

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

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE



Département de Génie de l'Environnement

Laboratoire Des Biotechnologies Environnementales Et Bioprocédés

Mémoire de Master en Génie de l'Environnement

**BIOCONVERSION DES REJETS
AGROALIMENTAIRES**

Présenté par : **BEDJAOUI Rima**

Sous la direction de Mm **N.Abdi** Professeur

Soutenu publiquement Juillet 2017 devant le jury suivant :

Président :	N.MAMERI	Professeur	ENP
Promoteur :	N.ABDI	Professeur	ENP
Examineur :	H.GRIB	Professeur	ENP

Ecole Nationale Polytechnique

10, Avenue Hacen Badi, El-Harrach, Alger

ENP 2017

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

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE



Département de Génie de l'Environnement

Laboratoire Des Biotechnologies Environnementales Et Bioprocédés

Mémoire de Master en Génie de l'Environnement

**BIOCONVERSION DES REJETS
AGROALIMENTAIRES**

Présenté par : **BEDJAOUI Rima**

Sous la direction de Mm **N.Abd**i Professeur

Soutenu publiquement Juillet 2017 devant le jury suivant :

Président :	N.MAMERI	Professeur	ENP
Promoteur :	N.ABDI	Professeur	ENP
Examineur :	H.GRIB	Professeur	ENP

Ecole Nationale Polytechnique

10, Avenue Hacen Badi, El-Harrach, Alger

ENP 2017

ملخص

يولد من الصناعات الزراعية و الغذائية الاطنان من النفايات الصلبة و السائلة في هذه الدراسة نقترح تقنية بيولوجية من اجل القضاء عليها او تثمينها عن طريق الانزيمات او الميكروبات انه التحول البيولوجي للمادة العضوية

كلمات مفتاحيه : نفايات زراعية و غذائية الميكروبات الانزيم التحول البيولوجي قابل للتحلل .

Abstract

The industrial activity of agri-food establishments generates millions of tons of sludge or effluent, as well as tons of organic waste. The raw material used by the agro-food industries is generally of animal or vegetable origin, some of which is unusable in the preparation of food products. For this we propose a biological technique to treat this type of rejection through microorganisms or enzymes, it is bioconversion. Bioconversion can be carried out in two ways; Microbial or enzymatic, it can also be done by both ways with the aim of eliminating or valorising the organic pollution.

Key word: agro-food rejection, microorganism, enzyme, bioconversion, biodegradable.

Résumé

L'activité industrielle des établissements agroalimentaires génère des millions de tonnes de boues ou effluents, ainsi que des tonnes de déchets organiques. La matière première utilisée par les industries agroalimentaires est généralement d'origine animale ou végétale dont une partie est inutilisable lors de la préparation des produits alimentaires. Pour cela nous allons proposer une technique biologique pour traiter ce type de rejet par le biais des microorganismes ou des enzymes, c'est la bioconversion. La bioconversion peut s'effectuer selon deux voie ; microbienne ou enzymatique elle peut se faire aussi par les deux voies dans le but d'éliminer ou de valoriser la pollution organique.

Mot clé : rejet agroalimentaire, microorganisme, enzyme, bioconversion, biodégradable

Dédicaces

A mes très chers parents qui m'ont tout donné par leur grand soutien, leurs encouragements et leurs énormes sacrifices.

A ma famille : Lamia, Salim, Mohamed, Zola, Baki, Drifa, Said et Imene.

A mon binôme : Imene.

A mes amies : Nacera, Khadidja, Narimene, Ichrak, Ahlam, Yousra, Safaa et Insaf.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la volonté pour arriver au bout de ce travail.

Mes remerciements les plus sincères ;

A mes parents à qui je dois une reconnaissance infinie pour leur soutien et leur patience.

A Mme ABDI d'avoir accepté d'être ma promotrice ainsi que pour son suivi durant la réalisation de mon master et sa rigueur dans le travail.

A Mr MAMERI et Mr GRIB pour leur encadrement et leurs conseils éclairés qu'ils m'ont offert durant mon projet.

A mon binôme qui a su m'épauler tout au long de ce travail.

A ma très chère Imene pour la bonne humeur qu'elle m'a procuré durant mes moments difficiles.

Enfin, que toute personne ayant participé à l'élaboration de ce travail puisse trouver l'expression de ma sincère gratitude.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERALE.....	9
1 Généralités sur les rejets agroalimentaires	12
1.1 Définition des rejets agro-alimentaires	11
1.2 Types de polluants rencontrés dans les rejets agroalimentaires	11
1.3 Problématique des rejets agroalimentaires	12
1.4 Les risques liés aux rejets agroalimentaires	13
1.5 Lois et normes liées aux rejets agroalimentaires	13
2 Bioconversion des rejets agroalimentaires	11
2.1 Définition de la bioconversion	17
2.2 Types de bioconversion	17
2.2.1 Synthèse microbiologique	17
2.2.2 Synthèse enzymatique	18
2.3 Fermenteurs et réacteurs enzymatiques	19
2.4 Quelques exemples de bioconversion.....	21
2.4.1 Bioconversion des sucres	21
2.4.2 Bioconversion des acides aminés	21
2.4.3 Bioconversion des stéroïdes	22
2.4.4 Bioconversions des antibiotiques	22
2.5 Bioconversion des rejets agroalimentaires	22
2.5.1 Bioconversion enzymatique et microbienne des margines	22
2.5.2 Bioconversion microbienne des noyaux de datte	27
2.5.3 Bioconversion enzymatique des résidus de fruits (Les tourteaux).....	29
2.5.4 Bioconversion microbienne des drêches de brasserie	30
2.6 Les avantages et les inconvénients de la bioconversion.....	32
2.6.1 Les avantages de la bioconversion	32
2.6.2 Les inconvénients de la bioconversion.....	32
CONCLUSIN GENERALE.....	33
Références bibliographiques.....	34

LISTE DES FIGURES

Figure 1: La répartition des pertes dans la chaîne agroalimentaire	12
Figure 2 : Fermentation alcoolique du glucose	18
Figure 3 : Principe de fonctionnement d'un bioréacteur	19
Figure 4 : Les systèmes de fonctionnement d'un bioréacteur.....	20
Figure 5 : Bioconversion des stéroïdes	22
Figure 6: La DTO en fonction du temps de la margine brute après un traitement biologique	25
Figure 7 : La DTO en fonction du temps de la margine diluée après un traitement biologique	25
Figure 8 : Diagramme de déroulement de la fermentation alcoolique	28
Figure 9 : Schéma simplifiant les étapes de fabrication de l'éthanol	29
Figure 10 : La transformation de l'Amygdaline en glucose	30

LISTE DES TABLEUX

Tableau 1: Lois et normes françaises régissant les rejets de l'IAA	14
Tableau 2: Lois et normes algériennes régissant les rejets de l'IAA	15
Tableau 3: Produits à haute valeur ajoutée obtenue par la bioconversion des margines	27

LISTE DES ABREVIATIONS

ATP	Adénosine-Triphosphate
C	Celsius
CCI	Chambres De Commerce Et Des Industries
CE	Conformité Européenne
COOP	Coopérative Agricole
DBO	Demande Biologique En Oxygène
DCO	Demande Chimique En Oxygène
DTO	Demande Totale En Oxygène
IAA	Industrie Agroalimentaire
LiBH ₄	Borohydrure de lithium
MBP	Biomasse Microbienne Du Produit
MES	Matières En Suspension
MI	Matière Inhibitrice
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
<i>pdh et adh</i>	Alcohol Dehydrogenase
pH	Potentiel D'hydrogène
SCP	Protéine Cellulaire Unique
SSF	Solid State fermentation
T	Température

INTRODUCTION GENERALE

L'activité industrielle des établissements agroalimentaires génère des millions de tonnes de boues ou effluents, ainsi que des tonnes de déchets organiques. La matière première utilisée par les industries agroalimentaires est généralement d'origine animale ou végétale dont une partie est inutilisable lors de la préparation des produits alimentaires. C'est le cas par exemple des fanes, épiluchures, pépins ou noyaux pour les végétaux, et des peaux, carcasses, graisses, plumes, coquilles pour les animaux. Ces produits constituent les déchets organiques. Ils peuvent être destinés à l'abandon mais une grande partie doit être recyclée ou valorisée. Les résidus de fabrication, ainsi que les matières évacuées lors des opérations de nettoyage. Des installations sont également incluses dans ces déchets organiques. Au total, les industries agroalimentaires produisent 93 % du total des déchets organiques de l'ensemble de l'industrie. [Insee de France, 2008]

Le secteur agro-alimentaire se caractérise par sa diversité de par sa taille, le type d'entreprises, la gamme étendue de matières premières et les produits ainsi que les procédés de fabrication. Le secteur est également sujet à des conditions économiques, sociales et environnementales locales diverses, et soumis à des législations nationales voire régionales. Les impacts environnementaux les plus conséquents sont la consommation d'eau, le rejet solides et la consommation d'énergie. Dans les effluents agro alimentaires, la DCO et la DBO sont habituellement élevées et les niveaux peuvent être de 10 à 100 fois supérieures à ceux des eaux usées domestiques. À cet effet, l'élimination de ces derniers est primordiale. Pour se faire, il existe plusieurs filières d'élimination. Dans cette étude bibliographique, nous allons nous étaler sur l'une des filières de traitement biologique, c'est la bioconversion des rejets agroalimentaires que se soit à l'état liquide ou a l'état solide.

Ce travail est composé de deux parties: la première comporte des généralités sur les rejets agroalimentaires et l'aspect réglementaire pour la gestion de ces derniers, la deuxième partie comprend la bioconversion des rejets agroalimentaires, traitant quelques exemples pour la valorisation des déchets organiques; les margines, les noyaux de dattes et enfin les drêches de brasseries tout en expliquant le principe de ce bioprocédé (voie enzymatique et/ou voie microbienne). Enfin une conclusion pour discuter les différents points abordés auparavant.

Généralités sur les rejets agroalimentaires

1.1 Définition des rejets agro-alimentaires

Un rejet agroalimentaire est déchet entièrement ou essentiellement composé de matière organique naturelle (Biomasse) ou synthétique. Il est le plus souvent assez facilement biodégradable (et alors classé parmi les déchet biodégradable et biodéchet), mais il existe des matières organiques, éventuellement synthétiques, peu biodégradables.

Si ce déchet est totalement biodégradable (fermentescible) et non contaminé par des substances toxiques ou indésirables, son recyclage au champ est considéré comme une pratique agro-écologique pouvant contribuer à conserver ou améliorer la fertilité des sols, réduire certains impacts environnementaux, dans le cadre d'une économie « zéro déchet ».

Les rejets organiques sont issus des activités de transformation des produits végétaux et animaux. Généralement ils se caractérisent par une grande hétérogénéité et par leur capacité à subir une fermentation

Quelques exemples de déchets générés par l'industrie agroalimentaire:

- ❖ Industrie de la viande : graisses, sang, os, abats, cuir, poils, plumes..
- ❖ Industrie du poisson: arêtes, peaux...
- ❖ Laiterie, fromagerie: lactosérum, eau de lavage...
- ❖ Sucrierie, distillerie: mélasse, pulpes, marcs, déchets de filtration, effluents...
- ❖ Transformation des oléoprotéagineux: tourteaux, coques...
- ❖ Fruit et légumes: retraits des invendus, effluents de conserverie...

1.2 Types de polluants rencontrés dans les rejets agroalimentaires

Selon la COOP de France, les différentes pollutions qu'on peut retrouver dans ce genre de rejets:

-Pollution organique Matières oxydables (DBO et DCO) : L'essentiel des rejets des industries agroalimentaires, facilement biodégradable, caractérisée par des rapports $DCO/DBO_5 < 2$. (Si le rapport DCO / DBO_5 est inférieur à 3, on peut dire que l'effluent est facilement biodégradable, un traitement biologique devant être capable d'éliminer l'essentiel de la pollution)[CCI de Paris].

-Pollution particulaire Matières en suspensions (MES) : Elles sont issues par exemple du lavage de légumes.

-Pollution chimique ou toxique Matières inhibitrices (Mi)

-Pollution thermique: Température des rejets (> 30°C)

-Pollution microbiologique : Qui a une tendance générale à l'acidification et à la fermentation rapides.

1.3 Problématique des rejets agroalimentaires

D'après Celine Agromedia, journaliste dans un magazine agroalimentaire français le gaspillage alimentaire est une problématique aujourd'hui incontournable, à la fois pour les consommateurs, les producteurs et les industriels. Sur l'ensemble de la chaîne alimentaire, les pertes se répartissent de la manière suivante :

- 6 % interviennent sur les marchés
- 11 % dans la distribution
- 15 % dans la restauration hors foyer
- 66 % proviennent des ménages
- 2% des industries alimentaires

La figure suivante résume l'origine des pertes dans la chaîne alimentaire :

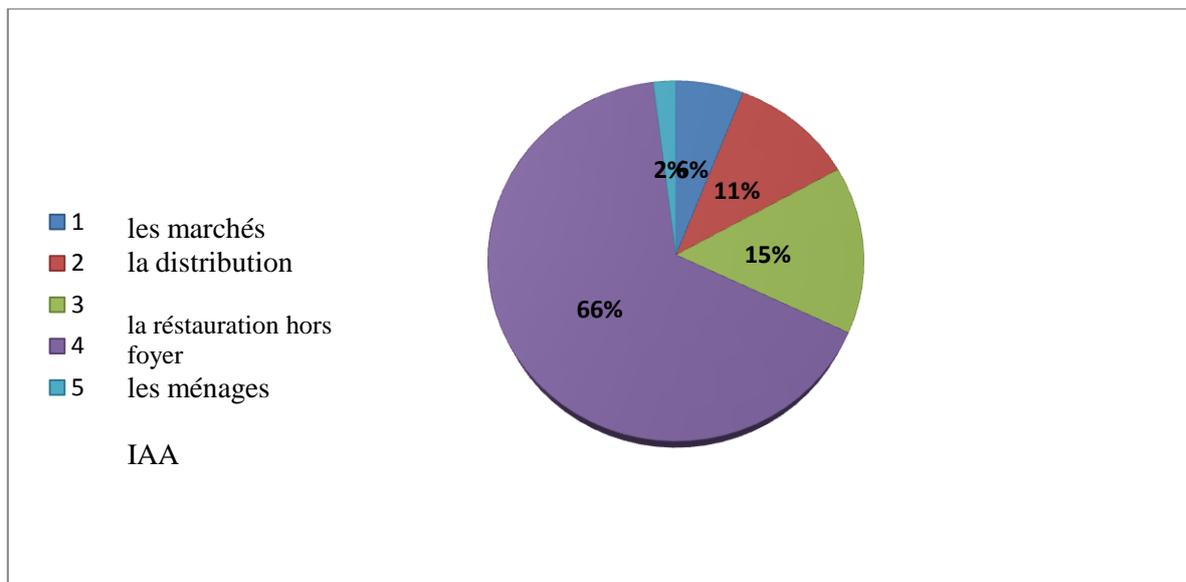


Figure 1: La répartition des pertes dans la chaîne agroalimentaire

Les industriels du secteur agroalimentaire ne sont donc pas, directement, les premiers responsables du gaspillage alimentaire. L'optimisation de leurs procédés de fabrication et la valorisation de leurs coproduits leur permettent de réduire leur quantité de déchets. Cependant, les IAA produisent tout de même chaque année des tonnes de déchets et doivent donc contribuer à l'effort de réduction.

1.4 Les risques liés aux rejets agroalimentaires

Selon l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie, les risques liés aux rejets agroalimentaires se répartissent de la manière suivante:

- Hors des filières d'élimination appropriées, les déchets à risque infectieux peuvent menacer la santé publique.
- Mal stockés, les déchets organiques peuvent créer des nuisances pour le voisinage (odeurs).
- Déversés à l'égout, les déchets organiques peuvent colmater les réseaux d'assainissement, perturber les installations de traitement des eaux ou dégrader les milieux aquatiques.
- L'épandage mal contrôlé peut détériorer les sols et polluer les eaux

Une élimination des déchets conforme à la réglementation permet de minimiser ces risques et ces impacts.

1.5 Lois et normes liées aux rejets agroalimentaires

À l'échelle mondiale, plus précisément en Europe il existe plusieurs lois régissant les rejets issus de l'industrie agroalimentaire. Le tableau suivant récapitule quelques normes françaises qui contribuent à la gestion de ces derniers.

Tableau 1: Lois et normes françaises régissant les rejets de l'IAA**[La Chambre de Commerce et d'Industrie de région Paris Île-de-France]**

Article/Décret	Le contenu
Article L.541-2 du code de l'environnement	Faisant obligation au producteur ou au détenteur de déchets d'en assurer ou d'en faire assurer l'élimination dans des conditions satisfaisantes pour l'environnement.
Article L.541-2 du code de l'environnement- Décret n°97 - 1133 du 8 décembre 1997, relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées (arrêté d'application adopté le 8 janvier 1998).	Selon ce décret, les boues d'épuration constituent un déchet au sens de la loi du 15 juillet 1975 sur les déchets. Ce décret précise qu'elles ne peuvent être épandues sur les terres agricoles que si elles présentent un intérêt pour l'alimentation des cultures.
Décret n°2002-631 du 25 avril 2002, relatif à la qualification des exploitations agricoles au titre de l'agriculture raisonnée.	Dans ce décret, les engagements pris par les agriculteurs sont, notamment, le respect des exigences minimales des textes réglementaires (sur les déchets, sur la limitation en azote organique en zones vulnérables), mais aussi relatifs à des bonnes pratiques, menées par des agriculteurs respectueux de l'environnement.
Le règlement (CE) JO n° L 273 du 10/10/2002 du 3 octobre 2002	établit les règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine.
Décret n° 2007-358 du 19 mars 2007	relatif à la dissémination volontaire à toute autre fin que la mise sur le marché de produits composés en tout ou partie d'organismes génétiquement modifiés (version consolidée au 08 décembre 2008). NOR : AGRG0700644D

A l'échelle nationale il existe des décrets régissant la gestion des déchets issus de l'IAA, des taxes imposées par la loi algérienne, le tableau suivant les récapitule:

Tableau 2: Lois et normes algériennes régissant les rejets de l'IAA

[Journal officiel de la République algérienne démocratique]

Décret/Article	Le contenu
la loi n° 01-19 du 27 Ramadhan 1422 correspondant au 12 décembre 2001	Elle est relative à la gestion, au contrôle et à l'élimination des déchets
le décret exécutif n° 93-160 du 10 juillet 1993	réglemente les rejets d'effluents liquides industriels
Article 2 de la loi n°01-19 du 27 Ramadhan 1422 correspondant au 12 décembre 2001	<p>La gestion, le contrôle et l'élimination des déchets reposent sur les principes suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> -la prévention et la réduction de la production et de la nocivité des déchets à la source. -l'organisation du tri, de la collecte, du transport, et du traitement des déchets. -la valorisation des déchets par leur réemploi, leur recyclage ou toute autre action visant à obtenir, à partir de ces déchets des matériaux réutilisables ou de l'énergie. -le traitement rationnel des déchets. -l'information et la sensibilisation des citoyens sur les risques présentés par les déchets et leur impact sur la santé et l'environnement, ainsi que pour les mesures pour prévenir, réduire ou compenser ces risques.
Article 6 de la loi n°01-19 du 27 Ramadhan 1422 correspondant au 12 décembre 2001	Tout générateur et/ou détenteur de déchets doit prendre les mesures nécessaires pour éviter autant que faire se peut la production de déchets.

Bioconversion des rejets agroalimentaires

2.1 Définition de la bioconversion

La bioconversion est la transformation de la matière organique en métabolite plus simple grâce à l'action des microorganismes ou d'un système enzymatique. Les bioconversions sont réalisées soit au moyen d'enzymes libres ou fixées, soit au moyen de cellules entières libres ou fixées. L'immobilisation des cellules ou des enzymes permet leur réutilisation, le microorganisme joue le rôle d'un complexe enzymatique. L'intérêt des bioconversions réside dans le fait que les transformations catalysées s'effectuent dans des conditions expérimentales (pH et température) douces et que les molécules sont modifiées de façon spécifique et le plus souvent sans réactions secondaires [N.HAICHOIR, 2011].

2.2 Types de bioconversion

La bioconversion peut se faire par le biais soit des microorganismes ou un système enzymatique :

2.2.1 Synthèse microbiologique

Ce mode de production appelé aussi « fermentation », fait appel à l'emploi des bactéries ou des champignons cultivés en présence du réactif choisi comme précurseur de la molécule à synthétiser. Ce type de réactions biologiques est relativement facile à mettre en œuvre. La culture envisagée peut être améliorée par l'optimisation des souches et des conditions expérimentales. Les processus de bio-production mettent en jeu des réactions diverses telles que l'hydroxylation, l'oxydation, la réduction, l'hydrolyse, l'estérification, la décarboxylation, la méthylation, la condensation et l'isomérisation. [Manel HAMZA KARRAY, 2013]

Si les microorganismes utilisés restent associés aux restes du résidu organique utilisé comme substrat, nous appelons le produit 'biomasse microbienne du produit (MBP). Si les microorganismes sont récoltés et séparés du substrat, on se réfère au produit en tant que protéine cellulaire unique (SCP). La composition des SCP se compare avantageusement aux microorganismes sur lesquels ils sont cultivés.

Au cours de cette bioconversion une partie de ces microorganismes utilisent leurs énergies pour l'accumulation de la matière organique et l'autre partie de microorganismes utilisent leurs énergies pour la synthèse cellulaire (la reproduction).

Les cultures mixtes de microorganismes sont habituellement impliquées dans la transformation des résidus organiques, mais il existe des cas où des cultures de bactéries, de

levures, de moules ou de préparations enzymatiques peuvent être utilisées pour le traitement de ces matériaux.

Les réactions de bio-production ont été appliquées pour la production de plusieurs types de produits en particulier les arômes et les antioxydants aromatiques. [Henry-Eric Spinnler, 10 nov. 2009]

L'exemple typique pour la production d'arôme réside dans la synthèse de la vanille. Plusieurs études ont montré que certaines bactéries (*Pseudomonas putida*, *Streptomyces setonii*, *Amycolatopsis*...) et certains champignons (*Pycnoporus cinnabarinus*, *Aspergillus niger*, ...) sont capables de convertir l'acide férulique en vanilline [Marcel Asther 2 juillet 1997].

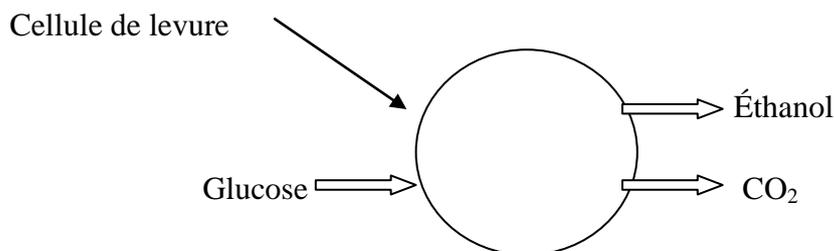


Figure 2 : Fermentation alcoolique du glucose

2.2.2 Synthèse enzymatique

Cette méthode met en jeu des enzymes purifiées. Le choix de la nature d'enzyme dépend des structures chimiques du composé précurseur et du produit à synthétiser. C'est ainsi que pour produire un ortho-diphénol il convient d'utiliser une monooxygénase, par ailleurs, en partant d'un précurseur dépourvu de groupement hydroxyle, il est nécessaire d'employer une dioxygénase. Ce type de réactions de bioconversion nécessite l'utilisation de cofacteur tels que : NADH, NADPH et ATP (Sayadi et al, 2000). Sur le plan pratique, les réactions de bioconversion utilisant des cellules (en croissance stationnaire) semblent être plus intéressantes que celles mettant en jeu des enzymes purifiées. Par ailleurs, la régénération des cofacteurs constitue généralement un handicap à l'utilisation de nombreuses enzymes.

2.3 Fermenteurs et réacteurs enzymatiques

Ce sont des cuves ou enceintes en verre (pour les modèles de laboratoire) ou en acier inoxydable. Ils sont pourvus pour réaliser des réactions enzymatiques (réacteurs enzymatiques) ou des réactions à cellules (fermenteurs ou cytoculteurs). Les réacteurs biologiques sont aussi appelés bioréacteurs. Le bioréacteur permet de contrôler les conditions de culture (température, pH, aération, etc.), et de par ce fait, il permet de récolter des informations de plus grande fiabilité. Les bioréacteurs industriels permettent la fabrication de nombreux produits : bière, yaourts, vaccins, antibiotiques, anticorps, vitamines, acides organiques ...

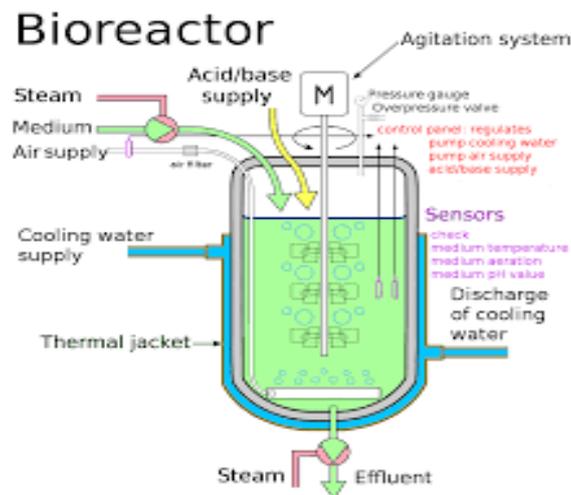


Figure 3 : Principe de fonctionnement d'un bioréacteur [Mahima Verma, 2016]

Il existe 3 types d'alimentation des bioréacteurs :

- Le premier système de fermentation appelé fermentation batch ou discontinue :

Le fermenteur est un système clos, fermé. Au temps zéro de la fermentation, la solution de nutriment stérile est inoculée avec des microorganismes (bactéries, levures). L'incubation se réalise dans des conditions d'agitation, de température, de pression partielle en oxygène et de régulation de pH.

Au cours de l'incubation, la quantité de micro organismes dans le fermenteur, la concentration en biomasse, en substrat et en produit varie constamment, conséquence du métabolisme microbien.

On peut observer 4 phases de croissances:

- ❖ une phase de latence
- ❖ une phase exponentielle de croissance

- ❖ une phase stationnaire
- ❖ une phase de mortalité
- Le deuxième système de fermentation appelé fermentation Fed batch ou batch alimenté :

Le substrat est apporté au fur et à mesure de sa consommation par les microorganismes. Ce système est employé dans la production de la pénicilline. En effet, celle-ci est soumise à une répression catabolique lors de la présence d'une forte concentration de substrat carboné (le glucose). On procède à l'ajout du substrat au fur et à mesure de sa consommation afin d'éviter l'accumulation de substrat dans la réaction.

- Le troisième système de fermentation appelé fermentation continue ou système ouvert:

La solution de nutriment est apportée en continue au réacteur mais une quantité équivalente de solution fermentée est prélevée. Le volume est donc constant.

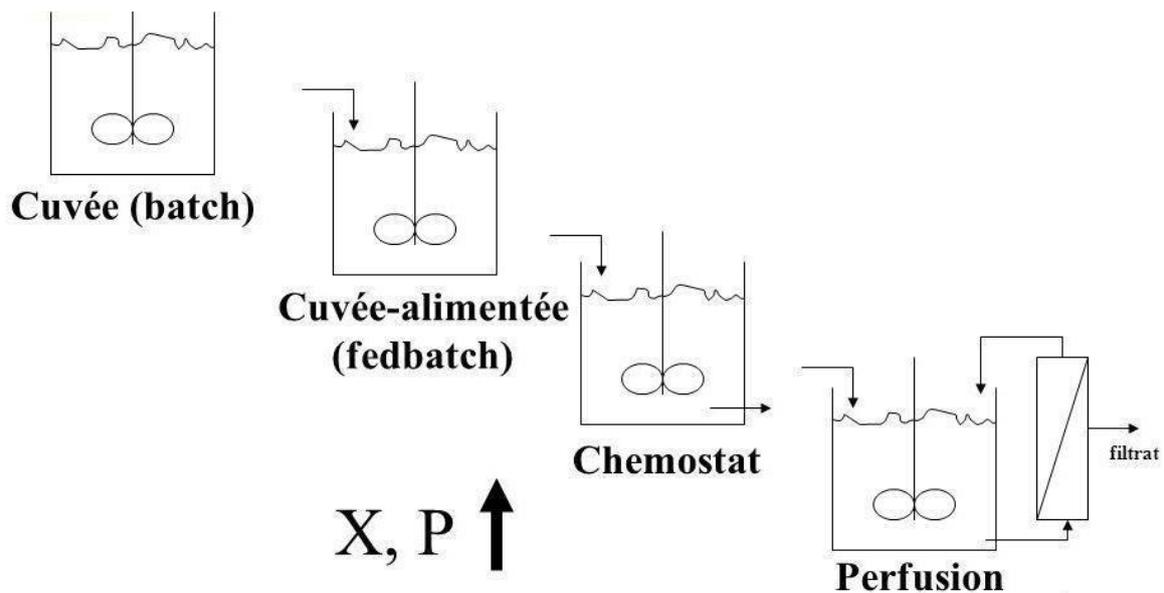


Figure 4 : Les systèmes de fonctionnement d'un bioréacteur [cours de JF.Perrin 2015]

On distingue 2 grands types de fermenteurs continus :

- ❖ Le réacteur à écoulement piston.
- ❖ Le réacteur infiniment mélangé.

Les procédés de bioconversion comportent au moins une étape mettant en jeu des micro-organismes ou des enzymes :

- lorsque cette étape fait appel à des micro-organismes qui se développent en consommant une partie d'un réactif appelé substrat et en transformant l'autre en divers produits, le réacteur employé est un fermenteur ;
- si cette étape est une réaction biochimique catalysée par des enzymes transformant un substrat en produit, elle est réalisée dans un réacteur enzymatique.

La différence entre un réacteur microbiologique et enzymatique

Il est courants de faire une distinction entre fermenteurs et réacteurs enzymatiques, car les premiers mettent en jeu de la matière vivante et doivent souvent fonctionner en conditions stériles.

Les technologies de construction de ces deux types de réacteurs sont donc différentes; en effet, les fermenteurs nécessitent l'emploi de matériaux résistant à la stérilisation par la chaleur et doivent être absolument étanches.

Cette distinction technologique masque, cependant, la similitude des phénomènes mis en jeu dans les réacteurs enzymatiques et les fermenteurs.

2.4 Quelques exemples de bioconversion

2.4.1 Bioconversion des sucres

Production de fructose : le fructose est un sucre possédant des qualités diététiques et industrielles intéressantes (faible cariogénicité, non insulino-dépendant, pouvoir sucrant plus élevé que celui du glucose, faible aptitude à la cristallisation...). De plus, les sirops à haute teneur en fructose sont indispensables à de nombreuses industries alimentaires. Le fructose peut être obtenu par conversion du glucose sous l'action du glucose isomérase. Il est aussi obtenu par hydrolyse de l'inuline par des inulinases. L'invertase agit sur le saccharose et produit aussi du fructose. Ces bioconversions sont réalisées par des enzymes ou des cellules libres ou immobilisées.

2.4.2 Bioconversion des acides aminés

Les bioconversions conduisant aux acides aminés combinent la synthèse chimique d'un ou plusieurs précurseurs au moyen d'un système enzymatique microbien.

2.4.3 Bioconversion des stéroïdes

Il s'agit d'un domaine (chimie pharmaceutique) où les applications des bioconversions sont très nombreuses. Il y a différents types : oxydation, réduction, hydrolyse, réactions de condensation, introduction d'hétérofonctions, isomérisation, formation de nouvelles liaisons C-C.

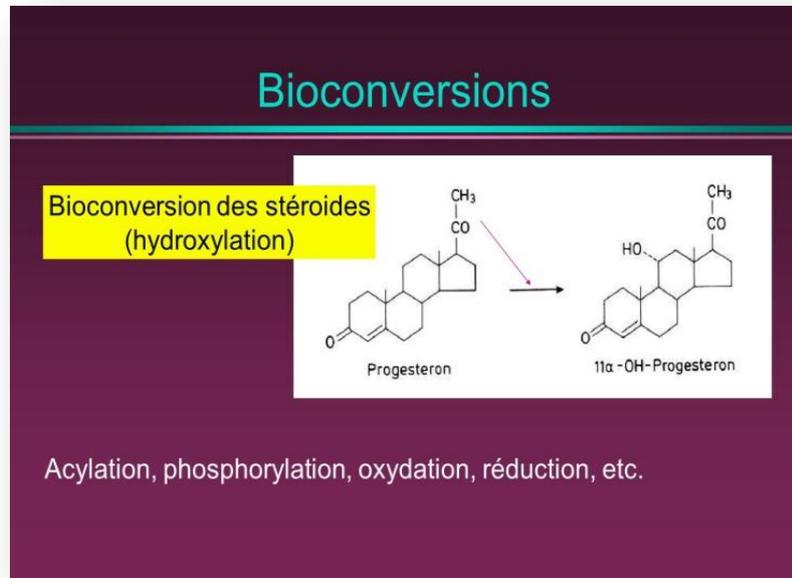


Figure 5 : Bioconversion des stéroïdes [Veronica RODRIGUEZ *et al*]

2.4.4 Bioconversions des antibiotiques

Un grand nombre d'antibiotiques peuvent être modifiés par des microorganismes. Ces transformations ont un grand intérêt car elles permettent d'essayer d'apporter une solution au développement de la résistance à de nombreux antibiotiques anciens (β -lactames et antibiotiques aminoglycosidiques). Ces biotransformations soit par les cellules libres, soit par les enzymes ou les cellules immobilisées. Il existe 11 types de ces réactions : hydrolyse ou désacylation, acylation, phosphorylation, nucléotidylation (adénylylation), oxydation, réduction, amination ou désamination, glycosidation, méthylation ou déméthylation, isomérisation, hydratation.

2.5 Bioconversion des rejets agroalimentaires

2.5.1 Bioconversion enzymatique et microbienne des margines

L'industrie oléicole produit principalement l'huile d'olive vierge et l'huile de grignon (huile secondaire extraite par des solvants organiques) et engendre deux résidus l'un liquide

(margines) et l'autre solide (grignons). Les olives contiennent environ 20% d'huile, 30% de grignons et 50% d'eau de végétation (Hamdi et al, 1992). Les grignons sont réutilisés en agriculture et en industries, alors que les margines sont rejetées directement dans les égouts. Les margines sont composées de 40 à 50% de l'eau végétal qui provient du fruit (olive) et le reste de l'eau de fabrication ajoutée lors du processus de trituration (Di-Giovacchino, 1996).

Les margines constituent une source d'inquiétude. Elles créent d'importantes nuisances et perturbations du milieu récepteur. Ces effluents sont acides et extrêmement chargés en matières organiques qui contiennent essentiellement des composés phénoliques provenant de la pulpe d'olive. La composition des margines a été étudiée par plusieurs chercheurs et comporte approximativement 83 à 94% d'eau, 4 à 16% de matières organiques et 0,4 à 2,5% de substances minérales [Ranalli, 1991].

La caractérisation physico-chimique des margines est généralement tributaire des techniques et des systèmes retenus pour l'extraction d'huiles d'olives et diffère d'un pays à l'autre. En général, les margines présentent une composition chimique très complexe et hétérogène. De ce fait, le rejet de ces effluents dans les rivières et les égouts sans aucun traitement préalable pose de sérieux problèmes pour le système aquatique (Sayadi et al, 2000). Leur effet nocif dérive en grande partie de leur contenu en composés phénoliques qui peuvent inhiber la croissance des microorganismes, spécialement les bactéries (Capasso et al, 1995), ce qui diminue la décomposition biologique naturelle. Ces considérations ont conduits les chercheurs à penser pour traiter ces effluents avant leurs rejets dans la nature et même leurs valorisations par la production des phénols et leur bioconversion en additifs agroalimentaire

2.5.1.1 Bioconversion enzymatique

Un des moyen de valorisation des margines par voie enzymatique est la synthèse de l'hydroxytyrosol :

La première procédure de synthèse de l'hydroxytyrosol est une méthode basée sur la réduction de l'acide 3,4- dihydroxyphenylacétique en présence du catalyseur LiBH₄ (Verhe et al, 1992). L'hydroxytyrosol naturel est récupéré par une purification à partir des margines (Capasso et al, 1999). Espin et al., (2001) ont discuté la production de cette molécule en utilisant la tyrosinase de champignon comme un biocatalyseur et l'acide ascorbique comme un agent réducteur.

D'autres méthodes enzymatiques sont aussi décrites, et qui sont basés sur l'hydrolyse de l'oleuropéine par la α -glucosidase et la déstabilisation de la structure aglycone sous des conditions de température et de pH bien définies (Briante et al., 2001). Les stratégies biologiques ont ouvert une voie de bioconversion utilisant l'ensemble des cellules pour la production de l'hydroxytyrosol (Allouche et al., 2004 b ; Bouallagui et Sayadi 2006).

Vu l'intérêt majeur de l'hydroxytyrosol, plusieurs études ont été intéressé à l'élaboration de procédés économiques viables pour la production de cet ortho-diphénol à partir des margines (Allouche et al., 2004 a). Beaucoup de procédés de production de l'hydroxytyrosol à partir des margines ont été brevetés. Parmi ces derniers, figurent essentiellement ceux de Crea (2002) et (2003). Dans ces études, les margines sont acidifiées à pH 2 pour empêcher les phénomènes de fermentation et stabiliser ainsi les structures phénoliques. Après cette acidification, elles sont stockées à température ambiante pendant au moins deux mois pour favoriser la conversion de l'oleuropéine en hydroxytyrosol.

2.5.1.2 Bioconversion microbienne

Les traitements biologiques des margines font recours à des microorganismes (bactéries et champignons) pour oxyder et dégrader la matière organique polluante en métabolites simple comme le dioxyde de carbone (CO₂), le méthane (CH₄) et des composés aliphatiques.

- **Traitement aérobie**

La bio-oxydation aérobie consiste à utiliser la matière organique (généralement soluble) comme source de carbone et d'énergie pour des microorganismes en présence d'oxygène dissous. L'importante énergie libérée est utilisée par les microorganismes pour leur croissance et leur maintenance ce qui se traduit par une production de biomasse importante. Il existe de nombreuses configurations technologiques pour les traitements aérobics. Le procédé des boues activées tend à être exploité de plus en plus largement pour les traitements des effluents issus des IAA.

A cause de leurs effets antibactériens, les composés phénoliques sont les principaux inconvénients pour les traitements biologiques des margines. Pour résoudre ce problème, plusieurs travaux ont étudié l'utilisation des microorganismes capables de croître en aérobose sur les margines diluées dans le bût de réduire les charges organiques initiales et la concentration des polyphénols (Borja et al, 1992; Yesilada et al, 1998). D'après Balice et al.

(1988), le traitement direct des margines par les boues activées nécessite leur dilution 70 fois par l'eau de robinet pour éviter l'inhibition par les composés phénoliques.

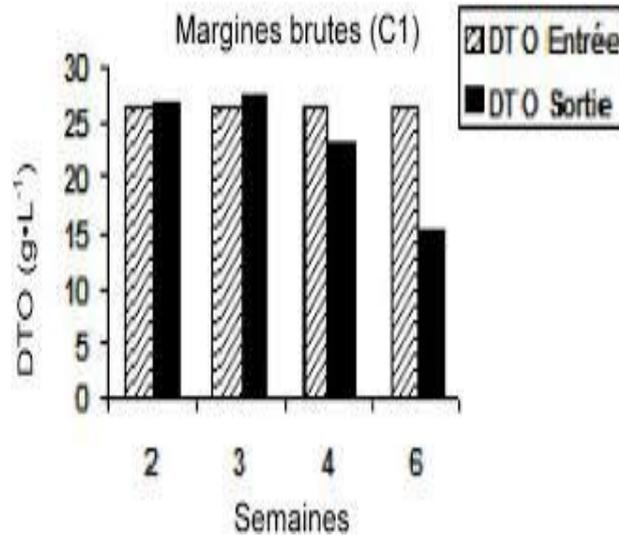


Figure 6: La DTO en fonction du temps de la marge brute après un traitement biologique [Balice et al]

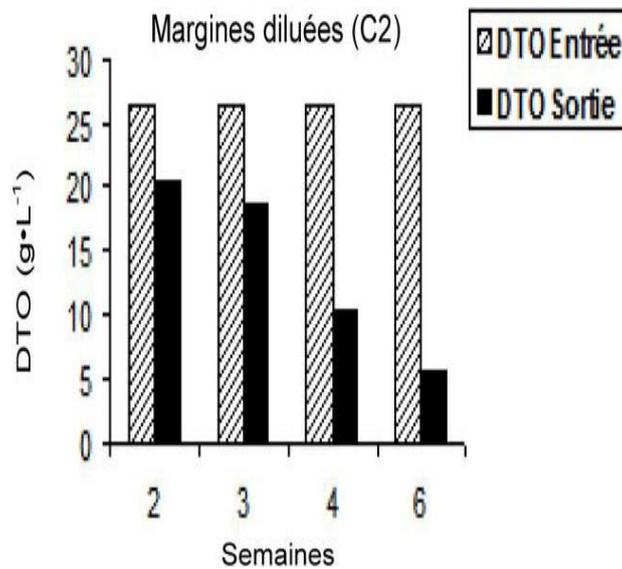


Figure 7 : La DTO en fonction du temps de la marge diluée après un traitement biologique [Balice et al]

- **Traitement anaérobie**

Les deux principaux avantages qui ont concouru au succès des procédés anaérobies sont:

La réduction de la consommation d'énergie et la faible production de boue. La forte charge en matière organique et le caractère saisonnier mettent aussi en faveur l'épuration des margines par la digestion anaérobie. Cependant, le traitement anaérobie de ces effluents bruts s'est avéré non envisageable à cause de l'inhibition de la méthanisation observée par plusieurs configurations de réacteurs.

La présence des substances inhibitrices essentiellement les polyphénols et les lipides dans les margines diminue toujours la viabilité économique de ce processus (Hamdi, et al, 1993; Gharsallah et al, 1999).

Un des moyens de valorisation des margines par voie microbienne (aérobie) est la production des enzymes pectinolytiques:

La croissance de *Cryptococcus albidus* sur les margines dans un réacteur agité pendant 48 h permet d'éliminer en moyenne 75 % de la DBO₅ avec une production de pectinases. La production enzymatique est importante après élimination des polyphénols par floculation-sédimentation. Le concentré d'enzymes récupéré après ultrafiltration est directement utilisé dans l'extraction d'huile d'olive, améliorant ainsi significativement le rendement d'huile de 84,3 à 90,7 % (Petruccioli et al, 1988).

Le processus de bioconversion biologique des margines mène à de panoplies de produits à hautes valeurs ajoutées à travers des fermentations submergées liquides et/ou des fermentations à l'état solide (Solid State fermentation « SSF »). Ces idées ont intéressé plusieurs laboratoires de recherche. Comme le montre le tableau 2, différentes recherches ont été effectués durant ces dernières années.

Tableau 3: Produits à haute valeur ajoutée obtenue par la bioconversion des margines
[Balice et al]

Résidus	Description processus/ Biocatalyse	Produits	Références
Margine	Clostridium spp	Butanol (2.8-8 g/L)	Wahner et al., 1988
Margine	Arthobacter spp	Acide Indolacétique.	Tomati et al., 1990
Margine	Pseudomonas aeruginosa	Biosurfactant : rhamnolipid	Mercade et Manresa(1994)
Margine	Propionibacterium shermanii dans le margine prédigéré par Aspergillus niger	Vitamin B12	Munoz, 1998
Margine	Escherichia coli P-260 Recombinante par l'expression de l'enzyme 4-HPA hydrolase de Klebsiella pneumoniae	Pigments Synthétiques, colorants, alcaloïdes et polymères avec la structure de base est un quinone	Martin et al., 1998

2.5.2 Bioconversion microbienne des noyaux de dattes

Aujourd'hui grâce aux procédés biotechnologiques, il est possible de valoriser les dattes communes de faible valeur marchande et de mettre sur le marché local et international, une nouvelle génération de produits à hautes valeurs ajoutées tel que le bioéthanol. L'éthanol, produit à partir de matières ainsi biologiques renouvelables, demeure la principale source d'énergie dans les transports sachant que c'est un carburant dont la combustion est plus propre que celle de l'essence ou du diesel. La levure de boulangerie sèche, *Saccharomyces cerevisiae* est utilisée dans cette bioconversion. Elle doit être conservée dans un endroit frais et sec. Cette souche est utilisée pour la production d'éthanol. Après lavage, l'imbibition des dattes est faite à l'aide d'une eau chaude (90 à 95 °C) afin de faciliter le dénoyautage. Le

broyage des pulpes est effectué par la suite. L'eau d'imbibition riche en sucre sera utilisée comme eau de dilution du moût.

Procédé de la fermentation alcoolique : ce procédé nécessite une température de 30°C, la fermentation est conduite en anaérobiose pendant 72 heures [F. Kaidi et A. Touzi]. Toutefois, la fermentation est favorisée par une agitation due au mouvement des bulles du CO₂ dégagé. A la fin de la fermentation, le vin de dattes obtenu est distillé afin d'extraire l'éthanol. La température de distillation est de l'ordre de 78 °C[F. Kaidi et A. Touzi].

La figure 13, représente le diagramme des différentes étapes de fabrication de l'éthanol

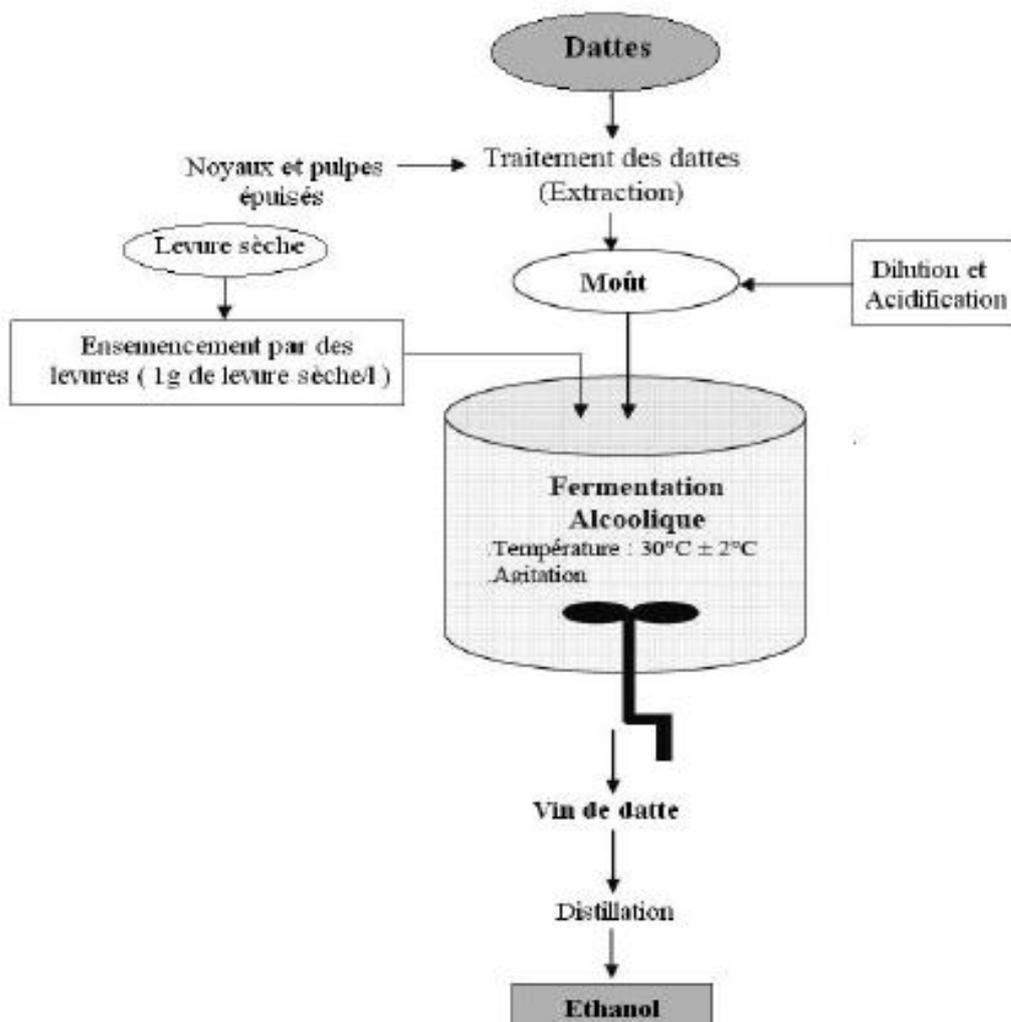


Figure 8 : Diagramme de déroulement de la fermentation alcoolique [F. Kaidi et A. Touzi]

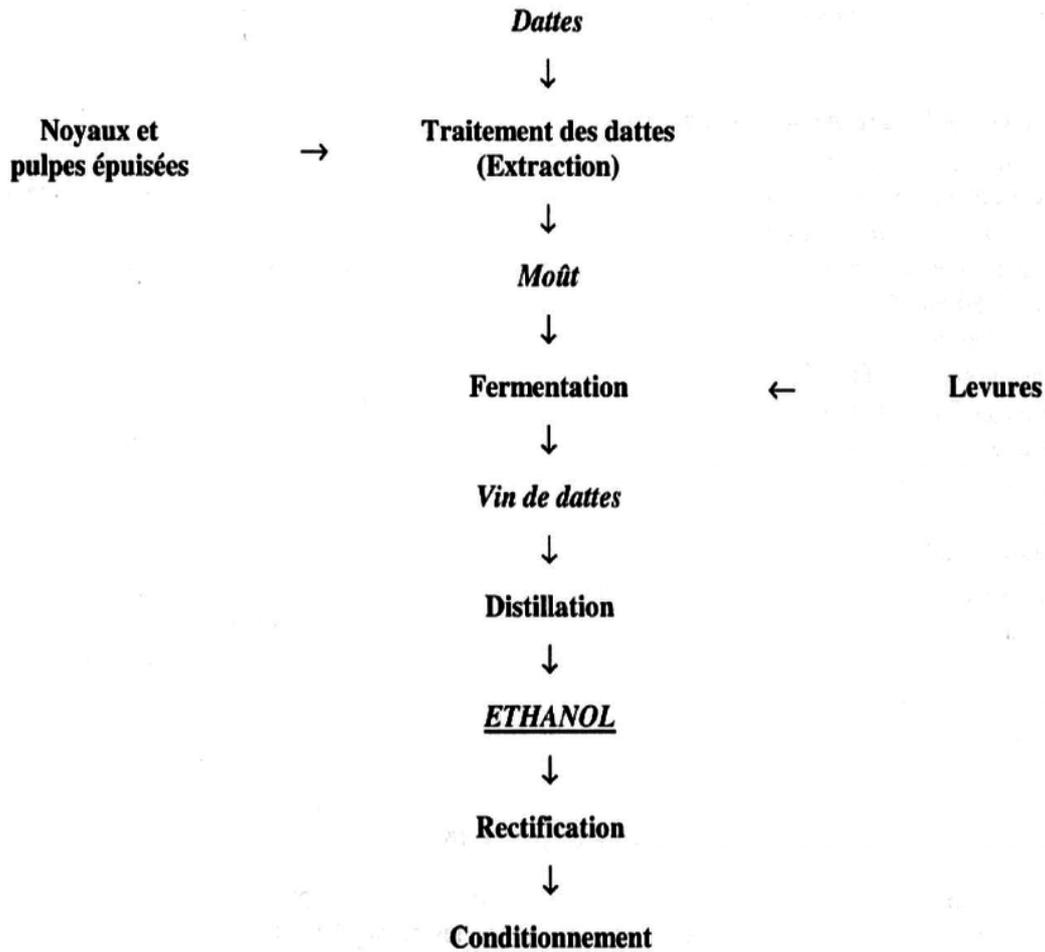


Figure 9 : Schéma simplifiant les étapes de fabrication de l'éthanol

En conclusion, les dattes présentent un très bon substrat de fermentation alcoolique pour la réalisation d'une installation semi-pilote de production d'éthanol dans le futur proche.

2.5.3 Bioconversion enzymatique des résidus de fruits (Les tourteaux)

Les tourteaux sont les résidus solides de l'extraction de l'huile des graines ou des fruits oléagineux. Ce sont les coproduits de la trituration, procédé de fabrication de l'huile. Ils représentent généralement de 50 à 75 % de la masse des graines.

Les tourteaux issus de l'extraction de l'huile végétale de pépins de fruits contiennent de l'amygdaline – composé induisant le goût amer de pépins. Par hydrolyse enzymatique ce composé se transforme en benzaldéhyde (responsable du goût et de l'odeur caractéristiques de l'huile d'amandes), glucose et acide cyanhydrique conformément à la réaction suivante :

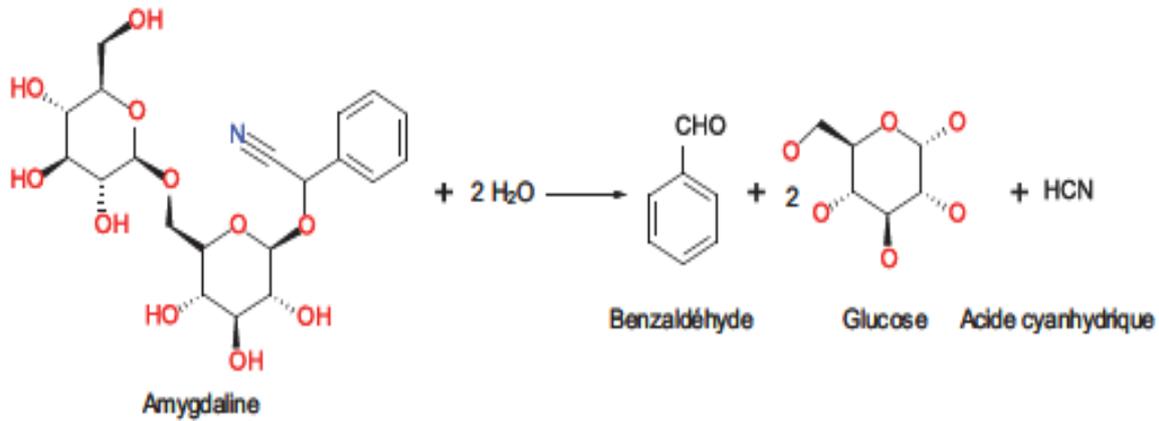


Figure 10 : La transformation de l'Amygdaline en glucose

Après l'hydrolyse tout le mélange est soumis à la distillation. Ayant une température d'ébullition de 179°C, le benzaldéhyde est entraîné par un courant de vapeur d'eau. Les vapeurs sont ensuite condensées dans un condenseur à l'eau froide. Du condensé, l'huile d'amande est séparée par décantation.

2.5.4 Bioconversion microbienne des drêches de brasserie

Les drêches sont des résidus du brassage des céréales, généralement utilisés pour l'alimentation animale. Elles sont principalement issues des brasseries et des distilleries fabricant des alcools et le bioéthanol, et correspondent à l'ensemble des éléments non solubles qui restent après fermentation et transformation de l'amidon des grains en alcool. Les drêches sont principalement produites à partir de l'orge, du blé ou du maïs.

Un des moyens de valorisation de ces drêches par voie microbienne est la production du biobutanol :

La bioconversion de ces dernières permet l'obtention d'un biogaz. Le biobutanol (ou alcool butylique) est obtenu grâce à la bactérie *Clostridium acetobutylicum* qui possède un équipement enzymatique lui permettant de transformer les sucres en butanol-1 (fermentation acétonobutylique). Du dihydrogène, et d'autres molécules sont également produites : acide acétique, acide propionique, acétone, isopropanol et éthanol.

On site aussi un autre moyen de valorisation de ces drêches par voie microbienne et/ou enzymatique qui est la production de l'éthanol cellulosique

C'est la voie biochimique. Ces procédés de production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique intègrent plusieurs considérations de base :

- La lignine ne peut être fermentée en éthanol
- La matrice lignocellulosique doit être prétraitée pour rendre la cellulose et l'hémicelluloses hydrolysables,
- Les fractions cellulosiques et hémicellulosiques sont des sources potentielles de sucres fermentescibles (xylose).

Par conséquent, le schéma générique du procédé comprend les principales opérations unitaires suivantes : le prétraitement de la matière première, l'hydrolyse, la fermentation éthanolique et la séparation de l'éthanol du moût de fermentation.

La fermentation peut se faire par :

- **Voie microbienne**

Les levures

Alors que *Saccharomyces cerevisiae*, dont certaines souches sont utilisées industriellement pour la fermentation alcoolique, ne peut utiliser le xylose comme source de carbone, d'autres espèces de levures peuvent convertir le xylose en éthanol (*Pichia stipitis*, *Candida shehatae*, *Pachysolen tannophilus*). Cependant ces levures présentent de nombreux points faibles: performances fermentaires sensiblement inférieures à celles de *S. cerevisiae* sur glucose, inhibition par l'éthanol à partir de concentrations de l'ordre de 3 à 5 %, forte sensibilité aux inhibiteurs présents dans les hydrolysats tels que l'acide acétique.

Les bactéries

Le xylose est convertible en éthanol par plusieurs espèces de bactéries thermophiles comme *Thermoanaerobacter ethanolicus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum* ou par des souches modifiées de *Bacillus stearothermophilus*. Des bactéries mésophiles comme *Escherichia coli* et *Klebsiella oxytoca* ou *K. planticola* sont également capables de fermenter les pentoses. De bonnes productions d'éthanol ont été obtenues avec des souches d'*E. coli* chez lesquelles des améliorations notables ont été obtenues: forte expression de certains gènes (pdc et adh) pour orienter le flux de carbone vers la production d'éthanol, obtention de

mutants résistants à l'éthanol, délétion du gène de la fumarate réductase à l'origine de la formation de succinate.

2.6 Les avantages et les inconvénients de la bioconversion

2.6.1 Les avantages de la bioconversion

- La bioconversion permet de substituer la matière organique exploitée dans les industries agroalimentaires. Ainsi ces procédés de bioconversion contribuent à la valorisation de la biomasse inutilisée ou rejetée (ex : valorisation de pailles pour la fabrication de biocarburants).
- Au niveau des procédés, la biocatalyse et la bioconversion engendrent des gains de productivité car elles proposent des biocatalyseurs de meilleure sélectivité, ce qui réduit le nombre d'étapes nécessaires pour la synthèse et limite considérablement les phases de purification.
- Elle permet de réaliser les opérations de synthèse dans des conditions douces donc de consommer moins d'énergie et de solvants, de favoriser le recyclage et, d'assurer de meilleures conditions de sécurité pour le personnel.
- Elle participe également à la protection de l'environnement car les déchets produits lors de la synthèse sont non seulement moins nombreux mais aussi et surtout moins toxiques.
- Au niveau des produits finis, ces procédés biotechnologiques permettent d'accéder à des produits de meilleure qualité (plus purs, biocompatibles, avec un faible risque de contamination...).
- Elle permet aussi de synthétiser des molécules complexes qu'il est difficile de produire par synthèse chimique classique (molécules polyfonctionnelles ou chirales...) et d'accéder à de nouvelles propriétés ou fonctionnalités (des bio-plastiques biodégradables, des arômes de vanille dits « naturels » du fait de leur production par une bactérie...).

2.6.2 Les inconvénients de la bioconversion

Pour tout un procédé biologique des avantages et des inconvénients on peut citer comme inconvénients :

- Le précurseur des réactions de bioconversion est la matière biodégradable. Cependant cette technique de traitement reste limitée aux déchets organiques biodégradables et non pas aux déchets non-biodégradables à titre d'exemple les hydrocarbures et les métaux lourds ...
- Ces techniques nécessitent un savoir faire pour une mise-en œuvre efficace notamment une bonne adéquation entre les matériels techniques utilisés, les conditions opératoires, le ou les déchets traités, le contexte socio-économique et technique, et les objectifs fixés au traitement.
[Rémy BAYARD et al]
- Pour les procédés enzymatiques la grande sélectivité et la faible température de réaction diminuent la quantité et la diversité des sous-produits.

CONCLUSION GENERALE

Le traitement des déchets agroalimentaires par des voies microbiologiques ou enzymatiques est la meilleure solution pour une bonne gestion de déchets. Le principe général des traitements biologiques est d'exploiter certaines activités microbiennes en les stimulant de manière contrôlée afin soit de réduire les nuisances potentielles des déchets (odeurs, risques sanitaires, caractère polluant au sens large du terme), soit de les valoriser sous forme énergétique ou sous forme matière. De ce fait, les procédés biologiques sont en pratique généralement utilisés pour le traitement de déchets essentiellement organiques présentant un caractère biodégradable, à savoir notamment les déchets associés à l'exploitation ou à la consommation de la biomasse.

Dans cette étude on a montré les différentes manières de valorisations des déchets organiques à titre d'exemple la méthanisation.

Rappelons que les margines peuvent être bioconvertit par les deux voies ; microbienne pour transformer la matière organique en CO₂ et méthane et enzymatique pour synthétiser de l'hydroxytyrosol.

La valorisation des noyaux de dates permet de produire du bioéthanol ce procédé comprend les principales opérations unitaires suivantes : le prétraitement de la matière première, l'hydrolyse, la fermentation éthanolique et la séparation de l'éthanol du moût de fermentation. Cette valorisation peut se faire par le biais des levures.

Un des moyens de valorisation de ces drêches par voie microbienne (bactéries ou levures) est la production du biobutanol.

Des études récentes montre l'intérêt de traiter les déchets agroalimentaires par des procédés microbiologique accompagnés par des procédés physicochimiques afin d'augmenter le rendement d'épuration.

Les études récentes abordées précédemment montrent utilité majeure de la bioconversion.

L'intérêt des bioconversions réside dans le fait que les transformations catalysées s'effectuent dans des conditions expérimentales (pH et température) douces et que les molécules sont modifiées de façon spécifique et le plus souvent sans réactions secondaires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

ADEME, 06 mai 2010, «La question des déchets alimentaire implique t-elle une éducation à la consommation?», <<http://mjoly.canalblog.com/archives/2010/05/06/17807212.html>>

ALCIMED, 2010, «biocatalyse et bioconversion comment la biotechnologie arrive chez les chimistes», <<https://www.gazettelabo.fr/archives/breves/2004/0204/biocata.htm>>

ALI, S. *Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par conversion microbienne* (Doctoral dissertation, Université Saad Dahlab de Blida 1).

Allouche N., Damak A., Ellouz R., & Sayadi S. (2004 b). Use of whole cells of *Pseudomonas aeruginosa* for synthesis of the antioxidant hydroxytyrosol via conversion of tyrosol. *App. Environ. Microb.* **70**: 2105-2109.

Allouche, N., Fki, I., & Sayadi, S. (2004 a) Toward a high yield recovery of antioxidants and

Al-Zuhair S. (2008). purified hydroxytyrosol from olive mill wastewaters. *J Agric Food Chem.* **52**: 267-73. The effect of crystallinity of cellulose on the rate of reducing sugars.

Balice, V., Carveri, C., Cera, O., Rindone, B. (1988). The fate of tannin-like compounds from olive mill effluents in biological treatments. In Proceedings of the fifth International Symposium on anaerobic digestion. *Academic Press, New York.* 275.

Borja, R., Martin, A., Maestro, R., Alba, J., Fiestas, J. A. (1992). Enhancement of the anaerobic digestion of OMW by the removal of phenolic inhibitors. *Process Biochem.* **27**: 231-237.

Briante, R., La Cara, F., Tonziello, M.P., Febbraio, F. & Nucci, R. (2001). Antioxidant activity of the main bioactive derivatives from oleuropein hydrolysis by hyperthermophilic beta-glycosidase. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 3198-3203.

Capasso, R., Evidente, A., Avolio, S., Solla, F. (1999). A highly convenient synthesis of hydroxytyrosol and its recovery from agricultural waste waters. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 1745-1748.

Capasso, R., Evidente, A., Schivo, L., Orru, G., Marcialis, M., Cristinzio, G. (1995). Antibacterial polyphenols from olive mill wastewaters. *J. Appl. Bacteriol.* **79**: 393398.

CCI FRANCE, 1402-2010, «Les critères globaux des polluants de l'eau d'origine industrielle» <<http://www.entreprises.cciparisidf.fr/web/environnement/eau/gerereautreprise/criterxpolluants-origine-industrielle>>

CCOP DE France, 2000, «GESTION DES EFFLUENTS AGROALIMENTAIRES», <<http://www.coopdefrancealpesmediterranee.coop/uploads/attachments/dd/fiche%20gestion%20des%20effluents%20agroalimentaires.pdf>>

cd2e, 2012, « Déchets agricoles et agro-alimentaires », <<http://www.cd2e.com/node/264>>

Celine Agromedia, 13 juillet 2016, «Déchets de l'agroalimentaire : comment les valoriser», <<http://www.agro-media.fr/analyse/dechets-de-lagroalimentaire-valoriser-21246.html>>

Di Giovacchino, L. (1996). L'influence des systèmes d'extraction sur la qualité d'olive. *Olivae*. 63: 52-63.

Espin, J.C., Soler-Rivas, C., Cantos, E., Tomàs-Barberà, F.A. & Wichers, H.J. (2001). Synthesis of the antioxidant hydroxytyrosol using tyrosinase as biocatalyst. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1187-1193.

F. Kaidi et A. Touzi, 2001, Laboratoire de Biomasse, Centre de Développement des Energies Renouvelables, Université d'Adrar.

Hamdi, M. (1993). Future prospects and constraints of olive mill wastewaters use and treatment: A review *Bioprocess Eng.* 8: 209-214.

Hamdi, M. (1993). Future prospects and constraints of olive mill wastewaters use and treatment: A review *Bioprocess Eng.* 8: 209-214.

Hamdi, M. (1996). Anaerobic digestion of olive mill wastewaters. *Process Biochem.* 31: 105110.

Henry-Eric Spinnler, 10 novembre 2009, Production d'arômes par voie biotechnologique.

Jean-François Perrin, 2015, *cours de Suivis de cultures -Génie fermentaire*, Biotechnologies et Bioanalyses, Lycée Technique Saint Louis, France.

Jean-Pierre RIBA, 10 juin 1998, Réacteurs enzymatiques et fermenteurs

Mahima Verma, Saurabh Katyayan, 20 Juillet 2016 M.Tech (Trained @ BARC) Biotechnology, Bhabha Atomic Research Centre.

Manel HAMZA KARRAY, 2013, Bioconversion enzymatique des composés phénoliques des effluents issus de l'extraction d'huile d'olive: une voie prometteuse de valorisation par la production de l'hydroxytyrosol naturel, Université de Sfax école nationale d'ingénieurs de Sfax.

Marcel Asther, Michel Bâtiment F DELATTRE, Mireille Haon, Laurence Lesage-Meessen, 2 juillet 1997, Procédé d'obtention d'acide vanillique et de vanilline par bioconversion par une association de microorganismes filamenteux, Institut Nationale D e la Recherche Agronomique de France.

Martin, M., Ferrer, E., Sanz, J., Gibello, A. (1998) Process for the biodegradation of aromatic compounds and synthesis of pigments and colorants, alkaloids and polymers, with the use of the recombinant strain *Escherichi coli* P260. Patent N° WO98/04679 (5.02.1998).

Mercade, M.E., Manresa, M.A. (1994). The use of agroindustrial by-products for biosurfactant production. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71: 61-64.

Munoz, S. (1998) Procedimiento para la producción de vitamina B₁₂ a partir de residuos contaminantes de la industria de la aceituna. Patent N° ES2122927 (16.12.1998).

N.HAICHOIR, 2011, cours de biochimie microbienne, Université Ferhat Abbas -Sétif- Faculté des sciences de la nature et de la vie - département de microbiologie.

Petruccioli, M., Servili, M., Montedoro, F., Federici, F. (1988) Development of recycle procedure for the utilization of vegetation waters in the olive-oil extraction process. *Biotechnol. Lett.* 10: 55 - 60.

Ranalli, A. (1991). L'effluent des huileries d'olive : propositions en vue de son utilisation et de son épuration. Références aux normes italiennes en la matière. *Sciences et Techniques.* 37: 30-39.

Ranalli, A. (1991). L'effluent des huileries d'olive : propositions en vue de son utilisation et de son épuration. Références aux normes italiennes en la matière. *Sciences et Techniques.* 37: 30-39.

Remy Bayard, Remy Gourdon, 10 janv. 2010, Traitement biologique des déchets

Sans auteur Insee - SSP – Agreste(la statistique agricole) - Enquête sur la production de déchets non dangereux dans l'industrie en 2008

Sayadi, S. & Odier, E. (1995). Degradation of synthetic lignin by protoplasts of *Phanerochaete chrysosporium* with purified lignin peroxydase or manganese peroxydase. *Acta Biotechnologica.*15:57-66.

Sayadi, S., Allouche, N., Jaoua, M., Aloui, F. (2000). Detrimental effects of high molecular mass polyphenols on olive mill wastewater biotreatment. *Process Biochem.* 35: 725735.

Tomati, U., Di Lena, G., Galli, E., Grappelli, A., Buffone, R. (1990). Indolacetic acid production from olive waste water by *Arthrobacter* spp. *Agrochimica.* 34: 228-232.

Verhe, R., Papadopoulos, G., Boskou, D. (1992) Preparation of hydroxytyrosol bull. *Liason Groupe Polyphenols.* 15: 237-244.

Veronica RODRIGUEZ-NAVA, Aymeric MENARD, Frédéric LAURENT,Patrick BOIRON,Laboratoire de Mycologie,Faculté de Pharmacie, Lyon, France.

Wahner, R.S., Mendez, B.A., Giulietti, A.M. (1988). Olive black water as raw material for butanol production. *Biol. Wastes.* 23: 215-220