

Examinatrice : M^{elle} AKROUM S.

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة محمد الصادق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم العدد : 1454



Université de Jijel
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme des études
Supérieures (D.E.S.) En Biologie
Option : Microbiologie

THEME

LES BIOPOLYMERES MICROBIENS: PRODUCTION
ET APPLICATIONS

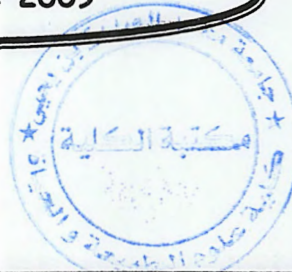
Les membres de jury :

- Examinatrice : M^{elle} AKROUM S.
- Encadreur: Dr. SIFOUR M^{ed}.

Réalisé par :

ALIOUA ARDJOUNA
MEKHALFA WIDAD
MEDJADEBA HANANE

Promotion: 2009



II.3.1.2 Source d'azote	10
II.3.1.3 Autres sources	11
II.3.2 Effet des conditions de culture sur la production	11
II.3.2.1 Le pH	11
II.3.2.2 La température	11
II.3.2.3 L'aération	12
II.3.2.4 L'agitation	12
II.3.2.5 Le temps d'incubation	12
II.4 L'extraction et la purification des biopolymères microbiens	15
II.4.1 Extraction physique	15
II.4.2 Extraction chimique	15
II.5 Exemple de la production d'un biopolymères (EPS des bactéries)	17
II.5.1 La production	17
II.5.2. La purification	17
III. Les applications des biopolymères microbiens	
III.1 L'intérêt de l'utilisation des biopolymères microbiens	18
III.2 Les applications	18
III.2.1 En médecine et pharmacie	18
III.2.2 En agriculture	19
III.2.3 En emballage	20
III.2.4 En alimentaire	21
III.2.5 Dans la récupération du pétrole	22
III.2.6 En cosmétique	22
III.2.7 Autres applications	23
Conclusion	24
Références	25

Liste des Tableaux

<i>Tableau 1</i> : Classification des biopolymères	03
<i>Tableau 2</i> : Autre biopolymères microbiens	09
<i>Tableau 3</i> : Les conditions de la production de quelques biopolymères microbiens.....	13
<i>Tableau 4</i> : La purification de quelque biopolymères	16
<i>Tableau 5</i> : Propriétés des biopolymères dans les applications emballages.....	21

Liste des figures

<i>Fig.1</i> : La structure chimique de xanthane.....	05
<i>Fig.2</i> : La structure chimique de dextrane	06
<i>Fig.3</i> : La structure chimique de la cellulose.....	06
<i>Fig.4</i> : la structure chimique du curdlane	07
<i>Fig.5</i> : La structure chimique du pullulane.....	07
<i>Fig. 6</i> : La structure chimique de PHA	08
<i>Fig.7</i> : La production d'un EPS dans un fermenteur de 2 litre	17

Abréviation

EPS : Exopolysaccharide

PHA : Polyhydroxyalkanoates

C : carbone

N : azote

vvm : volume d'air par volume de culture par minute

rpm : tours par minute

T : température

Su : Substrat

J : jour

H : heure

PHB: Polyhydroxybutyrates



INTRODUCTION

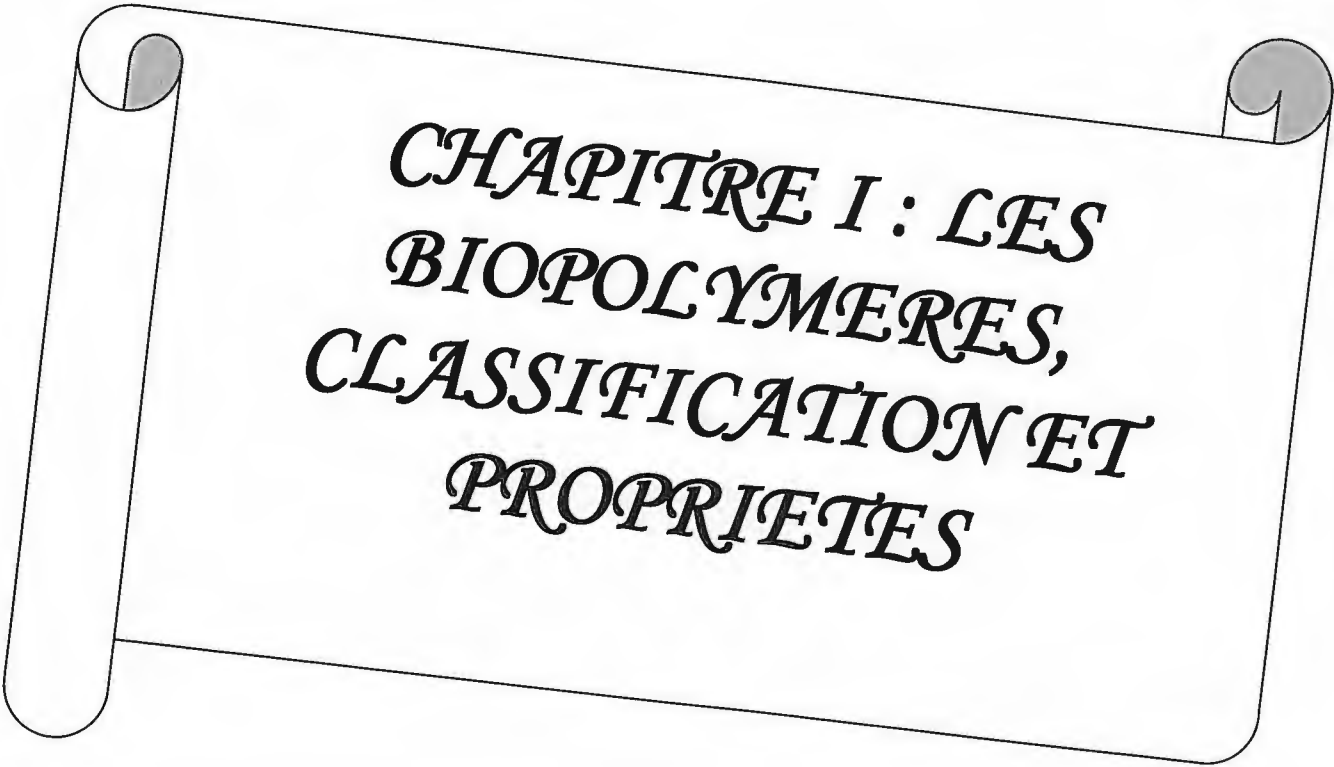
Introduction

L'utilisation des polymères synthétiques est devenue une pratique commune dans notre vie quotidienne, des sacs plastiques, des bouteilles..., d'une part ils rendent la vie facile, mais d'une autre part, ils sont responsables d'une grande contribution à la pollution environnementale parce que ces polymères sont non dégradables, et restent dans l'environnement. Actuellement, les scientifiques sont concentrés sur la mise en place d'une source alternative telle que les biopolymères (**Jamil et Ahmed, 2008**).

Pendant les dernières années, une série de biopolymères sont devenus disponibles pour l'usage dans beaucoup d'applications qui sont non seulement compatibles avec le style de vie humain mais ils sont également amis à l'environnement. Vu les connaissances croissantes sur la biosynthèse des biopolymères de la fermentation, et le développement de processus avancés, il est devenu possible de produire un nombre de biopolymères, dans des quantités proportionnelles, à partir de ressources renouvelables. Les sous-produits agricoles et de laiterie peuvent être employés comme substrats pour la production de ces polymères par exemple la cellulose et l'amidon sont obtenus directement à partir des matières végétales (**Lee et al., 2004**), le collagène et la chitine à partir des animaux (**Maritini et Seiller, 1999**). Par conséquent, les biopolymères microbiens sont produits par la fermentation pour limiter l'épuisement des ressources naturelles et la fourniture des matières brutes (**Prescott et al., 2003**).

Dans la nature, les biopolymères jouent souvent un rôle important dans la viabilité des cellules par la conservation de l'information génétique, par le stockage des macromolécules à base de carbone, par la production d'énergie ou la puissance de réduction et la défense d'une organisation contre l'attaque à partir de facteurs environnementaux dangereux. Les biopolymères sont les meilleurs que les polymères synthétiques à cause de leurs propriétés qui incluent la biocompatibilité, la biodégradabilité et la compatibilité humaine. Ils peuvent être classés selon les monomères qui les constituent et incluent les divers polysaccharides, polyamides, polyesters,...

Aujourd'hui certains de ces biopolymères sont produits par la fermentation microbienne et sont employés commercialement dans une large étendue des applications comme l'industrie alimentaire, pharmaceutiques, plastiques et agriculture (**Lee et al., 2004**).

A hand-drawn scroll with a title. The scroll is tilted and has two small circles at the top corners representing the ends of the scroll. The text is written in a stylized, bold, serif font.

**CHAPITRE I : LES
BIOPOLYMERES,
CLASSIFICATION ET
PROPRIETES**

I. Biopolymères, classification et propriétés

I.1 Définition des Biopolymères

Les Biopolymères sont des macromolécules synthétisés soit par voie chimique à partir des monomères naturels ou identiques aux naturels (**Quq et al. ,1997**), soit synthétisés par les êtres vivants: végétaux, animaux et microorganismes. La famille la plus importante est celle des polysaccharides comme l'amidon dont les sources principales sont le maïs, le blé et la pomme de terre, la cellulose (papier). Une autre famille est constituée par les protéines qui sont issus des plantes (soja) ou des tissus animaux (collagène, gélatine) ou de produits animaux (caséine) (**site web1**).

I. 2 Classification des Biopolymères :

Les Biopolymères peuvent être dérivés des systèmes microbiens, extrait à partir des organismes comme par exemple les plantes, ou synthétisés chimiquement par la construction biologique de bases (**site web 2**). On peut distinguer plusieurs types des Biopolymères (**Tableau 1**).

I. 2.1 polysaccharides

Les polysaccharides peuvent être définis comme des macromolécules formés de l'enchaînement de motifs similaire en l'occurrence de glucides appelés couramment sucres ou oses (**Guezennec, 2004**). Ils sont soit d'origine bactérienne comme le xanthane, le dextrane, ou fongique comme le pullulane, l'elsinane, végétal tel que l'amidon, cellulose, agar ou animal comme la chitine et l'acides hyaluronique (**site web 2**).

I. 2.2 protéines :

Les protéines sont des composés organiques de haut poids moléculaire (**Scriban, 1999**), elles sont formées de longues chaînes polypeptidiques. Maintenant la séquence des aminoacides de ces chaînes peut être déterminée. Ceci constitue la structure primaire des protéines (**Weil, 1995**).

I. 2.3 Lipides :

Les lipides forment un groupe très hétérogène de composés dont les structures sont différentes, et que l'on a réunis en raison de leur insolubilité dans l'eau et solubilité dans les solvants organiques (éther, acétones, mélange chloroforme-alcool,...etc.) (**Weil, 2001**). Ils sont constitués d'acide gras associés par une liaison ester a un sucre généralement du glycérol (**Perry et al., 2004**).

I.2.4 Polyphénols :

Les polyphénols constituents une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal (**Site web3**); contribuent à l'humification: préservent des protéines de la dégradation rapide. Se recombinent avec des squelettes azotés (**Bugnicourt, 1995**).

Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structure plus ou moins complexe généralement de haut poids moléculaire .Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes. (**Site web 3**).

I.2.5 Polyesters :

Le Polyester est un copolymère résultant de la condensation de polyacides avec des alcools non saturés ou avec des glycérols (Alonso et al., 2007).

I. 2.6 polyamides :

Le polyamide est un copolymère résultant de la polycondensation soit d'un diacide et d'une diamine, soit d'un aminoacide sur lui-même (Alonso et al., 2007).

Tableau 01 : Classification de quelque Biopolymères (site web 2; Maritini et Seiller, 1999)

Biopolymères	
<p><u>Polyesters :</u> Polyhydroxyalkanoate Acide polyglutamique</p> <p><u>Protéines :</u> Soie Collagène / Gélatine Elastine Resiline Adhésines Acide polyamine Soja, gluten de blé, caséine Sérum albumine</p> <p><u>Lipides :</u> Acetoglycerides Acide linoléique</p> <p><u>Polyphenoles :</u> Lignine Tannins Acide humique</p> <p><u>Polysaccharides (animale) :</u> Chitine/chitosane Acide hyaluronique</p>	<p><u>Polysaccharides (fongiques):</u> Pullulane Elsinane Glucane de levure</p> <p><u>Polysaccharides (bactériens) :</u> Xanthane Dextrane Gellane Levane Curdlane Cellulose (bactériens) Alginate (bactériens) Polygalactosamine</p> <p><u>Polysaccharides (plantes) :</u> Amidon Cellulose Agar Alginate Carraghénane Pectine</p>

I. 3 Les propriétés des Biopolymères

Les Biopolymères ont reçu beaucoup d'attention due à leurs propriétés physico-chimiques, biodégradabilité et biocompatibilité qui les rendent le candidat idéal pour les applications industrielles et médicales (Rivera et al., 2007).

I .3.1 La biodégradabilité :

Les polymères biodégradables ont été le sujet de plusieurs recherches (Bordes et al., 2009). Le mot biodégradation peut se définir de trois façons au moins : un changement mineur dans une molécule organique laissant presque intacte la structure principale, une fragmentation d'une molécule organique complexe de façons telle que les fragments puissent être réassemblés pour revenir à la structure initiale, et une minéralisation complète (Prescott et al., 2003). Un polymère biodégradable est un polymère qui est digéré entièrement par des microorganismes définis comme des bactéries, des champignons ou des algues. C'est un processus qui entraîne une modification de structure chimique d'un matériau plastique suite à une activité biologique (les enzymes secrétés par les microorganismes attaquent les chaînes macromoléculaires du matériau et les décomposent en élément de masse plus faible) et qui conduit à la production des métabolites finaux (Site web 4). Il en résulte alors la formation de CO₂, H₂O en présence d'oxygène (ou la formation de CO₂, H₂O, CH₄ en anaérobie) et une nouvelle biomasse (humus). La biodégradabilité de la plupart des Biopolymères est due à la présence des liaisons facilement clivable comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation des molécules simples et des fragments de plus petit taille (Rabetafika et al., 2006).

I.3.2 La perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères :

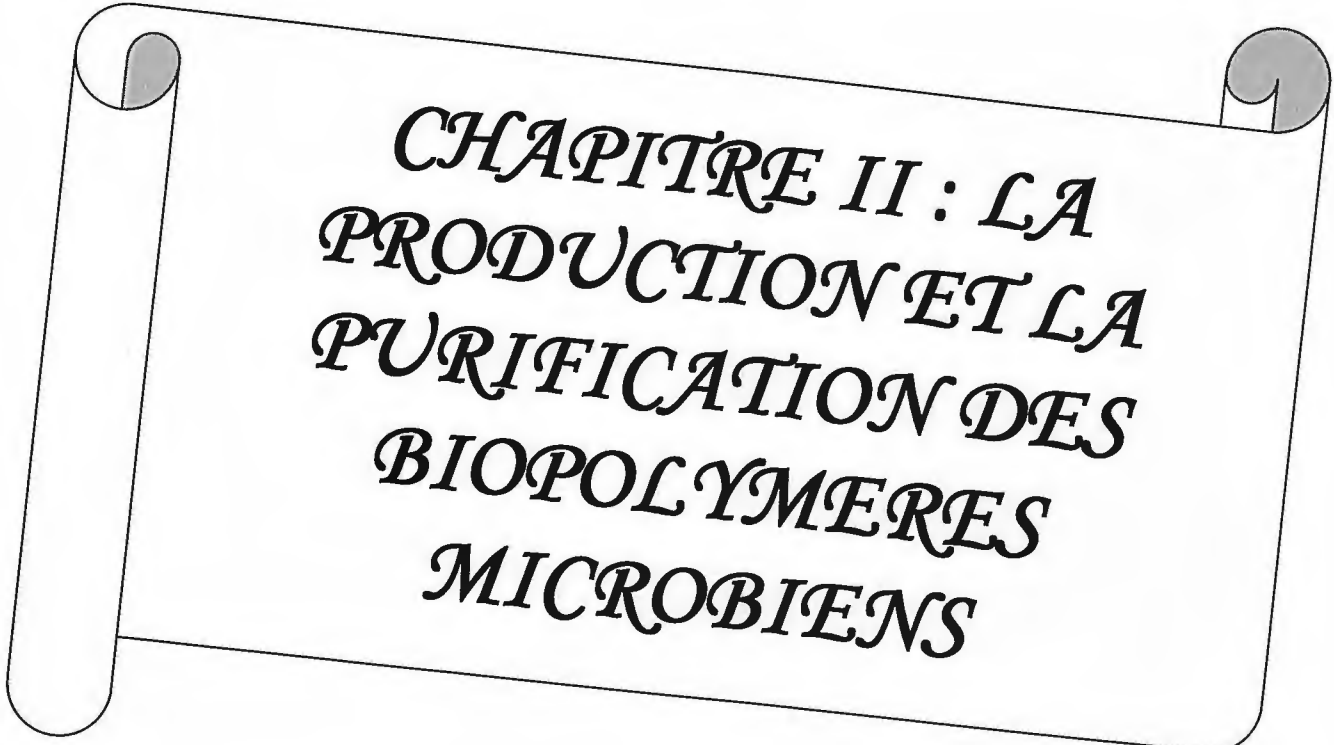
La plus part des Biopolymères comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence des fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui a une forte activité avec l'eau par formation des ponts hydrogène (Rabetafika et al., 2006).

I.3 .3 La biocompatibilité et biorésorbabilité :

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirable sur l'environnement biologique. En plus de la biocompatibilité, on recherche également des matériaux biorésorbable qui pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les Biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse et libèrent des molécules assimilables et non toxique (Rabetafika et al., 2006).

I.3.4 Propriétés chimiques :

La présence de fonctions chimiques sur la molécule leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules, la réactivité de ces molécules (les Biopolymères) est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement (Rabetafika et al., 2006).

A hand-drawn scroll with a title. The scroll is tilted and has a simple black outline. The top corners are rolled up, and the left side is also rolled up. The text is written in a bold, black, serif font, centered on the scroll.

**CHAPITRE II : LA
PRODUCTION ET LA
PURIFICATION DES
BIOPOLYMERES
MICROBIENS**

II. La production et la purification des biopolymères microbiens

II.1 Introduction

Les biopolymères (polysaccharides, polyesters et polyamides) sont naturellement produits par les microorganismes (Rehm, 2009) : les bactéries, les levures, et les champignons (Site web 2). Ces biopolymères sont présents soit au niveau de la paroi comme les lipopolysaccharides, soit secrétés à l'extérieur de la cellule comme les exopolysaccharides ou s'accumulent dans le cytoplasme (intracellulaire) comme les polyesters (Polyhydroxyalkanoate) (Guezennec, 2004).

II.2 Les biopolymères et leurs microorganismes producteurs

II.2.1 Les polysaccharides :

Il y a deux groupes de polysaccharide.

*les hétéropolysaccharides qui sont composés d'unités répétitives de 2 à 10 sucres de complexité variable. Ils représentent la très grande majorité des polysaccharides bactériens.

* les homopolysaccharides ou la chaîne du polymère se compose d'un seul type de sucre Ils représentent le grand nombre d'exopolysaccharides bactériens (EPS) (Petit, 2005).

II.2.1.1 Les hétéropolysaccharides :

1. La Gomme xanthane :

Le xanthane est obtenu par la fermentation aérobie de sucres par une bactérie *Xanthomonas campestris*. La chaîne principale est constituée d'unités β -D-glucose liées une fois sur deux par un acide glucuronique lui-même lié à une unité mannose, les unités mannoses terminales peuvent être porteuses d'un groupement pyruvates et les unités mannoses liées à la chaîne principale être acétylées (Fig.1) (Maritini et Seiller, 1999).

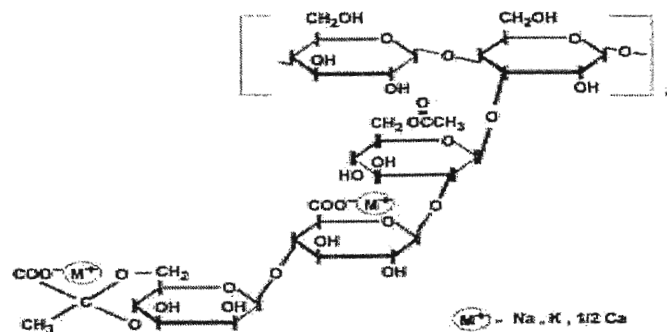


Fig. 1 : La structure chimique de xanthane (Born K. et al., 2004)

2. La gomme gellane :

Biosynthétisée par *Sphingomonas paucimobilis* (Guezennec, 2004), et *Sphingomonas elodea* autre fois appelée *Pseudomonas elodea*. Les sucres monomères constituant la gomme gellane sont le glucose, l'acide gluconique et le rhamnose dans les proportions 2 : 1 : 2. Ils sont liés entre eux pour donner une structure primaire d'une chaîne tetrasaccharidique linéaire répétitive (Moll et Moll, 1998).

3. Les algines :

Les algines traditionnellement extraits des algues brunes peuvent également être produits par des bactéries comme *Azotobacter vinelandii* et *Pseudomonas aeruginosa* (Petit, 2005).

L'alginate est un copolymère linéaire de β -D-acide manoronique (M) et leur épimère α -L-acide glucuronique (G) au niveau de C₅ (Khanafari et Sepahei, 2007).

II.2.1.2 Les homopolysaccharides :

1. Les dextrans :

Les dextrans sont produits par des bactéries *Acetobacter*, *Streptococcus* (Scriban, 1999). *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc dextranicum* (Moll et Moll, 1998). Il s'agit de polysaccharides de degré de polymérisation élevé Formés de résidus glucose liés en α (1-6) avec des branchements en α (1-4) ou α (1-3) (Fig.2) (Scriban, 1999).

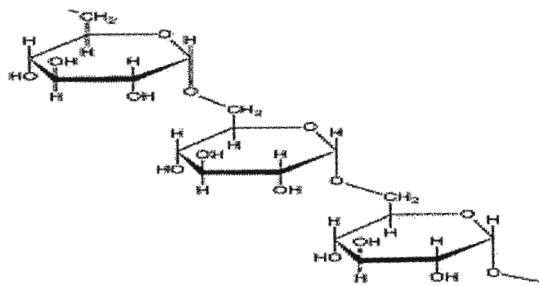


Fig. 2 : La structure chimique de dextrane (Moll et Moll, 1998).

2. La cellulose :

La cellulose synthétisée par *Rhizobium*, *Agrobacterium Sarcina* (Bielecki et al., 2004) qui résulte de la condensation exclusivement linéaire d'unités D-pyranoglucose, liées entre elles par des liaisons β (1-4) (Fig.3), dont le degré de polymérisation peut aller jusqu'à 10000 (Linden et Lorient, 1994) .

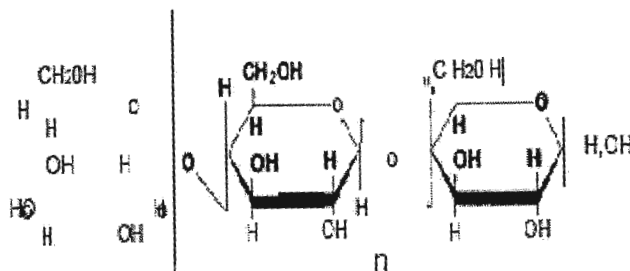


Fig. 3 : la structure chimique de la cellulose (Herdman, 1993).

3. Les levanes :

Les levanes sont métabolisable par diverses bactéries (*Azotobacter*, *Aerobacter* *Arthrobacter*, *Pseudomonas*,...), levures (*Kluyveromyces*) et moisissures (*Penicillium*). Il s'agit de polyfructosanes de haut poids moléculaires (10^8) formé de résidus fructose liées en β (2-6) avec des branchements en β (1-2) (Scriban, 1999).

4. Le curdlane :

Secrété par *Alcaligenes* sp (Lee, 2004), et *Agrobacterium radiobacter*. Ils sont des polyglucanes β (1-3) forment un gel en solution (Fig.4) (Petit, 2005).

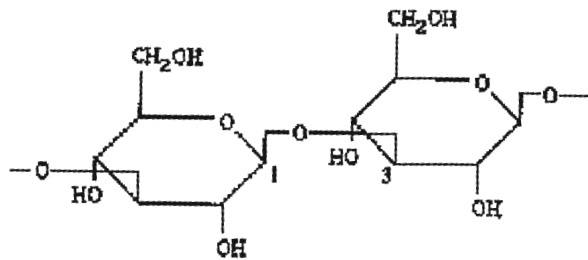


Fig. 4 : La structure chimique du curdlane (Lee, 2004).

5. Le pullulane :

Le pullulane est un polymère de maltotriose α (1-4) liés en α (1-6) (Fig.5) (Scriban, 1999), produit par *Aerobasidium pullulans* (Guezennec, 2004).

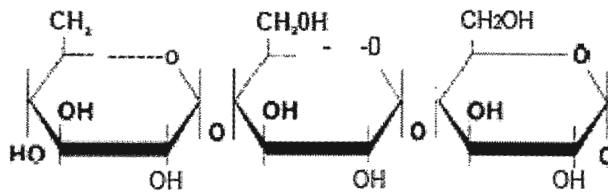


Fig. 5 : La structure chimique du pullulane (Herdman, 1993).

6. Le sclérogucane :

Il s'agit d'une famille de polysaccharides neutres produits par le champignon *Sclerotium glucanicum* (Schmidt, 1999). C'est un polymère de β (1-3) glucose avec ramification en β (1-6) (Scriban, 1999).

II.2.2 Les lipides :

Les lipides microbiens sont constitués essentiellement de glycérides, des triglycérides et des acides gras particuliers, ils peuvent être produits par divers microorganismes :

- a- Bactéries marines : (*Alteromonas*, *Shewanella*...) : acides gras polyinsaturés comme l'acide eicosapentaénoïque et l'acide docosahexaénoïque.
- b- Levures : lipides de type beurre de cacao (CBE) riche en acides stérique oléique et palmitique.
- c- Moisissures : acide- γ -linoléique par *Mucor circinelloides*, *Mucor javanicus*... acide dihamo- γ -linoléique par *Conidobolus manodes* (Scriban, 1999).

II.2.3 Les polyamides :

II.2.3.1 L'acide polyglutamique :

Le polyglutamate est l'un des polyamides produits naturellement et qui ne sont pas synthétisés par les protéines ribosomiques, ce polymère extracellulaire visqueux est produit par plusieurs *Bacillus* sp., il est complètement biodégradable, soluble dans l'eau et non toxique pour le corps humain (Berekaa et al., 2006).

II.2.4 Les polyesters :

II.2.4.1 Les Polyhydroxyalkanoates (PHA_s) :

Les PHA_s sont des polyesters biologiques qui sont non seulement produits et accumulés par des microorganismes, mais peuvent également être biodégradables par d'autres microorganismes différents. PHA_s sont une classe des polyesters linéaires (Fig.6) qui s'accumulent dans les cellules bactériennes, où ils forment les inclusions ou les granules insolubles (Eggink et al., 1996). Cette famille comporte principalement un homopolymère polyhydroxybutyrate (PHB) et différents copolymères (Avérous, 2004).

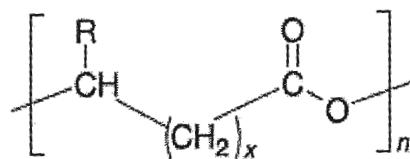


Fig. 6 : La structure chimique de PHA (Eggink et al., 1996).

En plus de ces biopolymères microbiens, il y a d'autres qu'on a les résumés dans le tableau suivant (Tableau 2).

Tableau 2 : Autre biopolymères microbiens

Biopolymères	Microorganismes producteurs	Références
Polyesters	<i>Pseudomonas oléovorans</i>	Scriban, 1999
Succinoglycane	<i>Agrobacterium radiobacter</i> <i>Agrobacterium temefaciens</i> <i>Erwinia herbicola</i>	Guezennec, 2004 Letisse, 2000 Letisse, 2000
Cyclodextrine	<i>Bacillus</i> sp.	Guezennec, 2004
Héparine	<i>Escherichia coli</i> serotype K4 et K5	
Wellane	<i>Alcaligenes</i> sp.	Letisse, 2000
Méthylane	<i>Methylophilus</i> sp.	
Rhamsane	<i>Alcaligenes</i> sp.	
Acide hyaluronique	<i>Escherichia coli</i> K5et K4	
EPS GY 785	<i>Alteromonas infermus</i>	Petit, 2005
EPS HE 800	<i>Vibrio diabolicus</i>	
EPS MS907	<i>Alteromonas macleordri</i>	
Polytrane	<i>Sclerotium gluconicum</i>	Schmidt, 1999
Chitosane	<i>Absidia blakesleeana</i> <i>Coerulea</i> <i>Mucorrouscii</i> <i>Gongronella batleri</i> <i>Phycomyces blakesleeanus</i>	Chellat, 1999

II.3 Les conditions de la production des biopolymères microbiens

Les microorganismes peuvent être cultivés dans des flacons agités ou des fermenteurs à agitation rotative selon les nécessités de la production (Prescott et al., 2003).

Pour produire un biopolymère il est nécessaire d'optimiser les conditions de fermentation comme le pH, la température, l'agitation,... mais aussi la composition du milieu de culture (source d'azote, de carbone, ...) (Petit, 2005) (Tableau 3).

II.3.1 L'effet du milieu de culture sur la production :

II.3.1.1 Source de carbone :

Le carbone est nécessaire à la formation du squelette de toutes les molécules organiques (Prescott, 2003), la plupart des microorganismes qui produisent les biopolymères utilisent des substances glucidiques comme source de carbone. *Pseudomonas atlantica* qui produit un EPS utilise le glucose avec une concentration de 2g/l (Hsieh et al., 1990). Pour déterminer la source de carbone convenable à la production d'exobiopolymère du *Paecilomyces tenuipes* C240, divers sources de carbone sont utilisées à des concentrations différentes, après cette optimisation le glucose c'est avéré la meilleure source pour cette production avec une concentration de 3 g/l (Xu et al., 2003). Le même résultat est obtenu, après l'optimisation des sources de carbone pour la production de polyglutamate par *Bacillus* sp mais avec une concentration de 20g/l (Berekaa et al., 2006), alors que le maltose est la meilleure source de carbone pour la production de EPS par *Paecilomyces japonica* dont la concentration est 30g/l (Tae et al., 2000), tandis que *Azotobacter chroococcum* qui produit l'alginate utilise un sucre alcoolique le mannitol agar (Khanafari et Sepahei, 2007) et *Cordyceps jiangxiensis* JXPJ0109 qui produit un EPS utilise 20g de maltose et 8g de glycérol (Xiao et al., 2004), le maltose et le sucrose sont des sources de carbone efficaces pour la production du curdlane par plusieurs espèces d'agrobactérie (Lee, 2004).

II.3.1.2 Source d'azote :

En plus de carbone l'azote est nécessaire à la synthèse des acides aminés, de certains glucides et lipides et d'autres substances (Prescott et al., 2003). Les microorganismes utilisent des sources organiques et inorganiques d'azote pour produire les biopolymères, *Azotobacter chroococcum* utilisent l'extrait de levure et NH_4NO_3 pour la production de l'alginate (Khanafari et Sepahei, 2007). Certains microorganismes utilisent des sources organiques comme *Paecilomyces japonica* utilise l'extrait de levure avec une concentration de 6g/l et le polypeptone 2g/l pour la production d'EPS (Tae et al., 2000). *Pseudomonas aeruginosa* CMG607w utilise 0,5g de tryptone pour la production de PHA (Jamil et Ahmed, 2008), *Cordyceps militaris* utilise 10g la farine de maïs pour produire EPS (Park et al., 2001), *Agrobacterium tumefaciens* utilise la lysine pour produire le succinoglycane (Stredansky et al., 1998) et *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* qui utilise la caséine pour produire l'EPS. (Bergmaier, 2002), d'autre microorganismes utilisent des sources inorganiques comme *Paecilomyces tenuipes* C240 qui utilise le KNO_3 avec une concentration de 0,4g/l pour produire un exobiopolymère (Xu et al., 2003) et *Bacillus* sp qui utilise $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ avec une concentration de 4g/l pour produire le polyglutamate (Berekaa et al., 2006).

Comme pour la plupart des polymères microbiens, le rapport carbone/azote (rapport C/N) est décrit comme un paramètre critique pour la production de xanthane, la limitation en azote en présence d'un excès de carbone (rapport C/N élevé) favorise la synthèse de polysaccharides (Letisse, 2000).

II.3.1.3 Autres sources :

La majorité des microorganismes utilisent des minéraux et des vitamines pour la production des biopolymères, comme les bactéries qui produisent les polyesters. La présence de ces éléments comme le phosphate, le sulfate ou même certaines vitamines ou oligo-élément peuvent favoriser cette synthèse (**Guezennec, 2004**).

C'est le même cas pour *Lactobacillus casei* CAL7 où la production d'EPS a doublé après l'ajout de Mn^{+2} dans un milieu défini.

Par contre pour *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* NcFB2772 l'omission de plusieurs vitamines non essentielles du milieu défini abouti à l'augmentation de la production d'EPS (**Bergmaier, 2002**).

II.3.2 Effet des conditions de culture sur la production :

II.3.2.1 Le pH :

Chaque microorganisme se développe dans une gamme définie de pH et à un pH optimum de croissance (**Prescott et al., 2003**). Le pH de la culture est l'un des facteurs les plus importants parce qu'il influence d'une manière significative sur la croissance des cellules et la formation de produit (**Lee, 2004**). La plupart des microorganismes produisent les biopolymères à des pH neutres (6-7) tel que *Azotobacter chroococcum* qui produit l'alginate à pH 7,0 (**Khanafari et Sepahei, 2007**), *Cordyceps militaris* produit un EPS à pH 6,0 (**Park et al., 2001**). *Pseudomonas atlantica* produit un EPS à pH 7,0 (**Hseih et al., 1990**), même remarque pour *Enterobacter cloacae* WD7 qui produit aussi un EPS (**Prasertsan et al., 2008**).

La production des biopolymères d'autres microorganismes se déroule à des pH acides comme *Klebsiella oxytoca* qui produit un biopolymère à pH 4,0 (**Dlamini et Peiris, 1997**), *Aerobasidium pullulans* produise le pullulane à pH 4,0 (**Reesleo et al., 1997**), *Phellinus linteus* KCTC 6190 qui produit l'EPS à pH 4,0 (**Wang et al., 2003**), *Paecilomyces japonica* qui produit un polysaccharide à pH 5,0 (**Tae et al., 2000**).

II.3.2.2 La température :

Les microorganismes, comme tous les êtres vivants sont affectés par les variations de la température de leur environnement (**Prescott, 2003**). Pour la production des biopolymères, la majorité des microorganismes producteurs sont cultivés à des températures comprises entre 20°et 37°C (**Tableau 3**), donc ce sont des microorganismes mésophiles *Sphingomonas elodea* produit la gomme gellane à une température de 30°C (**Linden et Lorient, 1994**), *Paecilomyces japonica* produit un EPS à 25°C (**Tae et al., 2000**), le polyglutamate est produit par *Bacillus* sp à 37°C (**Berekaa et al., 2006**). *Agrobacterium radiobacter* produit l'EPS à 28°C (**Mckellar et al., 2003**), alors que *Cordyceps militaris* produit un autre EPS à 20°C (**Park et al., 2001**).

Les températures sub-optimales influencent positivement sur la production d'EPS par les bactéries lactiques mésophiles et thermophiles, par exemple un changement de la température de 37°Cà 25°C au début de la phase exponentielle de croissance a amélioré significativement la production d'EPS chez *Lactobacillus rhamnosus* C83 bien que chez *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus*, la production d'EPS est deux fois élevée pour une température de 48°C supérieure à la température optimale de croissance (37 à 42°C) (**Bergmaier, 2002**).

II.3.2.3 L'aération :

L'aération du milieu pendant la culture n'est pas nécessaire pour la production d'EPS par les LAB (*Lactobacillus*), au contraire, il semble qu'une faible tension en oxygène stimule la production (**Bergmaier, 2002**). Mais pour certains microorganismes l'aération est nécessaire (**Tableau 3**) *Enterobacter cloacae* WD7 nécessite une aération de 2 vvm pour synthétiser un EPS (**Prasertsan et al., 2008**), même remarque pour *Paecilomyces tenuipes* C240 qui produit un exobiopolymère à une aération de 2 vvm (**Xu et al., 2003**) et *Paecilomyces japonica* nécessite une aération de 0,5 vvm pour la production d'un exobiopolymère (**Tae et al., 2000**).

II.3.2. 4 L'agitation :

La majorité des biopolymères microbiens nécessite l'agitation pour leur production (**Tableau 3**) l'alginate nécessite une agitation de 120 tpm (**Khanafari et Sepahei, 2007**), l'EPS produit par *Cordyceps jiangxiensis* JXPJ0109 nécessite une agitation de 180 tpm (**Xiao et al., 2004**) et pour l'EPS produit par *Pseudomonas atlantica* l'agitation est de 250 tpm (**Hseih et al., 1990**).

II.3.2.5 Le temps d'incubation :

La période d'incubation pour une production maximale des biopolymères est variée entre quelques heures à plusieurs jours. Une période d'incubation de 72 heures est optimale pour la production d'un biopolymère chez *Klebsiella oxytoca* (**Dlamini et Peiris, 1997**), et chez *Cordyceps jiangxiensis* JXPJ0109 est de 10 Jours (**Xiao et al., 2004**).

Tableau 3: Les conditions de la production de quelques biopolymères microbiens.

Microorganismes	Biopolymères	Source de carbone	Source d'azote	pH	T (°C)	Aération (vvm)	Agitation (tpm)	incubation	Autre conditions et sources	Références
<i>Sphingomonas elodea</i>	Gellane	Su- glucidique	-	7,0	30	-	-	-	-	Linden et
<i>Xanthomonas compestris</i>	xanthane	glucose	-	-	-	-	-	-	-	Lorient,
<i>Leuconostoc</i>	dextrane	Saccharose	-	-	-	-	-	-	-	2004
<i>Azotobacter chroococcum</i>	alginate	Mannitol agar	Extrait de levure, NH ₄ No ₃	7,0	30	-	120	24 à 48 H	Culture dans un flacon	Khanafari et Sepahei, 2007
<i>Paecilomyces japonica</i>	EPS	maltose	Extrait de levure+ polypeptone	5,0	25	0,5	150	7 J	K ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄ , MnSO ₄ , MgSO ₄ , H ₂ O. la culture dans un flacon.	Tae et al., 2000
<i>Cordyceps militaris</i>	EPS	Sucrose	Corn steep poudre	6,0	20	2	150	5 J	K ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄ , H ₂ O FeSO ₄ .	Park et al., 2001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CMG 607W	PHA	Glucose, sucrose, sodium acétate	tryptone	-	30	-	200	24-120 H	-	Jamil et Ahmed, 2008
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CMG 1421	EPS	Sodium glutamate	tryptone	-	30	-	-	15 J	-	
<i>Paecilomyces tenuipes</i> C240	EPS	Glucose	KNO ₃	6,0	28	2	120	4 J	K ₂ HPO ₄ , MgSO ₄ , la fermentation dans le bioréacteur	Xu et al., 2003
<i>Klebsiella oxytoca</i>	biopolymère	Lactose	Peptone, extrait de levure	4,0	30	-	100	72H	K ₂ HPO ₄ , MgSO ₄ , la fermentation dans le flacon	Dlamini et Peiris, 1997
<i>Pseudomonas atlantica</i>	EPS	Glucose	NH ₄ Cl	7,3 6,7	28 22	-	250	-	KH ₂ PO ₄ , H ₂ O, FeCl ₃ , NO ₂ H ₂ .	Hsieh et al., 1990

<i>Bacillus</i> sp	polyglutamate	Glucose	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	37	-	120	12 H	KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄ , ZnCl ₂ .	Berekaa et al, 2006
<i>Alteromonas macleodii</i> sp	deepsane	Glucose	-	7,2	-	-	200- 1100	-	-	Petit, 2005
<i>Enterobacter cloacae</i> WD7	EPS	Sucrose	Extrait de levure	7,0	30	2	200	3 J	La fermentation en batch	Prasertsan et al., 2003
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	EPS	Sucrose	Extrait de levure	5,5-8,0	128	-	-	3 J	La fermentation dans des flacons	Mckellar et al., 2003
<i>Aerobasidium pullulans</i>	pullulane	Sucrose	-	4,0	-	-	-	-	La fermentation dans des flacons	Reesleo et al., 1997
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	succinoglucane	sucrose	Lysine	-	-	-	-	-	La fermentation dans des flacons	Stredansky et al., 1998
<i>Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus</i>	EPS	Glucose lactose	caséine	6,2	48	-	-	-	-	Bergmaier, 2002
<i>Agrobacterium</i> sp	curdlane	Maltose sucrose	ammonium	5,5	-	-	-	5 J	La fermentation dans des flacons	Lee, 2004
<i>Cordyceps jiangxiensis</i> JXPJ0109	EPS	Maltose glycérol	Extrait de levure+ tryptone	5,0	26	-	180	10 J	KH ₂ PO ₄ , Ca Cl ₂ la fermentation dans le flacon	Xiao et al., 2004
				7,0	28					
<i>Phellinus linteus</i> KCTC 6190	EPS	sucrose	Poudre de maïs	4,0	30	-	-	-	KH ₂ PO ₄ , Ca Cl ₂ la fermentation dans le flacon	Wang et al., 2003

II.4 L'extraction et la purification des biopolymères microbiens

L'extraction et la purification des biopolymères reposent sur des principes physiques et/ou chimiques. Dans la majorité des études, la combinaison des deux principes est utilisée. La technique d'extraction doit être choisie en fonction des contraintes expérimentales liées au type d'échantillon étudié et aux types de liaisons présentes.

Par conséquent, il n'est pas possible de standardiser une méthode qui serait utilisable dans tous les cas. Il est donc nécessaire de tester différentes méthodes d'extraction au début d'étude afin de définir et de sélectionner la plus appropriée (**Griado et al., 2002**).

II.4.1 Extraction physique :

L'extraction physique des EPS repose sur l'utilisation de techniques de centrifugation, d'homogénéisation de mélange, de sonication ou de traitement par la chaleur, en générale le rendement d'extraction par simples méthodes physique est plus faible que celui obtenu en combinant méthodes physiques et chimiques.

La centrifugation est généralement utilisée pour extraire la fraction d'EPS libres et solubles de biomasse microbienne. La centrifugation à vitesse élevée est quelque fois utilisée pour extraire les EPS liés, mais cette technique n'est pas considérée comme la plus efficace (**Griado et al., 2002**).

II.4.2 Extraction chimique :

Cette méthode d'extraction est basée sur l'utilisation de substances chimiques pour rompre les liaisons au sein de la matrice EPS afin de faciliter le relargage des EPS. Pour cela, les principaux produits utilisés sont : NaOH, NaCl, éthanol ou phénol (**Griado et al., 2002**).

On peut citer l'extraction et la purification de quelques biopolymères microbiens dans le tableau 4.

Tableau 4 : La purification de quelque biopolymères

Biopolymères	Etapas de purification	Références
Exobiopolymère (<i>C. militaris</i>)	<ul style="list-style-type: none"> -1^{ère} centrifugation (10000g/10min) pour séparer le mycélium. -2^{ème} centrifugation 10000g/15min, le surnageant est filtré sur une membrane filtrante (0,45µm). -Le filtrat est mélangé avec l'éthanol (4 vol éthanol/1vol filtrat), le mélange est resté une nuit à 4°C pour la précipitation. -L'exobiopolymère précipité est centrifugé à 10000g/10min et le surnageant est écarté. -Le résidu est reprecipité avec 4vol d'éthanol, le précipité brut d'exobiopolymère est glacé et lyophilisé. 	Park et al., 2001
Polysaccharide (<i>K. oxytoca</i>)	<ul style="list-style-type: none"> -Centrifugation. -Le surnageant est concentré par ultrafiltration. -Traitement de filtrat par 5M d'acide trichloroacétique (30ml/100mld'échantillon) pour précipiter les protéines. -Centrifugation et neutralisation de surnageant par 5M NaOH. -le filtrat est rincé deux fois par l'eau déionisée. -Le polysaccharide obtenu est dissout dans l'eau déionisée pendant 24 heures. -Stockage pour l'analyse. 	Dlamini et Peiris, 1997
Xanthane (<i>X. campestris</i>)	<ul style="list-style-type: none"> -Précipitation par l'alcool isopropylique. -Le coagulum obtenu est séparé, lavé, pressé, séché et broyé. 	Linden et Lorient, 1994
PHA (<i>P. aeruginosa</i>)	<ul style="list-style-type: none"> -Extraction des PHA se fait trois fois par le chloroforme à 65°C pendant 4 heures. -Filtration sur un filtre de cellulose pour enlever le débris des cellules. -La solution de Chloroforme a été concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif. -Le polymère obtenu est précipité en versant la solution de Chloroforme (1V) en éthanol (5 V). -Le polymère obtenu a été séparé de la phase liquide par filtration, puis séché par l'exposition à l'air chaud. 	Jamil et Ahmed, 2008

II.5 Exemple de la production d'un biopolymères (l'EPS des bactéries)

II.5.1 La production :

L'identification de bactéries productrices d'EPS passe par une phase de criblage suivie d'une mise en culture en milieu liquide en fermenteurs dont les capacités varient entre 1 litre et 20 litres. Les conditions physico-chimiques de biosynthèse sont alors celles du laboratoire et le milieu marin reconstitué enrichi par une source de carbone adaptée. Il faut alors de 48 à 60 heures pour observer un changement notable de ce milieu de culture notamment une forte augmentation de viscosité traduisant l'apparition des EPS (**Fig. 7**) (**Guezennec, 2004**).

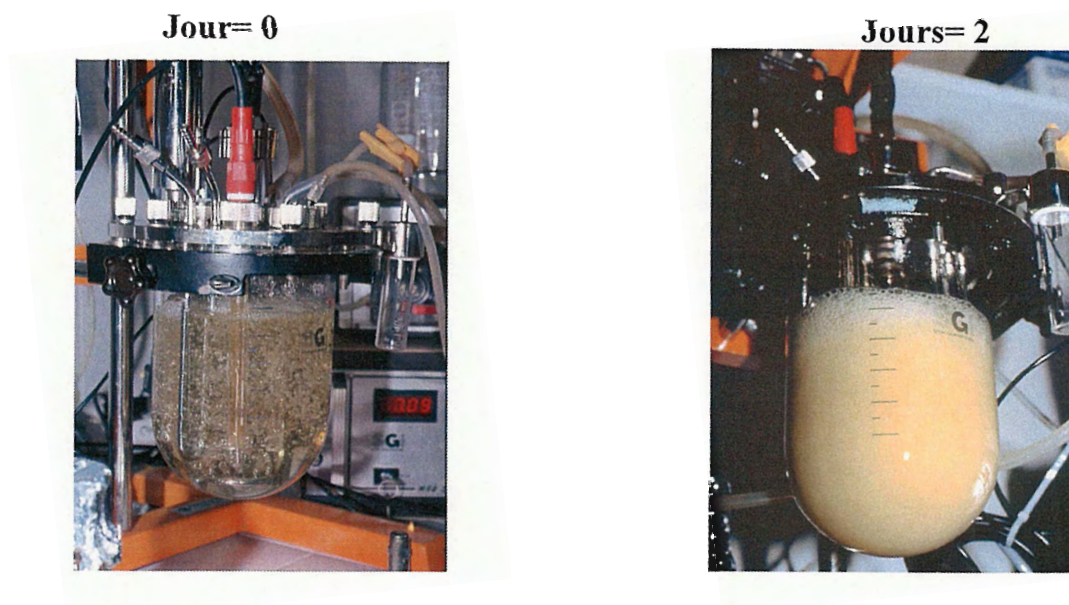


Fig. 7 : La production d'un EPS dans un fermenteur de 2 litres (**Petit, 2005**).

II.5.2 La purification :

Une centrifugation à haute vitesse (20000 g) permet d'isoler les cellules bactériennes et des traitements ultérieurs, soit en utilisant des alcools froids ou de l'acétone, soit des ultracentrifugations et dialyse successive, permettent d'obtenir, dans la grande majorité des cas un, ou parfois deux exopolymères à très faible taux de contaminants.

La biosynthèse de deux EPS n'est pas un phénomène rare au niveau des bactéries marines sans que réellement des explications viennent en apporter la raison. La séparation de ces deux polysaccharides se fait en jouant sur la force ionique des solutions de polymères. Le polysaccharide est préservé de toute hydratation ou autre modification d'ordre chimique ou photochimique avant de subir des analyses pour en déterminer, d'une part la composition en oses et la présence de substituant (acétate, succinate, lactate, hydroxybutyrate....) dont la nature et la position au niveau des chaînes polysaccharidiques peuvent s'avoir primordiales pour certaines fonctionnalités de ces macromolécules, d'autre part, la structure de l'unité répétitive de la macromolécule (**Guezennec, 2004**).

A hand-drawn scroll with a title. The scroll is tilted and has a simple black outline. The top corners are rolled up, and the left side is also rolled up. The text is written in a bold, black, serif font.

**CHAPITRE III : LES
APPLICATIONS DES
BIOPOLYMERES
MICROBIENS**

III. Les applications des biopolymères microbiens

III.1 l'intérêt de l'utilisation des biopolymères microbiens

L'avantage d'utiliser les biopolymères microbiens est que leur production est indépendante du climat, aussi ils peuvent limiter la fourniture de matière brute et de l'épuisement des ressources naturelles. Les unités de production peuvent être aussi implantées à proximité de sources de substrats peu coûteux (**Prescott et al., 2003**). De plus la possibilité d'agir sur les conditions de fermentation (source de carbone, température, aération, pH,...etc.). En vue d'optimiser la production, d'assurer la traçabilité, mais aussi de modifier les polymères produits, jouent en faveur de la fermentation bactérienne. Ces polymères présentent enfin un degré de régularité de structure plus important et peuvent être extraits et purifiés sans l'utilisation des conditions drastiques (**Guezennec, 2004**). Par exemple, les méthodes naturelles d'extraction des polysaccharides des plantes sont sujette à des variations dues à la récolte. Les procédés de purification sont coûteux et le produit final ne peut pas présenter une régularité de degré de pureté, par contre, les polysaccharides microbiens sont obtenus par croissance en condition contrôlée dans des fermenteurs de souches sélectionnées de microorganismes (**Moll et Moll, 1998**). Les inconvénients de ces polymères bactériens restent liés aux microorganismes eux même, à leur manipulation et conservation ainsi qu'à la production de métabolites secondaires associés à la fermentation. (**Guezennec, 2004**).

III.2 Les applications :

Les biopolymères possèdent plusieurs propriétés tel que la biodégradabilité, la biocompatibilité, la perméabilité sélective ou encore les propriétés physico-mécaniques modifiables, ces propriétés trouvent des applications dans des domaines très variés notamment dans les secteurs de l'emballage, de textile, de l'agriculture, de la pharmacie ou de la médecine (**Rabetafika et al., 2006**).

III.2.1-En médecine et pharmacie :

Les premières applications des biopolymères sont médicales d'autant plus que leurs applications à haute valeur justifient le coût élevé de leur production. Leurs propriétés telles que la biocompatibilité et la biorésorbabilité liées à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues dans ce domaine (**Rabetafika et al., 2006**).

Les biopolymères sont utilisés pour les buts suivants :

-Pour remplacer les tissus qui sont malades ou autrement non fonctionnels, comme remplacement de joints, valves et artères artificiels de cœur, reconstruction de dents et objectifs intraoculaires.

-Pour aider à la réparation de tissu, y compris les sutures évidentes mais également les plats de fracture, le ligament et le dispositif de réparation de tendon.

-pour livrer des drogues au corps, aux emplacements visés (par exemple directement à une tumeur) ou aux taux soutenus de la livraison (insuline, pilocarpine et contraceptifs) (**site web 2**).

Plusieurs types des biopolymères microbiens sont actuellement employés dans le domaine médical et pharmaceutique. Les PHAs ont beaucoup d'utilisation dans la médecine à partir de leur biocompatibilité dans les sutures chirurgicales, les plats d'os,

soins de blessure (**Herdman, 1993**), implants vasculaires, vêtements et accessoire médicaux, ostéosynthèse (**Rabetafika et al., 2006**).

Le gellane est utilisé comme agent de relargage dans les médicaments, aussi l'acide hyaluronique est utilisé comme agent hydratant. De même la cellulose bactérienne produit par *Acetobacter xylinum* possède une forte capacité d'absorption d'eau et peut être exploitée en chirurgie comme peau artificielle provisoire pour diminuer les pertes d'eau ou pour empêcher la déshydratation des tissus. Appliquée humide, elle semble, après brûlure, activer la croissance des cellules de la peau humaine. Aussi, la cellulose à cause de la solidité de la fibre, elle est utilisée dans la préparation des membranes acoustiques (**Petit, 2005**), et aussi dans des application thérapeutiques (**Chellat, 1999**). Après séchage du pullulane, une membrane hermétique est formée, la membrane peut être employée dans l'emballage des drogues et les suppléments (**Herdman, 1993**). En outre, les dextrans employés comme substituts de plasma et comme absorbant pour augmenter le volume sanguin, et les cyclodextrines sont utilisées pour augmenter la solubilité de produits pharmaceutiques, réduire leur amertume et masquer leur odeur chimique (**Prescott et al., 2003**). Un autre EPS de haute poids moléculaire produit par la souche *Vibrio diabolicus* qui présente une forte analogie avec l'acide hyaluronique a été utilisé avec succès comme implante de comblement osseux dans un modèle expérimental animal (**Petit, 2005**).

Chez les souris et les rats, les glucanes peuvent empêcher la croissance de tumeurs, la forme soluble la moins toxique du glucane est efficace comme agent antitumoral, mais elle est légèrement moins efficace que la forme particulière, plusieurs glucanes antitumoraux sont actuellement employés au Japon sur des sujets humains. Aux Etats-Unis, les glucanes de levure qui subissent des tests chimiques sont aussi des agents immunostimulants, ils ont la propriété de la radioprotection, c'est-à-dire ils semblent augmenter la survie des animaux d'essai après les doses hautement mortelles de rayonnement (**Herdman, 1993**).

Les propriétés principales des biopolymères exigés pour les applications médicales sont les suivantes :

- 1- non toxique chroniquement, non inflammative, non allergénique, non pyrogène, non hémolytique, non cancérigène, non tératogénique et non cytotoxicité...etc.
- 2- efficace : fonctionnalité, longévité...etc.
- 3- biocompatibilité : mécaniquement et biologiquement (**Site web 2**).

III.2.2 En agriculture :

La propriété de biodégradabilité des biopolymères est essentielle dans leurs applications dans l'agriculture. Leur fonction principale est de réduire l'évaporation de l'eau et d'accroître la température du sol pour favoriser la croissance des plantes au printemps (**Rabetafika et al., 2006**). Le xanthane agit en tant que stimulateur de croissance des plantes (**Herdman, 1993**). Par la suite, les matériaux biodégradables pourraient apporter des solutions avantageuses aux préoccupations environnementales rencontrées dans ces secteurs pour des raisons à la fois techniques (difficultés de ramassage des films des plastiques trop chargés de terre sur le champ et leur transport vers les usines de recyclage), législatives (le brûlage des films de paillage en plein champ est interdit et pullulant, agronomiques (utilisation unique sur de courtes durées) et économiques (suppression de la main d'œuvre de ramassage)(**Site web 4**).

Une autre application intéressant repose sur la production des bandes d'ensemencement, il s'agit de bandes qui contiennent les semences réparties

régulièrement ainsi que des nutriments. Elles se biodégradent dans le sol au fur et à mesure que les semences germent et s'enracinent.

Les géotextiles utilisés pour contrôler l'érosion et améliorer le comportement mécanique et hydraulique des sols représentent également une application des biopolymères.

En horticulture, les pots de transplantation, les ficelles, les clips, les agrafes les enrobages par libération contrôlée de semences, d'engrais, de phéromones pour éloigner les insectes et pesticides, les sacs d'engrais, les enveloppes d'ensilage et les plateaux à semences sont des applications des biopolymères (**Rabetafika et al., 2006**).

Le pullulane peut être employé comme liant pour les engrais solides, permettant la libération lente des engrais et évitant de ce fait les brûlures des récoltes par le contrôle du dégagement de l'azote dans les engrais. En outre, le xanthane est utilisé comme agent stabilisant dans les herbicides et les fertilisants (**Letisse, 2000**) et le gellane est utilisé comme agent de relargage dans les herbicides (**petit, 2005**). Aussi le glucane est également efficace en tant qu'agent antiviral pour les plantes, par exemple le glucane est très efficace en protégeant beaucoup d'espèces de plantes de tabac contre l'invasion par le virus mosaïque de tabac et virus noir d'anneau de tomate (**Herdman, 1993**).

En agriculture marine, les biopolymères sont employés pour confectionner les cordes et les filets de pêche, ils sont également utilisés comme support pour les cultures marines (**Rabetafika et al., 2006**), le PHA est utilisé comme alternatif biodégradable de filets de pêche de monofilament (**Herdman, 1993**).

III.2.3 En emballage:

Dans le domaine de la vie courante, le secteur de l'emballage est un autre créneau important pour le marché des polymères biodégradables. Outre leur biodégradabilité, les biopolymères présentent d'autres propriétés intéressantes: A part leur fonction première de production des produits, les biopolymères offrent aux emballages d'autres fonctions grâce à leurs propriétés intrinsèques on peut citer, par exemple, leur perméabilité à la vapeur d'eau intéressants pour emballer les produits frais et les légumes (**Rabetafika et al., 2006**), des pots de yaourt en acide polylactique, des films et filets pour fruits et légumes, des films pour sandwicherie, boulangerie, sucreries, pâtisseries....etc. En ce qui concerne l'emballage non alimentaire, des films transparents sont proposés pour emballer les papiers toilettes, les produits de grande consommation....etc.

La restauration est un secteur sur lequel se positionnent les matériaux biodégradables grâce à des produits comme les assiettes et couverts pour pique-nique et restauration rapide, voire des plateaux jetables pour la restauration aéronautique (**site web 4**).

Les PHAs sont utilisés dans la fabrication des emballages cosmétiques, des emballages films et couverts jetables (**Rabetafika et al., 2006**), ainsi, le pullulane est utilisé pour l'enrobage des aliments (**Petit, 2005**) et la cellulose est utilisée pour fabriquer les films d'emballage alimentaire (**Rabetafika et al., 2006**).

Tableau 5: propriétés des biopolymères dans les applications emballages (Rabetafika et al., 2006).

propriétés	Applications
Transparence et brillance	Attrait pour les emballages de confiserie et de produits de valeur.
Perméabilité à la vapeur d'eau	Empêche la condensation dans les emballages
Anticondensation	Allonge la durée de conservation des aliments
Scellabilité à base température	Fermeture des emballages
Barrière aux odeurs et aux arômes	Bonne conservation des aliments
Antistatique	Facilité d'ouverture des emballages
Résistance aux graisses	Intéressant pour emballer des aliments riches en graisse, il n'y a pas de solubilisation de molécules.

III.2.4 En alimentaire:

Dans ce domaine on utilise 75% au moins de tous les polysaccharides comme agent stabilisants, ou pour disperser des particules, former des films ou faciliter la rétention d'eau dans des produits divers. Les polysaccharides aident à maintenir la texture de nombreux aliments congelés, comme les crèmes glacées, soumis à des modifications drastiques de température. Ces polysaccharides doivent conserver leurs propriétés dans les conditions de pH de l'aliment concerné et être compatible avec les autres polysaccharides. Ils ne devraient pas perdre leurs caractéristiques physiques s'ils sont soumis à la chaleur (Prescott et al., 2003).

Le pullulane peut être employé comme additif, fournissant le volume et la texture. Il est insipide, inodore, et non toxique. Il ne se fait pas décomposer en présence des enzymes digestives naturels et n'a donc aucun contenu calorique. En conséquence, il peut être employé comme additif alimentaire dans les nourritures et les boissons à basses calories au lieu de l'amidon ou d'autres remplisseurs. En outre, le pullulane empêche la croissance fongique et favorise la bonne conservation à l'humidité et peut être employé ainsi comme préservatif, le pullulane peut être également employé en tant que film hydrosoluble, comestible pour l'emballage des produits alimentaires. Il est transparent, imperméable à l'oxygène. Il n'est pas nécessaire d'enlever le revêtement du pullulane avant la consommation ou la cuisson (Herdman, 1993). La cellulose est employée intensivement dans des produits alimentaires qui inclue les agents épaississants et stabilisants dans les produits laitiers, yaourts, flans, boissons à base de fruits, substituts des matières grasses, crèmes glacées, produits de biscuiterie (Moll et Moll, 1998). Aussi, 60% de la gomme xanthane produite est employée dans la nourriture (Herdman, 1993), elle favorise la libération rapide des arômes, offre une impression gustative et neutre en goût et non digestible. Elle est compatible avec d'autre ingrédients (protéines, lipides et

polysaccharides) (**Letisse, 2000**), et elle est utilisée comme agent de suspension (**Petit, 2005**), comme agent stabilisant dans les sauces pour salades, boissons aux fruits ou chocolats, potages et plats cuisines, aussi comme agents viscosant dans la préparation de produits alimentaires (potage sauces pour salades, crèmes glacées.....etc.) et dans la substitution des graisses texturants dans les aliments (**Letisse, 2000**) et agents épaississants dans les crèmes glacées, sorbets, desserts lactés, produits allégés en sucres et en matières grasses, produits congelés (**Moll et Moll,1998**). Aussi elle est utilisée comme agent gélifiant pour les fromages mous, les crèmes, les puddings et d'autres desserts (**Herdman, 1993**).

En outre, les dextrans sont utilisés pour augmenter la rétention d'eau et inhiber la cristallisation dans les sirops et bonbons, pour gélifier les confitures, empêcher les cristaux de glace dans les crèmes glaces, stabiliser les produits à base de crème, et agent de moulage dans les puddings (**Moll et Moll, 1998**). Les cyclodextrines sont aussi utilisées comme absorbants sélectifs pour éliminer le cholestérol des œufs et du beurre, et protéger les épices de l'oxydation (**Prescott et al., 2003**).

Aussi le curdlane est utilisé comme agents gélifiants (**Petit, 2005**) et l'alginate comme gélifiant alimentaire et stabilisateur dans des yaourts (**Schmidt, 1999**). La gomme gellane permet de créer de nouveaux produits comme les boissons gélifiées. cet additif alimentaire convient comme agent texturant, gélifiant et stabilisant dans les gelées de couverture des produits à base de viande, fruits et sucre, poudre pour desserts, desserts lactés et à base de fruits. Il est compatible avec d'autres polysaccharides et protéines, il permet de libérer la saveur par exemple dans des garnitures à base de fruits (**Moll et Moll, 1998**).

III.2.5 Dans la récupération du pétrole:

Le pétrole est un liquide épais relativement visqueux, ce qui signifie qu'il s'écoule difficilement. Les microorganismes aident à fractionner la molécule de pétrole brut, le rendant ainsi plus fluide et plus facile à extraire du puits. La récupération du pétrole assistée par l'activité microbienne permettant de diminuer ou d'éliminer l'utilisation de produits chimiques puissants, elle représente une méthode de récupération tertiaire du pétrole compatible avec la protection de l'environnement (**Site web 5**).

Des polysaccharides tels que le scléroglycane interviennent dans l'industrie pétrolière comme additifs à la boue de forage, les polymères de xanthane accroissent la récupération du pétrole en améliorant le rinçage par l'eau (**Prescott et al., 2003**). Dès l'introduction sur le marché commercial, la gomme xanthane a présenté un vif intérêt dans des domaines variés que l'alimentaire, la chimie et la récupération assistée du pétrole, mais, c'est dans ce dernier secteur que le potentiel du xanthane a été le plus exploité dans les premières temps, correspondant aux Périodes de crises pétrolières (**Letisse, 2000**). Aussi, le curdlane est utilisé comme agents gélifiants dans la récupération du pétrole (**Petit, 2005**), et le Polytrane produit par *Sclerotium gluconicum* utilisé comme stabilisateur pour des boues de forages (**Schmidt, 1999**).

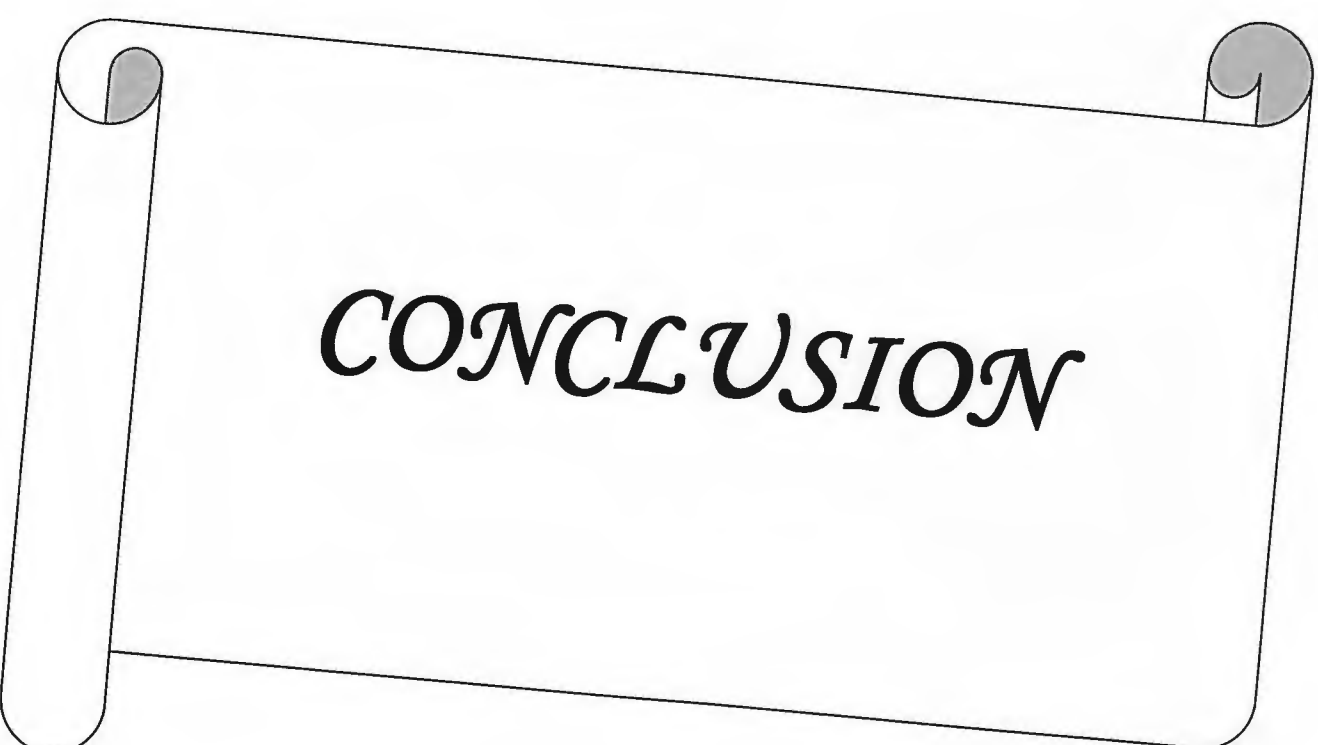
III.2.6 En cosmétique:

Le marché de la cosmétique contribue fortement à l'essor de la gomme xanthane (**Letisse, 2000**), en particulier les émulsions cosmétiques (**Schmidt, 1999**): les gels douches, les crèmes et les pâtes dentifrices qui garantissent l'obtention de produit dont la texture satisfait aux exigences des consommateurs (**Letisse, 2000**), ainsi que les celluloses qui sont également envisagées dans les produits de beauté (**Herdman, 1993**).

III.2.7 Autres applications:

Les biopolymères sont également utilisés pour des applications plus spécifiques et plus pointues comme dans le secteur de l'industrie automobile, l'électronique ou encore dans la construction. Dans le domaine de l'automobile, on assiste au développement de matériaux biocomposites à propriétés améliorées. Les biopolymères sont aussi utilisés dans le domaine de l'industrie chimique. La gomme xanthane utilisée comme agent stabilisant dans la préparation des peintures, les vernis, les savons, les teinture de textile et comme agent viscosant pour les agents lavants (lave-glace, gels WC) (**Letisse,2000**). Le zonflo produit par *Erwinia tahatica* utilisé comme agent épaississeur pour peinture (**Schmidt, 1999**), et le pullulane peut être employé pour fabriquer le papier cela convient à l'impression et à l'écriture (**Herdman, 1993**).

En fin, on peut citer pour les biopolymères des applications à caractère courte durée de vie et jetable comme les couches culotes, les cotons tiges et les produits d'hygiène féminine (**Rabetafika et al., 2006**).

A hand-drawn illustration of a scroll. The scroll is rectangular with rounded corners and is shown partially unrolled. The top edge is rolled up, and the bottom edge is also rolled up. The word "CONCLUSION" is written in a bold, black, serif font across the center of the scroll. The scroll is set against a plain white background.

CONCLUSION

Conclusion :

Les biopolymères microbiens sont devenues essentielles grâce à leurs propriétés qui confèrent à ces polymères de vastes possibilités d'utilisation dans divers secteurs industriels.

Il existe plusieurs sources des biopolymères comme les végétaux et les animaux ... mais l'obtention de ces biopolymères à partir de ces sources abouti à des effets néfastes sur l'environnement. Pour cela les microorganismes sont la meilleure source des biopolymères, qui obtenue par procédés de fermentation. Mais leur utilisation reste limitée à cause du grand coût de production.



LES REFERENCES

Références

- Alonso G., Gazabet P., Pepin M., Abdelkader D. et Barcher S. (2007), Le petit Larousse illustré, édition Larousse, p : 841-442.
- Avérous L. (2004), Biodégradable multiphase Systems based on plasticized starch. J. macromolecular Sci. Part C. Vol 44 : 231-274.
- Berekaa M.M., El sayed S. M., El borai A. M., El Aassar S. A. and Abdel-Fattah Y.R. (2004), Optimization of culture conditions for production of polyamide biopolymer (polyglutamate) by *Bacillus* sp, Strain-R. J. Biol. Sci., Vol 6 : 687-694.
- Bergmaier D. (2002), Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *LB. Rhamnosus*, RW-9595M d'un milieu à base de perméat de Lactosérum, thèse de doctorat, Université de LAVAL, Canada.
- Bielecki S. Krystynowicz A. Turkiewicz M. Kalinowska H. (2004), Bacterial cellulose. in polysaccharide I: Polysaccharides from prokaryotes. In Biopolymères, Vol 5. Stenibüchel editor, Wiley-VCH.
- Bordes P., Pollet E. and Arerous L. (2009), Nano-biocomposites, biodégradable polyesters/nanoclaysystème, Progress in polymer Sci, Vol 34 : 125-155.
- Born K., Langendorff V. and Boulenger P. (2004), in Polysaccharides from prokaryotes, in Biopolymères, Vol 5. Stenibuchel editor , wiley-VCH.
- Bugnicourt M. (1995), Dictionnaire de microbiologie générale, Ellipses/édition marketing : P : 815.
- Chellat F. (1999). Biocompatibilité, Biodégradabilité et influence de la stérilisation sur le complexe chitosane- xanthane. Mémoire (M. S. A.). Institut de génie biomédical Ecole polytechnique de Montréal. Canada.
- Cuq B., Contardn N. et Guilbert S. (1997), Les matériaux d'emballages à base de polymères. Edition de courcelles, Vol 114 : 110-145.
- Dlamini A.M. and Peiris P.S. (1997), Biopolymère production by *Klebsiella oxytoca* isolate using whey as fermentation substrate. Biotechnol. le tt., Vol 19 :127-130.
- Eggink G. Steinibüchel A. Poirier Y. and Witholt B. (1996), 1996 international Symposium on bacterial Polyhydroxyalkanoates. Davos. Switzerland.
- Griedo F. Michel C. et Morin D. (2002). Les exopolymères bactériens synthèse bibliographie. BRGM/RP-51637-FR. www.brgm. Fr/ Rapport ? code= RP : 51637- FR. pdf. 18/05/2009.
- Guezennec J. (2004), Les bactéries des sources hydrothermales profondes à l'origine de nouvelles molécules bioactives, Vertigo, le revenu en Sci. Environ., Vol 15 :2-3.

- Herdman R. C. (1993). Biopolymers : Making Materials nature's way-Background paper. OTA-BP-E-102, Washington, DC : U.S. government Printing office. P : 29-35.
- Hsieh K.M., Lion L.W., Shuler M.L. (1990), Production of extracellular and cell-associated biopolymers by *Pseudomonas atlantica*. Biotechnol. le tt., Vol 12 : 449-454.
- Jamil N. and Ahmed N. (2008), Production of biopolymers by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from marine source. Braz. Arch. Biol. Technol., Vol 51 : 457-464.
- Born K., Langendorff V. and Boulenger P. (2004), in Polysaccharides from prokaryotes, Vol 5. Stenibuchel A. (biopolymeres series), wiley-VCH.
- Khanafari A. and Sepahei A.A. (2007), Alginate biopolymère production by *Azotobacter chroococcum* from whey dégradation. Int. J. Environ. Sci. Tech., Vol 4 :427-432.
- Lee I.Y. (2004), Curdlan. in Polysaccharides I : Polysaccharides from prokaryotes. In Biopolymeres , Vol 5. Stenibüchel editor, Wiley-VCH.
- Lee S. Y., Park S. J. Park J. P. and Lee Y. (2004). Economic aspects of biopolymeres production. in Polysaccharide I : polysaccharides from prokaryotes. In Biopolymeres, Vol 5 . Stenibüchel editor, Wiley-VCH.
- Letisse F. (2000). Quantification des contraintes nutritionnelles et métabolique associés à la production de gomme xanthane par *Xanthomonas compestris*. Thèse. Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de TOULOUSE. France.
- Linden G. et Lorient D. (1999), Biochimie agro-industrielle, Masson, P : 264.
- Maritini M.C. et Seiller M. (1999), Actifs et additifs en cosmétologie, 2^{ème} édition, Edition Tech et Doc, P : 218-232.
- McKellar MR.C., Geest J.V. and Cui W. (2003), Influence of culture and environmental conditions on the compositions of exopolysaccharide produced by *Agrobacterium radiobacter*. Food hydrocolloids, Vol 17 :429-437.
- Moll M. et Moll N. (1998), Les additifs alimentaires, Edition DUNOD, P: 120-122.
- Moreno J., Vargas H.A., Olivares H., Rivas J.and Guerrero M.G. (1998), Exopolysaccharide production by *Anabaena* sp ATTCC33047 IN BATCH and continous culture, J. Biotechnol., Vol 60 : 175-182.
- Park J.P., Kim Y.M., Kim S.W., WANG H.J., Cho X.J., Lee X.S., Song C.H. and Yum J.W., (2002), Effet of aeration rate on the mycelial morphology and exobiopolymers production in *Cordyceps militaris*, Process biochimie, Vol 37 : 1257-1262.
- Perry J.J., Staley J.T. et Lory S. (2004), Microbiologie, DuNoD, P : 1001-1010.

- Petit A.C. (2005), Modification d'un exopolysaccharide biosynthétisée par une bactérie issue des écosystèmes hydrothermaux profonds, thèse de doctorat, Université de RENNES 1, France.
- Prasertsan P., Wichienchot S., Doelle H. and Kennedy J. F. (2008). Optimization for biopolymer production by *Enterobacter cloacae* WD7, Carbohydrate polymers. Vol 71 : 468-475.
- Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A. (2003), Microbiologie, 2^{ème} édition, Deboeck, p: 1001-1010.
- Rabetafika H.N., Paquot M. et Dubois P. (2006), Les biopolymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique, Biotechnol., Agro., Soc., Environ. Vol 10 : 185-196.
- Reesleo M., Strom F., Jensen B. AND Olsen J. (1997), The ability of the yeast form of *Aerobasidium pullulans* to elaborate exopolysaccharides in chemostat culture and various pH values, Mycolog. Res., Vol 101 : 650-652.
- Rehm B.H.A. (2009), Microbial production of biopolymers and polymer precursors: Application and perspectives, Caitec academic press.
- Rivera F.M., Betaucourt A., Vantera H., Yezza A. and Hawari J. (2007). Use of headspace solid phase microextraction for the quantification of poly (3-hydroxybutyrate) in microbial cells. J. Chromatography A. Vol 115 : 34-41.
- Schmidt R. (1999), Comportement des matériaux dans les milieux biologiques. Presses polytechniques et Universitaires romandes. German. P : 214.
- Scriban R. (1999), Biotechnologie, 5^{ème} édition. Edition Lavoisier. P : 67 , 90, 134, 135.
- Stredansky M. Conti E. Bertocch C. Matulova M. and Zametti F. (1998), Succinoglycan production by *Agrobacterium tumefaciens*. J. fermentation Bioeng. Vol 85 : 389-403.
- Tae J., Sinha J., Park J.P., Song C.H. and Yun J.W. (2000), Optimization of submerged culture conditions for exobiopolymer production by *Paecilomyces japonica*. J. Microbiol. Biotechnol. Vol 10 : 482-487.
- Wang H.J., Kim S.W. Choi J.W. and Yun J.W. (2003), Production and characterization of exopolysaccharides from submerged culture of *Phellinus linteus* KCTC 6190. Enz. Micob. Technology. Vol 33 : 309-319.
- Weil J.H. (1995), Biochimie générale. 2^{ème} édition. Masson. P : 30-31.
- Weil J.H. (2001), Biochimie générale. 9^{ème} édition. Edition Dunod. P : 29.

- Xiao J.H., Chen D.X., Liu Z.L., Wan W.H., Fang N., Xiao Y., Qi Y. and Liang Z.Q. (2004), Optimization of submerged culture requirements for the production of mycelial growth and exopolysaccharide by *Cordyceps jiangxiensis* JXPJ 0109, J. Appl. Microbiol. Vol 96 : 1105-1116.
- Xu C.P., Hwang H.J., Choi J.W., Kim S.W. and Yun J.W. (2003). Optimization of submerged culture conditions for mycelial growth and exobiopolymer product by *Paecilomyces tenuipes* C240. Process. Biochem. Vol 38 : 1025-1030.
- [Site web 1] : [www.Pnrb.Net/servelet/get Bin? name= 10 CE 6C 5C 6D F1D2 E 34 C7 ADD 884t D78 262](http://www.Pnrb.Net/servelet/getBin?name=10CE6C5C6DF1D2E34C7ADD884tD78262). 25/04/2009.
- [Site web 2] : [http://www : Ft.Vslib.CZ/ Science/ Konference/ indoezech](http://www.Ft.Vslib.CZ/Science/Konference/indoezech). 15/03/2009.
- [Site web 3] : [http://fr.wikipedia .org/wiki/polyph%C3%A9nol](http://fr.wikipedia.org/wiki/polyph%C3%A9nol). 20/06/2009.
- [Site web 4] : [http://liris. Curs.fr/ncnviut 08/ actent/ articles/128 pdf](http://liris.Curs.fr/ncnviut08/actent/articles/128.pdf). 15/03/2009.
- [Site web5] : [http ://www. Biofondation. gc-ca/ francais/ view. As p ?w=793](http://www.Biofondation.gc-ca/francais/view.As.p?w=793).15/03/2008

Glossaire

Humification : ensemble des transformations chimiques conduisant de la matière végétale à l'humus vrai.

Optimiser la production : rendre la production optimale.

Lyophilisation : est la dessiccation d'un produit préalablement surgelé par sublimation.

Traçabilité : possibilité de suivre une production tout au long de la filière de production.

Perfusion : injection lente et continue, dans la circulation sanguine, de sérum, de sang ou de substances médicamenteuses en solution.

Non pyrogène : qui ne provoque pas de la fièvre.

Tératogène : qui provoque des formes anormales lors de l'embryogenèse.

Géotextile : textile artificiel imputrescible utilisé pour les drains, armatures...etc.

<p>Réalisé par : <i>Alioua Ardjouna</i> <i>Medjadéba Hanane</i> <i>Mekhalfa Widad</i></p>	<p>Date de soutenance : 13 / 06 / 2009 Encadreur : <i>Dr. Sifour Méd</i></p>
<p>Thème Les biopolymères microbiens : production et application</p>	
<p>Résumé</p> <p>Les biopolymères microbiens représentent un groupe très important des polymères pour la biotechnologie, ils sont produits par les microorganismes (bactéries, champignons, levures...). Cette production nécessite la présence d'une source de carbone (généralement substrat glucidique), une source d'azote (organique et/ou inorganique) et d'autres conditions (température, pH, aération...etc). les biopolymères produits sont purifiés par des méthodes physiques (centrifugation, filtration...etc.) et / ou chimiques (par des solvants organiques). A partir des propriétés caractéristiques des biopolymères (biodégradabilité, biocompatibilité, biorésorbabilité...), ils sont utilisés dans de nombreux domaines : alimentaire, médical, pharmaceutique, industrie pétrolière, cosmétique...etc.</p> <p>Les mots clés : biopolymères, biotechnologie, biodégradabilité, biocompatibilité, biorésorbabilité, microorganismes.</p>	
<p>Abstract</p> <p>Microbial biopolymers represent an important group of polymers for biotechnology, they are produced by microorganisms (bacteria, fungi, yeasts...). Their production requires the presence of carbon source (generally glucidic substrate), nitrogen source (organic and/or inorganic) and other conditions (temperature, pH, aeration ...). Produced biopolymers are purified by physical methods (centrifugation, filtration), and / or chemical methods (by organic solvents). Because of their properties (biodegradability, biocompatibility, bioresorbability...), biopolymers are used in many fields: foods, medicine, pharmaceuticals, oil industry, cosmetic</p> <p>Key words: biopolymers, biotechnology, biodegradability, biocompatibility, bioresorbability, microorganisms</p>	
<p style="text-align: right;">المخلص</p> <p>تمثل البوليميرات الحيوية الميكروبية قسما هاما من البوليميرات المستخدمة في التكنولوجيا الحيوية و تنتج بواسطة الكائنات الدقيقة (بكتيريا، فطريات، خمائر). هذا الإنتاج يتطلب وجود مصدرا كربونيا (غالبا مادة سكرية)، مصدرا نيتروجينيا (عضوي و/ أو غير عضوي)، وظروف أخرى مثل (درجة الحرارة و الرقم الهيدروجيني و التهوية... الخ). تنقى البوليميرات الحيوية المنتجة بطرق فيزيائية (الترسيب المركزي، الترشيح... الخ) و/ أو كيميائية (المذيبات العضوية). انطلاقا من الخصائص المميزة لهذه البوليميرات الحيوية (التفكك الحيوي، التوافق الحيوي، التفكك الطبيعي... الخ) فإنها تستعمل في عدة مجالات : غذائية، طبية، صيدلانية، بترولية، مواد التجميل... الخ.</p> <p>الكلمات المفتاحية: البوليميرات الحيوية، التكنولوجيا الحيوية، التفكك الحيوي، التفكك الطبيعي، التوافق الحيوي، الكائنات الدقيقة.</p>	