

⑫ **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION** **A1**

②2 Date de dépôt : 31.01.23.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 02.08.24 Bulletin 24/31.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

☐ Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *DIONYMER Société par actions sim-
plifiée — FR.*

⑦2 Inventeur(s) : CHARBONNIER Guillaume Baptiste
Armand, BREGE Antoine et HENNEBEL Thomas Rémi.

⑦3 Titulaire(s) : DIONYMER Société par actions simpli-
fiée.

⑦4 Mandataire(s) : AQUINOV.

⑤4 Procédé d'obtention d'une solution d'acides gras volatils, solution obtenue et utilisation pour la production
de polyhydroxyalcanoates.

⑤7 L'invention concerne un procédé de traitement d'un
mélange obtenu à partir de déchets organiques par diges-
tion anaérobie, permettant d'obtenir une solution d'AGV
particulière. L'invention a également pour objet la solution
d'AGV obtenue et son utilisation pour produire des PHA, en
particulier des PHBV de haute qualité.



Description

Titre de l'invention : Procédé d'obtention d'une solution d'acides gras volatils, solution obtenue et utilisation pour la production de polyhydroxyalcanoates

Domaine technique

- [0001] La présente invention se rapporte à l'utilisation de déchets organiques pour produire une solution d'acides gras volatils, particulièrement adaptée pour la fabrication de polyhydroxyalcanoates de qualité.
- [0002] L'invention concerne en particulier un procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques pour obtenir une solution d'acides gras volatils. L'invention a également pour objet la solution d'acides gras volatils obtenue et son utilisation pour la production de polyhydroxyalcanoates.

Art antérieur

- [0003] Les polyhydroxyalcanoates (PHA) sont des polyesters biodégradables et biocompatibles qui peuvent être produits par fermentation par des micro-organismes, notamment des bactéries. En fonction des micro-organismes utilisés et des procédés mis en œuvre, les PHA peuvent être produits à partir de différentes matières premières, notamment des sucres, des amidons et des lipides, mais également des acides gras volatils (AGV), qui sont produits majoritairement par voie pétrochimique.
- [0004] Les PHA présentent un large éventail d'applications potentielles, notamment dans la production de bioplastiques, de matériaux d'emballage, de dispositifs médicaux, de fibres textiles, de pièces de plasturgie, de produits cosmétiques, d'objets ou pièces fabriqués par extrusion, injection moulage ou impression 3D, ou encore dans le domaine de l'encapsulation.
- [0005] Toutefois, les procédés actuels de fabrication de PHA ne sont pas adaptés et présentent de nombreux problèmes qui empêchent leur mise en œuvre à grande échelle.
- [0006] L'un des obstacles est le faible rendement de ces procédés, qui rend difficile la production de grands volumes de PHA et à un coût compétitif par rapport aux plastiques traditionnels à base de pétrole.
- [0007] De plus, les matières organiques utilisées pour la fermentation par les micro-organismes destinés à produire des PHA, sont généralement issues des espaces et cultures dédiés à l'alimentation humaine (soja, canne à sucre, colza, etc.) ce qui rend la production de PHA non viable pour répondre à la demande mondiale et remplacer durablement la pétrochimie.
- [0008] Plus récemment, des solutions ont été proposées pour produire des PHA à partir

d'acides gras volatils obtenus par digestion anaérobie de déchets organiques. Les déchets organiques étant une matière première locale, renouvelable et abondante à très faible coût, ces solutions constituent un moyen plus durable de produire des PHA.

- [0009] Toutefois, actuellement, il existe très peu de technologies commerciales rentables mettant en œuvre la fabrication de PHA à partir de déchets organiques. La principale raison est le fait que les déchets organiques constituent une matière première non pure ce qui entraîne de mauvais rendements, l'obtention de PHA impurs de mauvaise qualité et/ou colorés et des coûts de production élevés. Par ailleurs les procédés récents existants sur le marché présentent des problèmes de qualité, de rendement et reproductibilité liés en particulier au fait que ces procédés ne tiennent pas compte du fait que les déchets organiques constituent un substrat de fermentation très hétérogène.
- [0010] Aussi, si les PHA ont le potentiel d'être une alternative durable et écologique aux plastiques traditionnels, il subsiste un besoin important pour une solution permettant la production rentable de PHA durables et de grande qualité.
- [0011] L'objectif de l'invention est par conséquent de répondre à l'ensemble de ces besoins et de pallier les inconvénients et limites de l'art antérieur.

Résumé de l'invention

- [0012] Pour répondre à cet objectif, l'invention propose un procédé permettant notamment de gérer l'hétérogénéité des déchets organiques pour améliorer la qualité des produits obtenus et de réduire le coût de production des AGV et des PHA.
- [0013] A cet effet, l'invention a pour objet un procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, comprenant une étape de traitement dudit mélange par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire de façon à obtenir une solution liquide incolore comprenant des acides gras volatils (AGV).
- [0014] Préférentiellement le traitement par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire est réalisé à un pH supérieur ou égal à 6, notamment supérieur ou égal à 6,8. Un tel pH est important pour obtenir une meilleure filtration par charbon actif et/ou par filtration membranaire. Il présente également l'avantage de pouvoir plus facilement concentrer la solution en AGV.
- [0015] Avantagusement, le procédé de traitement selon l'invention permet d'obtenir une solution liquide comprenant au moins 10 g/L d'AGV, incolore et stable quel que soit les déchets organiques utilisés.
- [0016] L'invention a également pour objet une solution liquide incolore présentant un pH supérieur ou égal à 6 et comprenant au moins 10 g/L d'AGV, susceptible d'être obtenue par le procédé de traitement selon l'invention.
- [0017] La solution d'AGV selon l'invention comprend préférentiellement au moins un AGV choisi parmi les acides acétique, propionique, butyrique, isobutyrique, isovalérique,

valérique, caproïque et leurs mélanges.

[0018] Selon un mode de réalisation, la solution d'AGV selon l'invention comprend préférentiellement au moins les AGV suivants : acide acétique, acide propionique et acide butyrique.

[0019] Avantageusement, le procédé selon l'invention permet de traiter tout type de déchets organiques pour obtenir une solution d'AGV incolore présentant des caractéristiques lui permettant d'être utilisée en particulier pour la production de PHA de qualité à grande échelle. Le rendement et les propriétés du PHA dépendent de la qualité de la solution d'AGV utilisée pour les produire, et l'invention permet ainsi de lever les problèmes de défaut de qualité ainsi que les risques financiers et d'approvisionnement liés aux matières premières des procédés existants.

[0020] L'invention concerne donc également un procédé de production de polyhydroxyalcanoates (PHA) à partir de déchets organiques comprenant la mise en œuvre des étapes suivantes :

1. obtention d'un mélange par digestion anaérobie de déchets organiques,
2. traitement du mélange obtenu à l'étape 1) par le procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, et
3. transformation des AGV de la solution obtenue à l'étape 2) en PHA par au moins une bactérie halophile.

[0021] Avantageusement, les bactéries halophiles sont des bactéries qui ne nécessitent pas un milieu stérile, ce qui permet également de réduire les coûts. De plus, l'utilisation de bactéries halophiles permet une extraction des PHA plus simple et moins onéreuse que les technologies habituelles. La lyse cellulaire se fait par un simple choc osmotique avec de l'eau (et éventuellement un tensio-actif pour réduire la viscosité du milieu) alors que les méthodes habituelles d'extraction des PHA, telles que :

- Solubilisation/filtration/précipitation avec utilisation de volumes importants de solvants organiques (ex: Chloroforme, dichlorométhane, éthanol, méthanol, diméthyle carbonate, etc.)
 - Extraction mécanique à l'aide de broyeurs à billes, homogénéisateurs à haute pression, ultrasonication,
 - Utilisation de tensioactif, enzymes, acides/bases (ex: hypochlorite de sodium), peroxyde d'hydrogène ; ou
 - Utilisation de fluide supercritique,
- sont coûteuses en électricité et/ou produits chimiques.

[0022] Les procédés de traitement d'un mélange d'AGV et d'obtention de PHA selon l'invention sont mis en œuvre à partir d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques. Selon une variante de l'invention, il est préféré que les déchets organiques subissent un pré-traitement avant l'étape de digestion anaérobie. Ce pré-

traitement peut être physique et/ou chimique et/ou biologique. Il peut être choisi parmi un traitement thermique, ultrason, microonde, par homogénéisateur haute pression, acide, basique, enzymatique, fongique, par pré-fermentation lactique et la combinaison d'au moins deux de ces traitements. Selon un mode de réalisation préféré il s'agit d'un pré-traitement par pré-fermentation lactique.

[0023] Aussi, selon un aspect particulier, l'invention a également pour objet un procédé de production d'AGV par digestion anaérobie comprenant une étape de pré-fermentation lactique.

[0024] L'invention est à présent décrite en détails en regard des figures et de résultats d'essais non limitatifs.

Brève description des figures

[0025] [Fig.1a] est une photo d'une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention.

[0026] [Fig.1b] est une photographie d'une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH10).

[0027] [Fig.2] est une représentation de la comparaison de deux chromatogrammes HPLC : une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention (chromatogramme du bas) et une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH10) (chromatogramme du haut) (ordonnée = intensité mAU, abscisse = temps en min).

[0028] [Fig.3] représente le suivi de la croissance de *Haloferax mediterranei* (par le suivi de la Densité Optique de la bactérie) utilisant comme milieu de culture une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention, comparée au suivi de la croissance de *Haloferax mediterranei* (par le suivi de la Densité Optique de la bactérie) utilisant comme milieu de culture une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH 10).

[0029] [Fig.4a] est une représentation de la comparaison de deux spectres IR de PHBV obtenus avec une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH 10) (Spectre du bas) et de PHBV de référence (Spectre du haut) (ordonnée = %T, abscisse = cm^{-1}).

[0030] [Fig.4b] est une représentation de la comparaison de deux spectres IR de PHBV obtenus avec une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention (spectre du bas) et de PHBV obtenus à partir d'une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH 10) (spectre du haut) (ordonnée = %T, abscisse = cm^{-1}).

1).

- [0031] [Fig.5] est une photographie comparant des PHBV obtenus avec une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention (photographie du bas) et de PHBV obtenus à partir d'une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH 10) (photographie du haut).
- [0032] [Fig.6] est une représentation de la comparaison de deux chromatogrammes HPLC : une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention (chromatogramme du bas) et une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH9) (chromatogramme du haut) (ordonnée = intensité mAU, abscisse = temps en min).
- [0033] [Fig.7] représente le suivi de la croissance de *Haloferax mediterranei* (par le suivi de la Densité Optique de la bactérie) utilisant comme milieu de culture une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention, comparée au suivi de la croissance de *Haloferax mediterranei* (par le suivi de la Densité Optique de la bactérie) utilisant comme milieu de culture une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH 9).
- [0034] [Fig.8a] est une représentation de la comparaison de deux spectres IR de PHBV obtenus avec une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH 9) (spectre du bas) et de PHBV de référence (spectre du haut) (ordonnée = %T, abscisse = cm^{-1}).
- [0035] [Fig.8b] est une représentation de la comparaison de deux spectres IR de PHBV obtenus avec une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention (spectre du bas) et de PHBV obtenus à partir d'une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (spectre du haut) (traitement pH 9) (ordonnée = %T, abscisse = cm^{-1}).
- [0036] [Fig.9] est une photographie comparant des PHBV obtenus avec une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin sans traitement selon l'invention (photographie de gauche) et de PHBV obtenus à partir d'une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de marc de raisin après traitement selon l'invention (traitement pH9) (photographie de droite).
- [0037] [Fig.10] est une représentation de la comparaison de deux chromatogrammes HPLC : une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de déchets alimentaires sans traitement selon l'invention (chromatogramme du bas) et une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de déchets alimentaires après traitement selon l'invention (traitement pH9,5) (chromatogramme du haut) (ordonnée = intensité mAU, abscisse =

temps en min).

- [0038] [Fig.11] est une photographie comparant des PHBV obtenus avec une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de déchets alimentaires sans traitement selon l'invention (photographie de droite) et de PHBV obtenus à partir d'une solution d'AGV obtenue par digestion anaérobie de déchets alimentaires après traitement selon l'invention (traitement pH9,5) (photographie de gauche).

Description détaillée de l'invention

- [0039] Définitions
- [0040] Par « Acides gras volatils ou AGV » on entend des acides gras à chaîne carbonée courte (allant de 1 à 6 carbones).
- [0041] Par « Acidogenèse » au sens de l'invention on entend une étape de la digestion anaérobie, au cours de laquelle les acides aminés et/ou les sucres et/ou les graisses de la matière organiques sont transformés en AGV.
- [0042] Par « charbon actif » au sens de l'invention on entend un matériau à structure poreuse essentiellement constitué de matière carbonée. Le matériau possède un fort pouvoir adsorbant du fait de sa surface spécifique élevée.
- [0043] Par « déchets organiques » au sens de l'invention on entend des déchets comprenant des matières organiques.
- [0044] Par « digestion anaérobie » on entend le processus naturel au cours duquel des micro-organismes décomposent de la matière organique en l'absence d'oxygène. Elle se déroule généralement en 4 phases : Hydrolyse, acidogenèse, acétogenèse et méthanogenèse.
- [0045] Par « filtration au charbon actif » au sens de l'invention on entend un procédé de filtration (par exemple fritté, filtre racleur, filtration sous vide et/ou sous pression, etc.) où la solution d'AGV à traiter est au contact de particules de charbon actif.
- [0046] Par « pré-fermentation lactique » au sens de l'invention on entend un processus naturel au cours duquel des micro-organismes décomposent la matière organique (notamment les sucres) en acide lactique.
- [0047] Procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques
- [0048] L'invention a donc pour objet un procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, comprenant une étape de traitement dudit mélange par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire, de façon à obtenir une solution liquide incolore comprenant des AGV.
- [0049] Le mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques peut être obtenu par tout moyen de mise en œuvre d'une digestion anaérobie sur des déchets organiques.

- [0050] Les déchets organiques peuvent être choisis parmi tous les déchets organiques. Ils sont préférentiellement choisis parmi les déchets organiques suivants : du marc de raisin, des déchets organiques alimentaires, des déchets organiques agricoles, des déchets organiques de l'industrie agro-alimentaire, des déchets organiques carbonés et leurs mélanges. Il peut s'agir en particulier de :
- déchets alimentaires ménagers et de restauration, tels que des fruits, féculents et légumes,
 - déchets organiques agricoles ou de l'industrie agro-alimentaire tels que des drèches de brasseries, des marcs de fruits notamment de raisin, déchets verts, déchets de l'industrie laitière, co-produits de récoltes,
 - déchets industriels carbonés tels que la pulpe de papier, des effluents organiques
 - ou des combinaisons de ces déchets.
- [0051] Les déchets organiques sont préférentiellement préalablement broyés avant l'étape de digestion anaérobie et/ou subissent une ou plusieurs étapes de pré-traitement. Il peut s'agir par exemple d'au moins un pré-traitement choisi parmi un traitement thermique, ultrason, microonde, par homogénéisateur haute pression, acide, basique, enzymatique, fongique, par fermentation lactique et la combinaison d'au moins deux de ces traitements.
- [0052] Préférentiellement, avant digestion anaérobie (avant ou après broyage), les déchets organiques sont prétraités par pré-fermentation lactique. Une telle étape permet avantageusement d'augmenter la teneur en AGV dans la solution d'AGV et de diminuer ou supprimer les problèmes d'hétérogénéités des déchets organiques.
- [0053] L'invention a donc également pour objet un procédé d'obtention d'une solution d'AGV à partir de déchets organiques comprenant une étape de digestion anaérobie et au moins une étape de pré-traitement des déchets organiques par pré-fermentation lactique. La pré-fermentation lactique peut être précédée ou succédée par une étape de broyage des déchets et/ou par au moins un autre pré-traitement.
- [0054] Le pré-traitement par pré-fermentation lactique peut être réalisé avec des microorganismes adapté, en particulier des bactéries lactiques. Il peut s'agir préférentiellement de bactériques lactiques comme des bactéries lactobacilles et/ou bifidobacter.
- [0055] Le pré-traitement par fermentation lactique peut être réalisé dans un dispositif adapté, préférentiellement dans un digesteur anaérobie. Le pré-traitement par pré-fermentation lactique peut être réalisé avec une ou plusieurs des conditions suivantes, préférentiellement toutes :
- sous agitation,
 - à un potentiel redox inférieur à -300mV, préférentiellement entre -550 mV et -400 mV,
 - entre 20 et 60°C,

- à un pH entre 3 et 5,
 - pendant au moins 24 heures, préférentiellement entre 1 et 6 jours.
- [0056] Préférentiellement le pré-traitement par pré-fermentation lactique comprend une étape d'ajustement du pH entre 3 et 5. Cette étape permet de stabiliser le pH entre 3 et 5, car le pH de la solution devient naturellement trop acide (inférieur à 3) au cours de la fermentation des sucres en acide lactique.
- [0057] Selon un mode de réalisation particulier, l'étape de pré-fermentation lactique comprend les étapes suivantes :
- broyage, préférentiellement dans l'eau, pour obtenir une solution aqueuse comprenant entre 5 et 20% de matières sèches, notamment entre 10 et 12% de matières sèches,
 - introduction dans un digesteur anaérobie pour pré-fermentation,
 - éventuellement inoculation du réacteur à l'aide de bactéries lactiques ,
 - ajustement du pH entre 3 et 5, préférentiellement à l'aide de lessive de soude, par exemple lessive de soude NaOH 30% v/v,
 - chauffage du milieu entre 20 et 40°C,
 - au bout de 2 à 8 jours, préférentiellement 3 à 5 jours, récupération d'une solution d'acide lactique contenant des déchets organiques prétraités.
- [0058] Selon une variante, avant digestion anaérobie, le procédé comprend au moins une étape de pré-traitement des déchets organiques par pré-fermentation lactique et au moins une autre étape de pré-traitement.
- [0059] Selon un mode de réalisation, notamment si les déchets organiques ont été prétraités, en particulier par pré-fermentation lactique, une étape de séparation solide liquide peut être mise en œuvre avant digestion anaérobie pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide.
- [0060] La digestion anaérobie peut être réalisée en inoculant les déchets organiques, préférentiellement préalablement broyés et/ou prétraités, avec tout type de microorganismes anaérobie adapté, préférentiellement tout type de de bactérie anaérobie adaptée. Il peut s'agir notamment de bactéries choisies parmi les Clostridia (Clostridiaceae), Bacilli (Lactobacillaceae, Leuconostocaceae, Streptococcaceae), Propionobacter, Acetobacter et leurs mélanges. Il peut s'agir par exemple de Butyribacterium rettgeri, Pseudomonas aeruginosa, Clostridium acetobutylicum, acetobacter woodii ou le mélange d'au moins deux de ces bactéries. Il est possible également d'utiliser des bactéries anaérobies présentes naturellement dans des mélanges existants, comme des boues de stations d'épuration et/ou de lisier animal tel que du lisier de vache et/ou du liquide ruminal de ruminants.
- [0061] Selon un mode de réalisation de l'invention, la digestion anaérobie des déchets organiques est réalisée en inoculant les déchets organiques, préférentiellement pré-

lablement broyés et/ou prétraités, avec un mélange de boue de stations d'épuration et/ou de lisier animal, préférentiellement de vache.

- [0062] Préférentiellement le pH et/ou la température du mélange peuvent être ajustés avant et/ou pendant l'étape de digestion anaérobie, pour être adaptés à un pH et/ou une température idéaux pour les bactéries utilisées. L'ajustement du pH de la solution peut se faire par tout moyen adapté, notamment par ajout d'au moins un acide tel que l'acide chlorhydrique et/ou au moins d'une base telle que l'hydroxyde de sodium. L'ajustement du pH peut être facilité par introduction d'air dans la solution afin d'évaporer le CO_2 dissout et/ou par aération de la solution par brassage afin d'évaporer le CO_2 dissout.
- [0063] La digestion anaérobie est réalisée à un potentiel redox inférieur à -300mV, préférentiellement entre -550 mV et -400 mV.
- [0064] La digestion anaérobie peut être réalisée dans tout dispositif adapté permettant d'obtenir des conditions anaérobies, préférentiellement dans un digesteur anaérobie agité.
- [0065] Le mélange obtenu comprend les déchets organiques digérés et des AGV.
- [0066] Selon l'invention ce mélange est donc ensuite traité par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire, de façon à obtenir une solution liquide incolore comprenant des AGV.
- [0067] Préférentiellement, l'étape de filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire, est réalisé à un pH supérieur ou égal à 6, notamment un pH supérieur ou égal à 6,8, préférentiellement supérieur ou égal à 7. Il peut être compris notamment entre 6 et 12, entre 6 et 11, entre 6 et 10,5, entre 6,8 et 12, entre 6,8 et 11, entre 6,8 et 10,5, entre 7 et 12, entre 7 et 11, entre 7 et 10,5.
- [0068] Avantagusement un tel pH permet aux AGV d'être moins facilement captés par le charbon actif et ou par filtration membranaire tout en favorisant la captation des autres composés, notamment des composés participant à la coloration du milieu. En effet, selon l'invention, il est préférable d'avoir un tel pH car :
- à pH supérieur ou égal au pKa des AGV présents dans le mélange augmenté de 2 ($\text{pKa AGV} + 2$), les acides carboxyliques sont sous la forme carboxylate et donc :
 - *les AGV sont peu ou pas captés par le charbon actif
 - *les AGV sont plus volumineux et donc plus facilement concentrables lors de la filtration membranaire,
 - *les AGV sont plus lourds et donc peuvent être plus facilement concentrés, notamment par évapoconcentration
 - à pH inférieur ou égal à la valeur moyenne du pka des composés phénoliques présents dans le mélange diminué de 2 ($\text{pKa Phénols} - 2$), les phénols sont sous forme - OH (et non sous forme phénolate et sont donc plus facilement captés lors de la

filtration en particulier lors de la filtration au charbon actif.

- [0069] Ainsi, le procédé selon l'invention peut comprendre, préalablement à la filtration par charbon actif et/ou membranaire, une étape d'ajustement du pH du mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques à un pH désiré, ledit pH étant supérieur ou égal à 6, préférentiellement supérieur ou égal à 6,8, encore plus préférentiellement supérieur à 7.
- [0070] L'ajustement du pH du mélange peut se faire par tout moyen adapté, notamment par ajout d'au moins un acide tel que l'acide chlorhydrique et/ou au moins d'une base telle que l'hydroxyde de sodium. L'ajustement du pH peut être facilité par introduction d'air dans le mélange afin d'évaporer le CO₂ dissout et/ou par aération du mélange par brassage afin d'évaporer le CO₂ dissout.
- [0071] Selon un mode de réalisation, l'étape de filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire, est réalisée à un pH supérieur ou égal à la valeur moyenne du pKa des AGV présents dans le mélange augmenté de 2 (pka AGV +2) et inférieur ou égal à la valeur moyenne du pka des composés phénoliques présents dans le mélange diminué de 2 (pka Phénols -2).
- [0072] Lorsque le procédé comprend une étape de traitement par filtration au charbon actif, cette étape peut consister à introduire du charbon actif sous forme de poudre ou granulés. Selon un mode de réalisation adapté, le traitement par filtration au charbon actif est réalisé en ajoutant entre 0,1 et 5 % massique (poids/poids) de charbon actif sous forme de poudre ou granulés dans le mélange, notamment entre 0,2 et 5%, entre 0,3 et 5%, entre 0,5 et 5%, entre 0,8 et 5%, entre 1 et 5%.
- [0073] Selon un mode de réalisation, l'étape de filtration au charbon actif est réalisée par la mise en œuvre des sous-étapes suivantes :
- ajustement du pH du mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, à un pH supérieur ou égal à 6,
 - ajout de charbon actif sous forme de poudre dans le mélange, préférentiellement entre 0,1 et 5%,
 - agitation, préférentiellement entre 100 et 1500 tours par minute, pendant une durée d'au moins 1 minute, préférentiellement pendant au moins 5 minutes, notamment au moins 10 minutes, en particulier entre 1 et 60 minutes,
 - centrifugation, préférentiellement entre 5000 et 15 000g,
 - éventuellement filtration, par exemple sur Buchner ou verre fritté, pour éliminer les éventuelles dernières particules en suspension.
- [0074] Lorsque le procédé comprend une étape de traitement par filtration au charbon actif, cette étape peut consister à utiliser une ou plusieurs cartouches de charbon actif dans le mélange. Il peut notamment s'agir de filtre à charbon utilisé dans le traitement de l'eau. L'utilisation d'une cartouche ou d'un filtre à charbon permet une filtration en

ligne plus rapide.

- [0075] Lorsque le procédé comprend une étape de traitement par filtration membranaire, il est préférentiellement réalisé par microfiltration et/ou ultrafiltration et/ou nanofiltration et/ou osmose inverse.
- [0076] Le procédé de traitement selon l'invention d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, peut comprendre une étape préalable à la filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire, qui consiste à séparer la phase solide de la phase liquide du mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques. Ainsi le procédé de traitement selon l'invention peut comprendre, avant filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire, une étape de séparation solide/liquide d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide.
- [0077] Le procédé de traitement selon l'invention d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, peut comprendre également une étape de séparation solide / liquide après l'étape de filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire. Cette étape est particulièrement utile lors d'un traitement au charbon actif si le charbon actif est sous forme de poudre, de façon à éliminer le charbon actif de la solution d'AGV. Ainsi le procédé de traitement selon l'invention peut comprendre, après filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire, notamment après filtration au charbon actif sous forme de poudre, une étape de séparation solide/liquide, pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide.
- [0078] Selon un mode de réalisation, le traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques selon l'invention, peut comprendre au moins les étapes suivantes :
- a) séparation solide/liquide d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide,
 - b) traitement de la phase liquide obtenue à l'étape a) par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire,
 - c) éventuellement séparation solide / liquide du mélange obtenu à l'étape b), pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide,
 - d) récupération d'une solution liquide incolore comprenant des AGV.
- [0079] Les étapes de séparation solide / liquide du procédé, notamment l'étape a) et/ou l'étape c), sont préférentiellement réalisées par une méthode choisie parmi la centrifugation, la floculation, l'utilisation d'un filtre-pressé, l'utilisation d'un presseur manuel et hydraulique, l'utilisation d'un filtre à tambour rotatif, la filtration, décantation centrifuge ou une combinaison d'au moins deux de ces méthodes.
- [0080] Les phases solides éliminées lors de ces étapes de séparations peuvent être valorisées. Par exemple le digestat éliminé lors de l'étape a) peut être utilisé pour produire du

biogaz en méthanisation ou en compostage. De même, la phase solide de charbon actif récupérée à l'étape c) peut être utilisée pour régénérer un nouveau charbon actif ou utilisé pour produire du biogaz en méthanisation ou en compostage.

- [0081] Le procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques selon l'invention peut comprendre également une étape de concentration en AGV de la solution incolore. Cette étape est préférentiellement réalisée concomitamment à l'étape b) /ou après l'étape b), préférentiellement après l'étape d). Cette concentration peut notamment être réalisée lors de la filtration membranaire (à l'étape b), la filtration membranaire permettant avantageusement, en plus de filtrer, de concentrer la solution en AGV. Cette concentration peut également être réalisée concomitamment à l'étape b) et/ou après l'étape b), préférentiellement après l'étape d) par au moins une méthode choisie parmi l'évapoconcentration, l'électrodialyse, l'extraction liquide/liquide, la pervaporation, l'adsorption, la précipitation, la distillation, la filtration membranaire et une combinaison d'au moins deux de ces méthodes.
- [0082] Le procédé peut comprendre également une étape d'ajout de NaCl et d'éventuels autres minéraux dans la solution d'AGV. Le NaCl est préférentiellement ajouté à une concentration d'au moins 5% (en poids / volume de la solution d'AGV), préférentiellement entre 5 et 30%. La présence de NaCl permet de stocker le milieu sans problèmes de contamination tout en facilitant l'utilisation de la solution notamment pour produire des PHA. Le NaCl peut être ajouté seul ou avec d'autres composés.
- [0083] La solution obtenue par la mise en œuvre du procédé selon l'invention est incolore et comprend des AGV, préférentiellement au moins 10 g/L d'AGV, notamment au moins 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 g/L d'AGV.
- [0084] Préférentiellement dans la solution obtenue par le procédé l'invention, le pourcentage d'impuretés par rapport au total des molécules présentes dans la solution (impuretés + AGV) mesurés par HPLC, est inférieur à 10%. Ce ratio est calculé en prenant le total de l'aire représenté par les impuretés et le total de l'air représenté par toutes les molécules (impuretés et AGV) sur chromatogramme obtenu par HPLC. Ainsi les AGV représentent au moins 90% des molécules présentes dans la solution obtenue selon l'invention.
- [0085] Les AGV présents dans la solution obtenue par le procédé de traitement selon l'invention sont préférentiellement choisis parmi l'acide formique, l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique, l'acide valérique, l'acide hexanoïque, isobutyrique et isovalérique et leurs mélanges. De façon préférée, la solution incolore d'AGV selon l'invention comprend au moins de l'acide acétique, de l'acide propionique et de l'acide butyrique.
- [0086] Selon un mode de réalisation particulier, la solution obtenue comprend (pourcentages donnés en %massique) :

- Acétique : entre 30 et 90%, préférentiellement entre 40 et 80%
- Propionique : entre 10 et 70% préférentiellement entre 20 et 50%
- Butyrique : entre 0 et 30%, préférentiellement entre 0 et 10%.

[0087] Le procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques selon l'invention peut être mis en œuvre seul ou dans un procédé plus large d'utilisation d'AGV comme un procédé de fabrication de PHA à partir de déchets organiques.

[0088] Solution incolore d'AGV

[0089] L'invention a également pour objet une solution liquide incolore obtenue à partir de déchets organiques. Cette solution est préférentiellement obtenue par la mise en œuvre d'un procédé de traitement d'un mélange obtenu à partir de digestion anaérobie de déchets organiques.

[0090] La solution d'AGV selon l'invention est incolore et comprend au moins 10 g/L d'AGV, préférentiellement au moins 10 g/L d'AGV, notamment au moins 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 g/L d'AGV.

[0091] Préférentiellement dans la solution selon l'invention, le pourcentage d'impuretés par rapport au total des molécules présentes dans la solution (impuretés + AGV) mesurés par HPLC, est inférieur à 10%. Ce ratio est calculé en prenant le total de l'aire représenté par les impuretés et le total de l'aire représenté par toutes les molécules (impuretés et AGV) sur chromatogramme obtenu par HPLC. Ainsi les AGV représentent au moins 90% des molécules présentes dans la solution selon l'invention.

[0092] Les AGV présents dans la solution obtenue selon l'invention sont préférentiellement choisis parmi l'acide formique, l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique, l'acide valérique, l'acide hexanoïque et leurs mélanges. De façon préférée, la solution incolore d'AGV selon l'invention comprend au moins de l'acide acétique, de l'acide propionique et de l'acide butyrique.

[0093] Selon un mode de réalisation particulier, la solution d'AGV selon l'invention comprend (pourcentages donnés en %massique) :

- Acétique : entre 30 et 90%, préférentiellement entre 40 et 80%
- Propionique : entre 10 et 70% préférentiellement entre 20 et 50%
- Butyrique : entre 0 et 30%, préférentiellement entre 0 et 10%.

[0094] La solution d'AGV selon l'invention comprend préférentiellement au moins 5% de NaCl (en poids / volume de la solution d'AGV), préférentiellement entre 5 et 30%.

[0095] La solution d'AGV selon l'invention présente préférentiellement un pH supérieur ou égal à 6, notamment un pH supérieur ou égal à 6,8, préférentiellement supérieur ou égal à 7. Il peut être compris notamment entre 6 et 12, entre 6 et 11, entre 6 et 10,5, entre 6,8 et 12, entre 6,8 et 11, entre 6,8 et 10,5, entre 7 et 12, entre 7 et 11, entre 7 et 10,5.

- [0096] Si la solution d'AGV est destinée à être utilisée pour fabriquer des PHA par fermentation avec des microorganismes, le pH de la solution d'AGV peut être ajusté pour être adapté
- [0097] La solution d'AGV selon l'invention, peut être stockée dans tout contenant adapté ou utilisé sans stockage pour différentes applications, notamment pour la fabrication de PHA.
- [0098] Procédé d'obtention de PHA à partir de déchets organiques
- [0099] L'invention a également pour objet un procédé de fabrication de polyhydroxyalcanoates (PHA) à partir de déchets organiques, notamment un procédé comprenant la mise en œuvre des étapes suivantes :
1. obtention d'un mélange par digestion anaérobie de déchets organiques,
 2. traitement du mélange obtenu à l'étape 1) par le procédé de traitement pour obtenir une solution incolore contenant des AGV selon l'invention,
 3. transformation des AGV de la solution obtenue à l'étape 2) en PHA par au moins une bactérie halophile.
- [0100] La première étape du procédé consiste à obtenir un mélange par digestion anaérobie de déchets organiques.
- [0101] Le mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques peut être obtenu par tout moyen de mise en œuvre d'une digestion anaérobie sur des déchets organiques.
- [0102] Les déchets organiques peuvent être choisis parmi tous les déchets organiques. Ils sont préférentiellement choisis parmi les déchets organiques suivants : du marc de raisin, des déchets organiques alimentaires, des déchets organiques agricoles, des déchets organiques de l'industrie agro-alimentaire, des déchets organiques carbonés et leurs mélanges. Il peut s'agir en particulier de :
- déchets alimentaires ménagers et de restauration, tels que des fruits, féculents et légumes,
 - déchets organiques agricoles ou de l'industrie agro-alimentaire tels que des drèches de brasseries, des marcs de fruits notamment de raisin, déchets verts, déchets de l'industrie laitière, co-produits de récoltes,
 - déchets industriels carbonés tels que la pulpe de papier, des effluents organiques
 - ou des combinaisons de ces déchets.
- [0103] Selon un mode de réalisation particulièrement adapté, l'étape 1) comprend les étapes suivantes :
- broyage de déchets organiques,
 - éventuellement pré-traitement des déchets organiques broyés, ledit pré-traitement pouvant être réalisé avant ou après le broyage,
 - digestion anaérobie et récupération d'un mélange solide/liquide comprenant des

AGV.

- [0104] Les déchets organiques sont donc préférentiellement préalablement broyés avant l'étape de digestion anaérobie.
- [0105] L'étape de broyage est préférentiellement réalisée de façon à obtenir une solution aqueuse comprenant au moins 5% de matières sèches, préférentiellement au moins 10% de matières sèches, notamment entre 10 et 20%.
- [0106] De façon préférée, le broyage est réalisé à une taille inférieure à 100 mm, préférentiellement inférieure à 50mm, notamment à une taille comprise entre 0,1 et 100mm, en particulier entre 0,1 et 50mm.
- [0107] Le broyage peut être réalisé avec tout dispositif adapté. Il peut être réalisé notamment en présence de liquide et/ou par mélange mécanique par exemple à l'aide d'un homogénéisateur, d'un mixeur alimentaire, d'un moulin, d'un broyeur, d'un broyeur à marteau.
- [0108] Après ou avant broyage, les déchets organiques peuvent subir une ou plusieurs étapes de pré-traitement. Il peut s'agir par exemple d'au moins un pré-traitement choisi parmi un traitement thermique, ultrason, microonde, par homogénéisateur haute pression, acide, basique, enzymatique, fongique, par pré-fermentation lactique et la combinaison d'au moins deux de ces traitements.
- [0109] Selon un mode de réalisation l'étape 1 comprend au moins une étape de pré-traitement des déchets organiques par pré-fermentation lactique. Une telle étape permet avantageusement d'augmenter la teneur en AGV dans la solution d'AGV et de diminuer ou supprimer les problèmes d'hétérogénéités des déchets organiques.
- [0110] L'invention a également pour objet un procédé de fabrication de PHA à partir de déchets organiques, comprenant au moins une étape de pré-traitement des déchets organiques par pré-fermentation lactique. La pré-fermentation peut être précédée ou succédée par une étape de broyage des déchets et/ou par au moins un autre pré-traitement.
- [0111] Dans le procédé de fabrication de PHA selon l'invention, le pré-traitement par pré-fermentation lactique peut être réalisé avec des microorganismes adaptés, en particulier des bactéries lactiques. Il peut s'agir préférentiellement de bactériques lactiques comme des bactéries lactobacilles et/ou bifidobacter.
- [0112] Le pré-traitement par pré-fermentation lactique peut être réalisé dans un dispositif adapté, préférentiellement dans un digesteur anaérobie. Le pré-traitement par pré-fermentation lactique peut être réalisé avec une ou plusieurs des conditions suivantes, préférentiellement toutes :
 - sous agitation,
 - à un potentiel redox inférieur à -300mV, préférentiellement entre -550 mV et -400 mV,
 - entre 20 et 60°C,

- à un pH entre 3 et 5,
 - pendant au moins 24 heures, préférentiellement entre 1 et 6 jours.
- [0113] Préférentiellement le pré-traitement par pré-fermentation lactique comprend une étape d'ajustement du pH entre 3 et 5. Cette étape permet de stabiliser le pH entre 3 et 5, car le pH de la solution devient naturellement trop acide (inférieur à 3) au cours de la fermentation des sucres en acide lactique.
- [0114] Selon un mode de réalisation particulier, dans le procédé de fabrication de PHA selon l'invention, l'étape de pré-fermentation lactique comprend les étapes suivantes :
- broyage, préférentiellement dans l'eau, pour obtenir une solution aqueuse comprenant entre 5 et 20% de matières sèches, notamment entre 10 et 12% de matières sèches,
 - introduction dans un digesteur anaérobique pour pré-fermentation,
 - éventuellement inoculation du réacteur à l'aide de bactéries lactiques ,
 - ajustement du pH entre 3 et 5, préférentiellement à l'aide de lessive de soude, par exemple lessive de soude NaOH 30% v/v,
 - chauffage du milieu entre 20 et 40°C,
 - au bout de 2 à 8 jours, préférentiellement 3 à 5 jours, récupération d'une solution d'acide lactique contenant des déchets organiques pré-traités.
- [0115] Selon une variante, l'étape 1 du procédé de production de PHA selon l'invention, comprend au moins une étape de pré-traitement des déchets organiques par pré-fermentation lactique et au moins une autre étape de pré-traitement.
- [0116] Selon un mode de réalisation, notamment si les déchets organiques ont été prétraités, en particulier par pré-fermentation lactique, une étape de séparation solide liquide peut être mise en œuvre avant digestion anaérobie pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide.
- [0117] Dans le procédé de fabrication de PHA selon l'invention, digestion anaérobie peut être réalisée en inoculant les déchets organiques, préférentiellement préalablement broyés et/ou prétraités, avec tout type de microorganismes anaérobie adapté, préférentiellement tout type de bactérie anaérobie adaptée. Il peut s'agir notamment de bactéries choisies parmi les Clostridia (Clostridiaceae), Bacilli (Lactobacillaceae, Leuconostocaceae, Streptococcaceae), Propionobacter, Acetobacter et leurs mélanges. Il peut s'agir par exemple de Butiribacterium rettgeri, Pseudomonas aeruginosa, Clostridium acetobutylicum, acetobacter woodii ou le mélange d'au moins deux de ces bactéries. Il est possible également d'utiliser des bactéries anaérobies présentes naturellement dans des mélanges existants, comme des boues de stations d'épuration et/ou de lisier animal tel que du lisier de vache et/ou du liquide ruminal de ruminants.
- [0118] Selon un mode de réalisation de l'invention, la digestion anaérobie des déchets organiques est réalisée en inoculant les déchets organiques, préférentiellement préa-

lablement broyés et/ou prétraités, avec un mélange de boue de stations d'épuration et/ou de lisier animal, préférentiellement de vache.

- [0119] Préférentiellement le pH et/ou la température du mélange peuvent être ajustés avant et/ou pendant l'étape de digestion anaérobie, pour être adaptés à un pH et/ou une température idéaux pour les bactéries utilisées. L'ajustement du pH de la solution peut se faire par tout moyen adapté, notamment par ajout d'au moins un acide tel que l'acide chlorhydrique et/ou au moins d'une base telle que l'hydroxyde de sodium. L'ajustement du pH peut être facilité par introduction d'air dans la solution afin d'évaporer le CO₂ dissout et/ou par aération de la solution par brassage afin d'évaporer le CO₂ dissout
- [0120] Préférentiellement, dans le procédé de fabrication de PHA selon l'invention, la digestion anaérobie est réalisée à un potentiel redox inférieur à -300mV, préférentiellement entre -550 mV et -400 mV
- [0121] La digestion anaérobie peut être réalisée dans tout dispositif adapté permettant d'obtenir des conditions anaérobies, préférentiellement dans un digesteur anaérobie agité.
- [0122] Le mélange obtenu à la fin de l'étape 1) comprend les déchets organiques digérés et des AGV.
- [0123] L'étape 2) du procédé de production de PHA, consiste en la mise en œuvre du procédé de traitement d'un mélange contenant des AGV selon l'invention tel que décrit dans la présente demande et permet d'obtenir une solution d'AGV contenant éventuellement du NaCl.
- [0124] L'étape 3) du procédé de production de PHA est la transformation des AGV de la solution obtenue à l'étape 2) en PHA par au moins une bactérie halophile.
- [0125] Préalablement à l'inoculation de la solution d'AGV avec des bactéries halophiles pour produire les PHA, le procédé comprend préférentiellement :
- la supplémentation de la solution d'AGV en éléments nécessaires à la culture des bactéries halophiles utilisées pour produire les PHA, et/ou
 - un ajustement du pH à un pH nécessaire à la culture des bactéries halophiles utilisées pour produire les PHA.
- [0126] Le milieu de culture des bactéries halophiles nécessite une concentration en NaCl comprise entre 5 et 30% (poids/volume) pour une croissance et une production optimale. A ce NaCl il est important d'ajouter d'autres nutriments pour la croissance des bactéries halophiles. Il peut s'agir notamment de KCl, MgCl₂·6H₂O, MgSO₄·7H₂O, NaHCO₃, NaBr, NH₄Cl, KH₂PO₄, CaCl₂, FeCl₃ et/ou des solutions d'oligoéléments (généralement les oligoéléments sont à l'état de traces). Il est possible d'utiliser des milieux synthétiques artificiels connus pour les bactéries halophiles, notamment comportant des extraits de levures comme source de nutriments. Selon une variante

particulièrement adaptée, la solution d'AGV est supplémentée en eau de mer artificielle ou avec un mélange obtenu après évaporation d'eau de mer.

- [0127] Le pH est préférentiellement ajusté entre 6 et 8. L'ajustement du pH peut être réalisé à l'aide d'acides ou de bases ou avec un buffer adapté comme par exemple HEPES, MOPS, Tris, NaHCO₃ et/ou PIPES.
- [0128] La solution peut ensuite être inoculée avec des bactéries halophiles pour produire des PHA à partir d'AGV.
- [0129] Les bactéries halophiles sont préférentiellement choisies parmi des bactéries du genre *Halomonas*, *Haloarcula*, *Halococcus*, *Halobacterium*, *Natrinema*, *Halogeometricum*, *Halorubrum*, *Halobifoma*, *Natronobacterium*, *Natronococcus*, *Halorhabdus*, *Haloquadratum*, *Halopiger*, *Halogranum*, *Haloterrigena*, et leurs mélanges.
- [0130] Préférentiellement les bactéries sont choisies parmi les espèces *Haloferax mediterranei*, *Haloferax volcanii*, *Haloferax gibbonsii*, *Halomonas boliviensis*, *Halomonas halophila*, *Halomonas bluphagenesis* et leurs mélanges. Selon un mode de réalisation particulièrement adapté, les bactéries utilisées comprennent au moins *Haloferax mediterranei*.
- [0131] Avant d'être introduites dans la solution d'AGV selon l'invention pour produire des PHA, il est possible de prévoir une étape de pré-culture des bactéries halophiles. Cette étape de préculture peut consister en une accumulation de biomasse de bactéries halophiles sur un milieu de culture (par exemple un milieu synthétique minimal) jusqu'à la fin de la phase exponentielle de croissance, telle que définie par les conditions de culture
- [0132] Les bactéries halophiles, après ou sans étape de pré-culture préalable, sont introduites dans la solution d'AGV. L'inoculation est préférentiellement réalisée à une densité optique comprise entre 0,1 et 2. La solution d'AGV contenant les bactéries halophiles est ensuite incubée préférentiellement :
 - à une température comprise entre 30 et 60°C et/ou
 - à une vitesse de rotation comprise entre 50 et 1000 tours/minute.
- [0133] L'étape d'incubation dure préférentiellement 24 heures à 6 jours, notamment entre 3 et 5 jours.
- [0134] Pendant cette étape, les bactéries halophiles utilisent les AGV pour produire des PHA.
- [0135] La biomasse contenant les PHA est ensuite récupérée, préférentiellement après consommation totale des AGV. La récupération de la biomasse peut se faire par extraction solide / liquide, notamment par exemple par centrifugation.
- [0136] Les PHA sont ensuite extraits de la biomasse par tout moyen adapté. Une méthode particulièrement adaptée est la lyse des bactéries par choc osmotique, puis une séparation solide/liquide.

- [0137] Selon un mode de réalisation particulier, l'extraction des PHA est réalisé par la mise en œuvre des étapes suivantes :
- lyse par choc osmotique,
 - au moins une séparation solide liquide, par exemple par centrifugation, préférentiellement plusieurs séparations solide liquide séparées par des étapes de lavage à l'eau et/ou à l'éthanol.
- [0138] Les volumes d'extraction sont préférentiellement compris entre 25 et 200 % du volume de culture.
- [0139] Les PHA sont ensuite séchés par toute méthode adaptée, par exemple par « spray-drying » (séchage par pulvérisation) et/ou par séchage à l'étuve, qui peut être réalisée entre 30 et 120°C jusqu'à obtention d'une masse constante.
- [0140] Ainsi, l'étape 3) du procédé de production de PHA selon l'invention, peut comprendre la mise en œuvre des étapes suivantes :
- ajustement du pH de la solution de l'étape 2 à un pH compris entre 6 et 8,
 - ajout de NaCl et d'éventuels nutriments nécessaires à la culture des bactéries halophiles,
 - transformation des AGV de la solution obtenue à l'étape 2) en PHA par au moins une bactérie halophile, ladite bactérie halophile ayant éventuellement subi une étape préalable de préculture,
 - récupération de la biomasse contenant les PHA,
 - extraction des PHA de la biomasse,
 - éventuellement séchage des PHA obtenus.
- [0141] Selon un mode de réalisation particulier de l'invention, le procédé de production de PHA comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :
- broyage de déchets organiques,
 - au moins un pré-traitement, dont au moins un pré-traitement par pré-fermentation lactique,
 - optionnellement une étape de séparation solide / liquide,
 - digestion anaérobie,
 - séparation solide/liquide pour récupérer la fraction liquide et éliminer la fraction solide,
 - ajustement du pH supérieur à 6 et filtration au charbon et/ou filtration membranaire, et récupération d'une solution incolore d'AGV,
 - ajout de NaCl et d'éventuels autres éléments nécessaires aux bactéries halophiles utilisées dans le procédé,
 - ajustement du pH à un pH adapté aux bactéries halophiles utilisées dans le procédé,
 - transformation des AGV de la solution obtenue à l'étape 2) en PHA par au moins une bactérie halophile, ladite bactérie halophile ayant éventuellement subi une étape

préalable de préculture,

- récupération de la biomasse contenant les PHA,
- extraction des PHA de la biomasse les contenant,
- éventuellement séchage des PHA.

[0142] Les PHA obtenus par la mise en œuvre du procédé selon l'invention se présentent sous forme d'une poudre blanche.

[0143] Les PHA obtenus selon l'invention sont préférentiellement des poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) (PHBV). Les PHBV sont des co-polymères comprenant deux motifs : HV et HB. De façon préférée, les PHBV obtenus selon l'invention comportent entre 1 et 70 % molaire de motifs hydroxyvalérate (HV), préférentiellement au moins 10%, au moins 15%, au moins 20%, en particulier entre 10 à 30%.

[0144] La poudre de PHA obtenue par le procédé selon l'invention comprend au moins 90% en poids de PHBV, préférentiellement au moins 92%, encore plus préférentiellement au moins 95%. Le reste de la poudre est préférentiellement constitué au moins par :

- des résidus cellulaires, et/ou
- des protéines, et/ou
- des polymères extracellulaires, et/ou
- des pigments, et/ou
- des sels résiduels, et/ou
- des solvants résiduels.

[0145] Selon une variante, la poudre de PHBV obtenue selon l'invention comprend au moins 90% en poids de PHBV comportant au moins 10% molaire de motifs HV, préférentiellement au moins 20%.

[0146] La poudre de PHBV obtenue peut être utilisée pour de nombreuses applications telles que notamment les applications suivantes :

- Encapsulation (matrice biodégradable, relargage contrôlé)
- Cosmétique (Liant, Gélifiant, agent matifiant, agent exfoliant, etc.)
- Fibre textile (fibre textile biodégradable)
- Applications en plasturgie : pièces plastiques et emballages flexibles et rigides
- Dispositifs biomédicaux
- extrusion
- injection moulage
- impression 3D.

[0147] L'invention est à présent illustrée par des exemples et résultats d'essais non limitatifs illustrant l'invention.

Exemples

[0148] Exemple 1 : Digestion anaérobie de marc de raisin (étape 1 du procédé de production de PHA selon l'invention)

[0149] Un exemple de procédé de digestion anaérobie de marc de raisin correspondant à l'étape 1 du procédé de production de PHA selon l'invention, est présenté en suivant. Il comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- Broyage (mixeur) du marc dans de l'eau pour obtenir une solution aqueuse de marc de raisin entre 10 et 15% de matières sèche (MS).
- Introduction dans un digesteur anaérobie de 5L agité
- Inoculation à l'aide de boue de STEP ou de lisier animal (enrichi et acclimaté)
- Ajustement et régulation du pH entre 8 et 10 à l'aide de lessive de soude (NaOH 30% v/v).
- Chauffage du milieu à 35°C
- Au bout de 7 jours (temps de séjour) Sous-titrage de la solution d'AGV contenant du marc de raisin digéré
- Séparation solide/liquide (presse) Récupération de la solution d'AGV à purifier.

[0150] Exemple 2 : Digestion anaérobie de déchets organiques alimentaires avec pré-traitement (étape 1 du procédé de production de PHA selon l'invention)

[0151] Un exemple de procédé de digestion anaérobie de déchets alimentaires organiques correspondant à l'étape 1 du procédé de production de PHA selon l'invention, est présenté en suivant. Il comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- Broyage (mixeur) des déchets alimentaires dans de l'eau pour obtenir une solution aqueuse entre 10-12% de matières sèche (MS),
- Introduction dans un digesteur anaérobie de 5L agité pour pré-fermentation lactique,
- Optionnel : Inoculation du réacteur à l'aide de bactéries lactobacilles et bifidobacter
- Ajustement du pH entre 3-5 à l'aide de lessive de soude (NaOH 30% v/v)
- Chauffage du milieu à 35°C
- Au bout de 4 jours (temps de séjour) Sous-tirage de 5L de solution d'acide lactique (AL) contenant des déchets alimentaires digérés.
- séparation solide liquide pour obtenir une solution liquide d'AL,
- La solution liquide d'AL ([AL] = 15-30 g/L) est introduite dans un digesteur anaérobie agité de 5L.
- Inoculation à l'aide de boue de STEP ou de lisier animal (enrichi et acclimaté)

[0152] - Optionnel : Introduction d'air et/ou brassage du milieu pour évaporation du CO₂ dissout

- Ajustement et régulation automatique du pH entre 7-10 (la composition en AGV varie suivant les conditions).
- Chauffage à 35°C

- Au bout de 7 jours, sous-tirage du digesteur de 5L Récupération de la solution d'AGV à purifier. ([AGV] = 15-50 g/L)

[0153] Exemple 3 : Digestion anaérobie de déchets organiques alimentaires (étape 1 du procédé de production de PHA selon l'invention)

[0154] Un exemple de procédé de digestion anaérobie de déchets organiques alimentaires correspondant à l'étape 1 du procédé de production de PHA selon l'invention, est présenté en suivant. Il comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- Broyage (mixeur) des déchets alimentaires dans de l'eau pour obtenir une solution aqueuse entre 5 et 15% de matières sèche (MS)
- Introduction dans un digesteur anaérobie de 5L agité.
- Inoculation à l'aide de boue de STEP ou de lisier animal (enrichi et acclimaté)
- Ajustement et régulation du pH entre 9 et 10 à l'aide de lessive de soude (NaOH 30% v/v).
- Chauffage du milieu à 35°C
- Au bout de 7 jours (temps de séjour) Sous-tirage de la solution d'AGV contenant les déchets alimentaires digérés.
- Séparation solide/liquide (presse) Récupération de la solution d'AGV à purifier

[0155] Exemple 4 : Filtration au charbon actif (procédé de traitement selon l'invention / étape 2 du procédé de production de PHA selon l'invention)

[0156] Un exemple de procédé selon l'invention de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques (tels qu'obtenus aux exemples 1 à 3), correspondant à l'étape 2 du procédé de production de PHA selon l'invention, est présenté en suivant. Il comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- Ajustement du pH de la solution d'AGV entre 7-10,
- Ajout 1 – 5 %massique de charbon actif sous forme de poudre dans la solution d'AGV à traiter
- Agitation à 500-1500 tours par minute pendant 1-60 minutes
- Centrifugation entre 5000 et 15 000g
- Option : Filtration afin d'éliminer les dernières particules en suspension

[0157] Exemple 5 : procédé de production de PHBV à partir de déchets organiques en er-lenmeyer (étape 3 du procédé de production de PHA selon l'invention)

[0158] Un exemple de procédé de production de PHBV correspondant à l'étape 3 du procédé de production de PHA selon l'invention, est présenté en suivant. Il comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- une étape d'accumulation de biomasse (préculture) sur milieu synthétique minimal à partir d'une cryobanque de microorganisme halophile :

* Incubation de la préculture entre 30 et 45°C et rotation entre 100 et 200 tours par minute

- * Récupération de la biomasse pour production lorsqu'elle est en fin de phase exponentielle - Récupération par centrifugation (entre 5000 et 15000g)

- l'ajout des nutriments et sels, nécessaires à la croissance et production optimale du microorganisme, dans la solution d'AGV pour constituer le milieu de culture pour la production de PHBV :

- * Volume de 400mL

- * Ajout des sels (poudre) directement à la solution d'AGV issue d'acidogénèse déchets organiques

- * Ajout du buffer via solution concentrée à 200g/L de PIPES

- * Ajustement du pH entre 6 et 8.

- l'inoculation du milieu de culture avec *Haloferax mediterranei* à une densité optique comprise entre 0,1 et 2 via la biomasse de la préculture

- l'incubation de la culture d'*Haloferax mediterranei* (pour production de PHA intracellulairement), à des températures comprises entre 30°C et 45°C et des vitesses de rotation de 100tours par minute à 200tours par minute

- * Consommation totale des AGV pour les concentrations citées plus haut

- récupération de la biomasse après consommation totale du substrat (AGV) par séparation solide/liquide (vitesses de centrifugation comprises entre 5000g et 15000g pendant 10 à 20min à 20°C)

- extraction du PHBV par étapes successives :

- * lyse par choc osmotique en resuspendant la biomasse dans un volume d'une solution aqueuse de SDS à 0,1% (poids/poids), agitation de 900 tours par minute via moteur pendant 1h.

- * séparation solide liquide (centrifugation 6000g 20min 20°C)

- * lavage aqueux avec agitation à 900 tours par minute pendant 30min

- * séparation solide liquide (centrifugation 6000g 20min 20°C)

- * lavage à l'éthanol avec agitation à 900 tours par minute pendant 30min

- * séparation solide liquide (centrifugation 6000g 20min 20°C)

- * séchage à l'étuve à 60°C pendant 72h de la poudre blanche obtenue.

[0159] Les volumes d'extractions utilisés peuvent être compris entre 25% et 200% du volume de culture.

[0160] Exemple 6 : procédé de production de PHBV à partir de déchets organiques en bio-réacteur (étape 3 du procédé de production de PHA selon l'invention)

[0161] Un exemple de procédé de production de PHBV correspondant à l'étape 3 du procédé de production de PHA selon l'invention, est présenté en suivant. Il comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- une étape d'accumulation de biomasse (préculture) sur milieu synthétique minimal à partir d'une cryobanque de microorganisme halophile

- * Incubation de la préculture entre 30 et 45°C et rotation entre 100 et 200 tours par minute
- * Récupération de la biomasse pour production lorsqu'elle est en fin de phase exponentielle (~70h à 37°C 140 tours par minute)
 - l'ajout des nutriments et sels, nécessaires à la croissance et production optimale du microorganisme, dans la solution d'AGV pour constituer le milieu de culture pour la production de PHBV
- * Volume de 2 à 5L
- * Ajout des sels (poudre) directement à la solution d'AGV issue d'acidogénèse de déchets organiques
- * Ajustement du pH entre 6 et 8 via régulation automatique
 - l'inoculation du milieu de culture avec *Haloferax mediterranei* à une densité optique comprise entre 0,1 et 2 via la biomasse de la préculture
 - mise en route de la culture en bioréacteur avec les paramètres suivants :
 - * régulation de pO₂ (valeur minimale) comprise entre 5% et 30%
 - * agitation (cascade de régulation) entre 100 et 900 tours par minute
 - * aération (cascade de régulation) entre 0,1vvm et 2vvm
 - * pH régulé via solution d'HCl 2mol/L et NaOH 2mol/L
 - * température entre 30°C et 45°C
- * Consommation totale des AGV pour les concentrations citées plus haut en ~80h à 37°C et pO₂ > 20%
 - récupération de la biomasse après consommation totale du substrat (AGV) par séparation solide/liquide (vitesses de centrifugation comprises entre 5000g et 15000g pendant 10 à 20min à 20°C)
 - extraction du PHBV par étapes successives :
 - * lyse par choc osmotique en resuspendant la biomasse dans un volume d'une solution aqueuse de SDS à 0,1% (poids/poids), agitation de 900 tours par minute via moteur pendant 1h
 - * séparation solide liquide (centrifugation 6000g 20min 20°C)
 - * lavage aqueux avec agitation à 900 tours par minute pendant 30min
 - * séparation solide liquide (centrifugation 6000g 20min 20°C)
 - * lavage à l'éthanol avec agitation à 900 tours par minute pendant 30min
 - * séparation solide liquide (centrifugation 6000g 20min 20°C)
 - * séchage à l'étuve à 60°C pendant 72h de la poudre blanche obtenue.

[0162] **Essais comparatifs**

[0163] Les procédés des exemples 1 et 4 ont été combinés pour obtenir une solution d'AGV à partir de marc de raisin en faisant varier le pH à l'étape avant filtration au charbon actif :

- pH10 = solution 1T

- pH9 = solution 2T.

[0164] Les procédés des exemples 2 et 4 ont été combinés pour obtenir une solution d'AGV à partir de déchets alimentaires avec un pH à 9,5 avant filtration au charbon actif (solution 3T).

[0165] Les mêmes procédés sans filtration au charbon actif ont été mis en œuvre pour obtenir une solution d'AGV sans traitement selon l'invention :

- marc de raisin pH10 = solution 1ST

- marc de raisin pH9 = solution 2ST

- déchets alimentaires pH9,5 = solution 3ST.

[0166] Les photos des solutions d'AGV sans traitement (solution 1ST) présentée sur la [Fig.1a], et avec traitement selon l'invention (solution 1T) présentée sur la [Fig.1b], montrent clairement que l'invention permet d'obtenir une solution incolore d'AGV contrairement au procédé sans traitement selon l'invention.

[0167] Effet du traitement selon l'invention sur la solution d'AGV obtenue

[0168] Par ailleurs les solutions d'AGV ont été analysées par HPLC dans les conditions suivantes :

- HPLC : modèle Chromaster Hitachi (VWR)

- Colonne : Hi-Plex H

- Conditions : 60°C - flow de 0,2 mL d'eau qualité LC contenant 0,005M d'H₂SO₄

[0169] Les chromatogrammes de la [Fig.2] (solution 1T et solution 1ST), de la [Fig.6] (solution 2T, solution 2ST) et de la [Fig.10] (solution 3T, solution 3ST) montrent également clairement que la solution selon l'invention comprend bien des AGV mais ne comprend que très peu d'impuretés et autres constituants présents dans la solution sans traitement selon l'invention.

[0170] Pour chacun des trois exemples, Les ratios calculés en prenant le total de l'aire représenté par les impuretés et le total de l'aire représenté par toutes les molécules (impuretés et AGV) sont présentés dans les tableaux ci-dessous (tableau 1 correspondant à la [Fig.2], tableau 2 correspondant à la [Fig.6], tableau 3 correspondant à la [Fig.10]).

[0171] [Tableaux1]

	Aire totale AGV	Aire totale impuretés	Ratio
Traité selon l'invention (solution 1T)	36774758,9	3424992	9%
Non traité (solution 1ST)	38920123,4	99957886	72%

[0172] [Tableaux2]

	Aire totale AGV	Aire totale impuretés	Ratio
Traité selon l'invention (solution 2T)	33987660	3685014	10%
Non traité (solution 2ST)	34931750	37291124	52%

[0173] [Tableaux3]

	Aire totale AGV	Aire totale impuretés	Ratio
Traité selon l'invention (solution 3T)	54639725	4055293	7%
Non traité (solution 3ST)	57662836	23663522	29%

[0174] On constate que les impuretés représentent moins de 10% dans les solutions selon l'invention, alors qu'elles représentent plus de 29% sans traitement dans le cas de déchets alimentaires, et plus de 52% sans traitement dans le cas de marc de raisin.

[0175] Ainsi les AGV représentent au moins 90% des molécules présentes dans la solution selon l'invention.

[0176] Influence du pH sur le procédé de traitement selon l'invention et sur la solution d'AGV obtenue.

[0177] Par ailleurs des essais comparatifs ont été menés en faisant varier, avant filtration au charbon actif selon l'invention, le pH du mélange obtenu par digestion anaérobie de marc de raisin par mise en œuvre des procédés des exemples 1 et 4. 3 valeurs de pH

sont testées et les résultats obtenus sont comparés à ceux du mélange avant filtration.

[0178] les solutions d'AGV ont été analysées par HPLC dans les conditions suivantes :

- HPLC : modèle Chromaster Hitachi (VWR)
- Colonne : Hi-Plex H
- Conditions : 60°C - flow de 0,2 mL d'eau qualité LC contenant 0,005M d'H₂SO₄

[0179] Les calculs suivants ont ensuite été réalisés à partir des résultats HPLC obtenus (les aires sont les aires sur les chromatogrammes) :

- élimination des impuretés : 1- (Aire impuretés après) / (Aire impuretés avant)
- perte des AGV : 1- (Aire AGV après) / (Aire AGV avant).

[0180] Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

[0181] [Tableaux4]

	Avant traitement	pH 2	pH 7	pH 12
Aire AGV totale	46747458	31995693	44748152	43281074
Aire impuretés	32163171	4093371	4865524	6851552
Elimination impuretés	/	87 %	85 %	79 %
Perte AGV	/	32 %	4 %	7 %

[0182] On constate que le procédé selon l'invention permet d'éliminer une très grande partie des impuretés présentes dans le mélange avant filtration. On constate également qu'avec un pH acide (pH2), la filtration au charbon actif entraîne une importante perte des AGV présents dans le mélange avant filtration, alors qu'avec un pH supérieur ou égal à 6, la quasi-totalité des AGV présents dans le mélange avant filtration se retrouve dans les solutions d'AGV selon l'invention.

[0183] Intérêt de la solution d'AGV selon l'invention pour la croissance bactérienne

[0184] La [Fig.3] (solution T1 et solution ST1) et la [Fig.7] (solution T2 et solution ST2) comparent le suivi de la densité optique après ensemencement d'un microorganisme halophile (*Haloferax mediterranei*) d'une solution traitée selon l'invention et d'une solution non traitée. On constate que la croissance des bactéries est beaucoup plus rapide avec la solution traitée selon l'invention.

[0185] Influence de l'invention sur les PHBV obtenus

[0186] Le procédé de l'exemple 5 est ensuite mis en œuvre sur les solutions d'AGV précédemment observées (sur solution d'AGV traitée selon l'invention et sur solution d'AGV non traitée).

[0187] Les figures 4a (PHBV obtenus à partir de la solution T1) et 8a (PHBV obtenus à partir de la solution T2) comparent le spectre infrarouge des PHBV obtenus selon

l'invention comparés à ceux de PHBV de référence. On observe un spectre très proche des PHBV de référence pour les PHBV obtenus selon l'invention.

[0188] Par ailleurs, la pureté des PHBV obtenus a été mesurée par méthanolyse du PHBV (CHCl_3 - MeOH H_2SO_4 3%v/v) à 100°C pendant 5h et analyse GC avec étalon interne (benzoate de méthyle). La pureté des PHBV obtenus selon l'invention à partir des solutions d'AGV de ces exemples est d'au moins 90%.

[0189] Les figures 4b (PHBV obtenus à partir de la solution T1 et à partir de la solution ST1) et 8b (PHBV obtenus à partir de la solution T2 et à partir de la solution ST2) comparent le spectre infrarouge des PHBV obtenus selon l'invention comparés à ceux de PHBV obtenus à partir d'AGV non traités selon l'invention. On observe que les spectres IR sont très différents.

[0190] En outre, la pureté des PHBV obtenus a été mesurée par méthanolyse du PHBV (CHCl_3 - MeOH H_2SO_4 3%v/v) à 100°C pendant 5h et analyse GC avec étalon interne (benzoate de méthyle). Les résultats de pureté des PHBV sont présentés dans le tableau 5.

[0191] [Tableaux5]

	PHBV obtenus à partir d'une solution traitée selon l'invention	PHBV obtenus à partir d'une solution non traitée
Pureté (%)	90%	35%

[0192] On constate que le traitement selon l'invention permet d'augmenter très fortement la pureté en PHBV obtenue.

[0193] Enfin, les photos des poudres de PHBV obtenus sont présentées sur la [Fig.9] (PHBV obtenus à partir de la solution T1) et sur la [Fig.11] (PHBV obtenus à partir de la solution T3). On constate que la poudre de PHBV obtenue selon l'invention est blanche ce qui permet son utilisation dans de très nombreuses applications, alors que la poudre de PHA obtenue sans traitement des AGV est colorée (qu'elle soit obtenue à partir de marc de raisin ou de déchets alimentaires) et peut donc difficilement être utilisée en l'état.

[0194] Le traitement des AGV selon l'invention, et le procédé de fabrication de PHA selon l'invention ont donc un effet majeur sur la pureté des PHA obtenus, sur la coloration de la poudre et sur les rendements obtenus. L'invention permet donc de rendre accessible la fabrication à grande échelle de PHA à partir de déchets organiques.

Revendications

- [Revendication 1] Procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, comprenant une étape de traitement dudit mélange par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire à un pH supérieur ou égal à 6, de façon à obtenir une solution liquide incolore comprenant des acides gras volatils (AGV).
- [Revendication 2] Procédé de traitement selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes :
- a) séparation solide/liquide d'un mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques, pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide,
 - b) traitement de la phase liquide obtenue à l'étape a) par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire,
 - c) éventuellement séparation solide / liquide du mélange obtenu à l'étape b), pour récupérer la phase liquide et éliminer la phase solide,
 - d) récupération d'une solution liquide incolore comprenant des AGV.
- [Revendication 3] Procédé de traitement selon la revendication 2, caractérisé en ce que l'étape a) et/ou l'étape c) sont réalisées par une méthode choisie parmi la centrifugation, la floculation, l'utilisation d'un filtre-presse, l'utilisation d'un presseur manuel et hydraulique, l'utilisation d'un filtre à tambour rotatif, la filtration, la décantation-centrifuge ou une combinaison d'au moins deux de ces méthodes.
- [Revendication 4] Procédé de traitement selon l'une des revendications 2 ou 3, caractérisé en ce qu'il comprend une étape permettant de concentrer en AGV la solution incolore comprenant des AGV, ladite étape étant réalisée concomitamment à l'étape b) et/ou après l'étape d).
- [Revendication 5] Procédé de traitement selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que l'étape de traitement par filtration au charbon actif et/ou par filtration membranaire comprend, préalablement à la filtration, une étape d'ajustement du pH du mélange obtenu par digestion anaérobie de déchets organiques à un pH désiré, ledit pH étant supérieur ou égal à 6, préférentiellement supérieur ou égal à 7.
- [Revendication 6] Procédé de traitement selon la précédente revendications, caractérisé en ce que l'étape de concentration de la solution en AGV est réalisée lors de la filtration membranaire et/ou par au moins une méthode choisie parmi l'évapoconcentration, l'électrodialyse, l'extraction liquide/liquide, la pervaporation, l'adsorption, la précipitation, la distillation et une com-

- binaison d'au moins deux de ces méthodes.
- [Revendication 7] Procédé de traitement selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que le traitement par filtration au charbon actif est réalisé en ajoutant de la poudre ou des granulés de charbon actif dans le mélange contenant des AGV et/ou sur cartouche de charbon actif.
- [Revendication 8] Procédé de traitement selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que le traitement par filtration au charbon actif est réalisé en ajoutant entre 0,1 et 5 % massique de charbon actif sous forme de poudre ou de granulés dans le mélange.
- [Revendication 9] Procédé de traitement selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que le traitement par filtration au charbon actif est réalisé par la mise en œuvre des sous-étapes suivantes :
- ajustement du pH du mélange à un pH supérieur ou égal à 6, préférentiellement supérieur ou égal à 6,8,
 - ajout de charbon actif sous forme de poudre dans le mélange,
 - agitation,
 - centrifugation.
- [Revendication 10] Procédé de traitement selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que le traitement par filtration membranaire est réalisée par microfiltration et/ou ultrafiltration et/ou nanofiltration et/ou osmose inverse.
- [Revendication 11] Procédé de traitement selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que les déchets organiques sont choisis parmi du marc de raisin, des déchets organiques alimentaires, des déchets organiques agricoles, des déchets organiques de l'industrie agro-alimentaire, des déchets organiques carbonés et leurs mélanges.
- [Revendication 12] Procédé de traitement selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce qu'il comprend également une étape d'ajout de NaCl et éventuellement d'autres minéraux.
- [Revendication 13] Solution liquide incolore comprenant des acides gras volatiles susceptible d'être obtenue par un procédé de traitement selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisée en ce qu'elle présente un pH compris entre 6 et 8 et en ce qu'elle comprend au moins 10 g/L d'AGV.
- [Revendication 14] Solution liquide incolore selon la précédente revendication, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins de l'acide acétique, de l'acide propionique et de l'acide butyrique.
- [Revendication 15] Solution liquide incolore selon l'une des revendications 13 ou 14, caractérisée en ce qu'elle comprend également au moins 5% de NaCl

- (poids / volume).
- [Revendication 16] Solution incolore selon l'une des revendications 13 à 15, caractérisée en ce que le pourcentage d'impuretés présentes dans la solution par rapport au total des molécules présentes dans la solution, mesurés par HPLC, est inférieur à 10%.
- [Revendication 17] Procédé de production de polyhydroxyalcanoates (PHA) à partir de déchets organiques comprenant la mise en œuvre des étapes suivantes :
1. obtention d'un mélange par digestion anaérobie de déchets organiques,
 2. traitement du mélange obtenu à l'étape 1) par le procédé selon l'une des revendications 1 à 12 pour obtenir une solution incolore contenant des AGV,
 3. transformation des AGV de la solution obtenue à l'étape 2) en PHA par au moins une bactérie halophile.
- [Revendication 18] Procédé de production de PHA selon la revendication 17, caractérisé en ce que l'étape 1) comprend les étapes suivantes :
- broyage de déchets organiques,
 - éventuellement pré-traitement des déchets organiques broyés,
 - digestion anaérobie et récupération d'un mélange solide/liquide comprenant des AGV.
- [Revendication 19] Procédé de production de PHA selon la précédente revendication, caractérisé en ce que le pré-traitement des déchets organiques est choisi parmi un traitement thermique, ultrason, microonde, par homogénéisateur haute pression, acide, basique, enzymatique, fongique, par pré-fermentation lactique et la combinaison d'au moins deux de ces traitements.
- [Revendication 20] Procédé de production de PHA selon l'une des revendications 17 à 19, caractérisé en ce que l'étape 3 comprend les étapes suivantes :
- ajustement du pH de la solution de l'étape 2 à un pH compris entre 6 et 8,
 - ajout de NaCl et d'éventuels nutriments nécessaires à la culture des bactéries halophiles,
 - transformation des AGV de la solution obtenue à l'étape 2) en PHA par au moins une bactérie halophile,
 - récupération de la biomasse contenant les PHA,
 - extraction des PHA de la biomasse,

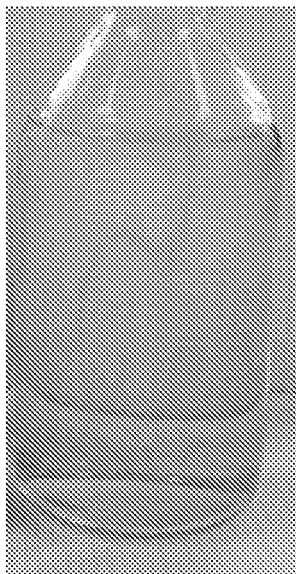
- éventuellement séchage des PHA.

- [Revendication 21] Procédé de production de PHA selon l'une des revendications 17 à 20, caractérisé en ce que les bactéries utilisées à l'étape 3) sont des bactéries choisies parmi *Haloferax mediterranei*, *Haloferax volcanii*, *Haloferax gibbonsii*, *Halomonas boliviensis*, *Halomonas halophila*, *Halomonas bluphagenesis* et leurs mélanges.
- [Revendication 22] Procédé de production de PHA selon l'une des revendications 17 à 21, caractérisé en ce que les PHA obtenus à l'étape 3 sont des poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV).
- [Revendication 23] Procédé de production de PHA selon l'une des revendications 17 à 22, caractérisé en ce que les PHA obtenus à l'étape 3 sont des PHBV comportant entre 1 et 70 % molaire de motifs hydroxyvalerate (HV), préférentiellement 10 à 30%.

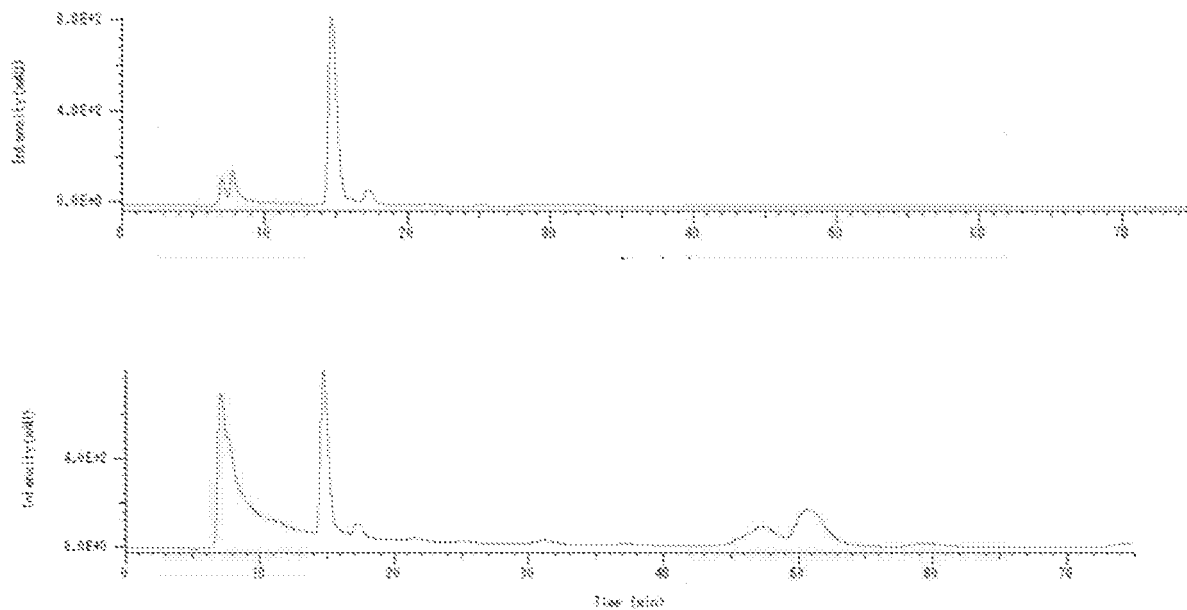
[Fig. 1a]



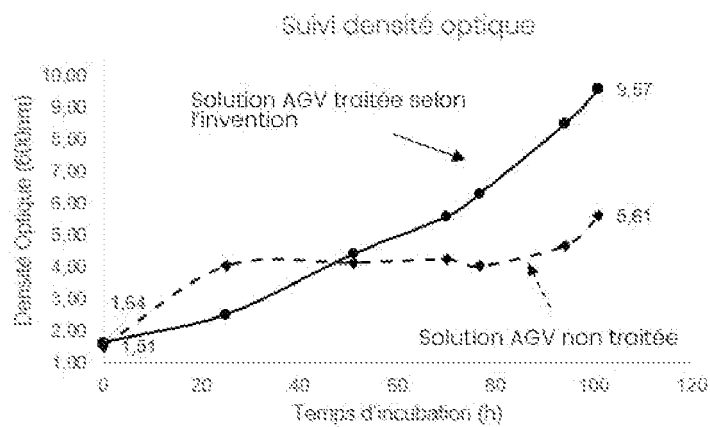
[Fig. 1b]



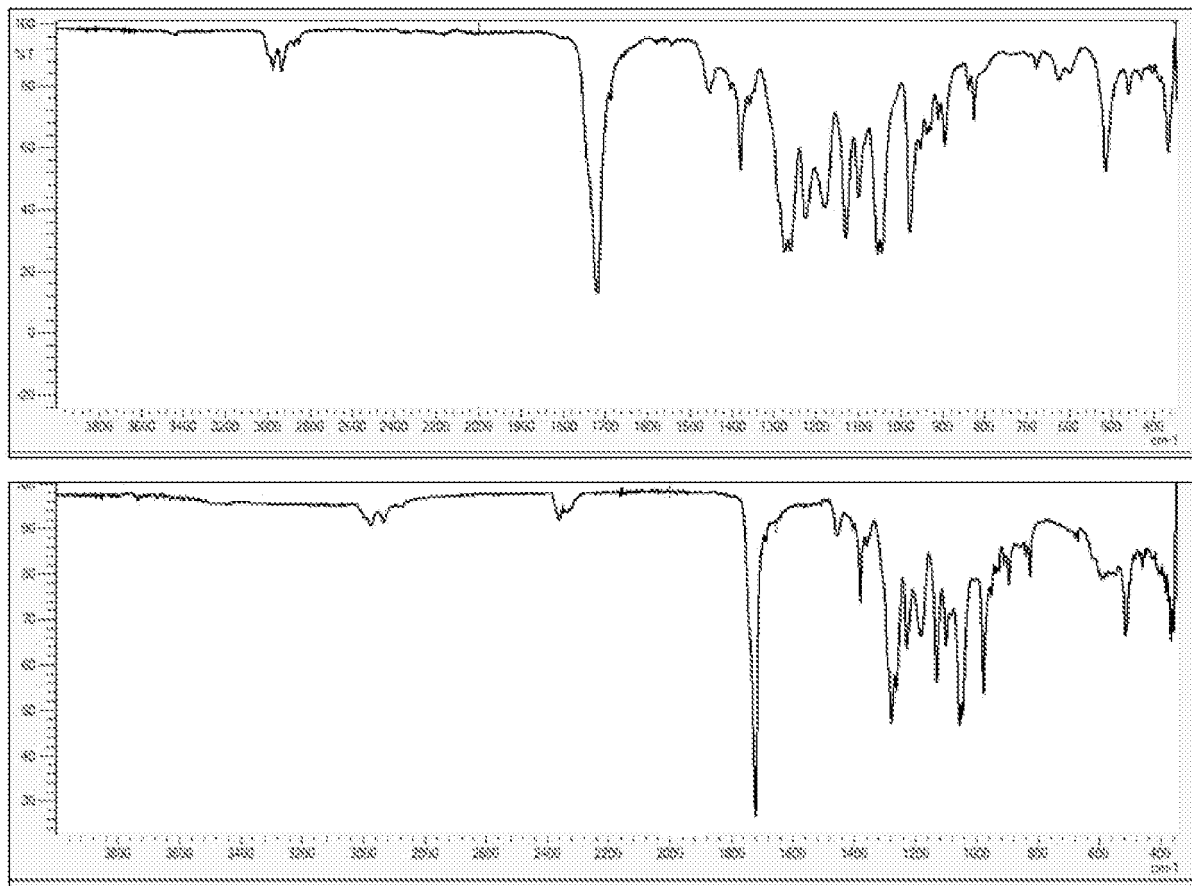
[Fig. 2]



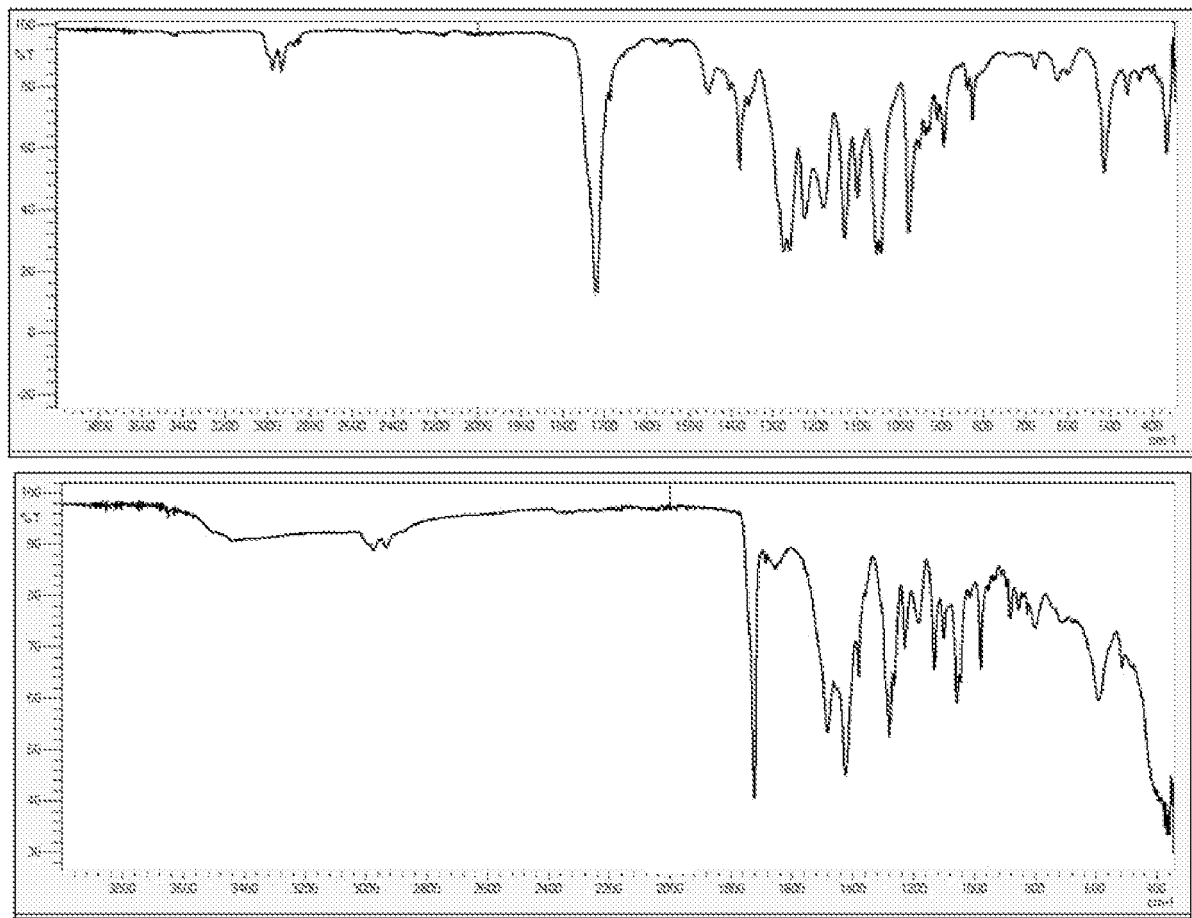
[Fig. 3]



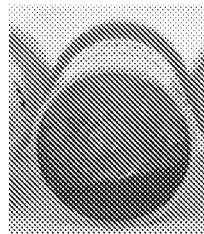
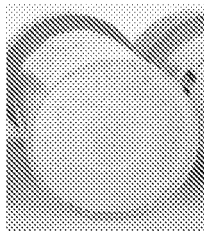
[Fig. 4a]



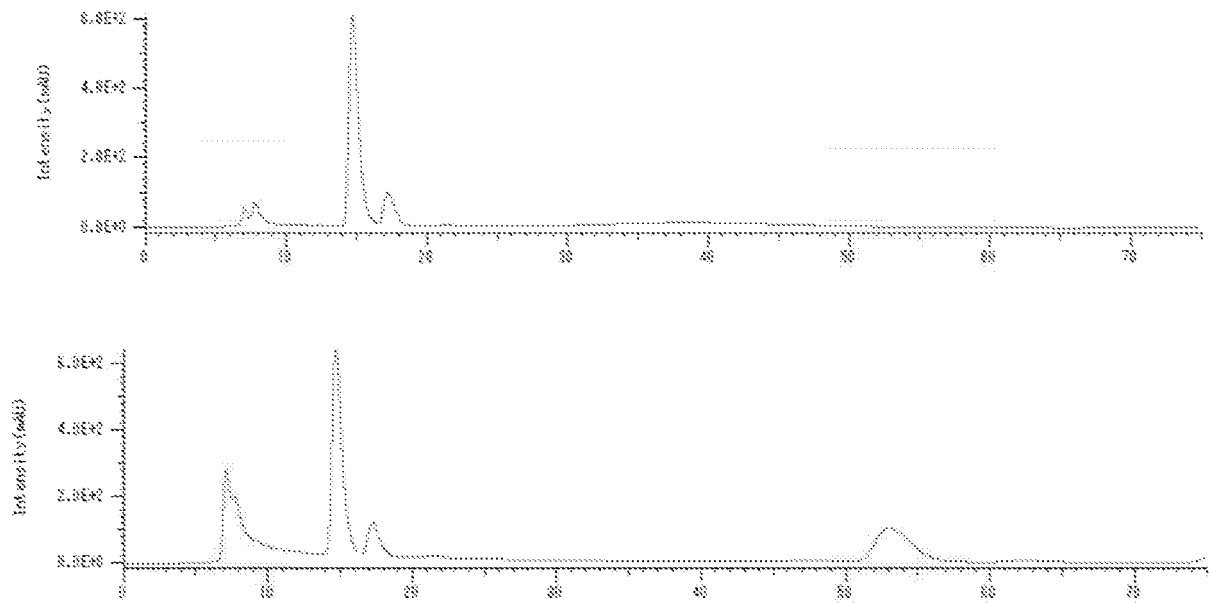
[Fig. 4b]



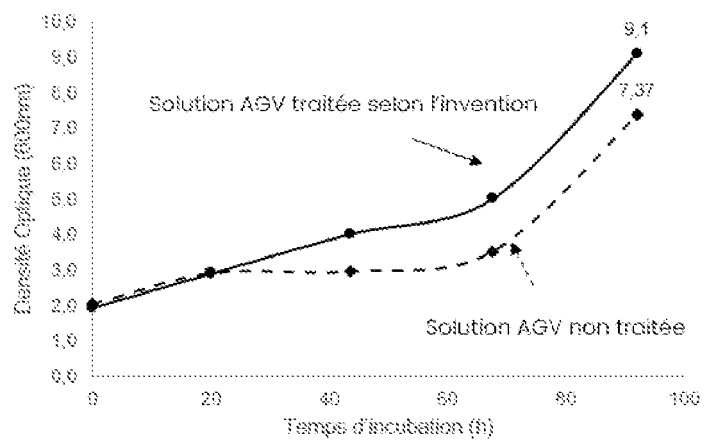
[Fig. 5]



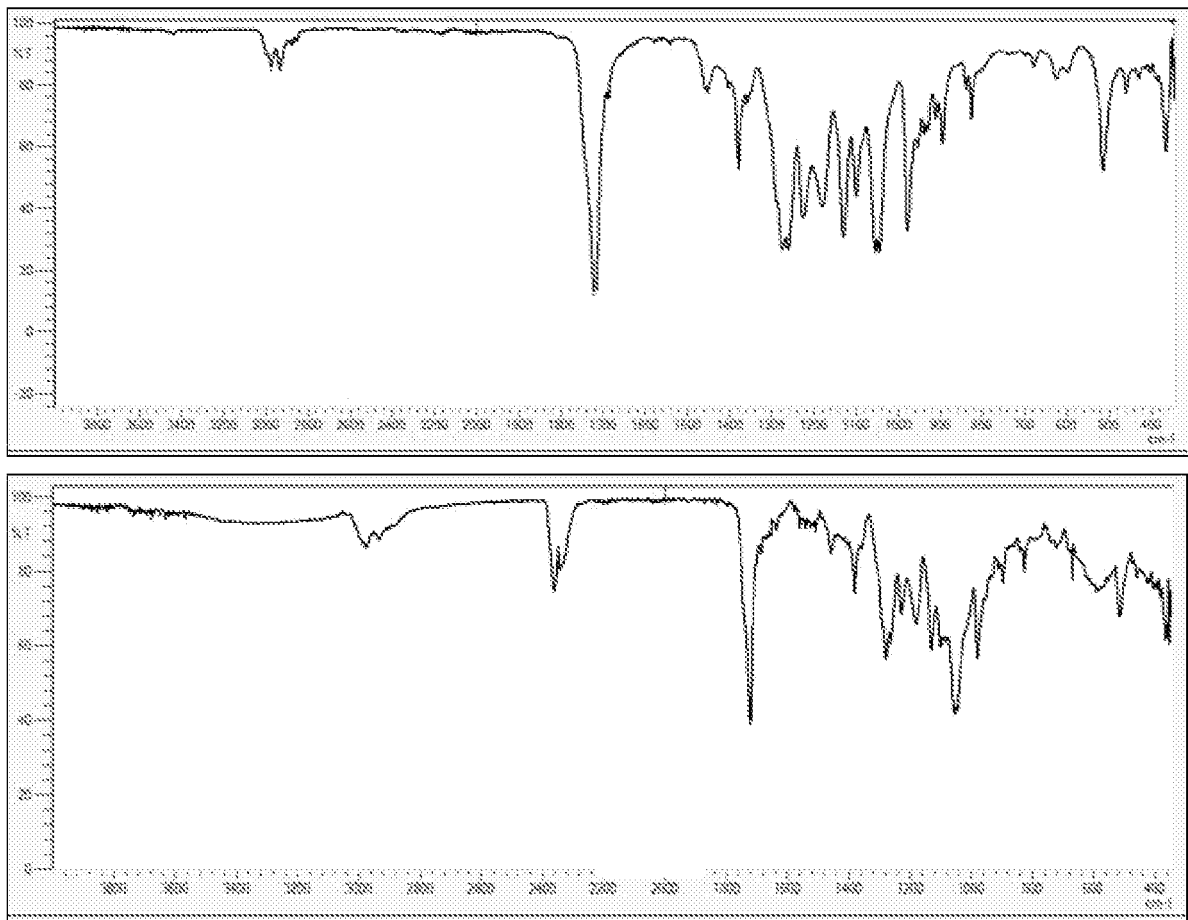
[Fig. 6]



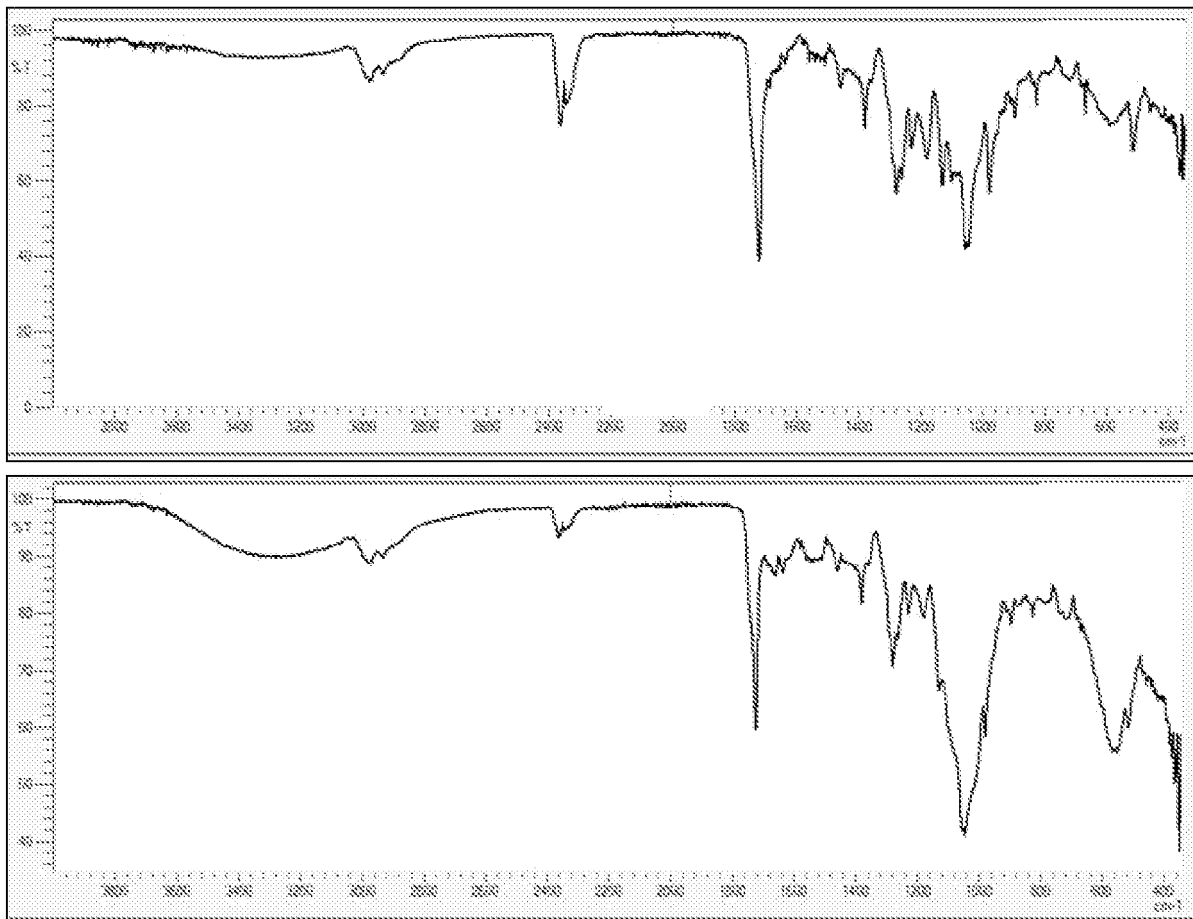
[Fig. 7]



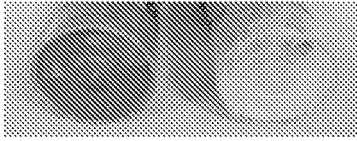
[Fig. 8a]



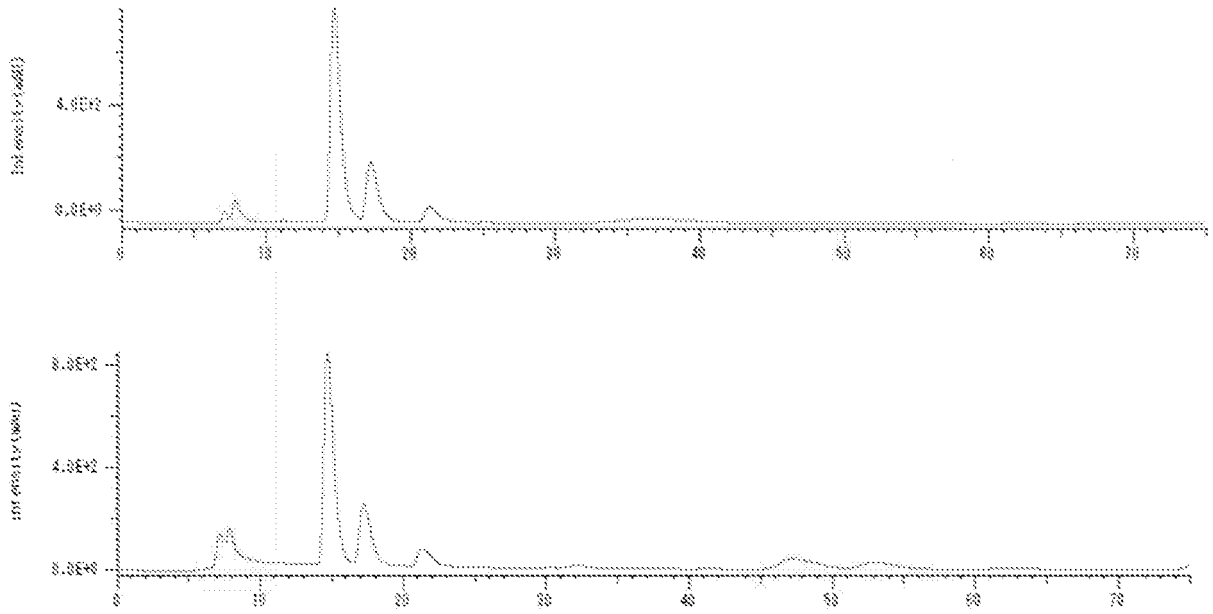
[Fig. 8b]



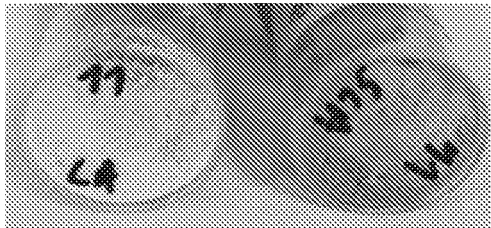
[Fig. 9]



[Fig. 10]



[Fig. 11]



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 917131
FR 2300872

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	CN 115 488 142 A (BEIJING DRAINAGE GROUP CO LTD) 20 décembre 2022 (2022-12-20)	1-3, 5, 7-9, 11	B01D 24/00 B01D 29/00
Y	* revendications 1-4; figure 1; exemples 1-9 *	4, 6, 10, 12	B01D 61/00 B01D 61/02 B01D 61/14
Y	----- US 2016/145659 A1 (ANDERSON JEFF H [US] ET AL) 26 mai 2016 (2016-05-26) * revendications * * alinéas [0158], [0184], [0192], [0196]; tableau 7 *	4, 6, 10	B01D 61/36 B01D 61/42
Y	----- US 2021/403960 A1 (ZHANG RUIHONG [US] ET AL) 30 décembre 2021 (2021-12-30) * revendications * * alinéas [0014] - [0016], [0055], [0057] *	12	
A	----- CHEN CHUANG ET AL: "Advances in downstream processes and applications of biological carboxylic acids derived from organic wastes", BIORESOURCE TECHNOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 346, 23 décembre 2021 (2021-12-23), XP086939030, ISSN: 0960-8524, DOI: 10.1016/J.BIORTECH.2021.126609 [extrait le 2021-12-23] * le document en entier * -----	1-12	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) C12P B01D
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
14 septembre 2023		Schröder, Gunnar	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B

Numéro de la demande

FA 917131
FR 2300872

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

1. revendications: 1-12

**Procédé de traitement d'un mélange obtenu par digestion
anaérobie de déchets organiques**

2. revendications: 13-16

**Solution liquide incolore comprenant des acides gras
volatils**

3. revendications: 17-23

**Procédé de production de polyhydroxyalcanoates (PHA) à
partir de déchets organiques**

La première invention a été recherchée.

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE **RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 2300872 FA 917131**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
 Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **14-09-2023**
 Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
CN 115488142	A	20-12-2022	AUCUN	

US 2016145659	A1	26-05-2016	CN 107429274	A 01-12-2017
			EP 3221460	A1 27-09-2017
			US 2016145659	A1 26-05-2016
			US 2020270652	A1 27-08-2020
			WO 2016081902	A1 26-05-2016

US 2021403960	A1	30-12-2021	AUCUN	
