

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE 20 AOUT 1955 SKIKDA

FACULTE DE TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie de l'environnement

Biodégradation de deux bio-polymères à base d'agar
agar et d'amidon de pomme de terre par des
champignons filamenteux marins

Réalisé par :

- Rami BOULATROUS
- Mohamed Hamza ALIOUA

Encadré par :

Dr. Nesrine AMMOUCHI (MCA)
Pr. Nadjla CHAIB

Année Universitaire 2021- 2022

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A ma chère mère,

A mon cher père,

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon
égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je
puisse atteindre mes objectifs.

A mes chères sœurs Sara et Soumia

Qui m'ont toujours encouragé et soutenu et cru en
moi durant toutes ces années d'études

A mes précieuses nièces Celia, Maya et Naya

A la mémoire de ma grand-mère maternelle

A toute ma famille

A tous mes ami (e)s

Med Hamza Alioua



Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A ma chère mère, la prunelle de mes yeux

A mon cher père,

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon
égard,

A grand-mère Rahima, la plus douce

Qui ne cesse de me soutenir et de m'épauler pour que
je puisse atteindre mes objectifs.

A mes chers frères Nadir et Hani Abderrahmane

Qui m'ont toujours encouragé et soutenu et cru en
moi durant toutes ces années d'études

A tous mes cousins et cousines en particulier Rim et Popo

A mes oncles et tantes en particulier Mimi, Touka et Nana

A tous mes ami(e)s tout en particulier Fahd

A la mémoire de mon grand-père el Haj Slimane

Rami Boulatrous

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements à ALLAH le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces longues années d'études pour en arriver là.

Nous tenons dans un premier temps à adresser un remerciement particulier à nos encadreurs Pr. Nadjla CHAIB, Dr. Nesrine AMMOUCHI, et à notre doctorante Nawal BOUZENAD.

Nous leur exprimons notre immense gratitude pour nous avoir fait bénéficier de leurs patiences, leurs expériences et connaissances scientifiques ainsi que pour la confiance qu'elles nous ont témoignées, leurs précieux conseils et leurs soutiens tout au long de cette année.

Merci d'avoir cru et eu confiance en nous.

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail et d'apporter leurs critiques objectives et tant constructives.

Ce mémoire n'aurait pas pu voir le jour sans un certain nombre de rencontres et de collaborations fructueuses, en tête desquelles nous citons l'aide précieuse de Mr. Nacer ZAID, responsable du laboratoire de colimétrie au laboratoire de santé de la wilaya de Skikda. Nous tenons à remercier également Asma, Amina et Samira, techniciennes et ingénieures du laboratoire de colimétrie. Aussi M^{me} Wahida BOUAZIZ, directrice de la santé sans laquelle nous n'aurions pu avoir accès à ce stage.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude aux ingénieurs des laboratoires pédagogiques de l'université de Skikda surtout Sabra, Hamida, Yamina et Djamila.

Thank you to all, truly.

Sommaire

Liste des figures.....	VI
Liste des tableaux.....	IX
Liste des abréviations.....	X
Introduction générale.....	1

Chapitre I: Synthèse bibliographique sur le peuplement fongique

I. Introduction.....	4
I.2. Définition des champignons	4
I.3. Morphologie des champignons microscopiques	5
I.4. Les champignons unicellulaires ou levures	6
I.5. Les champignons filamenteux ou moisissures (pluricellulaires)	6
I.6. La structure	7
I.7. Classification des champignons	7
I.8. Les champignons filamenteux marins	8
I.8.1. Définition.....	9
I.8.2. Profil écologique.....	9
I.8.3. Fonction écologiques	9
I.8.5.1. Habitats dans l'écosystème marin	10
I.8.5.2. Disponibilité des substrats fongiques dans l'écosystème marin	10
I.8.5.2. Répartition géographique et température.....	11
I.8.5.3. Effet de la salinité.....	11
I.8.5.4. Pression hydrostatique	11
I.9. Conclusion	11

Chapitre II : Généralité sur les biopolymères

II.Introduction	14
II.2. Définitions	14
II.3. Types des biopolymères	15

II.3.1. Polymères pétrochimiques	15
II.3.2. Polymères biosourcés	16
II.4. Différentes familles de biopolymères	17
II.4.1. Les biopolymères d'origine bactérienne	17
II.4.2. Biopolymères synthétiques	18
II.4.3. Biopolymères d'origine végétale et animale	18
II.4.3.1. Polysaccharides	18
□ L'Amidon.....	19
□ La pectine.....	20
□ La chitine	20
□ La chitosane	21
II.4.3.2. Protéines	21
II.5. Propriétés des biopolymères	22
II.5.1. Biodégradabilité	22
II.5.2. Perméabilité à la vapeur d'eau	22
II.6 Conclusion	23

Chapitre III : Biodégradation des biopolymères

III. Introduction.....	24
III.1 Définitions	25
III.1.1 Dégradation.....	25
III.1.2. Biodégradation	26
III.1.3 Bio-assimilation.....	28
III.1.4. Compostage.....	28
III.2. Mécanismes de dépolymérisation.....	29
III.2.1.La dépolymérisation	29
III.2.1. Hydrolyse chimique	29
III.2.3. Photo-dégradation	31

III.3 Paramètres influençant la biodégradation	31
III.3.1 La flore microbienne	31
III.3.2 Paramètres physico-chimiques du milieu	32
III.3.2.1 La teneur relative en eau	32
III.3.2.2. Température.....	32
III.3.2.3 pH.....	32
III.3.2.4 Rapport C/N.....	33
III.3.3 Structure et propriétés du polymère	33
III.3.3.1 Taux de cristallinité.....	33
III.3.3.2 Surface de contact spécifique micro-organismes/substrat	33
III.3.3.3 Composition d'un polymère	34
III.3.3.4 Hydrophobie	34
III.4 Méthodes d'estimation de la biodégradation d'un matériau polymère.....	35
III.4.1 Paramètres de mesure	35
III.4.1.1 Perte de masse	35
III.4.1.2 Développement microbien	36
III.4.1.3 Suivi des propriétés mécaniques et analyses physico-chimiques	36
III.4.2 Respirométrie	36
III.4.2.1 Mesure de la consommation d'oxygène.....	37
III.4.2.1.2 Mesure de la production de dioxyde de carbone	37
III.5 Les différents tests en laboratoire	38
III.5.1 Tests en milieu compost	38
III.5.2 Test en milieu liquide	38
III.5.3 Tests en milieu gélosé.....	39
III.6 Conclusion.....	39

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV. Introduction.....	41
-----------------------	----

IV.1. Présentation de la zone d'étude	41
IV.3 Prélèvement des échantillons	42
IV.3.1 Analyses bactériologiques	43
IV.3.1.1 Recherche des coliformes totaux	43
IV.3.1.2. Recherche des Streptocoques fécaux	47
IV.3.2. Analyses physico-chimiques	49
IV.3.2.1. Détermination du pH, de la conductivité et de la température	49
IV.3.2.2. Détermination de l'oxygène dissous	50
IV.3.2.3. Détermination de la turbidité	50
IV.3.2.4. Détermination de la demande biologique en oxygène (DBO ₅)	51
IV.4. Isolement des champignons microscopiques	51
IV.4.1. Préparation du milieu de culture pour le dénombrement des fungis	51
IV.4.3. Préparation des échantillons	52
IV.5. Elaboration des biopolymères	54
IV.5.1. Biopolymère à base de féculs de pomme de terre	54
IV.5.1.1. Extraction d'amidon de pomme de terre	54
IV.5.1.2. Transformation de l'amidon en film plastique	54
IV.5.2. Biopolymère à base d'Agar Agar	56
IV.5.2.1. Transformation de l'amidon en film plastique	56
IV.6. La biodégradation des biopolymères	57
IV.6.1. Préparation du milieu de biodégradation :	57
IV.6.1.1. Préparation du milieu Bold Basal liquide	57
IV.6.1.2. Préparation du milieu Bold Basal solide	58
IV.6.2. Biodégradation des biofilms	58
IV.6.4.1. Biodégradation en milieu liquide	59
IV.6.4.2. Biodégradation en milieu solide	60

Chapitre V : Résultats et discussions

V.Introduction	62
V.1. Analyse de l'eau	62
V.2. Isolement et identification des souches fongiques.....	63
V.2.1. Description et illustration des différents genres et espèces isolés.....	63
V.2.1.1. <i>Cladosporium</i>	63
V.2.2.3. <i>Aspergillus niger</i>	65
V.2.2.4. <i>Aspergillus fumigatus</i>	67
V.2.2.5. <i>Aspergillus nidulans</i>	69
V.4 La biodégradation des biopolymères	71
V.4.1. Biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar.....	71
V.4.1.1. Biodégradation en milieu liquide.....	71
V.4.1.3. Rendement de biodégradation des biopolymères à base d'agar- agar	73
V.4.2. Biodégradation du biopolymère à base d'amidon.....	74
V.4.2.1. Biodégradation en milieu liquide.....	74
V.4.2.2. Biodégradation en milieu solide	75
V.4.2.3. Rendement de dégradation pour les biopolymère à base d'agar- agar	76
Conclusion générale	80

Liste des figures

Figure I.1 : Schéma montrant le mycélium et le hyphes chez les champignons	5
Figure I.2 : Schémas caractérisation les types de filaments non cloisonnés et cloisonnés.....	7
Figure I.3 : Les différentes divisions des champignons (A) les Ascomycètes(Caval.-Sm., 1998) (B) Les Chytridiomycètes(Cavalier-Smith 1998) (C)Deutéromycètes (P. Micheli ex Link, 1809) (D) Zygomycètes (Moreau, 1954)(E) Basidiomycètes,(R.T. Moore, 1980)	8
Figure II.1 : Végétaux fréquemment utilisés pour l'élaboration de biopolymères	14
Figure II.2 : Classification des différents types de biopolymères (Abdulbagi, 2020).....	15
Figure II.3 : Structure chimique du Xanthane (Lambert, 2017)	17
Figure II.4 : Structure chimique du Poly Acide Lactique (Mani, 2016)	18
Figure II.5 : Structure chimique de la cellulose (Decroix, 2019).....	19
Figure II.6 : Structure de la cellobiose	19
Figure II.7 : Structure moléculaire de l'Amylose et de l'amylopectine (Dospinescu-Rosu, 2011).....	20
Figure II.8 : Structure moléculaire du motif monomérique de la pectine (Chevalier, 2018) ...	20
Figure II.9 : Structure moléculaire du motif monomérique de la chitine (Zitouni, 2013).....	21
Figure II.10 : Représentation des enchainements des fonctions amides des protéines (Hamaguchi, 2002)	21
Figure II.11 : Exemple de biodégradation d'un bioplastique utilisé pour l'emballage alimentaire (Lefaux, 2005).....	22
Figure III.1 : Le processus de biodégradation des plastiques (Dussud, 2014)	26
Figure III.2 : Processus de dépolymérisation.....	29
Figure III.3 : Hydrolyse de l'amidon en milieu alcalin.....	30
Figure III.4 : Mécanismes de rupture de chaîne pour les polyéthylènes contenant des groupements carbonyles photosensibles (Norrish, 1965).....	31
Figure III.6 : Structure des monomères et polymères.....	34
Figure III.7 : Réaction biochimique en milieu Aérobie et anaérobie	37
Figure IV.1 : Vue aérienne de la ville de Skikda	41
Figure IV.2 : Localisation GPS de la plage 'la jetée'(36.902073 N,6.902900 E)	42
Figure IV.3 : Echantillon de sable et d'eau au niveau de la plage la jetée.....	42
Figure IV.4: Technique d'ensemencement pour la recherche des coliformes.	44
Figure V.5 : Méthode de lecture des résultats par la méthode de MacGrady.....	44
Figure IV.6: Technique d'ensemencement pour la recherche des streptocoques fécaux.	48

Figure IV.7 : Multi-paramètres de paillasse type HACK multi HQ 40d.....	49
Figure IV.8 : Oxymètre portable de référence HACK sensION ^{tm+} DO6	50
Figure IV.9: Turbidimètrephotomètre de type EUTECH Instruments turbidimeter TN-100...	50
Figure IV.10 : DBO-mètre utilisé pour la mesure de la demande biochimique en oxygène durant 5 jours	51
Figure IV.11 : Etape de préparation du milieu de culture Sabouraud.....	52
Figure IV.12 : Etape de l'ensemencement des microfunges	53
Figure IV.13 : Boîtes de Pétri après 8 jours d'incubation.....	53
Figure IV.14 : Technique de repiquage	53
Figure IV.15 : Les différentes étapes de l'extraction de l'amidon.....	54
Figure IV.16 : Les étapes d'élaboration des biopolymères à base d'amidon de pomme de terre	55
Figure IV.17 : Les étapes d'élaboration des biopolymères à base d'agar-agar. A : Ingrédients de préparation du biopolymère. B : Biopolymère préparé et séché.	56
Figure IV.18 : Biodégradation en milieu liquide	60
Figure IV.19 : Biodégradation en milieu solide.....	60
Figure V.1 : Les souches utilisées pour la biodégradation des biopolymères. A) <i>Aspergillus fumigatus</i> , B) <i>Cladosporium</i> , C) <i>Acremonium</i> , D) <i>Aspergillus niger</i> , E) <i>Aspergillus nidulans</i>	63
Figure V.2 : <i>Cladosporium sp.</i> isolé. Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B). C) Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400	64
Figure V.3 : <i>Acremonium sp.</i> Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B). C)Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400	65
Figure V.4 : <i>Aspergillus niger</i> . Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B). C)Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400.....	67
Figure V.5 : <i>Aspergillus fumigatus</i> . Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B). C)Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400.....	69
Figure V.6 : <i>Aspergillus nidulans</i> . Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B). C)Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400.....	69
Figure V.7 : Biopolymère élaboré à base d'agar-agar (A). Biopolymère à base d'amidon (B).	70
Figure V.8 : Biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar en milieux liquide. Agar LB : Avant biodégradation. Agar LA : Après biodégradation.....	71

Figure V.9 : Biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar en milieu solide. SB : Solide avant traitement. SA : Solide après traitement.....	72
Figure V.10 : Rendement de biodégradation du biopolymères à base d'agar-agar après 30 jours dans les deux milieux. L : Liquide, S : Solide.....	73
Figure V.11 : Biodégradation du biopolymère à base d'amidon en milieu liquide. LB : Liquide avant traitement. LA : Liquide après traitement.	74
Figure V.12 : Biodégradation du biopolymère à base d'amidon en milieu solide. SB : Solide avant traitement. SA : Solide après traitement.....	75
Figure V.13 : Rendement de biodégradation du biopolymères à base d'amidon après 30 jours dans les deux milieux. L : en milieu liquide. S : en milieu solide	76

Liste des tableaux

Tableau II.1 : Applications médicales de quelques biomatériaux cellulose (Renaud et al., 2014)	16
Tableau III.1 : Définitions relatives à la biodégradation des matériaux (Leklou, 2008)	27
Tableau IV.1 : Table de calculs du NPP en milieu liquide	45
Tableau V.1 Résultat de l'analyse de l'eau de la plage la jetée	62

Liste des abréviations

- **ADEME** : Agence de l'Environnement de la Maîtrise de l'Energie.
- **DBO₅** : Demande biologique en oxygène durant 5 jours.
- **LA** : Liquid After.
- **LB** : Liquid before.
- **mS/cm** : Milli siemens par centimètre.
- **NTU** : Unité de Turbidité Néphélométrique.
- **PA** : Polyamide.
- **PCL** : Polycaprolactone.
- **PDS** : Polydioxanone.
- **PE** : Polyéthylène.
- **PET** : Polyéthylène téréphtalate.
- **PHA** : Polyhydroxylcanoates.
- **PHB** : Polyhydroxybutyrate.
- **PHV** : Hydroxyl-valerate.
- **PLA** : Acide polylactique.
- **PTFE** : Polytétrafluoréthylène.
- **SA** : Solide After.
- **SB** : Solide Before.

Introduction générale

Introduction générale

On estime à 1.5 millions le nombre d'espèces de champignons vivant sur Terre (*Hawksworth, 2001*). Cependant, seulement 14% de ces organismes ont été découverts, ce qui peut être expliqué par la difficulté de cultiver ces organismes en conditions de laboratoire mais aussi en raison d'un manque de connaissances et d'un sous-échantillonnage de ces organismes dans de nombreux biotopes de la planète (*Hawksworth & Rossman, 1997 ; Neubert et al., 2006*). Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) aspect filamenteux ou levuriforme (*Chabasse et al., 2002*). Dépourvus de chlorophylle, ils ne peuvent pas, comme les plantes, synthétiser leur matière organique à partir du CO₂ atmosphérique. Ils doivent donc puiser dans le milieu ambiant eau et les substances organiques et minérales nécessaires à leurs propres synthèses ; ils sont hétérotrophes. Pour cela ils dégradent la matière organique complexe grâce à excrétion enzymes et d'acides puis ils en absorbent les composants digérés, tout ceci effectuant à travers la paroi perméable de leur appareil végétatif.

L'industrie plastique est parmi les plus importantes activités industrielles chimiques en termes de quantité et diversité des secteurs d'applications. La consommation européenne en plastique en 2002 a atteint 40 millions de tonnes par an avec une part importante du secteur emballage (38 %) conduisant à des problèmes de gestion de déchets. Par ailleurs, face à la hausse du prix du pétrole et la diminution progressive des stocks, ce secteur dépendant essentiellement des ressources fossiles devra rapidement trouver une alternative aux matières premières conventionnelles qu'il utilise. Par leur abondance et leur diversité, les polymères issus du monde végétal offrent une nouvelle source de matières premières renouvelables en industrie plastique. Grâce à leurs propriétés de biodégradabilité, ces polymères pourraient constituer une solution aux problèmes environnementaux engendrés par les importants tonnages de déchets plastiques. Le plus souvent, c'est la première propriété qui est mise en avant dans la littérature pour ces polymères (*Rustgi, 1998 ; Lorcks, 1998 ; Scott, 2002 ; Kalra, 2002 ; Tharanathan, 2003 ; Auras et al., 2004*). D'autres propriétés méritent également d'être considérées pour des applications spécifiques dans le secteur des matières plastiques.

Introduction générale

La voie de valorisation des matières plastiques consiste à dégrader ceux-ci une fois leur tâche remplie. Cette voie fait appel aux matières polymères biodégradables. Un matériau biodégradable se prend en charge lui-même pour sa propre élimination. Toutefois, cette définition est trop générale. Plusieurs autres acceptions existent, variables en fonction des auteurs, des méthodes de mesure de la biodégradabilité ou selon que la dégradation s'effectue dans le sol, l'eau, en milieu de compostage ou en décharge. Néanmoins, un consensus s'est dégagé autour de la notion d'impact sur l'environnement : un matériau est dit biodégradable s'il est dégradé par des microorganismes (bactéries, champignons), le résultat étant la formation d'eau et de CO₂ (CH₄) et, éventuellement, d'une nouvelle biomasse non toxique pour l'homme et pour l'environnement.

Par conséquent, l'objectif principal de ce travail est de confirmer si les champignons filamenteux marins ont réellement des propriétés de dégradation des biopolymères organiques.

Le présent mémoire s'articule autour de cinq chapitres :

- **Le premier chapitre** présente une synthèse bibliographique sur le peuple fongique. Il aborde les connaissances théoriques sur le règne des champignons microscopiques, et un rappel des principales données bibliographiques concernant l'étude des peuplements fongiques.
- **Le deuxième chapitre** décrit des généralités sur les biopolymères, leurs différents types et familles, ainsi que leur origine en illustrant quelques-unes de leurs propriétés.
- **Le troisième chapitre** présente des notions générales sur la biodégradation des biopolymères. Dans ce chapitre nous avons parlé de la biodégradation en générale et plus précisément des processus de dépolymérisation et de certains paramètres influençant la biodégradation.
- **Le quatrième chapitre** présente les matériels et méthodes utilisés dans l'élaboration du présent travail.
- **Le cinquième chapitre** est assez explicite, où nous avons discuté des résultats que nous avons obtenus après avoir conclu nos recherches et expériences.

Notre mémoire se termine par une conclusion générale qui fait le bilan de la problématique, objectifs visés par notre étude, et méthodologie de recherche suivie, ainsi que les principaux résultats obtenus.

Chapitre I

I. Introduction

Les champignons constituent une des lignées les plus diverses des Eucaryotes (*Blackwell, 2011*) et ils représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre car ils jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (*Muclier & Schmit, 2007*). De plus, ils ont un rôle économique important en tant que producteurs de biomolécules utilisées en pharmacologie et en recherche industrielle (*Stajich et al., 2009*). Toutefois, leur étude a surtout été dirigée vers les écosystèmes continentaux (*Richards et al., 2012*), et les groupes à intérêts économiques, laissant une partie de leur diversité encore inondée. Ce sont des organismes eucaryotes à mode de reproduction sexuée ou asexuée. Les spores produites peuvent avoir un rôle dans la dispersion des champignons, mais peuvent également jouer un rôle dans la survie de l'organisme lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables (*Madelin, 1994*).

I.2. Définition des champignons

Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) aspect filamenteux ou levuriforme (*Chabasse et al., 2002*). Dépourvus de chlorophylle, ils ne peuvent pas, comme les plantes, synthétiser leur matière organique à partir du CO₂ atmosphérique. Ils doivent donc puiser dans le milieu ambiant eau et les substances organiques et minérales nécessaires à leurs propres synthèses ; ils sont hétérotrophes. Pour cela ils dégradent la matière organique complexe grâce à l'excrétion d'enzymes et d'acides puis ils en absorbent les composants digérés, tout ceci s'effectuant à travers la paroi perméable de leur appareil végétatif,

La majorité des champignons absorbent des aliments, de substrats comme le sol, le bois, les matières organiques pourries. D'autres sont des parasites obligatoires qui se nourrissent de nutriments dérivés de plantes vivantes et de tissus d'animaux. Les champignons sont :

- Hétérotrophes vis-à-vis du carbone, qu'ils doivent trouver dans leur environnement immédiat ;
- Organotrophes : ils se nourrissent de composés organiques ;
- Absorbantrophes : ils se nourrissent par absorption ;

Chapitre I Synthèse bibliographique sur le peuplement fongique

- Cryptogames : ils se reproduisent par spores ;
- Des thallophytes : ils ne possèdent ni tige, ni feuilles, ni racines.

Les habitats des champignons sont très divers. Quelques-uns sont aquatiques, essentiellement d'eaux douces et un petit nombre de champignons marins sont également connus, cependant, la plupart des espèces sont terrestres (*Brunel, 2005*). Ils colonisent le sol ou les débris végétaux et jouent un rôle essentiel dans la minéralisation du carbone organique. On distingue trois groupes majeurs de champignons :

- Les levures ;
- Les moisissures ;
- Les champignons macroscopiques.

I.3. Morphologie des champignons microscopiques

Les mycètes (champignons) sont des organismes eucaryotes, unicellulaires (levure) ou filamenteux (moisissures) Leur unité cellulaire de base est appelée hyphe. C'est une cellule tubulaire emprisonnée dans une paroi rigide de chitine. Les hyphes se multiplient au niveau de leurs extrémités, formant ainsi une masse emmêlée appelée mycélium.

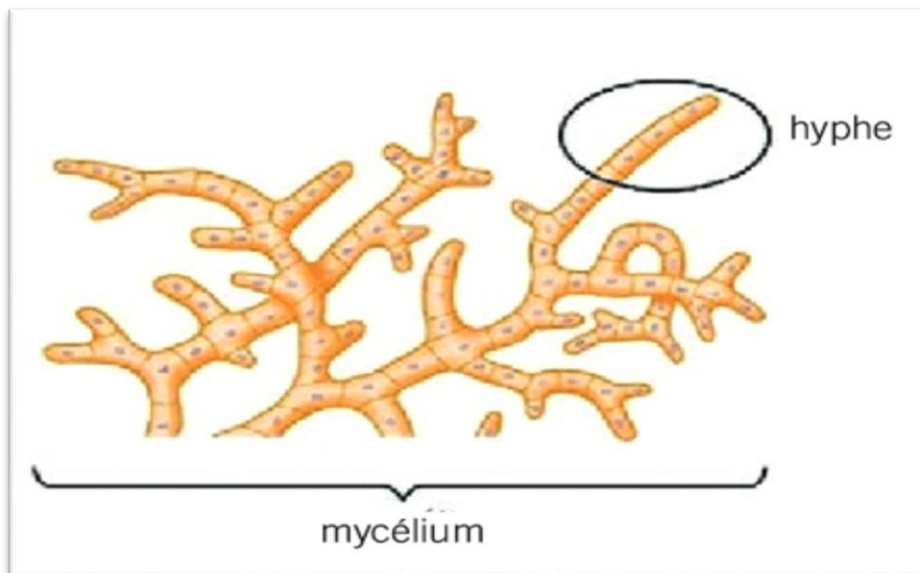


Figure I.1 Schéma montrant le mycélium et l'hyphe chez les mycètes

Les Mycètes se nourrissent par absorption. Ce mode de nutrition consiste à absorber les petites molécules organiques du milieu. Les mycètes digèrent leur nourriture à l'extérieur de leur corps en l'hydrolysant au moyen de puissantes enzymes. Ces enzymes décomposent

Chapitre I Synthèse bibliographie sur le peuplement fongique

les molécules complexes en composés simples que les mycètes peuvent alors absorber et utiliser et Ils synthétisent leurs propres nutriments à partir de l'eau et des éléments nutritifs et minéraux qu'ils puisent dans leur environnement. Ces organismes sont très importants et vivent en relation avec d'autres organismes, selon plusieurs manières.

- **Saprophytes** : ils prélèvent leurs nutriments à partir de matières organiques en décomposition. Ils sont très importants en tant que décomposeurs et recycleurs de matières mortes.
- **Parasites** : leurs nutriments proviennent de la matière vivante.
 - Mycoses (chez les animaux),
 - Maladies fongiques (chez les végétaux: phytopathogènes) fabrication de mycotoxines.
- **Symbioses** : ces mycètes obtiennent leurs nutriments grâce à un autre organisme, leur procurant en retour certains bénéfices.

I.4. Les champignons unicellulaires ou levures

Les cellules de levures peuvent être sphériques, ovales ou cylindriques. La division cellulaire s'opère typiquement par bourgeonnement. Lors de ce processus, une petite excroissance se forme sur la cellule mère ; le bourgeon grossit progressivement avant de se séparer. Il peut être unipolaire, bipolaire, multipolaire ou multilatéral. Bien que la reproduction de la plupart des levures conduise à des cellules isolées, quelques levures présentent des formes filamenteuses.

I.5. Les champignons filamenteux ou moisissures (pluricellulaires)

La structure fondamentale d'un champignon multicellulaire est l'hyphe, tissu tubulaire, ramifié, de 2 à 15 μm de diamètre et de longueur indéterminée. Les hyphes s'associent pour former un réseau de filaments appelés, mycélium. Chez ce type on distingue :

- Des filaments non cloisonnés, siphonnés
- Des filaments cloisonnés ou septés.

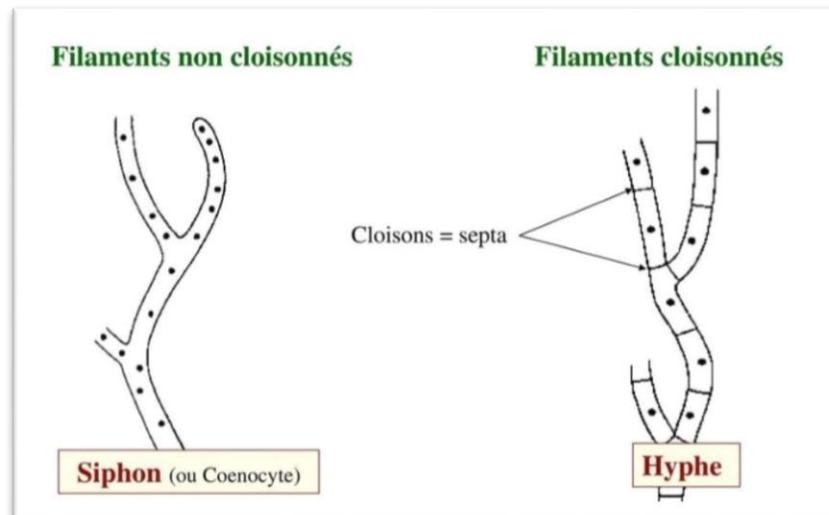


Figure I.2 Schéma caractérisation les types de filaments non cloisonnés et cloisonnés

I.6. La structure

L'organisation cellulaire des champignons est appelée le thalle. Chez les champignons microscopiques, le thalle peut être unicellulaire (levures) ou filamenteux (moisissures). Certaines levures sont toutefois capables de former des structures filamenteuses (pseudomycélium) dans certaines conditions (*Bensabra, 2008*). Les levures ont une taille généralement comprise entre 10 et 50 μm leur forme peut être sphérique, ovoïde, allongée, cylindrique. La grande majorité des champignons se présentent sous une forme filamenteuse, caractérisée par une structure tubulaire, ramifiée, et plurinucléée (*Najih, 2008*). Le diamètre des hyphes varie considérablement en fonction des conditions de l'environnement, de leur position dans la colonie, et surtout d'une espèce à l'autre, de 3-4 μm à plus de 10 μm . L'ensemble des hyphes constituent le mycélium.

I.7. Classification des champignons

La classification des champignons est basée principalement sur :

- Le type du thalle,
- Le type de reproduction (sexuée et asexuée),
- L'écologie
- Et la constitution cellulaire.

Chapitre I Synthèse bibliographique sur le peuplement fongique

Six divisions sont connues chez les mycètes :

- Les Chytridiomycètes,
- les Oomycètes,
- les Ascomycètes,
- les Basidiomycètes,
- les Zygomycètes
- et les Deutéromycètes.

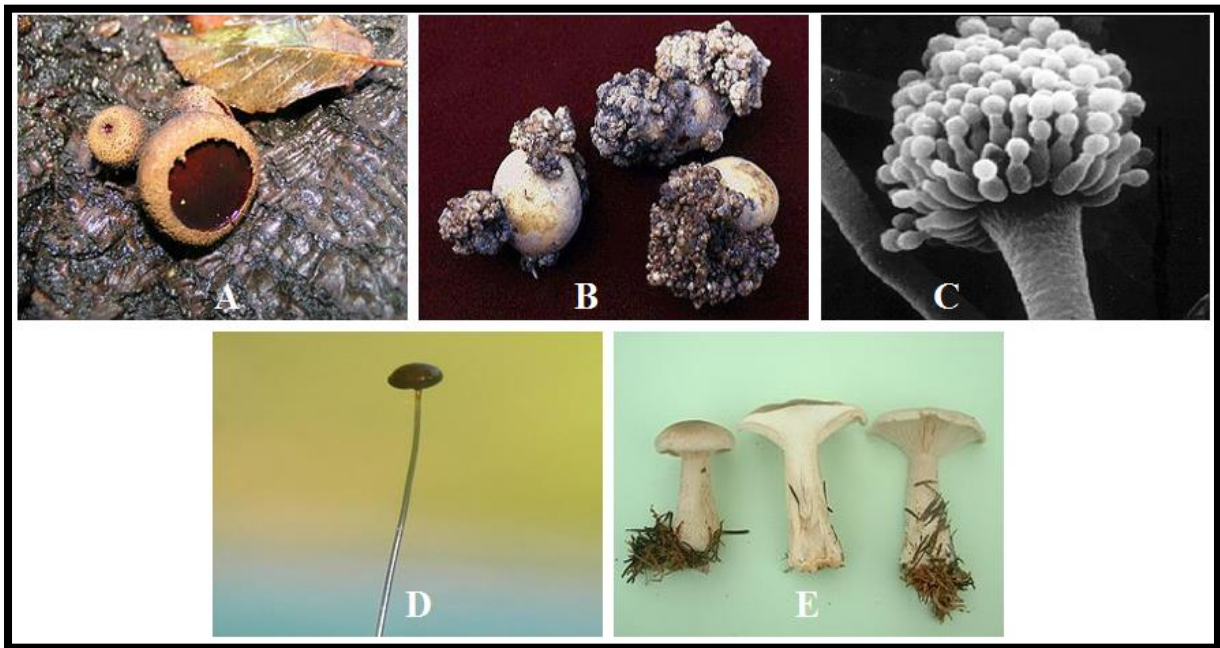


Figure I.3 Les différentes divisions des champignons (A) les Ascomycètes (B) Les Chytridiomycètes, (C) Deutéromycètes, (D) Zygomycètes, (E) Basidiomycètes.

I.8. Les champignons filamenteux marins

La présence de champignons filamenteux microscopiques dans la mer est connue depuis longtemps.. Quelques travaux de la première moitié du siècle avaient signalé l'existence de champignons saprophytes dans l'environnement marin (*Sparrow, 1934*).

Il a fallu attendre 1944 pour que la mycologie marine puisse prendre un véritable envol avec la parution des travaux de *Barhoom et Linder (1944)*, premier ouvrage descriptif important présentant un grand nombre d'espèces marines.

I.8.1. Définition

Les champignons marins microscopiques appelés aussi microfonges marines sont des champignons unicellulaires ou filamenteux microscopiques dont les plus grands d'entre eux ne mesurent que quelques millimètres (*Boutiba, 2015*).

Selon leurs besoins environnementaux et physiologiques, plusieurs définitions ont été offertes pour les champignons marins.

I.8.2. Profil écologique

Le nombre actuel d'espèces marines obligatoires de champignons supérieurs est de 549 dont 54 seulement décrites après l'an 2000 (*Jones, 2011*). Près de 450 d'entre elles sont des Ascomycota, les autres étant des Anamorphes ou des Basidiomycota. On trouve également des espèces fongiques Saprophytes ou Endophytes, sur des plantes marines. D'autres sont isolées à partir de sable, de coraux, d'algues calcaires, de coquilles de mollusques, d'exosquelettes d'hydrozoaires ou de tubes d'annélides. La plupart de ces espèces font partie de la diversité étudiée en zone littorale et sublittoral (*Jones, 2011*).

I.8.3. Fonctions écologiques

Les champignons jouent un rôle important de décomposeur de substrats ligneux (bois) flottant dans les écosystèmes marins (*Hyde et al., 1998*). Ainsi, ils ont un rôle clé puisqu'ils fractionnent un polymère complexe en matière organique particulière qui devient utilisable pour d'autres organismes du réseau trophique. On l'observe également dans des systèmes riches en carbone organique dissous produit par des organismes autotrophes (phytoplancton).

I.8.4. Les levures en milieu marin

Les levures sont omniprésentes dans l'environnement marin. Elles sont fréquemment trouvées dans le tube digestif des organismes marins, dans l'eau de mer et dans le sable de plage (*Vogel et al., 2007*). On considère donc que les facteurs affectant la distribution des levures marines comprennent les courants, la migration des organismes marins et la contamination provenant de sources terrigènes (*Kutty et Philip 2008*).

I.8.5. Facteurs influençant la biodiversité des champignons marins

L'écologie des champignons marins, leur préférence d'habitat, et les facteurs affectant et influençant leur croissance dans la mer sont examinés (*Bagnères, 2017*). La référence particulière est faite aux effets des habitats :

- disponibilité des substrats pour la colonisation
- la répartition géographique et la température,
- et la salinité.

Cependant, ce sont seulement quelques-uns des facteurs qui ont un effet sur l'occurrence et la distribution des mycètes marins (*Dumas, 2020*). D'autres incluent :

- les aliments organiques dissous,
- la concentration d'ion d'hydrogène,
- les effets osmotiques,
- la disponibilité de l'oxygène,
- les polluants, l'abondance de propagules dans l'eau,
- la pression hydrostatique, la spécificité de substrats,
- la température et
- l'amplitude des marées, et peut être même la lumière

La diversité des espèces de champignons marins est donc contrôlée par un amalgame de facteurs en interaction.

I.8.5.1. Habitats dans l'écosystème marin

Bien que le terme « marin » soit employé pour englober tous les champignons qui se reproduisent en mer, ils sont souvent appelés marins, océaniques, manglicoles, arénicoles ou estuariens.

I.8.5.2. Disponibilité des substrats fongiques dans l'écosystème marin

Une large gamme de substrats sont disponibles dans la mer et se sont révélés être colonisés par un certain nombre de micromycètes (*Jones et Mitchell, 1996*). Il est très important de noter que l'abondance du matériel pour la colonisation varie d'un site à l'autre.

I.8.5.2. Répartition géographique et température

Un autre facteur principal qui régit la diversité fongique est la répartition géographique et la température de la mer. *Booth et Kenkel (1986)* suggèrent que la température de la mer est le facteur le plus important dans la répartition géographique des mycètes marins.

I.8.5.3. Effet de la salinité

La salinité et la température sont les principaux facteurs affectant la diversité des champignons marins (*Perez et al., 2000*).

Les salinités élevées réduisent généralement la production des cellulases (*Hardy, 2016*). Ceci est un autre facteur qui peut jouer un rôle dans la détermination de la diversité des espèces dans l'environnement marin.

La force d'adaptation des champignons aux conditions salines fait que pour certains d'entre eux, la salinité peut devenir un facteur limitant, avec un ralentissement de la croissance lorsque la concentration en sel diminue (*Jabnoun, 2008*). De plus, certains champignons ont montré une complète inhibition de leur développement sur des milieux appauvris en eaux salées.

I.8.5.4. Pression hydrostatique

La pression hydrostatique pourrait être un paramètre important pour contrôler la croissance des champignons marins. Ces dernières années, différentes études ont été menées pour explorer la diversité des microeucaryotes et plus particulièrement la diversité fongique au sein d'environnement extrêmes (*Calvez, 2009*). Aujourd'hui, il est établi que les sédiments marins profonds abritent des microorganismes viables. Des champignons non sporulant des champignons du genre *Aspergillus* ont été isolés de sédiments prélevés dans le bassin central indien jusqu'à une profondeur de 50 cm (*Damare et al., 2006*).

I.9. Conclusion

Les champignons sont des organismes hétérotrophes ubiquistes très répandus dans la nature, notamment au niveau des végétaux en décomposition jouant des rôles pivots dans de nombreux écosystèmes. Les champignons filamenteux sont plus particulièrement absorbotrophes puisqu'ils absorbent les éléments, digérés de manière extracellulaire, au

Chapitre I Synthèse bibliographie sur le peuplement fongique

travers de leur appareil végétatif présentant une perméabilité pariétale. Ainsi, les macromolécules naturelles, comme les protéines, la cellulose, l'amidon, etc., sont généralement dégradées dans les systèmes biologiques par hydrolyse puis oxydation (**Chandra et Rustgi, 1998**). Les polyesters aliphatiques flexibles sont dégradés biologiquement et les polyesters aliphatiques/aromatiques rigides sont généralement considérés comme inertes (**Saadi, 2008**).

Chapitre II

II. Introduction

Dans ce deuxième chapitre nous présenterons une revue bibliographique sur la description des polymères naturels (polysaccharides : chitine, cellulose, amidon, etc.), et des biomatériaux par leurs utilisations et leurs intérêts par des scientifiques et industriels dans le développement de nouvelles ressources d'énergie et aussi de nouveaux matériaux. Il porte aussi sur une synthèse bibliographique concernant les différentes familles et origines des biopolymères avec leurs compositions et applications dans différents domaines.

II.2. Définitions

Selon l'UIPAC (Union international de Chimie et Appliquée), les biopolymères sont définis comme étant des bio-macromolécules synthétisées par des organismes vivants. Selon l'ADEME (Agence de l'Environnement de la Maîtrise de l'Energie), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux.



Figure II.4 Végétaux fréquemment utilisés pour l'élaboration de biopolymères

Les biopolymères peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels et par la fermentation des micro-organismes (*Mokrani, 2012*).

II.3. Types des biopolymères

Les polymères sont très fréquemment utilisés pour des applications médicales. Leurs propriétés de biocompatibilité associées à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues dans ce domaine. Les polymères utilisés en tant que biomatériaux peuvent être répartis en deux groupes selon leur origine pétrochimique ou biosourcée.

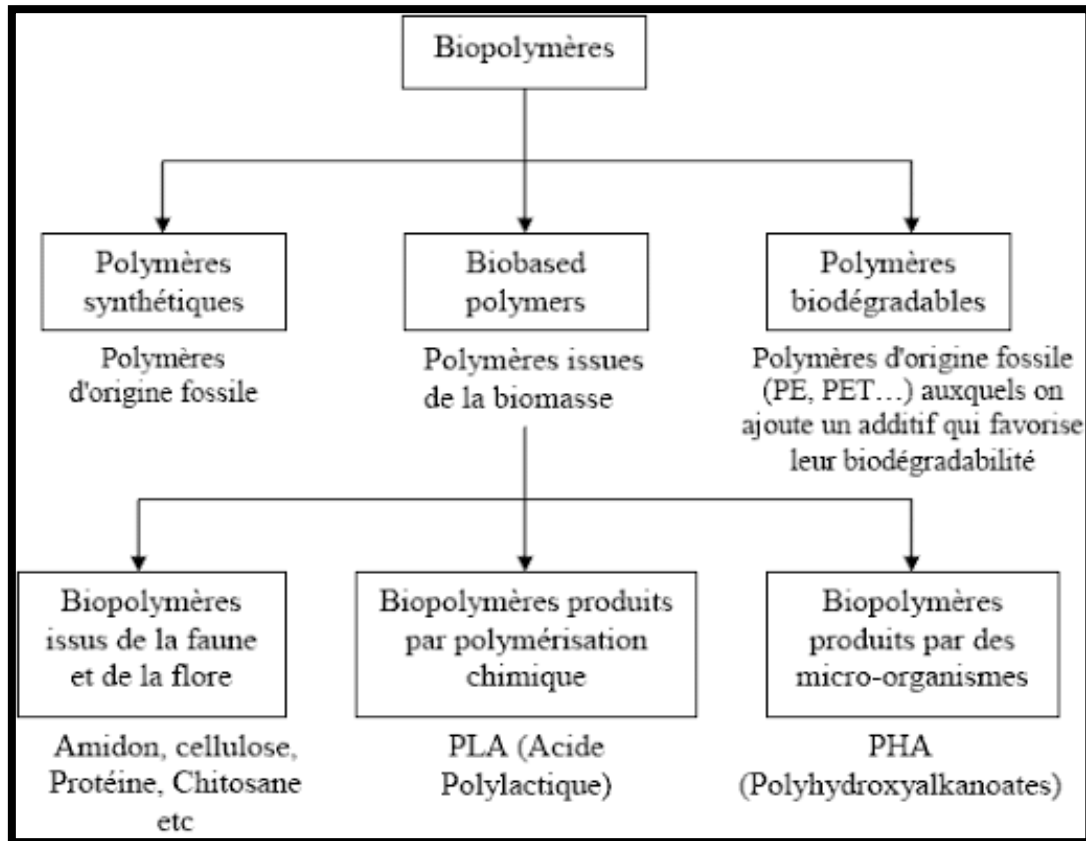


Figure II.5 Classification des différents types de biopolymères (Abdulbagi, 2020)

II.3.1. Polymères pétrochimiques

Le polyéthylène (PE), le polyamide (PA), le polyéthylène téréphtalate (PET) et le polytétrafluoréthylène (PTFE) sont des polymères synthétiques hydrophobes et non biodégradables utilisés dans le domaine médical, pour leurs propriétés mécaniques adaptées à ce domaine. Leurs applications principales sont les sutures et les implants vasculaires. Parmi les biomatériaux pétrochimiques, il existe également des polymères pétrochimiques dégradables, comme exemple le polycaprolactone (PCL) et le polydioxanone (PDS).

De nombreux biopolymères peuvent donc être obtenus à partir de ressources fossiles. Cependant, ils présentent parfois l'inconvénient de ne pas satisfaire aux besoins de certaines applications médicales, notamment à cause de leur rigidité. C'est pourquoi des scientifiques tentent de trouver des alternatives parmi lesquelles ; l'utilisation de ressources dites renouvelables semble être l'une des voies les plus prometteuses (*Claudet, 2005*).

II.3.2. Polymères biosourcés

Depuis quelques années, les polymères d'origine pétrochimique sont de plus en plus souvent remplacés par des polymères d'origine naturelle végétale ou animale. A titre d'exemple, la chitine, la gélatine ou le collagène sont parfois utilisés en tant que biomatériaux. Cependant, leurs applications restent limitées à cause des risques potentiels dus à leur origine, comme par exemple des risques viraux. Des traitements sont alors proposés pour éliminer ces risques, mais ils altèrent parfois ces matériaux d'origine naturelle et réduisent ainsi leur intérêt. C'est la raison pour laquelle un intérêt croissant s'est porté sur les polymères d'origine végétale. Des biomatériaux à base d'amidon ou en cellulose sont ainsi utilisés en tant qu'implants ou pour des traitements spécifiques (*Schmidt, 1999*).

Tableau II.1 Applications médicales de quelques biomatériaux cellulosique (*Renaud et al.,2014*)

Biomatériaux cellulosiques	Application
Cellulose bactérienne/ microbienne	- Dermatologie - Implants - Fils de suture
Membrane cellulosique (cellulose régénérée, acétate de cellulose)	- Traitement rénal
Acétate, propanoate, acétate-butyrates de cellulose	- Membrane
Acétate-butyrates de cellulose	- Encapsulation

D'autres polymères obtenus à partir de la biomasse, tels que les polylactides (PLA), les polyhydroxyalcanoates (PHA) sont utilisés pour des implants médicaux. La majorité de ces matériaux sont hydrophiles. Cependant, cette propriété peut être un inconvénient pour l'utilisation d'un dispositif médical qui doit être retiré par suite, puisqu'un biomatériau hydrophile a tendance à coller aux tissus.

De plus, le caractère hydrophiles du biomatériau peut entraîner une dégradation rapide dans certains milieux ce qui n'est pas toujours la finalité recherchée, particulièrement lors du comblement permanent d'une cavité. Par ailleurs, l'utilisation de certains biomatériaux, comme par exemple le PLA, est parfois problématique à cause de ses faibles propriétés mécaniques, et surtout des risques de réactions inflammatoires dues à la libération d'acides lors de la dégradation du polymère.

Les autres polymères biosourcés, comme la cellulose et des dérivés, ne présentent pas ce relargage acide, et se révèlent par ailleurs être des biomatériaux compatibles avec les tissus durs ou mous (*Schmidt, 1999*).

II.4. Différentes familles de biopolymères

II.4.1. Les biopolymères d'origine bactérienne

Ce sont en général des polyesters et ils sont utilisables en l'état. On par exemple les polyhydroalkanoates (PHA), le polyhydroxybutyrate (PHB), l'hydroxyl-valérate (PHV), mais aussi la cellulose bactérienne ou le xanthane (*Lambert, 2017*).

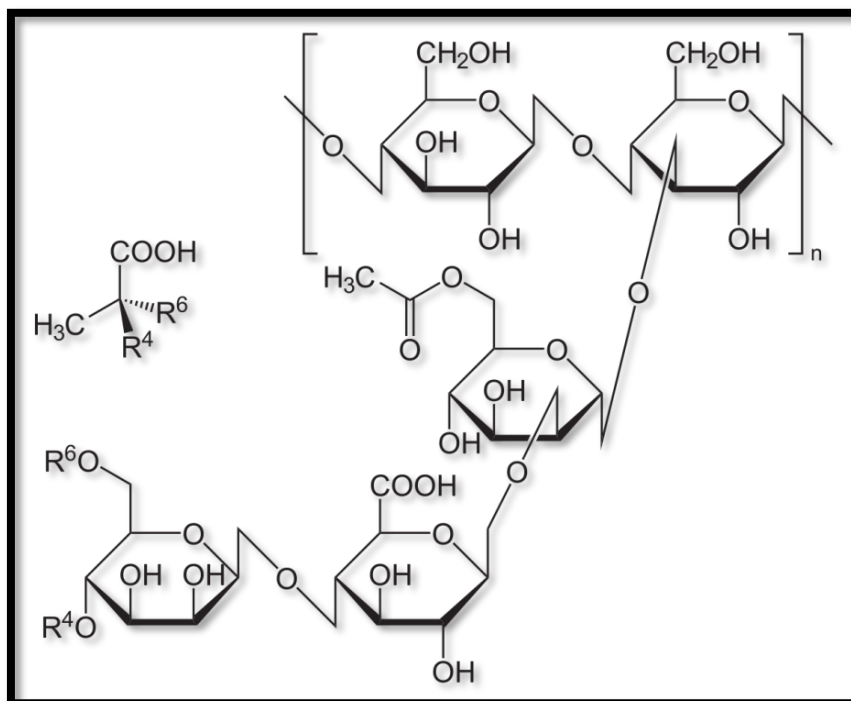


Figure II.6 Structure chimique du Xanthane (*Lambert, 2017*)

II.4.2. Biopolymères synthétiques

Ils sont obtenus par voie fermentaire, on les appelle biopolymères synthétiques ou chimio-synthétiques en raison de leur mode de fabrication. En effet, celui-ci consiste en une polycondensation (chauffage) de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le PLA (Poly Acide Lactique). Le monomère (exclusivement l'acide lactique) nécessaire à la synthèse du PLA est obtenu par fermentation bactérienne à partir des ressources renouvelables (*Mokrani, 2012*).

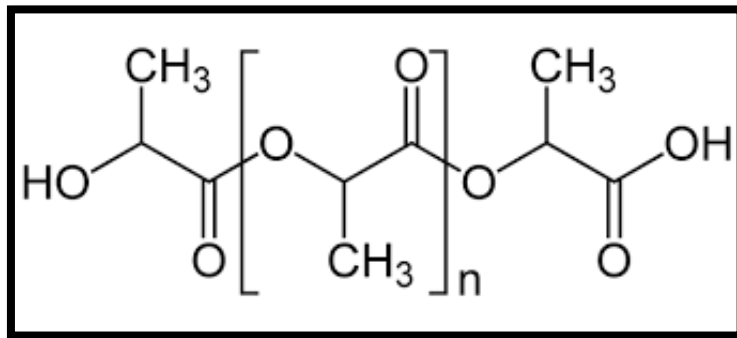


Figure II.7 Structure chimique du Poly Acide Lactique (*Mani, 2016*)

II.4.3. Biopolymères d'origine végétale et animale

II.4.3.1. Polysaccharides

Les polysaccharides constituent la famille de biopolymères les plus répandus et les plus utilisés. Ils entrent dans la composition de la plupart des cellules (végétales, animales, et microbiennes). Parmi les plus connus, on peut citer la cellulose, l'amide, l'alginate, la chitine, et le chitosane (*Mokrani, 2012*).

- **La cellulose**

La cellulose est le biopolymère naturel le plus abondant. C'est le constituant principal des différentes fibres naturelles comme le coton. Sa formule brute $(C_6(H_2O)_5)_n$.

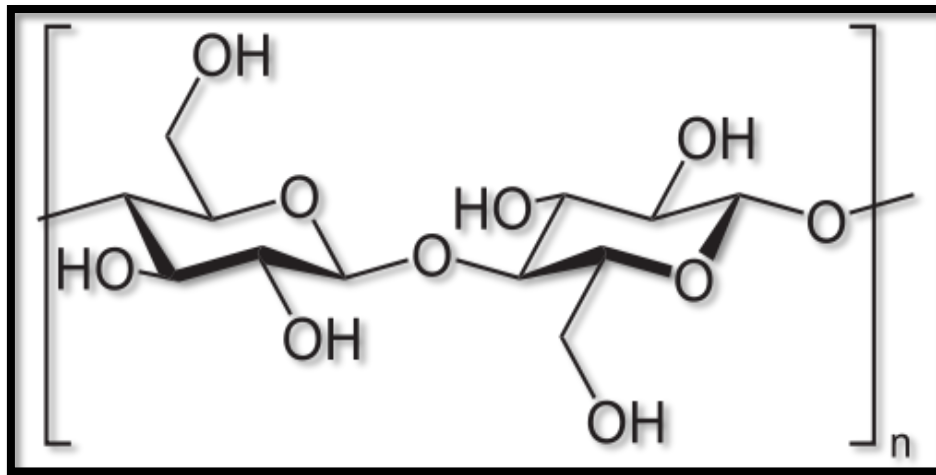


Figure II.8 Structure chimique de la cellulose (Decroix, 2019)

La structure de la cellulose d'un point de vue chimique, se décrit comme un homopolysaccharides linéaire formé par la répétition d'unités β -D-glucanes liées entre elles par des liaisons osidiques de type β (1 \rightarrow 4). L'unité répétitive, composée de l'association de deux monomères de glucose (l'un droit, l'autre renversé), est appelée cellobiose.

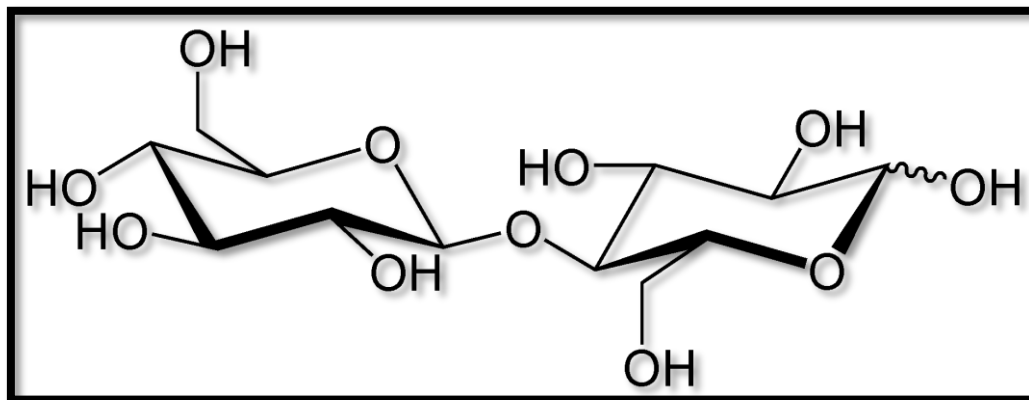


Figure II.9 Structure de la cellobiose

- **L'Amidon**

L'amidon produit par les plantes est une combinaison de deux polysaccharides appelés amylopectine et α -amylose. L'amylopectine est un polymère ramifié, pratiquement insoluble dans l'eau, dont la chaîne principale, constituée de résidus glucose liés en α -(1 \rightarrow 4), porte des embranchement du type α (1 \rightarrow 6) tous les 24-30 résidus. L' α -amylose est composée de chaînes non ramifiées de 200 à 300 résidus glucose liés en α -(1 \rightarrow 4) (Dénier, 2016).

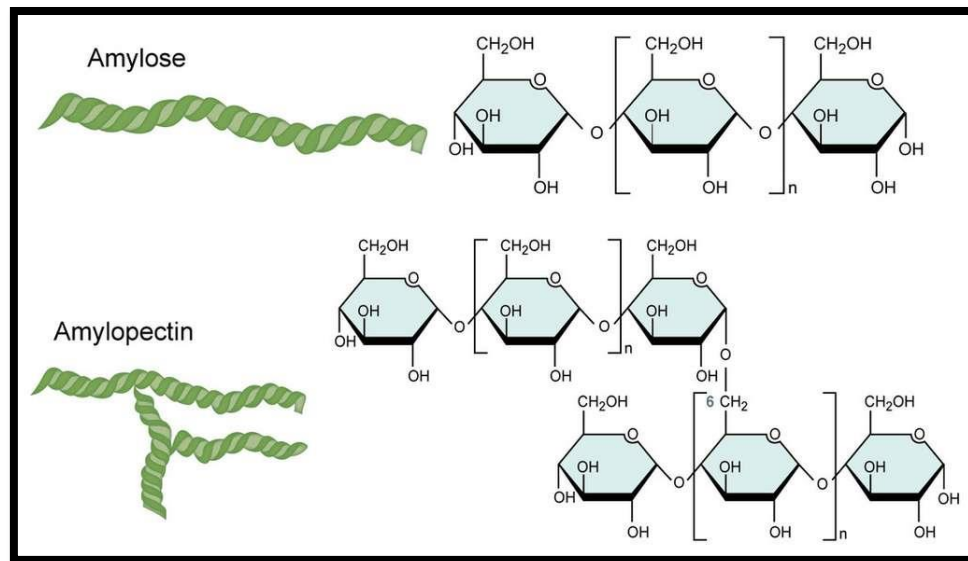


Figure II.10 Structure moléculaire de l'Amylose et de l'amylopectine (Dospinescu-Rosu, 2011)

- **La pectine**

Les pectines sont des substances d'origine végétale. Ce sont des polysaccharides complexes que l'on retrouve principalement dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des plantes supérieures. La pectine est généralement extraite à partir de sous-produits de fabrication de jus de citron et de pomme (Chetouani *et al.*, 2018).

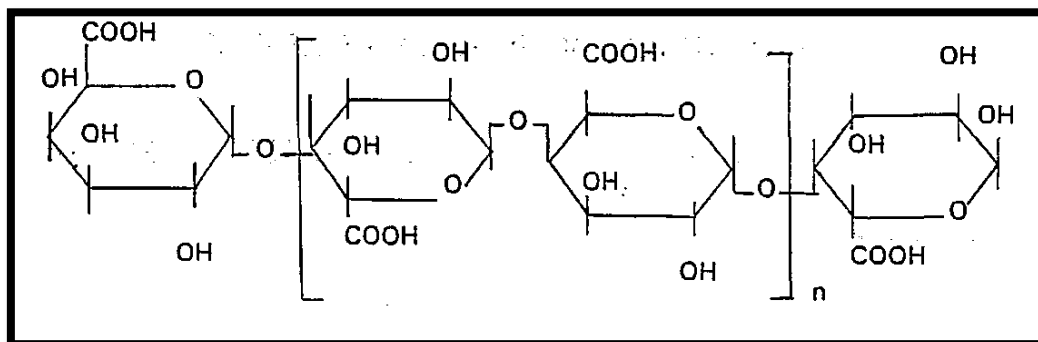


Figure II.11 Structure moléculaire du motif monomérique de la pectine (Chevalier, 2018)

- **La chitine**

La chitine est un homopolymère de N-acétylglucosamines reliées en β (1 \rightarrow 4). Ses propriétés sont similaires à celles de la cellulose. Elle constitue la trame des carapaces des insectes et des crustacés. On la retrouve également dans la paroi des champignons. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés (Wysokowski, 2013).

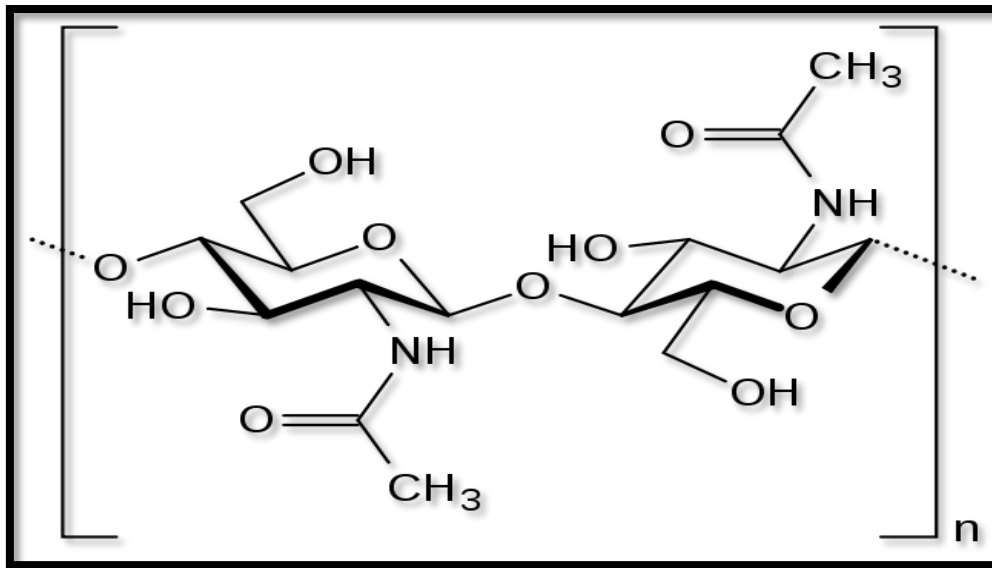


Figure II.12 Structure moléculaire du motif monomérique de la chitine (Zitouni, 2013)

- **La chitosane**

Le chitosane est le principal biopolymère dérivé de la chitine (copolymère de N-acetyl-D-glucosamine et N-D-glucosamine, unis par des liaisons bêta-(1→4) (Dumont, 2016).

II.4.3.2. Protéines

Les protéines sont les constituants de la matière vivante animale, muscle, peau, cheveux, etc. Elles participent aussi aux différents processus de la vie : transport de l'oxygène respiratoire, déterminisme génétique, système de défense immunologique. Ce sont des polymères d'acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique qui résulte de la formation d'une fonction amide entre la fonction acide d'un premier acide aminé et la fonction amine d'un deuxième. Les protéines telles que la caséine du lait ou encore le gluten de blé sont très utilisés en tant que biopolymères (Mokrani, 2012).

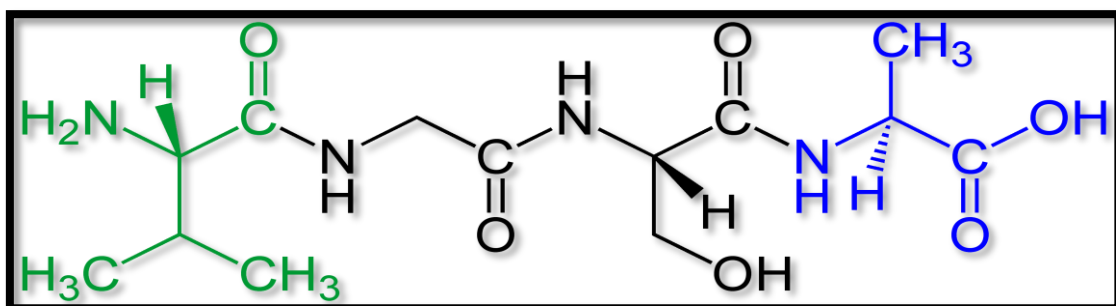


Figure II.13 Représentation des enchainements des fonctions amides des protéines (Hamaguchi, 2002)

II.5. Propriétés des biopolymères

De par leur structure chimique, les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications bien spécifiques en industrie plastique. La biodégradabilité est la plus importante

II.5.1. Biodégradabilité

Les biopolymères sont synthétisés dans les plantes ou les animaux par voie enzymatique et sont de ce fait dégradés rapidement dans un milieu biologique. La biodégradabilité de la plupart des biopolymères est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille. Ces derniers sont assimilables par les microorganismes pour leur biosynthèse en libérant du CO₂ et de l'eau. A l'opposé, les polymères pétrochimiques conventionnels comme le polyéthylène ou le polypropylène, dont le squelette carboné est constitué de liaisons covalentes C-C, requièrent beaucoup plus de temps et/ou la présence d'un catalyseur (thermique, radiation électromagnétique ou chimique) pour leur dégradation (*Rabetafika et al., 2006*).



Figure II.14 Exemple de biodégradation d'un bioplastique utilisé pour l'emballage alimentaire (Lefaux, 2005)

II.5.2. Perméabilité à la vapeur d'eau

La plupart 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 de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes ; ce qui leur confère aussi une propriété antistatique. La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires. Par

exemple, les viennoiseries ne peuvent pas se trouver dans un endroit trop humide pour conserver leur fraîcheur. Par contre, pour certains types d'emballage, elle est avantageuse. En effet, en évitant les condensations, la durée de conservation des produits frais est allongée. Cette propriété trouve également une application dans les emballages des produits humides leur laissant la possibilité de continuer de sécher pendant les étapes de stockage et de transport (*Rabetafika et al., 2006*).

II.6 Conclusion

Le secteur de l'emballage est en pleine mutation. En effet, l'épuisement des ressources pétrolières et l'opinion publique poussent les industriels du packaging à choisir des matériaux alternatifs. Les biopolymères sont un bon compromis. En effet, ils sont issus de ressources renouvelables, ils peuvent être compostables et présentent des caractéristiques mécaniques proches de celles des plastiques conventionnels (*Rutot, 2004*).

Chapitre III

Introduction

Ce troisième chapitre définit tout d'abord la terminologie utilisée pour caractériser la biodégradation, puis il met à jour les connaissances de base concernant les mécanismes mis en jeu dans ce type de processus, et les méthodes utilisées pour le caractériser et le quantifier.

III.1 Définitions

Le vaste domaine des polymères dit « biodégradables » véhicule un nombre important de termes et de dénominations qu'il est nécessaire de bien les expliquer. En effet, il existe plusieurs manières de caractériser la dégradation d'un polymère que ce soit en fonction de la nature de la dégradation qu'il subit (fragmentation, biodégradation ...), ou de la cause de cette dégradation (ex : photo-dégradation, biodégradation, etc.).

III.1.1 Dégradation

Le terme dégradation désigne de manière générale toutes les altérations d'origine chimique et/ou physique qu'un matériau est susceptible de subir. Il rassemble donc l'ensemble des phénomènes biotiques et abiotiques que le matériau subit lorsqu'il est placé dans un milieu particulier pour être traité en fin de vie, sans distinction d'origine (*Mauro, 2016*). La dégradation est un processus irréversible entraînant un changement significatif dans la structure du matériau, classiquement caractérisé par une perte des propriétés initiales (poids moléculaire, structure moléculaire, résistance à la traction), et/ou une fragmentation. Ce processus est affecté par les paramètres environnementaux et se déroule en une ou plusieurs étapes.

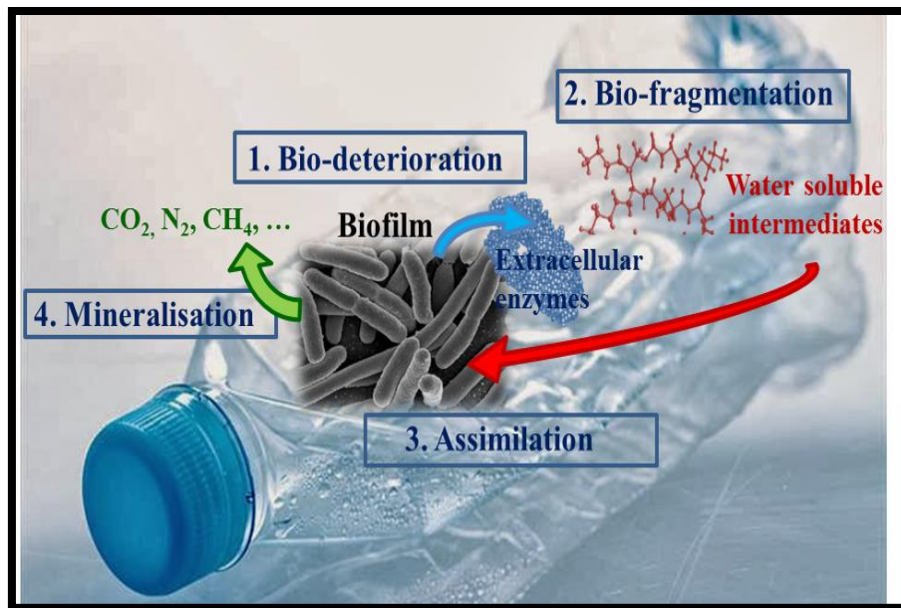


Figure III.15 Le processus de biodégradation des plastiques (Dussud, 2014)

Un « plastique dégradable » (Figure III.1) peut donc être défini comme suit : «Un matériau est considéré comme dégradable dans certaines conditions s'il subit une dégradation quelconque déterminée dans un temps donné et selon une méthode de mesure standardisée adaptée» (Pagga *et al.*, 1996).

III.1.2. Biodégradation

Il est important de réserver le terme 'bio' à des processus de dégradation qui mettent en jeu des organismes vivants par l'intervention de différentes enzymes qui provoquent la dégradation (Tableau III-1). D'après certaines de ces définitions, « un matériau peut subir une biodégradation et être donc considéré comme 'biodégradable', sans pour autant avoir totalement disparu du milieu ».

C'est pour ces différentes raisons que de nouveaux termes ont été introduits pour évaluer et déterminer sans ambiguïté l'assimilation d'un matériau par un écosystème donné sans qu'il y ait d'effets néfastes pour celui-ci.

Tableau III.2 Définitions relatives à la biodégradation des matériaux (Leklou, 2008)

Origine	Dénomination	Définition
DIN	<i>Norme allemande</i>	<p>Biodégradation</p> <p>La biodégradation est un processus dû à une activité biologique qui entraîne des modifications de la structure chimique du matériau, menant à des composés métaboliques naturels</p> <p>Plastique biodégradable</p> <p>Un matériau plastique est considéré comme biodégradable si tous les composés organiques qu'il contient subissent un processus de biodégradation complet</p>
CEN	<i>Comité Européen de Normalisation</i>	<p>Biodégradation</p> <p>La biodégradation est un type de dégradation causée par une activité biologique, particulièrement les attaques enzymatiques, qui entraînent un changement significatif dans la structure chimique du matériau.</p> <p>Plastique biodégradable</p> <p>Un matériau dégradé pour lequel la dégradation résulte d'une action des microorganismes et dont les sous-produits sont de l'eau, du dioxyde de carbone et/ou du méthane et de la biomasse.</p>
ISO 472	<i>Organisation internationale de normalisation</i>	<p>Plastique biodégradable</p> <p>Un matériau fabriqué pour subir une modification significative de sa structure chimique dans certaines conditions expérimentales qui a pour conséquence la perte de certaines propriétés [...]. Ce changement dans la structure chimique est dû à l'action des micro-organismes.</p>
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>	<p>Plastique biodégradable</p> <p>Un plastique dégradé dont la dégradation résulte de l'action de microorganismes naturellement présents dans le milieu de dégradation tels que les bactéries ou les champignons.....</p>

II.1.3 Bio-assimilation

La bio-assimilation est attribuée à la disparition totale du matériau du milieu dans lequel il est placé (*Vert, 2002*). Idéalement, le matériau est minéralisé sous forme de CO₂ et H₂O d'une part et modifié sous forme de biomasse d'autre part. On ne considère plus ici le type de dégradation subie par le polymère mais son aptitude à être totalement transformé en composés assimilables dans un milieu particulier. On peut accoler cette notion de celle de « biodégradabilité ultime » d'un matériau dont on peut décrire comme suit (*Cecutti, 2003*):

«**Biodégradation ultime (biodégradation totale)** : correspond à la minéralisation totale : le matériau est totalement dégradé par l'action des micro-organismes sous forme de dioxyde de carbone (dans des conditions aérobie) ou de méthane (dans des conditions anaérobie, d'eau, de sels minéraux et de nouveaux constituants cellulaires (biomasse) ».

« **Biodégradation ultime** : la dégradation d'un composé organique en CO₂ eau et sels minéraux (minéralisation) et en biomasse, par les micro-organismes en présence d'oxygène » (*Gartiser, 2006*).

III.1.4. Compostage

Le compostage vise à mélanger les matériaux en fin de vie avec divers déchets organiques au début ou à la fin d'un processus de compostage dont le principal objectif est d'améliorer la structure des sols et leur fertilité. Un compost est un matériau susceptible de subir une biodégradation sans entraîner aucune nocuité ni de perte de qualité. Ce dernier point est très important car l'intérêt est d'éliminer un déchet gênant grâce à un processus naturel et d'obtenir un compost de qualité qui pourra être utilisé pour l'épandage sur diverses cultures. Si le compost obtenu est toxique pour les plantes ou de qualité médiocre, sa valeur commerciale est nulle et il devient à son tour un déchet inutilisable qui produit les mêmes problèmes liés au stockage des polymères synthétiques non biodégradables. L'utilisation de biopolymères synthétisés à partir de substrats organiques dit biodégradables par fermentation ne serait dans ce cas d'aucune utilité.

III.2. Mécanismes de dépolymérisation

III.2.1. La dépolymérisation

La dépolymérisation est l'un des moyens de recycler chimiquement les déchets plastiques. Dans ce processus, les déchets plastiques triés sont décomposés en monomères (structure de base) pour les réinjecter dans la production de plastique.

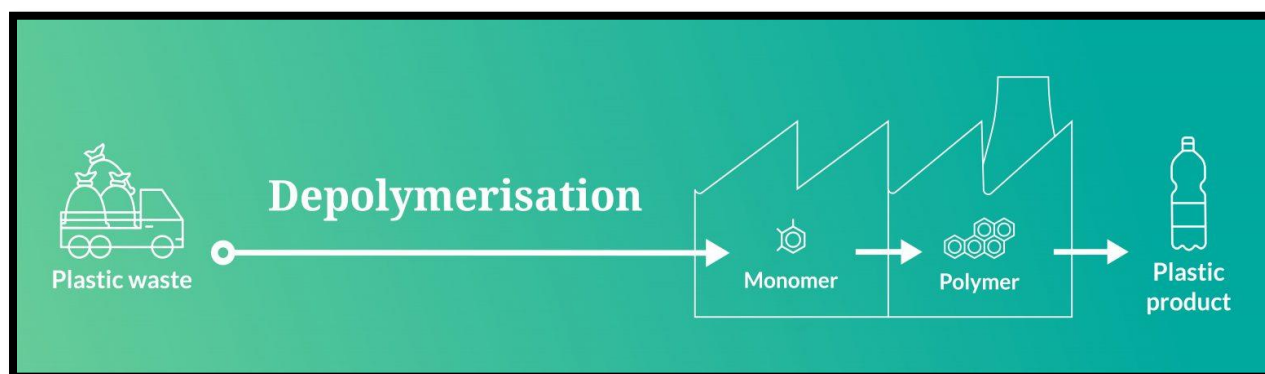


Figure III.16 : Processus de dépolymérisation

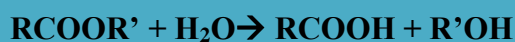
Les deux principaux mécanismes mis en jeu lors de la dépolymérisation d'un polymère sont l'oxydation et l'hydrolyse.

-**L'oxydation** est généralement incitée par le rayonnement UV subi par le matériau lors d'une exposition plus ou moins prolongée à la lumière du soleil.

-**L'hydrolyse** peut être d'origine chimique ou enzymatique par les exo-enzymes libérées par les microorganismes du milieu. Les polyesters du fait de la présence des liaisons esters entre chaque monomère sont les plus sensibles à l'hydrolyse (*Michel, 2005*).

III.2.1. Hydrolyse chimique

L'hydrolyse d'un ester : $\text{ester} + \text{eau} \rightarrow \text{alcool} + \text{acide carboxylique}$: en utilisant les formules semi-développées cette réaction peut s'écrire par l'équation bilan suivante :



L'hydrolyse chimique peut avoir lieu en milieu basique ou être catalysée en milieu acide et provoque des ruptures de liaisons esters de manière aléatoire ou en bout de chaîne, cela dépend de la nature de l'hydrolyse et du type de polymère.

L'hydrolyse basique du Poly-(acide lactique) (PLA) intervient par rupture au hasard de la chaîne alors que l'hydrolyse acide se fera préférentiellement en fin de chaîne (*Amass, 1998*).

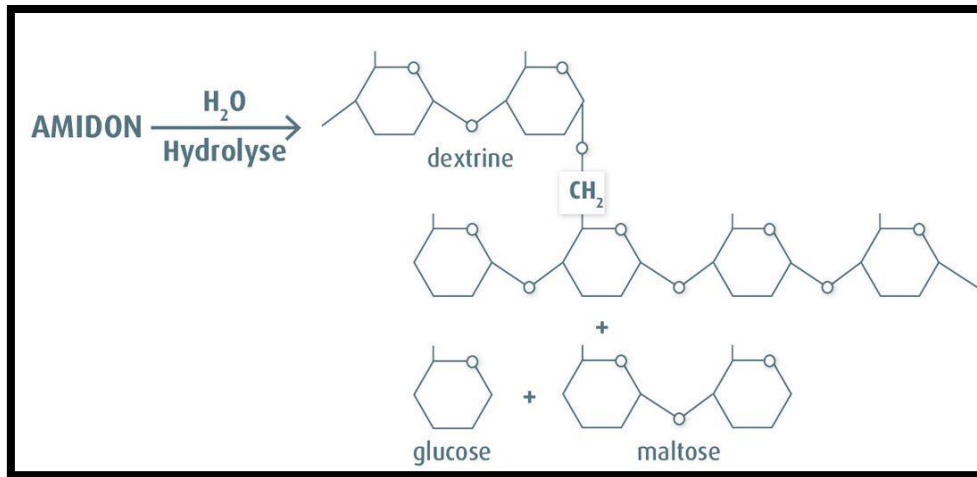


Figure III.17 Hydrolyse de l'amidon en milieu alcalin

Dans le cas des poly-(β-hydroxyalcanoates) (PHA) ou du poly-(ε-caprolactone) (PCL) qui sont des polymères plus hydrophobes, la participation de l'hydrolyse chimique à la dépolymérisation des longues chaînes semble être plus réduite (*Mergaert, 1993*).

Globalement, la sensibilité d'un polymère à l'hydrolyse dépendra de (*Amass, 1998*):

- ses propriétés physico-chimiques comme l'hydrophobicité, la masse molaire, ou la température de transition vitreuse ;
- Le taux de cristallinité ;
- sous-produits de dégradation (capacité à auto-catalyser la réaction).

III.2.2 Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique peut se dérouler de deux manières différentes (*Gattin et al., 2002*) :

- a) Dans le premier cas des endo-enzymes provoquent la rupture des liaisons esters au hasard de la chaîne carbonée du polyester libérant ainsi des polymères de masse molaire plus faible, cela se traduit par une diminution significative de la masse molaire moyenne du polymère résiduel.
- b) Le deuxième cas correspond à l'action des exo-enzymes qui hydrolysent spécifiquement les liaisons esters situées en bout de chaîne, libérant des monomères, la masse molaire moyenne du polymère n'en est que très peu affectée alors que l'on peut observer une perte de masse globale (*Lenz et al, 1993*).

III.2.3. Photo-dégradation

Les polymères classiques sont connus pour être particulièrement résistants à toute sorte d'altération provoquée par leur environnement et notamment aux attaques enzymatiques ou aux réactions d'hydrolyse. Cependant il est possible d'augmenter leur sensibilité au rayonnement UV pour initier une première dégradation. Certains fabricants ont donc incorporé dans le squelette du polymère des groupements carboxyles par le biais d'une « copolymérisation » avec des cétones vinyliques ou du monoxyde de carbone (*Hocking, 1992*). Le rayonnement UV provoque la dégradation par rupture de la chaîne principale du polymère suivant la réaction de *Norrish (1965)* de type I ou II (Figure III-3).

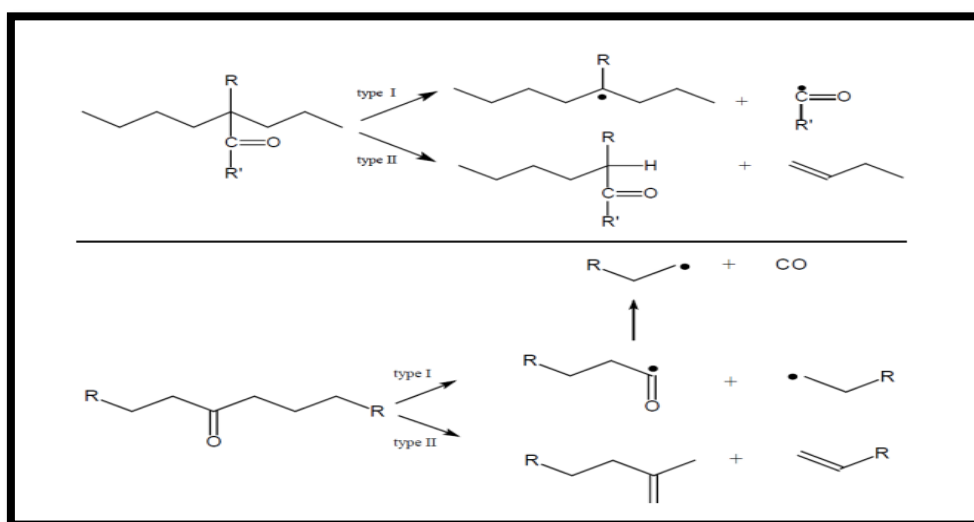


Figure III.18 Mécanismes de rupture de chaîne pour les polyéthylènes contenant des groupements carbonyles photosensibles (*Norrish, 1965*)

III.3 Paramètres influençant la biodégradation

III.3.1 La flore microbienne

Il est très difficile, pour ne pas dire impossible, de suivre l'évolution des populations microbiennes aux cours d'un processus de compostage. Ceci est dû au fait que les microorganismes qui sont responsables des divers types de réactions biochimiques sont très difficiles à isoler et par conséquent à dénombrer (*Longieras, 2005*).

De manière générale, on peut supposer que le processus de biodégradation d'un polyester biodégradable quel qu'il soit, n'est jamais le fait d'une seule et unique souche et d'une même espèce microbienne. L'assimilation totale de l'ensemble du carbone du matériau

résulte de la synergie de plusieurs espèces qui cohabitent dans le compost et dont la participation à la biodégradation est régulée par les paramètres physico-chimiques du milieu comme le pH ou le rapport C/N. Ces paramètres sont susceptibles de varier en fonction des sous-produits de dégradation libérés par les micro-organismes eux-mêmes.

III.3.2 Paramètres physico-chimiques du milieu

III.3.2.1 La teneur relative en eau

La teneur relative en eau est évidemment un facteur limitant de la croissance des microorganismes et donc du taux de dégradation d'un polymère (*Habib, 2013*). C'est le taux d'humidité relative qui va faciliter ou non l'accessibilité des micro-organismes du milieu au substrat à dégrader. Dans le cas d'un test de biodégradation en milieu liquide sous agitation constante, le polymère à dégrader sera forcément en contact avec les micro-organismes alors que dans un milieu solide (à base de compost ou de sol) agité périodiquement par l'action de l'opérateur, le polymère est moins facilement accessible, phénomène a été mis en évidence en observant la biodégradation d'un polymère naturel facilement biodégradable comme l'amidon dans un milieu minéral liquide et un compost (*Fayt et al, 1989*). Dans les deux cas on obtient un taux de minéralisation équivalent mais pour le milieu liquide la phase plateau indiquant la disparition de l'amidon est atteinte au bout de seulement 8 jours, alors qu'il faut attendre le onzième jour dans le compost (*Gu et al, 1993*).

III.3.2.2. Température

Les températures élevées sont, en général, un facteur qui favorise l'ensemble des réactions abiotiques comme l'oxydation des films de polyéthylène (*Jakubowicz, 2003*). Lorsque la température du milieu est supérieure à la température de transition vitreuse du polymère, l'absorption d'eau est favorisée du fait de la mobilité des chaînes favorisant ainsi l'hydrolyse chimique. Cela a logiquement pour conséquence d'accélérer le rendement final du processus de biodégradation.

III.3.2.3 pH

Pour garantir la survie de la flore microbienne dans le milieu, il est nécessaire de maintenir un pH proche de la neutralité (*Davet, 1996*). Les tests en milieu liquide sont donc effectués dans des solutions tamponnées. Il en est de même pour l'utilisation de milieux solides inertes qu'il est nécessaire de compléter avec un milieu minéral tamponné. Le compost étant un milieu complexe, aussi bien d'un point de vue organique que minéral, il est

en général « naturellement » tamponné à un pH proche de 7 en fin de phase de maturation par les très nombreuses espèces chimiques qui le composent (*De Oliveira et al., 2004*).

III.3.2.4 Rapport C/N

La norme ASTM D-5338-92 « est un test de biodégradation standard qui mesure la biodégradation aérobie des matières plastiques dans des conditions de compostage contrôlées » (Préconise un rapport C/N compris entre 10 et 40 pour le compost utilisé lors d'un test de biodégradation. Cependant, ce paramètre est très variable en fonction du type de déchets dont est composé le compost (déchets ménagers souvent très riches en matière azotée ou déchets agricoles « verts » comme des chutes de taille de haies ou des tontes d'herbes).

III.3.3 Structure et propriétés du polymère

III.3.3.1 Taux de cristallinité

L'organisation structurale du polymère a une influence sur sa capacité à être dégradée. En effet, plusieurs auteurs ont observé que ce sont les parties amorphes d'un polymère qui sont dégradées en premier (*Eldsäter et al., 2000; Agarwal et al., 1998*). Cela se traduit par une augmentation du taux de cristallinité du résidu non dégradé au cours du test de dégradation. La pénétration de l'eau dans le matériau est également meilleure dans les parties amorphes, c'est en partie ce phénomène qui est à l'origine de processus très particulier de biodégradation d'un bloc de PLA (*Li et al., 1995*).

III.3.3.2 Surface de contact spécifique micro-organismes/substrat

La taille, le format et la granulométrie de l'échantillon sont directement en rapport avec la surface de contact spécifique micro-organismes/substrat. On observe donc que le même matériau subira une biodégradation d'autant plus rapide que la surface de contact est importante. Ce phénomène facilement mis en évidence en comparant les vitesses de dégradation de plaques d'amidon extrudés entières ou broyées en milieu liquide, qui sont respectivement de 530 et 850 mg de carbone par jour (*Gattin et al., 2000*).

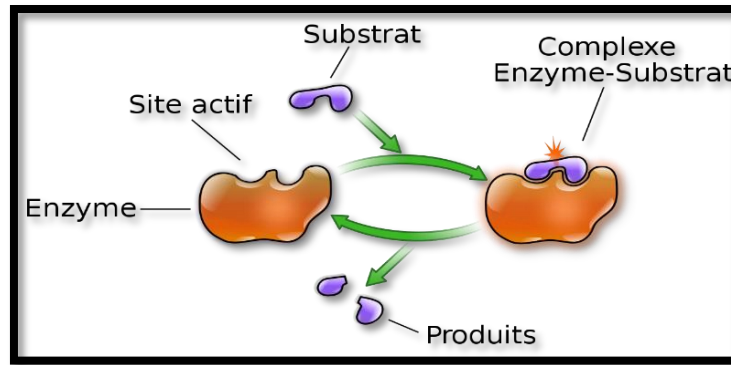


Figure III.5 : Schéma de la surface spécifique enzyme/substrat

III.3.3.3 Composition d'un polymère

À la base du plastique, on trouve un polymère, une macromolécule constituée de longues chaînes carbonées.

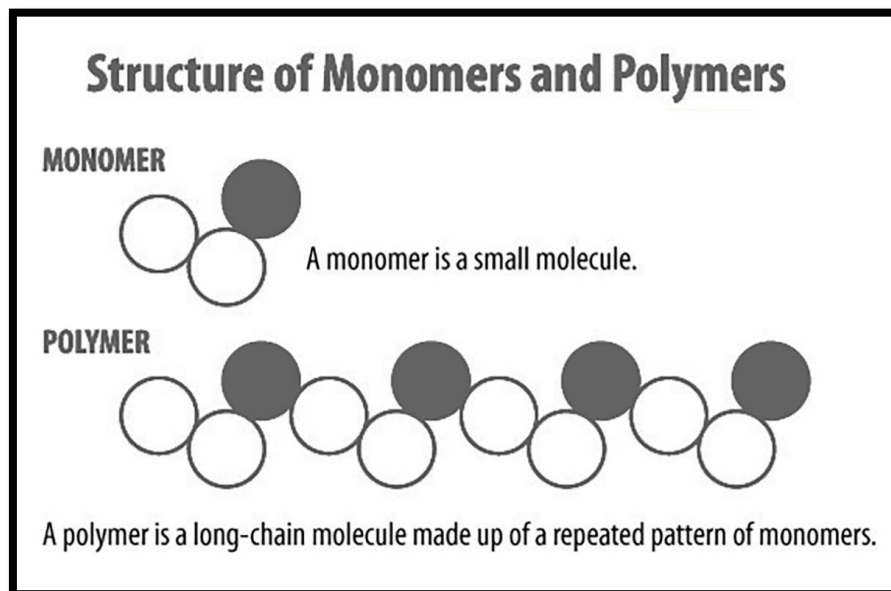


Figure III.19 : Structure des monomères et polymères

III.3.3.4 Hydrophobie

Il est couramment admis qu'un matériau hydrophile sera plus sensible aux diverses attaques chimiques et biologiques auxquelles il est exposé. Les enzymes sont peu ou pas actives dans les parties hydrophobes des polymères. De même, le développement de biofilm et l'adsorption des micro-organismes à la surface du polymère seront favorisés par les matrices hydrophiles (*Hakkarainen, 2002*).

Cependant tous les polymères hydrosolubles ne sont pas biodégradables et l'eau n'a que très peu ou pas d'influence sur la biodégradation dans le compost de certains polymères biodégradables comme le PHBV (*Eldsäter et al., 1999*).

III.4 Méthodes d'estimation de la biodégradation d'un matériau polymère

Le but de ce paragraphe est de synthétiser les différentes méthodes et techniques qui sont utilisées pour caractériser et/ou quantifier la biodégradation d'un matériau.

III.4.1 Paramètres de mesure

Il est possible de suivre la biodégradation d'un matériau en étudiant différents paramètres qui vont permettre d'apporter diverses indications sur le degré d'avancement de la dégradation. Les paramètres utilisés pour estimer/observer la biodégradation d'un matériau conditionnent directement l'interprétation que l'on pourra tirer des résultats obtenus. En effet, tous ne permettent pas de conclure une réelle bio-assimilation du polymère, mais témoignent d'une altération de l'intégrité physique du matériau ou d'une éventuelle modification des propriétés physico-chimiques et/ou mécaniques.

III.4.1.1 Perte de masse

La mesure de la biodégradabilité par perte de masse consiste à peser à un temps donné la masse de l'échantillon placé dans un milieu de biodégradation quelconque. Cette masse rapportée à la masse initiale de l'échantillon avant le test permet d'obtenir un pourcentage de perte de masse de l'échantillon. C'est sans doute la méthode la plus élémentaire pour avoir une première idée du comportement d'un polymère dans le compost. Elle peut être appliquée quel que soit le milieu (compost ou milieu minéral liquide), mais il y a des précautions à prendre pour obtenir des résultats corrects :

- Lors de la pesée de l'échantillon il est nécessaire de le soumettre à un nettoyage parfait pour ne pas fausser la mesure de la masse. Or dans le cas d'un développement microbien à la surface du film, il est parfois très difficile de s'assurer que la surface de celui-ci est totalement propre.
- L'échantillon est susceptible d'absorber de l'eau (PLA), il est donc nécessaire de bien le faire sécher avant la pesée.

Il est important de noter que cette mesure reste valable tant que l'intégrité du matériau est conservée. Dans le cas contraire la perte de masse n'est plus du tout significative de l'état de dégradation du matériau testé.

III.4.1.2 Développement microbien

Le développement microbien est généralement utilisé pour déterminer la capacité d'une ou plusieurs souches données à dégrader un polymère particulier. Différentes méthodes sont utilisées pour mettre en évidence le développement microbien. La plus simple consiste à observer le développement d'une colonisation à la surface d'un film de polymère. Dans ce cas l'estimation du développement microbien ne sera que visuelle (Interprétation macroscopique).

La méthode dite de **la zone claire** est également utilisée lorsque l'on pratique un test en boîte de Pétri sur milieu gélose. Dans ce cas le polymère, qui est la seule source de carbone présent dans le milieu de culture, est ajouté à la gélose sous forme de poudre très fine, ce qui a pour conséquence de la rendre opaque. Après inoculation et incubation, le développement d'une souche microbienne capable de dépolymériser le polymère créera l'apparition d'une zone claire dans la gélose (*Manna, 2002*).

Ce paramètre de mesure ne permet donc pas une estimation chiffrée de l'état de biodégradation du polymère testé mais peut néanmoins fournir une première information de la résistance du matériau aux attaques microbiennes, avant de mettre en œuvre des tests plus avancés. C'est également le moyen le plus efficace pour rechercher la présence de souches microbiennes capables de dégrader un polymère donné dans un milieu naturel.

III.4.1.3 Suivi des propriétés mécaniques et analyses physico-chimiques

Il est possible de suivre une ou plusieurs caractéristiques intrinsèques du matériau non dégradé comme la température de transition vitreuse, le taux de cristallinité ou encore mettre en évidence l'apparition de sous-produits de dégradation spécifiques. Ces analyses permettent de rendre compte d'une altération de la structure chimique ou des propriétés mécaniques du matériau alors qu'aucune trace de biodégradation n'est visible, ou encore apporter des informations sur le type de mécanismes mis en jeu lors du processus de biodégradation.

III.4.2 Respirométrie

En conditions aérobies, le but des mesures dites de respirométrie est de quantifier la dégradation ultime du matériau, c'est-à-dire sa disparition complète du milieu par assimilation

par les microorganismes présents. Cette mesure peut se faire en mesurant l'un ou l'autre des paramètres suivants :

- la quantité d'oxygène consommée par les micro-organismes du milieu pour minéraliser spécifiquement le polymère sous forme de dioxyde de carbone.
- la quantité de dioxyde de carbone libérée due à la minéralisation spécifique du matériau à tester par les micro-organismes du milieu.

III.4.2.1 Mesure de la consommation d'oxygène

Dans des conditions aérobies, les micro-organismes consomment de l'oxygène pour oxyder le carbone du polymère sous forme de dioxyde de carbone. On peut calculer la quantité théorique d'oxygène nécessaire pour oxyder l'ensemble du carbone présent dans le polymère. Grâce à une électrode spécifique, on peut connaître la quantité d'oxygène consommée par le milieu durant le test pour oxyder le matériau test. Le degré de biodégradation atteint par le polymère en fin de test sera donc donné par la quantité d'oxygène consommée rapportée à la quantité d'oxygène consommée si le polymère est complètement dégradé par les micro-organismes sous forme de CO_2 .

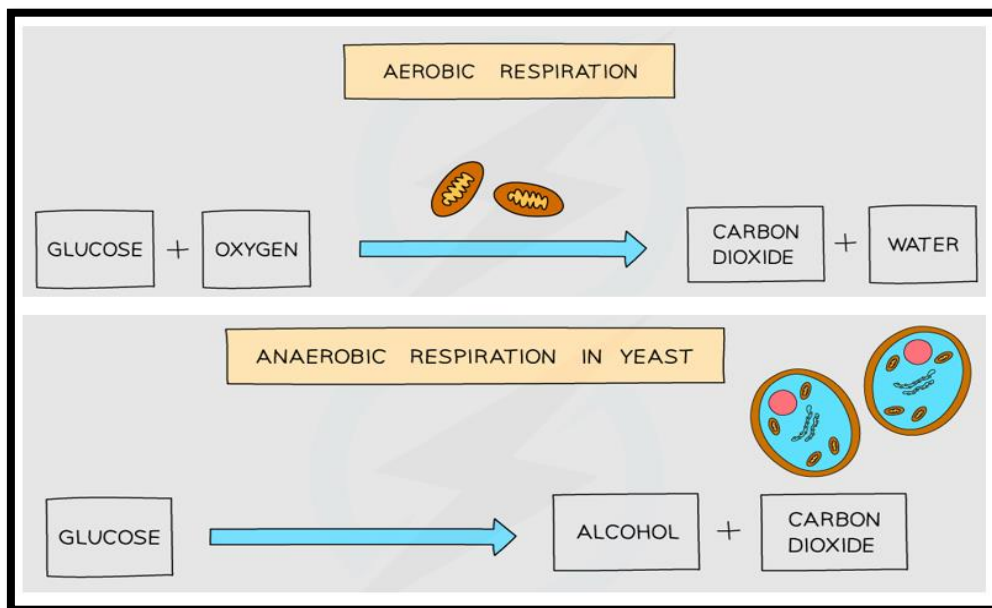


Figure III.20 : Réaction biochimique en milieu Aérobie et anaérobie

III.4.2.1.2 Mesure de la production de dioxyde de carbone

Il est également possible de mesurer directement le produit ultime de la biodégradation du polymère en condition aérobie. Le nombre de moles de dioxyde de carbone formées par la

minéralisation du polymère est égal au nombre de moles de carbone constituant le polymère qui a été minéralisé. En divisant le nombre de moles de dioxyde de carbone formées durant un test par le nombre de moles de carbone présentes dans l'échantillon dégradé, on obtient le taux de minéralisation du polymère dans les conditions du test.

III.5 Les différents tests en laboratoire

III.5.1 Tests en milieu compost

Le compostage aérobie est un procédé de dégradation contrôlée de matières fermentescibles en présence d'oxygène produisant du gaz carbonique, de la chaleur et un résidu organique stabilisé riche en composés humiques : le compost.

La phase de décomposition correspond à la dégradation des molécules les plus facilement biodégradables qui servent de substrats aux micro-organismes afin de coloniser le é. Ceux-ci vont se développer, et augmenter leur activité d'oxydation des molécules plus résistantes (cellulose, hémicellulose, lignines, tanins). Cette forte activité entraîne une rapide augmentation de la température jusqu'à 65°C. Pendant cette phase qui dure trois mois, les besoins en oxygène sont élevés et le dégagement de CO₂ est intense (*Francou, 2003*).

La phase de maturation est une phase très lente qui correspond à la réduction des besoins en oxygène, à une baisse de la température jusqu'à 55°C (développement d'une flore microbienne mésophile) et à une diminution de l'humidité au sein de l'andain (*Michel, 2005*). D'un point de vue biochimique, c'est durant cette phase de 2 mois, que les substrats humiques sont élaborés. Le dégagement de CO₂ est plus faible (d'après *Michel, 2005*).

III.5.2 Test en milieu liquide

Ce test vise à estimer la biodégradation d'un matériau et se déroule en milieu liquide, c'est le test de 'Sturm'.

Une solution ne contenant que des éléments minéraux sert de milieu de croissance à un inoculum biologique pouvant provenir d'un extrait de compost de sol ou de boues activées de station d'épuration. Cependant il est également possible d'inoculer le milieu avec une seule souche microbienne ou un mélange de plusieurs souches sélectionnées.

La seule source de carbone disponible est le matériau, soluble ou non, que l'on place dans le réacteur sous la forme de film ou de poudre. Le milieu ainsi préparé est placé sous agitation constante et alimenté par un flux gazeux débarrassé de CO₂. Ce dernier est piégé dans une

solution alcaline d'hydroxyde de baryum et dosé par titration de l'excès de BaOH qui ne réagit pas (*Tanois, 2017*).

II.5.3 Tests en milieu gélosé

Pour les tests en boîte de Pétri sur milieu gélosé, le polymère employé peut se présenter sous la forme d'un film ou d'une éprouvette d'épaisseur réduite, ou encore sous forme de poudre intégrée ou non à la gélose. Dans le cas d'un film, l'estimation des attaques microbiennes se fera visuellement par estimation du développement microbien au microscope sur et à proximité du film.

Il est également possible et conseillé de pousser l'investigation par l'analyse des propriétés physico-chimiques et mécaniques du film afin d'appuyer les conclusions avec des valeurs concrètes. Ces résultats doivent cependant être interprétés avec prudence car les conditions d'incubation, notamment la température est susceptible d'être imputé d'une modification des caractéristiques intrinsèques du matériau.

Pour une poudre, l'utilisation de la méthode de la zone claire permet de mettre en évidence facilement un développement microbien. Dans ce cas, la méthode de conditionnement du polymère dans la gélose est également à prendre en considération. Par exemple si la poudre est intégrée à la gélose avant la stérilisation des boîtes, cette étape peut provoquer des ruptures de chaînes qui vont libérer des substrats disponibles pour les microorganismes, alors que ceux-ci pourraient être incapables de se développer aux dépens du polymère s'il n'avait pas subi une première altération. Cette observation est particulièrement valable pour les polyesters sensibles à l'eau comme le PLA (*Abiras, 2018*).

Ces tests en boîte de Pétri permettent notamment de rechercher les souches microbiennes capables de dégrader un polymère particulier et donc par la suite de comprendre les mécanismes de biodégradation mis en jeu.

III.6 Conclusion

La biodégradabilité d'un matériau plastique (polymère biodégradable) ne peut être estimée par une seule méthode du fait de la complexité biologique impliquée dans le phénomène de biodégradation et le nombre de paramètre à prendre en compte. Cependant, les méthodes microbiologiques peuvent être complétées par les méthodes enzymatiques afin de pouvoir confirmer la biodégradabilité du polymère testé. Néanmoins, les tests menés dans un laboratoire ne peuvent pas exclure des tests dans des conditions similaires à celles de l'environnement.

Chapitre IV

V. Introduction

Dans le présent chapitre nous allons présenter la zone d'étude, détailler les procédés d'isolement et de purification des souches de champignons microscopique. Ensuite, nous allons décrire le procédé utilisé pour la préparation des biopolymères à base d'amidon et d'agar agar, et le processus de biodégradation de ces biopolymères par les champignons microscopiques préalablement sélectionnés et identifiés.

Les analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été réalisées en partie au niveau du laboratoire de la santé de la wilaya de Skikda, puis tous les travaux expérimentaux ont été finalisés au niveau des laboratoires pédagogique du département de génie des procédés de l'université de Skikda.

IV.1. Présentation de la zone d'étude

Ville côtière de la mer méditerranée au nord-est du pays, Skikda anciennement appelée Philippeville au temps de la colonisation française, est une wilaya algérienne.



Figure IV.21 : Vue aérienne de la ville de Skikda

IV.1.1. Sites de prélèvement des échantillons

Cette ville renferme également un potentiel considérable en matière d'économie et de tourisme grâce à sa côte maritime de plus de 130 kilomètres, où on peut retrouver de nombreuses plages connues à l'échelle nationale, allant de Tamanart depuis l'ouest, jusqu'à la Marsa à l'est. Parmi les principales plages de la ville, il y a Stora, et la jetée, à partir desquelles nous avons soigneusement prélevé des échantillons d'eau de mer et de sable humide.



Figure IV.22 : Localisation GPS de la plage 'la jetée' (36.902073 N, 6.902900 E)

IV.3 Prélèvement des échantillons

L'échantillonnage de l'eau de mer a été réalisé pendant que la mer était calme et non agitée. Les échantillons d'eau de mer ont été prélevés et conservés dans des bouteilles en verre préalablement désinfectées et stérilisées. Nous avons procédé à immerger la bouteille dans l'eau à une profondeur de 15 à 30 cm sous la surface de l'eau et à un minimum de 2 m du rivage. Les bouteilles sont aussitôt fermées hermétiquement avec le bouchon stérile, puis conservées dans une glacière (4°C), et transportées au laboratoire.

L'échantillonnage du sable a été effectué à partir de la partie humide, dans des pots stériles, fermés fermement directement une fois remplis.



Figure IV.23 : Echantillon de sable et d'eau au niveau de la plage la jetée

Les échantillons ont été transportés dans une glacière jusqu'au laboratoire de la santé de la wilaya de Skikda, où ont été effectués les analyses bactériologiques.

IV.3.1 Analyses bactériologiques

IV.3.1.1 Recherche des coliformes totaux

➤ Principe

La colimétrie consiste à déceler et à dénombrer les germes coliformes et parmi lesquels les coliformes fécaux. Elle compte deux temps :

- La recherche présomptive des coliformes.
- La recherche confirmative des coliformes fécaux.

➤ Milieux de culture et réactifs :

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- **Le test de présomption** : réservé à la recherche des coliformes totaux on utilise bouillons lactose au pourpre de bromocrésol (BCPL) à double concentration (D/C) et simple concentration(S/C).

Le Bouillon au BCPL : est un milieu utilisé pour l'étude de la fermentation des sucres. L'utilisation d'inoculum supérieur à 1 ml implique l'emploi de ce bouillon nutritif à double concentration (ou plus) pour assurer le maintien d'un taux suffisant d'éléments nutritifs.

Ce test présomptif est effectué en utilisant le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol. Tous les tubes sont munis de cloches de durham pour déceler le dégagement éventuel de gaz dans le milieu. Pour l'ensemencement. On utilise :

- Une bouteille contenant 180 ml d'eau à analyser.
- 3 tubes de 10ml de bouillon BCPL à double concentration avec 10 ml d'eau à analyser.
- 3 tubes de 10ml de bouillon BCPL à simple concentration ont été préparés pour chaque dilution 10^{-1} et 10^{-2} .
- l'ensemble des tubes a été incubé dans une étuve à 37°C pendant 48h. La cloche ne doit pas contenir de gaz au départ.

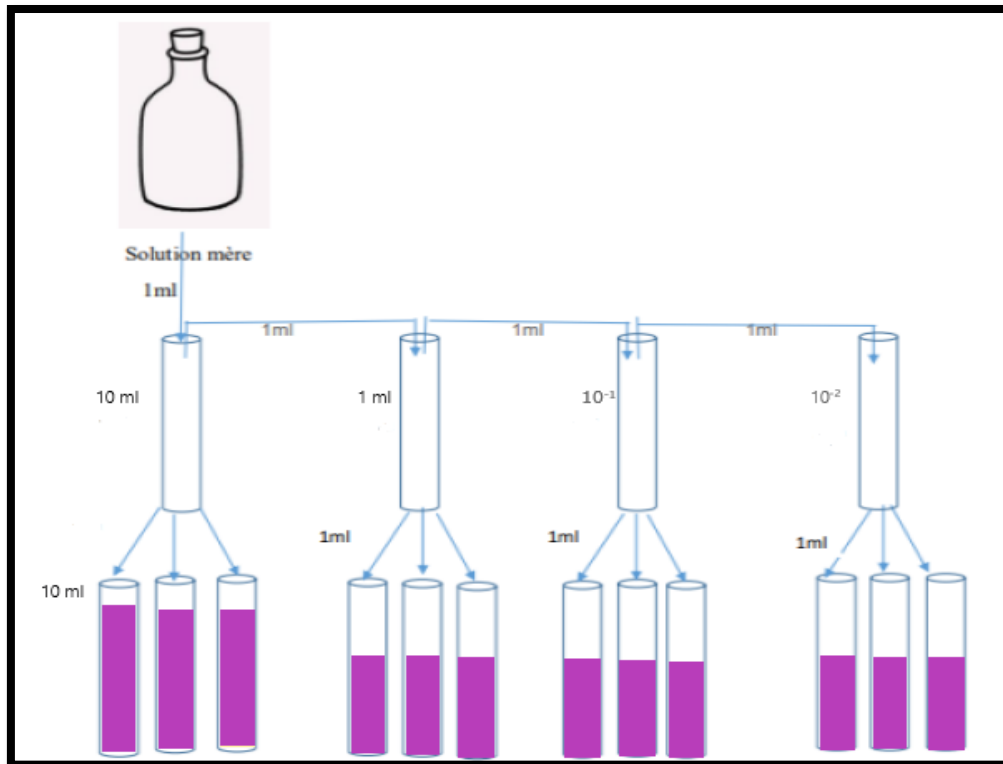


Figure IV.24: Technique d'ensemencement pour la recherche des coliformes.

- La lecture se fait 48h après d'incubation.
- Tous les tubes présentant un aspect de trouble de couleur jaune avec du gaz dans la cloche sont considérés comme positif notés (+), c'est-à-dire qu'ils renferment des coliformes totaux.
- Pour l'expression des résultats. On note le nombre de tubes positifs dans chaque série et se reporte à la table NPP (nombre le plus probable obtenu par lecture de la table de MacGrady) pour obtenir le nombre de coliformes totaux contenus dans 100 ml.

Dilutions	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
Aspect des tubes (BLBVB + cloche)			
Résultats	+ + +	+ + +	+ + +
Nombre de résultats +	3	3	3
Regroupement	333	333	

Figure V.25 : Méthode de lecture des résultats par la méthode de MacGrady

Tableau IV.3 : Table de calculs du NPP en milieu liquide

Tableau de MAC GRADY			Indice NPP/100 ml
3 tubes de 10 ml	3 tubes de 1 ml	3 tubes de 0.1 ml	
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	1400

On choisit la dilution 10^{-1} , et on détermine le NPP depuis la table (il correspond dans ce cas à 1400), puis on calcule le nombre d'unité formant colonie (UFC) par ml en utilisant la formule suivante :

$$N = \frac{NPP}{V_{ensemencé}} \times Fd$$

Avec :

N : nombre UFC

NPP : lu à partir de la table MacGrady

$V_{ensemencé}$: volume ensemencé (100 ml)

Fd : Facteur de dilution (10^{-1}).

➤ Test confirmatif

Encore appelé test de Mac Kenzie. Ce test est réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption. On a utilisé le Milieu de confirmation Schubert muni d'une cloche de Durham.

Le test de confirmation est basé sur la recherche des coliformes thermo-tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli* (*E. coli*). Les tubes de BCPL positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une pipette pasteur dans :

- Un tube content un milieu de Schubert muni d'une cloche de Durham ;
- Un tube de VBL (bouillon lactosé bilié au vert brillant) muni d'une cloche ;
- Un tube d'eau peptonée exempte d'indole.
- A partir de chaque tube BCPL positif (+) pour la recherche de coliformes totaux, on ensemence 2 à 3 gouttes dans un tube de milieu indole mannitol (milieu de Schubert) muni d'une cloche de Durham
- Incubation à 44°C pendant 24h.
- Lecture des résultats : Tous les tubes présentant un aspect trouble de couleur jaune avec du gaz dans la cloche sont considérés comme positif notés (+) indiquant la présence des coliformes totaux.
- Ajouter 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs aux tubes contenant le bouillon de Schubert avec la cloche de Durham positif (+).
- Tous les tubes présentant une réaction indole positive (anneau rouge en surface) sont considérés comme positifs (+).

- Pour l'expression des résultats, le dénombrement des coliformes fécaux s'effectue de la même manière que celui des coliformes totaux et les résultats sont exprimés dans 100ml d'eau à analyser.

IV.3.1.2. Recherche des Streptocoques fécaux

➤ Principe

Rechercher et dénombrer les streptocoques fécaux considérés comme des témoins de pollution fécale. Elle compte deux temps :

- La recherche présomptive du streptocoque.
- La recherche confirmative des streptocoques fécaux.

➤ Milieu de culture

Le bouillon de Rothe est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux dans les eaux d'alimentation et résiduaires, les produits surgelés et les autres denrées alimentaires par la méthode du nombre le plus probable. La recherche s'effectue en 2 étapes un test présomptif en bouillon de Rothe et transfert des cultures positives pour confirmation dans un milieu de Litsky :

➤ Test présomptif

La recherche se fait en bouillon à l'azide de sodium (bouillon de Rothe) simple et double concentration. On ensemence :

- Une bouteille contenant 180 ml d'eau à analyser.
- 3 tubes de 10ml de bouillon ROTHE à double concentration avec 10 ml d'eau à analyser.
- 3 tubes de 10ml de bouillon ROTHE de différentes dilutions (10^0 , 10^{-1} et 10^{-2}) ont été préparés
- L'incubation se fait à 37°C pendant 48h.

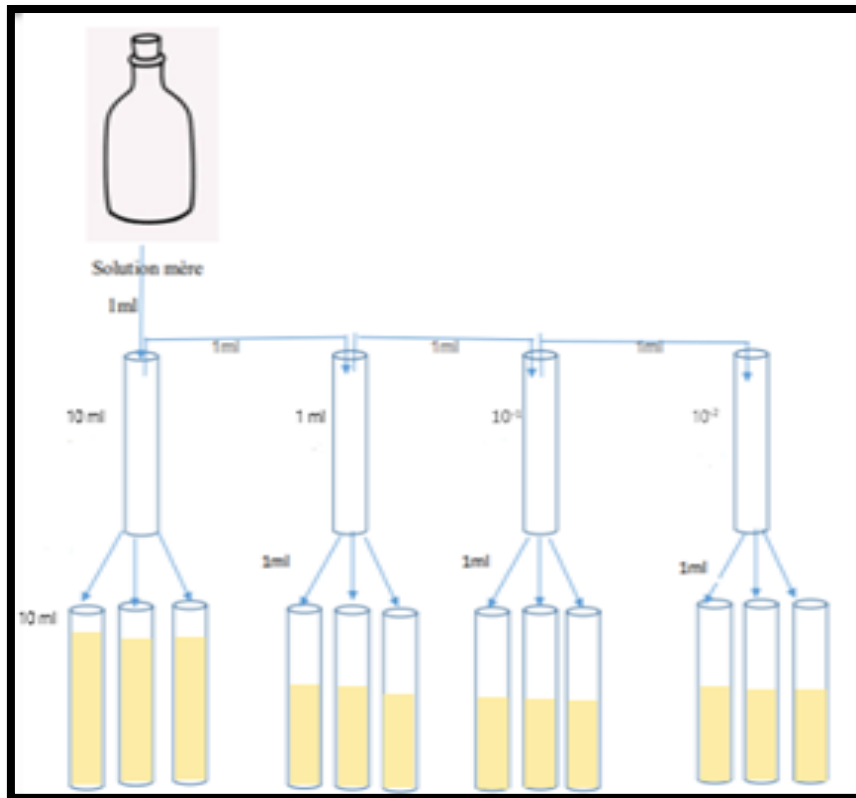


Figure IV.26: Technique d'ensemencement pour la recherche des streptocoques fécaux.

Les tubes présentant un trouble sont considérés comme susceptibles de contenir un streptocoque fécal. Le test confirmatif est obligatoire.

➤ Test confirmatif

On ensemence :

- 2 à 3 gouttes dans un bouillon à l'éthyle violet et azide de sodium (EVA ou litsky), à partir de chaque tube positif (+).
- Incubation pendant 24h à 37°C.
- Tous les tubes présentant une culture et un jaunissement sont considérés comme positifs (+).
- On note généralement la présence dans le fond des tubes d'une pastille violette.
- Pour l'expression des résultats noter le nombre de tubes positifs (+) dans chaque série et se reporter aux tables du NPP pour connaître le nombre de streptocoques fécaux contenus dans 100ml d'eau.

IV.3.2. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques ont été effectués pour les échantillons d'eau de mer afin mieux caractériser les conditions de milieu favorables à la croissance aux champignons filamenteux marins.

IV.3.2.1. Détermination du pH, de la conductivité et de la température

- **Température**

Mesurée en degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$), la température de l'eau permet également de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température (conductivité notamment). De plus, en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu, il est possible d'obtenir des indications sur l'origine et la pollution accidentelle de l'eau de mer.

- **pH**

Le pH d'une eau permet de mettre en évidence les espèces chimiques présentes dans un échantillon. On parle alors de pH acide, de pH neutre ou de pH basique. La mesure du pH est réalisée selon la méthode potentiométrique.

- **Conductivité électrique de l'eau**

Elle est exprimée en $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour les eaux douces et en mS/cm pour les eaux saumâtres à une température de 25°C au laboratoire. La conductivité permet d'évaluer rapidement et approximativement la minéralisation globale de l'eau.

Pour la mesure de ces paramètres nous avons utilisé un appareil multi-paramètres de type HACK multi HQ 40d.

Chaque mesure de pH et de conductivité en fonction de température a été répétée 3 fois afin de s'assurer de la fiabilité des résultats affichés sur l'écran de l'appareil.



Figure IV.27 : Multi-paramètres de paillasse type HACK multi HQ 40d

IV.3.2.2. Détermination de l'oxygène dissous

La présence d'oxygène dans l'eau est indispensable à la respiration des êtres vivants aérobies aquatiques. En dessous d'un certain seuil de concentration en oxygène c'est l'asphyxie des poissons. L'oxygène de l'eau permet également le processus d'oxydation des matières organiques (autoépuration), mais cette décomposition appauvrit le milieu aquatique en oxygène. La concentration en oxygène dissout exprimée en mg/l ainsi que la saturation en oxygène (%) ont été mesurée à l'aide de l'oxymètre portable de type HACK sensIONtm+DO6.



Figure IV.28 :Oxymètre portable de référence HACK sensIONtm+DO6

IV.3.2.3.Détermination de la turbidité

C'est un paramètre, qui varie en fonction des composés colloïdaux (argiles, débris de roche, micro-organismes,...), ou aux acides humiques (dégradation des végétaux) mais aussi les pollutions qui troublent l'eau. Avec un appareil 'turbidimètre' de type TN-100, on mesure la turbidité par la méthode normalisée NTU (Nephelometric Turbidity Unit) par photométrie, c'est-à-dire mesure de l'absorption de la lumière par l'eau.

- NTU < 5 → eau claire
- NTU < 30 → eau légèrement trouble
- NTU > 50 → Eau trouble.



Figure IV.29: Turbidimètrephotomètre de type EUTECH Instruments turbidimeter TN-100

Une turbidité élevée de l'eau entraîne une réduction de sa transparence qui réduit la pénétration du rayonnement solaire utile à la vie aquatique (photosynthèse).

IV.3.2.4. Détermination de la demande biologique en oxygène (DBO₅)

Cette technique permet de mesurer en laboratoire sur 5 jours (à 20° dans l'obscurité), la quantité d'oxygène consommée par le processus naturel de décomposition microbienne de la matière organique décomposable présente dans un litre d'eau. Le résultat est donné en mg/l d'O₂.



Figure IV.30 : DBO-mètre utilisé pour la mesure de la demande biochimique en oxygène durant 5 jours

IV.4. Isolement des champignons microscopiques

IV.4.1. Préparation du milieu de culture pour le dénombrement des fongis

Pour la culture et l'étude des champignons microscopiques filamenteux marins le choix s'est porté sur le milieu « Sabouraud Dextrose Agar Chloramphenicol » :

- 65,50 g du milieu de culture déshydraté ont été pesés à l'aide d'une balance analytique ;
- Puis versé dans un Erlenmeyer préalablement stérilisé contenant 1 Litre d'eau de mer purifiée (filtrée et stérilisée) ;
- Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant jusqu'à complète dissolution ;
- La préparation est versée dans des flacons autoclavables stérilisés ;
- Puis on stérilise le milieu de culture à l'autoclave à 121°C pendant 15 min ;

- Enfin à la sortie de l'autoclave quand à environ 45-40°C la préparation est versée dans des boîtes de Pétri stérile.



Figure IV.31 : Etape de préparation du milieu de culture Sabouraud

IV.4.3. Préparation des échantillons

Le choix s'est porté sur la technique du lavage utilisé pour la mise en évidence essentiellement des levures et des champignons filamenteux non dermatophytiques. Pour cela :

- 50g de sable sont mis en suspension dans 90 ml d'eau de mer filtrée et stérilisée avec addition de quelques gouttes de tween 80 (Polysorbate 80) permettant de remettre en suspension les spores qui pourraient adhérer aux grains de sable.
- 0,5 ml du surnageant a étéensemencé sur le milieu de culture.
- À la surface de la gélose, l'ensemencement des échantillons a été réalisé suivant la méthode des stries.
- Les boîtes ensemencées sont ensuite placées dans incubateur à 27°C, la croissance des micro-fonges est suivie pendant quelques jours, jusqu'à l'envahissement de la surface de la gélose entre 2 à 3 semaines d'incubation.

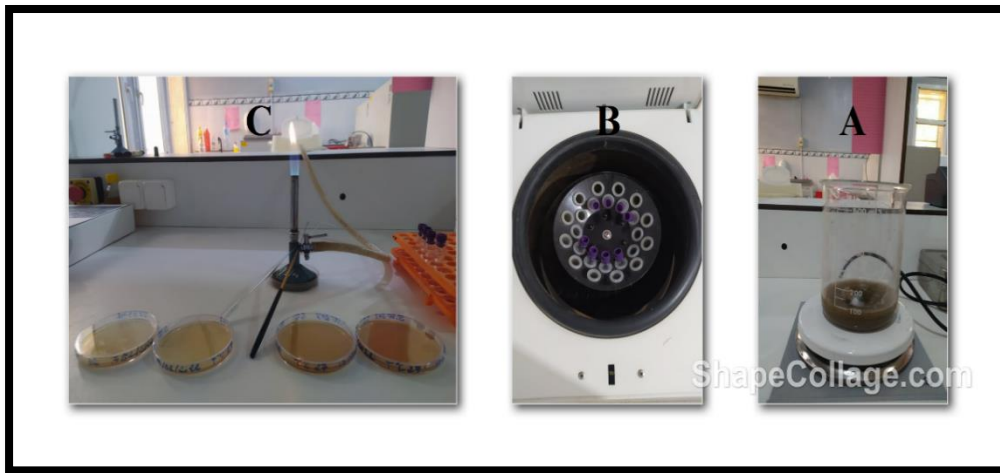


Figure IV.32 : Etape de l'ensemencement des microfunges

Après une période d'incubation qui a duré 8 jours (Figure IV.14), nous avons observé les colonies de champignons qui se sont développées dans les boîtes de Pétri, où nous avons remarqué un débordement des colonies. Nous avons donc procédé à la purification et isolement des colonies de champignons qui consiste à la réalisation des repiquages successifs (Figure IV.15), jusqu'à obtention des souches pures axéniques.



Figure IV.33 : Boites de Pétri après 8 jours d'incubation

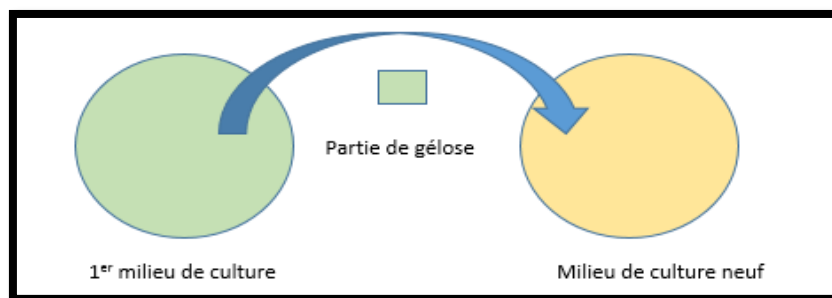


Figure IV.34 : Technique de repiquage

IV.5. Elaboration des biopolymères

IV.5.1. Biopolymère à base de fécules de pomme de terre

Nous avons choisi la pomme de terre comme matière première pour obtenir l'amidon nécessaire à notre bioplastique.

IV.5.1.1. Extraction d'amidon de pomme de terre

- Eplucher les pommes de terre et les découper en tous petits morceaux (A et B);
- Ajouter de l'eau pour recouvrir ces morceaux (C) ;
- Bien Mixer pour obtenir un jus concentré de pomme de terre (D) ;
- Filtrer avec une passoire et garder le filtrat ;
- Laisser décanter le filtrat (E) ;
- Eliminer le surnageant ;
- Rinçage : ajouter de l'eau, mélanger, laisser décanter ;
- Eliminer de nouveau le surnageant ;
- Laisser sécher à température ambiante quelques jours : on récupère l'amidon (F).

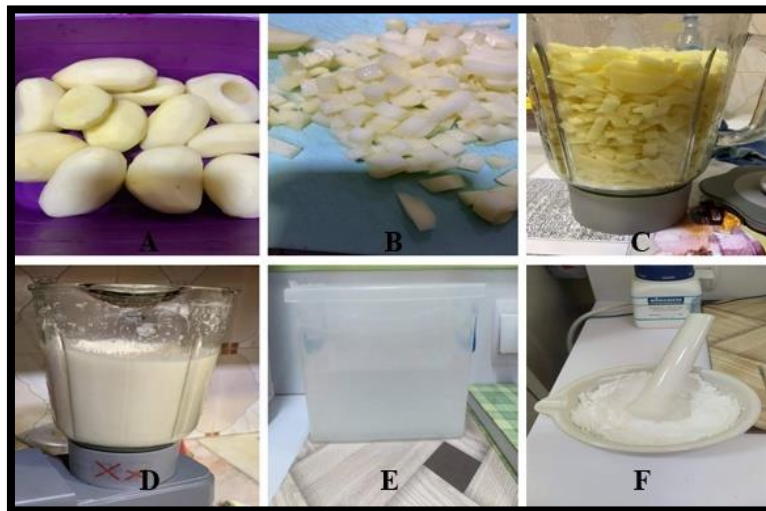


Figure IV.35 : Les différentes étapes de l'extraction de l'amidon

IV.5.1.2. Transformation de l'amidon en film plastique

Pour obtenir un bioplastique à partir d'amidon, il faut le chauffer, en présence d'eau, de glycérine, d'acide chlorhydrique et d'hydroxyde de soude

- Le glycérol va servir de plastifiant en augmentant le volume libre entre les deux chaînes de polymères. Le film sera plus résistant à la tension, à la flexion, mais aussi plus transparent.
- L'acide chlorhydrique sert à déstructurer les grains d'amidon, ce qui favorise la séparation amylose/amylopectine et le passage de l'amylose en solution.

- L'hydroxyde de soude permet de diminuer la viscosité.
- Le chauffage sert à déstructurer les grains d'amidon et à les rendre plus solubles.

Pour cela on utilise :

- 2,5g de l'amidon artificiel ont été dispersés dans 20ml d'eau distillée (A) ;
- Ensuite nous ajoutons 2 ml de solution de glycérol (solution à 50% dans de l'eau distillée) sous agitation à l'aide d'une tige de verre ;
- Nous ajoutons 3ml d'HCl (0,1 mol/l) pour une bonne dissociation de l'amidon dans le mélange ;
- Le mélange obtenu a été chauffé à une température de 90°C pendant 15 à 20 min à l'aide d'une plaque chauffante (sans oublier l'agitation à l'aide d'une baguette en verre (B) ;
- Après environ 15 à 20 minutes, on a remarqué que le mélange est transformé en gel et devenu visqueux ;
- On a ajouté 1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1 ml/l) pour réduire la viscosité du mélange ;
- Ensuite on a vidé et distribué en fines couches le mélange dans des boîtes Pétri en verre (C) ;
- Pour finir on a séché les films sous une température de 90 à 100 °C pendant 1 heure à dans une étuve (cette étape élimine l'excès d'eau des gels) (D).

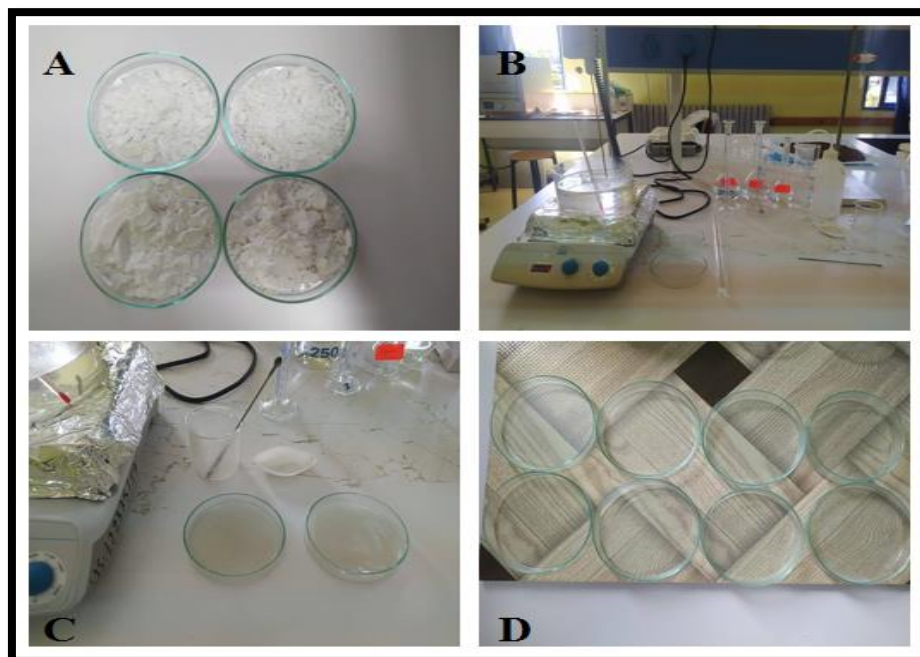


Figure IV.36 : Les étapes d'élaboration des biopolymères à base d'amidon de pomme de terre

IV.5.2. Biopolymère à base d'Agar Agar

Nous avons choisi d'utiliser de l'Agar agar industrielle. L'agar-agar est une substance mucilagineuse transparente. On l'obtient à partir de certaines espèces d'algues rouges du genre *Gelidium*. L'agar-agar se compose de deux polysaccharides (glucides), l'agarose et l'agaropectine.

IV.5.2.1. Transformation de l'amidon en film plastique

- 8 g d'Agar agar est pesé puis verser dans 100 ml d'eau distillée ;
- Le mélange est placé sur un agitateur magnétique chauffant ;
- On commence par agiter modérément le mélange jusqu'à une complète dissolution de l'agar agar ;
- Le mélange ainsi dissous est chauffé 100°C pendant un intervalle de 20 à 25 min ;
- Avant épaissement on rajoute 2 ml de Glycérol ;
- Ensuite on verse le mélange en fines couches dans des boîtes de Pétri en verre.
- Pour finir on a séché les films sous une température de 90 à 100 °C pendant 1 heure.

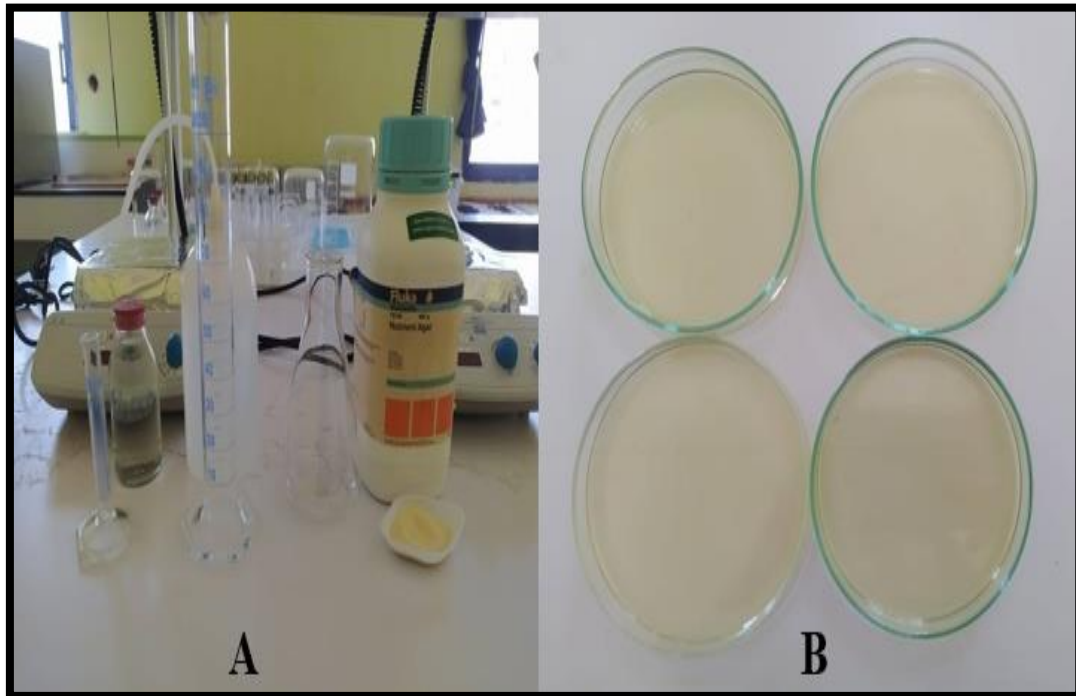


Figure IV.37 Les étapes d'élaboration des biopolymères à base d'agar-agar. A : Ingrédients de préparation du biopolymère. B : Biopolymère préparé et séché.

IV.6. La biodégradation des biopolymères

IV.6.1. Préparation du milieu de biodégradation :

Nous avons utilisé le milieu de culture Bold basal (modifié) (*Andersen, 2005*) (Tableau IV.1), pour la croissance des souches de champignons filamenteux isolées, en présence d'un morceau de biopolymère préalablement pesé.

Tableau IV.2 : Réactif du milieu de culture "Bold Basal"

Produit	Formule chimique	Les mesures (g/ml)
Dipotassium hydrogen phosphate	K_2HPO_4	6,4
Phosphate de monopotassium	KH_2PO_4	0,8
Ammonium sulfate	$(NH_4)_2SO_4$	0,4
Sulfate de magnésium	$MgSO_4$	0,16
Chlorure de sodium	$NaCl$	0,08
Sulfate de fer(II)	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,016
Sulfate de Cuivre (II)	$CuSO_4$	0,0004
Sulfate de zinc	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,22
Carbonate de calcium	$CaCO_3$	0,4

IV.6.1.1. Préparation du milieu Bold Basal liquide

- Nous avons utilisé une balance de précision pour peser nos substances ;
- Ces dernières sont dissoutes dans 400 ml d'eau distillé dans un Erlenmeyer d'une capacité de 1 litre sous agitation moyenne ;
- Une fois que toutes les substances soient dissoutes ; nous mesurons le pH de la solution et l'ajustons entre 5,5 et 6 ;
- Après cela nous ajoutons 3 gouttes de tween 80 ;
- On complète avec de l'eau distillé stérile jusqu'à avoir 1 litre ;
- La solution obtenue est ensuite autoclaver pendant 15 min à 121°C.

IV.6.1.2. Préparation du milieu Bold Basal solide

La méthode est assez similaire à celle de l'état liquide à une seule différence est que pour l'obtention d'un milieu solide l'ajout de l'agar agar est primordial car il joue le rôle de gélifiant :

- Nous avons utilisé une balance de précision pour peser nos substances ;
- Ces dernières sont dissoutes dans 400 ml d'eau distillé dans un Erlenmeyer d'une capacité de 1 litre sous agitation moyenne ;
- Une fois que toutes les substances soient dissoutes ; nous mesurons le pH de la solution et l'ajustons entre 5,5 et 6 ;
- Après cela nous ajoutons 3 gouttes de tween 80 ;
- Puis 20 g d'Agar agar ;
- On complète avec de l'eau distillé stérile jusqu'à avoir 1 litre ;
- La préparation est portée à ébullitions ;
- La solution obtenue est ensuite autoclaver dans les mêmes conditions que le milieu liquide.

IV.6.2. Biodégradation des biofilms

Les biopolymères à base d'amidon de pomme de terre et d'agar agar sont coupés en petits carrés de 1 cm², et pesés. Au total nous avons découpé 30 carrés pour le biopolymère à base d'amidon (15 seront utilisés pour la dégradation dans le milieu liquide et les 15 autres pour la dégradation dans le milieu solide). Egalement, 30 carrés pour le biopolymère à base d'agar agar ont été coupés et pesés.

Ces carrés ont été pesés et notés suivant le tableau ci-dessous (Tableau IV.3).

Tableau IV.3 : Les masses des biopolymères utilisés dans chaque type de milieu

Biopolymères			
Agar-Agar		Amidon	
Milieu liquide	Milieu solide	Milieu liquide	Milieu solide
0,011	0,006	0,054	0,052
0,01	0,004	0,055	0,042
0,007	0,005	0,052	0,044
0,01	0,003	0,045	0,041
0,012	0,009	0,049	0,065
0,012	0,004	0,048	0,076
0,01	0,009	0,047	0,077
0,011	0,004	0,055	0,061
0,009	0,008	0,046	0,056
0,018	0,005	0,049	0,077
0,01	0,008	0,047	0,076
0,007	0,005	0,051	0,068
0,01	0,007	0,063	0,047
0,011	0,009	0,05	0,05
0,008	0,006	0,05	0,054

IV.6.4.1. Biodégradation en milieu liquide

- Dans notre étude nous avons remplis des tubes à essais avec 10 ml de milieu Basal liquide ;
- Puis déposé dans celui-ci un carré de biopolymère (Amidon ou Agar agar) (B) ;
- Un petit carré de gélose contenant notre souche pure de champignon microscopique a été rajouté ;
- Cette étape est répétée 3 fois pour chaque souche (A);

- Les tubes sont mis à incubation pendant 1 mois à température ambiante (entre 22 et 27°C).

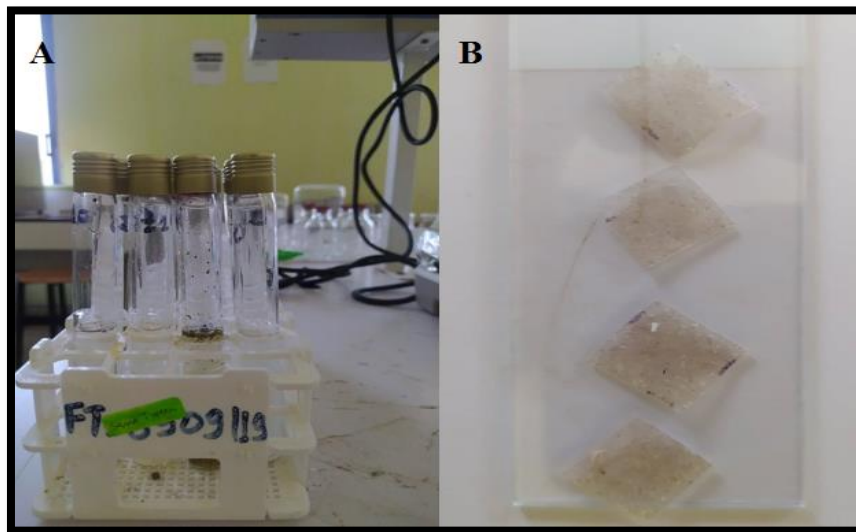


Figure IV.38 : Biodégradation en milieu liquide

IV.6.4.2. Biodégradation en milieu solide

- Dans les boîtes de pétri contenant le milieu Basal solide préalablement coulé, on creuse un petit puits à l'aide de la anse de platine
- Puis on dépose dans celui-ci un carré de biopolymère (Amidon ou Agar agar) (B);
- Un petit carré de gélose contenant notre souche pure de champignon microscopique est déposé sur le biopolymère ;
- Cette étape est répétée 3 fois pour chaque souche (A) ;
- Les boîtes après être identifiées et scellées sont mises à incubation pendant 1 mois.

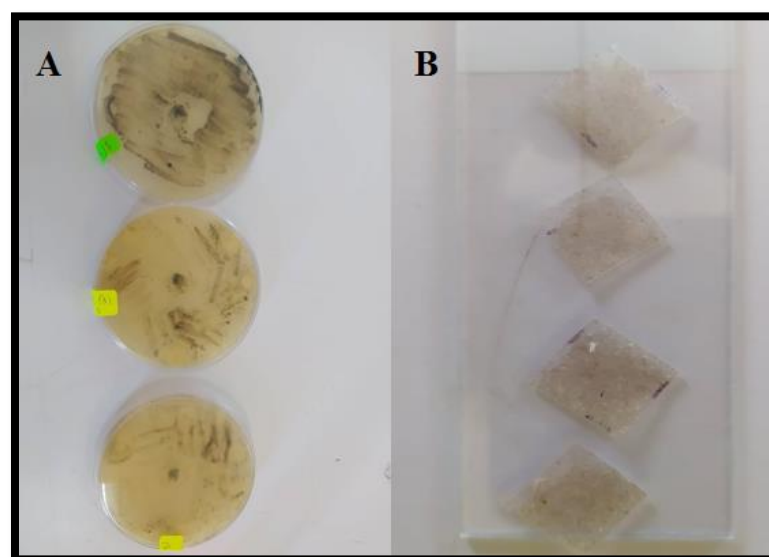


Figure IV.39 : Biodégradation en milieu solide

Chapitre V

Introduction

Cette partie est consacrée essentiellement à la présentation et à la discussion des différents résultats obtenus. On commencera par l'analyse de l'eau du lieu d'échantillonnage puis par l'isolement et l'identification des souches fongiques, suivis des résultats de l'élaboration des biopolymère et on finira par les résultats de l'étude la biodégradation de ces derniers par les souches fongiques.

V.1. Analyse de l'eau

Des analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été réalisées sur l'eau de mer du site de prélèvement afin de vérifier la qualité d'eau à partir duquel on a prélevé nos champignons microscopiques. Les résultats ainsi obtenus sont comparés aux normes imposées par le décret exécutif n°93-164 du 10 juillet 1993 définissant la qualité requise des eaux de baignade. Ce décret a pour objet de définir la qualité des eaux de baignade à l'exception des eaux destinées aux usages thérapeutiques et des eaux de piscine.

Tableau V.4 Résultat de l'analyse de l'eau de la plage la jetée

Paramètres	Valeurs	Les normes
Température °C	23 °C	30
pH	8,5	6-8
Conductivité $\mu\text{S}/\text{cm}$	46600	50000
Turbidité	1,69	NTU < 5
O ₂ dissout	89,9	80-120
DBO ₅ mg/l	0,3	1
Coliformes totaux	1400	<10000/100 ml
Coliformes fécaux	1400	<2000/100 ml
Streptocoques totaux	15	<100/100 ml
Streptocoques fécaux	15	<100/100 ml

On remarque que pour les analyses physico-chimiques tous les résultats sont dans les normes, Aucune contamination bactériologique n'a été observée pour notre site de prélèvement.

V.2. Isolement et identification des souches fongiques

L'isolement et l'identification des souches fongiques à partir du sable humide prélevé de la plage « la jetée » a permis de sélectionner cinq genres de champignons microscopiques. Les souches utilisées sont montrées dans la figure (V.1) ci-dessous :

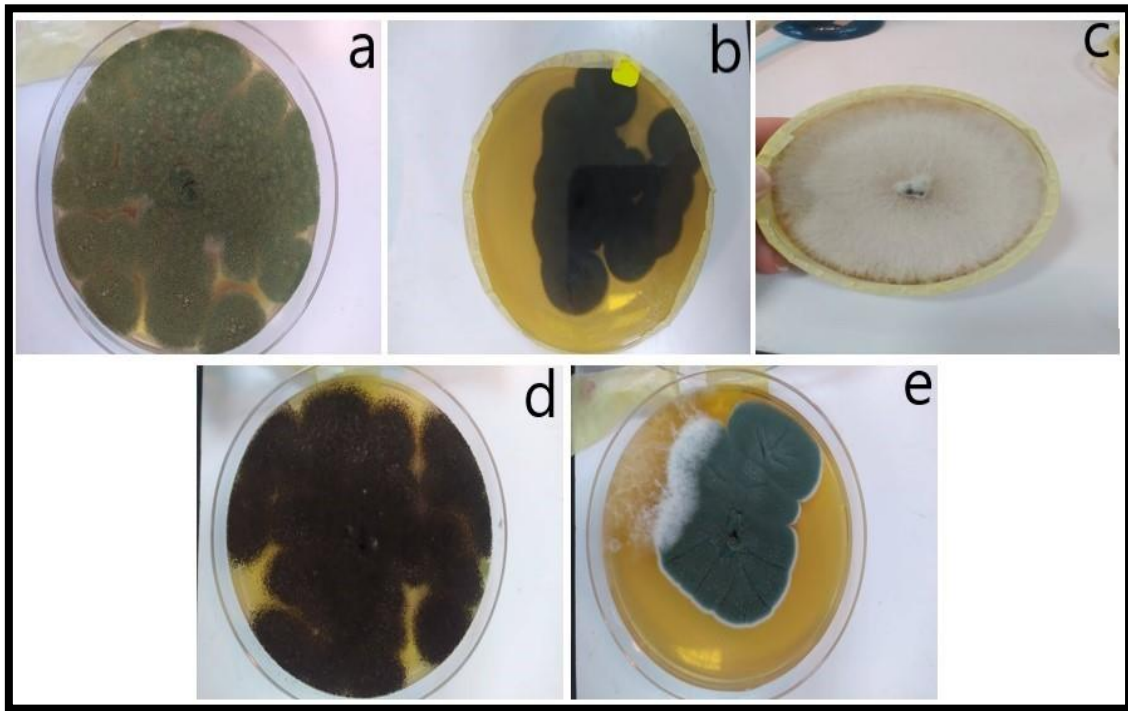


Figure V.40 : Les souches utilisées pour la biodégradation des biopolymères. A) *Aspergillus fumigatus*, B) *Cladosporium*, C) *Acremonium*, D) *Aspergillus niger*, E) *Aspergillus nidulans*

V.2.1. Description et illustration des différents genres et espèces isolés

V.2.1.1. *Cladosporium*

Le genre *Cladosporium* est l'un des mycètes environnementaux les plus communément trouvés dans le monde entier (Schubert, 2007). Les *Cladosporium* sont des moisissures dématiacées largement répandues dans l'air extérieur et sur les matériaux organiques en décomposition. Ces mycètes sont fréquemment trouvés comme contaminants sur la nourriture.

Ce genre comporte des espèces communes saprophytes, phytopathogènes et pathogènes pour l'homme. Les espèces saprophytes communes de *Cladosporium* sont trouvées dans différents types de sol et sur toutes sortes de végétaux sénescents ; quelques espèces peuvent aussi se développer sur des matériaux de construction humides (Samson et al., 2004).

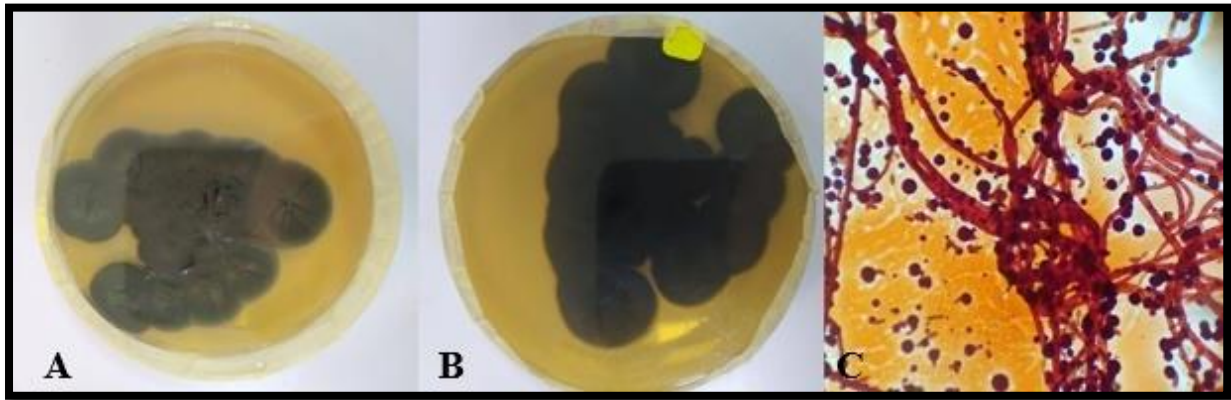


Figure V.41 : *Cladosporium* sp. isolé. Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B). C) Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400

V.2.2.2. *Acremonium*

Le genre *Acremonium* était autrefois connu sous le nom de '*Cephalosporium*'. Selon les auteurs, le genre *Acremonium* contient actuellement entre 20 et 200 espèces (Zare, 2005).

L'*Acremonium* se développe bien sur des milieux mycologiques standards et il arrive à maturité en dedans de cinq jours. La croissance des colonies peut être de lente à modérée lorsqu'elles sont incubées à 25 °C; les colonies sont souvent compactes et atteignent un diamètre de moins de 2,5 cm en cinq à dix jours (Wormser, 2003).

Au début, les colonies paraissent glabres, compactes et parfois moites, plates ou plissées; ensuite, à maturité, elles sont recouvertes par des hyphes lâches qui leur donnent une apparence poudreuse, suédée ou floconneuse. Les colonies peuvent être, selon l'espèce, blanches, gris pâle, roses, vieux rose ou orangées (Ellis, 2007).

Le revers de la colonie est soit incolore, soit teinté d'un pigment diffusible variant de rose à vieux rose.

Les hyphes septés d'*Acremonium* sont hyalins et très délicats. Les hyphes végétatifs forment souvent des cordons.

Les cellules conidiogènes sont des phialides. Les phialides sont échinulées, solitaires, la plupart du temps en forme d'enclume, simples et droites ; ces phialides naissent soit du mycélium végétatif, soit d'amas d'hyphes aériens (fasciculés). Les phialides non ramifiées sont séparées des hyphes par un septum et rapetissent à l'apex. Lorsque les conidiophores sont présents, leurs ramifications sont seulement limitées à leurs bases.

Les conidies sont oblongues (1-3 x 4-8 µm), généralement unicellulaires, hyalines ou pigmentées. Elles sont habituellement formées en faisceaux, en boules ou rarement en chaînes

fragiles; les conidies peuvent être agrégées dans des têtes mucilagineuses, à l'apex de chacune des phialides, et sont retenues par un matériel gélatineux.

L'*Acremonium* est habituellement faiblement pathogène (*Kan, 2004*), mais ce mycète est de plus en plus souvent identifié en tant qu'agent infectieux opportuniste causant une variété d'infections chez des patients immuno-compromis dont les receveurs de greffes d'organes, les sujets atteints de myélome ou de leucémie ainsi que les patients recevant un traitement aux corticoïdes (*Rodriguez, 2000*). De fait, les infections envahissantes ou disséminées sont observées presque exclusivement chez des patients immuno-compromis ; le taux de mortalité chez les patients neutropéniques présentant une infection disséminée s'élève à près de 50% (*Guarro, 1997*).

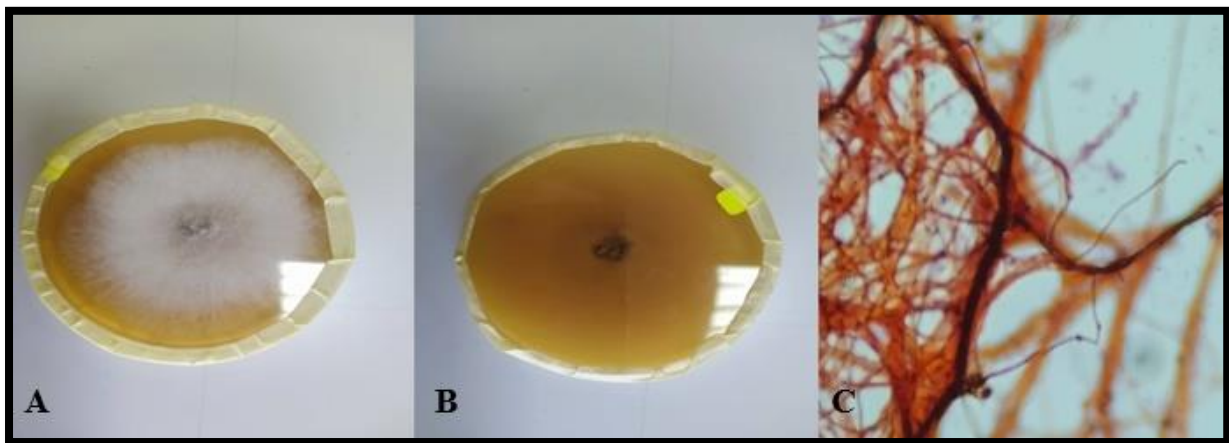


Figure V.42 *Acremonium* sp. Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B).
C) Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400

V.2.2.3. *Aspergillus niger*

Il y a plus de 200 espèces nommées d'*Aspergillus* (*Battilani et al., 2006*). Les *Aspergillus* noirs font partie d'un groupe d'espèces appelé « section Nigri » et autrefois connu sous le nom de « *Aspergillus niger* groupe » : toutes les espèces de la section ont des têtes de conidies noires.

L'*A. niger* est cosmopolite et d'occurrence très commune : il se développe sur la matière organique en conditions aérobies (*Blumenthal, 2004*). Cette espèce est un contaminant commun sur les divers substrats (*Samson et al., 2004*). Il a été trouvé dans le sol, dans le compost et sur la matière végétale en décomposition (*Blumenthal, 2004*); il peut même se trouver sur les sols glacés et dans les environnements marins, mais il préfère habituellement les sols secs et chauds (*Pitt, 1989*). *Aspergillus niger* est l'un des

microorganismes les plus importants utilisés en biotechnologie et il possède une énorme valeur économique (*Blumenthal, 2004*). Malheureusement, il peut causer des maladies humaines opportunistes (*Heinemann et al., 2004*).

Les colonies sont à croissance rapide sur tous les milieux. Sur milieu gélosé de Czapek-Dox à 25 °C, les colonies atteignent un diamètre de 4-5 cm en dedans de 7 jours et de 6-7 cm après 21 jours, Les colonies se composent d'un feutre blanc ou jaune compact avec une couche dense de conidiophores de bruns à noirs (*Frisvad, 2004*) ; le revers de la colonie est de crème à jaune. Sur gélose à l'extrait de malt, les colonies sont plus clairsemées, mais elles sont fortement sporulées (*Fiedler, 2001*). On observe une croissance pauvre sur le milieu gélosé à la créatinine, additionné de dichloran et de sucrose (CREAD) (*Bruggeman, 2004*). Les colonies sur gélose pomme de terre et dextrose (PDA) à 25 °C sont d'abord blanches, devenant rapidement noires au moment de la production de conidies. Le revers de la colonie est jaune pâle et se plisse de façon radiale au cours de la croissance (*Richardson, 2009*).

Les hyphes sont septés et hyalins. Les têtes de conidies sont noires, de configuration globuleuse à radiale, et, à maturité, les têtes se segmentent en colonnes lâches. Les conidies sont globuleuses à sous-globuleuses, mesurant 3,5-5 µm de diamètre, et elles sont brunâtres et de texture verruqueuse, échinulée ou striée. Les conidiophores sont longs (400-3 000 µm), à paroi lisse, hyalins, devenant plus foncés à l'apex et se terminant en une vésicule globuleuse à sous-globuleuse (50-100 µm de diamètre). Les phialides (7,0-9,5 x 3-4 µm) sont portées sur des métules; les métules (15-25 x 4,5-6,0 µm), de hyalines à brunes, sont souvent septées (*Larone, 1987*).

Une étude de souches d'*A. niger*, isolées chez des patients présentant une aspergillose pulmonaire, établit que ces souches perturbent les cellules épithéliales respiratoires humaines, mais sans ralentissement significatif de la fréquence du battement ciliaire (*Amitani, 1995*). Une autre étude expérimentale démontre que les extraits d'*A. niger* provoquent des effets cytotoxiques et l'hémolyse des globules rouges de moutons (*Negrone, 1975*).



Figure V.43 : *Aspergillus niger*. Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B).

C) Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400

V.2.2.4. *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus a été associé à chacun des types de problèmes de santé attribués aux moisissures environnementales : irritation et inflammation, allergie, asthme, pneumonite, effets toxiques ainsi que toute la gamme des infections fongiques. Des infections ont été rapportées touchant chaque site anatomique et chaque type de tissu, excepté les ongles. *A. fumigatus* est l'agent principal de l'aspergillose chez les patients présentant une altération de l'immunité naturelle (Botterel et al., 2002).

Ce mycète est un saprophyte de répartition mondiale, fréquemment isolé à partir du sol, de la matière végétale en décomposition, du compost, des copeaux de bois, du foin et des grains engrangés (Bart-Delabesse, 2005). Cette espèce se développe bien à des températures allant jusqu'à 45 °C, ou même à des températures plus élevées, et constitue un des microorganismes les plus communs présents dans la tourbe, le compost et tout autre matériel organique se décomposant à des températures élevées.

Ce mycète a été décelé dans des milieux humides, aussi bien dans des milieux d'eau douce que dans des milieux d'eau de mer, ainsi que dans des terrains marécageux, des plages de sable, des sols salins et des marais de palétuviers (Robert, 2005).

Les colonies se développent modérément à 25 °C sur gélose à l'extrait de malt (MEA) ou sur gélose pomme de terre (PDA); les colonies atteignent 25 µm de diamètre en dedans de cinq jours. Une colonie issue d'un point unique d'inoculation, incubée à 37 °C, aura un diamètre de 40 à 60 mm en sept jours.

Les colonies sont plates ou légèrement plissées et plutôt rases, denses et veloutées; le mycélium aérien est vert bleuté. À maturité, la surface des colonies devient cotonneuse. Le

revers de la colonie est pourpre avec une frange blanche (*Samson, 1984*). Il y a parfois la présence d'un pigment pourpre diffusible dans la gélose.

À un faible grossissement, les têtes de conidies apparaissent en surface nettement radiales en début de croissance ; plus tard, à maturité, les têtes sont compactes, et les chaînes de conidies sont en colonnes serrées.

Au microscope, la structure principale de la tête de conidies est le conidiophore. Ce dernier est formé d'une longue cellule ovale ou *stipe* mesurant 200-400 µm de long, parfois sinueuse à parois lisses, minces et hyalines ; cette cellule s'élargit graduellement en une vésicule piriforme souvent verdâtre (20-30 µm de diamètre). Les vésicules sont fertiles à l'apex sur au moins la moitié de leur surface ; elles portent de nombreuses phialides (*Kim, 2002*) agencées de façon compacte ; les phialides latérales sont recourbées vers le haut de façon à se retrouver presque parallèles à l'axe central du conidiophore. Ainsi, toutes les phialides pointent dans la même direction.

Les conidies sont sphériques à subsphériques, mesurent 2,5-3,0 µm de diamètre et sont à parois finement rugueuses et échinulées. Parfois, les chaînes de conidies peuvent être portées directement sur la vésicule au lieu d'être produites par une phialide intermédiaire (*Rolston, 2000*). Les souches d'*A. fumigatus* isolées d'échantillons cliniques et de l'environnement élaborent des métabolites qui sont considérés comme étant des facteurs potentiels de virulence : ces facteurs incluent la production de colorants et de molécules d'adhérence sur la surface des cellules ainsi que la sécrétion des enzymes et des toxines hydrolytiques (*Belkacemi, 1999*). Les mycotoxines présentes dans les souches cliniques peuvent contribuer à la pathogénicité de l'*A. fumigatus* (*Kosalec, 2005*) étant donné qu'elles facilitent la pénétration du mycète dans l'épithélium par la lyse cellulaire. D'autres mécanismes reliés aux toxines ont été étudiés, principalement les mécanismes empêchant la phagocytose de la moisissure par les cellules immunes de l'hôte (*Askew, 2005*). La pathogénicité de l'*A. fumigatus* pourrait être favorisée par ses effets toxiques sur les macrophages (*Bertout, 2002*), les neutrophiles (*Coméra, 2007*). et les leucocytes (*Kamei, 2002*). Il a été démontré que, expérimentalement, le diffusat de spores, isolées à partir de certaines souches d'*Aspergillus fumigatus*, empêche la phagocytose des mycètes par les macrophages alvéolaires murins (*Kubodera, 2002*).

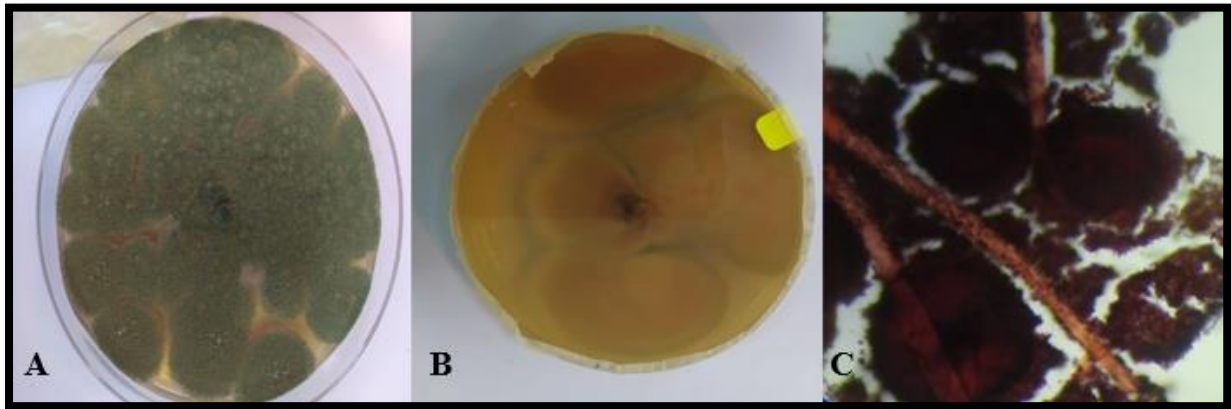


Figure V.44 : *Aspergillus fumigatus*. Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B).
C) Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400

V.2.2.5. *Aspergillus nidulans*

Aspergillus nidulans est un champignon filamenteux qui est une ressource potentielle pour les enzymes industrielles. C'est une usine de cellules fongiques polyvalente qui peut synthétiser diverses enzymes industrielles. *A. nidulans* est connu comme organisme modèle pour la production d'enzymes hétérologues. Des enzymes natives et hétérologues d'*A. nidulans* ont été employées pour divers processus industriels (Blanchard, 2004).

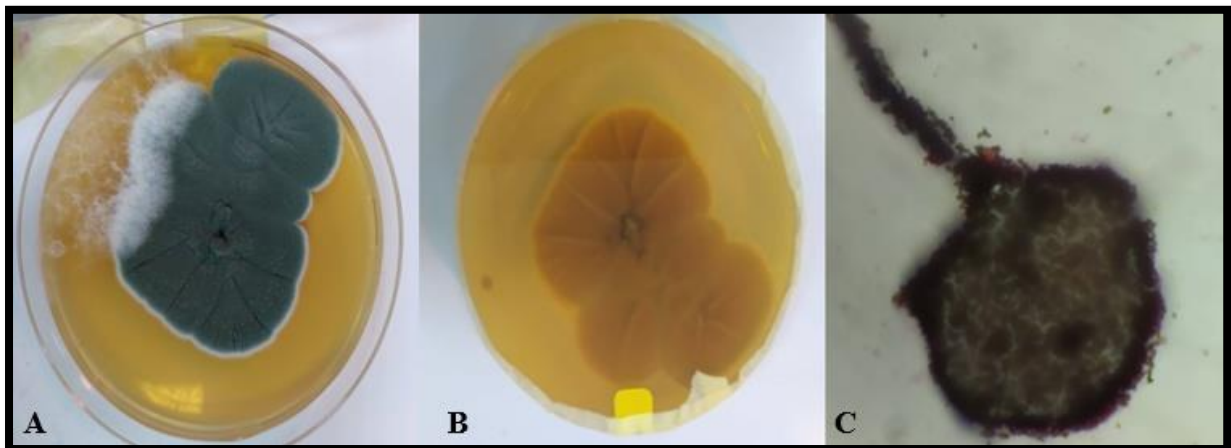


Figure V.45 : *Aspergillus nidulans*. Culture sur gélose Sabouraud âgée de 8 jours (A et B).
C) Observations microscopiques colorées au rouge Congo à grossissement x400

V.3. Elaboration des biopolymères

Après extraction traitement et élaboration des biopolymères à base d'amidon et d'agar nous avons obtenus les biofilms présentés dans la figure (V.7).



Figure V.46 : Biopolymère élaboré à base d'agar-agar (A). Biopolymère à base d'amidon (B).

On peut constater une réelle différence entre le biofilm à base d'agar-agar (A) et celui à base d'amidon (B) juste au toucher et par étirement et compression à la main :

- Le biofilm C est plus transparent translucide que le A ;
- De par sa résistance et dureté le biofilm B est plus résistant que le A ;
- D'un côté souplesse, légèreté le biofilm A est de loin le plus souple.

V.4 La biodégradation des biopolymères

V.4.1. Biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar

V.4.1.1. Biodégradation en milieu liquide

La figure ci-dessous (Figure V.8) indique les valeurs moyennes de la biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar dans le milieu liquide basal bold par les cinq souches isolées.

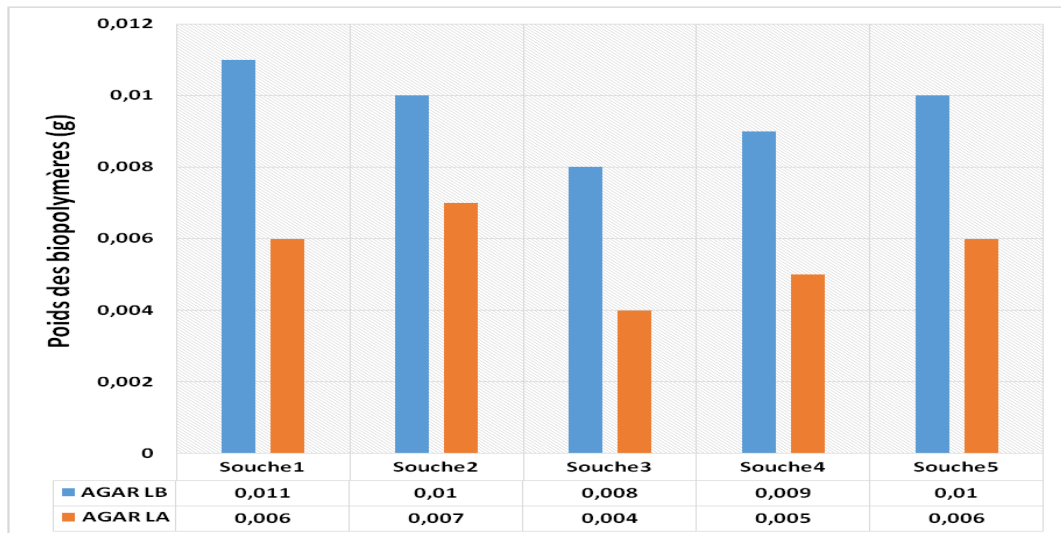


Figure V.47 : Biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar en milieux liquide. Agar LB : Avant biodégradation. Agar LA : Après biodégradation.

- Souche1 : *Acremonium sp.*
- Souche2 : *Aspergillus niger*
- Souche3 : *Aspergillus fumigatus*
- Souche4 : *Aspergillus nidulans*
- Souche5 : *Cladosporium sp.*

➤ Interprétation

Nous remarquons une nette dégradation du biopolymère en comparant le poids avant traitement et après 30 jours de contact avec chaque souche fongique séparément. Les souches d'*Acremonium sp.*, *Aspergillus fumigatus* et *A. nidulans* présentent une perte de la moitié de la masse du biopolymère (Agar) pendant 30 jours.

V.4.1.2. Biodégradation en milieu solide

La figure ci-dessous indique les valeurs moyennes de la biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar dans le milieu solide basal bold par les cinq souches isolées (voir noms des souches dans le paragraphe précédent).

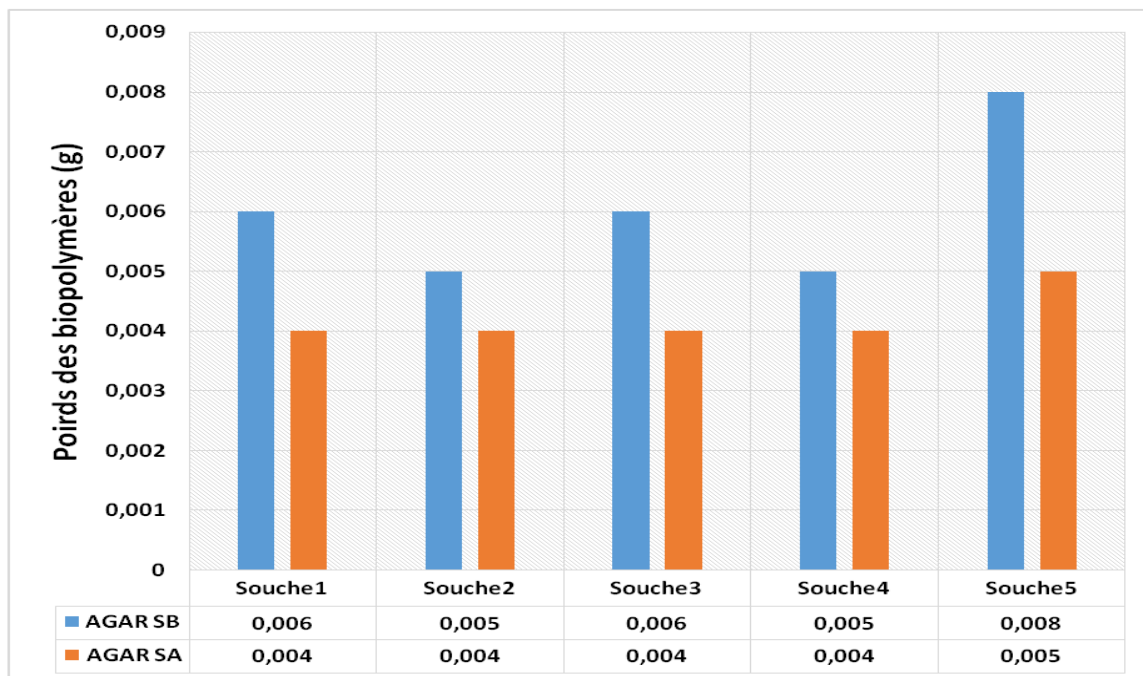


Figure V.48 : Biodégradation du biopolymère à base d'agar-agar en milieu solide. SB : Solide avant traitement. SA : Solide après traitement.

- Souche1 : *Acremonium sp.*
- Souche2 : *Aspergillus niger*
- Souche3 : *Aspergillus fumigatus*
- Souche4 : *Aspergillus nidulans*
- Souche5 : *Cladosporium sp.*

➤ Interprétation

La biodégradation en milieu solide, nous a permis d'observer que les souches *Acremonium* d'*Acremonium* et *Aspergillus fumigatus* ont celles qui ont mieux dégradé les morceaux d'agar. Ce qui nous donne la conclusion que même le milieu solide est un milieu propice à la dégradation des biofilms de biopolymères par les champignons microscopiques.

V.4.1.3. Rendement de biodégradation des biopolymères à base d’agar- agar

La figure ci-dessous (V.10) indique les valeurs du rendement de biodégradation du biopolymère à base d’agar-agar dans chacun des milieux solide et liquide basal bold liquide par les cinq souches de champignons microscopiques sélectionnées séparément.

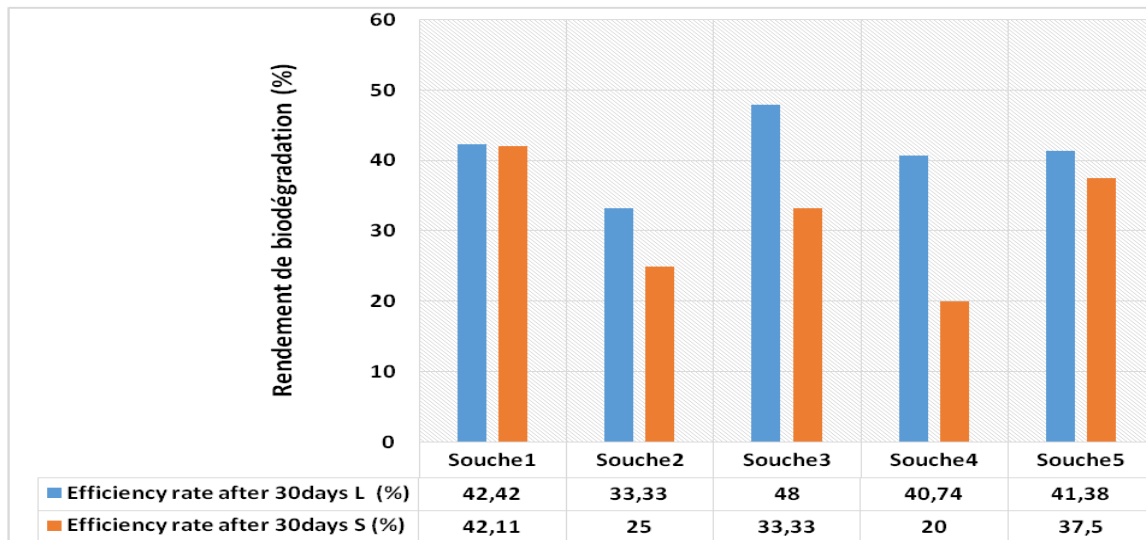


Figure V.49 : Rendement de biodégradation du biopolymères à base d’agar-agar après 30 jours dans les deux milieux. L : Liquide, S : Solide.

- Souche1 : *Acremonium sp.*
- Souche2 : *Aspergillus niger*
- Souche3 : *Aspergillus fumigatus*
- Souche4 : *Aspergillus nidulans*
- Souche5 : *Cladosporium sp.*

➤ **Interprétation**

Après 30 jours de biodégradation, nous avons pu constater :

D’abord pour le milieu liquide on remarque que l’*Aspergillus fumigatus* et le champignon qui a le meilleur rendement de dégradation contrairement à l’*Aspergillus niger* ; toutefois les rendements de biodégradation en milieu liquide restent rapprochés.

En milieu solide l’*Acremonium sp.* Est celui qui a le mieux dégradé le biopolymère à base d’agar agar cependant l’*Aspergillus niger* et l’*A.nidulans* n’ont pas donnée des résultat assez fructueux avec des rendements de biodégradation assez faible de 25 et 20% respectivement.

Cependant on peut conclure l’*Acremonium sp.* est le champignon microscopique qui a le mieux dégradé le biopolymère à base d’agar agar dans les deux milieux que ce soit liquide ou solide et cela avec un de bon rendement presque la moitié du poids initial a été éliminé.

V.4.2. Biodégradation du biopolymère à base d'amidon

V.4.2.1. Biodégradation en milieu liquide

La figure ci-dessous indique les valeurs moyennes de la biodégradation du biopolymère à base d'amidon dans le milieu liquide basal bold par les cinq souches isolées.

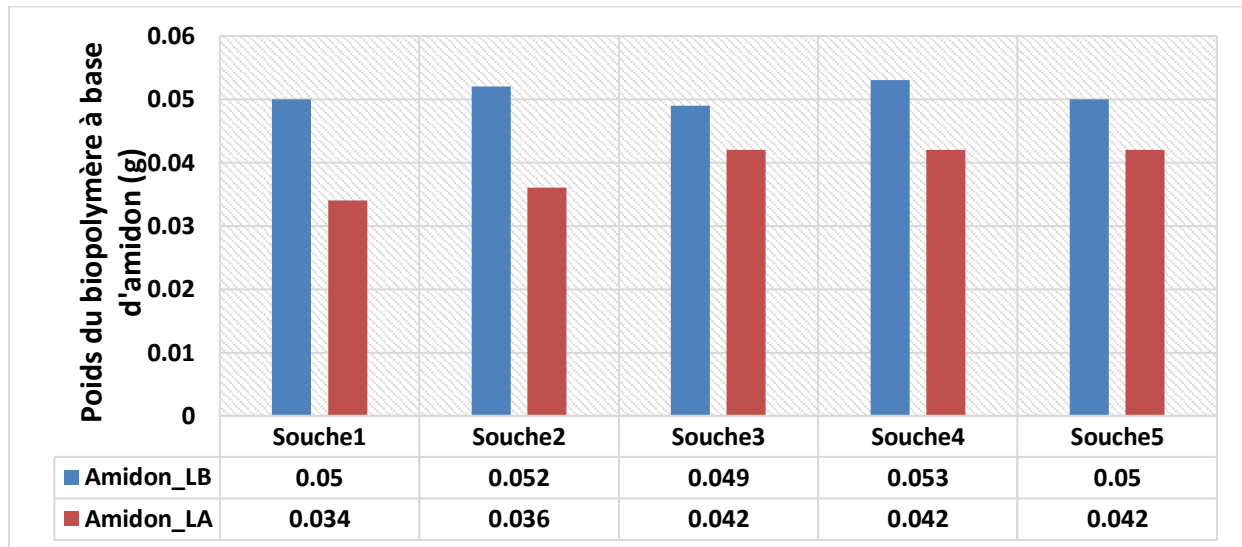


Figure V.50 : Biodégradation du biopolymère à base d'amidon en milieux liquide. LB : Liquide avant traitement. LA : Liquide après traitement.

- Souche1 : *Acremonium sp.*
- Souche2 : *Aspergillus niger*
- Souche3 : *Aspergillus fumigatus*
- Souche4 : *Aspergillus nidulans*
- Souche5 : *Cladosporium sp.*

➤ Interprétation

D'après la figure nous remarquons une nette dégradation du biopolymère à base d'amidon. On constate que l'*Acremonium sp.* et l'*A. niger* sont celles qui ont mieux dégradé les bioplastiques amidon comparées aux autres souches.

V.4.2.2. Biodégradation en milieu solide

La figure ci-dessous indique les valeurs moyennes de la biodégradation du biopolymère à base d'amidon dans le milieu solide basal par les cinq souches sélectionnées.

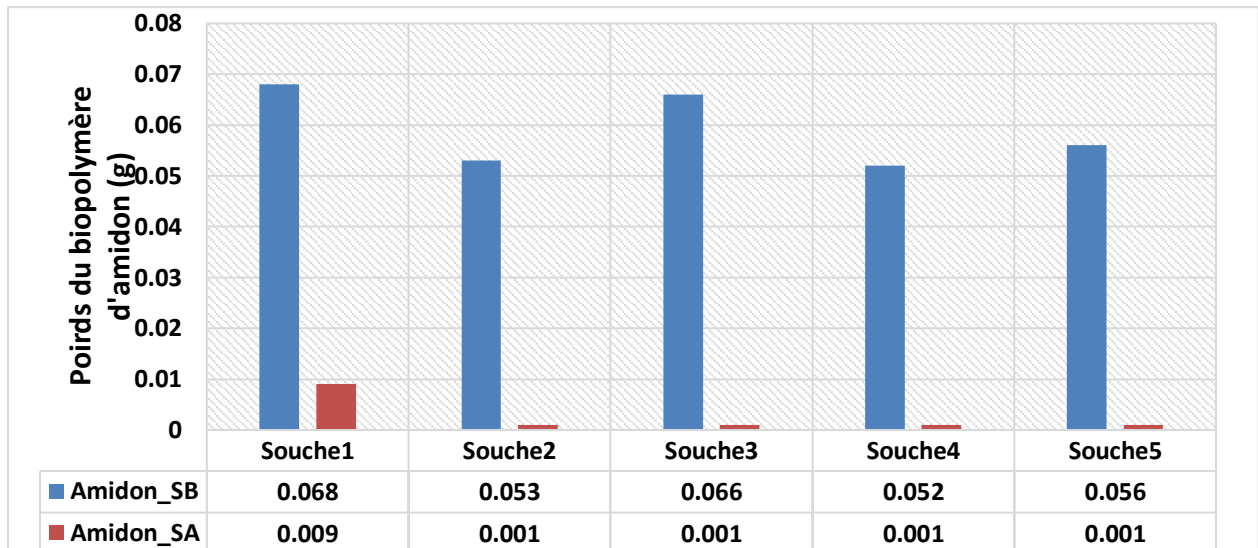


Figure V.51 : Biodégradation du biopolymère à base d'amidon en milieux solide. SB : Solide avant traitement. SA : Solide après traitement.

- Souche1 : *Acremonium sp.*
- Souche2 : *Aspergillus niger*
- Souche3 : *Aspergillus fumigatus*
- Souche4 : *Aspergillus nidulans*
- Souche5 : *Cladosporium sp.*

➤ Interprétation

D'après la figure, on constate une nette perte du poids initial du biopolymère d'amidon biodégradé par les cinq souches, même si toutefois *l'Acremonium sp.* Souche n'a pas aussi bien dégradé l'amidon comparée aux autres. Il ressort que *l'Acremonium sp.* Est moins efficace pour la dégradation d'amidon.

Chapitre V Résultats et discussions

V.4.2.3. Rendement de dégradation pour les biopolymère à base d'agar- agar

La figure ci-dessous indique les valeurs moyennes du rendement de biodégradation du biopolymère à base d'amidon dans chacun des milieux basal bold liquides et solides par les cinq souches différentes de champignons microscopiques.

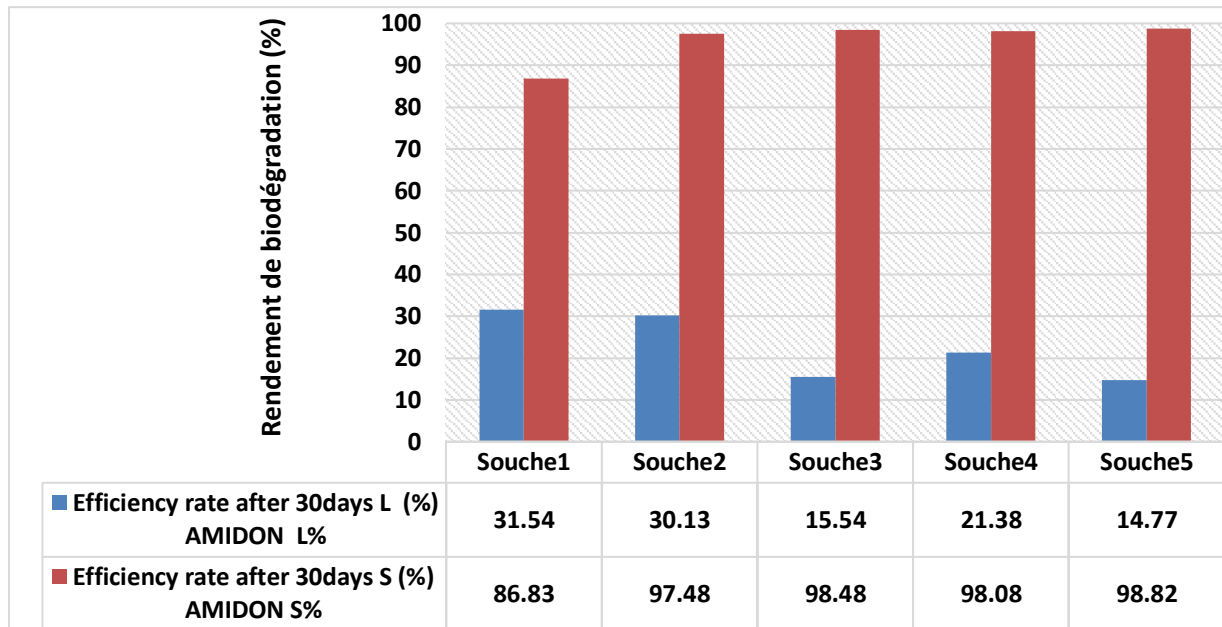


Figure V.52 : Rendement de biodégradation du biopolymères à base d'amidon après 30 jours dans les deux milieux. L : en milieu liquide. S : en milieu solide

- Souche1 : *Acremonium sp.*
- Souche2 : *Aspergillus niger*
- Souche3 : *Aspergillus fumigatus*
- Souche4 : *Aspergillus nidulans*
- Souche5 : *Cladosporium sp.*

➤ Interprétation

La biodégradation du biopolymère à base d'amidon dans les deux milieux liquide et solide nous a permis de confirmer que nos souches fongiques isolées peuvent dégrader efficacement le biopolymère d'amidon en seulement 30 jours.

Pour la biodégradation en milieu liquide *l'Acremonium sp.* Est la souche qui présente le meilleur rendement de dégradation contrairement à *l'Aspergillus fumigatus* qui a un rendement de biodégradation nettement inférieur à celui de *l'Acremonium sp.* qui est de 15,54%, voire sa moitié.

Pour la biodégradation en milieu solide toutes les souches présentent un excellent rendement qui varie entre 98,82% pour le *Cladosporium sp.* et 86,83% pour *l'Acremonium sp.*

On peut conclure que les souches fongiques utilisées ont un meilleur rendement de biodégradation en milieu liquide que solide.

V.5. Discussion des résultats obtenus

D'après les résultats obtenus il est net que le milieu solide est le plus favorable à la biodégradation des biopolymères élaborés à base d'amidon ou d'agar agar par nos cinq souches de champignons microscopiques isolés. Cependant, en ce qui concerne les biopolymères à base d'agar agar les souches fongiques ont présenté un meilleur pouvoir de biodégradation en milieu liquide. Les meilleurs rendements de biodégradation ont été obtenus par les souches fongiques suivantes :

- ***Acremonium sp.***

C'est le champignon microscopique qui a donné les meilleurs résultats pour la dégradation des deux biopolymères en milieu solide et pour le biopolymère à base d'amidon en milieu liquide.

- ***Cladosporium sp.***

Ce dernier fait partie des champignons microscopiques qui ont le mieux dégradé nos biopolymères que ce soit celui à base d'amidon ou d'agar agar et cela dans les deux types de milieu Bold basal liquide et solide.

- ***Aspergillus fumigatus***

Après une biodégradation qui a duré 30 jours, on a pu constater que l'*A. fumigatus* a un excellent pouvoir de biodégradation sur le biopolymère à base d'agar agar en milieu liquide contrairement que sur le biopolymère à base d'amidon dans le même type de milieu où la biodégradation n'a presque pas eu lieu. En ce qui concerne la biodégradation en milieu solide c'est l'un des champignons qui a le plus dégradé le biopolymère à base d'amidon voir jusqu'à complète disparition.

Les souches fongiques qui ont montré les plus faibles taux de biodégradation sont les suivantes :

- ***Aspergillus nidulans***

Pour *l'Aspergillus nidulans* il présente des résultats de biodégradation moyenne même si tout de même il est plus efficace pour la biodégradation des biopolymères à base d'amidon.

- ***Aspergillus niger***

D'après nos résultats obtenus, il n'est pas efficace pour la biodégradation des biopolymères à base d'amidon et d'agar agar et cela dans les deux types de milieu liquide et solide de Bold Basal. C'est le champignon microscopique qui a le rendement de biodégradation le plus faible.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

L'un des objectifs de cette étude était de valider la problématique qui est de savoir si les champignons marins ont la capacité de biodégrader les biopolymères mais avant cela nous avons identifié et caractérisé des souches fongiques isolées du sable de la plage de la jetée située à Skikda, puis le pouvoir de dégradation de deux types de biopolymère élaboré à partir d'agar agar et d'amidon.

La première partie de notre travail de recherche était l'isolement et la purification des souches fongiques à partir de l'échantillon de sable on pu obtenir cinq souche dont : *Acremonium sp*, *Cladosporium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus nidulans*.

La seconde partie se résume à l'élaboration de nos deux types de biopolymères biosourcé à base d'amidon extrait de pomme de terre et d'agar agar issus d'une algue rouge ; cette étape à demander l'utilisation de différent type de protocole d'élaboration jusqu'à obtention d'un biofilm fin et malleable assez similaire au polymère conventionnelle.

La troisième partie de notre travail et pas des moindres est l'étape de biodégradation des biopolymères par les champignons filamenteux isolé précédament ; nous avons utilisé pour cela le milieu de culture Bold Basal à l'étape liquide et solide à température ambiante pendant 30 jours pour se rapproché le plus possible au condition naturel d'où le fait de n'avoir pas utilisé d'incubateur.

Les résultats obtenus dans ce travail sont assez concluant, ils montrent clairement l'efficacité des souches fongiques isolées sur la biodégradation des biopolymères à base d'amidon et d'agar agar.

Pour la partie biodégradation on peut conclure que :

- Le milieu solide est le plus favorable à la biodégradation des biopolymères élaborés à base d'amidon ou d'agar agar par nos cinq souches de champignons microscopiques isolés.
- Cependant, en ce qui concerne les biopolymères à base d'agar agar les souches fongiques ont présenté un meilleur pouvoir de biodégradation en milieu liquide.

Conclusion générale

Pour le pouvoir de biodégradation des champignons filamenteux microscopiques on peut les résumer à :

Les souches fongiques qui ont données le meilleur rendement de biodégradation sont :

- *Acremoniumsp.* : C'est le champignon microscopique qui a donné les meilleurs résultats pour la dégradation des deux biopolymères en milieu solide.
- *Cladosporiumsp.* : il a dégradé nos biopolymères que ce soit celui à base d'amidon ou d'agar agar et cela dans les deux type de milieu Bold basal liquide et solide.
- *Aspergillus fumigatus* : à un excellent pouvoir de biodégradation sur le biopolymère à base d'agar agar en milieu liquide. En ce qui concerne la biodégradation en milieu solide c'est l'un des champignons qui a montré le meilleur rendement de biodégradation du biopolymère à base d'amidon voire jusqu'à complète disparition. On parle d'un rendement de 98,8 %.

Les souches fongiques qui ont montré les plus faibles taux de biodégradation sont les suivantes :

- *Aspergillus nidulans* : il présente des résultats de biodégradation moyenne même si tout de même il est plus efficace pour la biodégradation des biopolymères à base d'amidon.
- *Aspergillus niger* : il n'est pas efficace pour la biodégradation des biopolymères à base d'amidon et d'agar agar. C'est le champignon microscopique qui a le rendement de biodégradation le plus faible.

A la lumière de ces résultats obtenus, il est souhaitable pour plus approfondir cette étude de :

- Etudier la biodégradation de ces deux types de biopolymères par d'autres souches fongiques ;
- Etudier la biodégradation dans un autre milieu de culture ;
- Tester la biodégradabilité d'autre biopolymère ;
- Etudier la biodégradation sur une période plus prolongée.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

- Aissi, M., Bouchara, J. P., Tronchin, G., Larcher, G., Vigny, J., & Chabasse, D. (2002). ETUDE IN VITRO D'UNE EXOPROTEASE D'ASPERGILLUS FUMIGATUS DEGRADANT LES PROTEINES CONSTITUTIVES DE MEMBRANES BASALES. *Sciences & Technology. A, exactes sciences*, 85-90.
- Auras, R., Harte, B., & Selke, S. (2004). An overview of polylactides as packaging materials. *Macromolecular bioscience*, 4(9), 835-864.
- Chandra, R. U. S. T. G. I., & Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in polymer science*, 23(7), 1273-1335.
- Gross, R. A., & Kalra, B. (2002). Biodegradable polymers for the environment. *Science*, 297(5582), 803-807.
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1· 5 million species estimate revisited. *Mycological research*, 105(12), 1422-1432.
- Hawksworth, D. L., & Rossman, A. Y. (1997). Where are all the undescribed fungi? *Phytopathology*, 87(9), 888-891.
- Lörcks, J. (1998). Properties and applications of compostable starch-based plastic material. *Polymerdegradation and stability*, 59(1-3), 245-249.
- Neubert, K., Mendgen, K., Brinkmann, H., & Wirsal, S. G. (2006). Only a few fungal species dominate highly diverse mycofloras associated with the common reed. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(2), 1118-1128.
- Scott, G. (2002). Why degradable polymers? In *Degradable Polymers* (pp. 1-15). Springer, Dordrecht.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in food science & technology*, 14(3), 71-78.

Référence bibliographique

Chapitre I

- Bagnères, A. G., Csata, E., Timuş, N., Witek, M., Casacci, L. P., Lucas, C., & Markó, B. (2017). Lock-picks: fungal infection facilitates the intrusion of strangers into ant colonies. *Scientific Reports*, 7(1), 1-14.
- Bensabra, A., Sayoud, L., & Siaria, M. (2008). *Etude de la cinétique de croissance des moisissures issues de produits alimentaires*. Doctoral dissertation, Université de Jijel.
- Blackwell, M. (2011). The Fungi: million species?. *American journal of botany*, 98(3), 426-438.
- Booth, T., & Kenkel, N. (1986). Ecological studies of lignicolous marine fungi: A distribution model based on ordination and classification.
- Brunel, J. M. (2005). BINOL: a versatile chiral reagent. *Chemical reviews*, 105(3), 857-898.
- Chabasse, D., Guiguen, C., & Contet-Audonnet, N. (2002). Mycologie médicale
- Chandra, R.U.S.T.G.I. & Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in polymer science*, 23(7), 1273-1335.
- Damare, S., Raghukumar, C., & Raghukumar, S. (2006). Fungi in deep-sea sediments of the Central Indian Basin. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 53(1), 14-27.
- Dumas, T. (2020). *Les approches-omiques, métabolomique et protéomique, pour l'étude de la relation de cause à effet entre contaminants émergents, produits pharmaceutiques et organismes marins, Mytilusgallo provincialis* (Doctoral dissertation, Université Montpellier).
- Hardy, N. (2016). *Identification des critères d'extrapolation du procédé de production de cellulases par Trichoderma reesei en utilisant l'approche «scale-down»* (Doctoral dissertation, Université Paris Saclay (COMUE)).
- Hyde, K. D., & Goh, T. K. (1998). Fungi on submerged wood in Lake Barrine, north Queensland, Australia. *Mycological Research*, 102(6), 739-749.

Référence bibliographique

- Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M., Ayed, F., & El Mahjoub, M. (2008). First report of verticillium wilt of artichoke caused by *Verticilliumdahliae* in Tunisia. *Plant Pathology*, 57(2), 377-377.
- Jones, E. G. (2011). Are there more marine fungi to be described.
- Kutty, S. N., & Philip, R. (2008). Marine yeasts—a review. *Yeast*, 25(7), 465-483.
- Le Calvez., Burgaud, G., T., Arzur, D., Vandenkoornhuysse, P., & Barbier, G. (2009). Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents. *Environmental Microbiology*, 11(6), 1588-1600.
- Madelin, T. M. (1994). Fungal aerosols: a review. *Journal of aerosol science*, 25(8), 1405-1412.
- Matallah-Boutiba, A., Benmessaoud, N., Messaoui, N., & Boutiba, Z. (2016). Microbiological Sandy Beach Quality in Western Algeria. *J Mar Biol. Oceanogr.* 5, 3, 2.
- Mueller, G. M., & Schmit, J. P. (2007). Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? *Biodiversity and conservation*, 16(1), 1-5.
- NAJIH, S. (2008). *Onychomycoses à moisissures: Etude rétrospective au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie Médicale de l'Hôpital d'Enfants de Rabat sur la période 1993-2007* (Doctoral dissertation).
- Perez, T., Garrabou, J., Sartoretto, S., Harmelin, J. G., Francour, P., & Vacelet, J. (2000). Mortalité massive d'invertébrés marins: un événement sans précédent en Méditerranée nord-occidentale. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-SeriesIII- Sciences de la Vie*, 323(10), 853-865.
- Richards, L. & Morse, J. M. (2012). *Readme first for a user's guide to qualitative methods*. Sage.
- Saadi, N.H.M., Ahmad, N.S., & Saeed, S.E. (2009). Determination of some chemical compounds and the effect of oil extract from orange peel on some pathogens *Journal of Kerbala University*, 7(2).

Référence bibliographique

Sparrow Jr, F. K. (1934). The occurrence of true sporangia in the Physoderma disease of corn. *Science*, 79(2060), 563-564.

Stajich, J. E., Berbee, M. L., Blackwell, M., Hibbett, D. S., James, T. Y., Spatafora, J. W., & Taylor, J. W. (2009). Primer--the fungi. *Current biology: CB*, 19(18), R840.

Vogel, K. J., & Moran, N. A. (2007). Functional and evolutionary analysis of the genome of an obligate fungal symbiont. *Genomebiology and evolution*, 5(5), 891-904.

Chapitre II

Abdulbagi, M., Wang, L., Siddig, O., Di, B., & Li, B. (2021). D-Amino Acids and D-Amino Acid-Containing Peptides: Potential Disease Biomarkers and Therapeutic Targets?. *Biomolecules*, 11(11), 1716.

Chetouani, A. (2018). *Élaboration et bio évaluation de nouvelles classes d'hydrogels à base de pectine avant et après son oxydation par le periodate et/ou par le chlore actif et étude de leurs effets sur les comportements physico-chimiques et biologiques de la gélatine et du chitosane* (Doctoral dissertation).

Chevalier, L. (2018). Étude des interactions entre les protéines de lactosérum et les fibres du bleuet dans la formulation d'aliments enrichis en fibres et en protéines.

Claudet, G. (2005). La valorisation énergétique de la biomasse. *L'énergie de demain*», EDP Sciences.

Decroix, C. (2019). *Développement d'un matériau à base d'acétate de cellulose par plastification réactive en extrusion* (Doctoral dissertation, Université de Lyon).

Déniel, M. (2016). *Etude de la production de bio-huile par liquéfaction hydrothermale de résidus agroalimentaires et de leurs molécules modèles* (Doctoral dissertation, Ecole des Mines d'Albi-Carmaux).

Dospinescu-Rosu, A. M. (2011). *Synthèse et étude d'amidons modifiés pour le développement de procédés d'oxydation du benzo [a] pyrène, un modèle de polluant organique persistant* (Doctoral dissertation, Université du Littoral Côte d'Opale;Universitatea Vasile Alecsandri din Bacău (România)).

Référence bibliographique

- Dumont, M. (2016). *Élaboration et caractérisation de fibres mixtes Alginate/Chitosane* (Doctoral dissertation, Université de Lyon).
- Hamaguchi, I., Ooka, A., Brun, A., Richter, J., Dahl, N., & Karlsson, S. (2002). Gene transfer improves erythroid development in ribosomal protein S19-deficient Diamond-Blackfan anemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *100*(8), 2724-2731.
- Houichi Mani, H. (2016). *Etude de la mise en oeuvre de l'acide poly (lactique) par le procédé d'extrusion film: Relation structure-procédé* (Doctoral dissertation, Lyon).
- Lambert, S., & Wagner, M. (2017). Environmental performance of bio-based and biodegradable plastics: the road ahead. *Chemical Society Reviews*, *46*(22), 6855-6871.
- Lefaux, S. (2005). *Biodégradation de films polymères à usage agricole: Caractérisation physico-chimique des résidus et identification biomoléculaire des bactéries actives* (Doctoral dissertation, thèse, Université du Maine-UFR Sciences et Techniques).
- Michel, V. E. R. T. (2005). *Mise au point d'un milieu solide inerte pour l'étude de la biodégradation des polymères dans le compost* (Doctoral dissertation, Université de Reims Champagne Ardenne).
- Mokrani, T. (2012). Organic/inorganic nanocomposite membranes development for low temperature fuel cell applications. In *Advances in Chemical Engineering*. IntechOpen.
- Rabetafika, H. N., Paquot, M., & Dubois, P. (2006). Les polymères issus du végétal: matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, *10*(3), 185-196.
- Renault, E. (2014). *Délicnification du bois de châtaignier par une approche de chimie verte: Mise en oeuvre et impacts sur la structure et le potentiel anti-radicalaire des phyto-polysaccharides extraits* (Doctoral dissertation, Université de Limoges).
- Rutot, D., & Dubois, P. (2004). Les (bio)polymères biodégradables: l'enjeu de demain? *CHIMIE NOUVELLE.*, (86), 66-74.

Référence bibliographique

- Schmidt, K., Hildebrandt, F. I., &Zugenmaier, P. (1999). Investigations on cellulose-carbanilates and cellulose-carbanilate-acetates in dilute solutions.
- Wysokowski, M., Behm, T., Born, R., Bazhenov, V. V., Meißner, H., Richter, G., ...& Ehrlich, H. (2013). Preparation of chitin–silica composites by in vitro silicification of two-dimensional Ianthella basta demosponge chitinous scaffolds under modified Stöber conditions. *Materials Science and Engineering: C*, 33(7), 3935-3941.
- Zitouni, M., Fortin, M., Scheerle, R. K., Letzel, T., Matteau, D., Rodrigue, S., & Brzezinski, R. (2013). Biochemical and molecular characterization of a thermostablechitosanase produced by the strain *Paenibacillus sp.* 1794 newly isolated from compost. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(13), 5801-5813.

Chapitre III

- Abiras, H. W., Belarbi, L., Bennabi, L., &Guemra, K. (2018). Preparation, characterization and degradation study of polyesteramide copolymers. *Moroccan Journal of Chemistry*, 6(1), 6-1.
- Agarwal, S. Rao, A. V., & Waseem, Z., (1998). Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Research International*, 31(10), 737-741.
- Amass, W., Amass, A., & Tighe, B. (1998). A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polymer international*, 47(2), 89-144.
- Cecutti, M. C. (2003). Un nouveau test d'évaluation de la biodégradabilité dans le sol-- Travaux de normalisation en cours. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 10(5-6), 354-359.
- Davet, P. (1996). *Vie microbienne du sol et production végétale*. Editions Quae.
- De Mauro, A., Greco, M., & Grimaldi, M. (2016). A formal definition of Big Data based on its essential features. *Library Review*

Référence bibliographique

- Dussud, C., & Ghiglione, J. F. (2014). Bacterial degradation of synthetic plastics. In *CIESM workshop monogr* (Vol. 46, pp. 49-54).
- Eldsäter, C., Erlandsson, B., Renstad, R., Albertsson, A. C., & Karlsson, S. (2000). The biodegradation of amorphous and crystalline regions in film-blown poly (ϵ -caprolactone). *Polymer*, *41*(4), 1297-1304.
- Eldsäter, C., Karlsson, S., & Albertsson, A. C. (1999). Effect of abiotic factors on the degradation of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in simulated and natural composting environments. *Polymerdegradation and stability*, *64*(2), 177-183.
- Fayt, R., Jérôme, R., & Teyssie, P. (1989). Molecular design of multicomponent polymer systems. XIV. Control of the mechanical properties of polyethylene-polystyrene blends by block copolymers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, *27*(4), 775-793.
- Francou, C. (2003). *Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains: Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage- Recherche d'indicateurs pertinents* (Doctoral dissertation, INAPG (AgroParisTech)).
- Gartiser, S., Urich, E., Alexy, R., & Kümmerer, K. (2007). Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes. *Chemosphere*, *66*(10), 1839-1848.
- Gattin, R., Copinet, A., Bertrand, C., & Couturier, Y. (2002). Biodegradation study of a starch and poly (lactic acid) co-extruded material in liquid, composting and inert mineral media. *International biodeterioration & biodegradation*, *50*(1), 25-31.
- Gattin, R., Copinet, A., Bertrand, C., & Couturier, Y. (2002). Biodegradation study of a starch and poly (lactic acid) co-extruded material in liquid, composting and inert mineral media. *International biodeterioration & biodegradation*, *50*(1), 25-31.
- Gu, C., & Wahba, G. (1993). Smoothing spline ANOVA with component-wise Bayesian "confidence intervals". *Journal of Computational and Graphical Statistics*, *2*(1), 97-117.
- Habib-Ullah, S., Ge, Y., Butler, B., Mirza, F., & Fei, D. (2013). Smart molecularly imprinted polymers: recent developments and applications. *Macromolecular rapid communications*, *34*(11), 903-915.

Référence bibliographique

- Hakkarainen, M. (2002). Aliphatic polyesters: abiotic and biotic degradation and degradation products. *Degradable aliphatic polyesters*, 113-138.
- Hocking, A. D., & Faedo, M. (1992). Fungi causing thread mould spoilage of vacuum packaged Cheddar cheese during maturation. *International journal of food microbiology*, 16(2), 123-130.
- Jakubowicz, I. (2003). Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE). *Polymer Degradation and Stability*, 80(1), 39-43.
- Leklou, N. (2008). *Contribution à la connaissance de la réaction sulfatique interne* (Doctoral dissertation, L'UNIVERSITE PAUL-SABATIER TOULOUSE III).
- Lenz, R. W. (1993). Biodegradable polymers. *Biopolymers I*, 1-40.
- Li, N. (1996). The PLA' s Evolving Warfighting Doctrine, Strategy and Tactics, 1985–1995: A Chinese Perspecti. *The China Quarterly*, 146, 443-463.
- Longiéras, N., Sebban, M., Palmas, P., Rivaton, A., & Gardette, J. L. (2006). Multiscale approach to investigate the radiochemical degradation of epoxy resins under high-energy electron-beam irradiation. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44(2), 865-887.
- Manna, A. K., De, P. P., & Tripathy, D. K. (2002). Dynamic mechanical properties and hysteresis loss of epoxidized natural rubber chemically bonded to the silica surface. *Journal of applied polymer science*, 84(12), 2171-2177.
- Mergaert, J., Webb, A., Anderson, C., Wouters, A., & Swings, J. (1993). Microbial degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in soils. *Applied and environmental microbiology*, 59(10), 3233-3238.
- Michel, V. E. R. T. (2005). *Mise au point d'un milieu solide inerte pour l'étude de la biodégradation des polymères dans le compost* (Doctoral dissertation, Université de Reims Champagne Ardenne).
- Norrish, R. G. W. (1965). The kinetics and analysis of very fast chemical reactions. *Science*, 149(3691), 1470-1482.

Référence bibliographique

- Pagga, U., Beimborn, D. B., & Yamamoto, M. (1996). Biodegradability and compostability of polymers—Test methods and criteria for evaluation. *Journal of environmental polymer degradation*, 4(3), 173-178.
- Tanios-Schmies, Klaus, V., F., Reeps, C., Trenner, M., Matevossian, E., Eckstein, H. H., & Pelisek, J. (2017). Association of matrix metalloproteinase levels with collagen degradation in the context of abdominal aortic aneurysm. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 53(4), 549-558.
- Tiago de Oliveira, F., Bominaar, E. L., Hirst, J., Fee, J. A., & Münck, E. (2004). Antisymmetric Exchange in [2Fe–2S] 1+ Clusters: EPR of the Rieske Protein from *Thermothermophilus* at pH 14. *Journal of the American Chemical Society*, 126(17), 5338-5339.
- Vert, J. P. (2002). A tree kernel to analyse phylogenetic profiles. *Bioinformatics*, 18(suppl_1), S276-S284.

Chapitre IV

- Andersen, A. R., Lassen, L. H., Sperling, B., & Olesen, J. (2005). The effect of iv L-NG methylarginine hydrochloride (L-NMMA: 546C88) on basal and acetazolamide (Diamox®) induced changes of blood velocity in cerebral arteries and regional cerebral blood flow in man. *Cephalalgia*, 25(5), 344-352.

Chapitre V

- Amitani, R., Taylor, G., Elezis, E. N., Llewellyn-Jones, C., Mitchell, J., Kuze, F., ...& Wilson, R. (1995). Purification and characterization of factors produced by *Aspergillus fumigatus* which affect human ciliated respiratory epithelium. *Infection and immunity*, 63(9), 3266-3271.
- Askew, D. S. & Bhabhra, R. (2005). Thermotolerance and virulence of *Aspergillus fumigatus*: role of the fungal nucleolus. *Medical mycology*, 43(Supplement_1), S87-S93.
- Bart-Delabesse, E., Basile, M., Al Jijakli, A., Souville, D., Gay, F., Philippe, B., ...& Datry, A. (2005). Detection of *Aspergillus galactomannan antigenemia* to determine

Référence bibliographique

biological and clinical implications of beta-lactam treatments. *Journal of clinical microbiology*, 43(10), 5214-5220.

Battilani, P., Barbano, C., Marin, S., Sanchis, V., Kozakiewicz, Z., & Magan, N. (2006). Mapping of *Aspergillus* section Nigri in Southern Europe and Israel based on geostatistical analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 111, S72-S82.

Belkacemi, L., Barton, R. C., Hopwood, V., & Evans, E. G. V. (1999). Determination of optimum growth conditions for gliotoxin production by *Aspergillus fumigatus* and development of a novel method for gliotoxin detection. *Medical Mycology*, 37(4), 227-233.

Bertout, S., Badoc, C., Mallié, M., Giaimis, J., & Bastide, J. M. (2002). Spore diffusate isolated from some strains of *Aspergillus fumigatus* inhibits phagocytosis by murine alveolar macrophages. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 33(2), 101-106.

Blanchard, E., Gabriel, F., Jeanne-Leroy, C., Servant, V., & Dumas, P. Y. (2018). Aspergillose pulmonaire invasive. *Revue des Maladies Respiratoires*, 35(2), 171-187.

Blumenthal, C. Z. (2004). Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 214-228.

Botterel, F., Cordonnier, C., Barbier, V., Wingerstmann, L., Liance, M., Coste, A., ...& Bretagne, S. (2002). *Aspergillus fumigatus* causes in vitro electrophysiological and morphological modifications in human nasal epithelial cells. *Histology and Histopathology*.

Bruggeman, J., Debets, A. J., & Hoekstra, R. F. (2004). Selection arena in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genetics and Biology*, 41(2), 181-188.

Coméra, C., André, K., Laffitte, J., Collet, X., Galtier, P., & Maridonneau-Parini, I. (2007). Gliotoxin from *Aspergillus fumigatus* affects phagocytosis and the organization of the actin cytoskeleton by distinct signalling pathways in human neutrophils. *Microbes and Infection*, 9(1), 47-54.

Référence bibliographique

- Ellis, D. H., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R., & Bartley, R. (2007). *Descriptions of medical fungi* (Vol. 2). Adelaide: University of Adelaide.
- Frisvad, J. C., Frank, J. M., Houbraken, J. A. M. P., Kuijpers, A. F., & Samson, R. A. (2004). New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. *Stud. Mycol*, *50*(1), 23-44.
- Guarro, J., Gams, W., Pujol, I., & Gené, J. (1997). *Acremonium* species: new emerging fungal opportunists—in vitro antifungal susceptibilities and review. *Clinical Infectious Diseases*, *25*(5), 1222-1229.
- Heinemann, S., Symoens, F., Gordts, B., Jannes, H., & Nolard, N. (2004). Environmental investigations and molecular typing of *Aspergillus flavus* during an outbreak of postoperative infections. *Journal of Hospital Infection*, *57*(2), 149-155.
- Kamei, K., Watanabe, A., Nishimura, K., & Miyaji, M. (2002). Cytotoxicity of *Aspergillus fumigatus* culture filtrate against macrophages. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, *43*(1), 37-41.
- Kan, S. F., Tsai, T. H., Hu, C. H., & Lee, W. R. (2004). Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Acremonium* in an immune-competent patient. *British Journal of Dermatology*, *150*(4), 789-790.
- Kim, W. G., Cho, K. M., Lee, C. K., & Yoo, I. D. (2002). Terreulactone A, a novel meroterpenoid with anti-acetyl cholinesterase activity from *Aspergillus terreus*. *Tetrahedron Letters*, *43*(17), 3197-3198.
- Kosalec, I., & Pepeljnjak, S. T. J. E. P. A. N. (2005). Mycotoxigenicity of clinical and environmental *Aspergillus fumigatus* and *A. flavus* isolates. *ACTA PHARMACEUTICA-ZAGREB*, *55*(4), 365.
- Kubodera, T., Yamashita, N., & Nishimura, A. (2002). Transformation of *Aspergillus sp.* and *Trichoderma reesei* using the pyrithiamine resistance gene (*ptrA*) of *Aspergillus oryzae*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, *66*(2), 404-406.
- Larone, D. H., & Larone, D. H. (1987). *Medically important fungi: a guide to identification* (Vol. 196, p. 203). New York: Elsevier.

Référence bibliographique

- Negrone, R. & Budzko, D. B. (1975). Hemolytic, cytotoxic and complement inactivating properties of extracts of different species of *Aspergillus*. *Mycopathologia*, 57(1), 23-26.
- Pitt, J. I. (1989). Field studies on *Aspergillus flavus* and aflatoxins in Australian groundnuts. In *International Workshop on Aflatoxin Contamination of Groundnut, Patancheru, AP (India), 6-9 Oct 1987*.
- Richardson, M. D., Hope, W. W., Anaissie, E. J., McGinnis, M. R., & Pfaller, M. A. (2009). *Aspergillus*. In *Clinical Mycology* (pp. 271-296). Churchill Livingstone.
- Robert, D., Mohammedi, I., Eckert, A., Thiebaut, A., Piens, M. A., & Malhiere, S., (2005). Fatal *Aspergillus nidulans pneumonia*. *La Revue de medecine interne*, 26(3), 249-250.
- Rodriguez-Ares, T., De Rojas Silva, V., Ferreiros, M. P., Becerra, E. P., Tome, C. C., & Sanchez-Salorio, M. (2000). *Acremonium keratitis* in a patient with herpetic neurotrophic corneal disease. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 78(1), 107-109.
- Rolston, K. V., Kontoyiannis, D. P., Lewis, R. E., Sagar, N., May, G., & Prince, R. A. (2000). Itraconazole-amphotericin B antagonism in *Aspergillus fumigatus*: an E-test-based strategy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(10), 2915-2918.
- Samson, R. A., & Gams, W. (1984). The taxonomic situation in the hyphomycete genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 50(5), 815-824.
- Samson, R. A., & Gams, W. (1984). The taxonomic situation in the hyphomycete genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 50(5), 815-824.
- Samson, R. A., Houbraken, J., Summerbell, R. C., Flannigan, B., & Miller, J. D. (2002). Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments. *Microorganisms in home and indoor work environments: diversity, health impacts, investigation and control*, 285-473.
- Wormser, G. P., & Ryan, K. J. (2003). *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*, Davise H. Larone Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2002. 409 pp.

Référence bibliographique

Zare, R., &Khabbaz-Jolfaei, H. (2005). Fungi isolated from *Agaricus bisporus* in Tehran Province with special reference to *Verticillium fungicola*. *Rostaniha*, 6(1), 17-30.

Résumé

L'élimination du plastique de l'environnement est assez complexe, elle nécessite l'intervention de différents facteurs biotiques et abiotiques. L'objectif de la présente étude est d'étudier la biodégradation de biopolymères organiques par des champignons microscopiques filamenteux marins. Le présent travail consiste en premier partie d'isoler et identifier les souches fongiques présentes dans le sable prélevé de la plage la jetée de Skikda, puis en seconde partie d'élaborer deux biopolymères à base d'agar agar et d'amidon de pomme de terre, et en troisième partie l'étude de leur biodégradabilité par les 5 souches fongiques isolées, à savoir : *Acremonium sp.*, *Cladosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus nidulans*. Le test de biodégradation a été effectué pendant une période d'incubation de 30 jours. Les résultats démontrent que les souches fongiques *Acremonium sp.*, *Cladosporium sp.*, et *Aspergillus fumigatus* sont responsables des meilleurs rendement de biodégradation obtenus en milieu liquide avec un maximum de 31,54% pour le biopolymère à base d'amidon et 42,42% pour le biopolymère à base d'agar agar ,ainsi qu'en milieu solide avec un taux de biodégradation de 42,11% pour le biopolymère a base d'agar agar et 98,82% pour le biopolymère à base d'amidon.

Mots clés : Biodégradation, Biopolymères, Champignons microscopiques filamenteux, agar agar, amidon de pomme de terre.

Abstract

The elimination of plastic from the environment is quite complex, and requires the participation of various biotic and abiotic factors. The objective of the present work is to study the biodegradation of organic biopolymers using marine filamentous fungi. In the first part, our work consists of isolating and identifying the fungal strains from the sand of “La jetée” beach (Skikda), then in the second time, we developed two biopolymers based on agar agar and potato starch. As a third part, we studied their biodegradability by the 5 fungal strains isolated, namely: *Acremonium sp.*, *Cladosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus nidulans*. The biodegradation test was carried out during an incubation period of 30 days. The results demonstrate that the fungal strains *Acremonium sp.*, *Cladosporium sp.*, and *Aspergillus fumigatus* are responsible for the best biodegradation yield obtained in a liquid medium with a maximum of 31.54% for the starch-based biopolymer and 42.42% for the agar agar-based biopolymer, as well as in a solid medium with a biodegradation rate of 42.11% for the agar agar based biopolymer, and 98.82% for the starch based biopolymer.

Keywords: Biodegradation, Biopolymers, Microscopic filamentous fungus, agar agar, potato starch.

المخلص

يعد التخلص من البلاستيك من البيئة أمرًا معقدًا للغاية ، ويتطلب تدخل عوامل حيوية وغير حيوية مختلفة. الهدف من هذه الدراسة هو دراسة التحلل الحيوي للبوليمرات العضوية بواسطة الفطريات البحرية الخيطية المجهرية. يتمثل العمل في الجزء الأول من عزل وتحديد السلالات الفطرية الموجودة في الرمال المأخوذة من شاطئ رصيف سكيكدة ، ثم في الجزء الثاني تم تطوير اثنين من البوليمرات الحيوية على أساس Agar agar ونشاء البطاطا ، وفي الجزء الثالث تمت دراسة التحلل البيولوجي بواسطة السلالات الفطرية الخمس المعزولة وهي *Aspergillus niger* ، *Acremonium sp.* ، *Cladosporium* ، *Aspergillus fumigatus* و *Aspergillus nidulans* تم إجراء اختبار التحلل الحيوي خلال فترة حضانة مدتها 30 يومًا ، وأظهرت النتائج أن السلالات الفطرية *Aspergillus niger* ، *Acremonium sp.* ، *Cladosporium* و *sp.* *Aspergillus fumigatus* مسؤولة عن أفضل ناتج تحلل حيوي تم الحصول عليه في وسط سائل بحد أقصى 31.54% للبوليمر الحيوي القائم على النشا و 42.42% للبوليمر الحيوي القائم على أجار ، وكذلك في وسط صلب مع معدل تحلل حيوي 42.11% للبوليمر الحيوي على أساس أجار و 98.82% للبوليمر الحيوي على أساس النشاء.

الكلمات المفتاحية: التحلل البيولوجي ، البوليمرات الحيوية ، الفطريات الخيطية المجهرية ، أجار أجار ، نشاء البطاطا.