

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. M. OULHADJ - Bouira
Faculté des Sciences Appliquées
Département de Génie des Procédés



Mémoire

Présenté par

ZANE Younes

CHENANE Kenza

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière: Génie des Procédés

Spécialité : Génie de L'environnement

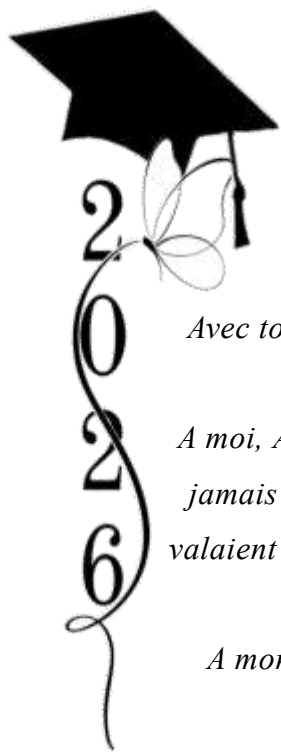
**Valorisation d'un Déchet Agroalimentaire par Voie
Biologique**

Soutenu le 27 /06 / 2026

Devant le jury:

Mr LOUNICI	Hakim	Prof	UAMOB	Président
Mr BOUCELKHA	Ali	MCB	UAMOB	Examineur
M ^{me} EL HANAFI	Nawel	MCA	UAMOB	Encadrante
M ^{me} ARBIA	Leila	MCB	UAMOB	Co-encadrante

Année Universitaire : 2025/2026



Dédicace

*Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie
ma remise de diplôme et ma joie*

*A moi, A Kenza, la petite fille que j'étais, celle qui tombait, apprenait et se relevait sans
jamais baisser les bras. Ce travail est la preuve que tes efforts et tes nuits blanches en
valaient la peine. Regarde le chemin parcouru : aujourd'hui, j'honore la promesse que je
t'avais faite. Ce succès est le nôtre.*

*A mon paradis, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui
allumer mon chemin, ma moitié. A MA PRINCESSE MAMAN*

*A celui qui m'a fait une femme, Ma source de vie, à mon support qui était toujours à mes
côtés pour me soutenir et m'encourager. A MON PRINCE PAPA*

*A LA Mémoire de ma regrettée grand-mère, qui nous a quittés trop tôt. Ton souvenir reste
gravé dans mon cœur et j'aurais tant aimé que tu sois là pour partager ce moment. Que*

Dieu t'accorde sa sainte miséricorde et t'accueille dans son vaste paradis. TU ME

MANQUES TELLEMENT

*A Mon cher fiancé, pour ton soutien de chaque instant, ta patience et ton amour. Merci
d'avoir partagé mes doutes et mes joies, ma plus belle source de bonheur au quotidien.*

Que Dieu nous protège et préserve notre complicité. A MON AVENIR.

*A Ma chère et unique sœur HOUDA, pour votre force, votre soutien indéfectible, votre
protection de chaque instant. A MA PETITE COMPLICE DE TOUJOURS*

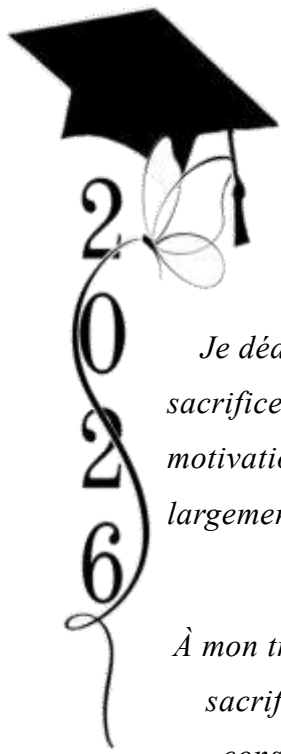
*A Mes deux chers frères DJIHAD ET MAYES, pour votre présence rassurante, ma force
et ma plus grande fierté. Que Dieu vous garde à mes cotes, vous protège et éclaire votre
chemin. A MES repères*

*A mes chères tantes : HEDDA, ZAIA, FARIDA, FATIHA, pour votre bienveillance
constante, vos prières sincères qui m'ont protégée. A MES DEUXIÈMES MAMANS*

*A MES FIDÈLES AMIES, à notre amitié éternelle, et l'énergie positive qui nous a
poussés à aller jusqu'au bout. Une page se tourne, mais les souvenirs restent. A MES
alliées de toujours*

*A mes chères cousines : TINHINANE, KAMILIA, AYA, INES, ANAÏSE, IMANE, RANA,
DJOUDJOU, SOUHILA, AMEL : pour votre douceur, votre complicité unique. Merci de
mettre tant de couleurs et de joie dans ma vie. A ma joyeuse équipe.*

Kenza



Dédicace

Je dédie ce travail à ma très chère mère, dont l'amour inconditionnel, la tendresse, les sacrifices et les encouragements constants ont été une source inestimable de force et de motivation tout au long de mon parcours. Son soutien indéfectible et ses prières ont largement contribué à la réalisation de ce projet.

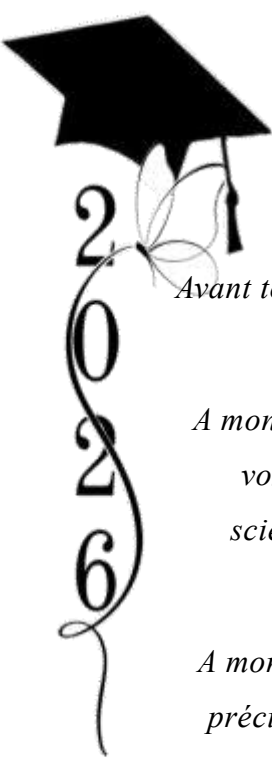
À mon très cher père, en témoignage de ma profonde gratitude pour son dévouement, ses sacrifices, sa confiance et les valeurs qu'il m'a transmises. Son soutien moral et ses conseils avisés ont constitué un pilier essentiel dans la poursuite de mes études et l'aboutissement de ce travail.

À mon frère, pour son soutien, sa présence et ses encouragements permanents. Je lui adresse mes sincères remerciements pour l'intérêt qu'il a toujours porté à ma réussite.

À mes chères sœurs, pour leur affection, leur bienveillance et leur soutien moral. Leurs encouragements et leur confiance ont été pour moi une précieuse source de motivation.

À toute ma famille, qui m'a entouré d'amour, de compréhension et de soutien tout au long de mon parcours universitaire, je témoigne ma plus profonde reconnaissance et dédie humblement ce travail.

Younes



Remercîments

Avant tout, je remercie Dieu le Tout-puissant de m'avoir insufflé la force, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.

A mon encadrante, madame EL HANAFI NAWEL, pour votre encadrement d'exception, vos précieuses orientations et votre bienveillance maternelle. Plus qu'une guide scientifique, vous avez été pour nous une véritable famille, rendant cette aventure humaine inoubliable

A mon Co-encadrante, madame ARBIA LEILA, pour votre disponibilité sans faille, vos précieux conseils et votre accueil si chaleureux. Merci d'avoir su dissiper nos doutes dans une ambiance familiale et rassurante.

Au président du jury, Monsieur LOUNICI HAKIM, je vous adresse mes plus sincères remerciements pour l'honneur que vous me faites en président ce jury, ainsi que pour le temps précieux consacré à l'évaluation de mon travail.

A l'examineur du jury, Monsieur BOUCELKHA ALI, je vous exprimer ma profonde gratitude pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour le regard critique et constructif que vous y porterez afin d'en enrichir la valeur.

A l'ensemble du personnel du laboratoire, vous êtes simplement la meilleure des équipes ! un immense merci pour votre aide technique.

A tous mes enseignants, de mes premiers pas à l'école primaire jusqu'aux bancs de l'université, merci d'avoir dédié votre vie à transmettre le savoir et d'avoir éclairé mon chemin.

A mes chers camarades de promotion, malgré mon intégration récente, vous avez su m'entourer de tant de bienveillance et de chaleur que j'ai immédiatement trouvé ma place parmi vous. A TOUTE LA PROMO 2024/2026 A cette famille d'adoption.

Dédicace	
Dédicace	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction générale.....	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Introduction.....	5
I.2. Introduction au Secteur agroalimentaire : enjeux et dynamique industrielle.....	5
I.2.1. L'industrie agroalimentaire : un gisement de biomasse pour la -bioéconomie	5
I.3. Défis environnementaux et perspectives de durabilité	6
I.4. Caractérisation des déchets agroalimentaires (DAA)	7
I.4.1. Nature et origine des gisements	7
I.4.2. Composition physico-chimique : le potentiel nutritif	7
I.4.3. Impact environnemental : charge organique et toxicité	9
I.5. La valorisation biologique : principes et mécanismes de conversion.....	9
I.6. Facteurs d'influence et cinétique de la bioconversion des DAA	10
I.6.1. Les différentes voies de valorisation biologique.....	11
I.7. Les processus de fermentation comme voie de valorisation.....	12
I.7.1. Le mécanisme de conversion biochimique	12
I.7.2. Production de biomasse et de métabolites secondaires.....	12
I.8. Rôle des micro-organismes en bioprocédés : Agents de la bioconversion	13
I.8.1. Les Bactéries : Rapidité et diversité métabolique.....	13
I.8.2. Les levures : Robustesse et production d'alcools	13
I.8.3. Les champignons filamenteux : spécialistes des substrats solides.....	14
I.9. Paramètre influençant la fermentation	14
I.10. Le cactus	14
I.10.1. L'intérêt biotechnologique global.....	14
I.11. Conclusion	15

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Introduction	17
--------------------------	----

II.2. Provenance et caractéristiques des produits et réactifs chimiques utilisés	17
II.3. L'origine de la matière première	18
II.4. Préparation de la poudre du cactus	19
II.5. Protocole de Coagulation- Flocculation (Jar -test).....	20
II.6. Mesure de la turbidité et calcul du rendement.....	21
II.7. Récupération de la biomasse traitée	21
II.8. Etude la fermentation de la levure sur un milieu de culture à base de la boue issue du traitement d'un rejet laitier	22
II.8.1. Préparation de l'inoculum	22
II.8.2. Préparation du substrat	22
II.8.3. Conditions opératoires de la fermentation.....	22
II.8.4. Extraction des composés phénoliques par macération	23
II.8.5. Prétraitement à l'hydrolyse acide lactique.....	24
II.9. Effet de la concentration en extrait de levure	24
II.10. Dosage des sucres réducteurs	24
II.11. Activité antioxydante Test de réduction du radical DPPH (2,2 diphényl 1picrylhydrazyl) (Gulcin et Alwasel, 2023).....	25
II.11.1. Préparation des solutions	25
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

❖ Chapitre 01

AGV : Acides Gras Volatils;

ATP : Adénosine Triphosphate;

C/N : Rapport Carbone / Azote;

CH₄ : Méthane;

CO₂ : Dioxyde de carbone;

DAA : Déchets Agroalimentaires;

DBO₅ : Demande Biochimique en Oxygène après 5 jours;

DCO : Demande Chimique en Oxygène;

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (Food and Agriculture Organization);

FMS : Fermentation en Milieu Solide;

pH : Potentiel Hydrogène;

POI / SCP : Protéines d'Organismes Unicellulaires (Single Cell Protein);

SAA : Secteur Agroalimentaire;

❖ Chapitre 02

pH : Potentiel Hydrogène (mesure de l'acidité ou de l'alcalinité d'une solution);

NTU : Nephelometric Turbidity Units (Unités de turbidité néphélométrique, unité de mesure de la clarté d'un liquide);

tr/min (ou TR/MIN) : Tours par minute (unité de vitesse de rotation pour l'agitation);

nm (ou NM) : Nanomètre (unité de longueur d'onde pour les mesures d'absorbance au spectrophotomètre);

µm : Micromètre ou micron (taille des pores des membranes de filtration);

°C (ou C°) : Degré Celsius (unité de température);

g/l (ou g/L) : Gramme par litre (unité de concentration massique);

ml (ou ML) : Millilitre (unité de volume);

g : Gramme (unité de masse);

N : Normale (unité de concentration chimique, utilisée ici pour la soude NaOH 2N);

min / h (ou heures) : Minutes / Heures (unités de temps);

DNS : Acide dinitrosalicylique (réactif utilisé pour le dosage colorimétrique des sucres réducteurs);

NaOH : Hydroxyde de sodium (soude);

HCl : Acide chlorhydrique;

FeCl_3 : Chlorure de fer (III);

$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$: Acide lactique;

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$: Glucose;

CH_3COOH : Acide acétique;

$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: Tartrate de sodium et de potassium (stabilisant du réactif DNS);

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$: Glucose monohydraté;

$\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_7$: Formule chimique brute du réactif DNS;

Eq. : Équation;

R (%) : Rendement ou taux d'abattement exprimé en pourcentage;

Tur (initial) : Turbidité de la suspension avant le Jar-test;

Turf (final) : Turbidité de la suspension après 24 heures de décantation;

N° : Numéro

Liste des tableaux

Tableau I. 1: Typologie des flux de matières et potentiels de valorisation dans SAA..... 6

Tableau I. 2: La plante d'Opuntia ficus- indica willaya de bouira région de Gamgouma..... 11

Tableau I. 3: Rôle des agents biologiques et potentiel du cactus..... 15

Tableau II. 1: Caractéristiques des produits et réactifs chimiques et leur provenance 17

Tableau III. 1: Taux d'humidité **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau III. 2: Taux de minéralisation..... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau III. 3: Comparaison des conditions expérimentales : cinétique de croissance, stabilité du pH et consommation des sucres **Erreur ! Signet non défini.**

Liste des figures

Figure I. 1: La plante d’Opuntia ficus- indica willaya de bouira région de Gamgouma.	6
Figure II. 1: Etapes de préparation de la poudre du cactus.	20
Figure II. 2: Le fermenteur.	23

Résumé :

La gestion des rejets agroalimentaires représente un défi environnemental majeur en raison de leur forte charge organique. Dans une perspective de développement durable et d'économie circulaire, leur valorisation biologique constitue une alternative prometteuse permettant de transformer ces déchets en produits à haute valeur ajoutée. Ce travail s'inscrit dans cette démarche et a pour objectif de valoriser la boue issue du traitement d'un rejet laitier par coagulation-floculation à l'aide d'un biofloculant naturel à base d'*Opuntia ficus-indica*, puis d'étudier son utilisation comme substrat de fermentation pour la production de biomasse levurienne. Dans un premier temps, les cladodes d'*Opuntia ficus-indica* ont été récoltés, séchés, broyés et réduits en poudre afin d'être utilisés comme biofloculant naturel pour le traitement d'un rejet laitier synthétique. Après les essais de coagulation-floculation, la boue obtenue a été récupérée et caractérisée par différentes analyses physicochimiques, notamment la détermination de la teneur en humidité et en cendres, ainsi que par les analyses FTIR, DRX et XRF, afin d'évaluer sa composition et son potentiel de valorisation. La boue récupérée a ensuite été utilisée comme milieu de culture pour la croissance de *Saccharomyces cerevisiae*. Les paramètres de fermentation ont été suivis par la mesure de la densité optique, du pH et de la consommation des sucres réducteurs. Les données expérimentales ont été modélisées à l'aide du modèle logistique de Verhulst afin de décrire la cinétique de croissance de la levure et de déterminer les principaux paramètres cinétiques. Afin d'améliorer les performances de la fermentation, une extraction des composés phénoliques a été réalisée par macération hydro-éthanolique pour réduire leur effet inhibiteur sur la croissance de la levure. Une hydrolyse à l'acide lactique a également été appliquée afin de libérer les sucres fermentescibles présents dans la biomasse. Les extraits polyphénoliques obtenus ont été concentrés puis leur activité antioxydante a été évaluée par le test DPPH. Les résultats obtenus montrent que la boue issue du traitement des rejets laitiers constitue un substrat favorable au développement de *Saccharomyces cerevisiae*. L'élimination des composés phénoliques et le prétraitement par hydrolyse ont permis d'améliorer la croissance de la levure et la consommation des sucres, tandis que les extraits polyphénoliques ont présenté une activité antioxydante intéressante. Ces résultats confirment le potentiel de valorisation de cette biomasse résiduelle pour la production de biomasse microbienne et de molécules d'intérêt.

Introduction générale

Introduction générale

Le secteur agroalimentaire représente l'un des piliers majeurs de l'économie mondiale en assurant la transformation des ressources agricole en produite destinés à l'alimentation humaine. Cependant, les activités de transformation industrielle génèrent d'importantes quantité de déchets et de sous -produits organiques. Ces résidus proviennent des différentes étapes de production telles que la transformation des matières premières, le lavage, l'extraction ou la fabrication de produits alimentaires. La gestion de ces déchets constitue aujourd'hui un enjeu majeur en raison de leur volume croissant et de leur impact potentiel sur l'environnement (Smithers,2008).

Les déchets agroalimentaires sont généralement caractérisés par une forte teneur en matière organique biodégradable, notamment en glucides, protéines et lipides. Lorsqu'ils sont rejetés dans l'environnement sans traitement adéquat, ces résidus peuvent entraîner une pollution importante des sols et des ressources hydriques (Savatier,2013). Par conséquent, la mise en place de stratégies efficaces pour la gestion et la valorisation de ces déchets représente une priorité environnementale et économique.

Parmi les sous-produits générés par l'industrie agroalimentaire, le lactosérum également appelé petit-lait, constitue l'un des déchets les plus abondants dans l'industrie laitière. Il est obtenu lors de la fabrication du fromage après la coagulation du lait et la séparation du caillé. Le lactosérum représente environ 80% à 90% du volume initiale du lait utilisé dans la production fromagère. Ce sous-produit liquide est riche en lactose, en protéines solubles, en minéraux et en vitamines, ce qui lui confère une valeur nutritionnelle importante (Kosikowski,2012 ; Smithers,2008). Malgré cette richesse en nutriments, le lactosérum est souvent considéré comme un effluent industriel en raison de sa forte charge organique, qui peut provoquer une pollution importante lorsqu'il est rejeté directement dans l'environnement. Cependant, sa composition chimique en fait également un substrat particulièrement intéressant pour différents procédés de valorisation biologique (Panesar et al.,2010).

Dans ce contexte, la valorisation des déchets agroalimentaire apparait comme une approche durable permettant de transformer des résidus en ressources utiles. Cette stratégie consiste à exploiter les composés organiques présents dans les déchets afin de produire des substances à valeur ajoutée telles que des acides organiques, des enzymes, des biocarburants ou encore de la biomasse microbienne (Panesar et al.,2010). La valorisation peut etre réalisée

par différentes voies, notamment des procédés physiques, chimiques ou biologiques. Parmi ces approches, les procédés biologiques présentent un intérêt particulier en raison de leur caractère écologique (Savatier,2013).

La valorisation biologique repose sur l'utilisation de microorganismes capables de transformer les composés organiques présents dans les déchets en produits d'intérêt industriel. Les bactéries, les levures et certains champignons possèdent une grande capacité d'adaptation et peuvent se développer sur une grande variété de substrats organiques. Grâce à leur activité métabolique, ces microorganismes sont capables de convertir les matières organiques complexes en composés plus simples ou en métabolites valorisables dans différents domaines industriels, notamment dans les secteurs agroalimentaires, pharmaceutique, biotechnologique (Demain&Adrio,2008).

Parmi les procédés biologiques les plus utilisés pour la valorisation des substrats organiques, la fermentation occupe une place importante (Kosikowski,2012).

L'utilisation du lactosérum comme substrat fermentescible représente une solution prometteuse pour sa valorisation grâce à l'activité de microorganismes spécifique, les constituants organiques présents dans ce sous-produit peuvent être transformés en différents composés d'intérêt industriel tels que l'acide lactique, les enzymes ou la biomasse microbienne. Cette approche permet ainsi de réduire l'impact environnemental du lactosérum tout en produisant des substances à forte valeur ajoutée (Panesar et al.,2010).

Le présent travail s'inscrit dans une démarche de valorisation biologique des déchets agroalimentaires, en particulier du lactosérum, à travers l'étude des processus de fermentation réalisés par les microorganismes spécifiques. L'objectif principal de cette étude est d'explorer le potentiel de ce sous-produit comme substrat fermentescible et d'évaluer les différents paramètres physico-chimiques et microbiologiques impliqués dans le processus de fermentation des bactéries bien déterminé.

Notre travail se compose de trois chapitres :

- Le premier chapitre se focalise sur l'étude bibliographique des déchets agroalimentaires et de leur incidence sur l'environnement, suivi de certaines notions générales concernant la fermentation et son rôle dans le développement durable.

- Le chapitre deux est consacré aux matériels et méthodes employés pour accomplir le travail expérimental, ainsi qu'à une présentation des techniques analytiques mises en œuvre.
- Le dernier chapitre expose les différents résultats obtenus, l'analyse et leurs interprétations, suivie d'une conclusion générale et des perspectives proposées pour de futurs travaux.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

I.1. Introduction

Le secteur agroalimentaire mondiale fait face à un paradoxe majeur : alors qu'il est le garant de la sécurité alimentaire il génère simultanément des volumes colossaux de rejets organiques. Ces résidus, s'ils ne sont pas gérés, représentent une menace sérieuse pour les écosystèmes en raison de leur forte charge polluante. Cependant, matières rejetées constituent des gisements de molécules carbonées et azotées à forte potentiel. L'intérêt de leur valorisation réside dans la possibilité de transformer ces 'déchets' en ressources renouvelables (bioénergie, acides organiques, biomasse.....), permettant de concilier rentabilité économique et protection de l'environnement au sein d'une économie circulaire. (Smithers, 2008).

I.2. Introduction au Secteur agroalimentaire : enjeux et dynamique industrielle

Le secteur agroalimentaire (SAA) constitue le pivot central de la chaîne de valeur bioéconomique, assurant la transition entre la production agricole primaire (amont) et la distribution de produits finis destinés à la consommation humaine ou animale (aval) (Akanea, 2023). Par sa nature multifilaire (laitière, carnée, boissons, céréalière), cette industrie transforme des matières premières périssables en denrées stables, sûres et à haute valeur ajoutée (Akanea, 2023).

Les déchets agroalimentaires font référence à l'ensemble des déchets solides ou liquides qui sont issus de la production, du traitement, de l'emballage et de la consommation des produits alimentaires. Ces déchets peuvent être des épluchures, des pulpes, des déchets végétaux, des margines, des lactosérums, des déchets de fruits et de légumes ou encore des sous-produits.

De plus, selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, un tiers des aliments produits dans le monde est gâché annuellement, faisant ainsi un bon apport à la pollution organique.

I.2.1. L'industrie agroalimentaire : un gisement de biomasse pour la -bioéconomie

Le secteur agroalimentaire ne doit plus être perçu uniquement comme un producteur de denrées, mais comme un fournisseur stratégique de biomasse carbonée et azotée pour la -bioéconomie. Cette vision permet de transformer les flux de matières organiques, autrefois considérés comme des pertes, en substrats fermentescibles pour la production de molécules à haute valeur ajoutée (Akanea, 2023). Le tableau 1.1 illustre le potentiel de valorisation des déchets des secteurs agroalimentaires.

Tableau I. 1: Typologie des flux de matières et potentiels de valorisation dans SAA.

Type de gisement	Caractéristique principale	Potentiel de valorisation	References
Résidus de récolte ex : pailles, cannes, tiges, résidus de taille agricole	Riches en polymères structuraux comme la cellulose et l'hémicellulose	Production de bioéthanol de 2 ^{ème} génération et extraction d'enzymes	(Savatier, 2013)
Sous _produits de transformation	Haute teneur en sucres solubles, protéines et nutriments biodisponibles	Fermentation lactique, production d'alcools et molécules plateformes	(Akanea, 2023)
Effluents liquides Ex : rejets de l'industrie laitière, effluents d'abattoirs, ou d'huileries)	Charge organique élevée (DCO) et présence de matières en suspension	Méthanisation pour la production de biogaz et traitement des eaux	(Savatier, 2013)
Biomasse spécifique (ex : cactus)	Richesse en eau et polysaccharides fermentescibles	Bioéthanol, acides organiques et compléments alimentaires	(Kosikowski, 2012)

I.3. Défis environnementaux et perspectives de durabilité

Malgré sa vitalité, le secteur fait face à des défis majeurs liés à la gestion de ses externalités. L'intensification de la production industrielle génère inévitablement des flux massifs de résidus organiques. Selon les rapports de la FAQ (2021), près d'un tiers de la production alimentaire mondiale est perdu ou gaspillé à différentes étapes de la chaîne. En génie des procédés, l'enjeu actuel réside dans la transition d'un modèle linéaire vers une économie circulaire, transformant ainsi les contraintes de gestion des déchets en opportunités

de valorisation biotechnologique pour produire des métabolites à haute valeur ajoutée (Smithers, 2008).

I.4. Caractérisation des déchets agroalimentaires (DAA)

La mise en place d'un procédé de valorisation efficace nécessite une croissance approfondie des propriétés intrinsèques du déchet. En Génie des procédés, la caractérisation des DAA permet de définir la stratégie de bio-conversion la plus adaptée en fonction de la biodisponibilité des nutriments (Panesar et al., 2010).

I.4.1. Nature et origine des gisements

Les gisements de déchets agroalimentaires se distinguent par leur grande hétérogénéité spatio-temporelle. On peut les classer selon la filière de production (Savatier, 2013) :

- Sous-produits d'origine végétale : Issus des conserveries, des huileries et des sucreries. Ils sont souvent riches en polymères structuraux (Savatier, 2013).
- Sous-produits d'origine animale : provenant des abattoirs et de la transformation des produits de la pêche (sang, graisses, plumes, lactosérum) (Savatier, 2013).
- Effluents de process : Eaux de lavage et de refroidissement chargées en matières en suspension et en solutés organiques (Savatier, 2013).

I.4.2. Composition physico-chimique : le potentiel nutritif

La composition chimique détermine la « fermentescibilité » du substrat. Les mémoires et les articles scientifiques de recherche récents mettent l'accent sur trois familles de macromolécules présentes dans les DAA (domaine & ADRIO, 2008) :

- 1) **Les glucides (sucres)** : Constituants majoritaires sous forme de sucres simples (lactose, glucose) ou de polymères (amidon, cellulose). Ils représentent la source d'énergie primaire pour la croissance microbienne (Demain & Adrio, 2008).
- 2) **Les composés azotés (protéines)** : Essentiels pour la synthèse des enzymes et de la biomasse cellulaire. Leur dégradation peut toutefois libérer de l'ammoniac, susceptible d'inhiber certains bio-procédés à forte dose (Demain & Adrio, 2008).
- 3) **Les lipides** : Présents en quantités variables, ils possèdent une densité énergétique élevée mais peuvent poser des problèmes de transfert de masse en milieu liquide (formation de films hydrophobes) (Demain & Adrio, 2008).
- 4) **Eléments minéraux et oligo-éléments** : Le phosphore le potassium et le magnésium agissant comme des cofacteurs enzymatiques indispensables au métabolisme (Demain & Adrio, 2008).

- 5) **Les protéines unicellulaires (SCP) :** Les protéines unicellulaires correspondent à la biomasse de microorganismes tels que les levures, les bactéries, les champignons filamenteux et les microalgues, utilisée comme source de protéines pour l'alimentation humaine et animale. Les levures sont particulièrement intéressantes en raison de leur croissance rapide, de leur richesse en protéines et de leur valeur nutritionnelle élevée. (Barka, A. & Blecker, Ch. 2016).
- **Valorisation des déchets agroalimentaires :** La production de protéines unicellulaires constitue une stratégie efficace de valorisation des déchets agroalimentaires. Les sous-produits riches en carbone et en nutriments peuvent servir de substrats pour la croissance des levures. Dans ce contexte, le cactus associé au lait en poudre fournit des éléments nutritifs nécessaires au développement cellulaire, permettant ainsi la conversion de déchets ou de matières à faible valeur économique en biomasse riche en protéine. (Actalia (2023)).
 - **Composition nutritionnelle de la biomasse de levure :** La biomasse de levure contient généralement entre 40 et 60 % de protéines sur matière sèche. Elle renferme également des acides aminés essentiels, des vitamines du groupe B et plusieurs minéraux tels que le phosphore, le potassium, le magnésium et le zinc. Cette composition lui confère une valeur nutritionnelle importante et en fait une source protéique alternative prometteuse. (Jach M.E., Serefko A., Ziaja M., Kieliszek M. (2022)).
 - **Importance des protéines unicellulaires pour les sportifs :** Les sportifs ont des besoins accrus en protéines afin de maintenir leur masse musculaire, favoriser la réparation des tissus et améliorer la récupération après l'effort. Les protéines unicellulaires issues des levures peuvent contribuer à couvrir ces besoins grâce à leur teneur élevée en protéines et à leur profil équilibré en acides aminés. Elles représentent ainsi une source nutritionnelle intéressante pour les personnes pratiquant une activité physique régulière. (Nutrisport Performances (2025))
 - **Rôle dans la récupération musculaire :** Les protéines et les acides aminés présents dans la biomasse de levure participent à la synthèse des protéines musculaires après l'exercice. Ils contribuent à la réparation des microlésions musculaires provoquées par l'effort physique et favorisent une récupération plus rapide. Les vitamines du groupe B présentes dans la levure jouent également un rôle essentiel dans le métabolisme énergétique des sportifs. (Nutrisport Performances (2025)).

- **Aspect environnemental et économique :** La production de protéines unicellulaires à partir de déchets agroalimentaires représente une alternative durable aux sources conventionnelles de protéines. Cette approche permet de réduire la pollution liée aux déchets organiques, de diminuer les coûts de production et de contribuer à l'économie circulaire. Elle répond également à la demande croissante en protéines tout en limitant l'utilisation des ressources naturelles. (Actalia (2023).

I.4.3. Impact environnemental : charge organique et toxicité

Le rejet direct des DAA dans les écosystèmes naturels provoque des déséquilibres écologiques majeurs. L'impact est évalué par deux indicateurs globaux de pollution. (Smithers, 2008)

- 1) **L'eutrophisation :** L'apport massif de carbone, d'azote et de phosphore entraîne une prolifération algale qui asphyxie les milieux aquatiques par épuisement de l'oxygène dissous. Ce phénomène perturbe gravement la biodiversité en provoquant la mort de la faune aquatique et en altérant la qualité de l'eau qui devient impropre à la vie et à la consommation.
- 2) **La demande chimique en oxygène (DCO)/DBO₅ :** Les DAA présentent souvent les valeurs de DCO extrêmement élevées (pouvant dépasser 60000 mg /L pour le lactosérum). Un rapport DCO/DBO₅ proche de 2 témoigne d'une excellente biodégradabilité, confirmant que le traitement biologique est la solution la plus performante pour réduire la charge polluante tout en produisant de l'énergie ou des molécules d'intérêt (Savitier, 2013).

Cependant, le déversement d'une telle charge organique dans la nature sature immédiatement la capacité d'autoépuration des milieux récepteurs. Cela entraîne une dégradation anaérobie rapide de la matière organique, provoquant une acidification brutale du milieu, des nuisances olfactives sévères dues aux dégagements de gaz (comme l'ammoniac ou le sulfure d'hydrogène), ainsi qu'une détérioration durable des nappes phréatiques et des sols environnants.

I.5. La valorisation biologique : principes et mécanismes de conversion

La valorisation biologique désigne la conversion de déchets organiques en matières premières par le biais de l'activité des micro-organismes. Il s'agit d'un processus qui fait partie de la philosophie de l'économie circulaire, axée sur la réutilisation des ressources et non sur leur élimination. La valorisation biologique repose sur l'utilisation de biocatalyseurs

(micro-organismes ou enzymes) pour transformer la matière organique complexe en Molécules à haute valeur ajoutée. Contrairement aux procédés thermo chimique, elle s'opère dans des conditions de température et de pression modérées, s'inscrivant ainsi dans une démarche de chimie verte (**domaine &ADRIO, 2008**).

Le mécanisme de conversion : il se déroule en 3 étapes biochimiques successives :

- Hydrolyse extracellulaire : sécrétion d'enzyme (hydrolases) dans le milieu pour couper les macromolécules complexes insolubles du déchet en monomères solubles (Okafor & Okeke, 2018).
- Absorption : transport et internalisation de ces monomères à travers la membrane cellulaire (Singleton, 2005).
- Métabolisme intracellulaire : oxydoréduction enzymatique (ex : glycolyse) de ces monomères pour produire de l'énergie et excréter les produits d'intérêt, comme l'acide lactique (Madigan et al., 2015).

I.6. Facteurs d'influence et cinétique de la bioconversion des DAA

L'efficacité de la valorisation dépend de la maîtrise des interactions entre le micro-organisme et son milieu pour optimiser la vitesse de transformation appelée cinétique (**Demain & Adrio, 2008**).

- Biodisponibilité : L'usage de prétraitements (thermique ou enzymatique) est indispensable pour casser les structures complexes et libérer les nutriments (**Savatier, 2013**).
- Régulation du pH : Un contrôle strict est nécessaire pour éviter que l'accumulation d'acides organiques inhibe la croissance microbienne se dernier se situ entre (4 ,5 et 5,5) (**Panesar et al., 2010**).
- Température : Elle doit être maintenue à l'optimum de la souche pour garantir une activité enzymatique maximale, une température entre 30 C° et 37 C° est favorable (**Kosikowski, 2012**)
- Équilibre C/N : un rapport carbone/azote ajusté assure une production optimale de biomasse et de métabolites un rapport C/N idéal compris entre 10/1 et 20/1 requis pour éviter toute limitation nutritionnelle (**Demain & Adrio, 2008**).

La réussite de la bioconversion dépend de plusieurs paramètres techniques qui influencent directement la croissance des micro-organismes et le rendement du procédé. Le tableau I.2

présente les principaux paramètres techniques ainsi que leur impact sur la cinétique de bioconversion, d'après les données de la littérature.

Tableau I. 2: La plante d'Opuntia ficus- indica willaya de bouira région de Gamgouma

Paramètre technique	Impacte sur la cinétique de bioconversion	Référence
Prétraitement	Augmente la biodisponibilité en libérant les sucres des structures complexes	(Savatier, 2013)
Régulation du Ph	Évite l'arrêt du métabolisme microbien dû à l'acidification du milieu	(Panesar et al., 2010)
Contrôle thermique	Maintient la température à l'optimum pour maximiser l'activité enzymatique	(Kosikowski, 2012)
Équilibre C/N	Assure une croissance cellulaire constante et un rendement optimal	(Demain & Adrio, 2008)

I.6.1. Les différentes voies de valorisation biologique

On distingue principalement trois grandes voies de transformation biologique des rejets agroalimentaires :

- 1) La digestion anaérobie (méthanisation) :** dégradation de la matière organique en biogaz (méthane et CO₂) par un consortium microbien en absence d'oxygène. Ce procédé permet de réduire la charge polluante (DCO) tout en produisant une énergie renouvelable (Smithers, 2008).
- 2) Le compostage :** Stabilisation aérobie de la matière organique solide par des microorganismes pour la production d'amendements organiques destinés à fertiliser les sols (Savatier, 2013).
- 3) La fermentation microbienne (bioconversion) :** c'est la transformation biologique de matières organiques solubles par des microorganismes sélectionnés (bactéries, levures, champignons) sous conditions contrôlées, permettant de produire des molécules à haute valeur ajoutée comme des alcools, des enzymes ou des acides organiques (acide lactique) (Demain, A. L., & Adrio, J.L. 2008).

I.7. Les processus de fermentation comme voie de valorisation

Un levier de bioconversion

La fermentation est un métabolisme d'oxydoréduction où les composés organiques servent à la fois de donneurs et d'accepteurs d'électrons (**Demain & Adrio, 2008**). Contrairement à la respiration, ce processus ne nécessite pas d'oxygène et permet de convertir la matière organique en métabolites secondaires stables tout en libérant une quantité modérée d'énergie sous forme d'ATP pour le micro-organisme (**Kosikowski, 2012**).

Les fermentations sont classées en différents types selon la souche microbienne et les produits finaux obtenus issue de la dégradation des sucres (**Madigan et al., 2015**).

- **La fermentation lactique :** Elle consiste en la conversion des glucides en acide lactique. Ce procédé est privilégié pour la stabilisation des effluents agroalimentaires car l'acidification rapide inhibe les flores pathogènes (**PANESAR ET AL., 2010**).
- **La fermentation alcoolique :** Principalement médiée par des levures comme *saccharomyces cerevisiae*, elle transforme les hexoses en éthanol et CO₂. Le rendement théorique de cette conversion est un indicateur clé de la performance du bioréacteur (**Kosikowski, 2012**). **KOSIKOWSKI, 2012**).

I.7.1. Le mécanisme de conversion biochimique

Dans un contexte de valorisation, la fermentation agit comme une usine biologique où le micro-organisme décompose les chaînes carbonées complexes du déchet. Ce processus commence généralement par la glycolyse, transformant le glucose en pyruvate, lequel est ensuite réduit en différents produits finaux selon l'équipement enzymatique de la souche utilisée (**Savatier, 2013**). Cette transformation est cruciale en génie des procédés car elle permet de réduire la charge polluante (DCO) du substrat initial en la transformant en molécules récupérables (**Panesar et al., 2010**).

I.7.2. Production de biomasse et de métabolites secondaires

Au-delà de la production d'énergie ou d'acides, la valorisation biologique vise la synthèse de molécules complexes :

- Production de biomasse (protéines d'organismes unicellulaires-POI) : Utilisation des déchets comme substrat pour la croissance microbienne, créant ainsi une source de protéines pour l'alimentation animale.

- Métabolites secondaires : Ces molécules (antibiotiques, pigments, antioxydants) ne sont pas essentielles à la croissance immédiate du microorganisme mais possèdent une valeur marchande très élevée. Leur production nécessite souvent une phase de stress contrôlée ou une limitation nutritionnelle en fin de fermentation (**Demain, 2008**).

I.8. Rôle des micro-organismes en bioprocédés : Agents de la bioconversion

Le succès d'un procédé de valorisation dépend de l'adéquation entre le substrat (le déchet) et le catalyseur biologique (le micro-organisme). En Génie des procédés, le choix de la souche est dicté par performances cinétique, sa robustesse face aux inhibiteurs et sa capacité à synthétiser le produit cible avec un rendement élevé (**Demain & Adrio, 2008**).

I.8.1. Les Bactéries : Rapidité et diversité métabolique

Les bactéries sont les agents les plus utilisés en biotechnologie industrielle en raison de leur taux de croissance spécifique élevé.

- Bactéries Lactiques : (EX : *Lactobacillus*) : Elles sont incontournables pour la bioconversion des sucres en acide lactique. Leur capacité à acidifier rapidement le milieu constitue une barrière protectrice contre les contaminations extérieures (**Panesar et al., 2010**).
- Bactéries Anaérobies : Dans les procédés de méthanisation, un consortium complexe (bactéries hydrolytiques, acidogènes, acétogènes). Travaille en synergie pour dégrader les polymères organiques en précurseurs du biogaz (**Savatier, 2013**).

I.8.2. Les levures : Robustesse et production d'alcools

Les levures, principalement *saccharomyces cerevisiae*, sont privilégiées pour la fermentation alcoolique.

- Tolérance au milieu : Contrairement à de nombreuses bactéries, les levures tolèrent des pH acides (4,0 – 5,0) et des pressions osmotiques élevées, ce qui les rend idéales pour traiter des effluents sucrés concentrés (**Kosikowski, 2012**).
- Production de biomasse : Elles sont également cultivées pour la production de protéines d'organismes unicellulaires (Single Cell protéine – SCP), transformant l'azote non protéique des déchets en protéines assimilables pour l'alimentation animale.

I.8.3. Les champignons filamenteux : spécialistes des substrats solides

Les moisissures (Ex : aspergillus Niger, TRICHODERMA REESEI) jouent un rôle clé dans la dégradation des déchets riches en polymères complexes.

- **Arsenal Enzymatique** : Ils possèdent la capacité unique de sécréter des enzymes extra-cellulaires puissantes (cellulases, hémicellulases, protéases) capables de fragmenter la lignocellulose ou les protéines complexes (DEMAIN,2008).
- **Fermentation en milieu solide (FMS)** : Leur structure filamenteuse (hyphes) leur permet de coloniser des substrats solides et humides (marcs...), là où les bactéries peinent à se développer par manque d'eau libre (Demain & Adrio, 2008).

I.9. Paramètre influençant la fermentation

L'optimisation de la croissance microbienne et de la synthèse des métabolites repose sur le contrôle strict de quatre clés :

- 1) **L'humidité** : crucial pour le transfert des nutriments ; elle doit être totale en milieu liquide et modérée (40 à 60%) en milieu solide pour préserver les espaces gazeux (Okafor & okeke, 2018)
- 2) **La température** : doit être maintenue à l'optimum de la souche (28 à 37C°) pour éviter le ralentissement de la croissance ou la dénaturation des enzymes (Singhanian et al., 2009)
- 3) **Le pH** : régule l'état ionique et la perméabilité membranaire un milieu légèrement acide (4,5 à 6,5) maximise l'activité enzymatique et limite les contaminations (Panesar et al., 2010)
- 4) **L'aération** : un apport continu en oxygène est indispensable aux métabolismes aérobies pour soutenir l'activité cellulaire et évacuer le CO₂ (Singhanian et al.,2009)

I.10. Le cactus

Le cactus est une biomasse stratégique car ces tissus riches en polysaccharides et en eau offrent un milieu favorable à une prolifération microbienne rapide (Savatier, 2013). Les microorganismes peuvent métaboliser efficacement les sucres de cette plante pour produire de bioéthanol ou des acides organiques, transformant ainsi une ressource locale abondante en produits biosourcés (Kosikowski, 2012).

I.10.1. L'intérêt biotechnologique global

L'utilisation des micro-organismes présente des avantages majeurs pour la valorisation :

- Haute spécificité : ils permettent d'obtenir des produits très précis avec un minimum de déchets secondaires (**Demain & Adrio,2008**).
- Valorisation durable : ils transforment des résidus comme les cladodes de cactus en molécules utiles, réduisant l'impact environnemental des déchets (**Panesar et al., 2010**).
- Production enzymatique : leur activité permet de générer des enzymes industrielles essentielles à divers secteurs de la biotechnologie (**Savatier, 2013**).

Les différents agents biologiques impliqués dans ces procédés ainsi que leurs applications spécifiques sur la biomasse du cactus sont récapitulés dans le tableau ci-dessous :

Tableau I. 3: Rôle des agents biologiques et potentiel du cactus

Acteur biologique	Fonction dans le procédé	Application (cactus)	Référence
Bactéries	Production d'acides organiques	Conversion en lactate	(Panesar et al.,2010)
Levures	Synthèse de bioéthanol	Fermentation des jus	(Kosikowski,2012)
Champignons	Sécrétion d'enzymes	Dégradation des fibres	(Savatier,2013)
Micro-organismes	Catalyse spécifique	Molécules plateformes	(Demain &Adrio, 2008)

I.11. Conclusion

Il est important de noter que la valorisation par fermentation des déchets issus de l'agroalimentaire est une approche durable qui permet de convertir les déchets organiques en produits ayant une valeur importante. Cette technique non seulement contribue à la lutte contre la pollution environnementale mais aussi à la mise en place d'une économie bio-circulaire. La science moderne a permis de trouver dans la fermentation un moyen écologique et rentable de gérer les déchets organiques.

Chapitre II :

Matériel et méthodes

II.1. Introduction

Ce chapitre est dédié à la présentation détaillée du protocole expérimental et des dispositifs techniques utilisés pour la réalisation de cette étude. Pour ce faire, on décrit dans un premier temps les étapes de préparation de la biomasse à partir du cactus (*Opuntia ficus-Indica*) utilisé comme bio floculant pour le traitement des rejets laitiers par coagulation floculation et la valorisation de cette dernière par fermentation. Nous décrivons ensuite le déroulement des expériences de fermentations et les techniques analytiques utilisées pour le suivi des paramètres et la caractérisation de la biomasse préparée.

II.2. Provenance et caractéristiques des produits et réactifs chimiques utilisés

Le tableau ci-dessous résume les produits et réactifs utilisés dans le cadre de ce travail ainsi que leur provenance respective. Les produits concentrés d'hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique ont été dilués. Les solutions diluées étaient servies à ajuster le pH.

Tableau II. 1: Caractéristiques des produits et réactifs chimiques et leur provenance

Nom de produit	Formule chimique	Propriétés physiques	Rôle / utilisation	Fournisseur/ provenance
Hydroxyde de sodium	NaOH	Pastilles blanches, très soluble dans l'eau	Ajustement le pH (agent basique)	BIO CHEM
Acide chlorhydrique	HCL	Liquide incolore à odeur piquante	Ajustement le pH (agent acides)	Sigma Aldrich
Acide lactique	C ₃ H ₆ O ₃	Liquide visqueux, incolore à jaune	Témoin de fermentation	Merck
Chlorure de fer (III)	FeCl ₃	Solide cristallin, brun noir	Coagulant /catalyseur complexe	Merck
Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	Poudre cristalline blanche, saveur sucrée	Sucre de carbone/ substrat	Sigma Aldrich
Acide acétique	CH ₃ COOH	Liquide clair,	Métabolite de	Sigma Aldrich

		odeur de vinaigre	fermentation/tampon	
Réactif DNS	$C_7H_4N_2O_7$	Poudre ou solution jaune vif	Dosage des sucres réducteurs	Sigma-Aldrich
Tartrate de sodium	$KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$	Cristaux incolores ou poudre blanche	Stabilisant du réactifs DNS	Merck
Glucose monohydraté	$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$	Cristaux blancs, pur pour analyse	Préparation de la gamme étalon	Sigma Aldrich

II.3. L'origine de la matière première

Dans le cadre de cette étude, les cladodes du cactus *Opuntia ficus-indica* a été utilisé comme matière première végétale. La récolte a été effectuée au niveau du village de GAMGOUMA, dans la commune d'El Asnam (wilaya de Bouira). Le choix de cette région se justifie par son climat semi-Aride, une condition environnementale qui stimule la plante à synthétiser des métabolites de réserve spécifiques, essentiels pour nos essais.

L'intégration de cette biomasse dans nos travaux répond à une stratégie de valorisation des ressources locales par voie biologique. En effet, ce végétal se distingue par sa richesse en polysaccharides complexes, constituant ainsi un substrat carboné idéal pour la nutrition des micro-organismes (Savatier, J. (2013)). En exploitant cette potentielle nutrition à travers divers processus de fermentation, nous visons à transformer une matière première brute en bioproduits d'intérêt. Cette démarche inscrite dans une logique de bio économie, cherchant un substrat synthétique par des alternatives naturelles, renouvelables et économiquement accessibles.

Dans cette étude, *Opuntia ficus-indica* a été sélectionnée comme biofloculant naturel en raison de sa richesse en mucilage, reconnu pour ses propriétés floculantes. La figure 2.1 présente la plante utilisée comme matière première.



Figure 2.1 : la plante d'*Opuntia ficus-indica* willaya de bouira région de Gamgouma

II.4. Préparation de la poudre du cactus

Au cours de nos essais, nous avons utilisé le cactus comme un bio flocculant sous forme poudre obtenue après les étapes suivantes:

- 1) **Lavage et nettoyage :** Les cladodes fraîches ont été rigoureusement lavées à l'eau pour éliminer les débris, les poussières et la microflore de surface.
- 2) **Découpage :** la matière a été sectionnée en fragments uniformes d'environ 1cm² afin d'augmenter la surface d'échange et d'optimiser le processus de déshydratation.
- 3) **Séchage :** les morceaux découpés ont été placés dans une étuve ventilée durant 24 heures à 60°C, une étape critique pour réduire l'humidité tout en préservant l'intégrité des polysaccharides (Benmehdi, H., & Cheriti, A. (2018)).
- 4) **Broyage :** une fois sèches, les pièces de cactus ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique de marque BOMANN jusqu'à l'obtention d'un calibre fin et homogène.
- 5) **Stockage :** le produit final a été conservé dans des flacons hermétiques à température ambiante, à l'abri de l'humidité, pour garantir sa stabilité avant son utilisation expérimentale.

Les cladodes d'*Opuntia ficus-indica* ont subi plusieurs étapes de préparation afin d'obtenir une poudre homogène et adaptée aux analyses. Ces étapes comprennent notamment le lavage, le découpage, le séchage, le broyage et le tamisage.

La figure II.1 présente les différentes étapes de préparation de la poudre de cladodes d'*Opuntia ficus-indica*



Figure II. 1: Etapes de préparation de la poudre du cactus.

II.5. Protocole de Coagulation- Flocculation (Jar -test)

Afin d'évaluer les performances de la poudre de cactus en tant que bio-adjuvant, une série de tests a été réalisée sur un effluent synthétique simulant un rejet laitier. Le protocole expérimental s'est déroulé selon les étapes suivantes [Degrémont. (2005). **Mémento technique de l'eau**, 10^{ème} éditions, éditions Lavoisier, Tec & Doc, paris, Tome1, pages 215-230] :

- 1) Préparation du rejet synthétique : dans chaque béccher d'1L, nous avons reconstitué l'effluent en mélangeant 1L d'eau de robinet avec 0,1 g de lait en poudre.
- 2) Ajout de la poudre : on a ajouté à chaque solution une masse de 2 g de poudre de cactus (biomasse préparée précédemment) afin d'utiliser cette poudre comme agent bio flocculant.
- 3) Phase de coagulation : les bécchers ont été placés sous un appareil de type Jar-test. Une vitesse d'agitation rapide de 150 tr/min a été appliqué pendant 3 minutes, afin d'assurer une dispersion homogène de la poudre et de favoriser les collisions entre les particules (Degrémont. (2005)).

- 4) Phase de floculation : la vitesse a ensuite été ralentie à 40 tr/min pendant 20 minutes. Cette étape de brassage lent permet la croissance des flocs par agrégation (**Miller, S.M., Fugate, E.J., Craver, V.O., Smith, J.A., & Zimmerman, J.B., (2008).**
- 5) Décantation : à l'issue de l'agitation, les pales ont été retirées et le système a été maintenu au repos afin de permettre la décantation gravitaire des flocs formés au fond du bécher. (Degrémont. (2005).
- 6) Récupération de la boue: Après décantation, la boue a été récupérée et séchée afin d'être utilisée pour les tests de valorisation.

II.6. Mesure de la turbidité et calcul du rendement

Pour juger de l'efficacité de la coagulation des particules colloïdales, nous avons choisi la mesure de la turbidité, moyen simple et direct pour déterminer le taux d'abattement de la matière organique (NTU). Les mesures ont été effectuées avec d'un turbidimètre de type HANNA INSTRUMENTS (HI 98703), les résultats ont exprimés en unités NTU.

La procédure opératoire : Remplir une cuvette propre avec 10 ml d'échantillon, ensuite, suppression des bulles d'air et nettoyage minutieux des parois de la cuvette avec un tissu doux pour prévenir toute interférence avec le faisceau lumineux, enfin, positionnement de la cuvette dans le support de l'appareil et mesure directe de la valeur. Le taux d'abattement (R) a été calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = [Tur (initial) - Turf (final)] * 100 \text{ (Eq. 2.1)}$$

Avec:

Tur (initial) : La turbidité de la suspension avant de « Jar test »

Tur (final) : La turbidité après 24h de décantation

II.7. Récupération de la biomasse traitée

Suite à l'étape du jar test, les béciers ont été recouverts et laissés au repos pendant une période de 24 heures afin de garantir une décantation complète des flocs. Ensuite, la phase solide (la boue) a recueilli par filtration à l'aide d'un papier filtre, puis mise dans une étuve pour être séchée. Cette méthode a abouti à une biomasse finale stabilisée et prête pour une caractérisation et la réalisation des tests de fermentation.

II.8. Etude la fermentation de la levure sur un milieu de culture à base de la boue issue du traitement d'un rejet laitier

II.8.1. Préparation de l'inoculum

La souche de *Saccharomyces cerevisiae* utilisée dans cette étude est de type boulanger, obtenue dans le commerce sous forme de levure sèche active (Saf-Instant – levure instantanée, poids de sachet : 10g). Une culture préalable est faite en phase exponentielle de croissance dans un milieu YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) à 30 °C pendant 18 à 24 h.

Le culot levurien est remis en suspension dans de l'eau distillée stérile et ajusté à une densité optique initiale de $DO_{600} \approx 0,9$ (soit environ 10^7 cellules/mL) mesurée au spectrophotomètre à 600 nm.

II.8.2. Préparation du substrat

Le substrat de fermentation est constitué par une boue provenant du traitement des rejets laitiers par biofloculation au cactus. Cette boue, qui contient des polyphénols et de la matière organique, sert de seule source de carbone et de nutriments pour la croissance de *S. cerevisiae*.

II.8.3. Conditions opératoires de la fermentation

La préparation des milieux de fermentation commence par un nettoyage minutieux des erlenmeyers de 500 mL, puis un rinçage à l'eau distillée et un séchage à l'étuve à 105 °C, afin d'éviter toute contamination initiale. On verse 200 mL d'eau distillée dans chaque erlenmeyer, puis on ajoute différentes quantités de boue pour étudier l'effet de la concentration du substrat sur la fermentation : 5, 7,5, 10, 12,5 et 15 g de boue par flacon, soit respectivement 25, 37,5, 50, 62,5 et 75 g/L. Le pH du milieu a été ajusté à 5,5.

Une fois le milieu stérile refroidi à température ambiante, on inocule chaque erlenmeyer avec la suspension microbienne. La fermentation est réalisée à 30 °C en procédé batch avec agitation orbitale à 150 tr/min pendant 24 à 48 h. Pendant cette période, des prélèvements sont centrifugés à 8000 tr/min pendant 5 min ; le surnageant recueilli est utilisé pour les dosages du pH et des sucres réducteurs, la densité optique étant mesurée sur le moût de fermentation. La concentration en sucres réducteurs est mesurée par étalonnage à partir d'une gamme étalon de glucose.

Pour libérer les sucres enfermés dans la matrice végétale du cactus et réduire l'effet inhibant des polyphénols sur la croissance des levures, on effectue une hydrolyse acide lactique sur chaque milieu en ajoutant de l'acide lactique à une concentration finale de 1 % (v/v), puis en agitant magnétiquement le mélange à température ambiante (25 ± 2 °C) pendant 4 h. On bouche hermétiquement les erlenmeyers avec du coton cardé puis on les stérilise en les plaçant dans un autoclave à 121 °C pendant 20 min.



Figure II. 2: Le fermenteur.

II.8.4. Extraction des composés phénoliques par macération

L'élimination des polyphénols a été effectuée afin de diminuer leur effet inhibiteur sur la croissance de la levure. Pour ce faire, on réalise une extraction des composés phénoliques par macération hydro-éthanolique afin d'optimiser la valorisation de la boue. Le solvant employé est une solution hydroéthanolique à 60 % (v/v). On introduit 12 g de la boue dans 100 mL de solvant. Le mélange subit une extraction dans des conditions contrôlées : température constante à 50 °C, agitation permanente à 200 tr/min sur une durée de 2 h. A la fin de la macération, on réalise la séparation du mélange, le liquide surnageant étant recueilli et conservé dans une fiole. Le résidu solide est ensuite soumis à deux macérations supplémentaires dans les mêmes conditions opératoires afin d'épuiser totalement la biomasse et d'extraire au maximum les composés phénoliques. Toutes les phases liquides récupérées sont ensuite concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapor) afin d'éliminer le solvant et d'obtenir l'extrait sec de polyphénols.

Par la suite, l'activité antioxydante de l'extrait obtenu a été évaluée afin de caractériser le potentiel antioxydant des polyphénols extraits. (Aguirre-Joya, J., De La Garza-Toledo, H., Zugasti-Cruz, A., Belmares-Cerda, R., & Aguilar-Cristóbal, N. (2013).

II.8.5. Prétraitement à l'hydrolyse acide lactique

Pour dégrader les polymères complexes et libérer les sucres fermentescibles contenus dans la boue récupérée, un prétraitement d'hydrolyse thermique en milieu acide a été mis en œuvre. Ce traitement a pour but de briser les liaisons glycosidiques des polysaccharides qui composent la matrice végétale du cactus, afin de rendre les sucres ainsi libérés disponibles pour la métabolisation par la levure *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la fermentation. Le protocole opératoire a été conduit en suivant les étapes suivantes :

On réalise une hydrolyse acide par macération de 10 g de boue séchée dans 100 mL d'une solution d'acide lactique à 2 % (v/v). Le mélange maintenu à 100 °C sous agitation constante permet de dégrader les polymères complexes et de libérer les sucres fermentescibles. Une fois la phase de chauffage terminée, l'hydrolysats ainsi obtenu est rincé à l'eau distillée, puis séché et transvasé dans des erlenmeyers. (Saha, B. C., Iten, L. B., Cotta, M. A., & Wu, Y. V. (2005).

II.9. Effet de la concentration en extrait de levure

Pour améliorer la croissance de *S. cerevisiae* sur la boue traitée, on a ajouté à son milieu de culture un extrait de levure comme source supplémentaire de facteurs de croissance, de vitamines et d'acides aminés. On a testé trois concentrations d'extrait de levure : 0,5, 1 et 1,5 g/L. Après refroidissement de l'hydrolysats de boue et avant inoculation, on y dissout l'extrait de levure et l'on homogénéise le mélange par agitation magnétique. On évalue l'effet de cet apport sur la cinétique de croissance de la levure, la consommation des sucres réducteurs et le pH du milieu, afin de déterminer la concentration optimale favorisant la fermentation sur ce substrat complexe. (Danesi, E. D. G., Rangel-Yagui, C. O., Sato, S., & de Carvalho, J. C. M. (2006)).

II.10. Dosage des sucres réducteurs

Le dosage des sucres réducteurs résiduels s'effectue par la méthode au³, 5-dinitrosalicylique (DNS), qui permet de quantifier les sucres réducteurs présents dans le milieu et ainsi de suivre la consommation du substrat par les levures au cours de la fermentation. Le réactif au DNS est préparé en dissolvant 1 g d'acide 3,5-dinitrosalicylique

dans 20 mL de soude sodique (NaOH) 2 N avec agitation magnétique. Une fois complètement dissous, ajouter graduellement 30 g de tartrate double de sodium et de potassium en chauffant légèrement à 40 °C, puis compléter à 100 mL avec de l'eau distillée. En cas de présence de particules, on effectue une filtration sur papier Whatman. La gamme d'étalonnage du glucose est réalisée à partir d'une solution mère préparée en tenant compte de l'hydratation du précurseur (1 g de glucose monohydraté = 0,9 g de glucose anhydre), diluée dans 100 mL d'eau distillée stérile à un pH maintenu entre 6,0 et 6,5. Pour le dosage, on ajoute, dans un tube à essai, 0,5 mL de surnageant filtré à 1,5 mL de réactif au DNS. On porte les tubes à ébullition à 100 °C pendant 15 min au bain-marie, puis on les refroidit immédiatement dans un bain de glace. On ajoute 3 mL d'eau distillée et on lit l'absorbance au spectrophotomètre à 540 nm. On prépare le blanc de mesure avec 0,5 mL d'eau distillée et 1,5 mL de solution de DNS, traités dans les mêmes conditions que les échantillons. (Miller, G. L. (1959)).

II.11. Activité antioxydante Test de réduction du radical DPPH (2,2 diphényl 1picrylhydrazyl) (Gulcin et Alwasel, 2023)

Le test DPPH sert à évaluer le pouvoir antioxydant des polyphénols en quantifiant leur aptitude à transformer le radical libre DPPH, stable et teinté en violet, en une forme jaune (DPPH H). Cette diminution est quantifiée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm.

II.11.1. Préparation des solutions

On prépare une solution de DPPH à une concentration de 0,1 Mm dans du méthanol. Les biomolécules sont successivement diluées dans un solvant identique, dans le but d'atteindre des concentrations finales variant de 5 à 4000 µg/ml.

Dans des éprouvettes, 1 ml de solution de DPPH (0,1 mM) est associé à 1 ml de chaque dilution d'huile essentielle. Par la suite, les tubes sont placés dans l'obscurité à 25°C pendant une demi-heure pour prévenir toute décomposition photochimique. Suite à l'incubation, l'absorbance est déterminée à 517 nm grâce à un spectrophotomètre.

On calcule le taux d'inhibition en utilisant la formule ci-après :

$$\%inhibition = \left(\frac{A_{blanc} - A_{échantillon}}{A_{blanc}} \right) \times 100$$

(BARIŞ, ÖZLEM; GÜLLÜCE, MEDİNE; ŞAHİN, FİKRETTİN; ÖZER, HAKAN; KILIÇ, HAMDULLAH; ÖZKAN, HAKAN; SÖKMEN, MÜNEVVER; and ÖZBEK, TÜLİN(2006)).

Références bibliographiques

- Aguirre-Joya, J., De La Garza-Toledo, H., Zugasti-Cruz, A., Belmares-Cerda, R., & Aguilar-Cristóbal, N. (2013). The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6), 436–442.
- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: A review. *LWT – Food Science and Technology*, 43(6), 837–842. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>
- Akanea. (2023). Les enjeux de la transition bioéconomique et de la valorisation des coproduits dans les industries agroalimentaires. *Journal du Management Agroalimentaire*, volume 14, numéro 2, pages 45-58.
- Akanni, G. B., du Preez, J. C., Steyn, L., & Kilian, S. G. (2014). Protein enrichment of an *Opuntia ficus-indica* cladode hydrolysate by cultivation of *Candida utilis* and *Khuyveromyces marxianus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(4), 1308–1316. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6985>
- Araújo, L. F., Medeiros, A. N., Neto, A. P., Oliveira, L. S. C., & Silva, F. L. H. (2005). Protein enrichment of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.) using *Saccharomyces cerevisiae* in solid-state fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(Special), 161–168. <https://doi.org/10.1590/S1516-891320050000200006>
- Barış, Ö., Güllüce, M., Şahin, F., Özer, H., Kılıç, H., Özkan, H., Sökmen, M., & Özbek, T. (2006). Biological Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Turkish Journal of Biology*, Vol. 30, No. 2, Article 2.
- Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2007.06.004>
- Benmehdi, H., & Cheriti, A. (2018). Étude de l'extraction et de la caractérisation du mucilage de la figue de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*). *Revue des BioRessources*, 8(2), 37–46.
- Bernal, M. P., Albuquerque, J. A., & Moral, R. (2009). Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology*, 100(22), 5444–5453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>
- Chang, Y.-H., Chang, K.-S., Chen, C.-Y., Hsu, C.-L., Chang, T.-C., & Jang, H.-D. (2018). Enhancement of the efficiency of bioethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* via gradually batch-wise and fed-batch increasing the glucose concentration. *Fermentation*, 4(2), Article 45. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020045>
- Coates, J. (2000). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In R. A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470027318.a5606>
- Danesi, E. D. G., Rangel-Yagui, C. O., Sato, S., & de Carvalho, J. C. M. (2006). Effect of carbon:nitrogen ratio (C:N) and substrate source on glucose-6-phosphate

- dehydrogenase (G6PDH) production by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 96–103.
- **Degrémont. (2005).** Mémento technique de l'eau (10ème édition). Éditions Lavoisier, Tec & Doc, Paris, Tome 1, pages 215-230.
 - **Demain, A. L. (2008).** Production of secondary metabolites by microorganisms. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, volume 35, numéro 10, pages 1121-1135. (C'est la référence pour "Domain, 2008" f le paragraphe ta3 les métabolites secondaires).
 - **Demain, A. L., & Adrio, J. L. (2008).** Contributions of microorganisms to industrial products. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, volume 35, numéro 12, pages 1477-1489. doi:10.1007/s10295-008-0441-2 FAO. (2021).
 - **Demirbaş, A. (2004).** Effects of temperature on pyrolysis products from biomass. *Energy Sources*, 26(8), 735–743. <https://doi.org/10.1080/00908310490438862>
 - **j.bsecv.2020.03.002.** Cette étude identifie par DRX des phases telles que la calcite, la dolomite et des phosphates calciques dans des boues riches en calcium.  ResearchGate <https://doi.org/10.1016/j.bsecv.2020.03.002>
 - **Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., & Pobiega, K. (2020).** The aspects of microbial biomass use in the utilization of selected waste from the agro-food industry. *Open Life Sciences*, 15(1), 787–796. <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0099>.
 - **Kosikowski, F. V., & Mistry, V. V. (1997).** Cheese and Fermented Milk Foods (Volume 1: Origins and Principles). 3ème Édition, F.V. Kosikowski, L.L.C., Westport, Connecticut, pages 85-112.
 - **Kowalski, M., Kowalska, K., Wiszniowski, J., et al. (2018).** Qualitative analysis of activated sludge using FT-IR technique. *Chemical Papers*, 72, 2699–2706. <https://doi.org/10.1007/s11696-018-0514-7>
 - **Leustek, T., & Saito, K. (1999).** Sulfur metabolism. *The Plant Cell*, 11(4), 577–585. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.4.577>
 - **Maathuis, F. J. M. (2014).** Potassium and sodium transport in plant cells. *Plant Physiology*, 171(1), 29–34. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00203>
 - **Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021).** Brock Biology of Microorganisms (16th ed.). <https://www.pearson.com/en-us/subject-catalog/p/brock-biology-of-microorganisms/P2000000003295>
 - **Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015).** Brock Biology of Microorganisms (14th Edition). Pearson Education, Global Edition, Boston, pages 152-178.
 - **Marschner, P. (2012).** Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (3rd ed.). Academic Press (Elsevier). <https://www.sciencedirect.com/book/9780123849052/marschners-mineral-nutrition-of-higher-plants>
 - **Mekoue Nguela, J., Vernhet, A., Julien-Ortiz, A., Sieczkowski, N., & Mouret, J.-R. (2019).** Effect of grape must polyphenols on yeast metabolism during alcoholic

- fermentation. *Food Research International*, 121, 161–175. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.038>
- **Miller, G. L. (1959).** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428.
 - **Miller, S. M., Fugate, E. J., Craver, V. O., Smith, J. A., & Zimmerman, J. B. (2008).** Toward Understanding the Efficacy and Mechanism of *Opuntia* spp. as a Natural Coagulant for Potential Application in Water Treatment. *Environmental Science & Technology*, 42(12), 4274–4279. <https://doi.org/10.1021/es7025054>
 - **Okafor, N., & Okeke, B. C. (2018).** *Modern Industrial Microbiology and Biotechnology* (2nd Edition). CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, pages 89-104.
 - **Otálora, M. C., Wilches-Torres, A., & Gómez-Castaño, J. A. (2021).** Extraction and Physicochemical Characterization of Dried Powder Mucilage from *Opuntia ficus-indica* Cladodes and Aloe Vera Leaves: A Comparative Study. *Polymers*, 13(11), 1689. <https://doi.org/10.3390/polym13111689>
 - **Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N., & Bunko, K. (2010).** Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, volume 121, numéro 3, pages 754-762. doi:10.1016/j.foodchem.
 - **Sabater, C., Ruiz, L., Delgado, S., Ruas-Madiedo, P., & Margolles, A. (2020).** Valorization of Vegetable Food Waste and By-Products Through Fermentation Processes. *Frontiers in Microbiology*, 11, 581997. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.581997>
 - **Saha, B. C., Iten, L. B., Cotta, M. A., & Wu, Y. V. (2005).** Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process Biochemistry*, 40(12), 3693–3700.
 - **Danesi, E. D. G., Rangel-Yagui, C. O., Sato, S., & de Carvalho, J. C. M. (2006).** Effect of carbon:nitrogen ratio (C:N) and substrate source on glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) production by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.054>
 - **Miller, G. L. (1959).** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
 - **BARIŞ, ÖZLEM; GÜLLÜCE, MEDİNE; ŞAHİN, FİKRETTİN; ÖZER, HAKAN; KILIÇ, HAMDULLAH; ÖZKAN, HAKAN; SÖKMEN, MÜNEVVER; and ÖZBEK, TULİN (2006)** "Biological Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae)," *Turkish Journal of Biology*: Vol. 30: No. 2, Article 2. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol30/iss2/2>.