

A1

**DEMANDE  
DE BREVET D'INVENTION**

⑫

**N° 81 17509**

---

⑤④ Procédé de préparation de L-alanine, mousse de polyéther polyuréthane hydrophile à utiliser et procédé pour sa préparationEUA, 17 septembre 1980, n° 187,939.

⑤① Classification internationale (Int. Cl. <sup>3</sup>). C 07 C 101/08; C 08 G 18/14; C 12 P 13/06  
// C 12 R 1/01.

②② Date de dépôt..... 16 septembre 1981.

③③ ③② ③① Priorité revendiquée : EUA, 17 septembre 1980, n° 187,939

④① Date de la mise à la disposition du  
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 11 du 19-3-1982.

---

⑦① Déposant : Société dite : W. R. GRACE & CO., résidant aux EUA.

⑦② Invention de : Wayne Elliott Swann, Murray Campbell Fusee et Gary Jim Calton.

⑦③ Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Cabinet Z. Weinstein,  
20, av. de Friedland, 75008 Paris.

Dans la présente invention, le terme "aspartate décarboxylase " indique l'acide L-aspartique  $\beta$ -décarboxylase (classification des enzymes N° 4-1-1-12).

Divers procédés de production de L-alanine par la  
5 réaction enzymatique de l'aspartate décarboxylase avec  
l'acide L-aspartique ou ses sels sont connus. Par exemple,  
la L-alanine peut être préparée en mettant en culture un  
micro-organisme produisant l'acide L-aspartique carboxylase  
dans un milieu nutritif et en faisant réagir le bouillon de  
10 culture avec l'acide L-aspartique (publication du brevet  
japonais N° 7560/1971). Alternativement , la L-alanine  
peut être préparée soit en faisant réagir des cellules  
entières contenant l'activité de l'aspartate décarboxylase  
avec du L-aspartate ou en extrayant l'enzyme (par exemple  
15 voir Biochimica et Biophysica Acta , volume 67 (1963)) et  
en faisant réagir avec du L-aspartate. Cependant, la  
L-alanine produite selon ces procédés est inévitablement  
contaminée de l'enzyme , des cellules microbiennes, des  
sources d'aliment du milieu et/ou de protéines. En consé-  
20 quence, afin de préparer de la L-alanine de haute pureté,  
des étapes supplémentaires sont requises pour retirer  
l'enzyme et d'autres agents contaminants de la réaction.  
Fréquemment, quand la réaction est terminée, on fait  
bouillir la solution de la réaction et/ou on l'acidifie  
25 pour précipiter l'enzyme ou le micro-organisme et le  
précipité est retiré par filtration. Ainsi, l'enzyme ou le  
micro-organisme ne peut être utilisé qu'une fois et doit  
être jeté.

Pour surmonter les inconvénients ci-dessus, l'encapsu-  
30 lation des micro-organismes produisant l'aspartate décarboxy-  
lase dans des véhicules polymériques a été suggérée. On  
peut se référer au brevet U.S. N° 3 898 128 qui décrit  
l'encapsulation dans des membranes de polyacrylamide semi-  
perméables. On peut également voir le brevet U.S. N°  
35 3 458 400 décrivant la conversion enzymatique de l'acide  
L-aspartique en L-alanine en utilisant *Pseudomonas dacunhae*  
ou *Achromobacter pestifer*, comme sources de l'aspartate

décarboxylase.

L'encapsulation de micro-organismes dans des mousses de polyuréthane hydrophile a également été suggérée. On peut voir le brevet U.S. N° 3 905 923 (Klug) et la demande de brevet U.S. N° 363 488 (déposée le 21 Mai 1973) au nom de Louis L. Wood et autres intitulée "Preparation and Use of Enzymes Bound to Polyurethane". La liaison des enzymes au polyuréthane est également décrite dans le brevet U.S. N° 3 672 955 (Stanley), en particulier à la colonne 5, lignes 27-35. Des polymères hydrophiles ont également été utilisés comme véhicules pour des produits chimiques, comprenant des bactériostats et des fongicides. On peut se référer au brevet U.S. N° 3 975 350 (Hudgin). On sait également immobiliser des cellules bactériennes dans des polyuréthanes hydrophobes. Voir l'exemple 4 du brevet britannique N° 953 414. L'immobilisation d'un grand nombre d'enzymes dans des polyuréthanes hydrophiles est également décrite dans la demande de brevet U.S. N° 3 849 999 (Hartdegen et autres) déposée le 9 Novembre 1977 et intitulée "Immobilized Biological Material".

D'autres références d'intérêt comprennent Sonomoto et autres (Agric. Biol. Chem., 44(5), 1119-1126, 1980) où des conversions de stéroïdes sont accomplies en utilisant des cellules bactériennes piégées dans des polyuréthanes préparés à partir de prépolymères d'uréthane. Fukui et autres (Biochimie, 1980, 62, 381-386) décrivent l'utilisation d'enzymes immobilisés dans des prépolymères photoréticulables et des prépolymères d'uréthane pour préparer des L-aminoacides. L'immobilisation de cellules bactériennes en utilisant des prépolymères d'uréthane est également décrite. A une récente "Gordon Research Conference" (11-15 Août 1980), l'immobilisation des cellules entières (par exemple E. Coli produites génétiquement contenant de grandes quantités de pénicilline amidase) en utilisant des prépolymères d'uréthane a été discutée. Les systèmes de biotransformation ont également été mentionnés comme "sous-évaluation" pour la préparation de la L-sérine et

du L-tryptophane.

La présente invention concerne une mousse de polyéther polyuréthane hydrophile où au moins 50% en moles des unités d'oxyde d'alcoylène dans les segments de polyéther du  
5 polyuréthane sont de l'oxyde d'éthylène, un micro-organisme produisant l'aspartate décarboxylase étant immobilisé dans cette mousse. La présente invention concerne également un procédé de préparation de la mousse ainsi qu'un procédé d'utilisation de la mousse pour produire de la L-alanine.  
10 De préférence, les segments de polyéther de la mousse contiennent au moins 90% en moles d'unités d'oxyde d'éthylène. Selon la quantité de l'agent réticulant employé, la mousse peut être soit rigide ou flexible. En se basant sur le poids sec du micro-organisme employé, le rapport pondéral  
15 du polymère de polyuréthane aux micro-organismes dans la mousse est de l'ordre de 1:10 à 10:1, et de préférence de l'ordre de 2:1 à 4:1. Avant le mélange de la culture avec le prépolymère, le poids sec des micro-organismes dans la culture peut être déterminé par évaporation de la culture  
20 à siccité à une température appropriée telle que 50°C. Ensuite, lors du mélange d'une culture semblable avec le prépolymère, on a trouvé que 10 à 90% des microorganismes ~~étaient~~ immobilisés dans la mousse.

Dans des mousses fraîchement préparées, on a observé  
25 un certain enlèvement des cellules par lavage, généralement moins d'environ 25% en poids de la culture. En général, l'enlèvement par lavage augmente tandis que la charge de la culture augmente. De même, pendant le mélange, si des "amas" sont présents dans le mélange du fait d'un mélange  
30 incomplet, la quantité d'enlèvement par lavage est accrue. Par le terme "immobilisation", on indique que les micro-organismes sont retenus dans la mousse plutôt que d'en être lixiviés lors d'un contact avec l'eau ou une solution aqueuse d'un substrat. On pense que les micro-organismes  
35 sont encapsulés dans la mousse pour accomplir l'immobilisation. Il est également probable que pendant le processus de formation de mousse, une liaison se produit entre les

groupes isocyanates du prépolymère et les groupes à la surface des micro-organismes, c'est-à-dire les groupes amino.

Les mousses sont préparées en mélangeant une culture  
5 du micro-organisme produisant l'aspartate décarboxylase  
directement avec un prépolymère d'uréthane en présence de  
suffisamment d'eau pour favoriser la formation de mousse.  
Traditionnellement, l'eau est portée dans la culture, en  
effet les cultures appropriées contiennent généralement  
10 de l'ordre de 10 à 90% en poids d'eau, la teneur en eau de  
la culture particulière étant déterminée par évaporation  
d'un échantillon de la culture à siccité comme on l'a  
décrit ci-dessus. Grâce à la présence d'eau, le prépolymère  
subit la formation de mousse et simultanément les micro-  
15 organismes sont immobilisés dans la mousse. Pour optimiser  
l'immobilisation, le pH de la culture aqueuse est compris  
entre 3 et environ 11 et de préférence il est supérieur  
à 7. Pendant l'immobilisation, le rapport pondéral du  
prépolymère/eau est généralement compris entre 2:1 et 1:2  
20 et de préférence entre 3:2 et 2:3, cette eau étant amenée  
par la culture ou par la combinaison de la culture et de  
l'eau ajoutée avant ou pendant le mélange.

A la suite du mélange, la réaction de formation de  
mousse est généralement complétée en 5 à 10 minutes et  
25 la mousse est durcie à sa forme finale rigide ou flexible  
en 5 à 10 minutes supplémentaires. Cependant, avec des  
masses importantes de mousse, il est concevable que les  
temps pour la formation de mousse et le durcissement soient  
considérablement étendus.

30 Les micro-organismes qui produisent l'aspartate décar-  
boxylase qui sont appropriés à une utilisation dans la  
présente invention comprennent, sans limitation, les souches  
de ce qui suit :

Alcaligenes faecalis  
35 Pseudomonas dacunhae  
Clostridium perfringines  
Nocaradia globurela

Desulfovibrio desulfuricans  
Achromobacter pestifer.

Tous les micro-organismes ci-dessus sont publiquement disponibles en des lieux de culture et les souches produisant l'aspartate décarboxylase peuvent être déterminées en consultant un catalogue tel que le catalogue ATCC. Cependant, on notera que la présente invention n'est pas limitée à l'utilisation de ces micro-organismes spécifiques, mais comprend dans son cadre, l'utilisation de tous les micro-organismes produisant l'aspartate décarboxylase.

La L-alanine peut être préparée en mettant la mousse en contact avec l'acide L-aspartique. En général, l'acide L-aspartique est employé sous la forme d'une solution aqueuse à 0,1 à 1,5 molaire ayant un pH de 3 à 7. On peut employer, selon la nécessité, pour obtenir le pH approprié, de l'ammoniaque/acide phosphorique et autres matériaux.

La mousse du micro-organisme immobilisé est mise en contact avec la solution du substrat, et le mélange est incubé à une température de 15 à 60°C tout en agitant, jusqu'à ce que la réaction soit terminée. Quand la réaction est terminée, la mousse est séparée et peut être stockée sous réfrigération pour un usage subséquent. La L-alanine est récupérée du substrat par des procédés traditionnels. Alternativement, la réaction enzymatique peut être accomplie par un procédé en colonne, par exemple sur une base continue. Par exemple, la mousse est introduite dans une colonne à une densité suffisante pour rester perméable à l'écoulement du substrat. La solution du substrat, ayant un pH de 3 à 7 et contenant l'acide L-aspartique, passe à une température de 15 à 60°C et à un débit approprié. Une solution aqueuse contenant de la L-alanine est obtenue comme effluent. Cette solution peut être remise en circulation si on le souhaite. La L-alanine peut être libérée de la solution comme cela est décrit à l'exemple 4. Les prépolymères d'uréthane utiles pour préparer la mousse de polyuréthane sont préparés en coiffant un polyoxyalcoylène polyol avec un excès d'un polyisocyanate, tel que du diisocyanate de toluène. Avant

d'être coiffé le polyol doit avoir un poids moléculaire de l'ordre de 200 à environ 20.000 et de préférence de l'ordre de 600 à environ 6.000. La fonctionnalité hydroxyle du polyol et la fonctionnalité d'isocyanate correspondante à la suite du coiffage est de 2 à environ 8. Si des mousses sont formées à partir de prépolymères ayant une fonctionnalité d'isocyanate de l'ordre de 2, le produit résultant est essentiellement linéaire et n'a pas une résistance à la traction aussi importante que s'il était réticulé. En conséquence, une teneur en hydroxyle supérieure à 2 par molécule est souhaitée. Cela peut être obtenu en utilisant des mélanges de diols avec des triols ou autres polyols de fonctionnalité supérieure, ou des triols ou autres polyols d'ordre supérieur, en eux-mêmes, peuvent être coiffés avec des di- ou polyisocyanates.

On peut citer comme exemples de polyols appropriés (à coiffer des polyisocyanates), (A) des polyols essentiellement linéaires formés par exemple par réaction d'oxyde d'éthylène avec de l'éthylène glycol comme initiateur. Des mélanges d'oxyde d'éthylène avec d'autres oxydes d'alcoylène peuvent être employés tant que le pourcentage molaire de l'oxyde d'éthylène est d'au moins 50%. Si les polyéthers linéaires sont des mélanges d'oxyde d'éthylène avec par exemple de l'oxyde de propylène, le polymère peut être soit statistique ou séquencé et les unités terminales peuvent être de l'oxyéthylène ou de l'oxypropylène. La seconde classe de polyols (B) comprend ceux ayant une fonctionnalité hydroxyle de 3 ou plus. De tels polyols sont couramment formés par réaction d'oxydes d'alcoylène avec un initiateur polyfonctionnel tel que le triméthylolpropane, le pentaérythritol et autres. Pour former le polyol B, l'oxyde d'alcoylène utilisé peut être de l'oxyde d'éthylène ou des mélanges d'oxyde d'éthylène avec d'autres oxydes d'alcoylène. Les polyols utiles peuvent de plus être représentés par (C) des polyols polyfonctionnels linéaires et ramifiés tels qu'indiqués en A et B ci-dessus avec un initiateur ou un agent réticulant. On peut citer

comme exemple spécifique de C, un mélange de polyéthylène glycol (poids moléculaire environ 1.000) avec du triméthylolpropane, du triméthyloléthane ou de la glycérine. On peut faire subséquemment réagir ce mélange avec un polyisocyanate en excès pour produire un prépolymère utile dans l'invention. Alternativement, on peut faire réagir des polyols linéaires ou ramifiés (comme du polyéthylène glycol) séparément avec un polyisocyanate en excès. On peut également faire réagir séparément l'initiateur tel que le triméthylolpropane, avec du polyisocyanate. Subséquemment, les deux matériaux coiffés peuvent être combinés pour former le prépolymère.

Des polyisocyanates et initiateurs appropriés sont indiqués dans le brevet U.S. N° 3 903 232, incorporé ici à titre de référence. Les initiateurs sont généralement des agents réticulants solubles dans l'eau ou dispersibles dans l'eau comme cela est décrit dans le brevet U.S. N° 3 903 232.

#### Préparation du prépolymère A

Le prépolymère A est préparé en mélangeant deux équivalents molaires de polyéthylène glycol ayant un poids moléculaire moyen de 1.000 (PEG - 1.000), et 0,66 équivalent molaire de triméthylolpropane (TMOP). Le mélange est séché à 100-110°C sous une pression de 666,5-2000 N/m<sup>2</sup> pour retirer l'eau. Le mélange séché résultant est lentement ajouté sur une période de l'ordre de 1 heure, à un récipient contenant 5,52 équivalents molaires de diisocyanate de toluène (TDI), tout en agitant le mélange de TDI et du polyol. La température est maintenue à 60°C tout en agitant pendant 3 heures supplémentaires. Alors, une quantité supplémentaire de 0,78 équivalent molaire de TDI est ajoutée, tout en agitant, sur une période de l'ordre de 1 heure tout en maintenant la température à 60°C. Le mélange réactionnel final contient un pourcentage molaire en excès du TDI. Tous les groupes hydroxyles sont coiffés d'isocyanate et il se produit une certaine extension de chaîne du fait de la réticulation des polyols avec le TDI.

Exemple 1

Des cellules d'*Alcaligenes faecalis* (ATCC N° 25094) ont été mélangées à 5 g du prépolymère A. Pour former le mélange, on a employé 8 g de la culture récoltée. Sur une  
5 base de poids sec, la culture contenait 1 g de cellules. Du fait de l'eau dans la culture, une mousse de polyuréthane hydrophile flexible s'est formée, durcissant en environ  
15 minutes. Les cellules ont été encapsulées dans ou liées à la matrice de mousse de polyuréthane.

10 Exemple 2

La mousse préparée à l'exemple 1 a été insérée dans une colonne coiffée à chaque extrémité d'un filtre Millipore. Au fond de la colonne, on a placé 50 g d'acide L-aspartique dans un récipient en contact avec la colonne.  
15 Ensuite, on a fait passer une solution (4 l) de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (40 ml) et Tween 80 (marque de fabrique) (10 ml) ayant un pH ajusté à 10 avec 50% de  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , en contact avec l'acide aspartique, et ensuite vers le haut à travers la colonne. La température de la solution était de l'ordre de 25° et  
20 le débit de l'ordre de 0,67 ml/mn. Pendant les premières 40 heures d'opération, la colonne a donné environ 0,90 mg/ml c'est-à-dire 0,60 mg/mn de L-alanine. Ensuite, à un débit de 0,34 ml/mn, le taux de conversion a été de 1,62 mg/ml et à 0,17 ml/mn, il était de 2,66 mg/ml.

25 L'analyse pour la L-alanine a été effectuée sur un auto-analyseur Technicon en utilisant la L-aminoacide oxydase pour convertir la L-alanine en  $\alpha$ -céto-acide correspondant,  $\text{NH}_3$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ensuite, on a fait réagir le peroxyde avec du 2,4-dichlorophénol et du 4-aminoantipyrène  
30 en présence de peroxydase de raifort. Le produit réactionnel résultant, un colorant de quinoneimine a été lu colorimétriquement à 505 nm.

Exemple 3

35 La mousse particulière préparée à l'exemple 1 a été tassée dans une colonne équipée d'une chemise d'eau. La température a été maintenue à diverses valeurs et on a fait passer le substrat à 0,67 ml/mn. Le substrat se composait

de 500 ml d'eau désionisée contenant 10 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentré et 2,5 ml de Tween 80. Le substrat a été mis en contact avec 53 g d'acide L-aspartique solide à la température ambiante. En passant à travers la colonne, le substrat a été chauffé à 27°C et ensuite refroidi à la température ambiante avant retour à son récipient de récupération contenant l'acide L-aspartique solide en équilibre avec la solution du substrat. Le substrat a été remis continuellement en circulation à partir du récipient de récupération, à travers la colonne et le serpentin de refroidissement pour retourner au récipient de récupération. Le processus ci-dessus a été répété à des températures de 37 et 50°C. On a continué l'essai à 27°C pendant 20 heures, celui à 37°C pendant 72 heures et celui à 50°C pendant environ 24 heures. Les taux de conversion pour la L-alanine, en analysant comme à l'exemple 2 étaient de 112,5 mg/h (à 27°C), 334 mg/h (à 37°C) et 0 mg/h (à 50°C).

#### Exemple 4

On a mélangé 26 g de cellules récoltées de *Pseudomonas dacunhae* (ATCC N° 21192) à 20 g du prépolymère A avec ensuite formation de mousse comme à l'exemple 1. La mousse a été découpée en cubes ayant environ 1 cc de dimension, et a été introduite dans une colonne de 100 cc. Un substrat contenant environ 0,5 équivalent molaire d'acide L-aspartique a passé à travers la colonne. Le pH du substrat était de 5,3 (ajusté avec  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) et 10 mg/l de pyridoxal-5-phosphate étaient également présents ainsi que 2,5 g/l de Tween 80. La colonne fonctionnait à un débit de 0,65 ml/mn pour donner une conversion en L-alanine (analysée comme à l'exemple 2) de 14 à 17 mg/ml. Le substrat ne fut pas remis en circulation, c'est-à-dire que l'essai fut entrepris sur une base de "une passe". Après avoir recueilli 700 cc du substrat, la L-alanine a été isolée en chauffant la solution du substrat à 85°C, en ajustant le pH à 5,5, en refroidissant à 15°C pour précipiter l'acide L-aspartique et la L-alanine en dissolvant ensuite le précipité dans de l'eau désionisée pour former une solution de L-alanine

avec l'acide L-aspartique enlevé par filtration sous forme d'un précipité insoluble. L'eau a été retirée sous vide du filtrat pour donner les cristaux de L-alanine. Le rendement en produit brut était de 151,4 g.

5

Exemple 5

Au bout d'environ 2 semaines d'opération, le substrat utilisé avec la colonne de l'exemple 4 a été changé pour une solution à un équivalent molaire d'acide L-aspartique contenant 125 cc de  $\text{NH}_4\text{OH}$ /litre. Le pH du nouveau substrat a été ajusté à 5,3 en utilisant 60% de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Le débit était de 0,65 ml/mm. Le taux initial de conversion était de l'ordre de 14 mg/ml. Lors du remplacement par un substrat contenant seulement 0,05 mole d'acide L-aspartique/litre, le niveau de conversion était réduit à 4 à 5 mg/ml.

15

Des essais subséquents avec le substrat à un équivalent molaire ont donné des niveaux de conversion de 27 à 32 mg/ml. Lors d'un recyclage, les niveaux de conversion ont atteint 45 mg/ml. Lors de l'addition de pyridoxal-5-phosphate ("P-5-P") (12,5 mg/l), les niveaux de conversion ont atteint en moyenne environ 36 mg/ml. Des essais subséquents sans le pyridoxal-5-phosphate mais avec circulation, ont forcé le niveau de conversion à atteindre 45 mg/ml. Après que la colonne ait fonctionné continuellement pendant environ 45 jours, le niveau de conversion tomba à environ 16 mg/ml. Cependant, la plus grande partie du temps de fonctionnement était sans P-5-P, et on a découvert qu'en ajoutant P-5-P (12,5 mg/ml), le niveau de conversion augmentait à environ 40 mg/ml. Subséquemment, lors du recyclage du même lot du substrat pendant 24 jours, le pH du substrat a augmenté à environ 8,72, indiquant un niveau de conversion de plus de 90%. La solution de l'effluent a été déterminée à la recherche de la L-alanine en utilisant le processus automatisé de l'exemple 2. On a trouvé que 94% de l'acide L-aspartique avaient été convertis en L-alanine.

25

30

R E V E N D I C A T I O N S  
-----

- 1.- Procédé de préparation de L-alanine, caractérisé en ce qu'il consiste à mettre en contact de l'acide L-aspartique avec une mousse de polyéther polyuréthane hydrophile où au moins 50% en moles des unités d'oxyde d'alcoylène dans les segments de polyéther de polyuréthane sont de l'oxyde d'éthylène, un micro-organisme produisant l'aspartate décarboxylase étant immobilisé dans ladite mousse.
- 2.- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le substrat est une solution aqueuse ayant un pH de 3 à 11.
- 3.- Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que la température du substrat est comprise entre 15 et 60°C.
- 4.- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le micro-organisme est *Pseudomonas dacunhae*.
- 5.- Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que le substrat contient du pyridoxal-5-phosphate.
- 6.- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le micro-organisme est *Alcaligenes faecalis*.
- 7.- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est effectué sur une base continue ou une base discontinue.
- 8.- Mousse de polyéther polyuréthane hydrophile, caractérisée en ce qu'au moins 50% en moles des unités d'oxyde d'alcoylène dans les segments de polyéther du polyuréthane sont de l'oxyde d'éthylène, un micro-organisme produisant l'aspartate décarboxylase étant immobilisé dans ladite mousse.
- 9.- Mousse selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'au moins 90% en moles des unités d'oxyde d'alcoylène sont de l'oxyde d'éthylène.
- 10.- Mousse selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle est préparée par réaction d'un prépolymère de

polyéther uréthane hydrophile avec de l'eau dans des conditions de formation de mousse, ladite eau étant mélangée à une culture d'un micro-organisme produisant l'aspartate décarboxylase, et en ce qu'au moins 50% en moles des unités d'alcoylène dans le segment polyéther du prépolymère sont de l'oxyde d'éthylène.

11.- Mousse selon la revendication 10, caractérisée en ce que le prépolymère est un mélange de polyoxyéthylène glycol avec un alcool polyhydrique de faible poids moléculaire, ledit mélange réagissant avec un excès molaire d'un polyisocyanate.

12.- Mousse selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle est rigide.

13.- Mousse selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle est flexible.

14.- Mousse selon la revendication 8, caractérisée en ce que le rapport pondéral, sur une base anhydre, du polymère de polyuréthane à la culture du micro-organisme est compris entre 10:1 et 1:10.

15.- Mousse selon la revendication 8, caractérisée en ce que le micro-organisme est *Pseudomonas dacunhae* ou *Alcaligenes faecalis*.

16.- Procédé de préparation d'une mousse de polyéther polyuréthane hydrophile, caractérisé en ce qu'une culture d'un micro-organisme produisant l'aspartate décarboxylase est mélangée à un prépolymère de polyéther uréthane hydrophile où au moins 50% en moles des unités d'oxyde d'alcoylène dans le segment de polyéther du prépolymère sont de l'oxyde d'éthylène, suffisamment d'eau étant présente dans le mélange pour forcer le prépolymère à subir une formation de mousse pour piéger et immobiliser les cellules microbiennes de la culture.

17.- Procédé selon la revendication 16, caractérisée en ce que la teneur en eau dans la culture est de 10 à 90% en poids.

18.- Procédé selon la revendication 16, caractérisée en ce que le pH du mélange est supérieur à 7.

19.- Procédé selon la revendication 16, caractérisé en ce que, sur une base pondérale, le rapport pondéral prépolymère/culture dans le mélange est de 10:1 à 1:10, le poids de ladite culture étant calculé sur une base sèche.

20.- Procédé selon la revendication 16, caractérisé en ce que le micro-organisme est *Pseudomonas dacunhae* ou *Alcaligenes faecalis*.