



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

17 décembre 2016

# Table des matières

<b>Liste des abréviations et acronymes</b>	<b>2</b>
<b>1 Introduction</b>	<b>3</b>
<b>2 Description du plastique</b>	<b>4</b>
2.1 Caractéristiques chimiques . . . . .	4
2.2 Caractéristiques physiques . . . . .	6
2.2.1 Propriétés thermiques . . . . .	6
2.2.2 Propriétés mécaniques . . . . .	7
2.2.3 Autres propriétés . . . . .	7
<b>3 Utilisation, production, sources de pollution et types d'environnements contaminés</b>	<b>8</b>
<b>4 Dangers potentiels pour l'environnement</b>	<b>8</b>
<b>5 Aspects législatifs</b>	<b>8</b>
<b>6 Biorémediation des milieux contaminés</b>	<b>8</b>
6.1 Polyéthylène . . . . .	8
6.1.1 Mécanisme global de biodégradation . . . . .	9
6.1.2 Phenol oxidases (laccases) . . . . .	12
6.1.3 Hème peroxidases . . . . .	12
6.1.4 Produits de dégradation . . . . .	12
6.1.5 Efficacité de dégradation . . . . .	13
6.2 Polyesters . . . . .	13

## 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

Le plastique est un terme qui désigne des matériaux divers issus de la transformation de produits organiques de synthèse tels que le pétrole, le charbon, le gaz naturel qui sont utilisés dans de nombreuses applications. Le plastique ou matière plastique est une substance synthétique polymère contenant un grand nombre d'atomes de carbone, oxygène, hydrogène ou azote. Il en existe deux catégories : les thermoplastiques et les thermodurcissables. Les thermoplastiques se ramollissent sous la chaleur permettant leur moulage et durcissent lors du refroidissement. Les thermodurcissables, une fois moulés, conservent leur forme définitive [Valorplast, 2016]. Bien que de nombreuses matières plastiques soient disponibles dans le commerce, seulement certaines d'entre elles se qualifient comme matières thermoplastiques. Les principales sont le polyéthylène basse densité (PEBD), le polyéthylène haute densité (PEHD), le polypropylène (PP), le chlorure de polyvinyle (PVC), le polystyrène (PS) et le polyéthylène téréphtalate (PET). Ils représentent environ 90% de la demande totale [Andrady and Neal, 2009]

### 2.1 Caractéristiques chimiques

La matière de base du plastique est un polymère. On peut classer les polymères selon qu'ils sont naturels provenant du règne animal ou végétal comme la cellulose ou le caoutchouc ou artificiels, obtenus par transformation chimique de polymères naturels ou encore synthétiques obtenus par polymérisation de monomères. Les polymères sont un système formé par un ensemble de macromolécules, entités moléculaires de grande taille issues de l'assemblage covalent d'un grand nombre d'unités monomères répétitives. Les macromolécules ainsi formées, plus grandes que les molécules simples, apporte au polymère de nouvelles propriétés, comme la viscosité ou la résistance, que l'on pourra utiliser dans la fabrication de nombreux produits. Le nombre d'unités monomères qui constitue le polymère est appelé le degré de polymérisation. La masse molaire du po-

lymère est donc directement liée au degré de polymérisation. Les polymères synthétiques sont donc issus de la polymérisation [Fontanille and Gnanou, 2014].

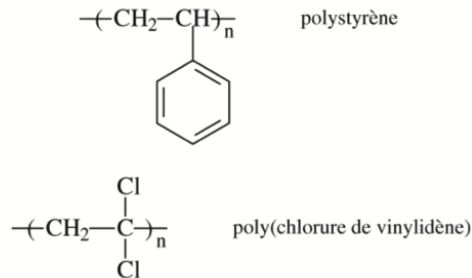


FIGURE 1 – Exemples de structure chimique de composés polymères. [Fontanille and Gnanou, 2014]

Un polymère formé d'unités monomères identiques est un homopolymère tandis qu'on le nommera co-polymère s'il présente des unités monomères de deux ou plusieurs sortes différentes. Les polymères peuvent être classés selon leur structure et peuvent présenter des architectures linéaires, ramifiées ou réticulées. Les polymères peuvent être monodimensionnels et donc linéaires, résultant de la polymérisation des monomères bivalents.



FIGURE 2 – Représentation de a chaîne d'un polymère linéaire. [Fontanille and Gnanou, 2014]

Ils peuvent également être bidimensionnels essentiellement produits par la nature ou tridimensionnels soit naturels soit résultant de la polymérisation de monomères dont la valence est supérieure à deux ou encore par réticulation de polymères linéaires par voie chimique ou physique. Leur dimension moléculaire est infinie [Fontanille and Gnanou, 2014],[Valorplast, 2016].

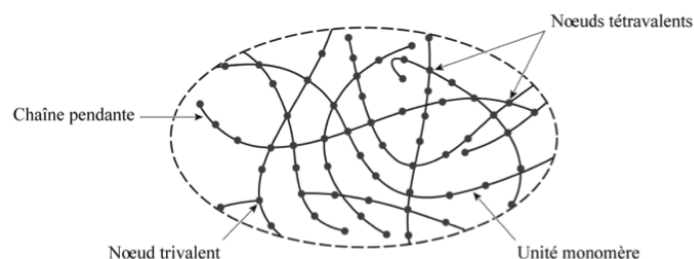


FIGURE 3 – Représentation schématique d'un polymère tridimensionnel. [Fontanille and Gnanou, 2014]

La dimensionnalité des polymères influencent leurs propriétés comme c'est le cas des propriétés mécaniques. La plupart des propriétés des polymères, qui sont exploitées dans une très grande variété d'applications, sont étroitement liées à leur cohésion. Celle-ci dépend essentiellement de l'intensité des interactions moléculaires qui se développent entre groupements moléculaires. La polymérisation peut se faire par étapes de type polycondensation ou polyaddition comme c'est le cas pour des molécules linéaires thermostables ou des molécules réticulées thermodurcissables. La polymérisation en chaîne est un autre type de réaction de polymérisation soit radicalaire, soit ionique comme c'est le cas du polystyrène [Fontanille and Gnanou, 2014]. Les plastiques sont rarement utilisés tels quels. Les résines sont mélangées avec d'autres matériaux appelés "additifs" pour modifier ou améliorer leurs propriétés et donc leur performance. Ceux-ci peuvent comprendre des charges inorganiques (par exemple du carbone ou de la silice) pour renforcer la matière plastique, des stabilisants thermiques pour permettre le traitement des matières plastiques à des températures élevées, des plastifiants pour rendre le matériau flexible et souple, des ignifugeants pour éviter la combustion, ainsi que des protecteurs solaire pour éviter la dégradation lorsqu'ils sont exposés à la lumière du soleil. D'autres produits ou colorants peuvent également être utilisés pour améliorer l'aspect du plastique [Andrady and Neal, 2009].

## 2.2 Caractéristiques physiques

### 2.2.1 Propriétés thermiques

Les polymères sont dits thermostables lorsqu'une utilisation à long terme est possible à des températures relativement élevées, dans le cas où la température de transition vitreuse est élevée, ou si le taux de cristallinité élevé, en même temps qu'une température de fusion élevée, sont couplés à une stabilité chimique en température. Cette appellation

peut concerner à la fois les polymères thermoplastiques et les polymères thermodurcissables [Dominguez, 2013]. A l'état fondu, le polymère devient malléable ce qui permet de les mouler. A la chaleur il peut se transformer de façon réversible en état solide ou liquide.

Ainsi, les polymères sont durs et rigides à température ambiante : c'est l'état vitreux et sont mous et flexibles à une certaine température qui est propre aux différents polymères généralement autour de 120°C. Ils ont des propriétés viscoélastiques dépendant de la température. Il existe une température de transition vitreuse. Les polymères thermodurcissables étant réticulés, l'augmentation de la température ne permet pas de rompre, de manière réversible, les liaisons covalentes qui les relient car les liaisons des chaînes primaires se briseraient aussi. Il n'est donc pas possible de les ramollir en élevant la température [Lecomte-Beckers, 2009].

### 2.2.2 Propriétés mécaniques

La propriété mécanique principale est le fait que les polymères sont "plastiques". Cette propriété élastique des polymères dépend de la nature de la chaîne ainsi que de sa longueur, de son niveau d'enchevêtrement et fait entrer en ligne de compte les forces qui s'y appliquent et qui entraînent des déformations. Une structure de chaînes régulière va pouvoir s'empiler pour former un réseau cristallin tridimensionnel plus facilement que dans le cas de chaînes de structure désordonnée. Lorsque les chaînes du polymère sont disposées de façon aléatoire, qu'elles sont tordues, le polymère est dit amorphe et il est transparent. Les élastomères sont des polymères amorphes. Ils sont souples et déformables à température ambiante. Un polymère formé de façon linéaire est très cristallin ce qui leur donne rigidité et translucidité [Lecomte-Beckers, 2009].  $t = 0$   $t \approx 18$

### 2.2.3 Autres propriétés

La plupart des polymères sont de bons isolants électriques (résistivité électrique  $\approx 1020 \mu ohm.cm$ ). Au niveau optique, la transparence des polymères dépend fortement de l'état structural : les polymères purs et non cristallins sont souvent transparents. Les polymères semi-cristallins sont soit translucides soit opaques. Les polymères peuvent présenter des propriétés toxicologiques. Elles peuvent être dues à une chaîne de polymères qui se décompose ou à la volatilité due à des additifs [Lecomte-Beckers, 2009].



### **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].

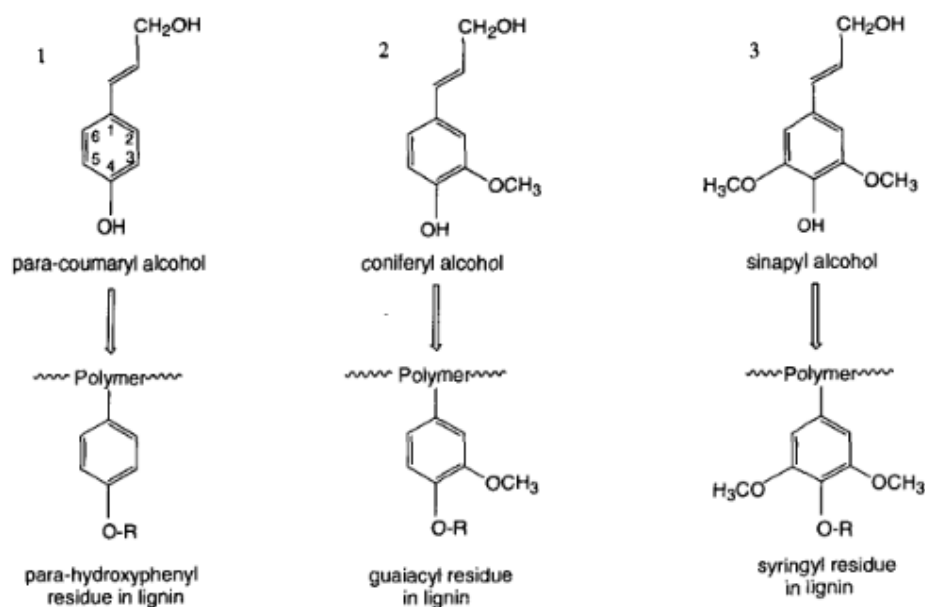


FIGURE 4 – Exemple de monolignols et des résidus de lignine conséquents. [Whetten and Sederoff, 1995]

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].

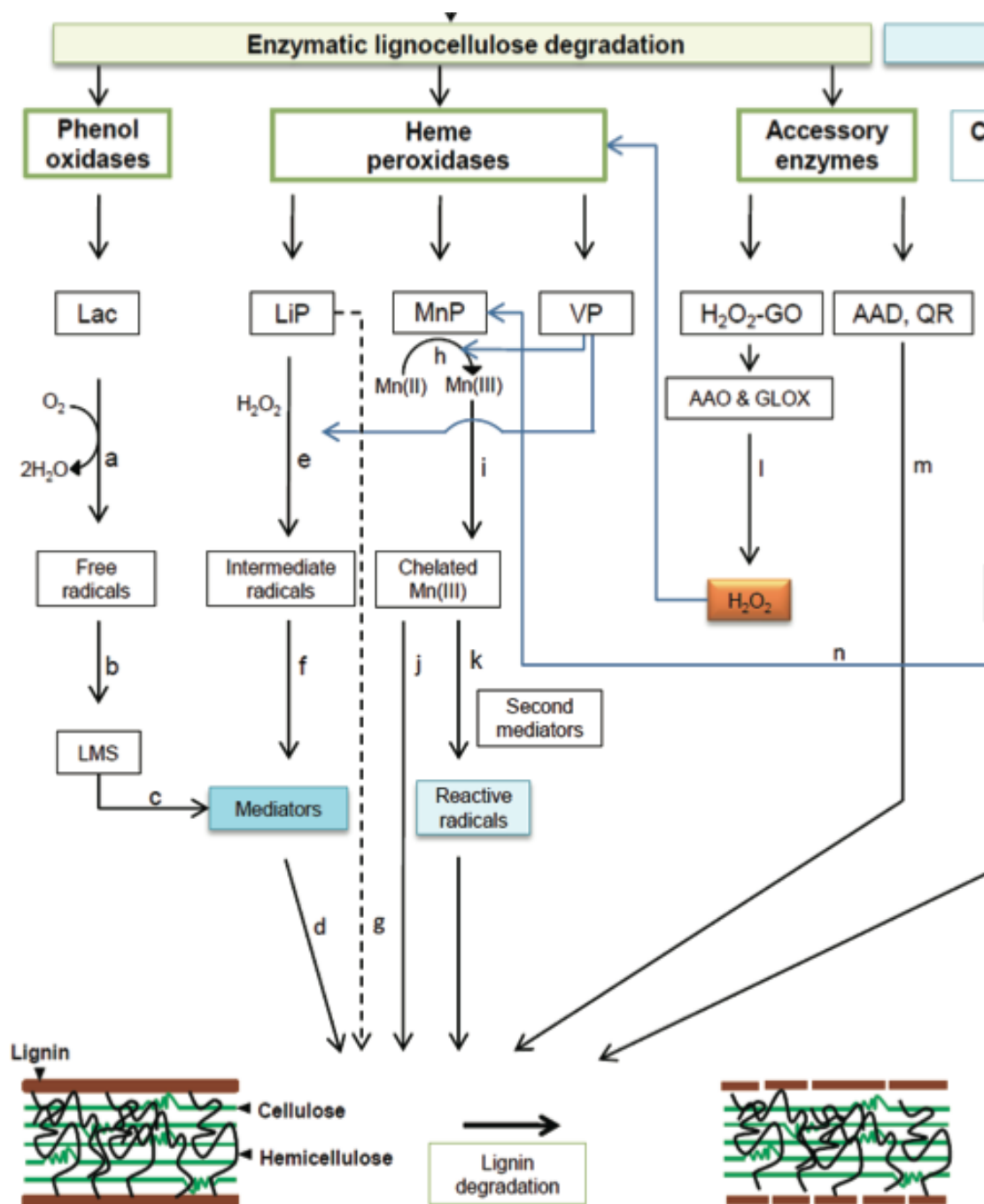


FIGURE 5 – Diagramme schématique de la dégradation de la lignine par un basidiomycète (fungi à pourriture blanche) : les étapes principales et les enzymes concernées. Seule la partie enzymatique a été conservée [Dashtban et al., 2010]

### 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
Aérobie	CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, biomasse microbienne
Anaérobie	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

- Andrady, A. L. and Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 364(1526) :1977–1984.
- 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.
- Dominguez, S. (2013). *Relation structure/propriétés de polymères et mélanges thermoplastiques thermostables - Applications Aéronautiques Hautes Températures*. PhD thesis. Thèse de doctorat dirigée par Derail, Christophe Physique des polymères Pau 2013.
- 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.
- Fontanille, M. and Gnanou, Y. (2014). *Chimie et physico-chimie des polymères*. Dunod.
- 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.
- Lecomte-Beckers, J. (2009). Physique des matériaux : partie polymères. *Université de Liège, Belgique*.
- 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.
- Valorplast (Consulté le 10 novembre 2016). La chimie des plastiques : l'atome aux polymères. [http ://www.valorplast.com/le-campus/lycee/option-chimie/](http://www.valorplast.com/le-campus/lycee/option-chimie/).
- 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.