

Les polysaccharides d'origine bactérienne

Michel Milas

Summary

Bacterial polysaccharides

Bacterial polysaccharides appear since several decades as a new source of biodegradable water soluble polymers besides synthetic ones but also polysaccharides from algae and plants. Their specific properties are often linked to the regularity of their chemical structure which may lead to helical chain conformation in solutions. The presence of a helical conformation increases the stiffness of the chain and in some cases allows gel formation. Consequently these polymers are generally used for their viscous, viscoelastic and gelling properties in aqueous media, in many industrial domains.

Mots-clés

Polysaccharides bactériens, production, propriétés, utilisations.

Key-words

Bacterial polysaccharides, production, properties, uses.

Les polysaccharides bactériens sont biosynthétisés naturellement par de nombreuses bactéries. Ils sont sécrétés soit sous forme d'une capsule fixée à la cellule, soit sous la forme d'une gangue visqueuse en solution. Ce dernier cas est le plus intéressant car la récupération du polysaccharide en est facilitée.

Le rôle biologique de ces polysaccharides n'est pas bien élucidé. Des études montrent que les polysaccharides sont impliqués dans l'adhésion des bactéries sur les surfaces : ils composent le biofilm qui entoure la colonie [1]. L'adhésion et le biofilm permettent aux bactéries de se développer, de capturer leurs nutriments. Le biofilm forme aussi une barrière protectrice contre des ions et composés poisons pour la bactérie et contre la dessiccation. Pour les bactéries, les polysaccharides ne sont pas une réserve de source de carbone, mais d'autres rôles plus spécifiques leur sont aussi attribués [2].

La diversité des structures chimiques, la relative facilité de leur récupération (pour les polysaccharides exocellulaires), et les conditions contrôlées de leur biosynthèse qui assurent des propriétés reproductibles sont des atouts importants dans le développement de ces polysaccharides. Pour des raisons essentiellement de coût, seul un nombre limité de ces polymères, tels que le xanthane, le rhéozane, le gellane, le hyaluronane, le dextrane..., sont produits et commercialisés à l'échelle industrielle. D'autres sont développés pour des applications plus limitées. Parallèlement, de très nombreux polysaccharides bactériens sont décrits dans la littérature, mais pour la plupart d'entre eux, leur structure chimique et leurs propriétés ne sont pas bien définies et leur production reste difficile.

Production et récupération

La production naturelle de polysaccharides par des bactéries est relativement faible et ne peut être compatible avec un développement industriel du polymère. Il est donc nécessaire d'optimiser les conditions de fermentation comme le pH, la température, l'agitation, mais aussi la

composition du milieu de culture (source d'azote, de carbone...). Par exemple, le meilleur rendement est souvent obtenu en présence d'un excès de source de carbone (très souvent du glucose) et lorsque le développement des cellules est limité par un autre élément nutritif comme l'azote, le soufre, le magnésium, le potassium ou le phosphore [3].

Les méthodes utilisées pour récupérer le polysaccharide à partir du moût de culture vont dépendre de la pureté requise, du rendement de la fermentation et de la proportion de biomasse insoluble (débris cellulaires par exemple). Dans certains cas, après un chauffage pour stériliser le milieu, le polysaccharide peut être directement précipité à l'alcool, ce qui entraîne souvent les protéines présentes mais aussi une partie de la biomasse insoluble. Par suite, la poudre contiendra une fraction de composés non polysaccharidiques qui, lors d'une redissolution, rendra la solution trouble. Afin d'obtenir des solutions limpides et plus pures, ce qui est nécessaire dans certaines applications, il convient de clarifier le moût de culture avant la récupération du polysaccharide.

Pour cela, deux méthodes sont généralement utilisées :

- un traitement enzymatique sur le moût de culture pour hydrolyser les protéines et les débris cellulaires ;
- une centrifugation et/ou une filtration pour retirer les insolubles qui peuvent être suivies d'une ultrafiltration pour éliminer les composés de bas poids moléculaire (protéines, sels) et/ou pour concentrer le polysaccharide avant précipitation à l'alcool.

Intérêts et potentialités

L'intérêt des polysaccharides bactériens par rapport à ceux issus de plantes ou d'algues provient souvent :

- d'une biosynthèse en fermenteur qui assure une production et des caractéristiques du polysaccharide régulières ;
- de hautes masses molaires, dues en partie à des conditions relativement douces de récupération ;
- d'une structure chimique régulière qui, dans de nombreux

cas, conduit à la formation d'une conformation hélicoïdale qui rigidifie la chaîne ;

- d'une diversité de structure chimique qui peut conduire à des propriétés intéressantes pour des applications spécifiques en milieu aqueux.

Par contre, leur prix de revient limite souvent leur développement. Les potentialités des polysaccharides bactériens sont très souvent reliées aux caractéristiques décrites précédemment. Par exemple, la majorité des applications industrielles utilise les propriétés de suspension, d'épaississement et de viscoélasticité des solutions aqueuses de ces polymères. Ces propriétés, en absence d'associations interchaînes qui peuvent conduire à la formation d'un réseau (gel) plus ou moins rigide, sont directement reliées au produit entre la concentration C (g/mL) et la viscosité intrinsèque $[\eta]$ (mL/g) du polysaccharide. Plus ce produit $C[\eta]$ est élevé (appelé aussi paramètre de recouvrement), meilleures sont les propriétés citées plus haut [4]. $[\eta]$ augmente avec la masse molaire et la rigidité des chaînes des polymères. Par suite, les plus fortes viscosités et viscoélasticités des solutions, donc aussi des propriétés qui en découlent, seront obtenues à concentrations données en polymère avec les polymères qui auront la plus forte viscosité intrinsèque. Une autre propriété intéressante est la possibilité, pour certains de ces polysaccharides, de former un gel physique en milieu aqueux. Cette propriété est souvent liée à l'existence d'une transition conformationnelle [5], mais elle peut aussi être due à la formation de complexes avec certains ions [6]. Les propriétés rhéologiques et la stabilité de ces gels dépendent du mécanisme de gélification et, le cas échéant, de la stabilité des conformations ordonnées. L'existence du gel et de la conformation ordonnée est dans la majorité des cas corrélée. Par contre, le module élastique du gel dépend peu de la masse molaire du polysaccharide, et cela à partir d'une masse critique de l'ordre de 200 000 g/mol.

Les propriétés rhéologiques des polysaccharides bactériens en milieu aqueux leur permettent de trouver des applications dans l'agriculture, les peintures, teintures, cosmétiques, explosifs, mines, produits phytosanitaires. Dans les industries alimentaires, on retrouve fréquemment les deux polysaccharides bactériens agréés, le xanthane et le gellane, dans diverses formulations pour structurer, stabiliser des sauces, boissons, glaces et sorbets, produits laitiers, yaourt, mousses, crèmes, confitures et gelées, pâtisseries, pâtes, dentifrice. D'autres applications plus spécifiques à certains polysaccharides sont possibles dans les domaines cosmétique, pharmaceutique et médical par exemple.

Exemple parmi les polysaccharides bactériens les plus utilisés [7]

Le xanthane

C'est de loin le polysaccharide bactérien qui a connu le plus fort développement industriel, et cela depuis une trentaine d'années. Sa production à partir de la bactérie *Xantomonas campestris* est importante (de l'ordre de 50 000 t/an). Sa structure chimique est donnée figure 1. L'origine du succès de ce polysaccharide provient :

- d'une fermentation très performante, conversion du D-glucose à plus de 80 % avec, parallèlement, une faible production de cellules bactériennes (inférieure à 5 % en poids du polysaccharide récupéré) ;
- d'une viscosité intrinsèque très élevée (10 000 à 20 000 mL/g) due à une forte masse molaire (4 à 7 millions)

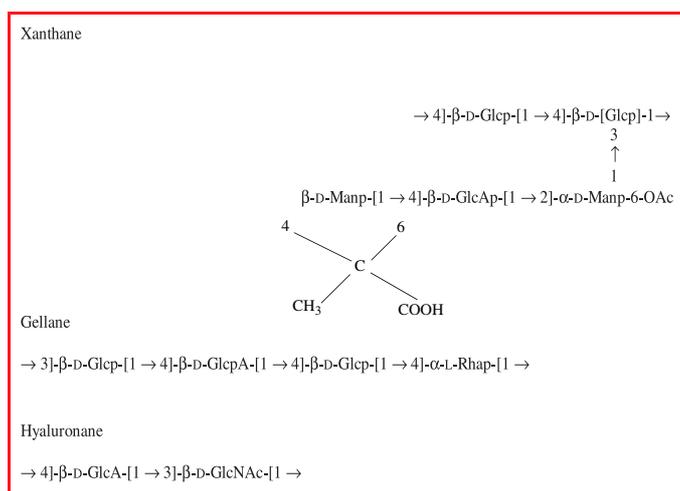


Figure 1 - Structure chimique du xanthane, gellane et hyaluronane.

et à une rigidité des chaînes importante, conséquence de la stabilisation d'une conformation en double hélice qui rend de plus la chaîne peu sensible à la présence d'ions multivalents et à la concentration en sel.

Les solutions aqueuses de xanthane ont donc un fort pouvoir viscosifiant et viscoélastique. De plus, la synergie avec les galactomannanes conduit à la formation d'un gel ; ce qui, indirectement, donne un pouvoir gélifiant à ce polysaccharide. Pour ces caractéristiques, le xanthane est utilisé pour moitié environ dans les industries alimentaires et pour l'autre moitié dans des domaines très variés.

Dans les domaines non alimentaires, le xanthane est pour certaines applications concurrencé par le rhéozane, polysaccharide bactérien connu aussi sous le nom de succinoglycane, qui présente des propriétés voisines, à l'exception de la synergie avec les galactomannanes, mais une stabilité en milieu acide plus importante.

Le gellane

Produit par la bactérie *Pseudomonas elodea*, ce polysaccharide bactérien, après désacylation, forme un gel rigide en présence de faibles concentrations en cations divalents. Sa structure chimique est donnée figure 1. Des mélanges entre la forme native acylée et la forme désacylée permettent de modifier les propriétés rhéologiques et la stabilité du gel. Ce type de mélange est envisagé pour le remplacement de la gélatine dans certaines applications alimentaires. La forme désacylée est utilisée principalement dans les industries alimentaires comme gélifiant, mais aussi sous le nom de Gelrite® comme support de culture microbienne. Il concurrence l'utilisation des agars et de la gélatine dans ces différents domaines.

Le hyaluronane [8-9]

Ce polysaccharide (figure 1) est présent dans une grande variété de tissus (liquide synovial, peau, cordon ombilical, crête de poulet) et est encore en partie extrait de ces tissus. Il est aussi excrété par certaines bactéries (streptocoques), ce qui permet actuellement, par cette voie, une production industrielle plus importante à des coûts moins élevés pour un produit de plus grande pureté. Mais les masses molaires sont sensiblement plus faibles que celles du hyaluronane

obtenu à partir des crêtes de poulet. Ce polymère est utilisé en médecine dans le traitement de la gonarthrose et en ophtamologie. La production par voie bactérienne a permis son développement dans les industries cosmétiques.

Contrairement au xanthane et au gellane, le hyaluronane ne présente pas de transition conformationnelle bien définie. Par contre, ses applications sont essentiellement liées à sa biocompatibilité, aux propriétés viscoélastiques de ses solutions et à son pouvoir hydratant de la peau.

Bien d'autres polysaccharides bactériens, non présentés ici, sont utilisés avec plus ou moins de succès dans les cosmétiques, mais aussi pour des applications plus spécifiques et plus limitées.

Références

- [1] Characklis W.G., McFeters G.A., Marshall K.C., *Biofilms*, Characklis W.G., Marshall K.C. (eds.), Wiley-Interscience Publication, **1989**, p. 195 et 341.
- [2] Glazabrook J., Reed W.J., Reuber T.L., Walker G.C., *Int. J. Biol. Macromol.*, **1990**, *12*, p. 67.
- [3] Sutherland I.W., *Adv. Microb.*, **1982**, *33*, p. 78.
- [4] Milas M., Rinaudo M., Knipper M., Schuppiser J.L., *Macromolecules*, **1990**, *23*, p. 2506.
- [5] Milas M., Shi X., Rinaudo M., *Biopolymers*, **1990**, *30*, p. 451.
- [6] Bozzi L., Milas M., Rinaudo M., *Int. J. Biol. Macromol.*, **1996**, *18*, p. 9 et 83.
- [7] Morris V.J., *Food Polysaccharides and their Applications*, Stephen A.M. (ed.), Marcel Dekker, New York, **1995**.
- [8] Lapcik L., Lapcik Jr. L., de Smedt S., Demeester J., Chabreck P., *Chemical Reviews*, **1998**, *98*, p. 2663.
- [9] Milas M., Rinaudo M., Roure I., Al-Assaf S., Phillips G.O., Williams P.A., *Biopolymers*, **2001**, *59*, p. 191.

Michel Milas

est professeur au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales*.

* Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, CNRS, Université Joseph Fourier de Grenoble, BP 53, 38041 Grenoble cedex 9.
Tél. : 04 76 03 76 24. Fax : 04 76 54 72 03.
E-mail : Michel.Milas@cermav.cnrs.fr

