

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Microbiologie



MEMOIRE DE FIN DE CYCLE
En vue d'obtention du Diplôme de Master II
Option Biotechnologie Microbienne

THEME

*Contribution à l'étude de la
biodégradation de la colle à base d'amidon*

Réalisé par

Benabdallah Amel & Boulaioun Fatma

Membres du jury

Présidente : **M^{me} BOUCHARBA N.**

Promoteur : **M^r BOUKERROUI A.**

Examinatrice 1 : **M^{me} ARKOUB O.**

Examinatrice 2 : **M^{elle} CHIBANE N.**

PROMOTION
2012-2013

Remerciement

Avant tout propos, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté pour pouvoir élaborer ce modeste travail et le présenter.

Ce présent mémoire n'aurait pu voir le jour sans la contribution de nombreuses personnes dont nous nous faisons aujourd'hui un plaisir et un devoir de les remercier.

Nos plus vifs remerciements vont à notre promoteur M^r Boukerroui d'avoir accepté de nous encadrer.

Nous remercions aussi le président de jury et les membres de jury de nous avoir honorés de leur présence et d'avoir voulu évalué ce travail.

Nous sincères gratitude vont également a tout le personnel du laboratoire de mycologie, laboratoire de génie biologique et du laboratoire chimie ainsi que tout le personnel de l'Unité Générale Emballage à Akbou .

Comme nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail.





Dédicaces



J'adresse, surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, à la mémoire de mon père, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toute circonstances au cours de toutes mes années d'études, c'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect.

A toutes mes sœurs surtout Hadjira et son marie.

A mon cher frère djaafar et sa femme.

À toutes mes amie (s) sans exception

Mes spéciales dédicaces pour mon binôme fatma ainsi qu'à toute sa famille.

A toutes la promotion biotechnologie microbienne 2013.

AMEL

J'adresse, surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, et mon père, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toute circonstances au cours de toutes mes années d'études, c'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect.

A mes chères sœurs et frères, mes belles sœurs, mes nièces, mes neveu ainsi qu'a tout ma famille.

À toutes mes amie (s) sans exception

Mes spéciales dédicaces pour mon binôme Amel ainsi qu'à toute sa famille.

A toutes la promotion biotechnologie microbienne 2013.

FATMA

Liste des Tableaux

Tableau I : Composition moyenne en % des grains d'amidon.

Tableau II: Résultats obtenus pour le taux d'humidité de l'amidon.

Tableau III : Résultats obtenus sur milieu GN pour l'amidon.

Tableau IV : Résultats obtenus sur milieu PDA et EMA pour l'amidon.

Tableau V: Résultats obtenus sur milieu GN pour l'eau.

Tableau VI: Résultats obtenus sur milieu GN pour E1.

Tableau VII: Résultats obtenus sur milieu PDA et EMA pour E1.

Tableau VIII: Résultats obtenus sur milieu GN pour E2 et E3.

Tableau IX: Résultats obtenus sur PDA et EMA pour E2 et E3.

Tableau X: Résultats du test d'activité amylasique des souches isolées.

Tableau XI: Identification des champignons représentant une activité amylasique.

Tableau XII: Résultats des tests d'identification des bactéries à activité amylasique.

Liste des Figures

Figure 1: Grains d'amidon de maïs (a) et de pomme de terre (b) observés en microscopie optique.

Figure 2 : Structure de l'amylose.

Figure 3 : Structure de l'amylopectine.

Figure 4 : Résultats obtenus pour le test de lugol .

Figure 5 : Test de sélection des bactéries à activités amylasiques importantes sur milieu d'amidon.

Figure 6: Test de sélection des champignons à activités amylasiques sur milieu d'amidon.

Figure 7 : Diamètre des zones de lyse des souches amylolytiques.

Figure 8: *Bacillus sp.* Sous microscope optique au grossissement (x100) après coloration de Gram.

Figure 9: *Micrococcus sp.* Sous microscope optique au grossissement (x100) après coloration de Gram.

Figure 10: Identification d'*Aspergillus sp.*

Figure 11: Identification de *Penicillium sp.*

Figure 12 : Identification de *Fusarium sp.*

Figure 13: Identification de *Cladosporium sp.*

Figure 14: Identification d'*Alternaria sp.*

Liste des Abréviations

GE : Général emballage.

BSA: Serum Albumen Bovin .

GN : Gélose Nutritive.

PDA: Potato Dextrose Agar.

EMA: Extract Malt Agar.

Sa: souche obtenue de l'échantillon d'amidon.

Se_a : souche aérobie obtenue de l'échantillon d'eau.

Se_{an} : souche anaérobie obtenue de l'échantillon d'eau.

Sc_a : souche aérobie obtenue de l'échantillon de colle.

Sc_{an} : souche anaérobie obtenue de l'échantillon de colle.

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I-1- Adhésifs.....	2
I-1-1- Généralités.....	2
I-1-2-Définitions.....	2
I-1-3- Les principales colles utilisées dans le domaine de l’emballage	2
I-1-4-Colle a base d’amidon	2
I-1-4-1-Composition de la colle	3
I-1-4-1-1-Amidon	3
I-1-4-1-2 -La soude caustique	6
I-1-4-1-3-Borax	6
I-1-4-2-Dégradation de colle	6
I-2- Généralités sur les microorganismes et amylases.....	7
I-2-1-Généralités sur les microorganismes.....	7
I-2-1-1- La microflore des amidons	7
I-2-1-2- Les moisissures	7
I-2-1-2-1-Mode de développement.....	8
I-2-1-2-2-Facteur de croissance	8
I-2-1-2-3-Techniques d’identification	10
I-2-1-3- Les bactéries.....	11
I-2-1-3-1- Identification	11
I-2-2-Les amylases.....	12

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et Méthodes

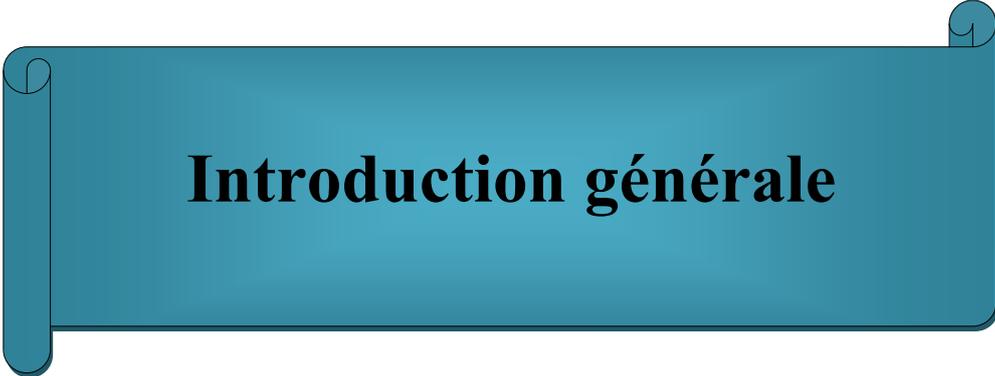
Présentation de l'entreprise.....	13
II-1- Préparation de la colle au niveau de l'unité GE.....	14
II-2-Analyse physico-chimique d'amidon	14
II-2-1 Dosage des protéines	14
II-2-2- Humidité	15
II-2-3-Test de confirmation de la dégradation de l'amidon	15
II-3 : Analyse microbiologique des matières premières	16
II-3-1-Analyse microbiologique de l'amidon	16
II-3-1-1-Echantillonnage	16
II-3-1-2-Milieus de culture	16
II-3-1-3- Isolement et purification	16
II-3-2-Analyse microbiologique de l'eau.....	18
II-3-2-1-Echantillonnage	18
II-3-2-2-Isolement des champignons et des bactéries.....	18
II-4-Analyse microbiologique du produit fini	19
II-4-1-Échantillonnage	19
II-4-2-Isolement des champignons et des bactéries.....	19
II-5-Sélection des souches à activité amylasique.....	19
II-6- Identification	20
II-6-1- Identification des champignons	20
II-6-2- Identification des bactéries.....	21

Chapitre III :-Résultats et discussion

III-1-Résultat	22
III-1-1-Analyses chimiques	22
III-1-2- Analyses microbiologique.....	23
III-1-3-Sélection des souches a activité amylasique	27
III-1-4-Identification	29
III-2-Discussion	30
Conclusion	40
Perspectives.....	41

Références bibliographiques

Annexes



Introduction générale

Introduction générale

L'industrie de l'emballage constitue un important secteur d'application des colles et adhésifs. L'assemblage de matériaux les plus divers destinés à la fabrication d'emballage ou au conditionnement nécessite la mise en œuvre de colles et adhésifs performants et adaptés **(Bureau et Multon , 1989)**.

Parmi les colles utilisées par l'industrie des emballages, La colle à base d'amidon est la plus performante pour le collage des papiers carton.

L'amidon est un polymère constitué d'amylose et d'amylopectine. C'est un produit dérivé des céréales qui sont soumises à diverses contaminations par les microorganismes. Son hydrolyse conduit à la formation du maltose puis du glucose. Les amylases responsables de cette activité proviennent de différentes sources (végétales, animales, bactériennes ou fongiques...) **(Boursier, 2005)**.

Notre travail a pour objectif de vérifier les caractéristiques chimiques et microbiologiques de l'amidon utilisé au cours de cette étude, et déterminer l'origine de la dégradation au cours du processus de fabrication de la colle et de son stockage. Pour notre part nous avons posé comme hypothèse, que la source de cette dégradation provient de l'amidon contenant des amylases soit d'origines bactériennes ou fongiques.

Ce présent travail a été subdivisé en trois parties réparties comme suit :

- Une partie théorique sur les généralités des colles à base d'amidon et les microorganismes,
- Une deuxième partie, porte sur la description de différents matériels et méthodes utilisés, afin de réaliser notre étude. en intégrant un chapitre décrivant le processus de fabrication de la colle au niveau de l'unité Générale Emballage d'Akbou.
- Enfin une troisième partie contenant les résultats obtenus après les divers travaux réalisés au niveau de l'unité Générale Emballage et au niveau des laboratoires de chimie et de mycologie et de génie biologique de l'université de Bejaia suivi de leurs discussions, en s'appuyant sur les travaux de la littérature scientifiques.

On clos notre étude par une conclusion générale

I-Synthèse bibliographique

I-1- Adhésifs

I-1-1- Généralités

Les matériaux adhésifs les plus courants dans l'industrie sont les polymères. Au niveau de la structure, les polymères se présentent comme des chaînes moléculaires généralement longues, ou macromolécules, composées principalement de liaisons covalentes carbone-carbone. Les propriétés des polymères dépendent fortement de leur structure moléculaire. Les adhésifs passent généralement par une forme plus ou moins liquide afin de favoriser les contacts moléculaires avec les surfaces plus ou moins rugueuses des matériaux (**Chauffaille , 2011**).

I-1-2-Définition

Une colle ou un adhésif, est une substance liquide ou gélatineuse servant à lier des matériaux entre eux. Cette substance est généralement un polymère qui peut-être d'origine naturel ou synthétique (**Bureau et Multon, 1998**).

I-1-3-Les principales colles utilisées dans le domaine de l'emballage

- ❖ Les colles en solution dans l'eau
 - **Les colles végétales** : Se composent généralement d'amidon ou de fécule solubilisée soit à la chaleur soit par voie alcaline.
 - **Les colles à base de dextrine** : Les dextrines obtenues par hydrolyse de l'amidon, permettent d'obtenir des solutions beaucoup plus concentrées que les colles végétales pour des viscosités identiques.
 - **Les colles à base de caséine.**
- ❖ Les colles synthétiques en dispersion dans l'eau.
- ❖ Les colles thermofusibles (**Bureau et Multon , 1998**).

I-1-4-Colle à base d'amidon

Ces matériaux sont dérivés des céréales ou des racines telles que le maïs, le blé, le tapioca, le sorgho, etc. Les colles amylicées contiennent de l'amidon natif ou de l'amidon modifié. Pour qu'ils puissent développer leur pouvoir de collage, il est nécessaire de les chauffer en présence de soude, de manière à provoquer l'éclatement de tous les grains d'amidon. Cela forme un empois dans lequel l'amidon secondaire est ajouté. Ce dernier définit

le pouvoir adhésif de la colle, car la conjugaison de la température, générée par les cylindres cannelés et l'application de la colle sur le carton, permet de former un complexe lié par le fait que l'amidon secondaire a éclaté. L'une des difficultés rencontrées par les applicateurs lors de la formation de la colle tient à la maîtrise de la viscosité. Cette dernière doit être fixée avec soin de façon à permettre une enduction aisée sur les supports à coller. Il est ainsi connu d'utiliser à cette fin des adjuvants borés, ayant des effets plastifiant, renforçant, filant et promoteur d'adhésion (entre autres) vis-à-vis de la colle amylicée (**Pannemcker et al., 2000**).

I-1-4-1-Composition de la colle

La préparation de cette colle comprend comme matière première l'amidon et un ensemble d'autres éléments :

I-1-4-1-1-Amidon

La production amidonnière mondiale atteint 48 millions de tonnes par an. Ces débouchés sont nombreux, ont des applications dans près de 90 % des industries recensées. Plus de la moitié de cette production est consacré à des applications alimentaires (sirops de glucose, dextrose, maltodextrines, amidon modifié ou non), le reste se répartissant pour les applications non alimentaires (papeteries-cartonneries, fabrication de colle, chimie, pharmacie etc.) (**Sicard, 2002**).

❖ Définition

L'amidon, appelé amyllum (Grec), est un polymère naturel, peu coûteux, totalement renouvelable et en plus, rapidement biodégradable (**Yua et al., 2006**).

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale composé d'unités glucose $C_6H_{12}O_6$.

Il est la principale substance glucidique de réserve des plantes supérieures, emmagasinés dans les graines de céréales telles que le maïs, le blé et dans les tubercules comme la pomme de terre, le manioc, et on les trouve aussi dans plusieurs légumes (**Boursier, 2005**).

Suivant l'origine botanique, l'amidon natif se présente sous forme de grains de diverses formes (sphères, ellipsoïdes, plaquettes, polygones) et dimensions (diamètre compris entre 0,5 et 175 μm) (**Belard, 2007**) (Figure 1).

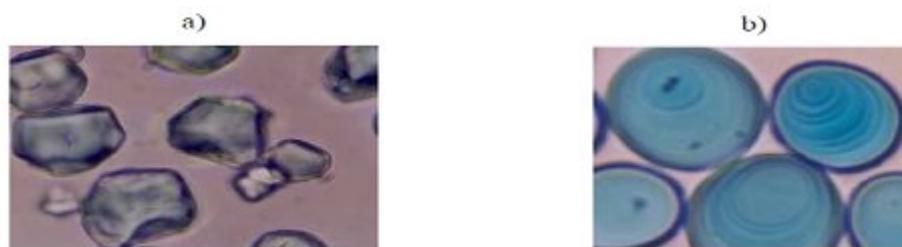


Figure 1 : grains d'amidon de maïs (a) et de pomme de terre (b) observé au microscopie optique (G x1000) d'après **(Mishra et al., 2006)**.

L'amidon est composé de deux polymères D-glucanes structurellement différents : amylose et amylopectine. L'amylose est un polymère linéaire peu branché tandis que l'amylopectine possède une structure fortement ramifié. **(Cai et Shi, 2010)**.

❖ Amylose

L'amylose (Figure 2) représente 20 à 30 % de l'amidon suivant son origine botanique **(Tara, 2005)**. Il s'agit d'un polysaccharide linéaire formé par l'enchaînement de molécules de D-glucose reliées entre elles par des liaisons de type α -(1,4) et comportant une unité réductrice en bout de chaîne. On peut noter aussi des liaisons α -(1,6) (<1%) qui génèrent des ramifications. Sa masse molaire est comprise entre 10^5 et 10^6g.mol^{-1} . L'amylose contient en moyenne 500 à 6000 unités glucosyl réparties en plusieurs chaînes (de 1 à 20) **(Belard, 2007)**.

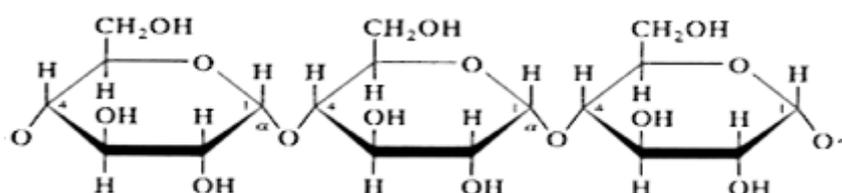


Figure 2 : Structure de l'amylose **(Arnaud, 1999)**.

❖ L'amylopectine

L'amylopectine (figure 3) constitue 70 à 80 % de la fraction glucidique de l'amidon. Il s'agit d'une macromolécule dont la masse molaire, comprise entre 10^7 et 10^8g.mol^{-1} , dépend de l'origine botanique, de la variété et des conditions physiologiques lors de sa biosynthèse. Elle est formée par l'association de résidus glucopyranoses principalement reliés entre eux par

des liaisons α -(1-4) et par 5 à 6 % de liaisons α -(1-6) qui lui donnent sa structure ramifiée (Tara , 2005).

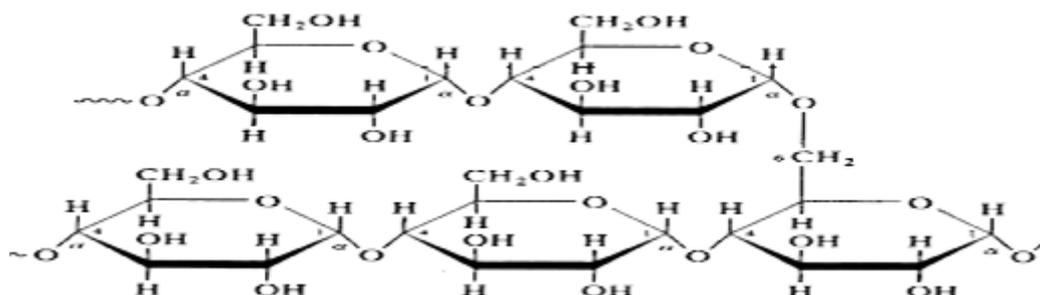


Figure 3 : Structure de l'amylopectine (Arnaud, 1999).

❖ Transformation de l'amidon

Après transformation, l'amidon doit perdre sa structure native. Cette transformation peut-être obtenue par gélatinisation.

- **La Gélatinisation :** La majorité des applications de l'amidon comporte un traitement préalable de dispersion du contenu granulaire : c'est la gélatinisation. Lors d'une transformation thermique classique, les grains d'amidon natif gonflent en présence de chaleur et d'eau. Ce gonflement s'accompagne de la fusion des cristallites et d'une libération progressive de molécules de petites masses moléculaires et solubles dans l'eau, venant de l'amylose et de l'amylopectine, jusqu'à l'éclatement de la structure granulaire et la libération totale des macromolécules d'amidon. La fusion de l'amidon est observée dès 70°C (Tara, 2005). La température de gélatinisation de l'amidon peut être diminuée par l'ajout de réactifs chimique tels que la soude. Ce procédé est le plus couramment utilisé dans le milieu industriel (colles, alimentaire).

❖ **Composition moyenne**Tableau I: composition moyenne en % des grains d'amidon (**Angellier, 2005**).

Amidon	Amylose	Amylopectine	protéines	Lipids	Sels minéraux	phosphore
Maïs	26-28	72-74	0,30	0,63	0,1	0,015
Blé	26-27	73-74	0,30	0,63	0,1	0,05
Pomme de terre	19-23	77-81	0,05	0,09	0,3	0,04

I-1-4-1-2 -La soude caustique

La soude, lessive de soude ou soude caustique est une solution issue de la dissolution d'un cristal solide ionique de formule chimique NaOH. Sa teneur est comprise entre 1,8 à 3% en poids d'amidon.

- **Role de la soude**

- Réduit la température de gélatinisation (diminue le point de gel).
- Permet une meilleure adhérence.

I-1-4-1-3-Borax : Tétraborate de sodium déshydraté

Le borax est un sel incolore de formule chimique $H_{20}B_4Na_2O_{17}$ qui, sous l'action de la chaleur se boursoufle pour se liquéfier.

- **Rôle du borax**

- Réduit la viscosité de la colle.
- Assure la stabilité de la colle.

I-1-4-2- Dégradation biologique de la colle

La biodégradation est définie comme l'ensemble des réactions de transformation ou de destruction des éléments constitutifs d'un matériau dû à l'action d'une ou plusieurs entités biologiques (**Boudih, 2011**).

I-2-Généralités sur les microorganismes et amylases

I-2-1- Généralités sur les microorganismes

Les microorganismes sont omniprésents dans notre environnement : eau, sol, air, animaux, humains. L'intérêt du point de vue de l'hygiène industrielle porte principalement sur les bioaérosols ou microorganismes dans l'air, et plus spécifiquement sur les bactéries, les moisissures et levures (**Bourgeois et al., 1996**).

I-2-1-1- La microflore des amidons

L'amidon est issu de la mouture des céréales qui sont sans doute plus fréquemment contaminées par les moisissures. La contamination peut avoir lieu avant la récolte, au champ, au cours du stockage et après transformation des graines (**Tabuc, 2007**).

Au cours de la mouture, il y a répartition de la flore dans l'ensemble du produit. Lors des diverses manipulations, il se produit des recontaminations par l'air et l'appareillage. La flore de la farine est constituée essentiellement de spores de *Bacillus*, *Coliformes* et de nombreuses spores de moisissures.

La farine d'amidon est un produit stable car elle contient peu d'eau comme pour les graines les altérations évoluent parallèlement à l'augmentation de l'humidité (**Guiraud, 2003**).

I-2-1-2- Les moisissures

Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou levuriforme. Ces derniers peuvent devenir visibles lorsque leur développement est important. Ces champignons sont appelés couramment « moisissures », véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, papier, cuir, murs...). Il s'agit d'organismes hétérotrophes (nécessitant une source de carbone et d'azote pour leurs développements) et ubiquistes (**Tabuc , 2007**). 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'effectue à travers la paroi perméable de leur appareil végétatif (**C.S.H.P.F., 2006**).

Les genres les plus importants sont les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium* qui représentent les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales et produit dérivé (**Tabuc, 2007**).

I-2-1-2-1-Mode de développement

Certains champignons vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres sont des saprophytes, qui se développent sur des déchets organiques en contaminant les produits alimentaires (**Guiraud, 2003**).

I-2-1-2-2-Facteur de croissance

A la différence des substances nutritives qui ne sont pas limitantes dans la majeure partie des cas, les facteurs de l'environnement peuvent constituer un élément déterminant pour l'initiation et la poursuite de développement des champignons (**Roquebert, 1997**).

❖ PH

La plupart des moisissures peuvent se développer dans une zone de pH comprise entre 3 et 8. Cependant certaines tolèrent des pH beaucoup plus acides ou très alcalins (**Leveau, Bouix, 1993**).

❖ Humidité

Les moisissures requièrent moins d'humidité relative que les bactéries. La plupart des moisissures préfèrent une activité d'eau (a_w) entre 0,85 - 0,99 (**Nguyen, 2007**).

Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables de se développer à des a_w voisines de 0,7 à 25°C ; elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau, comme les céréales au cours de leur stockage (**Tabuc, 2007**).

❖ Température

La plupart des moisissures sont mésophiles c'est-à-dire, qu'elles se développent autour de 15-37 °C.

❖ **Atmosphère gazeux**

La qualité de l'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important pour leur développement. Les moisissures sont des organismes aérobies, Cependant, certains tolèrent des quantités relativement faibles d'Oxygène et peuvent même se développer en anaérobiose ((**Roquebert, 1997**)).

C-Techniques d'identification

Conventionnellement, l'identification des genres fongiques repose sur l'observation de critères morphologiques : d'une part, par l'observation macroscopique du mycélium (aspect, couleur et odeur des colonies) et d'autre part, par une observation microscopique des structures reproductrices (**Diguta, 2010**).

❖ **Identification morphologique**

L'identification d'une espèce fongique repose sur l'analyse de critères cultureux (température et vitesse de croissance, milieux favorables) et morphologiques. Ces derniers sont constitués de paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopique (aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores,...) (**Roquebert, 1998**).

• **Critères d'identification macroscopique**

L'aspect des colonies représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses. Parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre ; absence ou pauvreté du mycélium aérien.

- **Le relief des colonies** : Il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).
- **La taille des colonies**: Elle peut-être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor, Rhizopus*). La couleur des colonies est un élément d'identification très important; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleu, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les

pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*).

- **Les structures de fructification** : la présence ou l'absence au centre de la colonie, de structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) est aussi un élément important de diagnose (**Botton et al., 1990**).

- **Critères d'identification microscopique**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle. Généralement, un examen à l'objectif 40x est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (**Roquebert, 1998**).

- **Le thalle**: tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes) qui, ensemble, forment le thalle filamenteux ou le mycélium ; le thalle peut être siphonné ou septé.
- **Les spores**: L'examen des spores et de leur organisation est une étape importante de l'identification fongique. Les spores peuvent être unicellulaires et de petite taille (*Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*), bicellulaires (*Trichothecium spp.*), pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales (*Alternaria spp.*) ou étroites, effilées, incurvées et cloisonnées transversalement (*Fusarium spp.*) (**Diguta, 2010**).

I-2-1-3- les bactéries

Les bactéries constituent la majeure partie des protistes inférieurs. Ce sont des êtres unicellulaires de dimension (de 1 à quelques μm en générale), de forme (en cocci, bacilles, vibrio, spirille....) et d'un groupement cellulaire (en amas, tétrade, chaînette...) très divers (**Bocquet, 1984**). Elles se reproduisent par simple division cellulaire, Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique (**Anonyme, 2003**).

A la différence des substances nutritives qui sont essentiels à la vie des bactéries, elles nécessitent aussi d'autres facteurs : facteur de croissance et les facteurs physico-chimiques.

- ❖ **Facteur de croissance** : On trouve les acides aminés, base purique et pyrimidique et vitamine.
- ❖ **Facteur physico-chimique** : Certains facteurs peuvent ralentir, inhiber ou à l'inverse favoriser la nutrition, la croissance et la multiplication .
 - La Température : D'après l'optimum thermique de leur développement on distingue :
 - Les mésophiles : La température moyenne est entre 25 et 40°C.
 - Les thermophiles : Une température entre 50 et 70°C.
 - Les hyper thermophiles : 80 °C.
 - Les psychrophiles : Entre 1et 15°C.
 - pH : Les bactéries préfèrent les milieux neutres en générale (7-7,5).

A- Identification

L'identification des bactéries est basée sur des caractéristiques culturelles, morphologiques ou biochimiques.

Elles se répartissent dans deux grands groupes, selon leur réaction à la coloration de Gram. Après coloration, les bactéries Gram+ deviennent violettes alors que les bactéries Gram- apparaissent en rose (**Bocquet, 1984**).

Les bactéries provenant essentiellement du sol et les bactéries porté par les graines de céréales et dérivés, se rangent principalement parmi les pseudomonadacées (*pseudomonas*....) et les eubactérieles (bacillacées....) (**Bourgeois et al.,1996**).

I-2-2-Les Amylases

Les enzymes amylolytiques sont les hydrolases naturelles capables de dégrader spécifiquement les liaisons glycosidique de l'amidon (amylose, amylopectine) et de ses produits de dégradation (maltodextrines) jusqu'au stade d'oligosaccharide. Elles sont largement répandues dans les trois règnes microbien, végétal et animal ou elles participent à de nombreux processus biologique (**Godon, 1981**).

Il existe plusieurs types d'enzymes amylolytiques, on trouve les enzymes spécifiques de la liaison $\alpha(1,4)$, les enzymes spécifiques de la liaison $\alpha(1,6)$ et les enzymes hydrolysant indifféremment les liaisons $\alpha(1,4)$ et $\alpha(1,6)$ de l'amidon (**Godon, 1981**).

Les amylases microbiennes peuvent être classées essentiellement en deux grands groupes en fonction de leur mode d'attaque :

- Les α -amylases ou $\alpha(1-4)$ - glucane glucanohydrolase (EC 3.2.1.1), dont l'action est toujours de type endomoléculaire et conduit à la formation de D-glucose, de maltose et d'une petite quantité de maltodextrine. Les α -amylases se rencontrent chez de nombreuses bactéries des genres *Bacillus* et *Clostridium*, de nombreuses moisissures des genres *Aspergillus* et *Rhizopus* ainsi que chez quelques levures des genres *Candida*.....
- Glucoamylase ou $\alpha(1-4)$ - glucane glucohydrolase (EC 3.2.1.3) qui libère des unités glucoses à partir des extrémités non réductrices des polymères. Elle hydrolyse l'amylopectine et l'amylose complètement en D-glucose et est également capable d'hydrolyser les liaisons $\alpha(1-6)$ ainsi que les liaisons $\alpha(1-4)$. Elle hydrolyse aussi le maltose. Les amyloglucosidases sont présentent chez les moisissures, quelques levures et bactéries.
- Parfois d'autres types d'amylases sont rencontrés : les β -amylases (*Bacillus S.*, quelque moisissures), hydrolysent les extrémités non réductrices des substrats et donne naissance à des unités de maltose ou à des unités de maltose et maltotriose .

(Arnaud, 1999).

Les amylases fongiques (*Aspergillus niger* et *Aspergillus oryzae*) servent à hydrolyser l'amidon en sucre fermentescible. Alors que les amylases bactériennes ont une plus grande stabilité à la chaleur (**Rivière, 1975**).



Partie pratique



Matériel et méthodes

Présentation de l'entreprise

GENERALE EMBALLAGE est une société de nature juridique SPA, implantée au niveau de la zone d'activité de Taharacht situé à 2.5 Km au nord-est du chef-lieu de la commune d'Akbou, wilaya de Bejaïa, d'une superficie de 24 ha. Elle a été créée le 01 août 2000. En 2008 Générale Emballage a acquis deux nouvelles usines de transformation, une à Oran au mois d'avril et l'autre à Sétif au mois de juin de la même année.

Générale Emballage s'est spécialisée dans la fabrication du carton ondulé, et sa transformation en emballage utilisé dans l'industrie alimentaire, électroménagère.... La matière utilisée pour le collage du papier carton est à base d'amidon qui est un matériau peu couteux et non toxique. Son utilisation ne génère aucun danger lors du contact avec les produits alimentaires.

Notre travail qui s'intitule «contribution à l'étude de la biodégradation de la colle à base d'amidon » nous a été proposé par l'entreprise Général Emballage (GE) qui nous a aussi accordé le stage pratique afin de suivre le processus de fabrication industrielle de la colle. Aussi tous les échantillons, qui ont fait l'objet d'analyse et d'étude dans le travail nous a été offert par l'entreprise GE.

II- Matériel et méthodes

La préparation industrielle de la colle à base d'amidon de maïs au niveau de l'usine Générale Emballage se fait en deux étapes : la préparation primaire et la préparation secondaire.

II-1-Préparation de la colle

La préparation primaire de la colle consiste à :

- Mettre dans une cuve de 2610L, 750 L d'eau chauffé à 40 C°,
- Ajouter 100 kg d'amidon de maïs,
- Additionner 40L d'eau tiède,
- Ajouter 50L (7kg) de soude caustique sous agitation pendant 400 s.

La préparation secondaire se fait selon les opérations suivantes :

- Ajouter à la préparation primaire 1150L d'eau, dans lesquelles on dissout 500 kg d'amidon,
- Additionner 40L d'eau tiède et maintenir la suspension sous agitation pendant 250s,
- Introduire 4,5kg de borax pour atteindre la viscosité désirée.

II-2-Analyse physico-chimique de l'amidon

II-2-1 Dosage des protéines

La teneur en protéine a été déterminée par la méthode de Bradford (**Bradford, 1996**) utilisant la BSA comme étalon. Le réactif de Bradford est préparé en mélangeant le bleu de Coomassie G250 (10mg) dans l'éthanol (5ml, 95°) et l'acide phosphorique(H_3PO_4) (10ml, 85%). Le mélange est complété avec l'eau distillé jusqu'à 100ml. Le réactif est stocké à 4°C. Après préparation de différentes dilutions de BSA, Le réactif de Bradford (5ml) est ajouté. On laisse agir 10mn à l'obscurité puis le dosage a été effectué par spectrophotométrie (UV mini-1240, SHIMADZU) à une longueur d'onde de 595 nm et la concentration en protéine de l'amidon est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage (Annexe I).

II-2-2- Humidité

Le principe consiste à dessécher la farine d'amidon en la maintenant dans une étuve chauffée à 100 °C jusqu'à poids constant.

➤ Mode opératoire

- Mettre 5 g de farine dans le vase métallique taré après dessiccation à l'étuve et refroidissement dans le dessiccateur.

- Introduire le vase couvert dans l'étuve pendant 5 h à 100 °C. Refroidir le vase dans le dessiccateur puis peser.

Soit H(%) la teneur en humidité :

$$H (\%) = \left(\frac{P - P_1}{P} \right) \times 100 + 0.3$$

- P : la prise d'essai,
- P₁ : poids du résidu sec,
- 0.3 : terme correctif pour tenir compte de l'humidité de l'atmosphère.

(Anonyme, 2011) .

II-2-3-Test de confirmation de la dégradation de l'amidon

Il consiste à ajouter quelques gouttes de lugol (annexe II) à deux échantillons de colle à base d'amidon de la même préparation. Les échantillons sont prélevés directement au niveau de l'unité de production d'Akbou. Le premier échantillon est prélevé lors de sa production et le deuxième après trois jours.

Selon la théorie, lors du contact entre l'amidon et le Lugol, il y aura apparition d'une coloration bleue, et l'obtention d'une couleur orange signifie la dégradation de l'amidon.

II-3-Analyse microbiologique des matières premières

II-3-1-Analyse microbiologique de l'amidon

II-3-1-1-Echantillonnage

L'isolement est fait à partir des échantillons d'amidon récoltés au niveau de l'usine GE à Akbou. Environ 100 g d'amidon sont prélevés et introduits dans un sachet en plastique stérile, puis emmenés au laboratoire et gardés au frais (4°C).

On a fait deux prélèvements sur deux sacs différents.

II-3-1-2-Milieus de culture

Nous avons utilisé trois milieux de culture : potato dextrose agar (PDA), Extract malt Agar (EMA) et la gélose nutritive(GN), qui sont des milieux permettant l'isolement d'un grand nombre de champignons et de bactéries.

Au début de notre étude nous avons testé trois milieux de culture sur les champignons : PDA, Sabouraud, EMA, pour lesquels après incubation on a constaté un développement massif, mis à part le milieu PDA et EMA ou on a pu faire de meilleures observations. Et c'est pour cela que pour la suite des analyses, seuls les milieux PDA et EMA ont été utilisés sur les champignons.

Pour les bactéries on a utilisé un milieu GN.

Les milieux utilisés sont stérilisés à l'autoclave à 120° C pendant 20mn.

Le coulage des milieux se fait dans des boîtes de Pétrie stériles, conservées pendant 48 h d'observation, afin de détecter d'éventuelles contaminations dues à la manipulation. La composition des milieux de culture utilisés pour l'isolement est détaillée dans l'annexe III.

II-3-1-3- Isolement et purification

L'isolement des microorganismes est réalisé par la méthode de dilution décimale (Botton *et al.*, 1990).

II-3-1-3-1-Isolement des champignons

Préparation de la solution mère

Des lots de 10 g d'amidon sont introduits dans environ 90 ml d'eau distillée stérile.

A-Préparation des dilutions

Dans des flacons contenant 90 ml d'eau distillé, on y introduit aseptiquement 10 g de l'échantillon à analyser à l'aide d'une spatule, puis on homogénéise l'ensemble pendant 15 mn. Laisser reposer 20 à 25 mn.

Pipeter 1 ml de la solution mère (1/10) et les introduire dans chaque tube à essai contenant 9 ml d'eau distillé.

Agiter pour assurer une bonne homogénéisation. Opérer par dilutions successives; en prenant 1ml de la solution précédente et on l'ajoutant à 9 ml d'eau distillée jusqu'à la dilution 1/100000.

B-Ensemencement

Il existe deux méthodes : Ensemencement en surface et en masse (**Botton et al., 1990**).

- Recherche des germes aérobies

On réalise un ensemencement par inondation en déposant 1 ml de chaque dilution, puis on procède à l'homogénéisation, réalisée en agitant manuellement les boîtes d'un mouvement circulaire dans le plan horizontal. Pour chaque dilution, nous ensemençons 2 boîtes de Pétrie.

- Recherche des germes anaérobies

On réalise un ensemencement en masse, en déposant 100 µL de chaque dilution sur une boîte de pétri puis on y ajoute le milieu de culture. Pour chaque dilution, nous ensemençons 2 boîtes de Pétrie.

C-Incubation

Après l'ensemencement, chaque boîte est entourée du para film (pour éviter toutes contaminations) maintenues à une température de 25°C jusqu'à l'apparition de colonies fongiques.

D-Repiquage

Le repiquage consiste à prélever avec une flèche stérile quelques fragment mycélien à la marge du thalle, et de transférer l'inoculum sur un milieu PDA neuf, au centre de la boîte. Ensuite les boîtes sont incubées à 25 °C. Après une semaine on observe l'apparition de colonies bien différenciées.

E-Conservation

Les jeunes colonies, sont aseptiquement transférées etensemencées sur gélose inclinée pendant 2 à 3 semaines à une température compatible avec le développement. Les cultures pures sont alors stockées à 4°-7°C (**Botton et al, 1990**).

II-3-1-3-2-Isolement des bactéries**A-Ensemencement**

- Recherche des germes aérobies : On réalise un ensemencement par étalement de 0,1 ml de chaque dilution en strie transversales à l'aide d'une anse de platine.
- Recherche des germes anaérobies : On réalise un ensemencement en masse, en déposant 100 µL de chaque dilution sur une boîte de Pétrie, puis on y ajoute le milieu de culture.

B-Incubation

Après l'ensemencement, chaque boîte est maintenue à une température de 30°C, jusqu'à l'apparition de colonies bactériennes.

C-Repiquage

Le repiquage consiste a prélever avec une anse stérile une colonie, et l'ensemencé sur un milieu gélose nutritif neuf. Ainsi les boîtes sont incubées à une température de 30°C. Après 24 à 72 h on observe l'apparition de colonies bien différenciées.

D-Conservation

Les jeunes colonies, sont aseptiquement transférées etensemencées sur gélose inclinée pendant 3 à 5 jours, pour permettre une croissance maximale. Les cultures pures sont alors stockées à 4°C (**Haq et al., 2002**).

II-3-2-Analyse microbiologique de l'eau**II-3-2-1-Echantillonnage**

L'isolement est fait a partir d'échantillon d'eau récolté au niveau de l'usine GE à Akbou. Après désinfection du robinet avec l'alcool, environ 250 ml d'eau sont prélevés et introduits dans un flacon en verre stérile, puis emmenés au laboratoire et gardés au frais (4°C).

II-3-2-2-Isolement des champignons et des bactéries

Nous avons isolés les champignons a partir de l'eau selon la méthode classique de dilutions décimales. En utilisant les milieux cités précédemment, la recherche des germes aérobies et anaérobies est faite comme pour l'échantillon précédent.

II-4-Analyse microbiologique du produit fini

II-4-1-Échantillonnage

Le prélèvement est fait a partir des échantillons de colle à base d'amidon, récolté au niveau de l'usine GE à Akbou. Après désinfection du robinet avec l'alcool, les échantillons sont prélevés dans des flacons en verres stériles.

Echantillon 1 (noté E1): prélevé à partir de la cuve de colle à la fin de la production.

Echantillon 2 (noté E2) : prélevé au niveau de la machine colleuse.

Echantillon 3 (noté E3): trois jours après sa conservation.

A chaque échantillonnage, environ 150 ml de colle sont prélevés et introduits dans des flacons de 250 ml en verre stérile, puis emmenés au laboratoire pour la suite des analyses.

II-4-2-Isolement des champignons et des bactéries

Nous avons isolés les champignons a partir de la colle, selon la méthode classique de dilutions décimales et en utilisant les milieux cités précédemment. La recherche des germes aérobies et anaérobies est faite comme pour les échantillons précédent.

II-5-Sélection des souches amylolytique

II-5-1-sélection des bactéries à activité amylolytique

La sélection des souches amylolytiques est réalisée a partir des souches précédemment isolées, ces dernières sontensemencées sur un milieu à base d'amidon (annexe III). Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 h , L'activité amylolytique est révélée en recouvrant la gélose d'une solution de Lugol. Dans le cas d'une réaction positive, un halo clair dû à la dégradation de l'amidon apparaît autour de la culture, le reste de la boite étant bleu (**Alariya et al., 2013**).

II-5-2-sélection des champignons à activité amylasique

La révélation des zones d'hydrolyse se fait après addition de 10 ml d'une solution iodée qui donne une zone transparente par rapport aux zones qui contiennent de l'amidon non hydrolysé et qui apparaissent bleues. La formation d'une zone claire autour des colonies fongiques est considérée comme un test positif pour l'activité de l'amylase (**Nouadri, 2011**).

II-6- Identification

L'identification est faite sur les souches représentant une activité amylasique.

II-6-1- Identification des champignons

L'identification des moisissures est basée sur les aspects macroscopiques et microscopiques.

II-6-1-1-Etude macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation des colonies à l'œil nu et à la loupe binoculaire.

Caractères culturels observés (**Botton et al., 1990**) :

- Aspect de la colonie (couleur, texture de l'avant, revers,...),
- Texture du thalle (velouté, laineux, floconneux,...),
- couleur du thalle (pigmentation du mycélium, couleur des conidies).

II-6-1-2-Etude microscopique

La détection et l'identification des champignons nécessitent l'observation au microscope optique. Pour cela, la préparation des lames est réalisée par la méthode de scotch.

Technique de scotch : Elle consiste à appuyer sur la surface de la colonie à l'aide d'une pince, un petit carré (1cm x 1cm) de scotch transparent coté collant sur la colonie. Une fois retiré de la culture, le petit carré est déposé sur la lame à observer.

L'observation au microscope au grossissement (x40) et (x100) porte sur :

- L'étude microscopique du mycélium : présence ou absence de cloisons, mode de ramification.
- L'étude microscopique des organes de fructification (sporulation) et de leurs contenus : formes textures des parois.
- les conidies : étude de la taille et morphologie.

II-6-2- Identification des bactéries

II-6-2-1-Examen cellulaire

L'étude morphologique des cellules comprend :

- **Un examen à l'état frais :** Permet d'observer sur les cellules vivantes différentes aspects, comme la forme des cellules, leur mode de groupement et leur mobilité.
- **Un examen après coloration :** Facilite grandement l'observation microscopique des bactéries, la coloration de Gram est réalisée sur frottis séchés et fixés. Cette coloration permet non seulement d'observer la forme des cellules, mais également de diviser les bactéries en deux grands groupes taxonomiques différents : bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif.

II-6-2-2- Test de la catalase

La mise en évidence d'une bactérie à catalase positive est réalisée en présence d'eau oxygénée, par observation d'une effervescence et d'un dégagement important d'oxygène.



Résultat et discussion

III-Résultats et discussion

III-1-Résultats

III-1-1-Résultat d'analyses chimiques

III-1-1-1-Dosage des protéines

Le taux de protéine obtenus après le dosage par la méthode de Bradford est de 0,9 mg/ml. La valeur maximale de taux de protéine donné par le fournisseur est de 0,7. Il est probable que des erreurs dues à la méthode d'analyse soient à l'origine de cette modeste différence.

III-1-1-2- Taux d'humidité

Tableau II : Résultats obtenus sur le taux d'humidité de l'amidon.

Essai	1	2	3	Moyenne	T*
Taux d'humidité	14,3	14,9	14,5	14,56	10 -13,5

T* : intervalles de la valeur moyenne donnée par le fournisseur.

III-1-1-3- Test au lugol

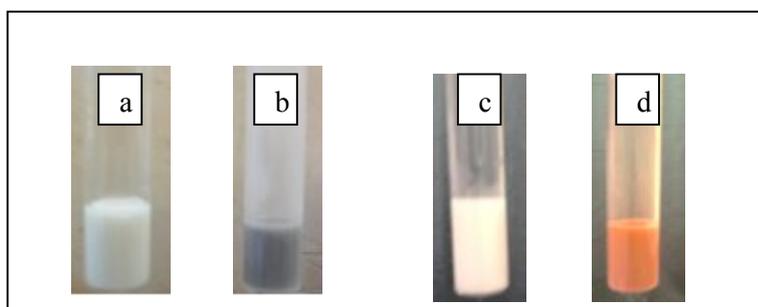


Figure 4 : Résultats obtenus pour le test de lugol.

- (a) Témoin : colle nouvellement préparé ; (b) colle nouvellement préparé+ lugol ;
(c) Témoin : colle après 3 jour ; (d) colle après 3 jour + lugol

III-1-2- analyses microbiologique

III-1-2-1-Analyse de l'amidon

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'amidon sont représentés dans les tableaux suivant :

Tableau III : Résultats obtenus sur milieu GN pour l'amidon

N° Echantillon		Souche	Couleur	Forme
1	2	S _{a1}	Verte	Ronde, petite
		S _{a2}	Orange	Ronde, moyenne

Sa: souche obtenue de l'échantillon d'amidon

Tableau IV: Résultats obtenus sur milieu PDA et EMA pour l'amidon.

Milieux	Nom de la Souche Echantillon 1	Nom de la Souche Echantillon 2	Couleur de colonie	Couleur du revers	Texture de la surface	croissance
PDA	S _{a1}	S _{a1}	Marron à noir (brun foncé)	Noir	velouté	Rapide
	S _{a2}	S _{a2}	Verte avec une marge blanche	Jaune	Poudreuse	Rapide
	S _{a3}	/	Gris Claire	Gris foncé	laineuses	Lente
EMA	S _{a1}		Partant du centre : marron avec des reliefs blancs, plissé	Incolore	Veloutée	Lente

III-1-2-2-analyse de l'eau

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'eau sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V: Résultats obtenus sur milieu GN pour l'eau.

Germes	Nom de la Souche	Couleur	Forme
Aérobic	Se _a 1	Jaune	Ronde, petite
	Se _a 2	Transparente avec un centre blanc	Ronde, moyenne
	Se _a 3	Grise à verte	Ronde, grande
	Se _a 4	Blanche à jaunâtre	Ronde, petite
Anaérobic	Se _{an} 1	Crémeuse, claire	bordelé
	Se _a 1	Crémeuse, non claire	bordelé

Se_a : souche aérobic obtenue de l'échantillon d'eau ;

Se_{an} : souche anaérobic obtenue de l'échantillon d'eau.

III-1-2-3-analyse de la colle

Les résultats de l'analyse microbiologique de la colle sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau VI: Résultats obtenus sur GN pour E1

Germes	Souche	Couleur de colonie	Forme
Aérobic	S _{Ca1}	Blanche à jaunâtre	Ronde
	S _{Ca2}	Orange	Ronde, moyenne
	S _{Ca3}	Jaune	Ronde, petite
	S _{Ca4}	Verte	Ronde, petite
	S _{Ca5}	Transparente avec un centre blanc	Ronde, moyenne
	S _{Ca6}	Grise à verte	Ronde, grande
Anaérobic	S _{Can1}	Crémeuse, claire	Bordelé
	S _{Can2}	Crémeuse, non claire	Bordelé

S_{Ca} : souche aérobic obtenue de l'échantillon de colle ;

S_{Can} : souche anaérobic obtenue de l'échantillon de colle.

Tableau VII: Résultats obtenus sur milieu PDA et EMA pour E1.

Milieux	Souche	Couleur de colonie	Couleur du revers	Texture de la surface	croissance
PDA	Sc _{a 1}	Marron à noir (brun foncé)	Noir	Velouté	Rapide
	Sc _{a 2}	Verte avec une marge blanche	Jaune	Poudreuse	Rapide
	Sc _{a 3}	Gris Claire	Gris foncé	Laineuses	Lente
EMA	Sc _{a 1}	Partant du centre : marron avec des reliefs blancs, plissé	Incolore	Veloutée	lente

Tableau VIII: Résultats obtenu sur milieu GN pour E2 et E3.

Germes	Souche	Couleur de colonie	Forme
Aérobie	Sc _{a 1}	Blanche à jaunatre	Ronde
	Sc _{a 2}	orange	Ronde, moyenne
	Sc _{a 3}	Jaune	Ronde, petite
	Sc _{a 4}	Verte	Ronde, petite
	Sc _{a 5}	Transparente avec un centre blanc	Ronde, moyenne
	Sc _{a 6}	Grise a verte	Ronde ,grande
	Sc _{a 7}	transparente	
	Sc _{a 8}	Blanche ramifié	Grande
Anaérobie	Sc _{an 1}	Crémeuse, claire	Bordelé
	Sc _{an 2}	Crémeuse, non claire	Bordelé

Tableau IX: Résultats obtenu sur milieu PDA et EMA pour l'échantillon 2 et 3.

Milieux	Souche	Couleur de colonie	Couleur du revers	Texture de la surface	croissance
PDA	Sc _a 1	Marron à noir (brun foncé)	Noir	velouté	Rapide
	Sc _a 2	Verte avec une marge blanche	Jaune	Poudreuse	Rapide
	Sc _a 3	Gris Claire	Gris foncé	laineuses	Lente
EMA	Sc _a 1	Partant du centre : marron avec des reliefs blancs, plissé	Incolore	Veloutée	Lente
	Sc _a 2	Noire avec relief marron vert	Gris foncé à vert	velouté	Lente
	Sc _a 3	Blanc-beige	Pourpre	laineuse	Rapide

III-1-3-Sélection des souches à activité amylasique

Les résultats du test d'activité amylasique sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau X: Résultats du test d'activité amylasique des souches isolées.

Echantillons	Milieux	Souche	Présence d'activité amylasique	Diamètre de zone de lyse (cm)
Amidon	GN	Sa 1	-	/
		Sa 2	-	/
	PDA	Sa 1	+	0,45
		Sa2	+++	1,1
		Sa3	-	/
	EMA	Sa1	++	0,9
Eau	GN	Se _a 1	++	0,6
		Se _a 2	-	/
		Se _a 3	-	/
		Se _a 4	-	/
		Se _{an} 1	-	/
		Se _{an} 2	+	0,2
Colle	GN	Sc _a 1	-	/
		Sc _a 2	-	/
		Sc _a 3	++	0,6
		Sc _a 4	-	/
		Sc _a 5	-	/
		Sc _a 6	-	/
		Sc _a 7	+	0,2
		Sc _a 8	+++	1,3
		Sc _{an} 1	-	/
		Sc _{an} 2	+	0,2
	PDA	Sc _a 1	++	0,5
		Sc _a 2	+++	1,2
		Sc _a 3	-	/
	EMA	Sc _a 1	++	0,9
		Sc _a 2	+	0,5
		Sc _a 3	++++	2



Figure 5 : Test de sélection des bactéries à activités amylasiques importantes sur milieux d'amidon pour l'échantillon de colle. (a : Sc_a 8, b : Sc_a 3)

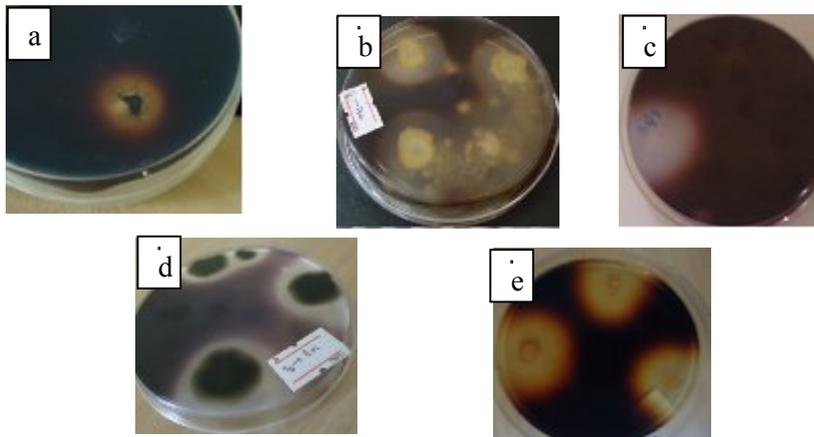


Figure 6: Test de sélection des champignons à activités amylasiques sur milieux d'amidon.
a: Sc_a 1(PDA), b : Sc_a (PDA), c : Sc_a 1(EM), d : Sc_a 2(EM), e : Sc_a 3 (EM)

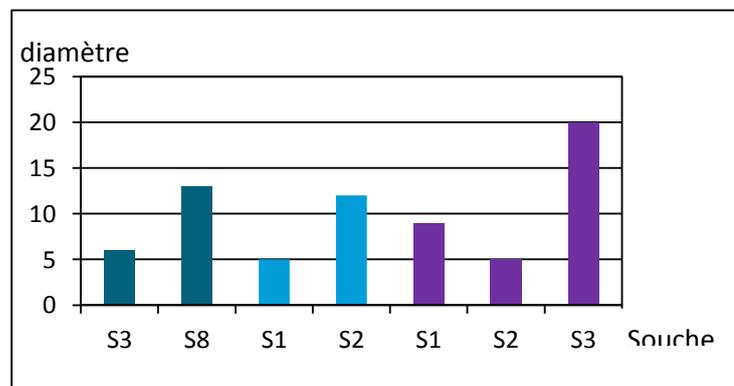


Figure 7: Diamètre des zones de lyse des souches amylolytiques.

■ Souche sur milieu GN ■ Souche sur milieu EM
 ■ Souche sur milieu PDA

III-1-4-Identification

III-1-4-1-Identification des champignons

Les résultats obtenus après test d'identification des champignons possédants une activité amylasique sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XI: Identification des champignons représentant une activité amylasique.

Echantillon	Milieux	souche	Genre
Amidon	PDA	Sa 1	<i>Alternaria</i>
		Sa2	<i>Penicillium</i>
	EMA	Sa1	<i>Aspergillus</i>
Colle après 3 jours de préparation	PDA	Sc _a 1	<i>Alternaria</i>
		Sc _a 2	<i>Penicillium</i>
	EMA	Sc _a 1	<i>Aspergillus</i>
		Sc _a 2	<i>Cladosporium</i>
		Sc _a 3	<i>Fusarium</i>

III-1-4-2-Identification des bactéries :

L'identification est effectuée seulement pour les souches à activités amylasiques.

Tableau XII: Résultats des tests d'identification des bactéries à activité amylasique.

Echantillon	souches	Mobilité	Forme	Coloration de gram	catalase	Genres
Eau	Se _a 1	-	Petit cocci	+	+	<i>micrococcus</i>
Colle	Sc _a 3	-	Petit cocci	+	+	<i>micrococcus</i>
	Sc _a 8	+	bacille	+	+	<i>Bacillus</i>

III-2-Discussion :

III-2-1-Partie chimique :

On remarque que le taux des protéines dans l'amidon analysé est très élevé par rapport à la valeur donnée par le fournisseur.

Par contre le taux d'humidité est presque identique à celui donné par le fournisseur.

L'apparition de la couleur bleue lors du contact du lugol et l'échantillon de colle nouvellement préparé signifie la présence d'amidon dans l'échantillon, tandis que l'apparition de la couleur orange sur l'échantillon de colle prélevé après trois jours confirme l'absence d'amidon. Ce qui se traduit par la disparition et la dégradation de l'amidon en produit autre que celui-ci.

III-2-2-Partie microbiologique

D'après les résultats obtenus suite à la culture des échantillons récoltés sur différents milieux, on a constaté la présence de la flore bactérienne et fongique et aucun développement des levures.

Sur l'amidon, on observe la présence d'une flore fongique plus importante que celles des bactéries. D'après les observations sur les moisissures obtenues et qui ont contaminés nos échantillons, selon la littérature (**Molard, 1991**) elles proviennent de la flore de stockage des céréales avant la mouture. Elles sont représentées par les genres ; *Aspergillus* et *Penicillium*, avec un degré moindre de genres ; *Fusarium*, *Alternaria*. Ces derniers représentent la flore du champ, peu sporulente, qui restera, généralement, au niveau des sons après mouture.

Les observations de nos résultats obtenus sur l'eau montrent la présence d'une flore bactérienne importante et aucun développement des moisissures n'a été constaté. La qualité microbiologique de l'eau a une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires. En effet, l'eau contient en suspension des microorganismes très divers. Les germes hydriques sont souvent des bactéries ayant une origine commune avec le sol (*Streptomyces*, *Micrococcus*,) (**Bourgeois et al, 1996**).

Parmi les six souches bactériennes isolées, quatre appartiennent à la flore aérobie et deux appartiennent à la flore anaérobie.

Cette contamination est due à un mauvais ou à l'absence de traitement biologique de l'eau avant son utilisation dans le processus industriel de fabrication de la colle.

L'analyse microbiologique effectuée sur la colle juste après sa production montre qu'elle est contaminée par les mêmes micro-organismes (bactéries et champignons), déjà observés et isolés à partir de l'amidon et l'eau. Cela signifie que ces micro-organismes proviennent des matières premières achetées auprès des fournisseurs.

Pour l'échantillon de colle prélevé au niveau de la machine colleuse, on remarque qu'une partie des microorganismes sont les mêmes que ceux isolés dans la colle lors de sa fabrication, ainsi que l'apparition de nouveaux genres pour les bactéries comme pour les champignons.

Pour les bactéries, nos résultats sont en accord avec ceux des travaux de la littérature (**Basset et al., 2007**). Ces auteurs ont rapportés ses remarques de présence de nouveaux contaminants bactériens dans ces colles préparées ; dans leur étude sur 4 types de colles d'amidon de blé. En effet, ces contaminants résultent soit d'une contamination humaine soit d'une contamination par le matériel utilisés.

Pour les champignons, l'apparition des nouveaux genres est due à une contamination par l'air. Pendant l'opération du collage au niveau de l'unité, la colle est en contacte directe avec l'air et le circuit du liquide est en boucle de circulation fermé.

Pour l'échantillon de colle prélevé après 3 jours de préparation, on remarque la présence du même type de microorganismes cités dans l'échantillon précédent, avec un taux plus élevé. En effet, les conditions pour une meilleurs prolifération de différents microorganismes sont présentes (température, humidité,.....).

A la lumière des résultats obtenus, on observe que seulement quatre souches bactériennes présentent une activité amylasique. Seulement deux d'entre, ont une activité importante.

Pour les champignons, on a constaté la présence de cinq souches à activité amylasique. L'identification est réalisée sur les souches qui possèdent une activité amylasique.

Quant aux deux genres de bactéries identifiés, il est probable qu'il s'agirait de *Bacillus* et *Micrococcus* avec un nombre de germes, après dénombrement, de 176×10^2 et 91×10^2 UFC, respectivement.

Les *Bacillus* sont des saprophytes du sol, de l'eau et de l'air. Ce sont des germes aérobie stricte ou facultatif, bacille gram +, mobile, catalase +, groupé en chaînette (voir la figure 8).

Les *Micrococcus* sont des coques aérobies, catalases positifs présentent le plus souvent en paires, en tétrades ou en amas irréguliers. Ils sont généralement non mobiles. Les colonies

des microcoques sont souvent jaunes, orange ou rouges. Ce sont des microorganismes très réponsus dans le sol, dans l'eau et sur la peau des mammifères (figure9).

Pour les cinq genres de champignon identifiés on a supposés qu'il s'agirait d'*Aspergillus* (21,33%), *Penicillium* (34,66%), *Fusarium* (15,55%), *Alternaria* (11,8%) et *Cladosporium* (16,66%).

Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, parfois pathogènes pour l'homme, les animaux et les végétaux.

Ce genre est caractérisé par un thalle cloisonné qui porte de nombreux conidiophores dressé, non ramifiés terminés en vésicules ou portés sur des métules ou stérigmates ,conidies en chaînes divergentes ou associées en colonnes compactes unicellulaires , globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées , hyalines ou pigmentées en jaune, brun, noire ou vert ,cellules a paroi épaissie (**Botton et al.,1990**).

L'espèce *Aspergillus sp* fréquente sur les milieux peu hydratés et les céréales, elle est caractérisée par la couleur brune de ces colonies avec relief blanc, veloutée, vésicules rondes, conidies sphérique lisse (figure10).

Les *Penicillium* responsables de nombreuses dégradations sont caractérisés par un thalle vert ou plus rarement blanc (**Botton et al., 1990**), un filament dressé, le stipe, qui porte des cellules conidiogènes (phialides) groupées en pinceaux (d'où le nom de *Penicillium*), formant des conidies en chaînes. Entre les phialides et les stipes peuvent s'intercaler des éléments intermédiaires qui rendent l'organisation du pinceau plus complexe (**Nguyen ,2007**).

L'espèce *Penicillium sp* est caractérisé par un thalle Vert avec un relief blanc, poudreuse, pénicillie triverticillé asymétriques, conidiophores isolés ou fasciculé, conidie globuleuse lisse (figure11).

Les *Fusarium* ont un thalle à croissance généralement rapide, blanc à crème, jaune, brunâtre, rose, rouge. conidiophores parfois très ramifiés, phialides plus au moins allongées pouvant produire deux types de conidies : des macroconidies fusiformes, souvent courbées, pluriseptées et des microconidies petites, septées, fusiformes ou ovoïdes. La plupart vivent dans le sol. (**Botton et al., 1990**).

L'espèce *Fusarium sp* est caractérisée par un thalle blanc-beige, laineuse, conidiophores ramifiés, phialides plus au moins allongées, des microconidies fusiformes. (figure12).

Les *Cladosporium* ont un thalle brun olivacé a brun noir, pigmenté dans toutes ces parties, veloutés ou floconneux, revers olivacé a brun noir. Conidiophores ramifiés, droits ou flexueux. conidies en chaines acropétales, souvent septées et avec plusieurs sites conidiogènes, les autres unicellulaires, globuleuses, ovoïdes a cylindriques, lisse ou verruqueuse, avec des cicatrices d'insertion souvent bien visibles.

La fragilité des structures sporifères et la présence dans les préparations de fragments de conidiophores allongés et de conidies de forme et de dimensions variées sont souvent les caractéristiques des champignons du genre *Cladosporium* (**Botton et al., 1990**).

L'espèce *Cladosporium sp* est caractérisée par un thalle de couleur noire avec relief marron vert, veloutée, conidies de forme variable. Certaines sont ovoïdes, d'autres cylindriques, petites ou grandes (figure13).

Alternaria se reconnaît par sa croissance sympodiale des conidiophores, noirs, conidies en chaines simples ou ramifiées, pluricellulaires à cloisons croisées longitudinalement et transversalement (**Botton et al.,1990**) (figure 14).

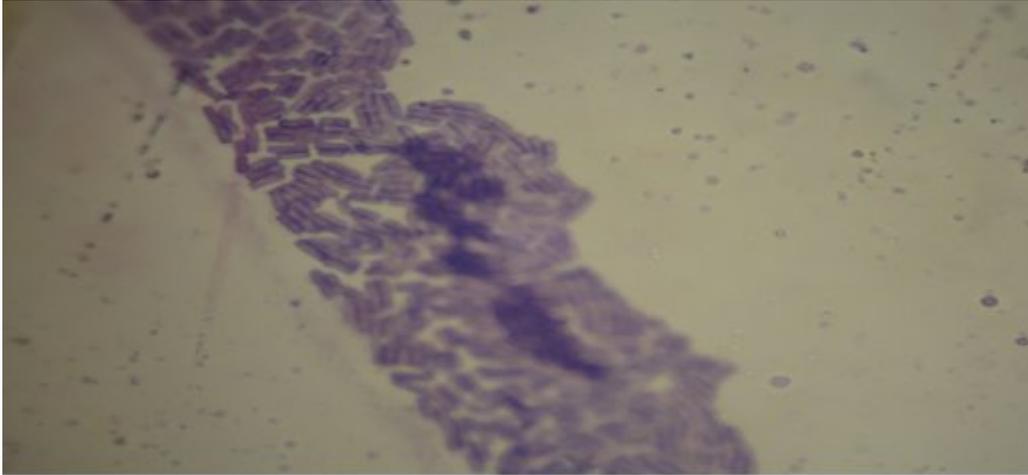


Figure 8 : *Bacillus sp* sous microscope optique au grossissement (x100) après coloration de Gram.

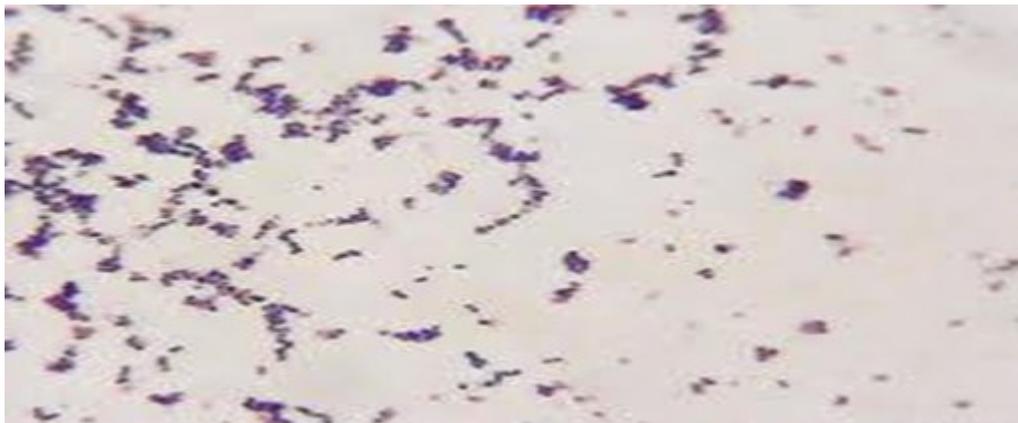
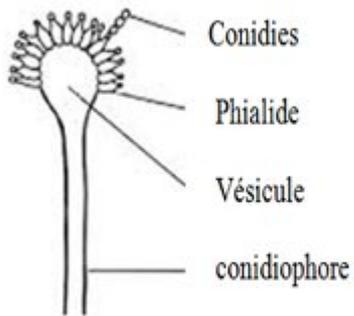


Figure 9: *Micrococcus sp* sous microscope optique au grossissement (x100) après coloration de Gram.



A



B

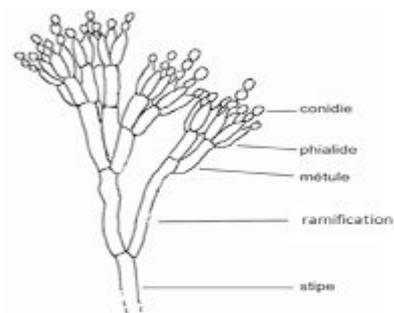
Figure10 : Identification d'*Aspergillus sp*

A-observation macroscopique

B-observation microscopique



A



B

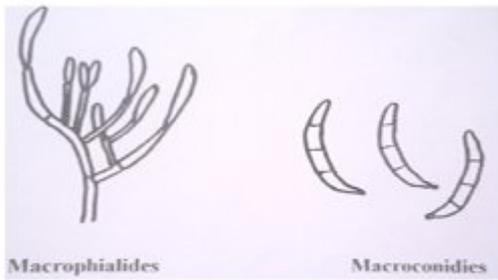
Figure 11: Identification de *Penicillium sp.*

A-Observation macroscopique

B-Observation microscopique



A

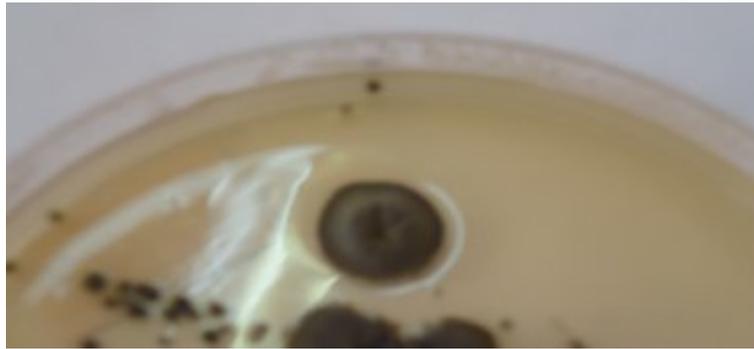


B

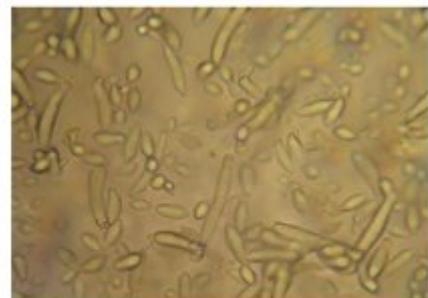
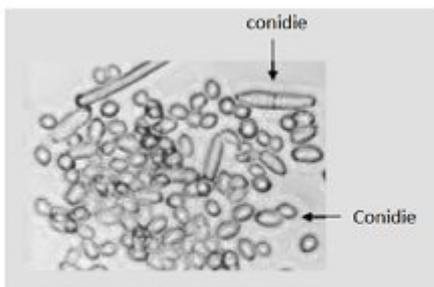
Figure 12: Identification de *Fusarium* sp

A-Observation macroscopique

B-Observation microscopique



A



B

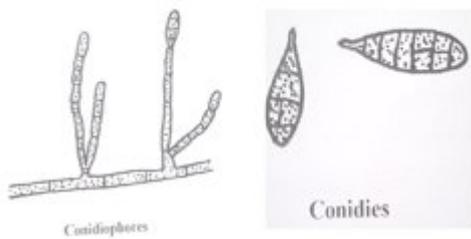
Figure 13 : Identification de *Cladosporium sp.*

A-Observation macroscopique

B-Observation microscopique



A



B

Figure 14 : Identification d'*Alternaria sp.*

A-Observation macroscopique

B-Observation microscopique



Conclusion

Conclusion

Les résultats obtenus après isolement, sélection et identification s'accordent pour confirmer la présence des microorganismes amylolytiques dans l'échantillon de colle à base d'amidon de maïs.

Parmi les souches isolées, on a identifié deux souches bactériennes appartenant aux genres *Bacillus* et *Micrococcus* possédant une activité amylasique importante, et cinq genres de moisissures appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* et *Alternaria* qui possèdent une activité amylasique.

Aussi on a constaté deux sources de contaminant à savoir l'air et les deux matières premières entrant dans la composition de la colle : l'eau et l'amidon.

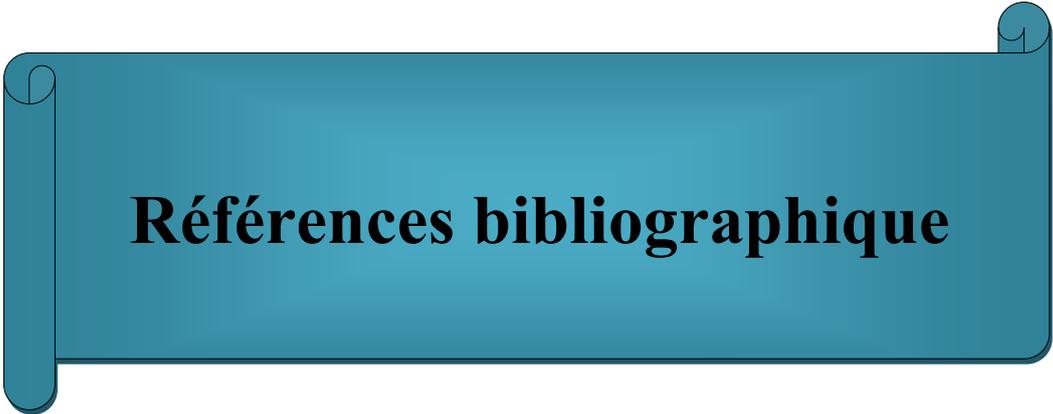
Les microorganismes isolés et identifiés à partir de l'échantillon de colle secrètent des enzymes amylolytiques exocellulaires qui sont des amylases qui dégradent l'amidon. Ce qui permet de dire que la cause principale de la biodégradation de la colle à base d'amidon de maïs est une contamination par des microorganismes amylolytiques.

Nous espérons, à travers ce modeste travail, avoir apporté, ne serait-ce qu'une petite contribution à l'étude de la dégradation de la colle à base d'amidon de maïs par les microorganismes et ouvrir ainsi, les horizons, aux futures promotions, pour s'orienter dans leurs travaux de recherches.

Perspectives

Pour empêcher ou arrêter l'altération de la colle à base d'amidon par les microorganismes il est nécessaire voir indispensable d'ajouter au produit fini des fongicides, bactéricides ou conservateurs pour inhiber le développement ou détruire les microorganismes dans le produit à conserver.

Comme il a été rapporté par **Lefevre et Pingaud , 1997** qui ont fait un test de deux fongicides a différentes concentrations, qui sont spécialement adapté aux colles a base et a la conservation. L'addition d'un fongicides et en particulier Bioac1 (à base d'orthophenylphenol) est bénéfique, et les meilleurs résultats ont été obtenus en ajoutant le fongicide a une concentration de 0,5 du poids de la colle sèche.



Références bibliographique

Références bibliographiques

-(A)-

Alariya SS, Sethi S, Gupta S et Gupta BL. (2013). Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil. Archives of Applied Science Research. 5 (1):15- 24.

Angellier H. (2005). Nanocristaux d'amidon de maïs cireux pour applications composites. Thèse de Doctorat en Sciences et Génie des matériaux. Université Joseph Fourier -Grenoble1, Grenoble , 298p.

Anonyme. (2003).Bactériologie- service de bactériologie, Faculté de Médecine. Université Pierre et Marie Curie, 122p.

[http:// www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf](http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf) (consulté mai 2013).

Anonyme. (2011). Analyse de la farine et de produits de céréales. Editer par le blog des étudiants en pharmacie de l'université de Constantine, pp : 8-9.

[http:// www.toxikoa.files.wordpress.com](http://www.toxikoa.files.wordpress.com) (consulté mai 2013)

Arnaud A. (1999). Le métabolisme microbien. In: Scriban R., Guiraud J.P. (Eds.), Biotechnologie. 5^{ème} Edition complète :Tec et Doc, Paris, pp 229-310.

-(B)-

Basset T, Mareynat S (BnF) et Rock S (C2RMF). (2007). Analyse microbiologique de quatre colles d'amidon de blé. Actualités de la conservation. Numéro 26. pp 9-10.

Belard L. (2007). Nouvelles stratégies d'hydrophobation de matériaux à base d'amidon plastifié. Thèse de Doctorat de chimie de matériaux. Université de Reims Champagne-Ardenne, Faculté des Sciences Technologie Sante, Reims, 196p.

Bocquet J. (1984). Généralité sur les micro-organisme. In: Scriban R. (Eds), Biotechnologie. 2^{ème} Edition complète :Tec et Doc, Paris, pp 13-63.

Botton B, Bretton A, Fevre M, Gauthier S, Guy Ph, Larpent JP, Reymond P, Sanglier JJ, Vayssier Y et Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle.2^{ème} Edition : Masson, Paris, 512p.

Références bibliographiques

Boudih S. (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers. Evaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse de Doctorat en Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement et Santé. Université Paris EST, Faculté des Science de la Vie et de la Santé, paris, 185p.

Bourgeois CM, Mescle JF et Zucca J. (1996). Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et la qualité des aliments. 2^{ème} Edition : Tec & doc Lavoisier, Paris, pp 2-396.

Boursier B. (2005). Amidons natifs et amidons modifiés alimentaires, Techniques de l'Ingénieur.
<http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/additifs-et-adjuvants-alimentaires-42426210/amidons-natifs-et-amidons-modifies-alimentaires-f4690/> (consulté mai 2013).

Bradford MM .(1996).A rapid and sensitive methode for the quantification of microgram quantité of protein utilizing the principale of protein . dye binding Anl. Biochem 72: 248-254.

-(C) -

Cai L et Shi YC.(2010). Structure and digestibility of crystalline short-chain amylose from debranched waxy weat, maxy maize, and waxy potato starches. Carbohydrate polymères 79, 1117-1123.

Chauffaille S. (2011). Durabilité des assemblages collés : aspects mécaniques et physico-chimiques. Thèse de Doctorat de Génie des Procédés .Université Bordeaux I, Faculté des sciences physiques et de l'ingénieur, Bordeaux, 235p.

Conseil Supérieur D'Hygiène Publique de France(C.S.H.P). (2006). Contaminations fongiques en milieux intérieurs,101p.
http://www.cei-france.fr/dbimages/document/fichier/25/Rapport_moisissures.pdf (consulté mai 2013).

-(D)-

Diguta CF. (2010). Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisin. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Alimentation. Université de Bourgogne, Bourgogne, 193p.

-(G)-

Références bibliographiques

Godon B. (1981). Biotransformation des produits céréaliers, Edition : Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp 81-95.

Guiraud JP. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition : Dunod, Paris, pp 98-157 .

-(H)-

Haq UI , Roheena A, Ashraf H et Shah AH . (2002). Isolation and Screening of Fungi for the Biosynthesis of Alpha Amylase. Biotechnology. 1 (2-4), p: 61-66.

-(K)-

Kern G. (1998). Colles et adhésifs. In: Bureau G. et Multon J.L. (Eds). L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation, 2^{ème} Edition : Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp 461-470.

Kern G. (1989). Colles et adhésifs. In: Bureau G. et Multon J.L. (Eds), L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation. Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 315-319.

-(L)-

Lefèvre V et Pingaud N. (1997). Contrôle de la qualité microbiologique de la colle d'amidon de blé. BnF-Professionnels : Actualités de la conservation, numéro 3. pp 3-4.

Leveau JY et Bouix M.(1993).Microbiologie industriel :Les micro-organismes d'intérêt industriel.Edition :Tec & Doc , Paris , 612p

-(M)-

Mishra S et Rai T. (2006). Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. Food Hydrocolloids, 20(5), 557-566.

Molard R. (1991).Microbiologie des céréales et farines. Dans : les industries de première transformation des céréales. Ed :Tec et Doc, p :177-199.

-(N)-

Nguyen MT. (2007). Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale de vietnam- étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Thèse de

Références bibliographiques

Doctorat en Génie des procédés et de l'environnement. Ecole doctorale : Transferts, Dynamique des Fluides, Energétique et Procédés Toulouse, 147p.

Nouadri T. (2011). L' α -amylase de *Penicillium camemberti* PL21: Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation. Thèse de doctorat en Biochimie –Biotechnologies. Université Mentouri -Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Constantine, 160p.

-(P)-

Pannemacker R, Duclaud MD et Lago JC. (2000). Boron- containing aqueous solution particularly for addition to amyloid glue, brevet EP 0811044 B1.

-(R) -

Rivière J. (1975). Les applications industrielles de la microbiologie. 6^{ème} Edition complète : Masson et Cie, Paris, pp175-185.

Roquebert MF. (1997). Les moisissures, nature biologie et contamination.
<http://www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/cours/roqueber.htm#Bibliographie>(consulté mai 2013).

Roquebert MF. (1998). Taxonomie des moisissures. In : Cahagnier B et Molard DR. (Eds), Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés. Edition : Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp 40-84.

-(S)-

Sicard JP. (2002). La chimie de l'amidon. In : Sillion B. (la société française de chimie), la chimie des substances renouvelables, Paris, pp.24-27.

-(T)-

Tabuc C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat en pathologie, mycologie, génétique et nutrition. Université de Bucarest, Institut National Polytechnique de Toulouse, 190 p.

Tara A. (2005). Modification chimique de l'amidon par extrusion réactive. Thèse de doctorat de génie des procédés. Université de Reims Champagne-Ardenne, Faculté des Sciences Exactes et Naturelles, Reims, 230p.

Références bibliographiques

-(Y)-

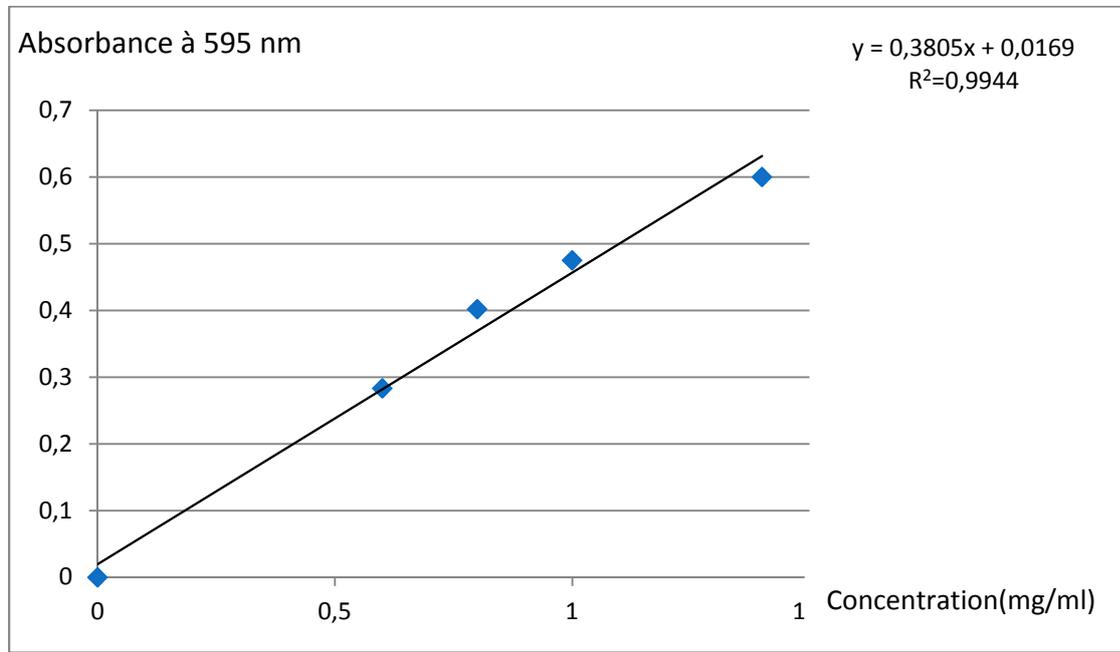
Yua L, Deana K et Lib L. (2006). Polymer blends and composites from renewable resources .Polym. Sci. 31:576–602.



Annexes

Annexe I

- courbe d'étalonnage du dosage des protéines



Annexe II

- Solution de lugol :

Iodine cristallin.....1g
KI.....2g
Eau distillée.....qsp 300 ml

Annexe III

Milieu de culture

- milieu gélose nutritive : PH = 7,2

Extrait de levure30 g
Extrait de viande.....1g
Peptone.....5 g

Nacl.....5g
Agar.....15g
Eau distillée..... qsp 1000 ml

- Malt Extract Agar (MEA) : PH= 7,6

Extrait de malt30 g
Peptone.....5 g
Agar.....15g
Eau distillée..... qsp 1000 ml

- Potao Dexros Agar (PDA) :

Extrait de pomme de terre
Glucose.....20 g
Agar.....20 g
Eau distillée..... qsp 1000 ml

- Sabourraud : PH=6

Glucose.....20 g
Peptone.....10 g
Agar.....15 g
Eau distillée..... qsp 1000 ml

- Milieu d'amidon : PH=7,2

KNO₃.....0,5 g
K₂HPO₄.....1 g
Mgso₄.....0,2 g
Cacl₂.....0,1 g
Fecl₃..... 0,001 g
Amidon soluble.....10 g
Agar.....15 g
Eau distillée..... qsp 1000 ml

Résumé

Cette étude a pour objectif de déterminer les facteurs qui sont à l'origine de la biodégradation de la colle à base d'amidon de maïs fabriqué au niveau de l'unité Générale Emballage d'Akbou.

Les prélèvements ont été effectués sur les matières premières rentrant dans la composition du produit, ainsi que le produit fini à différents stades, lors de sa fabrication, au niveau des machines colleuses et après 3 jours de sa production.

L'isolement est fait sur 3 milieux : EMA, PDA et GN. après sélection des souches à activité amylasique sur milieu à base d'amidon et leur identification, les résultats obtenus montrent la présence dans l'échantillon de colle prélevés après 3 jours de production de deux souches bactériennes à activité amylasique importante appartenant au genres *Bacillus* et *Micrococcus*, et 5 souches fongiques représentant une activité amylasique et appartenant au genres : *penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* et *Alternaria*.

L'analyse des résultats a montré que l'origine de la dégradation provient de certains microorganismes identifiés qui sont issues des matières premières et d'autres sont des contaminants de l'air.

Mots clés : colle, amidon, biodégradation, moisissures, bactérie, amylase.

Abstract

This study aims to determine that the biodegradation of starch based glue manufactured on the level of the unit General Emballage of Akbou.

Sampling has been processed in crude products, in finished product at various stages, during its manufacture, at the gluing machines and after 3 days of production.

Isolation was carried out on mediums: MA, PDA and GN. after selecting and identification of strains amylase activity on starch medium, the results show the presence in the sample of glue collected after 3 days of the production of two bacterial strains belonging to the major amylase activity genera *Bacillus* and *micrococcus*, and five fungal strains representatives an amylase activity and belonging to the genera *penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* and *Fusarium*.

The analysis of the results showed that the origin of degradation comes from certain identified micro-organisms which result from the raw materials and others are contaminants of the air.

Key words: Glue, starch, biodegradation, moulds, bacteria, amylase.

