extra-chromosomiques. Ces éléments, appelés plasmides, ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie dans les conditions habituelles de croissance. Ils se répliquent indépendamment et en général plus rapidement que le chromosome bactérien. On les détecte lorsque les gènes qu'ils transportent confèrent à la bactérie de nouvelles propriétés.

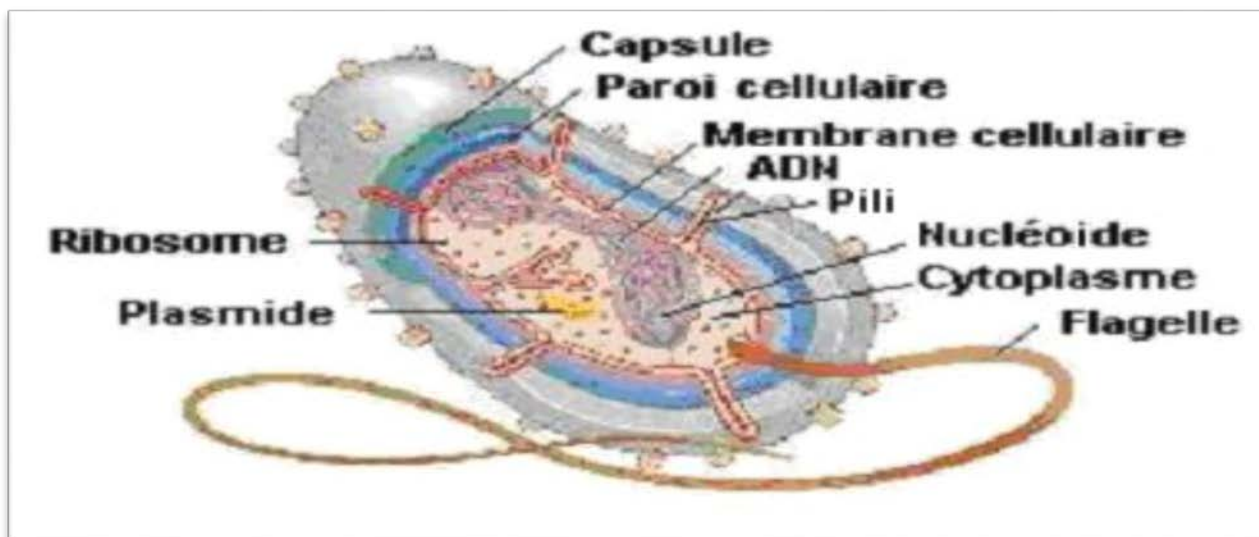


Figure .06 : Organisation générale d'une bactérie.

(www.astrosurf.com/lombry/bioastro-originevie5.htm).

Les plus connus de ces plasmides sont le facteur sexuel ou facteur F qui assure le transfert de fragments de chromosome bactérien par conjugaison (appariement de deux bactéries) et les plasmides de résistance aux antibiotiques (ou facteurs R) qui confèrent aux bactéries la résistance à divers antibiotiques (exemples : ampicilline, tétracycline).

Certains plasmides sont responsables de la virulence (ex. : production de toxines), de la résistance aux antiseptiques, du métabolisme de certains composés (lactose, lysine etc...), et de la dégradation de substances, par exemple le toluène, l'octane et l'acide salicylique. Les plasmides ne sont pas nécessaires au développement de la bactérie ni à sa reproduction bien qu'ils puissent porter des gènes qui donnent à leur hôte un avantage sélectif. Certaines cellules sont entourées d'une capsule externe à la paroi cellulaire. D'autres possèdent des pili (*fimbriae*) et/ou des flagelles pour leur déplacement (**Prescott et al., 1995**).

CHAPITRE III

Matériel et méthode

I. Objectif :

Le but principale de ce travail est étudié la biodégradation de matière en plastique par des bactéries.

II. Les milieux de culture :

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

III. Protocol :

Les trois échantillons de plastique contaminé (bâche en plastique =0.2g (**foret de Oulad Bughalem**) ; bouteille d'eau en plastique =0.5g(**foret de Oulad Bughalem**); le plastique fragile =1g (**foret de Oulad Bughalem**), (**figure.07**) sont mis dans 50ml de solution BN ; après agitation de 24h les centrifugations sont réaliser pour récupérer le culot bactérien, ensuite ce dernier sont été placé dans des bocaux comme suite :

1^{ier} lot bocaux (**A**) : 4 ml d'extrait bactérien de plastique fragile + milieu minérale + (sachet de congélation + gobelet coloré+ gobelet en plastique blanc+ bouteille d'eau en plastique) (**figure08**), répliqué trois fois.

2^{ème} lot bocaux (**B**) : 4 ml extrait bactérien de bouteille d'eau+ + milieu minérale + (sachet de congélation + gobelet coloré+ gobelet en plastique blanc+ bouteille d'eau en plastique), répliqué trois fois.

Témoin : contient le milieu minéral+ (sachet de congélation + gobelet coloré+ gobelet en plastique blanc+ bouteille d'eau en plastique).

Ces bocaux a été mis dans incubateur à une température de 37°C (**figure09**). (Laisser le couvercle des bocaux légèrement ouvert).



Figure.07 : Les échantillons de plastique (1-bouteille d'eau en plastique , 2-le plastique fragile, 3-bâche en plastique).



Figure. 08 : les quatre types de plastique utiliser (1-gobelet coloré en plastique ; 2 - gobelet en plastique blanc, 3- bouteille de boisson gazeuse, 4-sachet de congélation).



Figure.09 : Placement des bocaux dans incubateur.

IV. La mesure de la turbidité :

Il est possible d'utiliser un spectrophotomètre (**figure.10**) (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).

V. Test mécanique des échantillons de plastique :

Les échantillons en plastique étaient soumis à des examens manuels afin de connaître leur caractéristique physique avant et après l'incubation de deux mois. Les tests sont : réfraction, flexion, croissance des bio films sur les bordurés.

VI. Isolement bactérien sur un milieu solide :

Les bactéries de plastique sontensemencées sur un milieu de culture solide qui est ensuite incubé à 37°C pendant 24h.

VII. Conservation des souches bactériennes :**VII. 1-Conservation à long terme :**

Les souches bactériennes sontensemencées en culture jeunes sur milieu liquide après incubation de 18 h (**figure.11**). Les suspensions sont centrifugées et le culot bactérien est rem-suspendu dans le milieu de conservation lait écrémé à 1.5 de glycérol (**figure.12**). Agité au vortex pour bien homogénéiser avant de conserver au congélateur à 4°C. (**Badis et al, 2005**).

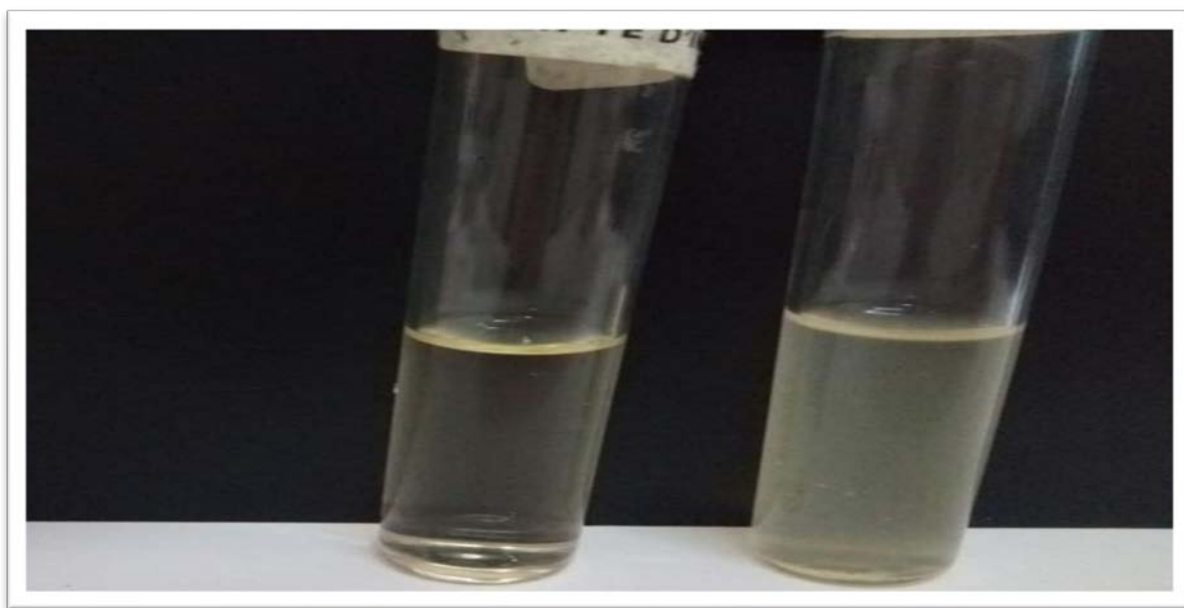


Figure .11 : résultat d'isolement des microorganismes.



Figure.12 : Conservation des bactéries.

VIII. Identification morphologique des souches :

Cette étude est conclué par des observations macroscopique et microscopique des isolats.

VIII.1-Examen macroscopique :

Cette test permet de constater la morphologie des colonies sur milieu solide (**figure.13**), ainsi déterminer la forme, la taille, couleur et aspect des colonies et sur milieu liquide on observe un trouble du milieu. (**Johnson et al, 1980**).

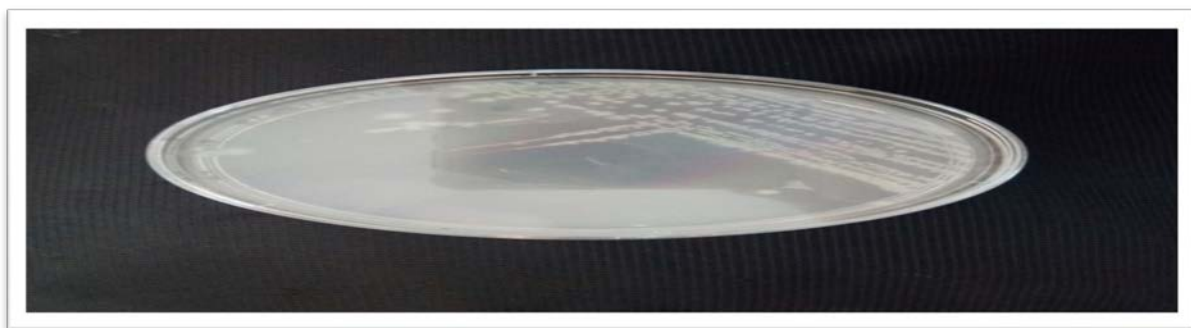


Figure.13 : La morphologie des colonies d'isolats.

IX. Examen microscopique :

Basé sur la morphologie des cellules bactériennes et leur mode d'association observés par microscope optique.

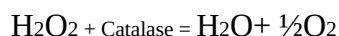
IX. 1-Coloration de gram :

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de cristal; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de lugol, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%, pendant 15 à 30 secondes puis est rincé à l'eau distillée. Ensuite le frottis est coloré par la fushine pendant 10 à 30 secondes et après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec bunsen et on l'examine à l'objectif (X 100) à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2007**).

X. Identification biochimique :

X.1- Test de catalase :

Cette enzyme permet la dégradation du H_2O_2 qui résulte de l'oxydation par l'oxygène de l'air :



Cette réaction est mise en évidence simplement par contact de la culture avec une solution fraîche de H_2O_2 à 10 volumes : une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon de culture. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène: le test catalase est positif et s'il n'y a pas de bulles: le test catalase est négatif. (**Tankeshwar, 2013**).

X.2- Identification par galerie API 20 E :

X.2.1. Principe :

La galerie API 20^e (Bio Mérieux) (**figure.14**) est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autre bacilles ; elle comporte 20 micro tube contenant des substrats déshydratés, et permet aussi la réalisation de tests en anaérobiose (ajout de paraffine). L'utilisation de galeries miniaturisées prêtes à l'emploi ont permis l'identification de bacilles à Gram positif (API 20 NE, API 20 E, bio Mérieux sa).



Figure .14 : Galerie API 20 E.

X.2.2. Préparation de l'inoculum :

- A l'aide d'une pipete prélever une colonie de 24h bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne dans 5 ml de l'eau physiologique stérile puis homogénéiser la suspension vortex.

X.2.3. Inoculation de la galerie :

- Homogénéiser la suspension bactérienne.
- Pour les tests CIT, VP, GEL, remplir tubes et cupules.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes.

- Recouvrir les tests ODC, ADH, LDC, H₂S, URE avec 2 gouttes d'huile de paraffine.
- Mettre le couvercle de la galerie.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

CHAPITRE IV

Résultats et discussion

I. La mesure de la turbidité :

On utilise un spectrophotomètre (La mesure de la densité optique) pour mesurer cette turbidité. Dans des conditions techniques précises.

Tableau 01 : les résultats de test de turbidité.

Le milieu	DO
Témoin	0.060
A1	0.25
B1	0.91

II. Test mécanique :

Le poids sec de la matière en plastique au début et à la fin de l'incubation a été incluse dans la tableau suivant :

Tableau 02 : la biodégradation de la matière en plastique au cours de 60 jours.

	Plastique utilisé	Le poids net	Après 30jour.	Après 60 jours.
Témoin	B	5.150g	5.150g	5.150g
	GC	9.269g	9.269g	9.269g
	S	1.266g	1.266g	1.266g
	GB	1.963g	1.963g	1.963g
1A	B	5.478g	5.478g	5.478g
	G.C	9.475g	8.840g	8.830g
	S	1.263g	1.263g	1.263g
	GB	1.943g	1.942g	1.940g
	B	5.624g	5.478g	5.478g

1B	G.C	9.320g	9.320g	9.289g
	S	1.259g	1.259g	1.259g
	GB	1.818g	1.816g	1.815g
2A	B	6.007g	6.005g	6.002g
	GC	9.775g	9.771g	9.770g
	S	1.260g	1.260g	1.260g
	GB	1.728g	1.727g	1.723g
2B	B	5.689g	5.688g	5.685g
	GC	7.977g	7.975g	7.974g
	S	1.264g	1.264g	1.264g
	GB	2.209g	2.209g	2.208g
3A	B	6.316g	6.316g	6.312g
	GC	7.474g	7.468g	7.465g
	S	1.263g	1.263g	1.263g
	GB	1.928g	1.926g	1.925g
3B	B	5.119g	5.119g	5.118g
	GC	8.200g	8.190g	8.185g
	S	1.266g	1.266g	1.266g
	GB	2.093g	2.068g	2.066g

B : bouteille de boisson gazeuse en plastique.

GC : gobelet coloré en plastique.

S : sachet de congélation.

GB : gobelet blanc en plastique.

Tableau N° 03: la moyenne des valeur de poids .

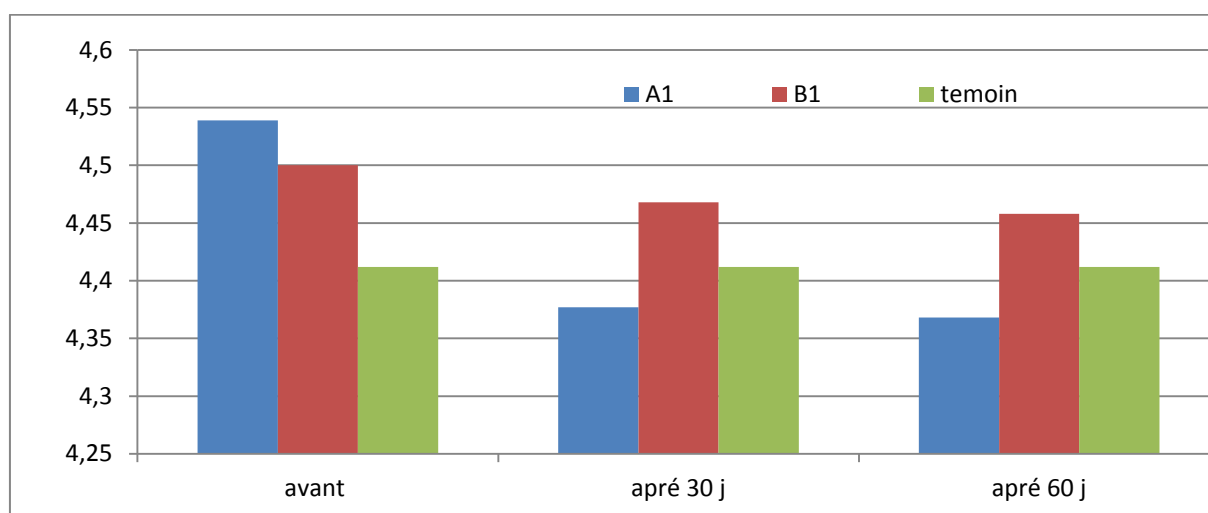
	avant biodégradation	après 30 j	après 60 j
A1	4,539	4,377	4,368
B1	4,5	4,468	4,458
Temoin	4,412	4,412	4,412

Méthode de calcul :

A1(avant biodégradation)= $5.478+9.475+1.263+1.943/4 = 4.539$

A1 (Après 30 j)= $5.478+08.840+1.263+1.942/4=4.377$

A1 (Après 60 j)= $5.478+8.830+1.263+1.940=4.368$

**Figure .15 :** changement dans le poids en plastique au cours de temps.**Tableau 03 :** les changements physiques des plastiques.

	Flexion				Réfraction				Blanc sur les cotés				Noir sur les coté			
	GC	GB	S	B	GC	GB	S	B	GC	GB	S	B	GC	GB	S	B
Témoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A1	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-

A2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
B1	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
B2	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
B3	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-

+ : présent.

- : absent.

Nos résultats montrent que les caractéristiques physiques des échantillons en plastique après incubation de deux mois ont été changées par :

-La formation de biofilm bactérien sur les bords.

-Flexion ou réfraction de la matière en plastique.



Figure.16 : La flexion de plastique.



Figure.17 : La réfraction de plastique.



Figure.18 : Biofilm bactérien blanchâtre.



Figure.19 : Biofilm bactérien noirâtre.

Selon (Costeron et al., 1995) et (Myszka et al., 2011) Dans la nature, la plupart des microorganismes vivent au sein de communautés microbiennes appelées biofilm. Les biofilm sont constitués de microorganismes adhérents à une surface inerte ou vivant.

on parle alors de communautés microbienne fixées ou biofilm. Ces microorganismes sont incorporés dans une matrice organique généralement constituée de polymère extracellulaire ou EPS («extrapolymeric substance») synthétisé par ces mêmes microorganismes.

III. Examen macroscopique :

L'étude macroscopique d'isolat inclut les différents caractères d'une colonie bactérienne telle que le diamètre la couleur la formeetc. Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 05 : les résultats de l'étude macroscopique des colonies isolées

Caractéristique des colonies	Souche bactérienne
Diamètre	3-5mm
Couleur	Crème
La forme	Ronde
Le relief	Plate
Le contour	Irrégulier
La surface	Lisse



Figure.20 : La morphologie d'une colonie bactérienne.

V. Examen microscopique

Le but de cette étude était porté sur le screening des bactéries du genre *Bacillus* qui présente la forme bacille à Gram positif sporulé, la coloration de Gram effectuée selon la technique de **Dussault (1955)** a révélé une dominance de 98% des isolats sont des courts bacilles a Gram positive, a extrémités arrondie et souvent disposés en paires ou en chainettes aussi (**figure .21**).



Figure.21 : Observation microscopique d'une souche G $\times 100$ après coloration de gram.

IV. Test de catalase :

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et en oxygène.

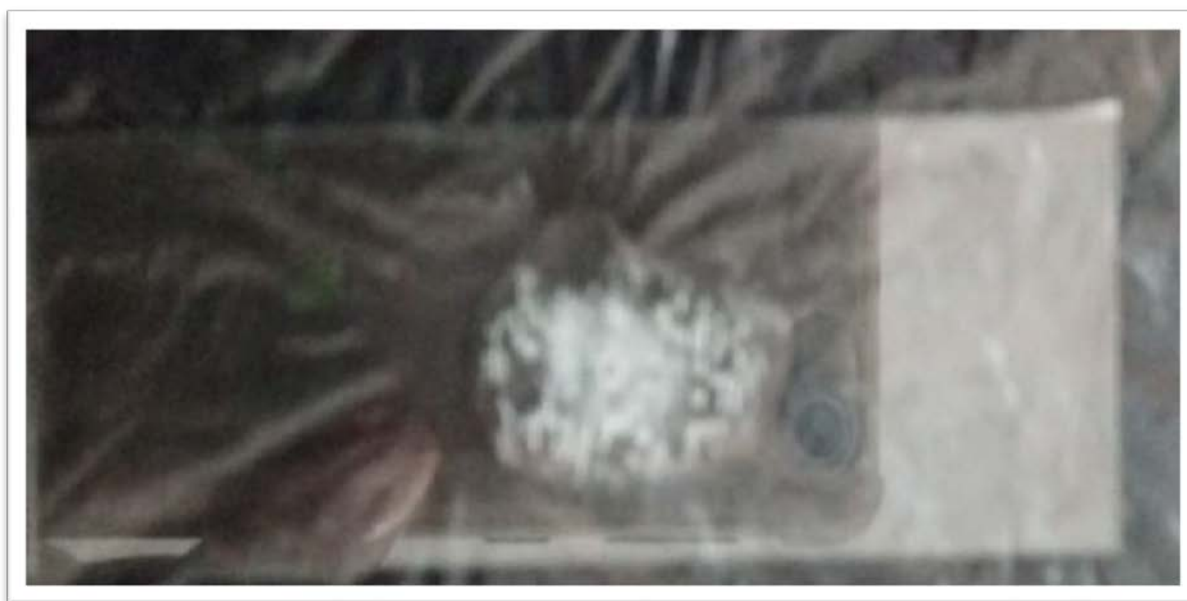


Figure.22 : Résultat positif pour le test catalase.

VI. Identification bactérienne (utilisation de la galerie biochimique API 20 E) :

Figure.23 : Galerie API 20 E témoin.



Figure.24 : Les résultats finals de galerie API 20 E.

Tableau .06 : Les résultats de galerie API 20 E.

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2O	URE	TDA	IND	VP
+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	+	+	+/-	-	+/-	+/-	+	+

Comparaissant de notre résultat avec les travaux réalisés par **Guy Leyral, Jean-Noël Joffin (1998)**, on conclue que notre souche étudiée **Bacillus megaterium**.

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2O	URE	TDA	IND	VP
	83	0	0	5	77	0	0	0	0	88
	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
	77	99	99	99	50	1	99	50	99	99
	+	+	+	+	+/-	-	+	+/-	+	+

Conclusion

La plupart des plastiques et des polymères synthétiques actuels sont issus de la pétrochimie. Etant donné leur longue durée de vie dans la nature, les matières plastiques traditionnelles, abandonnées ça et là, constituent une source importante de pollution pour l'environnement et représentent une menace potentielle pour la faune. Avec la mise en place de nombreuses normes environnementales, de plus en plus d'industriels de la chimie s'intéressent au développement de films polymères à partir de matières premières végétales. Malgré leur coût supérieur aux produits d'origine pétrochimique et le « lobbying » exercé par les industries pétrolières, les films plastiques incorporant des matières végétales constituent un marché de plus en plus porteur. Les orientations actuelles de la recherche en polymères et du marché des plastiques indiquent un fort accroissement du développement de produits polymères biodégradables à durée de vie pré-définie. La biomasse utilisée en tant que matière première (recoltes) est renouvelable et apparaît donc comme une solution clé. En effet, les ressources végétales se révèlent extrêmement prometteuses en tant que matières premières : non seulement elles sont moins coûteuses, mais leur utilisation apporte, de surcroît, une solution à un des problèmes de l'environnement et de nouveaux débouchés potentiels à certains produits issus de l'agriculture. Cela a donné lieu à une recherche importante qui a conduit à certaines innovations axées essentiellement autour de deux thèmes, à savoir : l'isolement de nouveaux systèmes bactériens pouvant transformer des substrats bon marché et le remplacement des polymères non-dégradables en milieu naturel par des plastiques biodégradables.

Références bibliographiques

Augusta J., Müller R.-J., Widdecke H., 1993. A rapid evaluation plate-test for the biodegradability of plastics, *Applied microbiology and biotechnology* 39, p. 673-678.

Badis A., LAOUABDIA-SELLAMI N., GUETARNI D. KIHAL M. et OUZROUT R 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales ‘arabia et kabyle’ *Science et technologie* 23,30-37

Battersby N. S., Fieldwick P. A., Ablitt T., Lee S. A., Moys G. R., 1994. The interpretation of CEC L-33-T-82 biodegradability data, *Chemosphere* 28, p. 787-800.

Bode H. B., Kerkhoff K., Jendrossek D., 2001. Bacterial degradation of natural and synthetic rubber, *Biomacromolecules* 2 (1), p. 295-303.

Buchanan C. M., Gardner R. M., Komarek, R. J. 1993. Aerobic biodegradation of cellulose acetate, *Journal of applied polymer science* 47, p. 1709-1719.

Calmon-Decriaud A., Bellon-Maurel V., Silvestre F., 1998. Standard methods for testing the aerobic biodegradation of polymeric materials. Review and perspectives, *Advances in polymer science*, volume 135, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p.207-226.

Cantor, K. et Watts, P. 2011. *Plastics Materials*. In Kutz, M., *Applied lastics Engineering Handbook: Processing and Materials* (chap. 1, p. 3-5). Oxford, Elsevier. (Collection PDL Handbook Series).

Cap Sciences (2006). Différents types de matières plastiques. In Cap Sciences. *Espace pédagogique*. pdf (Page consultée le 1er février 2013). http://www.cap-sciences.net/upload/differents_plastiques.

Carrega, M. (2009). *Matières plastiques*. Paris, Dunod : L’usine nouvelle, 241 p.

Chemistry Encyclopedia. 2007. Plastic. In Chemistry Daily. *Chemistry – Plastic*. http://www.chemistrydaily.com/chemistry/Plastic#Price_and_the_future

Références bibliographiques

Chiellini E., Corti A., Swift G., 2003 a. Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes, *Polymer degradation and stability* 81, p. 341-351.

Conseil canadien sectoriel des plastiques (CCSP) (2009b). Initiation aux plastiques. *In* Le Conseil canadien sectoriel des plastiques. *Initiation aux plastiques*. http://www.careersinplastics.ca/pages/an_introduction_to_plastics/index_fr.shtml (Page consultée le 1er février 2013).

Costerton, J. W. (2007). *The biofilm primer* (Vol. 1). Springer.

Dellarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation. France. Lavoisier.

Demarthon F., 2004. Une perle de bactérie, Info Science Actualités, (site :http://www.infoscience.fr/articles/articles_aff).

DIN (Deutsches Institut für Normung) 54900, (1998). Testing of the compostability of polymeric materials, German standard DIN V, part 1-3.

Enoki M., Doi Y., Iwata T., (2003). Oxidative degradation of cis- and trans-1,4-polyisoprenes and vulcanized natural rubber with enzyme-mediator systems, *Biomacromolecules* 4 (2), p. 314-320.

Fare S., Petrini P., Motta A., Cigada A., Tanzi M.C., (1999). Synergistic effects of oxidative environments and mechanical stress on in vitro stability of polyetherurethanes and polycarbonateurethanes, *Journal of biomedical materials research* 45 (1), p. 62-74.

Feuilloley P., (1999). Un label européen de biodégradabilité ?, *Biofutur* n°193, p. 19-21.

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

Références bibliographiques

- Gu J.-D., 2003 b.** Microbial deterioration of synthetic and biological polymers used in engineering and construction, In: A. Steinbüchel, ed. Biopolymers, volume 10: general aspects and special applications, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, p. 97-138.
- Gu J.-D., Ford T. E., Mitchell R., (2000).** Microbial degradation of materials : general processes, Uhlig's corrosion handbook, second edition, R. Winston Revie editor, p. 349-365.
- Gübitz G. M., Paulo A. C., (2003).** New substrates for reliable enzymes: enzymatic modification of polymers, Current opinion in biotechnology 14 (6), p. 577-582.
- Guy Leyral, Jean-Noël Joffin ; 1998.** sous la direction de Jean Figarella et Guy Leyral.- 2e éd.- Bordeaux : CRDP d'Aquitaine- 304 p. (Biologie technique)
- Helmenstine, A.-M. (2012).** Plastic Definition. In Chemistry About.com. *Chemistry*. <http://chemistry.about.com/od/chemistryglossary/g/Plastic-Definition.htm>
- Huneault, M. (2011).** Une industrie émergente : de la matière première aux plasturgistes et composteurs. *Colloque québécois sur les bioplastiques*, Sherbrooke, 2 juin 2011.
- ISO (International Standard Organisation) 472, 1988.** Plastics - Vocabulary,
- ISO 20200, 2004.** Plastics - Determination of the degree of disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test. Bilingual edition, Geneva.
- Johson J.L., Phelips C.F., C.F., Cumminus C.S., London J et Gasser F.(1980).** Taxonomy of lactobacillus group .international journal of sustematic bacteriologie 30 pp .53-68.
- Kaczmarek H., Świątek M., Kamińska A., 2004.** Modification of polystyrene and poly(vinyl chloride) for the purpose of obtaining packaging materials degradable in the natural environment, Polymer degradation and stability 83 (1), p. 35-45.

Références bibliographiques

- Koch, P. (2013).** Plastics. *In* Advameg. *Chemistry Explained : Foundations and Applications*. <http://www.chemistryexplained.com/Pl-Pr/Plastics.html>
- Lacoste J., Carlsson D. J., 1992.** Gamma-, photo-, and thermally-initiated oxidation of linear low density polyethylene: a quantitative comparison of oxidation products. *Journal of polymer science* 30 : 493–500.
- Lewis, H. et Stanley, H. (2012).** Complying with Regulations. *In* Verghese, K., Lewis, H. et Fitzpatrick, L., *Packaging for Sustainability* (chap. 4, p. 155-170). London, Springer.
- Lower, S. (2009).** Polymers and Plastics: an Introduction. *In* Chem1 Virtual Textbook. *States of Matter*. <http://www.chem1.com/acad/webtext/states/polymers.html>
- Lunt, J. (2009).** The Evolving Bioplastics Landscape for Fibers & Films. *In* Slide Share. <http://fr.slideshare.net/jimlunt/microsoft-power-point-antec>
- Mossman, S. (2008).** *Fantastic Plastic*. Londres, Black Dog Publishing, 185 pages.
- Müller R. J., Augusta J., Walter T., Widdecke H., 1994.** The development and modification of some special test methods and the progress in standardisation of test methods in Germany. *In*: Doi, Y. and Fukuda, K. (eds.) *Biodegradable plastics and polymers*. Elsevier, New York, p. 237-249.
- Müller R. J., Kleeberg I., Deckwer W.-D., 2001.** Biodegradation of polyesters containing aromatic constituents, *Journal of biotechnology* 86, p. 87-95.
- Müller R.-J., 2004.** Chapitre 12-Biodegradability of Polymers: Regulations and Methods for Testing, General aspects and special applications, *Biopolymers*, Volume 10, Volume Editor: Alexander Steinbüchel, Wiley-VCH, p. 365-374.
- Myszka, K., & Czaczyk, K. (2011).** Bacterial biofilms on food contact surfaces-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61(3), 173-180

Références bibliographiques

Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R., 2000. L'essentiel en microbiologie, chapitre D - La culture en laboratoire, Berti éditions, Port Royal Livres, Paris, p. 99-102.

Olivier, M. (2013). Notions de base sur les matières plastiques

Palmisano A.C., Pettigrew C.A., 1992. Biodegradability of plastics, Bioscience 42(9), p.680-685.

Plastics Historical Society (PHS) (2010). An Introduction to Plastics. *In* Plastics Historical Society

Platt, B. (2012). Sustainable Biomaterials: Criteria, Benefits, Challenges & Market-Based Tools.

Prescott, Harley, Klein, 1995. Microbiologie, De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, 1014 pages.

R.2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et Kabyle " Science et technologie 23,30-37.

Ratajska M., Boryniec S., 1998. Physical and chemical aspects of biodegradation of natural polymers, Reactive and functional polymers 38 (1), p. 35-49.

Rey, A. (2007). *Le nouveau petit Robert de la langue française 2007.* Paris, Dictionnaires Le Robert. 2837 p.

Rey. A. (1992). *Dictionnaire historique de la langue française – Tome 2.* Paris, Dictionnaires Le Robert. 2383 p.

Reyne, M. (1998). *Les plastiques.* Paris, PUF. 125 p.

San Diego Plastics (SDP) (2010). Plastics Definitions and Terms. *In* San Diego Plastics. *Plastics Definitions and Terms.*

Références bibliographiques

- Schelgel H. G., Jannasch H. W., 1992.** Prokaryotes and their habitats. In: Balows A., Truper H.G., Dworken M., Harder W., Scheifer K.-H. editors. The prokaryotes. New York: Springer Verlag, p. 75-125.
- Shang J., Chai M., Zhu Y., 2003.** Photocatalytic degradation of polystyrene plastic under fluorescent light, *Environmental science and technology* 37 (19), p. 4494-4499.
- Swift G., 1992.** Biodegradability of polymers in the environment: complexities and significance of definitions and measurements, *FEMS Microbiology Letters* 103 (2-4), p. 339-345.
- Tankeshwar A.(2013).** Catalase test: principle, uses, procedure and results. Biochemical Tests for Gram Negative Bacteria. <http://www.microbeonline.com>.
- Thielen, (2012).** Biopolymers. In Dunford, N. T., Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing (chap. 11, p. 267-293). Stillwater, John Wiley & Sons.
- Tolinsky, M. (2010).** *Plastics and Sustainability*. Salem, Scrivener Publishing, 269 p.
- Tolinsky, M. (2010).** *Plastics and Sustainability*. Salem, Scrivener Publishing, 269 p.
- Vert M., Feijen J., Albertsson A., Scott G., Chiellini E., 1992.** Biodegradable Polymers and Plastics, The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Weiland M., Daro A., David C, 1995.** Biodegradation of thermally oxidized polyethylene, *Polymer degradation and stability* 48 (2), p. 275-289.
- Yabannavar A. V., Bartha R., 1994.** Methods for assessment of biodegradability of plastic films in soil, *Applied and environmental microbiology* 60, p. 3608-3614.

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
- Agar18g
- Ph.....7

Milieu minérale :

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

- 2.5g.....KH₂ PO₄
- 2.5g.....K₂ HPO₄
- 2.5gNH₄ NO₃
- 0.5gMGSO₄ 7H₂O
- 0.125g.....Fe Cl₃
- 0.05.....Ca Cl₂ 2H₂O
- Ph.....7

Annexe



Boucal en verre



Bouillon nutritive



Peroxyde d'hydrogène



Centrifugeuse

Annexe



Incubateur



Plaque chauffante

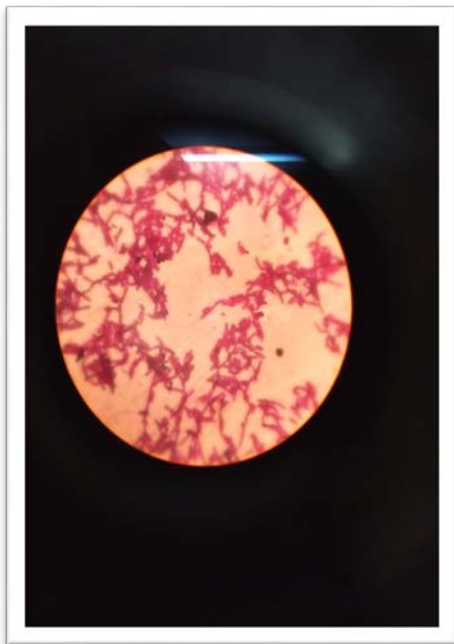


Agitateur

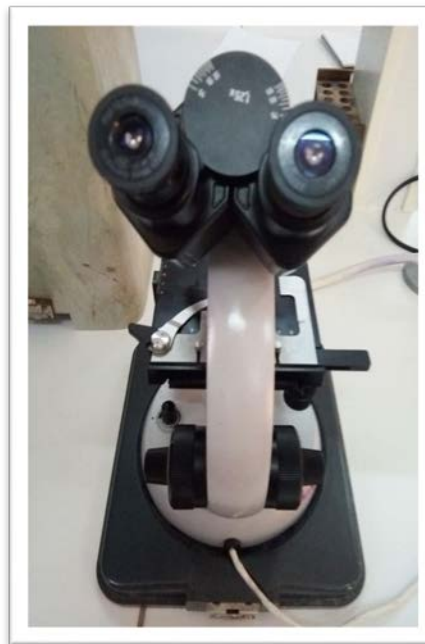


Balance ordinaire

Annexe



Résultat de test de gram



Microscope optique



Séchage du plastique de l'eau