

⑤④ PROCÉDE DE TRAITEMENT D'UN PRODUIT CONTENANT DE L'AMIANTE.

②② Date de dépôt : 09.09.21.

③③ Priorité :

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : *CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)
ETABLISSEMENT PUBLIC A CARACTERE
SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE —FR et
UNIVERSITE DE STRASBOURG ETABLISSEMENT
PUBLIC NATIONAL A CARACTERE SCIENTIFIQUE,
CULTUREL, PROFESSIONNEL — FR.*

④③ Date de mise à la disposition du public
de la demande : 10.03.23 Bulletin 23/10.

④⑤ Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 28.03.25 Bulletin 25/13.

⑦② Inventeur(s) : GEOFFROY Valérie et DAVID
Sébastien.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑦③ Titulaire(s) : *CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS) ETABLISSEMENT PUBLIC A
CARACTERE SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE,
UNIVERSITE DE STRASBOURG ETABLISSEMENT PUBLIC
NATIONAL A CARACTERE SCIENTIFIQUE, CULTUREL,
PROFESSIONNEL.*

⑦④ Mandataire(s) : NOVAGRAAF TECHNOLOGIES.



Description

Titre de l'invention : PROCEDE DE TRAITEMENT D'UN PRODUIT CONTENANT DE L'AMIANTE

INTRODUCTION

- [0001] La présente invention entre dans le domaine des procédés biologiques de traitement des produits contenant de l'amiante et en particulier, des déchets d'amiante.
- [0002] Les amiantes sont des minéraux fibreux de type phyllo silicates magnésiens qui ont été largement utilisés pour leurs nombreuses propriétés, notamment isolantes, et leurs résistances chimiques et mécaniques. Leur utilisation est interdite en France depuis 1997 à cause des conséquences néfastes sur la santé humaine. Actuellement, le désamiantage de nombreux sites génère des déchets qui constituent des tonnages importants auxquels la société doit faire face. Une des préoccupations majeures consiste à trouver une solution écologique, économique, rapide et applicable à échelle industrielle pour éliminer ou valoriser les différents types de déchets d'amiantes. Le chrysotile ($\text{Mg}_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$) seule espèce minérale asbestiforme du groupe des serpentines, représente 95 % de l'utilisation industrielle de l'amiante. Les principaux produits à base d'amiante proviennent principalement du secteur du BTP (bâtiments et travaux publics) et comprennent notamment, l'amiante-ciment représentant environ 80 % de la production mondiale d'amiante et l'amiante brut en vrac utilisé dans les procédés de flocage.
- [0003] Il n'existe pas à ce jour de traitement satisfaisant de l'amiante. Le moyen de désamiantage le plus utilisé actuellement en France est le stockage par enfouissement dans des centres spécialisés. Bien qu'il soit économique, il nécessite d'importantes surfaces de stockage pour entreposer les déchets. En outre, il ne permet pas de traiter la dangerosité de l'amiante (Damien, 2016). On a aussi recours à la vitrification par fusion plasma pour traiter des produits contenant de l'amiante (Spasiano and Pirozzi, 2017). Cependant, bien qu'efficace, ce moyen de désamiantage est extrêmement coûteux, notamment de par son caractère énergivore.
- [0004] Des traitements chimiques ou thermochimiques sont aussi envisagés, générant pour certains un produit de traitement valorisable et à fortes valeurs ajoutées. Néanmoins, des points limitatifs persistent. Notamment, les traitements chimiques sont basés sur l'attaque acide du chrysotile et requièrent d'utiliser des acides forts (par exemple, acides chlorhydrique, nitrique, sulfurique, ou fluorhydrique), ce qui pose des problèmes liés à la dangerosité de ces acides.
- [0005] Outre les moyens de traitement évoqués ci-dessus, des traitements biologiques sont également envisagés, utilisant notamment des sous-produits et des déchets de

l'industrie agroalimentaire. Par exemple, la demande WO 2015/166359 décrit un procédé de traitement de l'amiante comprenant la préparation d'une solution acide en soumettant des déchets de l'industrie alimentaire à une prolifération et/ou fermentation fongique et bactérienne mixte (*Saccharomyces cerevisiae* et *Acinetobacter acetii*), et le traitement d'un matériau contenant de l'amiante avec la solution/suspension acide obtenue de la fermentation mixte à une température de 120 à 170 °C et une pression de 2 à 10 bars. Un procédé utilisant le petit lait issu de l'industrie laitière a par exemple été développé pour traiter des déchets de fibrociment. En effet, le petit lait est un déchet acide, composé notamment d'acide lactique, qui permet de libérer les fibres d'amiantes de ces déchets en dissolvant la matrice cimentaire. Les fibres sont ensuite traitées par une attaque hydrothermale permettant d'obtenir un déchet inerte (EP2428254B1). Bien que ces procédés biologiques aient l'avantage d'être plus écologiques et moins dangereux que les traitements mentionnés plus haut, leur efficacité doit être améliorée en termes de désamiantage et en termes de coût. Notamment, le procédé décrit dans EP2428254B1 repose sur une forte extraction de fer et de magnésium traduisant l'altération de l'amiante. Cette extraction est liée au pH acide du petit lait ; or celui-ci augmente progressivement au cours de la réaction à cause de la dissolution de l'oxyde de magnésium, ce qui entraîne une limitation rapide de l'efficacité du procédé. Il est ainsi nécessaire d'ajouter une étape de traitement hydrothermale afin d'obtenir une altération de l'amiante plus efficace.

- [0006] D'autres auteurs décrivent l'utilisation de microorganismes dont le métabolisme permettrait d'altérer l'amiante. Par exemple, Stanik et al (2006) décrivent l'utilisation de *Lactobacillus casei* et de *Lactobacillus plantarum* dans la destruction du chrysotile de l'amiante. Cependant, la seule utilisation des métabolites (principalement des acides), produits de l'activité de ces bactéries ne parvient pas à altérer très efficacement l'amiante (seulement 7,5% de Mg et 1,3% de Fe sont extraits après 10 jours de culture).
- [0007] De ce qui précède, il apparaît que les moyens biologiques pour altérer l'amiante dans les produits la contenant sont les plus prometteurs au niveau écologique et notamment au niveau du coût car ils permettent de valoriser les déchets issus de l'industrie agroalimentaire. Cependant, l'efficacité de ces procédés doit être améliorée davantage afin que l'amiante contenue dans les produits la contenant, en particulier, les déchets, soit quasi entièrement, voire entièrement altérée par le processus biologique.
- [0008] Il existe donc toujours un besoin pour un procédé de traitement des déchets amiantés qui soit écologique et efficace.
- [0009] Alors que l'art antérieur préconise pour améliorer l'altération de l'amiante dans du petit lait d'utiliser un traitement hydrothermal, mais de ne pas utiliser de microorganismes à cause du faible taux d'altération de l'amiante (paragraphe [0016] de

EP2428254), les présents inventeurs ont trouvé de manière surprenante que l'ensemencement (ou l'inoculation) du petit lait avec des bactéries lactiques, et en particulier, avec *Lactobacillus plantarum*, permet de maintenir le pH acide du petit lait, nécessaire à l'altération de l'amiante (cf. le tableau 1 dans la partie expérimentale de la présente demande) grâce à la fermentation lactique induite par ces bactéries lors de l'altération. Cette altération de l'amiante dans du petit laitensemencé par des bactéries lactiques est confirmée par la forte extraction de fer et de magnésium (cf. la [Fig.7] de la présente demande).

[0010] Les présents inventeurs ont également découvert de manière surprenante que le taux d'altération de l'amiante est augmenté par une étape de broyage préalable du produit comprenant de l'amiante. Les auteurs ont ainsi montré que l'extraction de fer et/ou de magnésium est plus importante dans les déchets de fibrociment broyés que dans les déchets de flocage non-broyés (cf. la [Fig.7] de la présente demande).

[0011] La présente demande a ainsi pour objet un procédé de traitement d'un produit contenant de l'amiante, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

[0012] a) le broyage du produit contenant de l'amiante,

[0013] b) l'incubation dudit produit broyé à l'étape a) avec du petit laitensemencé par des bactéries lactiques.

[0014] Le terme « **amiante** » tel qu'on l'entend ici désigne les variétés de silicates hydratés, magnésiens ou calciques, formés naturellement au cours du métamorphisme des roches, pouvant être transformés en fibres minérales. Il existe diverses catégories d'amiante correspondant à plusieurs variétés minérales :

[0015] les serpentines qui sont des phyllosilicates de magnésium hydratés de structure lamellaire dont la forme fibreuse la plus courante est le « chrysotile » ou «amiante blanche » ; -

[0016] les amphiboles, silicates en chaîne double qui peuvent comprendre cinq variétés fibreuses distinctes, à savoir : les anthophyllites, les actinolites, les trémolites, les amosites dit « amiantes brunes », et les crocidolites dit « amiantes bleues », chacune différant de l'autre par sa composition chimique.

[0017] Selon un mode de réalisation du procédé, le produit comprenant de l'amiante est un déchet contenant de l'amiante. On distingue plusieurs types de déchets d'amiante :

[0018] - les déchets d'amiante libre, sous forme friable, provenant des déchets de flocage ou de calorifugeage,

[0019] - les déchets d'amiante liée, sous forme non friable, également nommés « amianteciment ou fibrociment ».

[0020] De manière générale, les déchets de flocage ou de calorifugeage sont de préférence du chrysotile de formule $[Mg_3(Si_2O_5)(OH)_4]$.

[0021] Le chrysotile ne contient pas de fer internalisé dans sa composition chimique

théorique, cependant le fer peut être présent suite à des substitutions du magnésium et du silicium sur les feuillets. En outre, le chrysotile contient du magnésium dans sa structure cristalline qu'il est possible d'extraire pour altérer ce déchet d'amiante.

- [0022] De manière générale, les déchets de fibrociment sont des déchets d'amiante de type amphibole, de préférence de l'amosite de formule $[(\text{Fe}^{2+}\text{Mg})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]$ ou du crocidolite de formule $[\text{Na}_2\text{Fe}^{2+}_3(\text{Fe}^{2+}\text{Mg})_3\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]$. Ces deux types d'amphiboles contiennent tous les deux à la fois du magnésium et du fer dans leur structure cristalline.
- [0023] Ces déchets d'amiante peuvent être de compositions « natives » ou « hétérogènes ».
- [0024] On entend ici par déchet d'amiante « **natif** », un déchet « **homogène** » contenant de l'amiante pure, c'est-à-dire le minéral pur ne comprenant pas de matériau supplémentaire dans sa structure. Un déchet d'amiante « homogène » contient des fibres d'amiante naturelles cristallisées.
- [0025] On entend ici par déchet d'amiante « **hétérogène** », un déchet contenant de l'amiante et d'autres composés, comme par exemple des métaux, du gypse, des carbonates, notamment des carbonates de calcium présents en particulier dans le ciment. Dans les matériaux de flocage qui sont particulièrement friables et dangereux, l'amiante est mélangée à du gypse.
- [0026] Selon un mode de réalisation particulier, le produit contenant de l'amiante est choisi dans le groupe comprenant un déchet de flocage ou de calorifugeage ou un déchet de fibrociment.
- [0027] Selon un autre mode de réalisation particulier, le produit comprenant l'amiante peut être un déchet d'amiante homogène ou un déchet d'amiante hétérogène.
- [0028] Plus particulièrement, les déchets d'amiante peuvent être des déchets de flocage, les dalles vinyles, du fibrociment contenant majoritairement du chrysotile et pouvant contenir éventuellement des amphiboles.
- [0029] Selon un mode de réalisation préféré, le produit contenant de l'amiante traité par le procédé décrit ici est un déchet contenant de l'amiante choisi de préférence dans le groupe consistant en déchet de flocage ou de calorifugeage ou en du fibrociment, présentant une composition homogène ou hétérogène.
- [0030] Le procédé décrit ici permet de transformer les déchets d'amiante, notamment par la réduction de la concentration du magnésium et/ou de fer jusqu'à obtention d'un déchet altéré constitué d'une phase solide et d'une phase liquide. Ces deux phases peuvent être séparées par toutes techniques connues de l'homme de l'art, en vue notamment de la valorisation de chacune d'elles.
- [0031] La phase solide du déchet altéré, dite « déchet altéré solide » pourra par la suite servir de matériau de base à la fabrication de zéolithe. De la même manière, ladite phase liquide du déchet altéré, dite « déchet altéré liquide » pourra être valorisée notamment

par une récupération du fer et/ou magnésium.

- [0032] On entend ici par « **déchets altérés solides** » un déchet d'amiante dont la structure cristalline est modifiée et déstructurée car elle est appauvrie ou exempte de fer et/ou magnésium suite à une extraction totale ou partielle par mise en contact du produit broyé comprenant l'amiante, de préférence du déchet d'amiante avec du petit laitensemencé avec des bactéries lactiques.
- [0033] On entend ici par « **déchets altérés liquides** », la phase liquide comprenant le petit lait, obtenu après l'étape b) d'incubation dans laquelle se retrouve le fer et/ou magnésium qui ont été extraits du déchet d'amiante.
- [0034] En d'autres termes, le déchet altéré obtenu contiendra une quantité en fibre d'amiante inférieure, voire nulle, par rapport à la quantité présente initialement dans le déchet d'amiante avant la mise en œuvre du présent procédé.
- [0035] Comme mentionné plus haut, l'altération du produit contenant de l'amiante et de préférence, du déchet contenant de l'amiante est obtenue grâce au broyage de celui-ci et à l'incubation du produit broyé avec du petit laitensemencé par des bactéries lactiques.
- [0036] Le terme « **broyage** » tel qu'utilisé ici se réfère à un traitement mécanique capable de transmettre de l'énergie mécanique au produit broyé contenant de l'amiante. Le broyage à l'étape a) du procédé pourrait être réalisé dans n'importe quel type de broyeur ayant les dimensions et les caractéristiques mécaniques permettant de broyer en toute sécurité le produit contenant de l'amiante en diminuant la longueur des fibres augmentant la surface spécifique. Particulièrement, le broyage est réalisé dans un broyeur planétaire à billes (FRITSCH PULVERISETTE 6) ou dans un broyeur planétaire Retsch PM100. De préférence, le broyeur est un broyeur planétaire Retsch PM100.
- [0037] De manière préférée le broyage à l'étape a) du procédé est réalisé dans un broyeur planétaire qui broie le produit contenant de l'amiante pendant 10 minutes à 500 rpm. L'homme du métier est capable d'adapter le temps et la vitesse de broyage en fonction du type de produit contenant de l'amiante broyé, de sa taille et de ses autres caractéristiques physiques.
- [0038] Lorsqu'un produit contenant de l'amiante est broyé, notamment lorsque ce produit est un fibrociment, le broyage a lieu de préférence dans un milieu liquide afin de prévenir la dissémination des fibres et de poussières d'amiante. Tout milieu liquide qui convient à cette utilisation peut être utilisé. Par exemple, ce milieu liquide peut être de l'eau ou un déchet liquide de l'industrie agroalimentaire permettant la croissance des bactéries lactiques, tel que le jus de choucroute ou le petit lait. De préférence, le milieu liquide est de petit lait.
- [0039] Ainsi, selon un mode de réalisation particulier, le broyage à l'étape a) est réalisé en

milieu liquide, de préférence dans du petit lait.

[0040] On entend ici par « **petit lait** » (ou encore appelé « lactosérum ») la partie liquide résiduelle de la coagulation du lait. Le petit lait est un liquide jaune-verdâtre, composé d'environ 94 % d'eau, de sucre (lactose), de protéines et de très peu de matières grasses. Au début de la transformation du lait pour la fabrication du fromage, celui-ci est coagulé par ajout de présure ou par l'action acidifiante des bactéries lactiques ou par acidification chimique. Il en résulte une agrégation des micelles de caséine du lait, qui donne un gel (ou caillé ou *coagulum*). Un liquide aqueux, appelé « lactosérum » ou «petit lait», se sépare du caillé. Cette étape de caillage consiste en une séparation des protéines totales laitières en deux phases protéiques : la phase aqueuse contenant les protéines sériques ou hydrosolubles du lait (β -lactoglobuline, α -lactalbumine, sérum albumine, lactoferrine, caséinomacropéptide) et la phase solide dans laquelle a été retenue la caséine hydrophobe (caséine α , caséine β , para- κ -caséine). Le petit lait utilisé dans le procédé décrit ici est un petit lait acide ayant un pH compris généralement entre 3,5 et 4,5. En particulier, les inventeurs ont utilisé du petit lait fourni par la société Alsace lait.

[0041] Le terme « **bactéries lactiques** » tel qu'il est utilisé ici se réfère à des microorganismes unicellulaires procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Les bactéries lactiques tolèrent des pH acides et possèdent un métabolisme anaérobie strict ou aérotolérant. Les bactéries lactiques telles qu'on les entend ici possèdent un métabolisme fermentaire. Elles produisent notamment de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme en fermentant les sucres (glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose et lactose) chez les bactéries homofermentaires, en plus de l'éthanol et CO₂ chez les bactéries hétérofermentaires.

[0042] On entend notamment par « bactéries lactiques » des bactéries des familles des *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Leuconostocaceae* et *Bifidobacteriaceae*. Préférentiellement, on utilise principalement ici les bactéries lactiques appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium*, qui sont des bactéries lactiques indigènes trouvées dans le tube digestif humain. Plus préférentiellement, les bactéries lactiques utilisées dans le présent procédé appartiennent au genre *Lactobacillus* ou *Lactococcus*. De manière encore plus préférée, ces bactéries appartiennent au genre *Lactobacillus*. De façon encore plus préférée, les bactéries lactiques utilisées dans le présent procédé sont *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus pentosus* ou *Lactobacillus plantarum*, de préférence *Lactobacillus plantarum*.

[0043] Ainsi, selon un mode de réalisation préféré, les bactéries lactiques utilisées dans le

présent procédé sont des bactéries à métabolisme fermentaire, en particulier des lactobacilles ou des lactocoques, de préférence *Lactobacillus casei* ou *Lactobacillus plantarum* et de manière plus préférée *Lactobacillus plantarum*.

- [0044] Selon un autre mode de réalisation, le procédé décrit ici peut comprendre, préalablement à l'étape b), une étape d'ensemencement (ou inoculation) du petit lait par des bactéries lactiques.
- [0045] Cette étape d'ensemencement (inoculation) peut être réalisée avant, en parallèle ou après l'étape a) de broyage du produit comprenant de l'amiante.
- [0046] L'étape d'ensemencement (ou d'inoculation) est réalisée par la mise en culture des bactéries lactiques dans un milieu de culture appropriée à la croissance bactérienne, en particulier un milieu de culture qui favorise la croissance des bactéries lactiques. L'homme du métier sera capable de sélectionner tout milieu approprié pour la croissance des bactéries lactiques. De préférence, le milieu de culture est choisi parmi un milieu MRS (Gélose de Man, Rogosa, Sharpe), un milieu riche de type LB (Luria Broth) ou un milieu minimal (MOPS) complété ou non avec de glucose. De manière plus préférée, le milieu de culture est un milieu MRS (Gélose de Man, Rogosa, Sharpe).
- [0047] La mise en culture des bactéries lactiques dans le milieu de culture est réalisée pour une durée pouvant aller de 20 à 30 heures, de préférence, de 22 à 28 heures, de manière plus préférée de 24 à 26 heures et de manière encore plus préférée, cette durée est de 24 heures.
- [0048] La température de culture des bactéries lactiques dans le milieu de culture est une température favorable à la croissance bactérienne. De préférence, cette température est comprise entre 20°C et 40°C, de manière préférée, entre 25°C et 37°C, de manière plus préférée, entre 30°C et 35°C et de manière encore plus préférée, la température de mise en culture est de 30°C.
- [0049] Selon un mode de réalisation préféré, la mise en culture des bactéries lactiques est réalisée dans un milieu MRS, pendant 24 à 26 heures, de préférence, pendant 24 heures à une température comprise entre 30°C et 35°C, de préférence à 30°C.
- [0050] A la fin de la période de culture, la culture bactérienne est centrifugée pendant une durée allant de 3 à 10 minutes, de préférence, de 5 à 7 minutes et de manière plus préférée, pendant une durée de 5 minutes.
- [0051] La vitesse de centrifugation peut être comprise entre 1000 et 20000 g, de préférence entre 5000 et 10000 g et de manière plus préférée, entre 8000 et 10000 g.
- [0052] Selon un mode de réalisation particulièrement préféré, les bactéries lactiques sont cultivées dans un milieu de culture MRS pendant 24 heures à 30°C et la culture est ensuite centrifugée pendant 5 minutes.
- [0053] Après la centrifugation, le culot est lavé, de préférence dans du petit lait et remis en

suspension dans du petit lait. Le lavage, de préférence le lavage dans du petit lait peut être réalisée au moins une fois, de préférence 2 à 10 fois, de manière plus préférée de 2 à 8 fois et de manière encore plus préférée, de 2 à 4 fois.

[0054] La concentration des bactéries lactiques dans le petit laitensemencé par ces bactéries est ensuite ajustée par la dilution de la culture bactérienne dans du petit lait et la densité optique (DO) des bactéries à une longueur d'onde de 600 nm (DO600) a été mesurée.

[0055] Le terme « **densité optique à 600 nm (DO600)** » tel qu'on l'utilise ici se réfère à la mesure de la croissance bactérienne par densité optique à 600 nm. Cette mesure est basée sur le mode de détection d'absorbance et détermine essentiellement quelle partie de la lumière traverse un échantillon de bactéries. Les particules en solution dispersent la lumière et plus il y a de particules (bactéries) dans une suspension, plus elles dispersent la lumière. Par conséquent, une population de bactéries en réplication augmente la dispersion de la lumière et les valeurs d'absorbance mesurées. Dans le même temps, cela signifie que le mode d'absorbance n'est exploité que pour déterminer l'étendue de la dispersion de la lumière au lieu de mesurer l'absorbance physique de l'énergie lumineuse en absorbant des molécules. Ainsi la dispersion de la lumière et la valeur OD600 peut être directement liée au nombre des bactéries.

[0056] Selon un mode de réalisation du procédé décrit ici, la densité optique à 600 nm (DO600) des bactéries lactiques dans le petit lait à la fin de l'étape d'ensemencement (d'inoculation) est comprise entre 0,5 et 2, de préférence entre 1 et 1,5 et de manière préférée est de 1.

[0057] Après l'étape d'ensemencement du petit lait avec les bactéries lactiques, le petit lait ainsiensemencé est mis en contact avec le produit contenant de l'amiante. De préférence, la mise en contact se fait dans du petit lait de manière à obtenir un mélange contenant le petit laitensemencé par des bactéries lactiques, le petit lait et le produit broyé contenant de l'amiante. Dans ce mélange, le rapport entre le petit laitensemencé par des bactéries lactiques et le petit lait peut être compris entre 1 et 1000, de préférence entre 2 et 1000 et la quantité du déchet d'amiante peut être comprise entre 0.1% et 10% de la quantité totale dudit mélange, de préférence, entre 1% et 8% du quantité totale dudit mélange. Selon un mode de réalisation particulier, une part de petit laitensemencé est mélangé à neuf parts de petit lait et 1% du produit broyé contenant de l'amiante.

[0058] Selon un mode de réalisation préféré, la concentration des bactéries lactiques dans le petit laitensemencé par des bactéries lactiques contenant le produit broyé contenant de l'amiante avant l'incubation à l'étape b) (c'est-à-dire, à un moment T0 comme présenté à la [Fig.1]) est comprise entre 1×10^5 et 1×10^9 UFC/ml, de préférence, entre 1×10^6 et 1×10^8 UFC/ml et de manière plus préférée, est de 1×10^8 UFC/ml. Ainsi, la

densité optique des bactéries avant l'étape b) d'incubation à DO600 est comprise entre 0,0001 et 1, de préférence entre 0,001 et 0,5, de manière plus préférée entre 0,01 et 0,3, de manière encore plus préférée entre 0,05 et 0,1 et est plus préférablement de 0,1.

[0059] Le petit laitensemencé par des bactéries lactiques et comprenant le produit broyé contenant de l'amiantest ensuite incubé à l'étape b) du procédé décrit ici.

[0060] Selon un mode de réalisation particulier, l'incubation à l'étape b) est réalisée pendant une période de 24 à 96 heures, de préférence de 30 à 80 heures et de manière plus préférée, de 72 heures. De préférence, cette incubation est réalisée à une température comprise entre 20°C et 40°C, de manière préférée, entre 25°C et 37°C, de manière plus préférée, entre 30°C et 35°C et de manière encore plus préférée, la température d'incubation est de 30°C.

[0061] Selon un mode de réalisation préféré, l'étape b) d'incubation est réalisée pendant une durée de 30 à 80 heures à une température comprise entre 30°C et 35°C, de manière préférée, l'étape b) d'incubation est réalisé pendant une durée de 72 heures à 30°C.

[0062] Selon un mode de réalisation, l'incubation à l'étape b) est réalisée sous agitation à une vitesse comprise entre 10 et 600 rpm et de préférence entre 100 et 400 rpm.

[0063] L'étape b) d'incubation peut être réalisée dans un bioréacteur, de préférence dans un bioréacteur de type Global Process Concept, Laval Lab ou AD Biotec.

[0064] Comme indiqué plus haut, les présents inventeurs ont démontré que les produits du métabolisme des bactéries lactiques permettent de diminuer et stabiliser le pH du petit lait qui se trouve augmenté suite à la dissolution des oxydes de magnésium lors de l'altération de l'amiantest, ce qui diminue l'altération. En conséquence, le maintien d'un pH fortement acide pendant l'étape b) d'incubation permet d'améliorer l'efficacité de l'altération de l'amiantest dans le produit la contenant.

[0065] Ainsi, selon un mode de réalisation particulier, le pH du petit lait contentant les bactéries lactiques et le produit broyé contenant de l'amiantest à l'étape b) est compris entre 2,5 et 4,5, de préférence entre 3 et 4 et de manière encore plus préférée, le pH est de 3,7.

[0066] A la fin de l'étape b) d'incubation qui est notamment une étape de croissance bactérienne, la concentration des bactéries est d'au moins 1×10^9 UFC/ml.

[0067] L'étape b) d'incubation peut être répétée afin d'améliorer l'efficacité d'altération de l'amiantest. De préférence, l'étape b) est répétée au moins une fois, au moins deux fois, au moins trois fois, au moins quatre fois, au moins cinq fois, au moins six fois, au moins sept fois, au moins huit fois, au moins neuf fois, au moins dix fois, de manière plus préférée, l'étape b) d'incubation est répétée entre 2 et 10 fois, et de façon plus préférée entre 4 à 6 fois.

[0068] Dans le cas où l'étape d'incubation sera répétée au moins une fois, il est préférable avant la nouvelle étape d'incubation, de diluer le petit lait obtenu à la fin de la

première étape d'incubation. En fait, ce petit lait comprend les bactéries lactiques en une concentration plus élevée des bactéries que celle dans le petit lait avant l'incubation, du fer et de magnésium dissout suite à l'altération de l'amiante et peut également comprendre des traces du produit contenant de l'amiante non encore altérée. Afin d'éviter une saturation du petit lait due à l'augmentation de la concentration des bactéries pendant l'étape b) d'incubation et de la concentration du fer et du magnésium dissouts dans le petit lait, il est nécessaire de diluer le petit lait obtenu à la fin de l'étape b) d'incubation avant de le soumettre à une nouvelle étape éventuelle d'incubation. Cette dilution est nécessaire car elle prévient la saturation du petit laitensemencé par des bactéries lactiques à la fin de l'étape d'incubation b) et la diminution de sa capacité d'altérer l'amiante non encore altérée. Cette dilution a notamment pour objectif de diminuer la concentration des bactéries lactiques et d'éviter ainsi une phase de lyse des bactéries qui conduira à la diminution des produits synthétisés lors du métabolisme bactérien, en particulier des acides organiques, et de là, à l'augmentation du pH du petit lait.

[0069] La dilution avant la nouvelle étape d'incubation est réalisée par centrifugation douce pendant environ 3 à 10 minutes, de préférence, pendant 5 minutes du petit lait obtenu à la fin de l'étape d'incubation b). Cette centrifugation a pour objectif de séparer l'amiante des bactéries lactiques et de les libérer ainsi pour un nouveau cycle de croissance pendant la nouvelle étape d'incubation. Après cette centrifugation, une partie du surnageant est récupéré et du petit lait est ajouté à la fraction restante. L'étape de séparation des bactéries de l'amiante par centrifugation peut être répétée au moins encore une fois, de préférence entre 1 et 4 fois dans les mêmes conditions de centrifugation. A chaque fois, une partie du surnageant est récupérée et du petit lait est ajouté à la fraction restante. Après cette (ces) centrifugation(s), la fraction restante (contenant le petit lait, les bactéries lactiques et des résidus d'amiante non altérée) et le petit lait dernièrement ajouté, est soumis à une nouvelle étape de centrifugation qui dure entre 20 et 40 minutes, de manière plus préférée entre 25 et 35 minutes et qui dure de manière encore plus préférée 30 minutes. A la fin de cette nouvelle étape de centrifugation, le surnageant est complètement éliminé et du petit lait est ajouté au culot pour obtenir un mélange du petit laitensemencés des bactéries lactiques et de résidus d'amiante non altérées ([Fig.2]). La concentration en bactéries lactiques dans ce mélange est la même que celle décrite ci-dessus pour les bactéries dans le petit laitensemencé par des bactéries lactiques comprenant le produit broyé contenant de l'amiante avant d'être soumis à la première incubation à l'étape b).

[0070] Ainsi, selon un mode de réalisation, l'étape b) du procédé est répétée au moins une fois, de préférence entre 2 et 10 fois, et de façon plus préférée entre 4 et 6 fois, ledit procédé pouvant en outre comporter optionnellement une ou plusieurs étapes de

dilution du petit lait contenant des bactéries lactiques et le produit contenant de l'amiante broyé.

- [0071] Selon un mode de réalisation particulier, le procédé de traitement du produit comprenant de l'amiante résulte en la réduction de fer et/ou magnésium contenus dans l'amiante. Cette réduction consiste à extraire au moins une partie du fer et/ou du magnésium qui sont présents à la surface du produit d'amiante ou qui sont internalisés dans sa structure cristalline. Avantageusement, l'intégralité du fer et/ou magnésium est extraite dudit produit d'amiante.
- [0072] Selon un autre mode de réalisation du procédé, la quantité du fer et /ou magnésium dans le produit contenant de l'amiante peut être dosée avant la mise en œuvre de ce procédé par différentes méthodes (ICP-AES, spectrométrie d'absorption atomique). Ce dosage donne la « quantité initiale » du fer et /ou magnésium présente dans le produit d'amiante avant la mise en œuvre du procédé décrit ici.
- [0073] Après l'achèvement de l'étape b) d'incubation du petit laitensemencé avec des bactéries lactiques et du produit broyé contenant de l'amiante, la quantité de fer et /ou magnésium restant éventuellement dans le produit contenant de l'amiante peut être déterminée par la détermination de la quantité de fer et /ou magnésium dans le petit lait. La mesure de cette quantité s'effectue généralement dans le surnageant obtenu après la centrifugation du petit lait à la fin de l'étape d'incubation b).
- [0074] Les quantités de fer et/ou magnésium peut être mesurée après une seule étape d'incubation, après chaque étape d'incubation si l'étape d'incubation b) est répétée plus d'une fois ou après deux ou plusieurs étapes d'incubation successives.
- [0075] De préférence, la concentration (la quantité) de fer et/ou magnésium est mesuré en temps réel. Tel qu'entendu ici, "**mesurer en temps réel**" signifie que plusieurs mesures du même échantillon sont effectuées pendant une période de temps prédéterminée (période de mesure) afin de fournir un enregistrement de l'évolution de la concentration en fonction du temps avec une résolution temporelle. Cette période de mesure peut durer de 20 min à 180 min, de préférence de 20 min à 60 min et plus préférentiellement de 15 min à 40 min. En fonction de la durée de la période de mesure, chaque échantillon peut être mesuré 20 à 200 fois, plus préférentiellement 20 à 75 fois et plus préférentiellement 15 à 50 fois.
- [0076] Ainsi, selon un mode de réalisation particulier, le procédé peut comprendre en outre une étape c) de dosage en temps-réel de la concentration de fer et/ou magnésium libérés par le produit contenant de l'amiante dans le petit lait de l'étape b).
- [0077] La différence dans la concentration du fer et/ou magnésium mesurée avant la mise en œuvre du procédé et après l'étape b) d'incubation rendra compte de la quantité de fer/et ou magnésium, réduite dans le produit contenant de l'amiante au cours de la mise en œuvre du procédé.

- [0078] Selon un mode de réalisation particulièrement préféré, le procédé décrit dans cette demande est un procédé de traitement d'un produit contenant de l'amiante comprenant les étapes suivantes :
- [0079] a) le broyage du produit contenant de l'amiante,
- [0080] b) l'incubation dudit produit broyé à l'étape a) avec du petit laitensemencé par des bactéries lactiques, dans lequel procédé:
- [0081] - le broyage à l'étape a) est réalisé en milieu liquide, de préférence dans du petit lait ;
- [0082] - préalablement à l'étape b), une étape d'ensemencement du petit lait par des bactéries lactiques est réalisée ;
- [0083] - la concentration des bactéries lactiques dans le petit lait contenant le produit broyé contenant de l'amiante avant l'incubation à l'étape b) est comprise entre 1×10^5 et 1×10^9 UFC/ml, de préférence, entre 1×10^6 et 1×10^8 UFC/ml et de manière plus préférée, est de 1×10^8 UFC/ml ;
- [0084] - le pH du petit lait contenant les bactéries lactiques et le produit broyé contenant de l'amiante à l'étape b) est compris entre 2,5 et 4,5, de préférence entre 3 et 4 et de manière encore plus préférée, le pH est de 3,7 ;
- [0085] - la durée d'incubation à l'étape b) est de 24 à 96 heures, de préférence de 30 à 80 heures et de manière plus préférée, de 72 heures ;
- [0086] - l'étape b) est répétée au moins une fois, de préférence entre 2 et 10 fois, et de façon plus préférée entre 4 et 6 fois, ledit procédé pouvant en outre comporter optionnellement une ou plusieurs étapes de dilution du petit lait contenant des bactéries lactiques et le produit broyé contenant de l'amiante ;
- [0087] - une étape c) de dosage en temps-réel de la concentration de fer et/ou magnésium libérés par le produit broyé contenant de l'amiante dans le petit lait de l'étape b) est réalisée ;
- [0088] - le produit broyé contenant de l'amiante est un déchet contenant de l'amiante choisi de préférence dans le groupe consistant en déchet de flocage ou de calorifugeage ou en du fibrociment, présentant une composition homogène ou hétérogène, et
- [0089] - les bactéries lactiques sont des bactéries à métabolisme fermentaire, en particulier des lactobacilles ou des lactocoques, de préférence *Lactobacillus casei* ou *Lactobacillus plantarum* et de manière plus préférée *Lactobacillus plantarum*.
- [0090] Le présent procédé sera décrit plus précisément au moyen des exemples et des figures ci-dessous. Lesdits exemples sont fournis ici à titre d'illustration et ne sont pas, sauf indication contraire, destinés à être limitatifs.

LÉGENDES DES FIGURES

- [0091] [Fig.1]: Schéma du protocole expérimental utilisé pour la préparation de l'inoculum bactérien.
- [0092] [Fig.2]: Schéma du traitement de l'échantillon comprenant les bactéries lactiques, le

petit lait et le produit contenant de l'amiante, après un cycle de croissance bactérienne de 72 heures.

- [0093] [Fig.3]: Cinétique d'extraction de fer et de magnésium de déchets de flochage durant 96 h en présence de petit lait avec ou sans ajout de *Lactobacillus plantarum*. Les barres d'erreur sont des erreurs standards sur la moyenne de 3 réplicats.
- [0094] [Fig.4]: Extraction de fer et de magnésium de déchets de flochage après des cycles de 72 heures en présence de petit lait avec ajout de *Lactobacillus plantarum*. Les barres d'erreur sont des erreurs standards sur la moyenne de 3 réplicats.
- [0095] [Fig.5]: Cinétique d'extraction de fer et de magnésium de déchets de tuiles de toit en fibrociment broyées durant 96 h en présence de petit lait avec ou sans ajout de *Lactobacillus plantarum*. Les barres d'erreur sont des erreurs standards sur la moyenne de 3 réplicats.
- [0096] [Fig.6]: Extraction de fer et de magnésium de déchets de tuiles de toit en fibrociment broyées après des cycles de 72 heures en présence de petit lait avec ajout de *Lactobacillus plantarum*. Les barres d'erreur sont des erreurs standards sur la moyenne de 3 réplicats.
- [0097] [Fig.7]: Pourcentage de fer et de magnésium extrait dans des déchets de flochage (A) et de tuiles de toit en fibrociment (B) broyées après 4 cycles de 72 h en présence de petit lait incubé en présence de *Lactobacillus plantarum*.
- [0098] [Fig.8]: Cartographie par microscopie électronique à transmission (MET-EDX) de fibres de chrysotile présentes dans des déchets de fibrociment non traité (A) ou altérés après 4 cycles de 72 h en présence de petit lait inoculé par *Lactobacillus plantarum* (B). Ratio Mg/Si des différentes zones (zone entière et zones 1, 2 et 3 (choisies pour permettre une meilleure représentation de l'échantillon analysé) de l'échantillon) de la cartographie (C).

EXEMPLES

I. Matériels et méthodes

I.1. Préparation des déchets d'amiante

- [0099] Pour la mise en œuvre du procédé, les déchets d'amiante suivants ont été utilisés :
- déchets de flochage et déchets de tuyau en fibrociment : obtenus d'un chantier de désamiantage de l'université Paris-Jussieu et fourni par la société SOMEZ, et
 - déchets de tuile de toit en fibrociment : fourni par la société CEFASC Environnement.
- [0100] Les déchets d'amiante ont été broyés (à l'exception des déchets de flochage) et stérilisés.
- [0101] Le broyage des échantillons de fibrociment a été réalisé pendant 10 min à 500 rpm

dans un broyeur planétaire à billes Retsch PM 100 (broyage réalisé à l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier). Ensuite, 0,2 g d'échantillon d'amianté : du fibrociment broyé ou de déchets de flochage, est prélevé. Les échantillons ont été soumis à un traitement autoclave pendant 20 min à 121°C et puis incubés 14 jours à 70°C afin de les stériliser.

[0102] **I.2. Préparation de l'inoculum bactérien de départ et de l'échantillon à tester**

[0103] Des bactéries lactiques *Lactobacillus plantarum* (numéro d'accès dans le Collection nationale des cultures de microorganismes (CNCM) n°ATCC 14917) et du petit lait bovin (fournis gracieusement par la société Alsace lait) ont été utilisés.

[0104] D'abord les bactéries lactiques ont été mis en culture dans un milieu MRS (Gélose de Man, Rogosa, Sharpe) pendant 24 heures à 30°C. Ensuite, la culture bactérienne a été centrifugée (5 min/9871g) et lavée deux fois dans 5 ml du petit lait. Après le lavage, le culot a été remis en suspension dans 10 ml du petit lait, puis diluer à 1/10 dans du petit lait afin de mesurer la densité optique (DO) des bactéries à une longueur d'onde de 600 nm. Après cette mesure, la DO600 a été ajusté à 1.

[0105] Une fois la culture bactérienne ainsi obtenue, 2 ml de celle-ci ont été mélangés avec 18 ml de petit lait et 0,2 g d'amianté. La concentration des bactéries dans ce mélange est DO600 de 0,1 (ou environ 1×10^8 UFC/ml). Ce mélange (comprenant le petit laitensemencé par des bactéries lactiques + le petit lait ajouté et le déchet d'amianté) est incubé à 30°C sous agitation (220 rpm).

[0106] La [Fig.1] schématise les étapes décrits ci-dessus.

I.3. Dosage du fer

[0107] Après 72 heures d'incubation (temps nécessaire aux cycles de croissance de la bactérie lactique *Lactobacillus plantarum*) du mélange contenant les bactéries lactiques, le petit lait et le déchet d'amianté, un dosage colorimétrique du fer a été réalisé à partir de ce mélange (échantillon).

[0108] Pour ce faire, à 20 µl échantillon (3 réplicats par échantillon), ont été ajoutés 40 µL d'acétate de Na (Sigma) saturé (5,5 Molaire), puis à froid : 80 µL d'eau bi-distillée et 10 µL d'acide thioglycolique dilué 10 fois dans de l'eau distillée ont été ajoutés. Le mélange ainsi obtenu a été ensuite agité et 10 µL de bathophénantroline à 0.5 % dans de l'eau bi-distillée ont été ajoutés suivi d'une nouvelle agitation. Le mélange final a été laissé reposer durant une nuit à 4°C, à l'abri de la lumière puis déposé dans une microplaque de lecture. La lecture est réalisée 535 nm dans un lecteur de microplaques Tecan Infinite M200.

I.4. Dosage de magnésium

[0109] De même que pour le dosage de fer, après 72 heures d'incubation du mélange contenant les bactéries lactiques, le petit lait et le déchet d'amianté, un dosage colori-

métrique du magnésium a été réalisé à partir de ce mélange (échantillon).

[0110] Pour ce faire, à 3 µl d'échantillon (3 réplicats par échantillon), ont été ajoutés 300 µL d'un mélange constitué de :

- 1 volume de réactif 1 (1 mol/L 2-méthyl-2-Amino-1-Propanol et 215 µmol/L EGTA), et
- 1 volume de réactif 2 (300 µmol/L calmagite).

[0111] Ce mélange est laissé au repos pendant 30 secondes avant de le déposer sur une microplaque de lecture. La lecture est réalisée 500 nm dans un lecteur de microplaques Tecan Infinite M200.

I.5. Mesure de pH

[0112] Outre les concentrations de fer et de magnésium, le pH des échantillons contenant les bactéries lactiques, les déchets d'amiante et le petit lait a été mesuré après l'incubation durant 72 heures afin de déterminer si le métabolisme bactérien permet de maintenir, voire augmenter l'acidité de l'échantillon. Le pH a été mesuré avec un pH-mètre pHEnomenal® IS 2100L.

[0113] **I.6. Cycle de croissance bactérienne et d'altération de l'amiante**

[0114] Les inventeurs ont réalisé plusieurs dosages des concentrations du fer et de magnésium en répétant les cycles de croissance bactérien environ 4 fois. A chaque cycle de croissance, un dosage du fer et du magnésium a été effectué et le pH de l'échantillon a été mesuré.

[0115] Avant la répétition d'un cycle de croissance, le petit lait obtenu à la fin de l'étape d'incubation a été centrifugé (30 min/9871g). La totalité du surnageant est utilisé pour le dosage du fer et de magnésium, 40 ml de petit lait ont été ajoutés au culot restant qui est soumise à nouvelle incubation (cycle de croissance). Avant de débiter l'étape d'incubation, le mélange a été soumis à une centrifugation douce (5 min/67g) afin de séparer l'amiante et les bactéries lactiques et les libérer ainsi pour un nouveau cycle de croissance. Après cette centrifugation, 30 ml du surnageant a été récupéré et jeté, puis, 30 ml du petit lait a été ajouté au reste du mélange. Cette étape de séparation des bactéries de l'amiante a été répété encore une fois dans les mêmes conditions de centrifugation. Ensuite 30 ml du surnageant ont de nouveau été récupérés et jetés et le mélange restant a été soumis à une nouvelle étape de centrifugation mais plus rapide et plus longue (30 min/9871 g) que l'étape de centrifugation précédente. A la fin de cette centrifugation, le surnageant a été complètement éliminé et 20 ml du petit lait ont été ajoutés pour obtenir un mélange qui a été soumis à un nouveau cycle de croissance bactérien.

[0116] Après un cycle de croissance de 72 h, les acides organiques produits lors de l'altération des déchets amiantés ont été quantifiés par le centre de ressources technologiques AERIAL en utilisant la technique de Résonance Magnétique Nucléaire

(RMN).

[0117] Le traitement de l'échantillon après un cycle de croissance est illustré schématiquement dans la [Fig.2].

[0118] **I.7. Cinétiques d'altération des déchets d'amiantes en présence de petit lait avec ou sans ajout des bactéries lactiques**

[0119] Les inventeurs ont suivi la cinétique d'altération de déchets d'amiante en présence de petit lait avec *Lactobacillus plantarum*. Pour cela, le même schéma opérationnel que celui présenté sur la [Fig.1] a été poursuivi pour obtenir un échantillon comprenant un mélange de petit lait, des bactéries ensemencant le petit lait et de déchets d'amiante.

[0120] Un second échantillon contenant uniquement du petit lait et des déchets d'amiante a été également préparé.

[0121] 400 µl de chacun de ces deux échantillons ont été prélevés toutes les 24, 48, 72 et 96 heures. Les échantillons prélevés ont été ensuite filtrés avec un filtre Millex (0,22 µm) et le fer et le magnésium ont été dosés. Le pH est mesuré à la fin de la cinétique.

II. Résultats

[0122] **II.1. Altération des déchets de floccage par du petit laitensemencé avec *Lactobacillus plantarum***

[0123] Une cinétique d'extraction comparant l'efficacité d'altération des déchets de floccage en présence de petit lait avec ou sans *L. plantarum* a été réalisée ([Fig.3]). Les résultats montrent une forte augmentation de l'extraction de fer et de magnésium entre 24 et 96 h en présence de *L. plantarum* (3,48 à 8,93 mg/L pour le fer et 68 à 132 mg/L pour le magnésium) comparé à l'essai sans bactéries (1,78 à 2,64 mg/L pour le fer et 32 à 52 mg/L pour le magnésium). Après 96 h d'incubation en présence de *L. plantarum*, l'extraction de fer et de magnésium est environ 3 fois plus importante qu'avec le petit lait sans bactérie. Cette forte extraction mesurée durant la cinétique est liée à une forte diminution du pH en présence de *L. plantarum* (pH=3,85) alors qu'en présence de petit lait sans bactérie le pH augmente (pH=5,28).

[0124] La durée optimale d'extraction du petit lait en présence de *L. plantarum* est d'environ 96 h.

[0125] Pour confirmer l'efficacité du mélange petit lait-bactérie lactique, les inventeurs ont effectué quatre cycles de croissance bactérienne de 72 h avec renouvellement du petit lait, afin de permettre le développement de *L. plantarum* à chaque cycle. Les résultats de la [Fig.4] montrent une forte extraction de fer (9,22 à 1,17 mg/L) et de magnésium (91 à 19 mg/L) qui diminue de T72-1 à T72-4. La diminution de la dissolution est progressive au cours des cycles d'altération en présence de *L. plantarum*, lié au pH acide et stable durant l'expérience, altérant de façon homogène et progressive les fibres d'amiante. Le **tableau 1** ci-dessous présente les mesures du pH après chaque cycle de croissance de *Lactobacillus plantarum* dans du petit lait en présence ou en absence de

déchets amiantés.

[0126] [Tableaux1]

pH	Petit lait + Lacto- bacillus	Fibrociment + petit lait + Lactobacillus plantarum	Flocage + petit lait + Lactobacillus plantarum
T72H I	3.58	3.86	3.69
T72H II	3.72	3.49	3.48
T72H III	4.02	3.72	3.68
T72H IV	4.03	3.80	3.75

[0127] Bien que les quatre cycles de croissance bactérienne réalisés permettent l'extraction des quantités importantes de fer et de magnésium, des cycles supplémentaires peuvent être réalisés pour obtenir une extraction complète de ces éléments et ainsi une altération optimale des déchets de flocage.

[0128] **II.2. Altération des déchets des tuiles de toit en fibrociment par du petit lait inoculé avec *Lactobacillus plantarum***

[0129] Les fibrociments ont été altérés par du petit lait en présence de *L. plantarum* afin de vérifier si la forte augmentation du pH pouvait être compensée par l'ajout de cette bactérie. Cette voie a donc été testée sur des échantillons de tuile de toit en fibrociment composé de fibres de chrysotile et d'une matrice cimentaire.

[0130] Les inventeurs ont comparé dans un premier temps l'extraction du petit lait avec ou sans *L. plantarum* ([Fig.5]). Après 96 h d'incubation, la présence de *L. plantarum* a permis d'extraire 200 fois plus de fer et 30 fois plus de magnésium qu'en absence de bactéries. Comme précédemment, cette forte extraction est liée à une forte diminution du pH en présence de *L. plantarum* (pH=3,7) alors qu'en présence de petit lait sans bactérie le pH augmente (pH=5,7).

[0131] Entre 24 et 96 h d'incubation, la quantité de fer et de magnésium extraite augmente en présence de *L. plantarum* (22 à 59 mg/L pour le fer et 57 à 93 mg/L pour le magnésium) tandis qu'en présence de petit lait sans bactérie l'extraction a tendance à diminuer (1,37 à 0,26 mg/L pour le fer et 4 à 3 mg/L pour le magnésium) au cours du temps. Cette diminution pourrait être due à une précipitation des éléments lié à l'augmentation du pH durant la cinétique. A partir de 72 h d'incubation, un plateau est atteint, indiquant que la durée optimale d'extraction est de 72 h.

[0132] Afin de déterminer la limite d'extraction de cette voie sur les déchets de tuile de toit en fibrociment, quatre cycles de renouvellement de 72 h ont été réalisés en présence de petit lait et de *L. plantarum* ([Fig.6]). Après le premier cycle de 72 h, une forte extraction de fer (68 mg/L) et de magnésium (299 mg/L) est observée. Cette extraction

chute fortement au cours des cycles pour atteindre à T72-4 une concentration de 2,3 mg/L pour le fer et 14 mg/L pour le magnésium. L'extraction de fer et de magnésium chute brutalement après le premier cycle T72-1 pour le fibrociment. Avec les déchets de flochage cette extraction chute de manière plus progressive. Les inventeurs ont conclu que ceci est dû au fait que les déchets de fibrociment ont été broyés avant le traitement biologique. Ces résultats montrent ainsi l'importance du broyage dans l'efficacité d'altération des déchets d'amiantes.

- [0133] Les résultats discutés ci-dessus montrent que l'ensemencement de petit lait par *L. plantarum* conduit à une forte extraction de fer et de magnésium pour les deux déchets, flochage et fibrociment. Après altération sur le long terme, des rendements d'extraction très élevés ont été obtenus pour les déchets de fibrociment avec 86 % de fer et 100 % de magnésium extrait ([Fig.7]), ce qui est extrêmement intéressant étant donné que le fibrociment représente 80% des déchets amiantés à gérer.
- [0134] Pour valider la dégradation, une cartographie par microscopie électronique à transmission (MET-EDX) sur les fibres altérées a montré un ratio magnésium/silice de 0 à 0,5 alors qu'il est de 1 à 1,5 dans des fibres non traitées ([Fig.8]). Cette différence importante du rapport Mg/Si est un paramètre primordial qui témoigne de la dissolution des éléments présents dans la fibre du chrysotile. Concernant les déchets de flochage, des rendements d'extraction de 47 % pour le fer et 34 % pour le magnésium ont été obtenus, rendements inférieurs qui pourraient être améliorés par un broyage de ces déchets et/ou une poursuite des cycles d'altération.
- [0135] **II.3. Production d'acides organiques par *Lactobacillus plantarum* en présence de déchets amiantés**
- [0136] Les résultats présentés précédemment ont montré que le pH du petit lait diminuait et restait stable en présence de *L. plantarum* et de déchets amiantés. Les solutions après traitement ont été analysées par le centre de ressources technologiques AERIAL qui ont utilisé la technique de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) afin de déterminer et quantifier les acides organiques produits.
- [0137] La production d'acides organiques a été vérifiée dans les différentes conditions suivantes : i) le petit lait avant traitement ii) le petit lait en présence de *L. plantarum* après 72 h d'incubation iii) le petit lait en présence de *L. plantarum* avec de déchets de flochage ou du fibrociment (tuile de toit) après 72 h d'incubation. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 2** ci-dessous.

[0138] [Tableaux2]

	Concentration (mM)			
	lactate	acetate	succinate	citrate
Petit lait	85.5	4.9	0.72	10.7
Petit lait + <i>L. plantarum</i>	130	11.4	0.71	6.8
Petit lait + <i>L. plantarum</i> + CHR-GY	199.8	11.4	1.11	n.d.
Petit lait + <i>L. plantarum</i> + Fibro	261.9	10.9	2.20	n.d.
n.d. : non déterminé ; CHR-GY : chrysotile + gypse ; Fibro : tuile de toit en fibrociment.				

[0139] Ces résultats montrent qu'une concentration plus importante de lactate (130 mM) et d'acétate (11,4 mM) est retrouvée dans le petit lait en présence de *L. plantarum*, sans amiante, comparé aux concentrations retrouvées dans le petit lait avant traitement (85,5 mM de lactate et 4,9 mM d'acétate). En présence de *L. plantarum* et d'amiante, le lactate, l'acétate mais également le succinate sont retrouvés en plus grande quantité comparée au petit lait seul. En présence ou en absence d'amiante, les solutions possèdent les mêmes quantités d'acétate (10,9 à 11,4 mM).

[0140] La concentration en lactate et en succinate est cependant plus importante en présence d'amiante avec des différences selon le type de déchet. En présence des déchets de flochage, 199,8 mM de lactate et 1,11 mM de succinate sont mesurés tandis qu'en présence de fibrociment les concentrations sont respectivement de 261,9 et 2,20 mM de lactate et de succinate. La présence d'amiante stimule donc la production d'acides organiques par *L. plantarum* mais de manière différente selon le type de déchet. Ceci peut être expliqué par la libération du magnésium présent dans ces déchets. Etant donné qu'une quantité plus importante de magnésium est libérée en présence de fibrociment, la production d'acides organiques est donc stimulée de façon plus importante qu'en présence de déchets de flochage.

[0141] En conclusion, il apparait des résultats expérimentaux présentés ci-dessous que le procédé décrit ici permet réellement d'altérer l'amiante dans un produit la contenant, notamment parce que l'action métabolique des bactéries lactiques inoculant le petit lait permet de maintenir son pH acide tout au long du processus d'altération, processus qui se trouve par ailleurs facilité par le broyage du produit comprenant l'amiante.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[0142] Amouzou, K.-S., Prevost, H., and Divies, C. (1985) Influence de la supplémentation

du lait en magnésium sur la fermentation lactique réalisée par *S. lactis* et *S. thermophilus*. *Le Lait* 65: 21–34.

- [0143] Damien, A. (2016) Guide du traitement des déchets - 7e éd.: Réglementation et choix des procédés, Dunod.
- [0144] Spasiano, D., Luongo, V., Petrella, A., Alfè, M., Pirozzi, F., Fratino, U., and Piccinni, A.F. (2017) Preliminary study on the adoption of dark fermentation as pre-treatment for a sustainable hydrothermal denaturation of cement-asbestos composites. *J Clean Prod* 166: 172–180.
- [0145] Stanik et al (2006) : “Destruction of the chrysotile asbestos structure with a population of bacteria *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*”, FEB, Volume 15 -No 7, 2006
- [0146] Weber, K.A., Achenbach, L.A., and Coates, J.D. (2006) Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction. *Nat Rev Microbiol* 4: 752.
- [0147] Werner, A.J., Hochella, M.F., Guthrie, G.D., Hardy, J.A., Aust, A.E., and Rimstidt (1995) Asbestiform riebeckite (crocidolite) dissolution in the presence of Fe chelators: Implications for mineral-induced disease. *Am Mineral* 80: 1093–1103.
- [0148] EP2428254
- [0149] WO2015/166359

Revendications

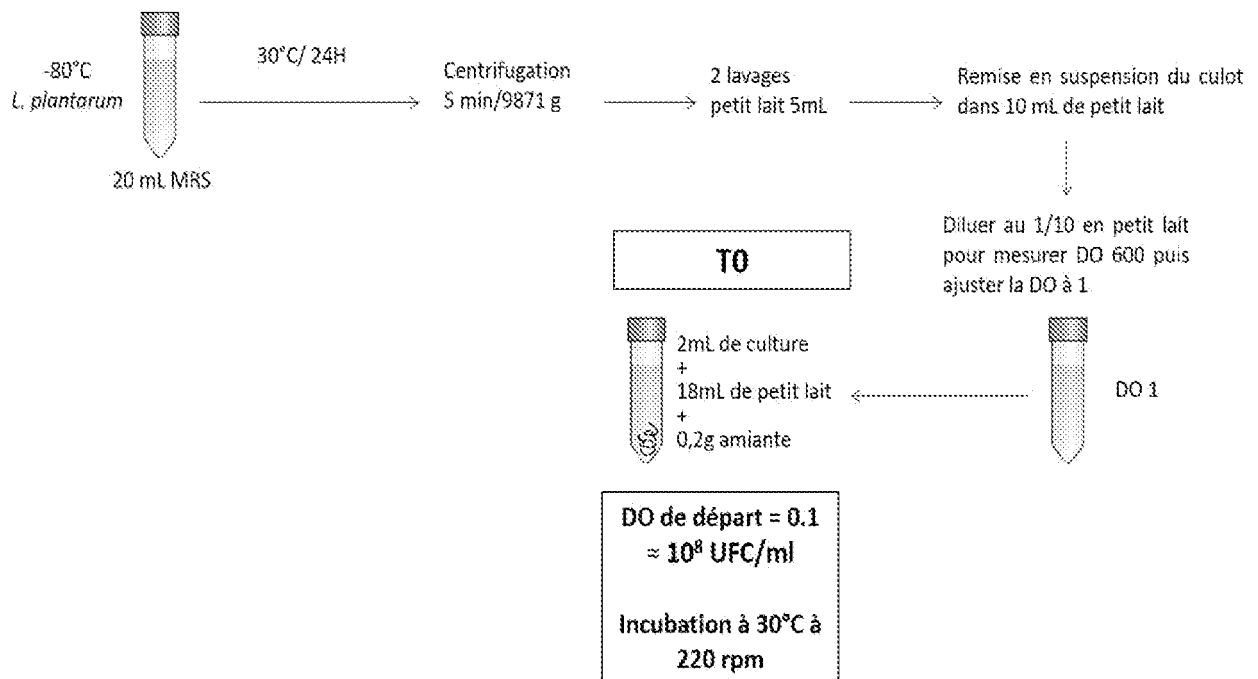
- [Revendication 1] Procédé de traitement d'un produit contenant de l'amiante, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :
- a) le broyage du produit contenant de l'amiante,
 - b1) l'ensemencement du petit lait par des bactéries lactiques
 - b) l'incubation dudit produit broyé à l'étape a) avec du petit laitensemencé par des bactéries lactiques.
- [Revendication 2] Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le broyage à l'étape a) est réalisé en milieu liquide, de préférence dans du petit lait.
- [Revendication 3] Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que la concentration des bactéries lactiques dans le petit lait contenant le produit broyé contenant de l'amiante avant l'incubation à l'étape b) est comprise entre 1×10^5 et 1×10^9 UFC/ml, de préférence, entre 1×10^6 et 1×10^8 UFC/ml et de manière plus préférée, est de 1×10^8 UFC/ml.
- [Revendication 4] Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le pH du petit lait contenant les bactéries lactiques et le produit broyé contenant de l'amiante à l'étape b) est compris entre 2,5 et 4,5, de préférence entre 3 et 4 et de manière encore plus préférée, le pH est de 3,7.
- [Revendication 5] Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la durée d'incubation à l'étape b) est de 24 à 96 heures, de préférence de 30 à 80 heures et de manière plus préférée, de 72 heures.
- [Revendication 6] Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que l'étape b) est répétée au moins une fois, de préférence entre 2 et 10 fois, et de façon plus préférée entre 4 et 6 fois, ledit procédé pouvant en outre comporter optionnellement une ou plusieurs étapes de dilution du petit lait contenant des bactéries lactiques et lu produit broyé contenant de l'amiante.
- [Revendication 7] Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape c) de dosage en temps-réel de la concentration de fer et/ou magnésium libérés par le produit broyé contenant de l'amiante dans le petit lait de l'étape b).
- [Revendication 8] Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que le produit broyé contenant de l'amiante est un déchet contenant de l'amiante choisi de préférence dans le groupe consistant en déchet de flocage ou de calorifugeage ou en du fibrociment, présentant une com-

position homogène ou hétérogène.

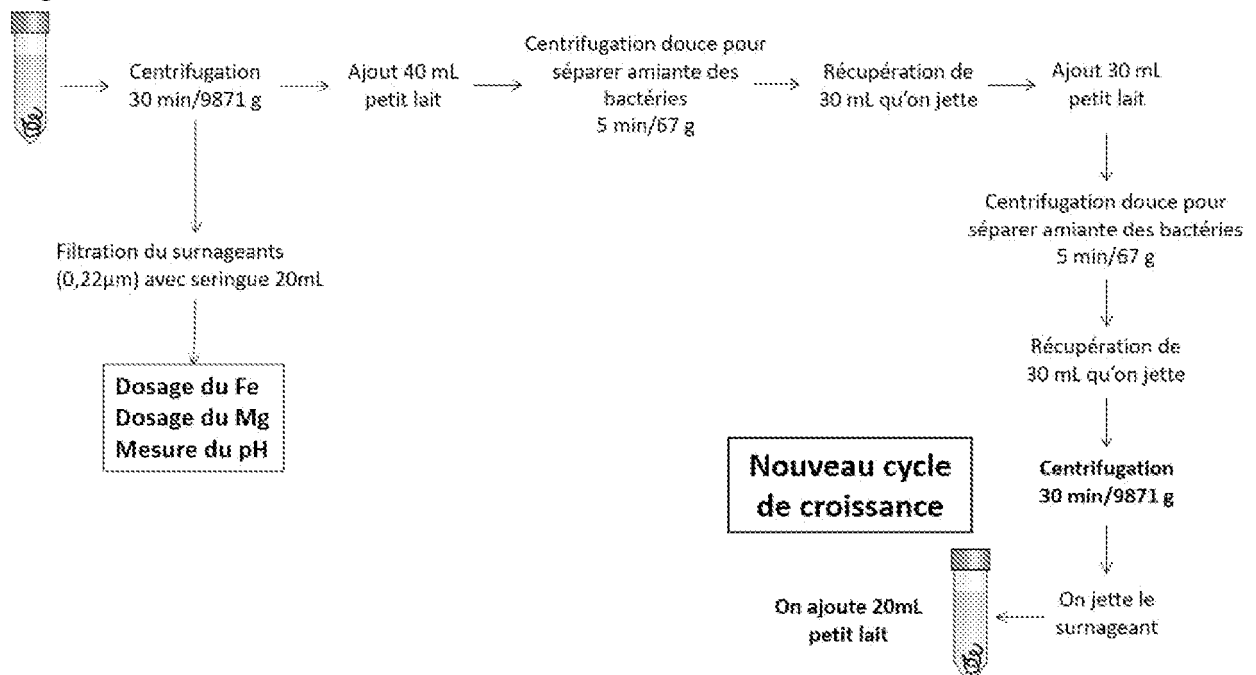
[Revendication 9]

Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que les bactéries lactiques sont des bactéries à métabolisme fermentaire, en particulier des lactobacilles ou des lactocoques, de préférence *Lactobacillus casei* ou *Lactobacillus plantarum* et de manière plus préférée *Lactobacillus plantarum*.

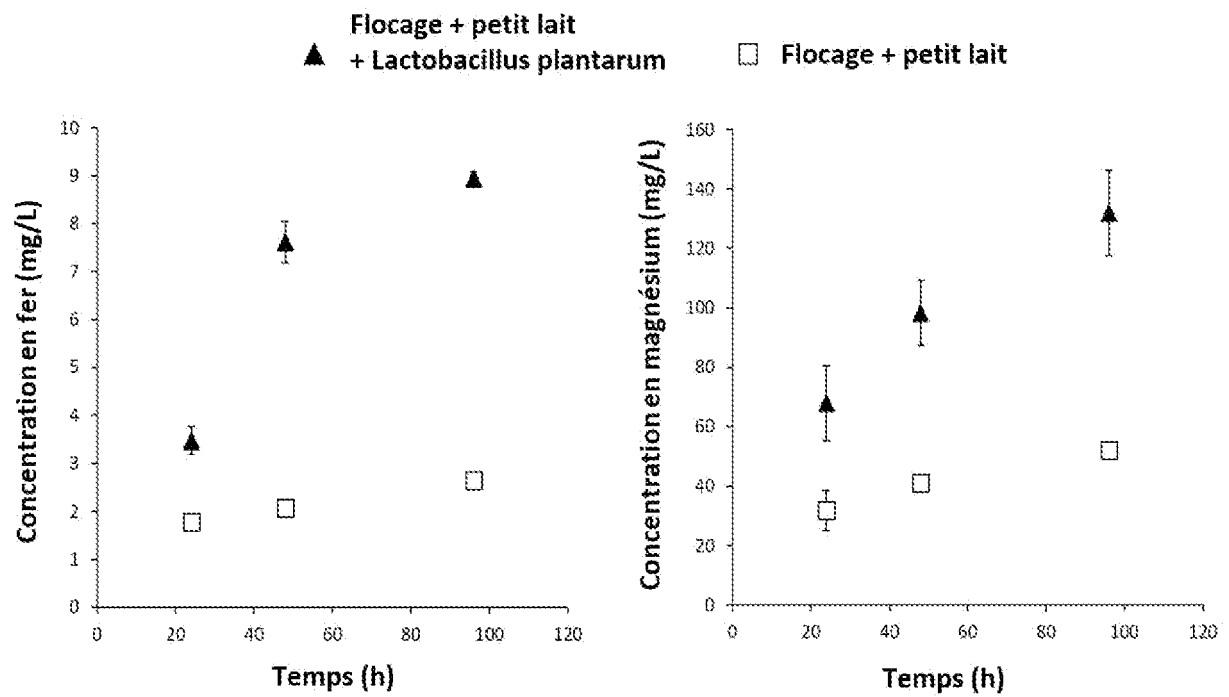
[Fig. 1]



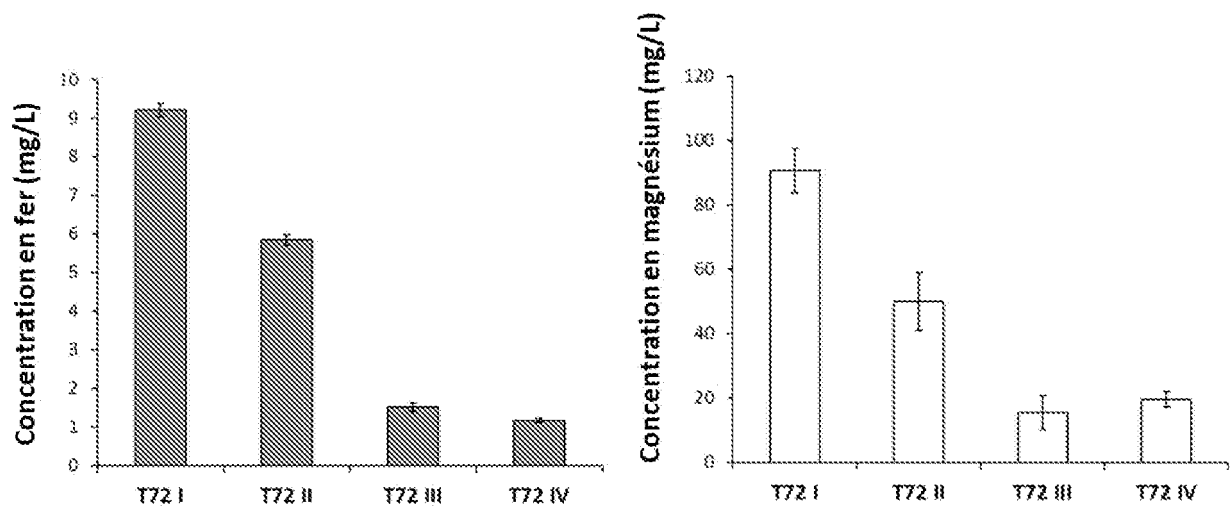
[Fig. 2]



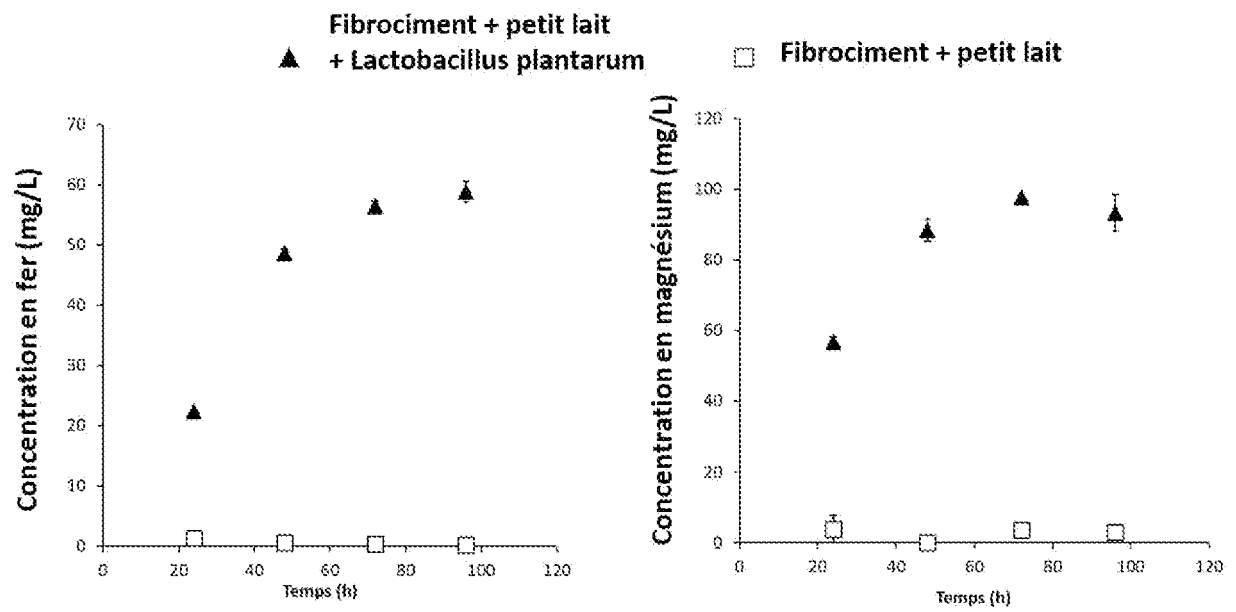
[Fig. 3]



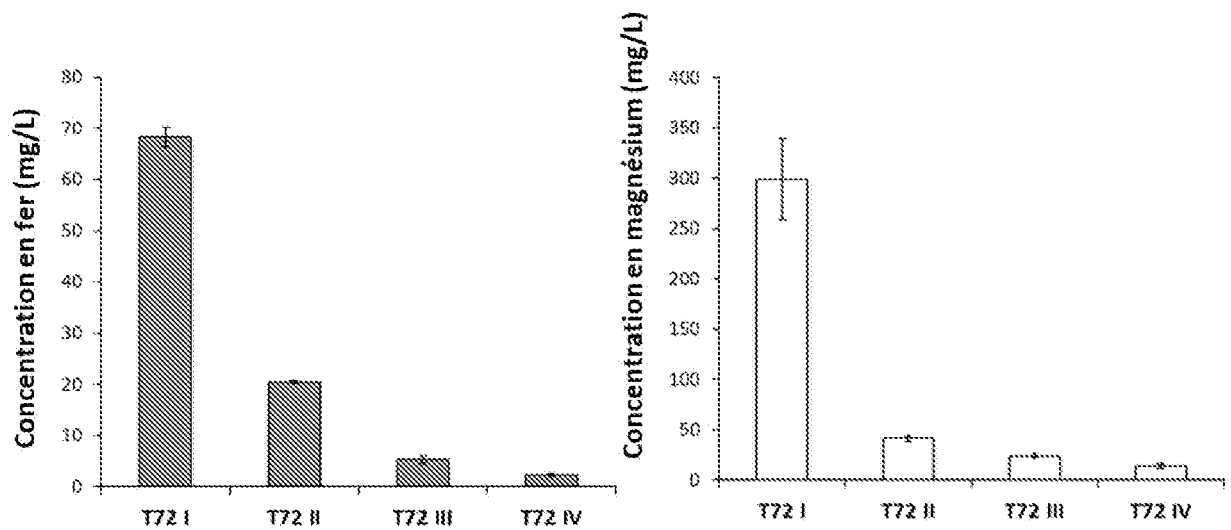
[Fig. 4]



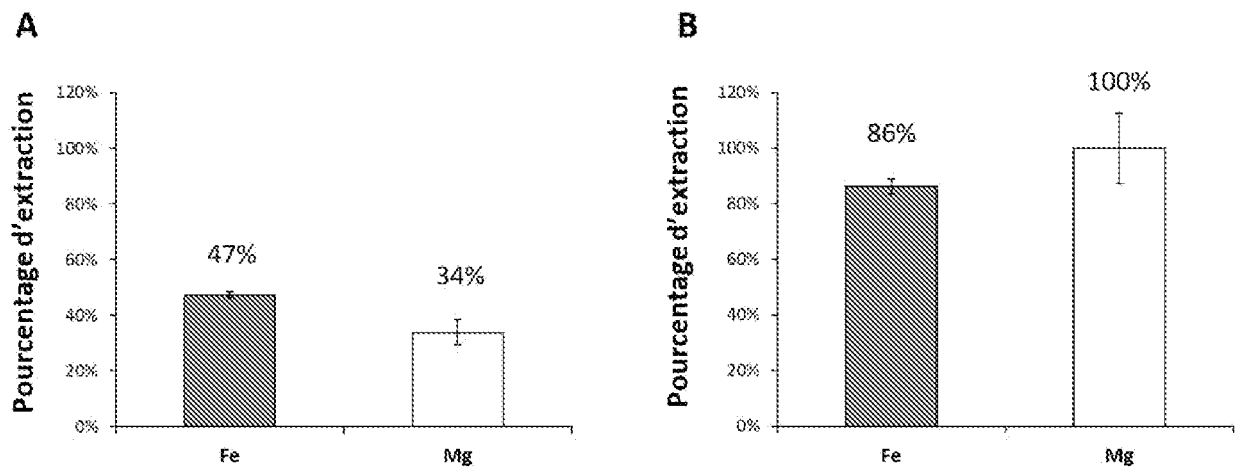
[Fig. 5]



[Fig. 6]

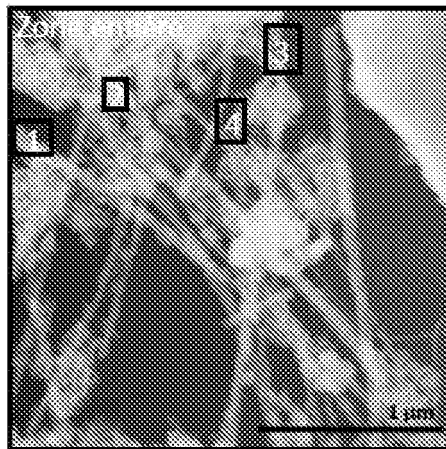


[Fig. 7]

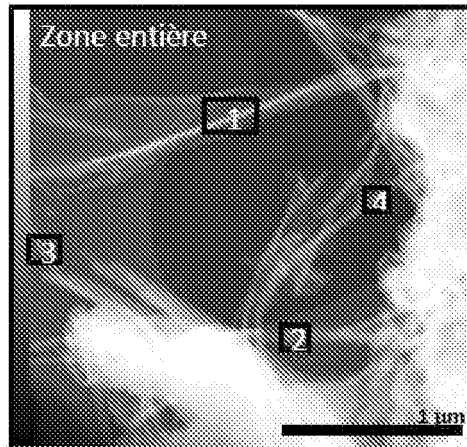


[Fig. 8]

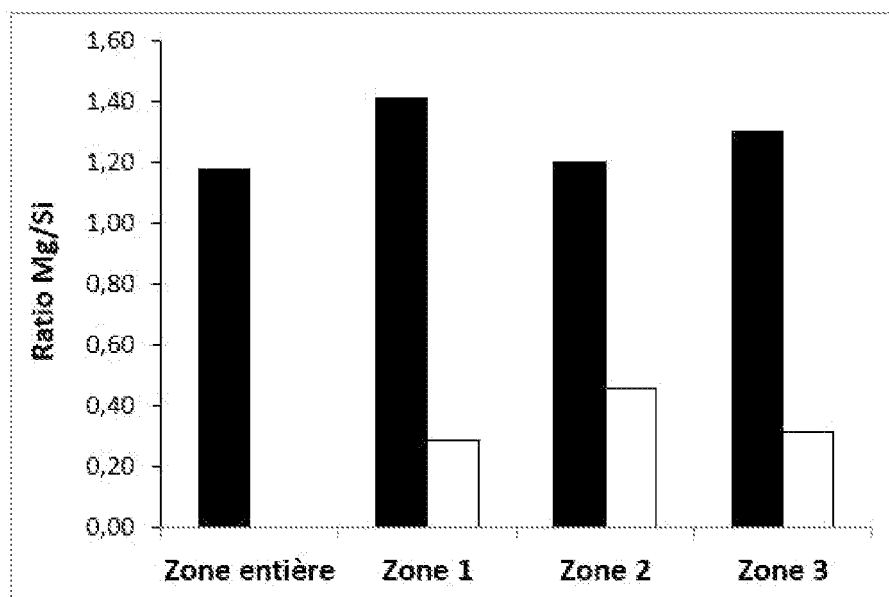
A



B



C



■ Fibro-cement non traité

□ Fibro-cement + Petit lait + *Lactobacillus plantarum*

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

☒ Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

☐ Le demandeur a maintenu les revendications.

☒ Le demandeur a modifié les revendications.

☐ Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

☐ Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

☐ Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

☒ Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

☐ Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

☐ Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

☐ Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

EP 2 428 254 A1 (CHEMICAL CT S R L [IT])
14 mars 2012 (2012-03-14)

STANIK INGA ADAMINA ET AL: "Destruction of the chrysotile asbestos structure with a population of the bacteria Lactobacillus casei and Lactobacillus plantarum", FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN, FREISING-WEIHENSTEPHAN, DE, vol. 15, no. 7, 1 janvier 2006 (2006-01-01), pages 640-643, XP008134671, ISSN: 1018-4619

WO 2017/037383 A1 (VALMATER [FR])
9 mars 2017 (2017-03-09)

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

NEANT

3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES

NEANT