



UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

LABORATOIRES BIOMAR ET ESA

BING-F531

---

# Recherche bibliographique sur le plastique et ses voies de biodégradation

---

*Auteurs :*

Rafael COLOMER MARTINEZ

Nicolas PIRET

*Professeur :*

Dr. Isabelle GEORGE

14 décembre 2016

# Table des matières

Liste des abréviations et acronymes	2
<b>1 Introduction</b>	<b>3</b>
<b>2 Description du plastique</b>	<b>4</b>
<b>3 Utilisation, production, sources de pollution et types d'environnements contaminés</b>	<b>4</b>
<b>4 Dangers potentiels pour l'environnement</b>	<b>4</b>
<b>5 Aspects législatifs</b>	<b>4</b>
<b>6 Biorémediation des milieux contaminés</b>	<b>4</b>
6.1 Polyéthylène . . . . .	4
6.1.1 Mécanisme global de biodégradation . . . . .	5
6.1.2 Phenol oxidases (laccases) . . . . .	8
6.1.3 Hème peroxidases . . . . .	8
6.1.4 Produits de dégradation . . . . .	8
6.1.5 Efficacité de dégradation . . . . .	9
6.2 Polyesters . . . . .	9

## Liste des abréviations et acronymes

<b>BCA</b>	<i>ou Pierce BCA - Méthode de dosage protéique colorimétrique basée sur l'emploi d'acide bicinchonique</i>
<b>BPF/GMP</b>	<i>Bonnes pratiques de fabrication ou Good Manufacturing Practices - Notion d'assurance de qualité</i>
<b>CDU</b>	<i>Casein Digestion Unit Analytical Method - Méthode spectroscopique de détection d'acides aminés issus d'une dégradation enzymatique sur substrat de caséine</i>
<b>CV</b>	<i>Curriculum Vitae</i>
<b>PI</b>	<i>Point isoélectrique</i>
<b>QC</b>	<i>Contrôle qualité</i>
<b>SDS-PAGE</b>	<i>Sodium Dodécyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
<b>TU</b>	<i>Tyrosine Unit Analytical Method - Méthode spectroscopique de détection d'acides aminés issus d'une dégradation enzymatique sur substrat de caséine</i>
<b>UF</b>	<i>Ultrafiltration</i>

# 1 Introduction

La croissance de la population mondiale et l'évolution des modes de vie entraînent une augmentation des besoins. Une agriculture intensive, un développement industriel massif et un mode de vie moderne basé sur la consommation en sont la conséquence. La production des déchets, issus de ces activités est de plus en plus importante et leur rejet dans l'environnement contribue à une pollution du milieu. Généralement, l'importance du polluant est liée à sa toxicité pour l'homme. D'autres polluants, non toxiques pour l'homme, sont à présent également considérés comme polluants de par un effet indirect pour l'homme suite à son accumulation dans l'environnement. La pollution par le plastique, matériau polymère, en est un exemple.

Le plastique est un symbole de la société de consommation que l'on retrouve partout sous différentes formes dans la vie quotidienne et dans les industries. Principalement issu du pétrole, il a des propriétés chimiques et physiques qui en font un produit résistant, léger et souple, facilement utilisable et rapidement jetable. Les polymères plastiques sont rarement utilisés à l'état brut et généralement, les résines polymères sont mélangées avec divers additifs pour améliorer les performances. Son faible coût de production lui donne un autre avantage et entraîne une production et une utilisation massives.

Causée par l'accumulation de déchets de matière plastique sous forme de déchets solides, la pollution par les matières plastiques, en augmentation, présente un problème d'ordre écologique pouvant avoir des répercussions indirectes sur l'homme. Elle se compose de déchets sous forme de débris visibles que l'on appelle macroplastiques posant des problèmes pour la faune marine notamment. D'autres déchets composés d'éléments plastiques de petite taille, soit fabriqués de la sorte soit provenant de la dégradation de déchets de plus grande taille, désignés sous le nom de microplastiques, causent maintenant d'importants dommages aux écosystèmes aquatiques transférant potentiellement des substances toxiques dans la chaîne alimentaire et pouvant donc affecter les grands animaux et les oiseaux et secondairement les hommes. Outre les effets néfastes sur les écosystèmes aquatiques, certains additifs ajoutés lors de la fabrication pourraient avoir un effet néfaste sur la santé.

Comme ces matériaux ne sont que difficilement biodégradables, afin d'éviter leur accumulation dans l'environnement, la réutilisation et le recyclage sont des solutions actuellement proposées pour réduire l'impact de cette pollution.

Une prise de conscience des conséquences négatives des déchets plastiques a permis la mise en place de législations en matière de fabrication et distribution de ces produits afin de limiter les effets indésirables sur l'environnement et la santé humaine.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à une recherche plus approfondie sur les techniques de bioremédiation faisant intervenir des microorganismes par l'action directe de dégradation naturelle.

## **2 Description du plastique**

## **3 Utilisation, production, sources de pollution et types d'environnements contaminés**

## **4 Dangers potentiels pour l'environnement**

## **5 Aspects législatifs**

## **6 Biorémédiation des milieux contaminés**

### **6.1 Polyéthylène**

Avec une production mondiale globale avoisinant les 80 millions de tonnes annuelles, le polyéthylène est considéré comme le plastique le plus répandu dans le monde [Piringer and Baner, 2008]. Dégrader ce composé aussi répandu que stable devient un véritable challenge qui explique une littérature scientifique particulièrement fournie à ce sujet. On retrouve parmi les voies de dégradation du polymère, les voies de photodégradation, de thermo-oxydation et de biodégradation [Shah et al., 2008]. Cette dernière voie, inconnue il y a quelques années, a rencontré un essor considérable dans la littérature scientifique. L'efficacité de dégradation microbienne reste limitée mais présente les avantages d'être peu chère et surtout écologique [Shah et al., 2008].

Bien que les souches et types d'organismes concernés diffèrent avec les conditions du milieu, les mécanismes de dégradation restent relativement semblables. Les bactéries et les fungi étudiés dégradent les polymères par excrétion d'enzymes extracellulaires [Pometto et al., 1992; Iiyoshi et al., 1998]. Ces différentes enzymes possèdent des caractéristiques intrinsèques spécifiques aux facteurs chimiques et physiques du milieu (pH, température,

substrat). En utilisant un groupe d'enzymes différentes, les organismes s'assurent une efficacité optimale dans une large gamme de conditions environnantes. Ces enzymes sont employées par les microorganismes dans un milieu naturel pour dégrader des polymères de lignine. Cette matière diffère sensiblement entre les espèces mais sa base structurale est un polymère de composés organiques (monomères de monolignols) [Whetten and Sederoff, 1995].

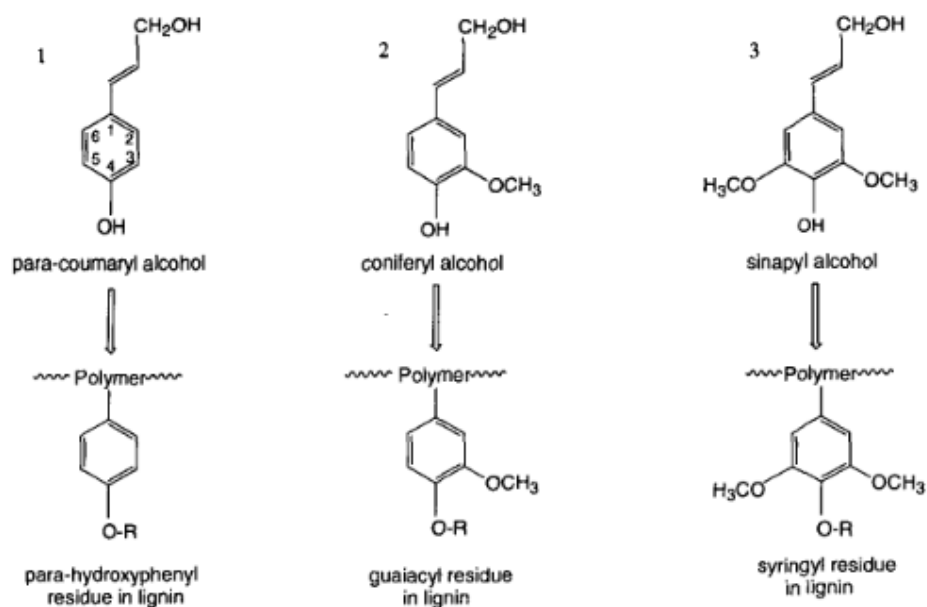


FIGURE 1 – Exemple de monolignols et des résidus de lignine consécutifs. [Whetten and Sederoff, 1995]

Bien que la dégradation du polyéthylène par la même voie que la lignine reste hypothétique, une tendance similaire est prédite [Shah et al., 2008]. Ce complexe enzymatique extracellulaire est communément appelé le système ligninolytique [Crawford and Crawford, 1980]. Parmi ces enzymes, le mode d'action privilégié demeure l'utilisation de peroxydases qui aboutit à la formation de peroxyde d'hydrogène, un puissant oxydant. On retrouve aussi bien chez les bactéries que les fungi, l'emploi récurrent de lignine peroxydase (LiP), manganèse peroxydase (MnP) (appelées les hèmes peroxydases) et également des phénols-oxydases, au mécanisme d'action sensiblement différent, tels que les laccases utilisant le cuivre comme cofacteur [Martínez et al., 2005].

### **6.1.1 Mécanisme global de biodégradation**

Le mécanisme global de dégradation de la lignine suit deux voies différentes. La première est non-enzymatique (non représentée dans la figure 1) et la deuxième est enzymatique, faisant intervenir, entre autres, les enzymes précédemment mentionnées [Dashtban et al., 2010].

Le mécanisme moléculaire précis agissant sur le polyéthylène demeure inconnu à ce jour, mais on peut supposer une dégradation polymérique globale semblable à celle étudiée sur la lignine. Chaque enzyme intervient à un moment précis de la dégradation et produit des radicaux qui servent parfois de substrats à d'autres enzymes. Ces dégradations coopératives contribuent au morcellement de longues molécules telles que des polymères [Dashtban et al., 2010].

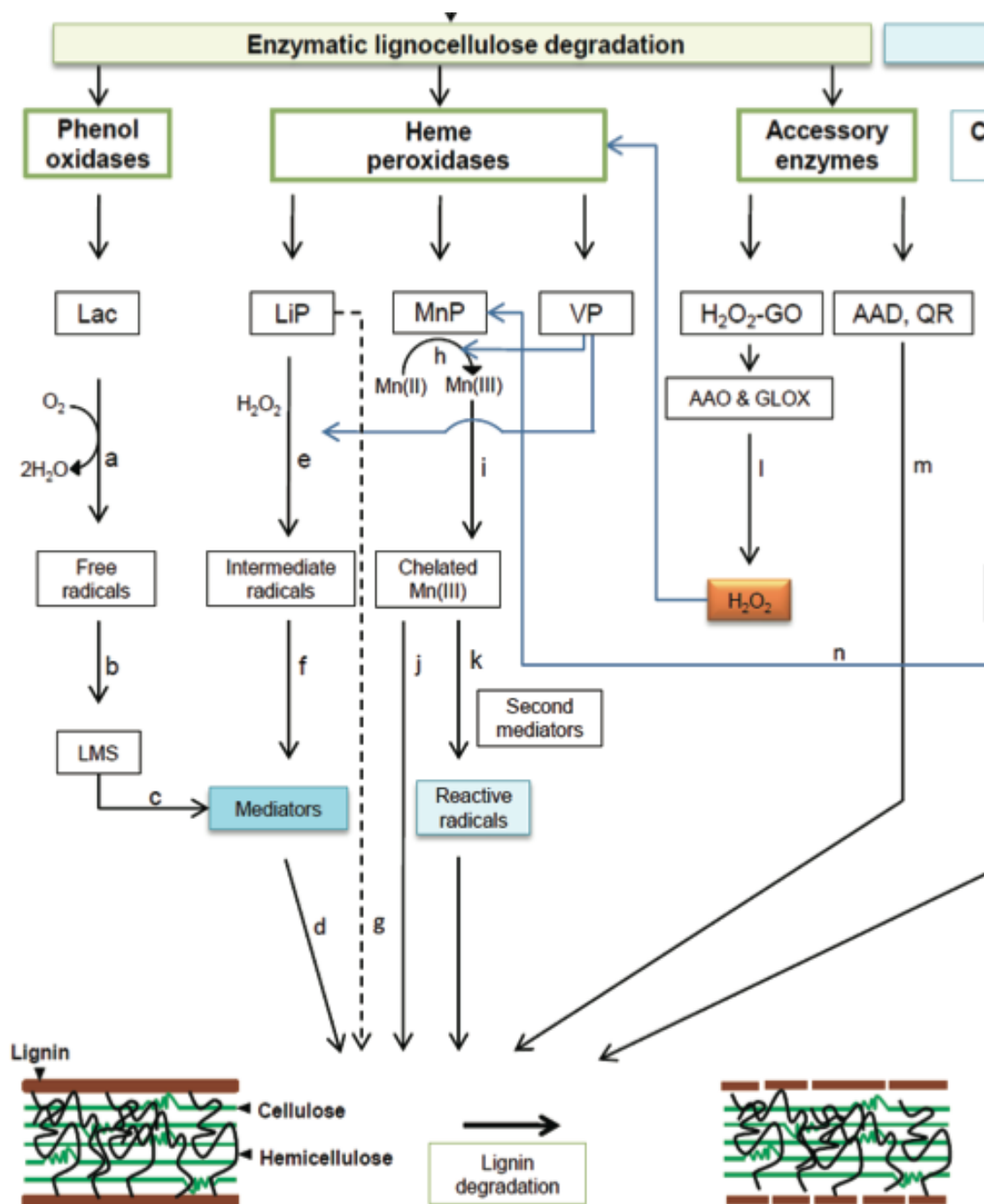


FIGURE 2 – Diagramme schématique de la dégradation de la lignine par un basidiomycète (fungi à pourriture blanche) : les étapes principales et les enzymes concernées. Seule la partie enzymatique a été conservée [Dashtban et al., 2010]



### 6.1.2 Phenol oxidases (laccases)

Ces oxydo-réductases glycosylées utilisent de l'oxygène moléculaire pour oxyder des composés (non-)aromatiques tels que des phenols, des thiols, des arylamines, etc. La réduction de l'oxygène à travers cette réaction produit deux molécules d'eau. Les produits de cette oxydo-réduction sont des radicaux libres qui peuvent servir de substrats intermédiaires à d'autres enzymes [Baldrian, 2006; Claus, 2004; Ferraroni et al., 2007; Thurston, 1994].

### 6.1.3 Hème peroxidases

Cette famille d'enzymes comprend les LiP et les MnP précédemment décrites.

- LiP : glycoprotéines qui catalysent l'oxydation d'une série de composés non-phénoliques par l'intermédiaire de peroxyde d'hydrogène. Le substrat est dépolymérisé (les liens C-C et éther sont clivés) et forme des radicaux intermédiaires réactifs. Ces derniers subissent des réactions non-enzymatiques de dégradation et d'arrangement pour aboutir à la formation de nouveaux composés. Contrairement aux autres peroxidases de la même famille, les LiP sont capables également de dégrader certains composés sans intermédiaires grâce à un potentiel redox particulièrement élevé [Wong, 2009].
- MnP : glycoprotéines qui catalysent la réduction du substrat et l'oxydation de Mn(II) en Mn(III) qui agit par la suite comme médiateur redox lorsqu'il est chélaté. Ce dernier peut alors oxyder des substrats phénoliques. Pour l'oxydation de substrats non-phénoliques par Mn(III), un second médiateur doit être formé en radical réactif [Wong, 2009; Dashtban et al., 2010].

### 6.1.4 Produits de dégradation

Les composés formés dépendent fortement du milieu de dégradation. De nombreux composés organiques ont été observés [Kyaw et al., 2012] mais ne représente pas les composés majeurs. Ces derniers, retrouvés par la majorité des organismes étudiés, sont repris dans la table 1.

Conditions du milieu	Produits
Aérobic	CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, biomasse microbienne
Anaérobic	CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, CH <sub>4</sub> (conditions méthanogènes), H <sub>2</sub> S (conditions sulfoniques), biomasse microbienne

TABLE 1 – Produits principaux de dégradation du polyéthylène en fonction du milieu de culture [Arutchelvi et al., 2008]

### 6.1.5 Efficacité de dégradation

L'inventaire des composés issus de microdestructions du polyéthylène est établi à l'aide de spectres FT-IR. Cette technique permet de réaliser une collection de spectres de la surface de l'échantillon permettant ainsi d'en étudier la composition [Prati et al., 2010]. De nombreux paramètres sont ensuite utilisés afin de déceler les éventuelles pertes massiques ou changement de propriétés physique de l'échantillon (perte de masse, pourcentage d'élongation ou des changements dans la force de tension). Les produits de dégradation sont également analysés par chromatographie à travers la littérature.

Les études comparatives entre les organismes et les milieux (in vivo ou in vitro) ont rapporté de manière générale des rendements très faibles voir même négatifs (production de polyéthylène parfois). Toutefois, un maximum de 47,3% de dégradation du polyéthylène placé in vitro a été mesuré. Ce taux assez élevé a été réalisé par *Aspergillus oryzae* (un champignon microscopique) suite à une incubation de 3 mois [Konduri et al., 2011]. Les études in vivo ont, quant à elle, rencontré des rendements très faibles ce compris sur des temps très longs d'exposition [Otake et al., 1995].

## 6.2 Polyesters

## Références

- Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, A., Doble, M., Bhaduri, S., and Uppara, P. V. (2008). Biodegradation of polyethylene and polypropylene.
- Baldrian, P. (2006). Fungal laccases - occurrence and properties. *FEMS microbiology reviews*, 30(2) :215–42.

- Claus, H. (2004). Laccases : Structure, reactions, distribution. In *Micron*, volume 35, pages 93–96.
- Crawford, D. L. and Crawford, R. L. (1980). Microbial degradation of lignin.
- Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T. A., and Qin, W. (2010). Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin.
- Ferraroni, M., Myasoedova, N. M., Schmatchenko, V., Leontievsky, A. A., Golovleva, L. A., Scozzafava, A., and Briganti, F. (2007). Crystal structure of a blue laccase from *Lentinus tigrinus* : evidences for intermediates in the molecular oxygen reductive splitting by multicopper oxidases. *BMC structural biology*, 7 :60.
- Iiyoshi, Y., Tsutsumi, Y., and Nishida, T. (1998). Polyethylene degradation by lignin-degrading fungi and manganese peroxidase. *Journal of wood science*, 44 :222–229.
- Konduri, M. K. R., Koteswarareddy, G., Rohini Kumar, D. B., Venkata Reddy, B., and Lakshmi Narasu, M. (2011). Effect of pro-oxidants on biodegradation of polyethylene (LDPE) by indigenous fungal isolate, *Aspergillus oryzae*. *Journal of Applied Polymer Science*, 120(6) :3536–3545.
- Kyaw, B. M., Champakalakshmi, R., Sakharkar, M. K., Lim, C. S., and Sakharkar, K. R. (2012). Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) by *Pseudomonas* Species. *Indian Journal of Microbiology*, 52(3) :411–419.
- Martínez, Á. T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F. J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, M. J., Gutiérrez, A., and Del Río, J. C. (2005). Biodegradation of lignocellulosics : Microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. In *International Microbiology*, volume 8, pages 195–204.
- Otake, Y., Kobayashi, T., Asabe, H., Murakami, N., and Ono, K. (1995). Biodegradation of low-density polyethylene, polystyrene, polyvinyl chloride, and urea formaldehyde resin buried under soil for over 32 years. *Journal of Applied Polymer Science*, 56(13) :1789–1796.
- Piringer, O. G. and Baner, A. L. (2008). *Plastic Packaging : Interactions with Food and Pharmaceuticals, Second Edition*.
- Pometto, A. L., Lee, B., and Johnson, K. E. (1992). Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme(s) by *Streptomyces* species.

- Prati, S., Joseph, E., Sciutto, G., and Mazzeo, R. (2010). New advances in the application of FTIR microscopy and spectroscopy for the characterization of artistic materials. *Accounts of Chemical Research*, 43(6) :792–801.
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., and Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics : A comprehensive review.
- Thurston, C. F. (1994). The structure and function of fungal laccases.
- Whetten, R. and Sederoff, R. (1995). Lignin Biosynthesis. *The Plant cell*, 7(7) :1001–1013.
- Wong, D. W. S. (2009). Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes.