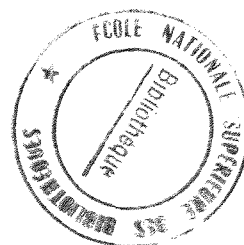


**Ecole Nationale
Supérieure de
Bibliothécaires**

**Diplôme Supérieur
de Bibliothécaire**

**Université
Claude Bernard
Lyon I**

**DESS Informatique
Documentaire**



Note de synthèse

**INFLUENCE DES INHIBITEURS
NON MINERAUX
SUR LA METHANISATION**

KIM-LAN TRAN

**SOUS LA DIRECTION DE F. JACOB
ET J. PERRIER**

UNIVERSITE LYON . I

1991

1991

FD

22

KIM-LAN TRAN

**INFLUENCE DES INHIBITEURS NON MINERAUX SUR LA
METHANISATION**

RESUME : La méthanisation est un processus biologique permettant la valorisation de la biomasse en produisant du méthane. L'optimisation de cette fermentation méthanique passe par un contrôle des inhibiteurs potentiels, et en particulier non minéraux. Ce sont les composés organiques et les composés halogénés tels que le soufre, le brome, le chlore.

DESCRITPEURS : Méthanisation, inhibition, lisiers, composés organiques, composés halogénés.

ABSTRACT : Methanogenesis is a biological process wich allow a biomass valorization , and produce methane. To increase the methanogenic fermentation's yields, we must control potentials inhibitors , in particulary theses non minerals. They're representing by organics compounds or halogens compounds like sulfate and sulfide, brominated compounds, chlorinated compounds.

KEYWORDS : Methanogenesis, inhibition, slurries, organics compounds, halogens compounds.

SOMMAIRE

1 ère PARTIE : RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

I RECHERCHE PRELIMINAIRE	p. 1
- RECHERCHES ENCYCLOPEDIQUES	
- RECHERCHES D'OUVRAGES	
II RECHERCHE MANUELLE SPECIALISEE	p. 2
- LES CURRENTS CONTENTS	
- CHEMICAL ABSTRACTS	
III RECHERCHE AUTOMATISEE	p. 4
<u>1. INTERROGATION DE LA BASE PASCAL</u>	p. 4
<i>1.1. Présentation de la base</i>	p. 4
<i>1.2. Définition des mots-clés</i>	p. 6
<i>1.3. Stratégie d'interrogation</i>	p. 7
<u>2. INTERROGATION DE LA BASE BIOSIS</u>	p. 8
<i>2.1. Présentation de la base</i>	p. 8
<i>2.2. Définition des mots-clés</i>	p. 8
<i>2.3. Stratégie d'interrogation</i>	p. 9
<u>3. INTERROGATION DE TELETHESES</u>	p. 10

2 ème PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION.	p. 11
I LA FERMENTATION METHANIQUE	p. 12
<u>1. INTERETS DE LA METHANISATION</u>	p. 12
<u>2. PROCESSUS DE LA FERMENTATION</u>	p. 12

<u>3. FACTEURS INFLUENCANT LA METHANISATION</u>	p.15
--	-------------

II LES INHIBITEURS NON MINERAUX DE LA METHANISATION	p.16
--	-------------

<u>1. LES COMPOSES SOUFRES</u>	p.16
---------------------------------------	-------------

<u>2. LES COMPOSES BROMES</u>	p.18
--------------------------------------	-------------

<u>3. LES COMPOSES CHLORES</u>	p.19
---------------------------------------	-------------

<u>4. LES COMPOSES ORGANIQUES</u>	p.21
--	-------------

CONCLUSION.	p.23
--------------------	-------------

3^{ème} PARTIE : BIBLIOGRAPHIE

** LES OUVRAGES	p.24
------------------------	-------------

** LES ARTICLES	p.24
------------------------	-------------

** LES THESES	p.28
----------------------	-------------

1 ère PARTIE : **RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES**

I. RECHERCHES PRELIMINAIRES

Toute recherche documentaire nécessite une bonne connaissance du sujet étudié. Pour cela, il faut tout d'abord débroussailler le terrain en effectuant un certain nombre de consultation d'ouvrages de références dans le domaine concerné.

La bibliographie scientifique, propose un certain nombre de documents de base ainsi que de nombreux manuels destinés aux universitaires .

1. RECHERCHE ENCYCLOPEDIQUE:

Nous avons commencé par rechercher dans la Mc GRAW-HILL Encyclopedia of Science and Technology. Cette encyclopédie étant écrite en langue anglaise, il a fallut connaître le terme anglais représentant le sujet global. La méthanisation se traduit par *methanogenesis* .

Après consultation de l'index alphabétique par sujet, nous avons trouvé un article sur la méthanisation. Les informations contenues dans cet article nous ont permis de bien définir le sujet global et d'en savoir plus sur le domaine le concernant.

2. RECHERCHE D'OUVRAGES :

Celle-ci s'est effectuée à la bibliothèque universitaire de Sciences de Lyon . Cette dernière n'étant pas informatisée, la recherche d'ouvrages s'est donc effectuée par le fichier manuel Matières qui nous a permis de localiser plusieurs ouvrages. La plupart sont des manuels destinés aux étudiants scientifiques de 2ème et 3ème cycle et donc sont assez fournis en explications détaillées. (cf. bibliographie)

Cette étape de recherche est nécessaire pour ne pas s'égarer hors du sujet. La lecture des ouvrages de microbiologie a permis la détermination des mots les plus employés et les plus spécifiques de la demande.

Les mots utilisés comme descripteurs sont définis à l'issue de cette recherche manuelle. Ils peuvent être exprimés ou non dans le titre du sujet de recherche.

II RECHERCHE MANUELLE SPECIALISEE

Les descripteurs sont utilisés comme mots-clés d'indexation lors de la recherche manuelle spécialisée. En effet, en accord avec les commanditaires de cette recherche, nous avons décidé que la recherche serait menée sur deux fronts :

- Interrogation de banques de données scientifiques mises à notre disposition,
- Compléter la recherche par les formes papiers des bibliographies spécialisées.

Les bibliographies spécialisées ont pour but d'identifier des articles scientifiques sur le sujet de recherche. Nous rechercherons des informations parmi les bibliographies ne répertoriant pas les périodiques compris dans les bases de données interrogées. Nous avons choisi de consulter deux sortes d'ouvrages bibliographiques :

- CURRENTS CONTENTS:

Il s'agit d'une bibliographie de sommaire qui est divisée en plusieurs sections. La microbiologie fait partie de la section LIFE SCIENCE. Cette bibliographie hebdomadaire contient les références des trois derniers mois ; elle est mise à jour toutes les semaines. Nous avons dû consulter les Currents Contents pour remédier à l'absence de recherche automatisée concernant la période de janvier et février 1991.

La recherche s'est effectuée à l'aide des mots-clés définis précédemment et par l'index alphabétique par sujet. L'inconvénient de cet outil est qu'on ne peut employer que des unitermes. Il faut donc chercher des articles indexés sous différents termes .

Liste des termes recherchés :

- methanogenesis
- methanisation
- Methanobactérium sp.
- organochloré

Cette recherche nous a fournit 3 références dont 2 pertinentes.

- CHEMICAL ABSTRACTS:

Le Chemical Abstracts est une bibliographie spécialisée dans les domaines de la chimie. Par souci d'exhaustivité, nous avons recherché parmi les références recensées tout en supposant que les articles répertoriés seraient principalement liés à des recherches chimiques sur la méthanisation.

La recherche s'effectue tout d'abord dans le **Guide Subject Index** (G.S.I.), qui est un index cumulatif semestriel. Nous avons recherché parmi le G.S.I. de july-dec. 1990 puis parmi le G.S.I. de jan-june 1990. Cet index permet une recherche par descripteurs et indique le numéro du volume contenant le ou les articles trouvés ou à défaut, les synonymes et les mots employés pour le descripteur proposé.

Identifications des descripteurs adaptés à la recherche :

- methane,
- methanogenese,
- slurries and sludge,
- soil pollution,
- air pollution.

Ces descripteurs utilisés pour la recherche dans l'Index Guide n'ont ramené que des articles concernant des activités ou des méthodes chimiques liés à la méthanisation. De plus, un grand nombre de références concernaient l'inhibition de la méthanisation sous l'influence des métaux lourds, ce qui ne nous intéressait pas du tout.

III LA RECHERCHE AUTOMATISEE

L'interrogation de bases de données permet une recherche d'articles présentant l'avantage d'être très rapide et étalée sur une longue période. L'utilisation du **Répertoire de bases et banques de données** a permis la détermination de plusieurs bases de données scientifiques contenant des informations en biologie et plus précisément en microbiologie.

Nous avons effectuée une interrogation sur deux bases mises à notre disposition:

- la base **PASCAL**,
- la base **BIOSIS**.

1. INTERROGATION DE LA BASE PASCAL

1.1. Présentation de la base

Le "**Bulletin Signalétique**" du CNRS a été publié de 1939 à 1984 sous forme papier. En 1984, il a été remplacé par quatre publications bibliographiques dérivées de la base PASCAL. Ce sont les suivantes :

- Pascal SIGMA
- " THEMA
- " FOLIO
- " EXPLORE

La base PASCAL est divisée en deux fichiers :
 - PASCAL M
 - PASCAL S

Elle contient toutes les références des documents répertoriés depuis 1973, soit environ 7 millions de références avec une augmentation annuelle de 500 000 références. Elle fait l'objet d'une mise à jour mensuelle.

Les domaines couverts varient selon les fichiers :

PASCAL M:

Cette base de données est multidisciplinaire. Elle sélectionne par dépouillement exhaustif des références parmi :

- 4 500 périodiques,
- Comptes-rendus de congrès,
- Rapports et thèses français.

Cette base est à l'origine de la bibliographie imprimée, PASCAL SIGMA, éditée en trois volumes :

- S1 = Sciences exactes et technologies,
- S2 = Sciences de la vie I (biologie fondamentale et appliquée),
- S3 = Sciences de la vie II (sciences médicales).

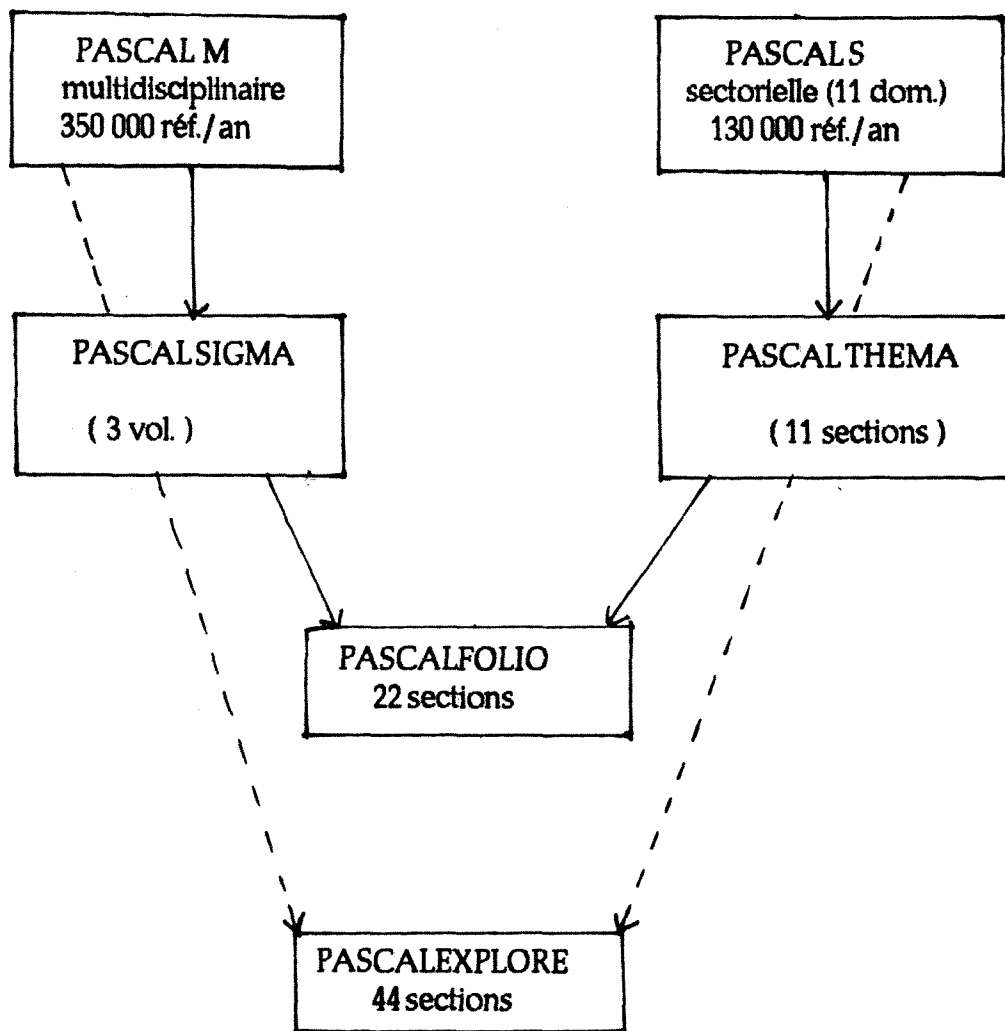
PASCAL S:

Cette base de données est sectorielle et comprend 11 domaines. Elle tend à l'exhaustivité dans ces domaines. Elle comprend notamment les domaines des Biotechnologies et de la Microbiologie.

Cette bibliographie résulte souvent de collaboration avec des organismes spécialisés (INRA, BRGM etc.). Elle s'accroît de plus de 130 000 références par an.

Cette base est à l'origine de la bibliographie imprimée, PASCAL THEMA.

Les différentes sections de PASCAL FOLIO sont des tirés-à-parts de PASCAL SIGMA. Celles qui composent PASCAL EXPLORE résultent de PASCAL M et S.



Producteur de la base INIST / CNRS

Serveurs: Télésystème Questel avec le logiciel QUESTEL

Agence Spatiale Européenne avec le logiciel QUEST

1.2. Définition des mots-clés

La recherche dans la base PASCAL peut se faire sur différents champs et sur une partie ou l'ensemble de la base.

Les principaux champs sont :

- .. auteur,
- .. titre,
- .. descripteur,
- .. langues,
- .. collectivités,
- .. codes de classification.

L'interrogation peut s'effectuer par des mots contrôlés ou descripteurs. Ceux-ci sont répertoriés dans le lexique du manuel d'utilisation de PASCAL.

Pour une recherche plus large, nous pouvons formuler une stratégie d'interrogation à partir des mots du titre ou du résumé de l'article.

Descripteurs déterminés par le lexique :

- méthanisation / methanogenesis
- inhibition / inhibition
- lisiers / slurries
- composés organiques / organic compounds
- composés halogénés / halogens compounds

1.3. Stratégie d'interrogation

L'interrogation de la base pour le logiciel QUESTEL ou par le CDROM PASCAL, permet la combinaison de plusieurs termes grâce à des opérateurs booléens **et**, **ou**, **sauf**. De plus, pour le logiciel QUESTEL, il est possible d'utiliser des opérateurs de proximité "AV".

La stratégie est donc légèrement différente selon le mode d'utilisation de la base.

.. Par le serveur Télésystème QUESTEL :

1. METHANISATION OU METHANOGENESE
2. 1 ET (INHIBIT? OU (INHIBITEUR? 2AV CROISSANCE)) /t
3. 1 ET (ORGANOCHLORE? OU (COMPOSE? AV ORGANIQUE?)) /t
4. 2 OU 3
5. 2 ET 3

6. 1 ET (HALOGEN?)

7. 4 ET /DP > 1989 ET (FRE/LA OU ENG/LA)

RESULTAT : 11 réponses.

La question 4 donnait une quarantaine de réponses, ce qui indiquait que la recherche était assez ciblée pour ne pas fournir un trop grand nombre de références non pertinentes.

La question 5 ne fournissait que 3 réponses et ne se montrait pas tout à fait adapté au sujet.

La question 6 n'a fournit aucune références.

- Par le CDROM PASCAL:

L'interrogation la meilleure est réalisée par le mode expert, et sur les mots du titre ou du résumé. Comme il n'y a pas d'opérateur de proximité, il faut combiner tous les mots recherchés les uns à la suite des autres. On utilise la troncature illimitée représentée par ' * ' .

1. (LI= METHANISAT* OU LI= METHANOGENES*)

2. 1 ET (LI= INHIBIT*)

3. 2 ET (LI= LISIER* OU LI= SLURR*)

4. 3 ET (LI=SULF* OU LI=BROM* OU L=CHLOR* OU LI=ORGAN* OU LI=CYAN*)

RESULTAT : 44 réponses

Cette stratégie d'interrogation est réalisée une première fois pour le CDROM de 1990, puis elle est mise en mémoire dans l'ordinateur lors du changement de CDROM. Nous avons effectuer ainsi la recherche pour les années 1987, 1988, 1989, 1990.

Sur l'ensemble des 55 documents obtenus par l'interrogation de la base PASCAL (11 + 44), seulement 30 références correspondaient à des documents pertinents. Cette interrogation montre donc :

- un taux de **pertinence** : $(30 * 100) / 50 = 60 \%$

- un taux de **bruit** : $(20 * 100) / 50 = 40 \%$

2. INTERROGATION DE LA BASE BIOSIS

2.1. Présentation de la base :

La base BIOSIS PREVIEWS correspond aux bibliographies imprimées de Biological Abstracts et de Biological Abstracts/RRM. C'est une base spécialisée couvrant les domaines de la biologie et de la médecine.

Elle contient près de 10 millions de références et s'accroît chaque année de plus de 500 000 références. La base recense des références bibliographiques depuis 1969.

La mise à jour varie selon les serveurs , de mensuelle à bimensuelle.

La base contient plusieurs sortes de documents :

- des articles. Ils sont sélectionnés parmi plus de 9 000 périodiques internationaux et publiés en toutes langues.
- des actes de congrès américain ou européen,
- des rapports de recherche,
- des brevets américains.

Depuis 1976, les articles présentent des résumés. Pour les articles français, les résumés sont soit en français soit en anglais. Pour les articles anglophones ou étrangers, les résumés sont automatiquement en anglais.

Producteur : Biosciences Information Services (BIOSIS)
2100 Arch Street
PA 19103 PHILADELPHIA (USA)
tel: (215) 587 48 00
telex 831 739

Serveurs : IRS/ESA avec le logiciel QUEST
DIRS " DIALOG 2
DATA-STAR " BRS
STN " MESSENGER

2.2. Définition des mots-clés :

L'élaboration des questions est plus complexe que pour la base PASCAL. La base BIOSIS édite un guide bisannuel : le BIOSIS Search Guide / BIOSIS PREVIEWS. Ce guide contient plusieurs indexs :

- Master index (liste d'autorité),
- liste des concept code (codes de classification),
- Biosystematic index,
- des annexes de guides à la recherche.

Le Biosystematic index contient toutes les espèces animales, végétales et microbiennes sous forme de codes. Notre recherche concernant la méthanisation fait intervenir plusieurs sortes de microorganismes, dont quelques uns non connus. Il eut été imparfait d'employer le biosystematic code sauf pour les bactéries en général.

Nous avons recherché dans le Master index, les synonymes de "méthanisation" :

KW = Methanogen\$ (840)

Il s'agit d'un mot-clé (keyword) employé dans la base pour recensé tout ce qui concerne la méthanisation. (840) indique le nombre de références répertoriées dans la base.

Nous avons aussi cherché les keywords correspondant aux mots-clés employés lors de l'interrogation de la base PASCAL :

KW = organochlorine

KW = organophosphate\$

KW = organophosphorus

KW = halogen\$

KW = inhibit\$

La base BIOSIS possède une organisation spéciale avec des Concept Code. Ceux-ci représentent des domaines limités et exhaustifs de biologie. Ils peuvent représenter des sujets, des techniques, des méthodes d'analyses... Pour notre recherche, certains domaines de biotechnologies concernant la fermentation nous intéressaient ici :

CC=39006 Biodegradation et biodeterioration

CC=39007 Microbial fermentation

2.3. Stratégie d'interrogation :

La base BIOSIS permet l'interrogation par plusieurs termes combinés par des opérateurs booléens et , ou , sauf. On peut aussi formuler des équations de recherche comprenant des multitermes grâce à des opérateurs d'adjacence ADJ. L'interrogation se déroule par étapes numérotées, pouvant être combinées entre elles :

1. 39 006 OR 39 007
2. 1 AND METHANOGEN\$
3. 2 AND (ORGANOPHOSPHATE\$ OR ORGANOCHORINE OR ORGANOPHOSPHORUS)
4. 2 AND INHIBIT\$
5. 3 OR 4

RESULTAT : 32 réponses

Sur les 32 références obtenues, il y en avait quelques unes de communes avec celles de la base PASCAL, mais la majorité était de nouvelle source. Nous avons conservé 19 références comme pertinentes .

L'interrogation de la base montre donc :

- un taux de **pertinence** $(19 * 100) / 32 = 60 \%$
- un taux de **bruit** : $(13 * 100) / 32 = 40 \%$

3. INTERROGATION DE TELETHESE

La recherche automatisée sur la base PASCAL permet la localisation de références de thèses française. Malgré cela , il est bon de consulter la base recensant les thèses françaises , Téléthèse. Celle-ci est accessible par le SUNIST en vidéotex mais aussi par CD ROM, notamment présent à la bibliothèque universitaire de Lyon Sciences.

Les équations de recherche employées sont les mêmes que lors de l'interrogation de la base PASCAL.

Le résultat de cette recherche , sur une période allant de 1985 à 1990, n'a été que d'une thèse nouvelle . Nous avons donc obtenu 5 thèses françaises concernant la méthanisation et ses applications.

2^{ème} PARTIE : **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

INTRODUCTION

Le **laboratoire de microbiologie de M. FERRIER et M. JACOB** travaille depuis plusieurs années sur la méthanisation. Ces études ont pour but d'optimiser le phénomène de **fermentation méthanique**.

Pour cela, il est nécessaire de contrôler les paramètres de conditions de culture des microorganismes et notamment les éléments autres que le substrat, influençant la méthanisation.

Une première partie sera dédiée au processus de fermentation méthanique, ses conditions de réalisation et ses intérêts. Puis, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'influence des **inhibiteurs organiques ou halogénés** sur la méthanisation.

I. LA FERMENTATION METHANIQUE

1. INTERETS DE LA METHANISATION

Parmi les **fermentations microbiennes anaérobies** de résidus organiques, la fermentation méthanique permet la valorisation énergétique de la biomasse.

Tous les déchets d'origine animale ou végétale sont une source de carbone importante, c'est à dire une biomasse potentielle. On distingue deux sortes de biomasse :

- la biomasse primaire constituée de résidus agricoles, forestiers, etc.
- la biomasse secondaire constituée de lisiers de porc, de déchets d'industries agro-alimentaire, de déchets urbains...

Ces **biomasses** sont composées essentiellement de glucides représentés par de la cellulose et de la lignine. Elles peuvent suivre différentes filières de dégradation :

- la filière thermochimique (combustion + pyrolyse + gazéification)
- la filière alcool (hydrolyse de sous-produits et synthèse par fermentation, d'éthanol et de méthanol).
- **la filière biologique ou méthanisation :**

Elle est particulièrement bien adaptée aux produits humides tels que les lisiers, les fumiers... Il s'agit d'une dégradation microbienne anaérobie donnant un gaz riche en méthane et un résidu de fermentation ayant encore une valeur fertilisante.

De plus, une pollution organique localisée peut être épurée par la digestion anaérobie, avec un meilleur rendement que par d'autres voies.

Il faut donc considérer la méthanisation sous trois aspects intéressants :

- elle permet la biosynthèse de métabolites dont le méthane. Celui-ci peut être employé en industrie chimique pour la synthèse de méthanol.
- elle permet la production d'une biomasse (boue) valorisable en agriculture.
- c'est une technique d'épuration d'une pollution organique par oxydation puis stabilisation des déchets organiques.

2. PROCESSUS DE LA FERMENTATION

Cette fermentation microbienne se déroule en conditions anaérobies et transforme les produits organiques en un mélange gazeux composé essentiellement de gaz carbonique et de méthane.

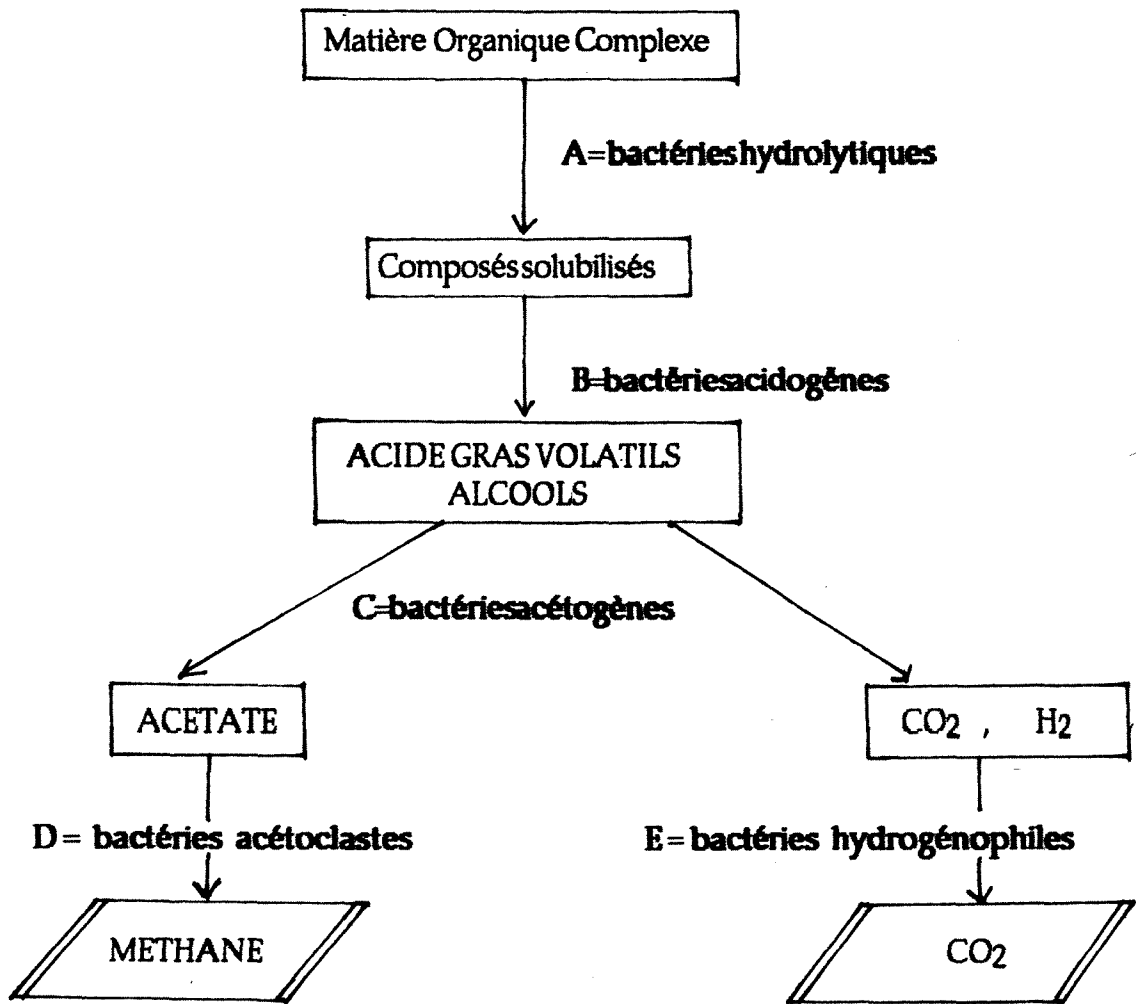
Elle se déroule en plusieurs étapes successives et met en jeu des populations variées de microorganismes, cohabitant dans un même milieu avec des relations syntrophiques complexes.



Les substrats utilisés par les bactéries étant différents, cela permet de distinguer plusieurs phases lors de la biosynthèse du méthane, dont 2 principales :

I. Hydrolyse - Acidification

II Méthanisation

La biosynthèse du méthane se déroule comme suit :



Légende :  Substrat
 Produit final synthétisé
 A, B,... Population de microorganismes

Cette fermentation dépense 6000 kcal. pour consommer 1 M3 de biomasse, et produit un gaz composé de 70 % de méthane et de 30 % de CO₂.

Quelques exemples de bactéries spécifiques de chaque étape de la fermentation méthanique :

A = Ces bactéries secrètent de enzymes comme des cellulases, de protéases, des lipases qui ont pour rôle de dépolymériser les grosses molécules. Ces bactéries montrent un taux élevé de croissance.

ex. bactéries cellulolytiques : *Clostridium thermocellum*

bactéries protéolytiques : *Clostridium sp.*

bactéries lipolytiques : *Anaerovibrio lipolytica*

B = Les bactéries acidogènes métabolisent des produits simples grâce aux enzymes intra-cellulaires. Dans les boues mésophiles, on trouve des bacilles Gram - comme *Bifidobacterium* ayant un taux de croissance élevé. Ces bactéries sont pour la plupart des anaérobies strictes.

Des bactéries aérobies ou microaérophiles ne sont présentes que s'il y a eu des boues primaires.

C = Les bactéries acétogènes ont un rôle très important. Ce sont elles qui donnent les précurseurs du méthane (acétate, acide formique, H_2 , CO_2). Cela évite une accumulation d'acides gras volatils qui peuvent en concentration élevée provoquer l'inhibition de la méthanogénèse.

La plupart des bactéries restent cependant mal connues, mis à part les genres *Desulfovibrio*, *Clostridium*, *Acetobacter woodii*.

D = Les acétoclastes réalisent la synthèse du méthane à partir de H_2 et CO_2 ou de l'acétate. Elles ont besoin d'un milieu à pH compris entre 6,5 et 8 et un potentiel rédox très bas (300 mV). De plus, elles ont un taux de croissance très lent ce qui nécessite un temps de séjour long dans le digesteur.

Certaines bactéries vivent en syntrophie avec d'autres bactéries ce qui permet la réalisation de réactions thermodynamiquement impossibles :

ex. bactéries sulfato-réductrices et bactéries méthanogènes

Pour optimiser la fermentation méthanique, plusieurs techniques existent actuellement. Deux technologies se distinguent :

La technologie en discontinu :

Elle s'applique principalement au traitement des déchets d'élevages non humides. Le substrat agricole organique est introduit une seule fois dans le digesteur et est récupéré après 6 semaines de fermentation. Sa conduite est relativement simple mais son application se limite aux petites installations agricoles.

La technologie en continu :

Ce procédé est employé pour tout déchet fluide et humide (10 % de matières sèches maximum) comme les effluents (lisiers, eaux résiduaires). Le substrat est introduit une ou plusieurs fois dans le digesteur de façon continue et limitante. C'est un procédé plus délicat demandant une surveillance soutenue. Il existe plusieurs variantes de cette technologie : (cf. annexes 1 et 2).

Récemment un nouveau type de digesteur utilise du biofilm, ce qui permet une culture mixte stratifiée donnant de bons rendements de fonctionnement. (CANOVAS-DIAZ, 1988).

3. FACTEURS INFLUENÇANT LA METHANISATION :

La diversité des microorganismes rencontrés dans la méthanisation, les différents substrats possibles sont déjà deux éléments rendant difficile l'optimisation de la fermentation méthanique.

De plus, des paramètres externes viennent s'ajouter aux premiers en influençant parfois considérablement le déroulement du processus.

- la température :

elle doit être comprise entre 10° et 65°, et maintenue constante. La production de méthane est maximale pour des températures de 37° ou 50°-55°.

- le pH :

Il est compris entre 6,5 et 8,0 pendant les différentes phases.

Lorsqu'il est < 6,5 cela peut signifier une concentration élevée en acides gras volatils, ce qui inhibe la méthanisation.

Lorsqu'il est > 8,0, cela provient d'une accumulation d'H₂ ou de H₂S.

- le temps de séjour :

Il varie en fonction de la composition du substrat et du type de digesteur utilisé. On cherchera bien sûr à la minimiser.

- le potentiel redox :

Un potentiel très bas de l'ordre de -300 à -330 mV est nécessaire au bon fonctionnement des bactéries méthanogènes. Il convient donc d'assurer une bonne étanchéité du digesteur et éviter les éléments oxydants.

- les inhibiteurs :

Pour un taux de croissance raisonnable, on admet des rapports :

$$C/N = 35$$

$$C/P = 150.$$

On connaît plusieurs produits inhibiteurs de la fermentation méthanique :

- l'azote présent sous forme de nitrates en concentration > 150 mg/l.
- les métaux lourds (Cu, Zn, Ni, Hg ...) même à faible concentration.
- l'hydrogène en trop grande concentration.
- le chloroforme et le formaldéhyde.

II LES INHIBITEURS NON MINÉRAUX DE LA MÉTHANISATION

A côté des inhibiteurs connus de la fermentation méthanique, on trouve un certain nombre de produits organiques et des halogènes ayant une influence sur le déroulement du processus. Mis à part les sulfates et sulfures qui sont les plus connus, des études récentes se sont développées concernant l'influence sur la méthanisation :

- des composés bromés,
- des composés chlorés,
- des composés organiques purs.

Nous présenterons donc ci-après, la synthèse des résultats de quelques études représentatives pour ces composés.

1. INFLUENCE DES COMPOSÉS SOUFRES :

1.1. Influence d' H₂S

L'**hydrogène sulfuré** possède la propriété d'abaisser le potentiel rédox. Présent en faible concentration, H₂S joue donc un rôle bénéfique dans la méthanisation et il favorise la précipitation d'ions métalliques sous forme de sulfure de cuivre, nickel, mercure ...

Les sulfures sont la source nutritionnelle préférentielle pour le soufre, des bactéries méthanogènes mais lorsqu'ils sont en quantité trop importante (de 70 mg/l à 200 mg/l), ils deviennent inhibiteurs pour la fermentation méthanique.

De nombreuses études ont été menées sur les relations d' H₂S avec d'autres paramètres . La toxicité d'H₂S a été étudié lors d'une fermentation méthanique en digesteur U.A.S.B. (KOSTER J.W et al, 1986).

Le digesteur se composait de boues de stations d'épuration provenant d'effluents agricoles de pommes de terres. La population microbienne méthanogène prédominante était représentée par Methanothrix. Le digesteur était maintenu en permanence à 30°C.

Les méthodes d'analyses :

L'expérience portait sur le dosage du méthane à pH constant est sulfide extérieurs. La fermentation méthanique fut réalisée dans ces conditions et suivi par les mesures de :

- H₂S par photométrie,
- acétate par chromatographie gazeuse, N₂ saturé HCOOH (débit = 50 ml/min)
- méthane par chromatographie gazeuse, N₂ (débit = 20 ml/min)
- pH avec électrode à pH.

Les résultats ont montrés une corrélation entre la concentration d'H₂S sur l'activité des bactéries acétoclastes et le pH. (fig1)

La toxicité est liée à la concentration d'H₂S libre pour une zone de pH comprise entre 6,4 et 7,2. A pH supérieur, on ne peut montrer une corrélation nette mais le rôle inhibiteur d'H₂S se fait toujours sentir.

Pour 50 % de bactéries acétoclastes inhibées, il faut :

- 250 mg/l de S à pH = 6,4-7,2

- 90 mg/l de S à pH = 7,8-8,0.

On remarque une tolérance au soufre assez élevée pour un pH de 8,0. Ceci peut s'expliquer par le gradient de pH présent dans les boues granuleuses.

D'autres études furent menées, recherchant un lien direct entre l'inhibition de la méthanisation et la présence d'H₂S. Des essais de digestion anaérobie en batch utilisant des effluents de distilleries ont permis de trouver une relation (KARHADKAR P.P et al, 1986).

Ils ont exprimé l'inhibition par rapport aux sulfites présents dans le substrat. Il s'agit en fait d'H₂S dégagé, et retrouvé dans le biogaz produit, qui est responsable de l'incapacité de production de méthane. La teneur en H₂S dans le substrat favorisant la production maximale de méthane est de 40 à 80 mg/l.

Pour une fermentation agitée en continu, à pH = 7,0-7,2, une température de 37°C et des paramètres définis (cf. article), les auteurs ont trouvé qu'une quantité de 5% d'H₂S dans le biogaz entraînait 50 % d'inhibition de la méthanisation.

Ce faible taux de dégagement gazeux s'explique par le fait qu'une bonne partie d'hydrogène sulfuré du substrat est utilisé pour la précipitation des métaux lourds en sulfures.

1.2. *influence des sulfates*

Les sulfates sont fréquemment présents dans les substrats à dégrader. Ils sont responsable du dégagement H₂S et en concentration élevée (> 200 mg/l), ce sont des inhibiteurs connus de la méthanisation.

Les études portant sur l'influence des sulfates ont nombreuses mais celle de HILTON M.G. et ARCHER D.B. en 1987, est fort intéressante. En effet, ils se sont attachés au cas de déchets fluides, les mélasses hautement chargées en sulfates (6 à 11,4 g/l) et avec une DCO = 49,8 g/l. (Demande Chimique en Oxygène).

La concentration élevée en **sulfates dans le substrat** a des conséquences directes :

- ils augmentent la croissance des bactéries sulfato-réductrices qui sont alors en compétition pour le substrat avec les bactéries méthanogènes. La compétition est d'autant plus élevée que le substrat est présent en faible quantité.

- les bactéries sulfato-réductrices sont capable d'utiliser des substrats plus variés, en particulier des acides gras volatils utilisés eux aussi par les bactéries méthanogènes.

- les sulfates entraînent une production d'H₂S qui est toxique pour les méthanogènes.

Dans un digesteur réalisant la déhalogénéation de chloro-anilines présents dans du lisier, une concentration élevée de sulfates ralentit nettement le processus de biodégradation. (KUHN E.P.; SUFLITA J.M. et TOWNSEND G.T., 1990).

Dans le cas d'une biodégradation par fermentation méthanique d'herbicides, l'addition de sulfates inhibe complètement la déhalogénéation (GIBSON S.A et SUFLITA J.M, 1990).

Dans tous ces cas et dans d'autres, il faut remédier au problème des sulfates. Le traitement le plus efficace et le meilleur marché peut se réaliser en digesteur simple par addition de fer. (HILTON M.G et ARCHER D.B, 1987).

Selon ces mêmes auteurs, l'addition de **sodium demolybdate** 20 mM inhibe rapidement et complètement la réduction des sulfates, se traduisant par une diminution très nette des H₂S dégagés.(fig 2) Mais cela entraîne aussi l'inhibition de la méthanogénèse. (YADAV V.K. et ARCHER D. B, 1989) . Cette inhibition serait due à la formation de complexes tels que Mo-O₂S²⁻ ou Mo-SO⁴⁻, ne laissant que du soufre "S" non disponible pour les bactéries méthanogènes. (KARHADKAR P.P et al, 1986) (SMITH et KLUG, 1981).

2. INFLUENCE DES COMPOSES BROMES:

Ces composés sont souvent identifiés en tant que contaminants d'eaux souterraines. Leur présence est observée très longtemps car leur dégradation est lente. Les décharges municipales, sources incontestables de produits organiques, sont très souvent à l'origine de ces pollutions. (WILSON B.H et al, 1986).

Etant donné la difficulté de s'en débarrasser, les effets des composés bromés ont été étudié dans le cadre de la méthanisation. Les recherches effectuées ont toutes aboutit à la même conclusion générale : les composés bromés sont des **inhibiteurs très efficaces de la méthanisation**.

Selon la spécificité des études, celles-ci ont montré l'influence de composés bromés comme le BES ou **Bromo-Ethane-Sulfonate**. La croissance de nombreuses bactéries a été minutieusement étudiée en présence de BES. (SPARLING R. et DANIELS L, 1987).

En conditions de cultures (température, phase gazeuse, milieu de culture) adaptées à chaque espèce microbienne, ils ont testé l'influence de 25 mM de BES.

De nombreuses bactéries gram - ou gram +, trois archaebactéries non méthanogènes et une levure n'ont pas été influencées par le composé. Seules trois espèces de bactéries méthanogènes ont été complètement inhibées :

- Methanobacterium bryantii,
- Methanococcus thermolithotrophicus,
- Methanospirillum hungatei.

Il est important de noter que les bactéries sulfato-réductrices ne sont pas inhibées par le BES. L'effet du BES sur les archaebactéries non méthanogènes montre

une très légère inhibition malgré une concentration élevée. Le BES n'est donc pas un inhibiteur spécifiquement efficace des bactéries sulfato-réductrices. Les essais de culture pure pour des bactéries méthanogènes ont montré que le BES est un composé inhibiteur effectivement spécifique.

En station d'épuration d'eaux urbaines, des composés bromés se retrouvent parfois mélangés aux microorganismes des digesteurs. Connaissant l'effet inhibiteur du BES, certains chercheurs se sont intéressés aux composés intermédiaires produits sous inhibition des bactéries méthanogènes. (GRBIC-GALIC, 1986).

Les bactéries cultivées sur un milieu avec de l'acide ferulique comme substrat carboné (30 mM/mois) et additionné de BESA (1 mM), sont particulièrement inhibées. Par chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse, les chercheurs ont mis en évidence de nombreux produits intermédiaires : toluène, ethylbenzène, phénol, catéchol ... La dégradation de tous ces composés se réalise par des voies différentes demandant plus ou moins d'énergie. La présence de BESA en milieu méthanogénique est donc un inconvénient métabolique.

Pour compléter les recherches réalisées sur les composés bromés, l'influence de plusieurs composés halogénés fut testée. (BELAY N. et DANIELS L, 1987). Parmi deux grandes familles d'halogènes testés (**les chlores** et **les bromes**) ayant une influence inhibitrice sur des bactéries méthanogènes, les composés bromés se sont révélés les plus efficaces. **Les Methanococcus ont été les plus sensibles au BESA.**

Lors de la même étude, les auteurs ont montré que le coenzyme M possédait une action protectrice appliquée aux cellules soumises à l'action du BESA uniquement, et non aux autres halogènes.

De toutes ces études, il en ressort que les composés bromés et le BES en particulier sont des inhibiteurs efficaces et spécifiques des bactéries méthanogènes.

3. INFLUENCE DES COMPOSES CHLORES :

Parmi les produits polluants d'origine industrielle, les composés chlorés tiennent une place importante. Très souvent, ils sont qualifiés de contaminants toxiques aussi bien dans les décharges publiques qu'en effluents d'industrie ou en eaux souterraines. Le comportement des composés chlorés en milieu naturel et plus précisément en milieu méthanogénique n'est pas encore bien compris. L'influence des composés chlorés sur les bactéries ou sur la méthanisation est assez varié.

Tout d'abord, les produits **hydrocarbonés halogénés** tels que le chloro-éthane, le 1,2 dichloro-éthane ou le trichloro-éthylène sont des inhibiteurs reconnus des bactéries méthanogènes. Ils montrent la propriété d'inhiber la croissance des bactéries même à de très faibles concentrations (1 μ M). Leur toxicité est cependant moins élevée que celle des composés bromés (BELAY N. et DANIELS L, 1987).

Leur dégradation a été étudiée, et bien souvent le temps de disparition du produit est très long (WILSON B.H. ; SMITH G.B et REES J.F., 1986). Ces chercheurs ont testé quatre chloro-alcènes en milieu méthanogène :

Mis à part le cis 1,2 dichloro-éthylène, les 1,1 dichloro-éthylène, 1,2 dichloro-éthylène et le trichloro-éthylène montrent un **temps de dégradation très long**. Des traces de composés halogénés sont détectées encore 40 semaines après l'origine de la contamination et on note la présence d'un produit secondaire : le vinyl chloride.

Ces premières études montrent donc que les bactéries méthanogènes seraient capable de dégrader certains composés chlorés. Elles sont donc à l'origine de plusieurs études portant sur de nombreux composés chlorés à chaînes ramifiées ou aromatiques. Ces produits subissent une minéralisation anaérobie.

La 1ère étape, encore mal connue, est réalisée par les microorganismes méthanogènes : **la déhalogénéation réductive**. De nombreux chercheurs se sont penchés sur ce phénomène (VOGEL T.M. et MC CARTY P.L., 1987) ; (DOLFING J. et TIEDJE J.M., 1987); (KUHN E.P. et SUFLITA J.M., 1989).

La déhalogénéation réductive consiste en des catalyses successives visant à remplacer les chlores par des protons. Ces étapes fournissent donc une accumulation de produits halogénés dérivés. Cette accumulation ne se produit pas lorsqu'on teste le devenir des composés chlorés en milieu stéril.

Malgré peu d'explications concernant le processus, nous connaissons actuellement quelques paramètres thermodynamiques. Il s'agit d'une réaction exergonique conférant au composé déhalogéné produit, une certaine biomasse. (DOLFING G.J. et TIEDJE J.M., 1987).

Cette déhalogénéation trouve tout son intérêt lors de pollutions environnementales organiques ou chimiques. Elle représente alors une stratégie biologique de dépollution.

Les chloro-anilines, largement utilisées en chimie et souvent intégrées aux pesticides, sont des polluants de l'eau et de l'environnement. Ils peuvent être déchlorés par ce principe biologique en conditions méthanogènes et non sulfato-réductrices (KUHN E.P. et SUFLITA J.M., 1989).

Les chloro-anilines étant des tétrachlores, ils sont réduits en dérivés intermédiaires tri, di et monochlorés. (Cf. fig.3).

Les solvants industriels utilisant des **composés trichlorés** sont eux aussi des polluants marins fréquents. La dégradation biotique c'est à dire par les bactéries méthanogènes, est possible et permet une production de composés halogénés intermédiaires plus facilement dégradables (VOGEL T.M. et MCCARTY P.L., 1987).

Cette étude démontre que la déhalogénéation réductive se réalise stoechiométriquement. (Cf. fig. 4) Les composés déhalogénés subissent une minéralisation partielle par le CO₂ en conditions méthanogéniques eux aussi.

La quantité de composés chlorés existants et leur aptitude à devenir des polluants de l'environnement, explique le nombre important d'études réalisées à ce sujet. La capacité des bactéries méthanogènes à déhalogéner ces composés pourrait être mise à profit dans les stations d'épuration, ce qui permettrait une certaine maîtrise des pollutions marines actuelles.

4. LES COMPOSES ORGANIQUES

Les produits organiques ayant une influence sur la méthanisation proviennent soit directement du milieu de culture, soit sont d'origine externe au substrat. Les produits intermédiaires accumulés lors de la méthanisation, tels que le formate, le propionate, l'acétate... sont facilement détectables et leur devenir est suivi. Ce sont les inhibiteurs potentiels organiques les mieux connus. En effet, de nombreuses études ont été réalisées sur l'effet du substrat, des acides gras volatils ou encore des produits intermédiaires accumulés, par exemple le formate (GUYOT J.F. et RAMIREZ F, 1989) sur le processus de méthanisation.

Les composés organiques tels que le **chloroforme** ou le **formaldéhyde** sont souvent utilisés en industrie. Ils sont fréquemment retrouvés dans les pollutions organiques des digesteurs. Ce sont des inhibiteurs bien connus.

Etant donné le grand nombre de produits organiques existants, les inhibiteurs de la méthanisation ne sont pas tous connus. Nous donnerons quelques exemples ici de produits organiques ayant un rôle inhibiteur sur la méthanisation.

Le **sodium dodecyl benzene sulphonate** entrant dans la composition de certains détergents a été identifié comme un inhibiteur puissant (KHALIL E.F et al, 1988). Les chercheurs ont pour cela testé l'influence du composé sur la croissance et l'activité méthanogénique de **Methanosarcina barkeri**. (Cf fig 5)

Pour obtenir une complète inhibition il faut une concentration de 15 à 20 mg/l. L'étude morphologique de la bactérie a révélé des altérations en surface de la bactérie, lors de concentration très élevée supérieure à 50 mg/l. (Cf fig 6)

Les composés phénoliques que sont les **tanins** sont présents dans beaucoup de déchets organiques. Certains chercheurs se sont penchés sur l'activité des tanins en milieu méthanogène (FIELD J.A. et LETTINGA G, 1986).

L'étude porta sur l'**acide gallotannique**, tanin polymère hydrolysable donnant comme tanins monomères de l'acide gallique et du pyrogallol. (Cf fig 7) L'acide gallotannique s'est révélé un inhibiteur puissant de la méthanisation. Une inhibition de 50 % a été obtenue avec une concentration de 700 mg/l.

L'influence des dérivés monomères a montré une inhibition plus légère. (Cf fig 8) Malgré une dégradation des polymères rapide, la toxicité persiste environ 2 mois.

Ces expériences montrent que ce tanin est un inhibiteur de la fermentation méthanique. Il agit selon un processus de "tanning" des protéines, semblable à celui utilisé par les enzymes. De plus, cela laisse supposer que d'autres tanins auraient eux aussi une activité inhibitrice potentielle.

Un certain nombre de composés organiques plus simples sont reconnus comme inhibiteurs de la fermentation méthanique. Nous relaterons ici quelques expériences testant le fluor, le cadmium ou les cyanides.

Le fluor intégré au 5 fluorouracil a été testé sur les bactéries méthanogènes *Methanosarcina barkeri* et *Methanobacterium thermoautotrophicum*. (GRINBERGS A. et al, 1988) Alors que l'uracil seul n'a aucun effet sur ces bactéries, le 5 fluorouracil inhibe la croissance de *Methanosarcina barkeri*, uniquement à concentration élevée supérieure à 50 microg/ml. (Cf fig.9). Des expériences menées sur *Methanobacterium thermoautotrophicum* ont montré que l'inhibition était provoquée par un blocage de la synthèse des acides nucléiques. Le 5 fluorouracil joue le rôle d'analogie de structure pyrimidique. Mais cette dernière bactérie acquiert une certaine résistance aux analogues de structure pyrimidique au cours du temps.

Les déchets organiques fluides peuvent parfois contenir des cyanides. L'effet des cyanides a été étudié sur la dégradation des composés phénoliques par un milieu méthanogénique (FEDORAK P.M et al, 1986) . En effet, les composés phénoliques constituent une grande partie des déchets d'industries chimiques ou pétrolières, et ils peuvent être dégradés par la voie biologique de la fermentation méthanique.

La fermentation en batch, additionnée de cyanides, montra une inhibition des bactéries de la dégradation phénolique. Les bactéries méthanogènes sont les plus sensibles aux cyanides et sont inhibées dès 2,5 mg/l. (Cf fig. 10).

Le processus responsable de cette inhibition serait une accumulation de produits intermédiaires de la méthanisation (acétate, formate,...) ne pouvant plus être consommés par les bactéries méthanogènes inhibées. Les cyanides sont donc une famille de composés inhibiteurs à suivre de près lors d'une fermentation méthanique.

Les métaux lourds sont des inhibiteurs de la méthanisation. A côté des métaux seuls, peuvent se former certains métaux complexés. C'est le cas pour le cadmium qui s'est révélé un inhibiteur de la méthanisation, lorsqu'il est utilisé sous forme de **sulfate de cadmium** (PANKHANIA I.P et ROBINSON J.P, 1986).

L'influence du cadmium a été étudié sur la croissance de *Methanosarcina barkeri* en milieu méthanogène contrôlé. Le cadmium seul, à forte concentration ne présente pas de propriétés spécifiquement inhibitrices. Mais pour une faible concentration de 150 microM, on observe une inhibition de la production de méthane fabriqué à partir du CO₂ et H₂.

En présence de DTT (dithiothreitol) dans le milieu de croissance, le cadmium devient inhibiteur. Pour 2 mM de DTT et 430 microM de cadmium on observe une légère inhibition. Pour 0,4 mM de DTT et 600 microM de cadmium on observe alors une inhibition totale de la production de méthane formé à partir du CO₂, H₂ et du méthanol.

Le cadmium est donc un inhibiteur potentiel de la méthanisation, à faible concentration ou en présence de traces de DTT. La voie de formation du méthane à partir de CO₂ et H₂ est plus sensible que celle à partir du méthanol.

CONCLUSION

La fermentation méthanique est un processus biologique permettant la biodégradation et le traitement de nombreux composés organiques. La valeur ajoutée acquise par les substances produites, montre l'intérêt industriel que l'on peut tirer de la méthanisation. L'optimisation des techniques de fermentation en digesteurs nécessite une bonne connaissance et une certaine maîtrise des paramètres influençant le phénomène biologique.

L'influence inhibitrice des substrats est bien étudiée lors de la croissance bactérienne et de l'activité méthanogénique. En ce qui concerne les composés minéraux tels que les métaux lourds, apportés par le milieu externe à la croissance, ils sont reconnus composés toxiques, aussi bien pour l'environnement que pour les bactéries méthanogènes. Nous connaissons actuellement d'autres substances inhibitrices de ces bactéries, qui sont fréquemment retrouvés en milieu naturel comme polluants organiques.

Les composés halogénés tels que les sulfates ou l'hydrogène sulfuré, les complexes à base de chlore, de fluor, de cadmium ou de brome, empêchent le bon déroulement de la fermentation méthanique en digesteur. Ils interviennent dans le phénomène biologique en bloquant une étape, et en provoquant bien souvent une accumulation de produits intermédiaires ne pouvant plus être dégradés. X

On a défini de nombreux produits organiques montrant cette même toxicité vis-à-vis des bactéries méthanogènes tels que certains tanins (l'acide gallotannique), des détergents (le SDBS), des pesticides, ou des cyanides... Tous ces composés peuvent être retrouvés dans les déchets fluides ou les décharges publiques et influencer la méthanisation des stations d'épuration, ce qui a pour conséquences directes un rendement diminué du procédé industriel. X

Ces composés divers et variés, inhibiteurs de la méthanisation méritent une attention toute particulière lors de la réalisation d'une fermentation. Pour cela, il faut encourager des études spécifiques et détaillées concernant certains produits, reconnus comme polluants de l'environnement, qui pourraient exercer aussi une influence inhibitrice sur la méthanisation.

3 ème PARTIE: **BIBLIOGRAPHIE**

BIBLIOGRAPHIE

LES OUVRAGES :

- Biotechnology/** SCRIBAN R. - 3ème éd. rev. et augm., Paris, 1988. Technique et Documentation LAVOISIER.
- Biosynthèse bactérienne du méthane et des pétroles /** PREVOST A.R. - Paris, 1977. Maloine S.A.
- La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies /** DEMEYER A et al. - Paris, 1982, Technique et Documentation LAVOISIER.
- General Microbiology /** STANIER R.Y ; ADELBERG EA et INGRAHAM J.L. - 4ème éd, 1977. The Mac Millan Press LTD.
- MC GRAW-HILL Encyclopedia of Science and Technology. /** 5 th Ed, New-York : Mc Graw-Hill, 1982. - 14 vol.

LES ARTICLES :

- AUDIC J.M. et al.** - Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. *Water Research*, 21, n° 9, 1987, pp. 1061-1066.
- BAJWA H.S. et FORSTER C.F.** - The inhibition of anaerobic processes by vegetable tanning agents. *Environmental Technology Letters*. 9, n°11, 1988, pp. 1245-1256.
- BATTERSBY NS et WILSON V.** - Survey of the anaerobic biodegradation potential of organic chemical in digesting sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, n° 2, 1989, pp. 433-439.
- BELAY N. et DANIELS L.** - Production of ethane ethylene and acetylene from halogenated hydrocarbons by methanogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, n° 7, 1987, pp. 1604-1610.
- BELYAEV S.S. et al.** - Microbiological processes in the critical zone of delivery wells of oil fields. *Mikrobiologiya*. 51, n° 6, 1982, pp. 997-1001.
- BEZRUKOVAL V. et al.** - Species diversity of methanogenic bacteria in the stratal waters of an oil field under exploitation. *Doklady Akademii Nauk Sssr*. 300, n°1, 1988, pp. 230-232.
- BOUWER E.J. et McCARTY P.L.** - Utilization rates of trace halogenated organic compounds in acetate-grown biofilms. *Biotechnology and Bioengineering*. 27, 1985, pp. 1564-1571.

- BOYD S.A. ; YOUNG L.Y et RIVERA M.D .** - Comment on "Methanogenic Degradation of Four Phenolic Compounds". *Water research*. 21, n° 7, 1987, pp. 859-861.
- CANOVAS-DIAZ M. et HOWELL J.A.** - Stratified mixed-culture biofilm model for anaerobic digestion. *Biotechnology and bioengineering* 22, 1988, pp. 348-355.
- DOLFING J. et TIEDJE J.M. .** - Growth yield increase linked to reductive dechlorination in a defined 3-chlorobenzoate degrading methanogenic coculture. *Arch. Microbiol.* 149, 1987, pp. 102-105.
- FEDORAK P.M. ; ROBERTS D.J. et HRUDEY S.E. .** - The effects of cyanide on the methanogenic degradation of phenolic compounds. *Water Research*; 20, n° 10, 1986, pp. 1315-1320.
- FEDORAK P.M et HRUDEY S.E. .** - Cyanide transformation in anaerobic phenol-degrading methanogenic cultures. *Water Science and Technology*. 21, n° 4-5, 1989, pp. 67-76.
- FIELD J.A. et LETTINGA G. .** - The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of a hydrolyzable tannin. *Water Research*. 21, n° 3, 1987, pp. 367-374.
- GIBSON S.A. et SUFLITA J.M. .** - Extrapolation of biodegradation results to groundwater aquifers reductive dehalogenation of aromatic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 52, n° 4, 1986, pp. 681-688.
- GIBSON S.A. et SUFLITA J.M.** - Anaerobic biodegradation of 2,5 T in samples from a methanogenic aquifer stimulation by short-chain organic acids and alcohols. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, n°6, 1990, pp. 1825-1832.
- GRBIC-GALIC D. .** - Anaerobic production and transformation of aromatic hydrocarbons and substituted phenols by ferulic acid-degrading BESA-inhibited methanogenic consortia. *FEMS Microbiology Ecology*. 38, 1986, pp. 161-169.
- GRINBERGS A.; MULLER V.; GOTTSCHALK G.; THAUERR K. .** - Different effects of 5-fluorouracil on *Methanosarcina barkeri* and on *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *FEMS Microbiology Letters*. 49, n° 1, 1988, pp. 43-47.
- GUYOT J.P. et RAMIREZ F. .** - Inhibition of the anaerobic acetate degradation by formate. *Biotechnology letters*. 11, n° 5, 1989, pp. 365-368.
- HICKEY K.F et al .** - The effects of organic toxicants on methane production and hydrogen gas level during the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Research*. 21, n° 11, 1987, pp. 1417-1427.

- HILTON M.G. et ARCHER D.B.** . - Anaerobic digestion of a sulfate-rich molasses wastewater: inhibition of hydrogen sulfide production. *Biotechnology and Bioengineering* 31, 1988, pp. 885-888.
- JARRELL K.F.; SAULNIER M. et LEY A.** . - Inhibition of methanogenesis in pure cultures by ammonia, fatty acids, and heavy metals, and protection against heavy metal toxicity by sewage sludge. *Can. J. Microbiol.* 33, n° 6, 1987, pp. 551-554.
- JARRELL K.F. et KOVALS.F.** . - Ultrastructure and biochemistry of *Methanococcus voltae*. *Critical Reviews in Microbiology* 17, n° 1, 1989, pp. 53-87.
- JUSSOFIEA.; MAYER F. et GOTTSCHALK G.** . - Methane formation from methanol and molecular hydrogen by protoplasts of new methanogenic isolates and inhibition by dicyclohexylcarbodiimide. *Archives of Microbiology* 146, n° 3, 1986, pp. 245-249.
- KARHADKAR P.P. et al.** . - Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. *Water research* 21, n° 9, 1987, pp. 1061-1066.
- KHALIL E.F. et al.** . - The effect of detergent on methanogenesis by *Methanosarcina barkeri*. *FEMS Microbiology letters* 57, n°3, 1989, pp. 313-316.
- KIENE R.P. et CAPONE D.G.** . - Microbial transformations of methylated sulfur compounds in anoxic salt marsh sediments. *Microbial Ecology* 15, n° 3, 1988, pp. 275-291.
- KOSTER J.W. et al.** . - Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels. *Water research*, 20, n° 12, 1986, pp. 1561-1567.
- KRZYCKI J.A. et PRINCE R.C.** . - EPR observation of carbon monoxide deshydrogenase, methylreductase and corrinoid in intact *Methanosarcina barkeri* during methanogenesis from acetate. *Biochimica et biophysica acta* 1015, n° 1, 1990, pp. 53-60.
- KUHN E.P. et SUFLITA J.M.** ; - Sequential reductive dehalogenation of chloroanilines by microorganisms from a methanogenic aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 23, n° 7, 1989, pp. 848-852.
- KUHN E.P.; SUFLITA J.M. et TOWNSEND G.T.** . - Effect of sulfate and organic carbon supplements on reductive dehalogenation of chloroanilines in anaerobic aquifer slurries. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, n° 9, 1990, pp. 2630-2637.
- MALIK R.K. et TAURO P.** . - Control of methanogenesis in cattle waste digesters. II : Acidogenesis and methanogenesis at various stages of digestion in cattle waste digesters. *J. Microbial Biotechn.* 4, n° 1, 1989, pp. 42-47.

- MIKESELL M. et BOYD S.** . - Reductive dehalogenation of halomethanes by methanosarcina sp. *89th annual meeting of the American Society for Microbiology*. New Orléans, USA , may 14-18, 1989.
- NG A.S. ; TORPY M.F. et ROSE C.** . - Control of anaerobic digestion toxicity with powdered activated carbon. *Journal of environmental engineering* 114, n° 3, 1988, pp. 593-605.
- PANKHANIALP. et ROBINSON J.P.** . - Inhibition of Methanosarcina barkeri strain 227 by cadmium. *FEMS Microbiology Letters*. 38, n° 5, 1986, pp. 309-312.
- RAJAGOPAB.S. et DANIELS L.** . - Investigation of mercaptans, organic sulfides, and inorganic sulfur compounds as sulfur sources for the growth of methanogenic bacteria. *Current Microbiology*. 14, n° 3, 1986, pp. 137-144.
- ROBINS J.F. ; GERHARDT S.A et KAPPEL T.J.** . - Effects of total ammonia on anaerobic digestion and an example of digester performance from cattle manure-protein mixtures. *Biological Wastes*. 27, n° 1, 1989, pp. 1-14.
- SMITH R.L. et KLUG M.J.** . - Electron donors utilized by sulfate reducing bacteria in eutrophic lake sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 1981, pp. 116-121.
- SPARLING R. et DANIELS L.** . - The specificity of growth inhibition of methanogenic bacteria by bromoethanesulfonate. *Can. J. Microbiol.* 33, 1987, pp. 1132-1136.
- SUFLITA J.M. ; ROBINSON J.A. et TIEDJE J.M.** . - Kinetics of microbial dehalogenation of halo aromatic substrates in methanogenic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, n° 5, 1983, pp. 1466-1473.
- SUFLITA J.M. ; STOUT J. et TIEDJE J.M.** . - Dechlorination of 2 4 5-T by anaerobic microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 32, n° 2, 1984, pp. 218-221.
- TANIMOTO Y. et al.** . - Screening growth inhibitors of sulfate-reducing bacteria and their effects on methane fermentation. *Journal of Fermentation and bioengineering* 68, n° 5, 1989, pp. 353-359.
- TEAL R. et MAGGLE D.P. JR.** . - Effects of 5-fluorouracil on growth and methanogenesis in Methanobacterium thermoautotrophicum (Marburg). *Current Microbiology*. 14, n° 4, 1986, pp. 227-230.
- UEKI K. ; UEKI A. et SIMOGO H. Y.** . - Terminal steps in the anaerobic digestion of municipal sewage sludge : effects of inhibitors of methanogenesis and sulfate reduction. *J. gen. and appl. Microbiol.* 34, n° 5, 1988, pp.425-432.
- VOGEL T.M. et McCARTY P.L.** ; - Abiotic and biotic transformations of 1,1,1-trichloroethane under methanogenic conditions. *Environ. Sci. Technol.* 21, n° 12, 1987, pp. 1208-1213.

- WILSON B.H. ; SMITH G.B. et REES J.F. ;** - Biotransformations of selected alkylbenzenes and halogenated aliphatic hydrocarbons in methanogenic aquifer material : a microcosm study. *Environ. Sci. Technol.* 20, n° 10, 1986, pp. 997-1002.
- WOLIN M.J et MILLER T.L.** - Molybdate and sulfide inhibit H₂ and increase formate production from glucose by *Ruminococcus albus*. *Arch. Microbiol.* 124, 1980, pp. 137-142.
- YADAV V.K et ARCHER D.B.** - Sodium molybdate inhibits sulphate reduction in the anaerobic treatment of high-sulphate molasses wastewater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 31, n° 1, 1989, pp. 103-106.
- ZHANG X. et WIEGEL J.** - Isolation and partial characterization of a *Clostridium* sp. transforming P-hydroxybenzoate and 3-4-dihydroxybenzoate and producing phenols as the final transformation products. *Microbial Ecology.* 20, n° 2, 1990, pp.103-122.

LES THESES:

- ATTAL Aline.** - Etude de la stabilité et de la modélisation d'un digesteur anaérobie : rôle du pH, de l'acétate et de l'hydrogène. Th. doct.: **Microbiol.**: INSA Toulouse: **1989**
- BRIAND Xavier.** - Prolifération de l'algue verte *ULVA* sp. en baie de Lannion (France) : étude d'une nuisance et de son traitement par fermentation anaérobie. Th. 3^e cycle : **Biol. physiol. vég.** : Lille 1 : **1989**.
- FOUGERAT Alain Pierre.** - Influence d'additifs alimentaires et d'antibiotiques utilisés en alimentation animale sur la méthanisation des lisiers de porc. Th. 3^e cycle : **Microbiol.** : Lyon 1 : **1987**.
- PERROT Chantal.** - Optimisation de la digestion anaérobie en deux étapes des boues de stations d'épuration : étude de l'étape de l'hydrolyse de la matière organique. Th. doct. : **Hydrobiol.** : Clermont-Ferrand 2 : **1989**.
- SEGURA Jean.** - Interaction entre la fermentation méthanique et la sulfato-réduction : influence des sulfates sur la digestion anaérobie à faible charge ; activation de la méthanogénèse, inhibition de la sulfato-réduction. Th. 3^e cycle : **Chimie** : Paris 7 : **1984**.

NOMBRE DE REFERENCES : 58

ANNEXES

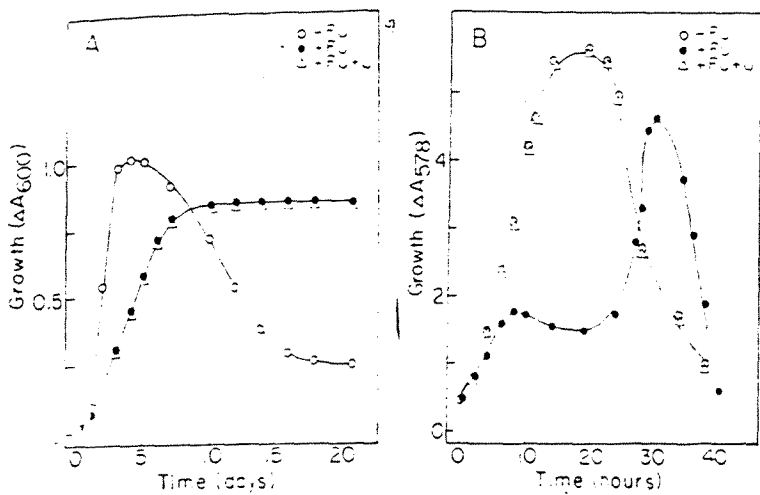


Fig. 9 Effect of 5-fluorouracil on growth of (A) *M. barkeri* and of (B) *M. thermoautotrophicum*. *M. barkeri* was grown at 37°C in 100 ml capped serum bottles containing 60 ml medium with methanol as energy source. The gas phase was 80% N₂, 20% CO₂. Where indicated the medium was supplemented with FU (120 μg/ml) and with uracil (200 μg/ml). The medium was inoculated with 3 ml of culture cells grown in the absence of FU. A ΔA₆₀₀ of 1 corresponded to a cell concentration of approximately 0.4 g (dry weight)/l. *M. thermoautotrophicum* was grown at 65°C in 500-ml fermenters containing 250 ml mineral salts medium. The fermenter was continuously gassed with a mixture of 80% H₂, 20% CO₂, 0.1% H₂S at a rate of 100 ml/min. Where indicated the medium was supplemented with FU (10 μg/ml) and with uracil (200 μg/ml). The medium was inoculated with 25 ml of a culture grown without FU. A ΔA₅₇₈ of 1 corresponded to a cell concentration of 0.4 g (dry weight)/l.

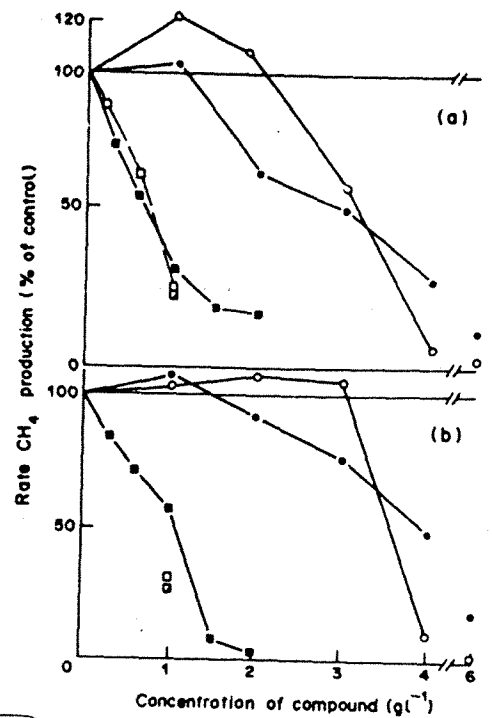
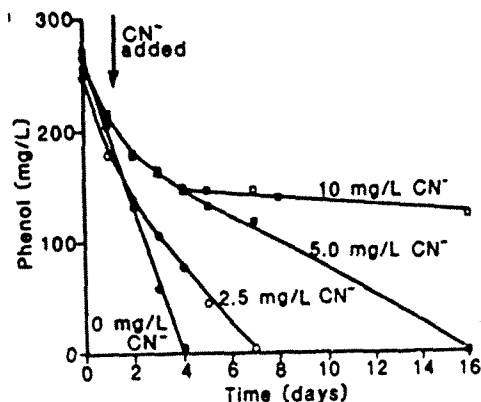
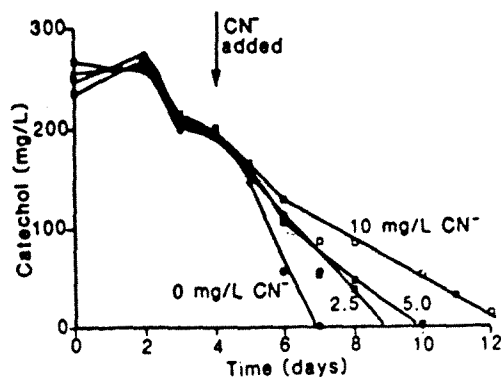


Fig. 8 (a) The *in situ* activity of sludge expressed as a percentage of the control activity during the first VFA (4.17 g COD l⁻¹) feeding for various concentrations of gallic acid (○), pyrogallol (●) and gallotannic acid (■) in still standing (unshaken) 0.5l batch serum flask digestions with 1.11 g OS l⁻¹ granulated sludge; gallotannic acid (□) with 1.05 OS l⁻¹ granulated sludge in unshaken experiments; and gallotannic acid (▨) with 1.05 g OS l⁻¹ granulated sludge in mechanically shaken (reciprocal shaking for 1 min every 5 min) experiments. The absolute activities of the controls were: 497.3, 471.9, 477.5, 522.0 and 504.3 mg COD g⁻¹ OS added d⁻¹, for ○, ●, ■, □ and ▨, respectively. (b) The sludge activity following 19 days (○, ●, ■), 25 days (▨) or 54 days (□) of digestion. Supernatants were decanted under N₂ flushing and replaced with nutrient supplemented medium (pH 7.4) containing 4.17 g COD l⁻¹ VFA, inhibitors were not included in replacement medium. The absolute activities of the controls were 961.1, 918.5, 868.9, 971.0 and 1052 mg COD g⁻¹ OS added d⁻¹ for ○, ●, ■, □ and ▨, respectively.

FIG. 10 Cyanide and methanogenic phenolic degradation



Rates of phenol biodegradation in cultures which contained varying concentrations of cyanide added after 1 day incubation.



Rates of catechol biodegradation in cultures which contained varying concentrations of cyanide added after 4 days incubation.

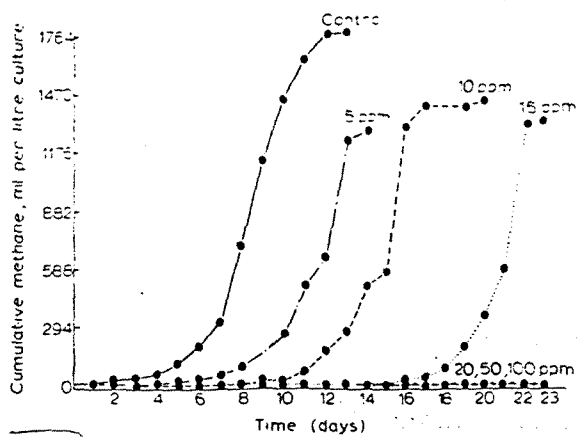


Fig. 5a. The effect of SDBS on methanogenesis by *Methanosarcina barkeri*: the detergent addition at zero time.

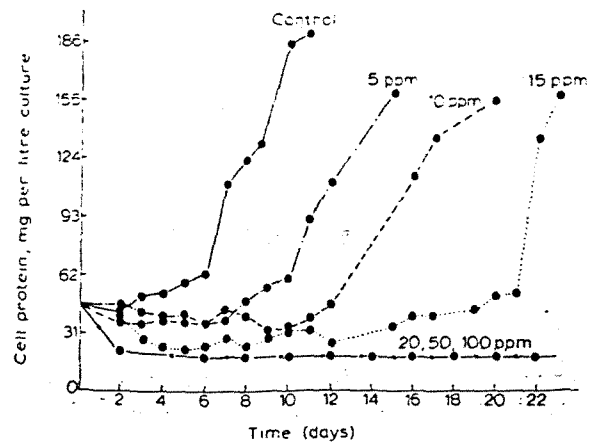


Fig. 5b. The effect of SDBS on growth of *M. barkeri*: detergent addition at zero time.

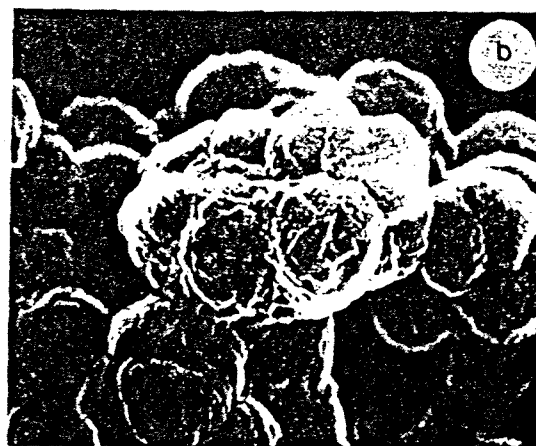


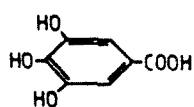
Fig. 6. Scanning electron micrographs ($\times 12500$) to show the effects of 50 ppm SDBS on *M. barkeri* cells. (a), control culture. (b), detergent culture.

FIG. 7

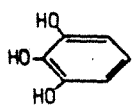
Hydrolyzable tannins

Condensed tannins

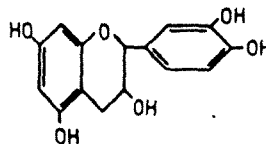
Monomers



Gallic acid

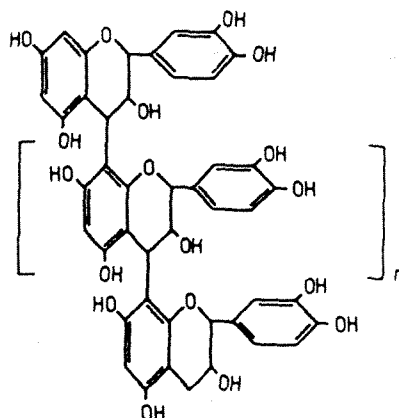
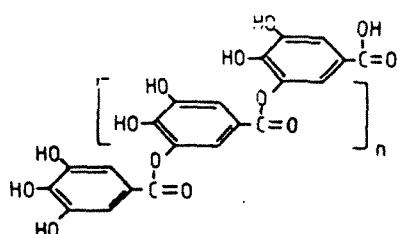


Pyrogallol



(+) Catechin

Polymers



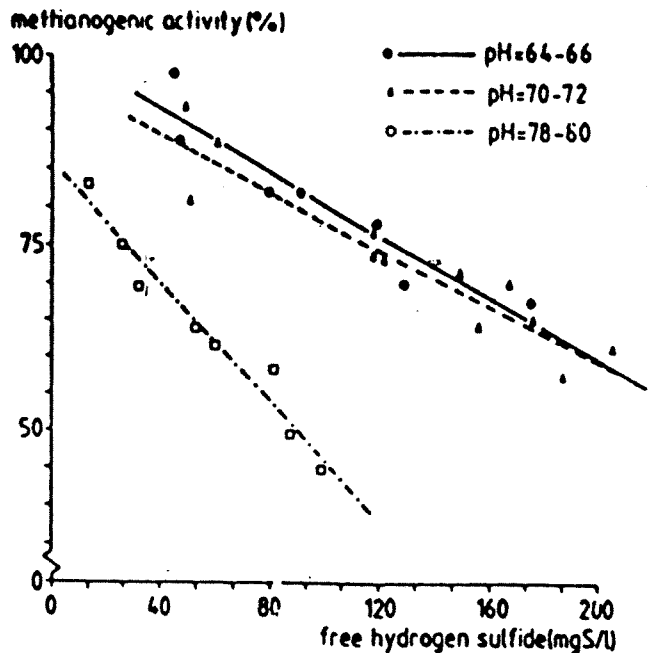


Fig. 1 The max. specific methanogenic activity (expressed as percentage of the uninhibited max. specific methanogenic activity at the concomitant pH range) of acetate-fed granular sludge incubated at 30°C at various pH ranges as a function of the free hydrogen sulfide concentration. For each pH range a linear regression line has been drawn.

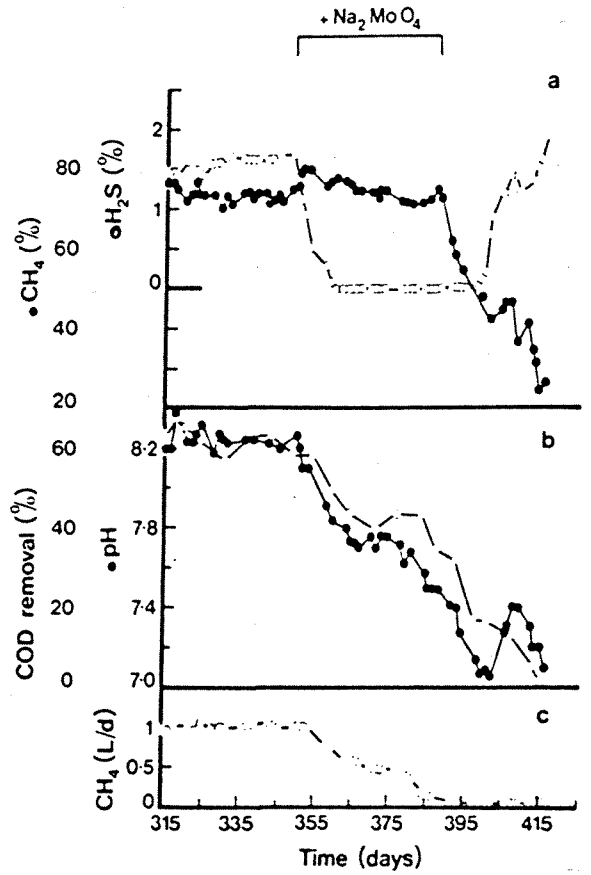


Figure 2. Effects of sodium molybdate (10mM) on (a) gas composition, (b) pH and COD removal, and (c) methane production rate.

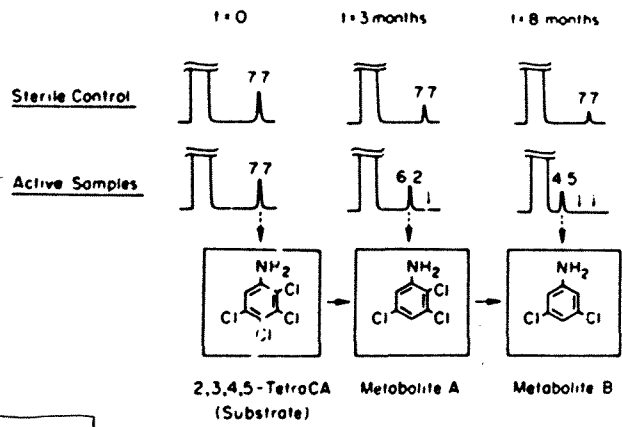


Figure 3 HPLC chromatograms illustrating the biotransformation of the substrate 2,3,4,5-tetraCA to the dehalogenated metabolites 2,3,5-triCA and 3,5-diCA in methanogenic aquifer slurries.

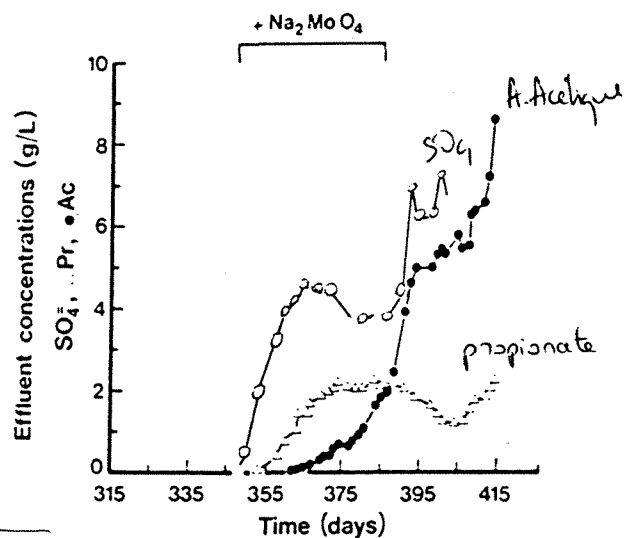


Figure 2 Effects of sodium molybdate (10mM) on the concentrations of sulfate, acetic acid, and propionic acid in the effluent from the reactor.

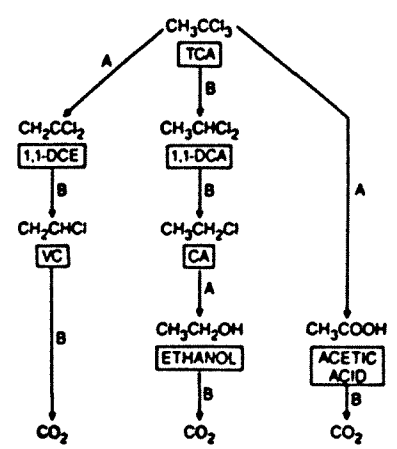


Figure 4 Probable fate of TCA under methanogenic conditions: biotransformation pathways are denoted by lines marked B and abiotic transformation pathways by lines marked A.



* 9 5 5 3 6 2 0 *