



**FACULTE DES SCIENCES**

**Formation Doctorale : Physique et Application**

**THÈSE DE DOCTORAT EN COTUTELLE ENTRE L'UNIVERSITE IBN TOFAIL KENITRA ET L'UNIVERSITE CORDOUE ESPAGNE**

Par

**Mme Karima HAMRAOUI**

Sous le thème

**Anaerobic Co-digestion of Pepper and Eggplant Plants: Effect of Hydrothermal Pretreatment and Kinetic Study of the Process**

**La Co-digestion Anaérobie des Plantes de Poivrons et d'Aubergines: Effets de Prétraitement Hydrothermique et Etude Cinétique du Processus**

**La Codigestión Anaerobia de las plantas de pimiento y de berenjena: Efecto del Pretratamiento Hidrotérmico y Estudio Cinético del Proceso**

Présentée le 17/05/2022 devant l'IDEP

Nom et Prénom	Statut	Etablissement
Pr. Maria De Los Angeles Martin Santos	Directrice	Campus Rabanales, Université de Cordoue Espagne
Pr. Hassan El Bari	Co-directeur	Faculté des Sciences Kénitra
Pr. José Angel Siles Santos	Co-directeur	Campus Rabanales, Université de Cordoue Espagne

**LABORATOIRE : Laboratoire des Systèmes Electroniques, Traitement de l'information, Mécanique et Energétique**

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2021/2022**

TITULO: *La Co-digestion Anaérobique des Plantes de Poivrons et d'Aubergines:  
Effets de Prétraitement Hydrothermique et Etude Cinétique du  
Processus*

AUTOR: *Karima Hamraoui*

---

© Edita: UCOPress. 2022  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/  
ucopress@uco.es](https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/ucopress@uco.es)

---

# DEDICACE

*Je dédie ce travail à :*

*A mon Père,*

*A ma Mère,*

*A mon Mari,*

*A mon Fils.*

*A mes Frères et Sœurs,*

*A mes Amis (es)*

*A toute ma Famille.*

# REMERCIEMENTS

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse ont été menés au sein du Laboratoire département de Génie Chimie de l'Université de Cordoue (Espagne) et au sein du laboratoire Energies Renouvelables et Environnement, Equipe Biogaz, à la faculté des sciences de Kénitra, Université Ibn Tofail (Maroc).

Ces travaux de recherche n'auraient pas pu être réalisés sans le soutien et l'aide de nombreuses personnes.

En premier lieu, je tiens à remercier sincèrement les membres du jury pour leur disponibilité et leurs précieux commentaires.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse Professeur **EL BARI HASSAN**, d'avoir rendu possible des travaux sur ce sujet, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et de m'avoir dirigé en me faisant profiter de sa compétence dans le domaine par ses discussions critiques, sa contribution, ses encouragements et ses conseils assez utiles et fructueux, qu'il n'a pas hésité à m'accorder.

Un grand remerciement à ma codirectrice de thèse **Mme. MARIA DE LOS ANGELES MARTIN SANTOS**, à qui je suis énormément reconnaissante car il a accepté de me prendre sous son aile, elle m'a accueilli dans son groupe de recherche, et elle a mis à ma disposition le matériel nécessaire pour la réalisation de mon projet. Ses connaissances, ses orientations et suggestions ont été fondamentales pour l'achèvement de cette thèse.

Un énorme merci également à **Mr. ARTURO FRANCISCO CHICA PEREZ**, professeur et chef département de Génie Chimie de l'Université de Cordoue, Espagne, pendant mon séjour dans son université, tout d'abord pour m'avoir

**accepté au sein de son laboratoire ainsi pour son soutien et ses conseils m'ont beaucoup apporté.**

**Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance à Mr. JOSE ANGEL SILES LOPEZ, professeur au sein du département de Génie Chimie, qui a beaucoup contribué à la réalisation de ce travail.**

**Je remercie tout particulièrement Mme. AIDA GIL, pour l'intérêt qu'elle a porté au sujet, pour les discussions fructueuses autour des manipulations, sa gentillesse et sa patience.**

**Je remercie également l'équipe du laboratoire de Génie Chimie (Université de Cordoue, Espagne), Mme. Inmaculada Bellido et Mme. María Luisa López, qui m'ont aidée à un moment où à un autre de la thèse et pour l'intérêt qu'elles ont manifesté pour ce travail.**

**Je remercie également l'organisme qui a soutenu financièrement mon séjour en Espagne pour la finalisation de cette thèse ERASMUS ainsi que l'Université de Cordoue qui m'a accordé le détachement.**

**Un grand merci aux membres de l'équipe biogaz du laboratoire Energies Renouvelables et Environnement pour leurs conseils et leur disponibilité.**

**La préparation d'une thèse de Doctorat ne se limite pas juste aux formations et aux recherches mais constitue surtout pour une formation pour la vie quotidienne...**

**HAMRAOUI Karima**

## Résumé

La mise en œuvre de nouvelles législations de plus en plus strictes sur le traitement des déchets a conduit à l'utilisation et à l'amélioration de technologies non conventionnelles afin d'éviter les impacts environnementaux associés à certaines techniques de gestion traditionnelles, telles que la mise en décharge. Dans la plupart des cas, les déchets agricoles et agro-industriels contiennent une charge organique élevée qui peut causer des problèmes environnementaux tels que des odeurs désagréables, la production incontrôlée de gaz à effet de serre, la percolation de lixiviats, etc. Par conséquent, les déchets agricoles et agro-industriels doivent être traités de manière adéquate afin de mettre en place des systèmes de production compatibles avec le concept d'économie circulaire.

Une alternative prometteuse pour atteindre un objectif aussi ambitieux est la valorisation énergétique des déchets organiques générés par les activités agricoles et industrielles et leur utilisation pour l'autoconsommation dans les installations elles-mêmes. Dans ce contexte, la biométhanisation ou la digestion anaérobie permet de traiter les déchets organiques issus du secteur agricole et industriel, individuellement ou conjointement, avec l'avantage supplémentaire de minimiser leur teneur en matière organique grâce à leur transformation en méthane. Le méthane est un gaz à haut pouvoir calorifique, dont la combustion ne contribue pas au réchauffement climatique si le méthane provient de sources renouvelables. Le rendement en méthane et/ou la stabilité de la biométhanisation, qui est un processus microbien, pourraient être améliorés par l'application de différents prétraitements ou par le traitement conjoint de plusieurs substrats biodégradables dans un système centralisé. Ces procédures pourraient augmenter la biodiversité à l'intérieur des digesteurs anaérobies, diluer certains composés inhibiteurs contenus dans les substrats et/ou faciliter la disponibilité de nutriments supplémentaires.

Cette thèse de doctorat a évalué la faisabilité du recyclage des déchets végétaux de poivrons (*Capsicum* sp.) et d'aubergines (*Solanum melongena*) dans un système centralisé de biométhanisation. En raison de la forte demande pour les légumes qui en résultent, ces plantes agricoles sont généralement et simultanément cultivées dans des serres produisant de grandes quantités de résidus après la récolte. En général, les serres génèrent 25-37 tonnes de résidus de poivrons par hectare et 25-44 tonnes de résidus d'aubergines par hectare.

Différents essais mésophiles ont été réalisés à l'échelle du laboratoire pour déterminer la biodégradabilité de chaque déchet traité individuellement et traité en combinaison (co-

digestion), ainsi que pour quantifier le coefficient de rendement en méthane dans les deux cas. La co-digestion anaérobie de différents déchets générés dans une même zone géographique pourrait être intéressante à la fois pour la gestion et la valorisation des déchets. En fait, la co-digestion pourrait apporter la durabilité dans ses trois aspects (économique, social et environnemental), à la zone de mise en œuvre, qui est un objectif poursuivi par tous les plans nationaux et européens pour l'amélioration économique et environnementale.

D'un autre côté, la faible biodégradabilité des déchets lignocellulosiques pourrait rendre nécessaire la réalisation d'autres études de prétraitement. Ainsi, l'évaluation des prétraitements qui permettent d'améliorer la solubilisation du C et du N contenus dans les déchets peut être d'un intérêt marqué pour favoriser le traitement ultérieur par digestion anaérobie. La biodisponibilité des nutriments implique la réduction du temps nécessaire pour solubiliser et hydrolyser le substrat organique à traiter. Dans ce contexte, l'application de prétraitements hydrothermaux pour accélérer le processus de biodégradation (étape d'hydrolyse) et pour augmenter son efficacité énergétique sous forme de méthane a également été évaluée. Plus précisément, les conditions les plus appropriées pour prétraiter les déchets agricoles évalués dans les conditions de l'étude se sont avérées être l'application du prétraitement hydrothermique pendant 40 min, à 120°C et 2 atm. Les tests ultérieurs de biométhanisation ont montré que la combinaison des déchets prétraités à un pourcentage de mélange de 50% de poivron - 50% d'aubergine a augmenté le coefficient de rendement en méthane, si on le compare aux traitements individuels (jusqu'à 79 mLSTP/g VS).

De plus, l'étude de la cinétique de la production de méthane a permis de déterminer les conditions opérationnelles les plus favorables à une biométhanisation stable. En fait, la modélisation cinétique fournit des informations clés pour la conception des réacteurs, la prédiction de la production de méthane et l'optimisation des performances des bioréacteurs. Dans ce cas, le modèle de Gompertz modifié a été utilisé pour ajuster la production cumulée de méthane dans différentes conditions expérimentales car il fournit la valeur du taux de production spécifique maximal de méthane et la production cumulée maximale de méthane comme paramètres d'ajustement. En outre, le modèle décrit la période de la phase de latence ou le temps minimum requis pour produire du biogaz (temps de latence), qui est essentiel dans la dégradation anaérobie des substrats lignocellulosiques. Un très bon accord entre les variables expérimentales et simulées a été observé ( $r^2 = 0,999$ ), ce qui confirme la pertinence du modèle proposé dans les conditions de l'étude.

Cette recherche innovante peut être considérée d'un intérêt particulier étant donné que les résultats obtenus représentent une avancée significative dans le contexte de la gestion des déchets biodégradables abondants. Plus précisément, cette thèse de doctorat apporte une solution à un problème très pertinent dans la société actuelle, avec les avantages environnementaux et sociaux conséquents qu'une amélioration du traitement des déchets organiques pourrait entraîner.

**Mots-clés** : Digestion et la co-digestion Anaérobie, Potentiel Biométhanogène, Biomasses Lignocellulosiques, Prétraitement Hydrothermique, Modèles Cinétiques.

## Abstract

The implementation of new and increasingly stringent legislation on waste treatment has led to the utilization and improvement of non-conventional technologies to avoid the environmental impacts associated to some traditional management techniques, such as landfill disposal. In most cases, agricultural and agro-industrial wastes contain high organic load which might cause environmental problems like unpleasant smells, uncontrolled production of global warming gas, percolation of leachates, etc. Consequently, agricultural and agro-industrial waste must be treated adequately to achieve production systems consistent with the concept of circular economy.

A promising alternative to achieve such an ambitious goal is the energy recovery from organic waste generated in agricultural and industrial activities and uses it for self-consumption in the facilities themselves. In this context, biomethanization or anaerobic digestion allows treating organic wastes derived from the agricultural and industrial sector, individually or jointly, with the additional advantage of minimizing their organic matter content through its transformation into methane. Methane is a gas with high calorific value, whose combustion does not contribute to the global warming if methane derives from renewable sources. The methane yield and/or the stability of biomethanization, which is a microbial process, might be improved by applying different pre-treatments or by the joint treatment of several biodegradable substrates in a centralized system. These procedures could increase the biodiversity inside the anaerobic digesters, dilute some inhibitory compounds contained in the substrates and/or facilitate the availability of additional nutrients.

This doctoral thesis has evaluated the feasibility of recycling pepper (*Capsicum* sp.) and aubergine (*Solanum melongena*) plant waste in a centralized biomethanization system. Due to the high demand for the resulting vegetables, these agricultural plants are usually and simultaneously grown in greenhouses producing large amounts of residues after harvesting. In general, greenhouses generate 25–37 tons of pepper plant residues per hectare and 25–44 tons of eggplant residues per hectare.

Different mesophilic assays were carried out at laboratory-scale to determine the biodegradability of each waste treated individually and treated in combination (co-digestion), as well as to quantify the methane yield coefficient in both cases. Anaerobic co-digestion of different wastes generated in the same geographical might be interesting both for waste management and valorization. In fact, co-digestion might provide sustainability in its three

aspects (economic, social and environmental), to the area of implementation, which is an objective pursued by all national and European plans for economic and environmental improvement.

On the other hand, the low biodegradability of lignocellulosic waste might lead to the need of carrying out further pretreatment studies. Thus, the evaluation of pretreatments that allow improving the solubilization of C and N contained in waste can be of marked interest to favor the subsequent treatment through anaerobic digestion. Nutrients bioavailability entails the reduction of time required to solubilize and hydrolyze the organic substrate to be treated. In this context, the application of hydrothermal pretreatments to accelerate the biodegradation process (hydrolysis step) and to increase its energy efficiency in the form of methane was also evaluated. Specifically, the most appropriate conditions to pretreat the agricultural wastes evaluated under the study conditions were found to be the application of the hydrothermal pre-treatment for 40 min, at 120°C and 2 atm. Subsequent biomethanization tests showed that the combination of pre-treated wastes at a mixing percentage of 50% pepper plant – 50% eggplant enhanced the methane yield coefficient, if compared to the individual treatments (up to 79 mLSTP/g VS).

Additionally, the study of the kinetics of methane production allowed the most favorable operational conditions for stable biomethanization to be determined. In fact, kinetic modeling provides key information for designing reactors, predicting methane production and optimizing the performance of bioreactors. In this case, the modified Gompertz model was used to fit the cumulative production of methane under different experimental conditions as this provides the value of the maximum specific methane production rate and the maximum accumulated methane production as adjustment parameters. Furthermore, the model describes the lag phase period or minimum time required to produce biogas (latency time), which is essential in the anaerobic degradation of lignocellulosic substrates. A markedly good agreement between the experimental and simulated variables was observed ( $r^2 = 0.999$ ), which confirms the suitability of the proposed model under the study conditions.

This innovative research study might be considered of special interest given that the results obtained represent a significant advance in the context of the management of abundant biodegradable waste. Specifically, this PhD Thesis provides a solution to a markedly relevant problem in current society, with the consequent environmental and social benefits that an improvement in organic waste treatment might lead.

**Keywords:** Anaerobic Digestion and co-digestion, Biomethanogenic Potential, Lignocellulosic Biomass, Hydrothermal Pretreatment, Kinetic Model.

## Resumen

La aplicación de una nueva y cada vez más estricta legislación sobre el tratamiento de residuos ha llevado a la utilización y mejora de tecnologías no convencionales para evitar los impactos ambientales asociados a algunas técnicas de gestión tradicionales, como la eliminación en vertederos. En la mayoría de los casos, los residuos agroindustriales contienen una alta carga orgánica que puede causar problemas ambientales como olores desagradables, producción incontrolada de gas de calentamiento global, percolación de lixiviados, etc. En consecuencia, los residuos agroindustriales deben ser tratados adecuadamente para lograr sistemas de producción coherentes con el concepto de economía circular.

Una alternativa prometedora para alcanzar tan ambicioso objetivo es la valorización energética de los residuos orgánicos generados en las actividades industriales y su utilización para el autoconsumo en las propias instalaciones. En este contexto, la biometanización o digestión anaerobia permite tratar los residuos orgánicos derivados del sector agrícola e industrial, de forma individual o conjunta, con la ventaja adicional de minimizar su contenido en materia orgánica mediante su transformación en metano. El metano es un gas con alto poder calorífico, cuya combustión no contribuye al calentamiento global si el metano procede de fuentes renovables. El rendimiento de metano y/o la estabilidad de la biometanización, que es un proceso microbiano, podrían mejorarse aplicando diferentes pretratamientos o mediante el tratamiento conjunto de varios sustratos biodegradables en un sistema centralizado. Estos procedimientos podrían aumentar la biodiversidad dentro de los digestores anaerobios, diluir algunos compuestos inhibidores contenidos en los sustratos y/o facilitar la disponibilidad de nutrientes adicionales.

En esta Tesis doctoral se ha evaluado la viabilidad del reciclaje de residuos de planta de pimiento (*Capsicum* sp.) y berenjena (*Solanum melongena*) en un sistema de biometanización centralizado. Debido a la gran demanda de las hortalizas resultantes, estas plantas agrícolas se cultivan habitualmente y de forma simultánea en invernaderos produciendo grandes cantidades de residuos tras la cosecha. En general, los invernaderos generan entre 25 y 37 toneladas de residuos de plantas de pimiento por hectárea y entre 25 y 44 toneladas de residuos de berenjena por hectárea.

Se realizaron diferentes pruebas mesófilas a escala de laboratorio para determinar la biodegradabilidad de cada residuo tratado individualmente y en combinación (codigestión), así como para cuantificar el coeficiente de rendimiento de metano en ambos casos. La

codigestión anaeróbica de diferentes residuos generados en la misma zona geográfica podría ser interesante tanto para la gestión de residuos como para su valorización. De hecho, la codigestión podría aportar sostenibilidad en los tres aspectos (económica, social y ambiental), a la zona de aplicación, objetivo que persiguen todos los planes nacionales y europeos de mejora económica y medioambiental.

Por otro lado, la baja biodegradabilidad de los residuos lignocelulósicos podría hacer necesario realizar más estudios de pretratamiento. Así, la evaluación de pretratamientos que mejoren la solubilización del C y el N en los residuos puede ser de gran interés para su posterior tratamiento por digestión anaerobia. La biodisponibilidad de los nutrientes implica la reducción del tiempo necesario para solubilizar e hidrolizar el sustrato orgánico a tratar. En este contexto, también se ha evaluado la aplicación de pretratamientos hidrotérmicos para acelerar el proceso de biodegradación (etapa de hidrólisis) y aumentar su eficiencia energética en forma de metano. En concreto, las condiciones más adecuadas para el pretratamiento de los residuos agrícolas evaluados en las condiciones del estudio resultaron ser la aplicación de un pretratamiento hidrotérmico durante 40 min, a 120°C y 2 atm. Las pruebas posteriores de biometanización mostraron que la combinación de los residuos pretratados con una mezcla de 50% de pimiento y 50% de berenjena aumentó el coeficiente de rendimiento de metano, en comparación con los tratamientos individuales (hasta 79 mLSTP/g VS).

Además, el estudio de la cinética de producción de metano permitió determinar las condiciones operativas más favorables para una biometanización estable. De hecho, la modelización cinética proporciona información clave para el diseño del reactor, la predicción de la producción de metano y la optimización del rendimiento del biorreactor. En este caso, se utilizó el modelo Gompertz modificado para ajustar la producción acumulada de metano bajo diferentes condiciones experimentales, ya que proporciona el valor de la tasa máxima de producción específica de metano y la producción máxima acumulada de metano como parámetros de ajuste. Además, el modelo describe el período de la fase de retardo o el tiempo mínimo necesario para producir biogás (tiempo de retardo), que es esencial en la degradación anaeróbica de sustratos lignocelulósicos. Se observó una muy buena concordancia entre las variables experimentales y las simuladas ( $r^2 = 0,999$ ), lo que confirma la pertinencia del modelo propuesto en las condiciones del estudio.

Esta innovadora investigación puede considerarse de especial interés, ya que los resultados obtenidos representan un avance significativo en el contexto de la gestión de abundantes residuos biodegradables. En concreto, esta tesis doctoral aporta una solución a un problema

muy relevante en la sociedad actual, con los consiguientes beneficios ambientales y sociales que podría aportar una mejora en el tratamiento de los residuos orgánicos.

**Palabras clave:** Digestión y co-digestión Anaerobia, Potencial Biometanogénico, Biomosas Lignocelulósicas, Pretratamiento Hidrotérmico, Modelos Cinéticos.

# Table des matières

DEDICACE .....	2
REMERCIEMENTS .....	3
Résumé .....	5
Abstract.....	8
Resumen.....	11
Liste des abréviations .....	19
Liste des figures .....	20
Liste des tableaux .....	22
Listes de publications et de communications .....	23
Introduction générale .....	24
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b> .....	29
Introduction.....	30
<b>I. La digestion anaérobie</b> .....	30
I.1-Histoire de la digestion anaérobie.....	30
I.2-Principes généraux de la digestion anaérobie.....	32
I.3-Les différentes étapes de la digestion anaérobie.....	33
I.3.1-Hydrolyse.....	35
I.3.2-Acidogènese.....	37
I.3.3-Acétogènese.....	38
I.3.4-Méthanogènese.....	39
I.3.5-Autres réactions.....	40
I.4- Stœchiométrie globale de la méthanisation.....	40
I.5-Paramètres physico-chimiques influençant la digestion anaérobie.....	42
I.5.1-La température.....	42
I.5.2-Le pH et l'alcalinité .....	44
I.5.3- Le rapport Carbone/Azote (C/N) .....	46
I.5.4- La teneur en eau.....	47
I.5.5- L'inoculum .....	48
I.5.6- Le contenu en particules solides.....	49
I.6- Les inhibiteurs de la digestion anaérobie .....	50

I.6.1-Les acides gras volatils (AGV).....	50
I.6.2- L'azote ammoniacal .....	53
I.6.3- Les éléments minéraux .....	54
I.6.4- Les acides gras à longue chaîne.....	55
I.6.5- Le sulfure d'hydrogène.....	56
I.6.6- L'hydrogène .....	57
I.6.7- Les métaux lourds .....	58
I.7-Le potentiel méthanogène.....	59
I.8- Conditions physico-chimiques nécessaires à la digestion anaérobie.....	60
I.9- Avantages et inconvénients de la digestion anaérobie.....	60
I.10- Intérêt environnemental de la digestion anaérobie.....	61
I.11-Les digesteurs anaérobies .....	63
I.11.1-Les types de digesteurs anaérobies .....	63
I.11.1.1- Les digesteurs à cellules libres.....	64
I.11.1.1.1- Digesteurs infiniment mélangés.....	64
I.11.1.1.2- Digesteurs à contact.....	65
I.11.1.2- Les digesteurs à biofilm et à granules.....	66
I.11.1.2.1- Réacteurs à lit fixe.....	66
I.11.1.2.2- Réacteurs UASB.....	68
I.11.1.2.3- Réacteurs à support mobile.....	68
I.11.2- Mode de fonctionnement des digesteurs .....	69
I.11.2.1- Mode discontinu ou mode batch .....	69
I.11.2.2- Le mode continu .....	69
I.11.2.3- Le mode semi-continu ou fed-batch.....	70
I.12-La Co-digestion .....	71
I.12.1-Aspect général.....	71
I.12.2-Avantages de la co-digestion.....	72
I.12.3-Les substrats utilisés en co-digestion.....	73
I.12.3.1-Les déchets organiques municipaux.....	73
I.12.3.2-Les déchets d'origine industrielle .....	74
I.12.3.3-Les ressources agricoles.....	74
I.12.4-Co-digestion : Impact de l'augmentation de la charge appliquée sur les BMP et les cinétiques de dégradation.....	76

I.12.4.1-Le mode continu .....	76
I.12.4.2-Le mode batch .....	78
I.13- La production de plantes de poivrons et d'aubergines au Maroc.....	78
I.13.1- Le Poivron-Piment.....	78
I.13.1.1- Plante et importance de la culture au Maroc.....	78
I.13.1.2- Exigences édapho-climatiques.....	79
I.13.1.3- Variétés, semis, plantation et travail de sol.....	80
I.13.1.4-Irrigation et soins culturaux.....	81
I.13.1.5- Fertilisation.....	82
I.13.1.6- Protection phytosanitaire.....	82
I.13.1.7- Récolte.....	82
I.13.2- L'Aubergine.....	83
I.13.2.1- La culture de l'aubergine.....	83
I.13.2.2- Plante et importance de la culture au Maroc.....	83
I.13.2.3- Exigences au milieu.....	84
I.13.2.4- Variétés, semis et plantation.....	84
I.13.2.5- Travail du sol.....	85
I.13.2.6- Irrigation.....	85
I.13.2.7- Fertilisation et désherbage.....	85
I.13.2.8- Ravageurs et maladies.....	86
I.13.2.9- Récolte.....	86
<b>II. La biomasse lignocellulosique.....</b>	<b>86</b>
II.1- Notion de biologie végétale.....	86
II.2- Les principaux constituants de la biomasse lignocellulosique.....	87
II.2.1- La cellulose.....	87
II.2.2- Les hémicelluloses.....	89
II.2.3- La Lignine.....	89
II.2.4- Les extractibles.....	92
II.2.5-Evaluation du potentiel méthane des différents composés de la biomasse lignocellulosique.....	93
II.2.6- Facteurs influençant la composition de la biomasse lignocellulosique.....	93
<b>III. Les différents prétraitements de la biomasse lignocellulosique.....</b>	<b>95</b>
III.1-Généralités.....	95

III.2-Technologies de prétraitements.....	96
III.2.1- Prétraitements physiques.....	97
III.2.1.1- Mécanique.....	97
III.2.1.2- Thermique.....	98
III.2.1.3- Micro-ondes.....	98
III.2.1.4- Extrusion.....	98
III.2.2- Prétraitements thermochimiques.....	99
III.2.2.1- Prétraitements acides.....	99
III.2.2.2- Prétraitements alcalins.....	99
III.2.2.2.1- Comportement des sucres en milieu alcalin.....	100
III.2.2.2.2- Prétraitement à la soude.....	101
III.2.2.2.3- Prétraitement à la chaux.....	102
III.2.2.3- Prétraitements oxydants.....	102
III.2.2.4- Prétraitements liquide ionique.....	103
III.2.2.5- Prétraitements AFEX.....	103
III.2.2.6- Prétraitements de type OrganoSolv.....	103
III.2.3- Prétraitements biologiques.....	104
III.2.4- Facteurs pouvant influencer l'efficacité d'un prétraitement.....	104
III.2.4.1- Impact de l'humidité.....	104
III.2.4.2- Impact de la composition biochimique.....	105
III.2.4.3- Impact de la granulométrie.....	105
III.2.4.4- Impact des conditions de chauffage.....	105
<b>IV-Modèles cinétiques de la digestion anaérobie .....</b>	<b>105</b>
IV.1-Généralités .....	105
IV.2-Les modèles cinétiques appliqués à la co-digestion.....	107
IV.2.1-Les modèles statiques.....	107
IV.2.2-Les modèles statistiques.....	109
IV.2.3-Les modèles dynamiques.....	110
IV.2.3.1-ADM1.....	110
IV.2.3.2-Les modèles cinétiques classiques.....	111
IV.2.3.3- Les modèles basés sur la dynamique des fluides.....	112
<b>Chapitre II : Matériels et Méthodes.....</b>	<b>114</b>
<b>II. Matériels et Méthodes.....</b>	<b>115</b>

<b>II.1- Équipement de digestion anaérobie.....</b>	<b>115</b>
II.1.1- Digesteurs anaérobies.....	116
II.1.2-Système d'agitation.....	117
II.1.3-Système d'absorption du dioxyde de carbone.....	117
II.1.4-Système de mesure du méthane.....	117
<b>II.2- Systèmes expérimentaux utilisés pour le prétraitement des déchets .....</b>	<b>118</b>
<b>II.3- Méthodes d'analyse.....</b>	<b>120</b>
II.3.1- pH.....	121
II.3.2- Alcalinité.....	121
II.3.3- Acidité volatile.....	122
II.3.4- Acides gras volatils.....	123
II.3.5- Solides totaux.....	123
II.3.6- Solides minéraux.....	123
II.3.7- Solides volatils.....	124
II.3.8- Demande chimique en oxygène totale et soluble.....	124
II.3.9- Carbone total, carbone inorganique et carbone organique total.....	125
II.3.10- Azote total Kjeldahl.....	126
II.3.11- Azote ammoniacal.....	126
II.3.12- Phosphore soluble.....	127
II.3.13- Métaux lourds.....	129
<b>Chapitre III : Résultats et Discussions.....</b>	<b>130</b>
<b>III.Résultats et Discussions .....</b>	<b>131</b>
<b>III.1. Évaluation du prétraitement hydrothermique.....</b>	<b>131</b>
<b>III.2. Test de biodégradabilité.....</b>	<b>139</b>
<b>III.3. Evaluation de la digestion anaérobie.....</b>	<b>140</b>
III.3.1- Paramètres de surveillance et de stabilité.....	140
III.3.2- Coefficient de rendement en méthane et solubilisation de la matière organique....	145
<b>III.4. Analyse cinétique.....</b>	<b>149</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>156</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>159</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>178</b>

## Liste des abréviations

- **PP** : Plantes de poivrons (Pepper Plant).
- **EP** : Plantes d'aubergines (Eggplant).
- **DA ou AD** : Digestion Anaérobie ou Anaerobic Digestion.
- **CSTR** : Continuous Stirred Tank Reactor (Réacteur continu infiniment mélangé).
- **ST ou TS** : Solide Total ou Total Solid.
- **SV ou VS**: Solide Volatil ou Volatil Solid.
- **SM ou FS**: Solide Minéral ou Fixed Solid.
- **AT** : Alcalinité totale.
- **Alk** : Alcalinité.
- **AV ou VA** : Acidité Volatile ou Volatil Acid.
- **DCO ou COD** : Demande Chimique en Oxygène.
- **DBO** : Demande Biologique en Oxygène.
- **STN ou NTS** : Nitrogène Soluble Total.
- **TOC** : Carbone Organique Total.
- **AGV ou VFA** : Acides Gras Volatiles.
- **STP**: Standard Temperature and Pressure.
- **TKN**: Nitrogène de Kjeldahl Total.
- **N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>**: Nitrogène Ammoniacal.
- **TP**: Phosphore Total.
- **GAL** : Glycose, Acétate de sodium, Acide Lactique
- **YCH<sub>4</sub>/S** : Volume du méthane cumulé (NmL)
- **Gm** : Volume du méthane cumulé à un temps infini (NmL)
- **Gexp** : Volume du méthane expérimental (NmL)

## Liste des figures

Figure 1 : Les principales voies métaboliques de la digestion anaérobie.....	34
Figure 2 : La méthanisation dans le cycle du carbone.....	62
Figure 3 : Schéma d'un digesteur infiniment mélangé : a) mécaniquement par pâles, b) par compression et recirculation du biogaz, c) par recirculation du milieu. A : alimentation, S : sortie, G : biogaz.....	65
Figure 4 : Schéma d'un digesteur à contact où la rétention est assurée par a) décanteur, b) membrane. A : alimentation, S : sortie, G:biogaz.....	66
Figure 5 : Schéma d'un digesteur à lit fixe : a) à flux descendant, b) à flux ascendant. A : alimentation, S : sortie, G : biogaz.....	67
Figure 6 : Exemple de support mobile ; le Bioflow™.....	69
Figure 7 : Les différentes échelles du végétal .....	87
Figure 8 : Les différentes parties cristallines d'une microfibrille de cellulose .....	88
Figure 9 : Composition typique des unités de la lignine .....	90
Figure 10 : schéma simplifié de la lignification, de l'organisation supramoléculaire et de la composition de la paroi végétale .....	91
Figure 11 : Organisation de la paroi végétale primaire .....	92
Figure 12 : Différentes étapes de conversion de la biomasse et paramètres influençant la réactivité des particules lignocellulosiques .....	96
Figure 13 : Les prétraitements les plus communs utilisés sur la paille et leurs effets possibles (DP, degree of polymerization; WO, wetoxidation).....	97
Figure 14 : Clivage du complexe lignine/phenolique-carbohydrates de maïs par un agent alcalin de Y. & D.J. (1985) .....	100
Figure 15 : Complexe lignine-carbohydrates réagissant avec la soude .....	101
Figure 16 : Schéma de l'équipement de digestion anaérobie.....	115
Figure 17 : Système expérimental de digestion anaérobie (Réacteurs de 1,0L de volume utilisable.....)	116
Figure 18 : Equipement expérimental (autoclave) utilisé pour le prétraitement thermique .....	119
Figure 19 : Flacons NORMAX utilisé pour le prétraitement thermique (Laboratoire UCO).....	120
Figure 20 : Rampe de température utilisée pour la détermination du phosphore soluble.....	128
Figure 21 : Variation de la concentration en TOC dans les substrats à différents temps de prétraitement (valeurs absolues).....	131
Figure 22 : Variation de la concentration en STN dans les substrats à différents temps de prétraitement (valeurs absolues).....	133

Figure 23 : leurs relatives de la solubilisation du carbone (A) et de l'azote (B) avec le temps de prétraitement hydrothermique.....	134
Figure 24 : Relation de la solubilisation du carbone et de l'azote avec le prétraitement.....	136
Figure 25 : Solubilisation des acides volatils (A) et rapport VA/TOC (B) avec temps de prétraitement.....	137
Figure 26 : Spectres FTIR du substrat avec et sans prétraitement (400-4000 cm <sup>-1</sup> longueur d'onde). (A) Prétraitement PP et PP (40 min), (B) Prétraitement EP et EP (40 min).....	138
Figure 27 : Biodégradabilité aérobie (A) aubergine, (B) poivrons.....	139
Figure 28 : (A) Variation du pH, VA (mg C <sub>2</sub> /L) et Alk(mg CaCO <sub>3</sub> /L) au cours de la codigestion anaérobie. (B) Relation entre VA (mg C/L) et Alk (mg C/L) lors de la co-digestion.....	142
Figure 29 : Relation entre la concentration de TSN et de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> dans la liqueur de mélange des digesteurs.....	144
Figure 30 : Variation de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et d'ammoniac libre dans la liqueur de mélange des digesteurs alimentés avec différents pourcentages de substrats prétraités.....	145
Figure 31 : Production de méthane (Y <sub>CH<sub>4</sub>/S</sub> ) à partir de déchets simples et co-digérés.....	146
Figure 32 : Corrélation entre le TOC dans les substrats et le coefficient de rendement en méthane (Y <sub>CH<sub>4</sub>/S</sub> ).....	149
Figure 33 : Effet du prétraitement hydrothermique sur le rendement de la production de méthane lors de l'ajustement du modèle de Gompertz modifié à la digestion anaérobie unique du poivron et de l'aubergine.....	151
Figure 34 : Validation du modèle par des valeurs simulées de la production maximale cumulée de méthane par rapport aux valeurs expérimentales.....	153
Figure 35 : Évolution des valeurs de temps de latence (λ) et du taux de production spécifique maximale de méthane (μ <sub>m</sub> ) avec le pourcentage de poivron dans le mélange co-digéré.....	154

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des bactéries hydrolytiques.....	37
Tableau 2 : Caractéristiques des bactéries acidogènes.....	38
Tableau 3 : Caractéristiques des bactéries acétogènes.....	39
Tableau 4 : Caractéristiques des bactéries méthanogènes.....	40
Tableau 5 : Potentiels en CH <sub>4</sub> (en mL.gMV <sup>-1</sup> et en mL.gDCO <sup>-1</sup> ) de différentes molécules organiques selon l'équation de Buswell.....	41
Tableau 6 : Les trois gammes de température pour la digestion anaérobie .....	42
Tableau 7 : Effet du pH sur les différentes étapes de digestion anaérobies.....	46
Tableau 8 : Effet des concentrations AGV sur les étapes de digestion anaérobie.....	52
Tableau 9 : Effet des éléments minéraux sur le processus de digestion anaérobie en fonction de leur concentration.....	55
Tableau 10 : Composition biochimique de différents types de biomasses lignocellulosiques.....	95
Tableau 11 : Les modèles cinétiques classiques.....	112
Tableau 12 : Paramètres de l'ajustement linéaire de la solubilisation du carbone organique et de l'azote avec le temps de prétraitement .....	134
Tableau 13 : Variables respirométriques : SOURmax et OD20.....	140
Tableau 14 : Paramètres du modèle de Gompertz modifié : potentiel maximal de production spécifique de méthane(Gm), taux de production spécifique maximum de méthane (µm), latence (λ) et coefficients de régression (R <sup>2</sup> ).....	152

## Liste de publications et de communications relatives à cette thèse :

### Publications scientifiques

- K.Hamraoui, A.Gil ,H.El Bari, J.A.Siles, A.F.Chica, M.A.Martin (2019) *Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant) , Waste Management, N°76-84.*

- K.Hamraoui, J.A.Siles, A.F.Chica, M.A.Martin,H.El Bari (2021) *Kinetics of combined hydrothermal pretreatment and anaerobic digestion of lignocellulosic biomass (pepper plant and eggplant),Environmental Technology.*

### Communications dans les Congrès nationaux et Internationaux :

- K.Hamraoui, J.A.Siles, A.F.Chica, M.A.Martin, H.El Bari (10-12 Mai 2021),  
“Hydrogenperoxidepretreatment of lignocellulosicbiomass (pepper plant and eggplant) for anaerobic digestion”, *INTERNATIONAL CONFERENCE ON WATER ENERGYFOOD AND SUSTAINABILITY (ICoWEFS 2021), Politécnico de Leiria, LEIRIA,Portugal.*

## **Introduction générale :**

L'utilisation des sources d'énergie renouvelables est une question cruciale dans le monde entier, en raison des graves conséquences environnementales négatives de l'utilisation des combustibles fossiles et de l'épuisement futur de ces combustibles. Dans ce contexte, la biomasse est devenue l'un des marchés les plus prometteurs pour les sources d'énergie renouvelables.

L'agriculture est l'une des principales sources de production de la biomasse. Après la récolte des cultures, il reste des résidus végétaux composés principalement de tiges, de feuilles et de quelques fruits. Il est important que ces résidus végétaux soient gérés correctement, car l'incinération incontrôlée a des effets négatifs sur l'environnement, tels que la pollution de l'air et la perte de ressources, et l'abandon de ces résidus peut entraîner la propagation de maladies et de parasites et la contamination des sols et des aquifères, entre autres [1].

Cependant, les résidus végétaux générés après la récolte constituent également une source accessible d'énergie renouvelable [1], car cette source de biomasse est un substrat capable d'être biodégradé. La digestion anaérobie (DA) est une technologie alternative pour améliorer la gestion de ces déchets organiques et de récupérer l'énergie. La DA est intéressante pour ces résidus car le méthane est produit à partir des déchets lignocellulosiques, avec les avantages économiques et environnementaux conséquents [2]. La digestion anaérobie est considérée comme une technique viable et mature. Les avantages de cette technologie comprennent la récupération de la bioénergie, la réduction de la pollution environnementale et la production d'engrais organiques à partir des résidus digérés. Le type et la structure des substrats influent également sur l'efficacité de la production de biogaz.

Les matières organiques sont principalement composées d'hydrates de carbone, de protéines et de lipides, qui peuvent être dégradés en composés plus simples par les micro-organismes en quatre étapes : hydrolyse, acidogénèse, acétogénèse et la méthanogénèse [3].

Cependant, ce type de biomasse lignocellulosique présente le désavantage qu'il n'est pas facilement biodégradable par les micro-organismes anaérobies, car la matière organique biodégradable reste piégée dans la structure lignocellulosique [4]. La ligno-cellulose est composée de cellulose (40-50%), d'hémicellulose (25-35%) et de lignine (15-20%), qui sont organisées de manière complexe et varient en fonction du type de plante [5].

Bien que les restes végétaux aient traditionnellement été gérés par compostage et utilisés pour l'alimentation du bétail, cette alternative devient de plus en plus difficile en raison de l'intensification de la production agricole. À Campo de Dalías (Almería, Espagne), cela est dû à deux raisons fondamentales. Tout d'abord, la croissance rapide de la surface dédiée aux cultures sous serre, qui est passée de 0 à 16 000 hectares en 30 ans. La production horticole annuelle dans cette région d'Espagne est de 2,5 millions de tonnes (poivron, aubergine, tomate, concombre, haricots verts, courge, melon et pastèque) ; chiffre qui représente 5 % de la production totale dans l'Union européenne et 21 % de la production en Espagne [6]. Deuxièmement, la quantité de déchets générés dans cette zone a également augmenté pour atteindre 380 000 tonnes par an.

Les cultures de poivrons et d'aubergines sont considérées comme produisant le plus de déchets végétaux avec la tomate. En outre, plus, il est intéressant de noter que ces cultures coïncident géographiquement et de façon temporaire [7]. Au Maroc, quelque 247 600 tonnes de poivrons ont été produites en 2019 sur près de 5 100 hectares et 68 000 autres tonnes d'aubergines sur un peu plus de 2 400 hectares, selon les données de la FAO. Si nous acceptons un minimum de 25 tonnes de déchets végétaux par hectare dans les deux cas, cela signifie un minimum de 187 500 tonnes de déchets à traiter par an.

Comme mentionné ci-dessus, les résidus végétaux sont limités par la recalcitrance de la biomasse. L'existence de la lignine et de l'hémicellulose crée des obstacles pour protéger la cellulose de la dégradation par les micro-organismes. La lignine ne peut pas être utilisée pendant la digestion anaérobie et l'existence de la lignine constitue non seulement une barrière physique, mais rend également la cellulose inactive en la rendant irréversible [8]. L'élimination de la lignine ou de l'hémicellulose peut augmenter la digestibilité de la cellulose [9]. Par conséquent, un prétraitement approprié avant la DA pourrait être nécessaire pour libérer la cellulose de la protection de la lignine et de l'hémicellulose, et ainsi atteindre un taux plus élevé de production de biogaz et de dégradation du substrat [10]. De plus, le prétraitement modifie la taille, la structure et la composition chimique de la biomasse [11].

Différentes méthodes de prétraitement, y compris les procédés biologiques, hydrothermiques, mécaniques et chimiques ou une combinaison de ces méthodes, ont été proposées pour améliorer la réduction des solides, l'accessibilité des enzymes aux fibres cellulosiques et la production de biogaz à partir des solides du substrat [12]. Ces techniques nécessitent généralement l'ajout de réactifs ou de l'énergie supplémentaire, ce qui est plus coûteux [13].

Les performances globales et la viabilité de ces techniques dépendent d'un grand nombre de facteurs, en plus de l'utilisation de l'énergie et de la performance [14].

Les méthodes utilisées pour prétraiter le substrat sont destinées à promouvoir et à améliorer l'hydrolyse des composés moléculaires élevés aux constituants facilement biodégradables et à augmenter le rendement des produits de digestion anaérobie. L'étape d'hydrolyse dans la DA des substrats solides est généralement considérée comme une étape limitant la vitesse [15]. Cependant, le prétraitement hydrothermique semble être efficace en termes de solubilisation [12] et il a été démontré qu'il décompose les parois lignocellulosiques et améliore ainsi la biodégradabilité de la biomasse lignocellulosique [16] afin qu'elle puisse être utilisée dans la DA.

Les études sur le prétraitement des déchets lignocellulosiques ont montré que des recherches supplémentaires sont nécessaires pour améliorer son applicabilité, en raison du fait que les résultats dépendent du type de prétraitement et des caractéristiques des substrats lignocellulosiques [17].

La modélisation mathématique pourrait jouer un rôle important dans l'optimisation, prédire, simuler et surveiller la performance du processus de biométhanisation dans différentes conditions opérationnelles [18]. La modélisation permet de prédire les paramètres cinétiques qui renseignent sur la façon dont le processus de digestion se déroule. Par exemple, le modèle Gompertz est bien connu parmi les modèles disponibles utilisés pour simuler le comportement cinétique du processus de digestion anaérobie en tenant compte de l'inhibition. L'équation de Gompertz est utilisée pour estimer les paramètres cinétiques, le potentiel de production de biogaz, la longueur de la phase de latence et le taux maximal de production de biogaz [19]. Bakraoui et al. [20] ont testé différents modèles cinétiques (Richards, Logistique, Gompertz modifié et modèle de cône) et ont montré que le modèle de Gompertz modifié était le plus approprié dans les conditions de l'étude, car il a obtenu la plus faible déviation des résultats expérimentaux obtenus pour la digestion anaérobie de boues et de déchets de papier et de pâte à papier recyclés. Néanmoins, des études supplémentaires sont encore nécessaires pour évaluer la faisabilité de l'application du modèle de Gompertz pour la valorisation d'autres déchets organiques abondants.

**L'objectif de la présente étude est triple :** (i) évaluer la cinétique et l'effet du prétraitement hydrothermique à 120°C et à différents temps pour l'augmentation de la solubilité des nutriments provenant de substrats lignocellulosiques abondants, tels que le poivron et

l'aubergine, afin d'améliorer leur biodégradabilité aérobie, la DA et la co-digestion. (ii) évaluer la valorisation de ces deux substrats (poivrons et aubergines) par leur digestion anaérobie, individuellement ou ensemble à différentes proportions (co-digestion), en analysant l'amélioration du rendement de production de méthane et (iii) étudier la relation cinétique de la production de biogaz pendant la biométhanisation, en utilisant un modèle cinétique de Gompertz modifié, dans les conditions de prétraitement les plus appropriées.

Le poivron et l'aubergine sont deux cultures importantes en termes de production de déchets végétaux. La gestion de ces déchets par co-digestion anaérobie permettrait le développement d'une économie circulaire pour ces cultures par la valorisation des nutriments du digestat et de l'énergie du biogaz.

Ce mémoire est reparti en trois grands chapitres :

Un premier chapitre consacré à une synthèse bibliographique où l'on expose des généralités sur les principes de base de la digestion anaérobie (principe, étapes, paramètres de contrôle, inhibiteurs ..... ) ainsi qu'un aspect général sur la co-digestion, ses avantages et les substrats utilisés en co-digestion. Ensuite, l'accent sera porté sur une présentation des biomasses lignocellulosiques, et de ses principaux constituants (cellulose, hémicelluloses et lignine) et aussi une partie sur la production de plantes de poivrons et d'aubergines au Maroc. Puis une présentation sur les différents types de prétraitements susceptibles d'être mis en œuvre pour favoriser la bioconversion de biomasses lignocellulosiques en méthane. Le dernier paragraphe dans ce premier chapitre est consacré à la présentation de différents modèles cinétiques utilisés pour la modélisation de la digestion anaérobie.

Le deuxième chapitre est consacré à l'exposé des matériels et méthodes utilisés lors des expériences réalisées (digesteurs et systèmes expérimentaux utilisés). Nous avons suivi au laboratoire les paramètres, de la digestion anaérobie et les prétraitements, suivant : pH, l'alcalinité et la conductivité au niveau du digesteur, ST, SM, SV, DCO, PT, NTK, VA, TOC, STN,  $N-NH_4^+$ , AGV, et le rapport C/N de chaque substrat.

Le dernier chapitre sera réservé à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus par la digestion et la co-digestion anaérobie des deux biomasses (plantes de poivrons et d'aubergines) aussi l'influence des propriétés de chaque substrat sur la stabilité du processus ainsi que le volume de méthane produit. A la fin de ce chapitre, une présentation des résultats obtenus de la simulation de données expérimentales par le modèle cinétique choisi (Gompertz).

**Enfin, une conclusion générale clôturera ce manuscrit.**

# *Chapitre I :* *Synthèse bibliographique*

# **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

## **Introduction**

La production élevée et croissante de déchets organiques et leur décomposition non contrôlée suite à l'augmentation du nombre d'habitants dans le monde et à l'augmentation des activités industrielles, génèrent une énorme pollution qui présente un danger pour les êtres vivants, l'environnement et les écosystèmes. En particulier, les déchets organiques solides sont présents en grandes quantités sous forme de sous-produits industriels, agricoles et agro-alimentaires. La production de déchets augmente d'une manière continue et d'après Charles et al.[21] la quantité des déchets solides produite d'ici à 2025 atteindrait une valeur de 3 milliards de tonne par année à l'échelle mondiale. De plus, Melikogluet al. [22] prévoit une augmentation de la production de déchets solides plus spécialement de biodéchets de 44% entre 2005 et 2025. Il est donc devenu indispensable de développer et d'optimiser des technologies efficaces pour traiter ces déchets. En effet, les traitements traditionnellement utilisés tels que l'incinération ou l'enfouissement conduisent à plusieurs problèmes environnementaux (production de gaz à effet de serre, mauvaises odeurs, ...) en plus de l'augmentation de leurs coûts dans les prochaines années. Par conséquent, et avec les problèmes de sécurité énergétique, l'intérêt pour l'énergie renouvelable accroît. Dans ce cadre, la digestion anaérobie (DA) ou méthanisation représente l'une des technologies les plus efficaces pour réduire les quantités de déchets produites et les transformer en source d'énergie tout en minimisant les dégâts sur l'environnement.

## **I. La digestion anaérobie**

### **I.1-Histoire de la digestion anaérobie**

Bien que la méthanisation soit redevenue attractive de nos jours grâce aux préoccupations liées au traitement et à la valorisation des déchets, cette technologie est connue depuis très longtemps et possède une histoire particulière.

L'histoire scientifique de la digestion anaérobie commença au 17<sup>ème</sup> siècle quand Robert Boyle et Denis Papin découvrirent que la décomposition des corps animaux et des plantes produisaient un gaz. Dans le même temps, Jan Baptista Van Helmont établit qu'un gaz inflammable s'échappait de la matière en putréfaction, mais le phénomène n'était pas totalement compris. Ce n'est qu'un siècle plus tard qu'Alessandro Volta conclut qu'il existait

une corrélation directe entre la quantité de matière organique qui se dégradait et la quantité de gaz formé. Entre 1804 et 1810, Dalton, Henry et Davy découvrirent la composition chimique du méthane et émirent l'hypothèse que ce gaz était similaire à celui découvert par Volta. Ils montrèrent que le méthane s'échappait lors de la décomposition des animaux.

L'étape de méthanogénèse fut identifiée comme étant causée par une activité microbienne seulement à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle et Bechamp appelait « organismes » les responsables de la production de méthane à partir d'éthanol. Etant donné que les produits de fermentation variaient en fonction du substrat, il conclut que ces organismes étaient constitués en une population mixte.

Herter montra en 1876 que l'acétate contenu dans des boues se transformait en méthane et CO<sub>2</sub> en proportions stœchiométriques [23].

Le premier digesteur industriel fut construit en 1859 en Inde, dans une colonie de Bombay. Le gaz issu de la fermentation des effluents sanitaires d'une léproserie (Matinga Leper) fut utilisé pour l'éclairage dès 1897 alors qu'en 1896, le gaz issu des boues était utilisé pour l'éclairage des rues d'Exeter en Angleterre.

La recherche appliquée relative à la digestion anaérobie commence avec Buswell en 1920. Il établit la stœchiométrie de fermentation, les métabolismes de transformation de l'azote et développa des digesteurs à l'échelle de la ferme [24].

En 1953, le premier digesteur industriel fonctionnant en régime thermophile fut construit à Los Angeles, mais la production de biogaz était très faible et le temps de séjour très long. En 1957, Coulter proposa un autre concept pour remplacer le réacteur continu agité : le réacteur à lit fixe, pour le traitement des effluents liquides.

Durant les années 1960, la production de méthane et le développement de projets de recherches relatifs à la digestion anaérobie ont connu un recul à cause du bas prix du pétrole et du charbon. Ce n'est qu'à partir des années 1970 et des deux crises pétrolières que cette ressource a connu son véritable essor.

Dans le même temps, les connaissances acquises au sujet de la digestion anaérobie ont été adaptées à d'autres applications que la digestion en méthaniseur. Des milliers de tonnes de déchets étaient enfouis en décharge et des millions de mètres cubes de gaz s'échappaient de ces centres d'enfouissement. Sans extraction, ce gaz présentait des risques importants d'explosion ainsi qu'une forte menace à cause de sa forte contribution à l'effet de serre.

Pour des raisons économiques et environnementales, l'extraction des gaz de décharge commença aux Etats-Unis au début des années 1970 et fut largement suivie en Europe, principalement au Royaume Uni et en Allemagne [25]. Ce fut la naissance d'une nouvelle gestion des centres d'enfouissement que l'on appellerait les « décharges sanitaires » pour l'enfouissement des déchets solides. Le principe de cette démarche est une gestion efficace des solides, liquides et gaz dans les centres d'enfouissement pour la réduction des impacts environnementaux.

En 1971, Pohland et Gosh séparèrent les deux principales populations bactériennes impliquées dans la digestion anaérobie : les acétogènes et les méthanogènes. Ceci scella l'essor des procédés industriels à deux étapes.

Durant les années 1980 la recherche concernant la digestion anaérobie a connu un large développement, en particulier sur la conception des réacteurs, leur suivi et la modélisation.

Alors que la digestion anaérobie a été largement dédiée à la digestion en milieu dilué (i.e teneur en matière sèche inférieure à 15 %), des études menées dans les années 1980 ont montré que le rendement en méthane aussi bien que la production de méthane étaient tout aussi efficace dans les systèmes à fort taux de solide (15-40 % de matière sèche) [26].

La première installation industrielle fonctionnant en voie sèche a été inaugurée en 1988 à Amiens, France, et traitait 55 000 tonnes d'ordures ménagères par an, soit la totalité du gisement de la municipalité.

## **I.2-Principes généraux de la digestion anaérobie**

La digestion anaérobie met en œuvre un inoculum comprenant un consortium microbien qui, en absence d'oxygène, dégrade la matière organique pour produire un biogaz composé de :

- entre 50 à 80 % de méthane ( $\text{CH}_4$ ) ;
- entre 30 et 50 % de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) ;
- de l'eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) à saturation ;
- des composés traces ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}$ ).

Ce biogaz va pouvoir être valorisé de différentes façons soit par combustion dans une chaudière, soit par cogénération ou directement par injection dans le réseau de gaz naturel. La production d'eau chaude lors de la mise en place de la cogénération permet de chauffer une partie du système de digestion anaérobie, mais aussi des habitations, des collectivités, des serres, des fourrages, etc. Le résidu obtenu (le digestat) après digestion anaérobie va pouvoir

être épandu dans les champs comme fertilisant et amendement ayant une valeur agronomique très élevée.

La digestion anaérobie peut être pratiquée sur pratiquement tous les composés organiques naturels et même certains d'origine synthétiques.

La mise en œuvre de la digestion anaérobie implique quatre étapes biochimiques réalisées par trois groupes microbiens fonctionnant en symbiose et ayant des exigences nutritives et des caractéristiques physiologiques distinctes :

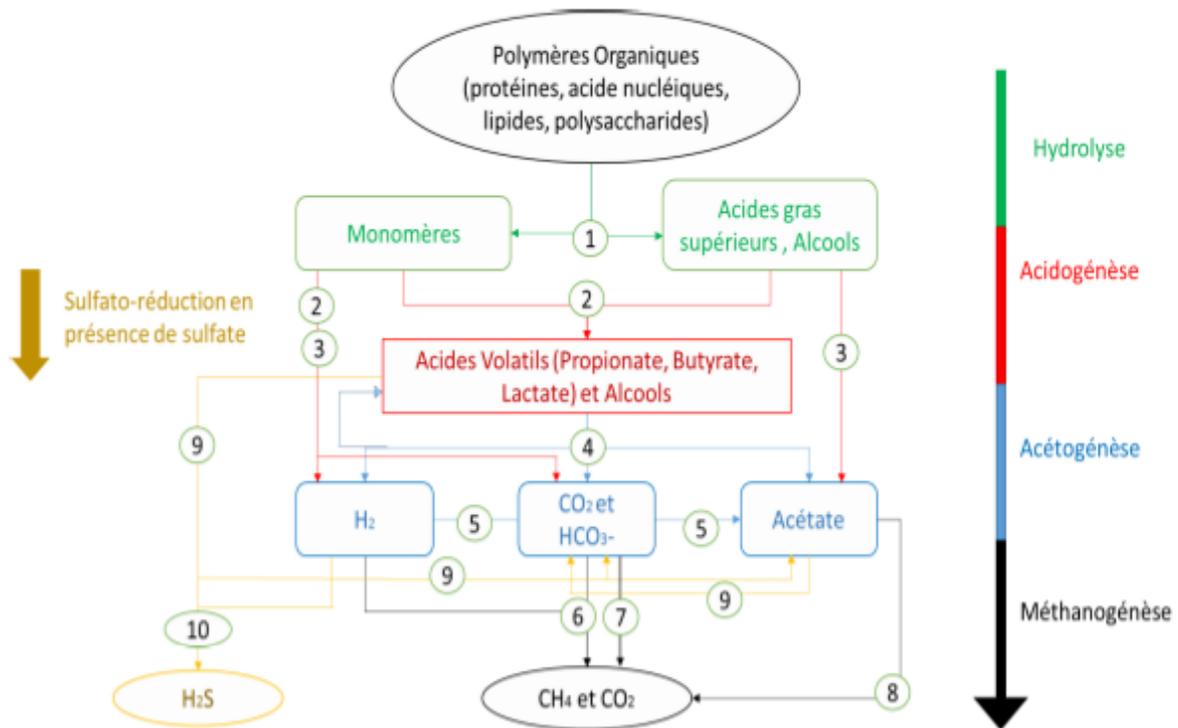
- Bactéries hydrolytiques acidogènes ;
- Bactéries acétogènes ;
- Bactéries méthanogènes : méthanogènes acétoclastes, méthanogènes hydrogénéophiles.

L'industrialisation de ce phénomène naturel demande une connaissance avérée de ces points pour maîtriser la conduite des technologies et optimiser leur rendement.

### **I.3-Les différentes étapes de la digestion anaérobie**

La transformation du carbone organique en méthane et gaz carbonique va ainsi demander une alchimie entre paramètres physiques, chimiques et biologiques. La digestion anaérobie est communément définie à travers 4 grandes étapes, l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse. Chacune de ses étapes ne peut avoir lieu que par la présence de micro-organismes spécifiques, associée à des paramètres physiques précis (pH, température...) [27].

L'ensemble, des étapes composant cette transformation, est présentée dans la Figure 1.



**Figure.1** : Les principales voies métaboliques de la digestion anaérobie, d'après [28-29].

1. Production de monomères, d'acides gras supérieurs et alcools à partir des polymères contenus dans le substrat. Ces processus se déroulent durant la phase d'Hydrolyse.
2. Consommation, durant l'Acidogénèse, des composés issus de l'Hydrolyse et production d'acides organiques, dont des acides gras volatils (propionate, butyrate). Production également, de composés neutres (alcools, glycérol...) et formation d'H<sub>2</sub> et de CO<sub>2</sub>.
3. Réaction minoritaire durant l'Acidogénèse, produisant à partir de monomères, d'acides grassupérieurs et d'alcools, de l'hydrogène, du dioxyde de carbone et de l'acide acétique[30].
4. L'Acétogénèse hétérofermentaire, utilise les composés formés lors de l'Acidogénèse pour produire de l'hydrogène, du dioxyde de carbone et de l'acétate. Une faible quantité d'acide volatil y est également produit [28].
5. L'Homoacétogénèse, produit de l'acétate par consommation de l'hydrogène et du dioxyde de carbone.
6. La méthanogénèse hydrogénotrophe, produit, elle, du méthane à partir d'hydrogène et de dioxyde de carbone.

7. Le transfert direct d'électrons entre les espèces (DIET) permet de convertir le CO<sub>2</sub> en méthane [31].
8. La méthanogénèse acétoclastique, transforme l'acétate en méthane. Cette voie peut toutefois consommer d'autres métabolites tels que le méthanol et méthylamine [29].
9. Les bactéries sulfato-réductrices (BSR) se séparent en deux groupes, (i) les premiers oxydent partiellement les acides volatils en acétate. (ii) Les seconds consomment les substrats organiques tels que l'acétate pour former du dioxyde de carbone.
10. L'utilisation du sulfate comme source d'énergie par les BSR, entraîne la formation de sulfure qui va se combiner avec l'hydrogène pour former de l'H<sub>2</sub>S. Les BSR ont de plus la capacité de décomposer l'hydrogène pour en faire une source d'énergie [32].

### **I.3.1-Hydrolyse**

La matière brute traitée dans un digesteur est complexe, elle est composée de macromolécules à haut poids moléculaire (polymère type cellulose, lipide, protéine...), sous cette forme ces composants ne sont pas assimilables par les micro-organismes de la méthanisation.

L'hydrolyse consiste en une dégradation de ces macromolécules en monomères tel que du glucose, des acides gras et des bases azotées. Elle est réalisée au moyen d'exo-enzymes secrétées par les micro-organismes fermentaires [31]. L'hydrolyse est une étape essentielle à la méthanisation puisqu'elle permet de rendre disponible, la matière organique non solubilisée.

**L'hydrolyse des glucides**, comprend la dégradation des glucides simples et complexes. Les premiers représentent une source d'énergie facilement accessible pour la biomasse. Les seconds dont font partie la cellulose, l'amidon, l'hémicellulose et la lignine, sont plus ou moins difficiles à dégrader. Ces composés sont toutefois très abondants, ils servent en effet d'éléments structuraux ou de réserves d'énergies. La cellulose est par exemple, le polymère le plus présent sur Terre, de plus elle forme avec l'amidon, les polysaccharides les plus fréquemment rencontrés dans la nature. La biodégradabilité de ces composés va dépendre de leurs structures internes (accessibilité des enzymes) et des enzymes disponibles en fonction des conditions opératoires (anaérobie). Lorsqu'ils sont présents dans la nature, les polysaccharides composent des matrices denses, constituées d'oses simples liés entre eux selon différentes structures [32]. Une structure cristalline est une organisation ordonnée des molécules, elles sont alors reliées entre elles par des liaisons hydrogènes et l'accès aux

enzymes y est difficile. Une structure amorphe possède une cohésion moins forte entre ses molécules, uniquement assurée par des liaisons osidiques, elles constituent des zones plus facilement accessibles. La biodégradabilité d'un polysaccharide correspond ainsi à la prédominance de structures cristallines ou amorphes liant les oses le composant [33]. Une proportion des glucides est donc soluble, insoluble ou inerte. Celle rendue soluble suite à l'hydrolyse, forme alors des monosaccharides et disaccharides, dont le glucose, qu'iseraient ensuite utilisés au cours de l'acidogénèse.

**L'hydrolyse des composés azotés**, qu'elle soit d'origine protéique ou non (urée, créatinine), permet aux micro-organismes de synthétiser leurs protéines, éléments structuraux et acides nucléiques. Les protéines sont hydrolysées en polypeptides, oligopeptides et acides aminés, qui vont à leur tour être assimilés par les micro-organismes et catabolisés. Les protéines proviennent généralement des déchets alimentaires. Les acides nucléiques présents, sont dus à la lyse des micro-organismes et vont également être une source de substrat pour la biomasse microbienne [27]. Les composés azotés non protéiques sont une des sources d'ammoniaque dans le réacteur et une source majeure d'azote cellulaire.

**L'hydrolyse des lipides**, conduit à la formation d'acides gras à longue chaîne et d'alcool (glycérol), ces éléments seront par la suite utilisés lors de l'acidogénèse pour composer la biomasse microbienne et former du propionate et divers acides. L'hydrolyse peut toutefois engendrer une très forte concentration en acides gras à longue chaîne, ces derniers vont alors entraîner une inhibition de leurs propres voies de dégradation. Leurs accumulations dans un réacteur est donc une cause courante de diminution du rendement en méthane, ce qui nécessite de surveiller leurs concentrations [34].

Les lipides sont présents dans les déchets alimentaires sous forme d'huile et de graisse. L'hydrolyse est toutefois dépendante de nombreux facteurs physiques, notamment dû au rôle prépondérant des enzymes. Ces dernières sont en effet des molécules protéiques, dont le comportement général est décrit par les équations de Michaelis-Menten. D'autres facteurs physiques, interviennent dans l'activité enzymatique, tel que le temps de rétention hydraulique (TRH), qui définit un temps de contact entre le matériel enzymatique et un substrat (notamment dans les réacteurs à plusieurs compartiments) [35]. La nature protéique des enzymes est également dépendante de leurs conformations et donc de l'influence de paramètres tel que la température ou le pH. Pour toutes ces raisons, l'étape d'hydrolyse est souvent considérée comme limitante. Elle est ainsi la source de nombreux prétraitements visant à optimiser et maximiser les paramètres influant son rendement [27,36].

<b>Bactéries hydrolytiques</b>	
<b>Caractéristiques</b>	<b>Bactéries relativement résistantes, tolérantes à O<sub>2</sub>, production d'exo-enzymes</b>
<b>Gamme de pH optimal</b>	[4,5-6,3]
<b>Temps de division</b>	Quelques heures (reproduction rapide)
<b>Sensibilité</b>	Lignine (pas dégradable, ralenti la réaction)

**Tableau 1** : Caractéristiques des bactéries hydrolytiques [31].

### **I.3.2-Acidogènese**

L'acidogènese est une étape fermentaire anaérobie qui conduit à la formation d'acides organiques à partir des monomères issus de l'hydrolyse. Elle s'effectue sans accepteur ou donneur d'électrons inorganiques additionnels [37]. Cette étape est rapide et peut entraîner l'acidification du milieu. Les monomères issus de l'hydrolyse de la biomasse (sucres, acides aminés, ...) sont convertis principalement en acides gras volatils (AGV) tels que le formate (HCOOH), acétate (CH<sub>3</sub>COOH), le propionate (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>COOH), et en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et dihydrogène(H<sub>2</sub>). Ladégradation du glucose en acétate, par exemple, est schématisée par la réaction suivante [38] :



En présence de dihydrogène dans le cas de faible activité des bactéries méthanogènes notamment, la dégradation des sucres va conduire à la formation de nombreux autres produits tels que le butyrate (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH), le lactate ainsi que des alcools [39].

La microflore impliquée dans les deux premières étapes (hydrolyse et acidogènese) est des bactéries anaérobies facultatives. Elle se distingue des autres populations microbiennes par leur développement rapide et leur tolérance vis-à-vis du pH relativement bas (jusqu'à 5) ce qui en fait des organismes à développement peu contraignant [40].

Les acides formés durant la phase d'acidogènese et d'hydrolyse des lipides vont ensuite subir une autre étape de transformation, l'étape d'acétogènese.

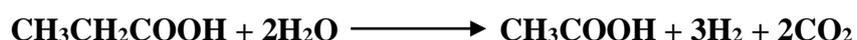
<b>Bactéries acidogènes</b>	
<b>Caractéristiques</b>	<b>Bactéries sensibles à O<sub>2</sub>, participent en général également à l'hydrolyse</b>
<b>Gamme de pH optimal</b>	[4,5-6,3]
<b>Temps de division</b>	Quelques heures (reproduction rapide)
<b>Sensibilité</b>	H <sub>2</sub> S, NH <sub>2</sub> , sels, antibiotiques

**Tableau 2** : Caractéristiques des bactéries acidogènes [40].

### **I.3.3-Acétogènese**

L'acétogènese est la transformation des AGV en acétate, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub> principalement. A lacette phase est nommée ainsi car l'acétate est son principal produit carboné. Contrairement aux réactions décrites précédemment, les réactions mises en jeu ici nécessitent la présence d'un accepteur d'électron inorganique: l'hydrogène [37] sous sa forme ionique [38]. Ces réactions génèrent du H<sub>2</sub> et les bactéries qui les réalisent sont dites « productrices obligées d'hydrogène » [40].

Acides et alcools formés précédemment sont transformés en acétate, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>. Les acides gras avec un squelette à nombre impair (C ≥ 5) d'atomes de carbone (le valérate par exemple) sont toutefois en partie convertis en propionate [39] qui sera à son tour converti en acétate, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>. La dégradation du propionate est schématisée par la réaction suivante [38] :



Toutes les bactéries acétogènes (OHPA) produisent de l'H<sub>2</sub>. Thermodynamiquement, la dégradation des AGV en acétate n'est possible qu'à de faibles pressions partielles en H<sub>2</sub>. Il faut par exemple p (H<sub>2</sub>) < 10<sup>-4</sup>atm pour que la transformation du propionate en acétate soit possible. Il faut donc une syntrophie très étroite entre les bactéries acétogènes et d'autres bactéries capables de consommer l'H<sub>2</sub> produit (méthanogènes, sulfato-réductrices, ...).

L'homoacétogènese est seconde voie de production d'acétate en conditions anaérobie. Cette réaction a lieu à partir du dihydrogène et du bicarbonate. Elle contribue à la régulation d'un niveau bas en hydrogène dans le milieu [41].

<b>Bactéries acétogènes</b>	
<b>Caractéristiques</b>	<b>Bactéries relativement fragiles, sensibles à O<sub>2</sub>, production de H<sub>2</sub></b>
<b>Gamme de pH optimal</b>	[6,8-7,5]
<b>Temps de division</b>	Quelques heures (1-4 jours ; reproduction lente)
<b>Sensibilité</b>	H <sub>2</sub> en excès, H <sub>2</sub> S, NH <sub>3</sub> , sels, antibiotiques, variation de température

**Tableau 3** : Caractéristiques des bactéries acétogènes [41].

### I.3.4-Méthanogènese

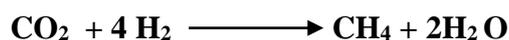
La méthanogènese est la dernière étape du processus de conversion anaérobie. Cette étape biochimique peut se dérouler en deux voies métaboliques : la méthanogènese acétoclastique et la méthanogènesehydrogénoclastique. Ce processus de dégradation est réalisé par des microorganismes anaérobies stricts que l'on appelle archæ. Elles font partie d'un groupe spécifique, les archéobactéries, qui est séparé du règne des bactéries procaryotes par des caractéristiques métaboliques ainsi qu'une structure membranaire particulière. Les microorganismes responsables de cette étape de dégradation sont caractérisés par un développement lent et une forte sensibilité au pH [42].

Les méthanogènesacétoclastes utilisent l'acétate comme substrat selon la réaction globale suivante :



Cette voie métabolique est responsable de 65 à 70% du méthane produit [37].

Les méthanogèneshydrogénotrophes réduisent le dioxyde de carbone avec du dihydrogène selon la réaction suivante :



Cette voie est primordiale pour le bon fonctionnement de l'ensemble du processus biochimique de digestion anaérobie car elle permet de maintenir une pression d'hydrogène basse, primordiale pour que la phase d'acétogènese puisse avoir lieu, comme évoqué plus

haut. Si cette voie métabolique est déséquilibrée, la formation d'acétate par acétogenèse est ralentie, ce qui se traduit par une accumulation des autres AGV.

<b>Bactéries méthanogènes</b>	
<b>Caractéristiques</b>	<b>Archaeobactéries très fragiles, très sensibles à O<sub>2</sub>, besoin de Ni, plusieurs substrats possible</b>
<b>Gamme de pH optimal</b>	[6,8-7,5]
<b>Temps de division</b>	Quelques heures (5-15 jours ; reproduction lente)
<b>Sensibilité</b>	O <sub>2</sub> , variation de pH et température, Cu, sels

**Tableau 4** : Caractéristiques des bactéries méthanogènes [42].

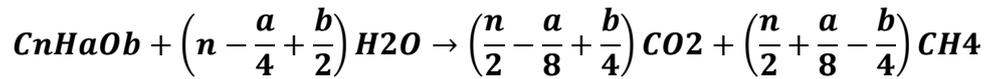
### **I.3.5-Autres réactions**

D'autres microorganismes sont présents dans le milieu lors de la digestion anaérobie tels que les bactéries sulfato-réductrices. Ces bactéries par leur métabolisme consomment de l'acétate, de l'éthanol, de l'acide propionique ou butyrique ; la source d'énergie de ces réactions étant le sulfate. Les bactéries sulfato-réductrices sont en compétition dans le milieu avec les populations méthanogènes [43]. Cette compétition ne peut avoir lieu en début de digestion anaérobie, les bactéries sulfato-réductrices étant incapables de dégrader des macromolécules telles que l'amidon, les protéines et les lipides. Le principal donneur d'électrons pour ces bactéries est l'hydrogène [44]. Ces populations interviennent directement lors de l'inhibition de la digestion anaérobie lors de l'accumulation de sulfure d'hydrogène dans le milieu (ce point est détaillé ultérieurement).

Des réactions de dénitrification effectuées par des bactéries dénitrifiantes ont également lieu dans le milieu ; de même l'inhibition par l'ammoniac est détaillée plus loin.

### **I.4- Stœchiométrie globale de la méthanisation**

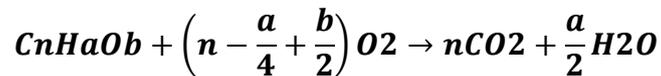
La quantité de biogaz formé lors de la dégradation anaérobie peut être estimée grâce à la connaissance de la composition élémentaire de la matière organique dégradée, en supposant que toute la matière est complètement dégradée en CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>. Par exemple, l'équation de Buswell fournit la composition du biogaz formé à partir de la composition du substrat dégradé en carbone, oxygène et hydrogène selon l'équation suivante [45] :



A l'aide de cette relation, il est possible d'exprimer le potentiel de biogaz, de méthane et de dioxyde de carbone théorique de la MO, en litre de biogaz (exprimé dans les CNTP) par gramme de MO, selon :

$$P_{\text{Biogaz}} = \frac{22,4.n}{12n+a+16b} ; P_{CH_4} = \frac{22,4.\left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4}\right)}{12n+a+16b} ; P_{CO_2} = \frac{22,4.\left(\frac{n}{2} - \frac{a}{8} + \frac{b}{4}\right)}{12n+a+16b}$$

Il est aussi possible, en considérant la même formule brute  $C_n H_a O_b$  d'un substrat donné, d'en exprimer la demande chimique en oxygène (DCO) théorique, c'est-à-dire la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder complètement la matière organique. Cette réaction d'oxydation s'écrit sous la forme suivante [26] :



La DCO peut donc s'écrire :  $\frac{32.\left(n + \frac{a}{4} - \frac{b}{2}\right)}{12n+a+16b} \text{ g(DCO).g(MO)}^{-1}$

Exprimée en termes de gDCO, le potentiel en  $CH_4$  de la matière organique est de 350 mL.g(DCO)<sup>-1</sup> quelle que soit la MO considérée (Tableau 5) [45]. Cela explique l'intérêt porté à cette méthode de quantification de la MO.

Substrat	Formule brute	DCO/MV (gDCO. MV <sup>-1</sup> )	Pot <sub>CH<sub>4</sub></sub> (mL.g MV <sup>-1</sup> )	Pot <sub>CH<sub>4</sub></sub> (mL.g DCO <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> (%)
<b>Cellulose</b>	(C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>n</sub>	1,19	415	350	50
<b>Protéine</b>	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	1,42	496	350	50
<b>Lipide</b>	C <sub>57</sub> H <sub>104</sub> O <sub>6</sub>	2,90	1014	350	70
<b>Glucose</b>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	1,07	373	350	50
<b>Propionate</b>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	1,51	530	350	58
<b>Acétate</b>	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	1,07	373	350	50

**Tableau 5** : Potentiels en CH<sub>4</sub> (en mL.gMV<sup>-1</sup> et en mL.gDCO<sup>-1</sup>) de différentes molécules organiques selon l'équation de Buswell [45].

Cependant, l'approche stœchiométrique possède ses limites et le potentiel méthane calculé est toujours supérieur au potentiel réel, et ce pour plusieurs raisons. Une partie de la

matière organique très difficilement dégradable, comme la lignine, rentre en compte dans le calcul théorique alors qu'elle n'est que partiellement dégradée en réalité. De plus, une partie du substrat est utilisée par les bactéries pour leur croissance (5 à 10 %) et n'est donc pas transformée en biogaz [46]. Enfin, certains facteurs comme la teneur en eau, l'absence de certains minéraux, la solubilité du CO<sub>2</sub> peuvent limiter la biodégradation.

### **I.5-Paramètres physico-chimiques influençant la digestion anaérobie**

La performance des procédés est liée étroitement avec les paramètres physico-chimiques du milieu (température, capacité tampon). Des paramètres supplémentaires doivent être pris en compte dans la mise en œuvre de la digestion anaérobie en voie sèche tels que le contenu en particules solides, l'inoculum utilisé et la teneur en eau influençant directement ces performances.

#### **I.5.1-La température**

La température constitue un facteur d'influence important pour la digestion anaérobie. De manière classique, trois plages de températures sont utilisées en digestion anaérobie [47]:

<b>Modes</b>	<b>Température du processus</b>	<b>Temps de rétention</b>
<b>Psychrophile</b>	<20°C	70 à 80 jours
<b>Mésophile</b>	30 à 40°C	30 à 40 jours
<b>Thermophile</b>	50 à 60°C	15 à 20 jours

**Tableau 6** : Les trois gammes de température pour la digestion anaérobie [47].

Dans chacune de ces plages, les flores bactériennes qui se développent sont différentes.

Bien que les réacteurs de méthanisation puissent travailler à des températures opératoires situées à l'intérieur de ces domaines, les deux températures optimales classiquement utilisées sont 35°C et 55°C (modes mésophile et thermophile, respectivement) avec une baisse de l'activité bactérienne autour de 45°C. Ce phénomène peut être dû à l'effet des bactéries méthanogènes qui semblent avoir des températures optimales concordantes avec les plages citées.

D'une manière générale, la température affecte les réactions biochimiques suivant 5 axes [47]:

- l'augmentation de la température induit une augmentation des vitesses de dégradation suivant la loi d'Arrhenius ;

-l'augmentation de température au dessus de l'optimum ( $> 40^{\circ}\text{C}$  en mésophile et  $> 65^{\circ}\text{C}$  en thermophile) induit une baisse des vitesses de dégradation ;

-l'augmentation de la température (au dessus de l'optimum) induit une diminution des rendements due à une augmentation de l'énergie nécessaire au renouvellement et à la maintenance cellulaire ;

-la variation de température induit une modification des voies métaboliques et des rendements due à des variations des conditions thermodynamiques et des populations bactériennes ;

-l'augmentation de la température induit l'augmentation du taux de mortalité des bactéries à cause de phénomènes de lyse cellulaire et maintenance cellulaire modifiées.

La température influe aussi sur l'activité enzymatique ce qui a pour effet de modifier la vitesse d'hydrolyse selon la loi d'Arrhenius [48].

La température du procédé affecte les réactions métaboliques en favorisant par exemple la formation d'hydrogène et l'accumulation d'acides gras volatils. Ces productions ne sont pas favorables au bon fonctionnement des populations acétotrophes et méthanogènes.

De manière générale, on peut considérer que la cinétique de la dégradation dans son intégralité double à chaque augmentation de  $10^{\circ}\text{C}$  jusqu'à des températures critiques d'environ  $60^{\circ}\text{C}$  [38].

La température affecte les réactions biochimiques de part [47]:

- l'augmentation des vitesses réactionnelles avec l'augmentation de température (comme prédit selon la loi d'Arrhenius) ;
- la diminution des vitesses de réaction avec l'augmentation de la température au-delà d'un optimum ( $> 40^{\circ}\text{C}$  pour les mésophiles et  $> 65^{\circ}\text{C}$  pour les thermophiles) ;
- la diminution des rendements (stoechiométriques) due à une augmentation de l'énergie nécessaire au renouvellement et à la maintenance cellulaire avec l'augmentation de température ;
- la modification des chemins réactionnels due aux variations des conditions thermodynamiques et des communautés bactériennes ;
- l'augmentation du taux de mortalité microbienne due à une augmentation de l'énergie nécessaire à la maintenance avec l'augmentation de température.

La température a donc une influence considérable sur les processus biologiques. Elle affecte également les réactions physico-chimiques (les équilibres liquides / gaz, la dissolution des solides, les équilibres acides / bases) et biochimiques (l'hydrolyse, par modification de l'activité enzymatique) [49].

La biodégradation anaérobie ne produit que très peu de chaleur, contrairement à la dégradation aérobie. Il est d'ailleurs nécessaire de chauffer les digesteurs anaérobies pour les maintenir en température. Ainsi, malgré sa courte durée au sein d'une décharge, la phase aérobie a une importance considérable sur la mise en place de températures élevées (jusqu'à plus de 70°C) et donc potentiellement sur le déroulement de la dégradation anaérobie suivante [50].

Le choix de la température appliquée au cours d'un procédé est dépendant de la technologie choisie et de la nature des déchets. Pour coupler l'avantage d'une hydrolyse rapide et la stabilité du procédé, certains systèmes se déroulent en deux étapes privilégiant une hydrolyse et une acidogénèse poussées dans un compartiment et l'acétogénèse et la méthanogénèse dans un autre.

### **1.5.2-Le pH et l'alcalinité**

Le pH joue un grand rôle dans le fonctionnement biochimique et physico-chimique des milieux de digestion anaérobie. D'une part, il va pouvoir altérer le fonctionnement de certains microorganismes, d'autre part, il va influencer sur les équilibres chimiques.

Bien que le pH soit un paramètre très difficile à évaluer due à la complexité des phénomènes et des espèces qu'il met en jeu, il peut être contrôlé grâce à la prise en compte de seulement quelques espèces chimiques [51] : les bicarbonates, les AGV ainsi que les ions ammonium. Ces espèces jouent en réalité un rôle de tampon dans les milieux de digestion et chacune de ces espèces prédomine dans des plages de pH particulières, allant de 5,5 à 8. Le couple ammoniac/ammonium prédomine dans les hautes valeurs de pH, le couple bicarbonate-dioxyde de carbone dans les valeurs moyennes (neutre) alors que les couples mettant en jeu les couples « AGVH-AGV- » prédomine dans les faibles valeurs de pH.

Outre ces tampons, la biochimie est elle aussi influencée par le pH. Chaque microorganisme possède un domaine de pH dans lequel ils se développent de façon optimale. En général cet optimum se situe dans des plages de pH proches de la neutralité. Mais cette considération n'est que très générale et les plages de pH optimales sont variables pour chaque type de

microorganismes et même pour les types de substrats qui sont traités comme nous pouvons le remarquer sur le Tableau 7.

Les bactéries hydrolytiques et acidogènes sont peu affectées par des variations de pH, ce qui n'est pas le cas des bactéries acétogènes et méthanogènes qui ne supportent pas de trop fortes modifications du pH [52]. Malgré cela, l'activité hydrolytique est sensible aux variations de pH [48].

Il a été montré que des degrés d'inhibitions de processus biochimiques étaient étroitement liés aux formes non dissociées des acides présents dans les milieux [53]. Ces formes non dissociées, dont la quantité dépend du pH des milieux, diffusent plus facilement au travers des parois cellulaires, causant des chutes de pH interne des bactéries.

Par des phénomènes similaires, le pH affecte la croissance des microorganismes par le biais des équilibres ammoniac-ammonium. Une hausse de pH est responsable d'une augmentation de la toxicité des microorganismes due à l'augmentation de la forme ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) dans le milieu [54].

Le pH joue aussi un rôle important vis-à-vis des équilibres liquides/gaz, surtout pour le  $\text{CO}_2$  qui, étant relativement soluble dans l'eau, réagit avec l'eau pour former de l'acide carbonique. Ceci va influencer sur le pouvoir tampon du milieu.

Enfin, les éventuels phénomènes de précipitation-solubilisation de phases minérales spécifiques peuvent considérablement affecter le pH. Dans les digesteurs industriels, l'ajout de bicarbonate de sodium peut être réalisé pour adapter ce paramètre.

<b>Etape</b>	<b>Substrat</b>	<b>pH</b>	<b>Effet</b>	<b>Source</b>
<b>Hydrolyse</b>	Protéines	≤8	Aucun effet sur	(He,et al.,2006)
		7	l'hydrolyse	
	Polysaccharides	≤6	pH optimal	(Ueno,et al.)
	Boues primaires	6,5	Ralenti de moitié	(Sanders,et al.,2000)
	Déchets	5,1-6,1	l'hydrolyse	
	Particulaires	4,1-5,1	pH optimal	(Elefsiniotis,etal.,1996)
	FFOM	5,7	Ralenti l'hydrolyse Pas d'effet sur l'hydrolyse Ralenti l'hydrolyse	(Veeken,et al.,2000)
<b>Acidogenèse</b>	Gélatine	5,9-6	pH optimal	(Yu et Fang,2003)
<b>Acétogenèse</b>	Butyrate	4,5-5	pH optimal	
	Propionate	5-6	pH optimal	(Kim, et al., 2004)
<b>Méthanogenèse</b>	Lisier	5,5-7,5	Gamme de croissance	
		6,8	pH optimal	(Boopathy, 1996)
<b>Méthanogenèse acétotrophe</b>	Glucose	7-7,2	pH optimal	(Guendouz, 2008)
<b>Méthanogenèse hydrogénotrophe</b>	Eaux usées de distillerie	6,0	pH optimal	(Savant,et al.;,2002)

**Tableau 7** : Effet du pH sur les différentes étapes de digestion anaérobies [55].

### **I.5.3- Le rapport Carbone/Azote (C/N)**

Il est un indicateur couramment utilisé dans le dimensionnement et le suivi de la méthanisation. Il rend compte des éléments nécessaires à la croissance microbienne et ainsi de l'équilibre métabolique du ou des substrats employés. Le carbone (C) est un composant essentiel à la croissance des micro-organismes, il est présent dans toutes les structures organiques [56]. Sa disponibilité est l'un des facteurs limitant le développement du consortium microbien. L'autre facteur limitant, étant la concentration en azote (N) dans le milieu. Tout comme le C, l'azote provient de la dégradation de la matière, en faible quantité il est indispensable et bénéfique à la méthanisation. Sa dégradation en azote ammoniacal est source de stabilité pour le réacteur (pouvoir tampon). Il est, de plus, un élément structurel nécessaire à la synthèse des protéines [57].

Un déséquilibre entre ces deux composés peut toutefois être préjudiciable à la méthanisation. En effet une importante concentration de C peut engendrer une acidification rapide du milieu, qui en absence d'azote ammoniacal, inhibera la méthanogenèse. A l'inverse la croissance microbienne sera lente, voire stoppée si la concentration azotée est trop faible [58].

Enfin, l'azote en forte concentration est un des acteurs fréquents d'inhibition de la méthanisation, sous les formes d' $\text{NH}_3$  et d' $\text{NH}_4^+$ . Afin de satisfaire les besoins des microorganismes, un ratio C/N optimal entre 20 et 30 a été défini par Parkin et Owen (1986) [59].

Dans le but d'obtenir ce ratio, la co-digestion est une des voies les plus fréquemment employées. L'alimentation d'un méthaniseur avec plusieurs déchets a, alors, pour but de compenser le déséquilibre de l'un des substrats ou de disposer de substrats qui s'équilibrent entre eux. A titre d'exemple, Sosnowski et al. (2003) indique que lors de la digestion de boue d'épuration, l'adjonction de 25 % d'FODM permet d'augmenter le ratio C/N de 9:1 à 14:1 [60].

#### **1.5.4- La teneur en eau**

L'eau est considérée comme un facteur déterminant dans le processus biochimique de dégradation anaérobie. Tout d'abord, l'eau est essentielle pour la survie de tout organisme vivant et constitue le milieu de développement des microorganismes, à l'interface avec les substrats. Elle représente ainsi 80 % de leur masse cellulaire. De plus, elle constitue le vecteur de transport des matières solubles. Elle dissout les nutriments ainsi que les substrats et assure leur diffusion depuis les milieux poreux jusqu'aux cellules bactériennes [61]. Enfin, elle constitue un des réactifs de la dégradation de la matière organique et intervient dans toutes les étapes de la digestion anaérobie.

La digestion anaérobie des déchets qui se déroule dans les centres d'enfouissements est fortement affectée par la teneur en eau. Ceci est mis en avant par l'effet positif des injections de lixiviats qui améliorent les réactions biologiques [62].

Ces phénomènes ont été confirmés par des tests d'activité méthanogène spécifique, représentant la vitesse maximale de production de méthane et donc l'activité bactérienne des milieux. Dans des conditions thermophiles, la vitesse de consommation du propionate est divisée par 3,5 quand le taux d'humidité passe de 82 % à 65 % [63]. Le même type d'expérimentations réalisées sur acétate a montré le même comportement en conditions thermophiles [64]. Des phénomènes analogues ont été observés par Mora-Naranjo, et al. [65],

pour des déchets excavés de centres d'enfouissement et par Pommier et al. [66], pour des déchets papiers/cartons.

D'une manière générale, il existe un seuil minimal d'humidité, seuil critique en-dessous duquel les activités biologiques sont très fortement ralenties. Ce seuil est de l'ordre de 15 à 50 % exprimé en masse d'eau par rapport à la masse sèche du matériau, correspondant à un taux d'humidité compris entre 13 et 33 % (masse d'eau sur la masse totale) [66]. Par ailleurs, il existe une certaine valeur appelée capacité de rétention d'eau, au-delà de laquelle le taux d'humidité a une influence [67]. La teneur en eau est un paramètre primordial pour la gestion des procédés de méthanisation par voie sèche.

### **1.5.5- L'inoculum**

L'inoculum est un élément essentiel pour produire un biogaz de qualité et en quantité particulièrement en méthanisation en voie sèche. Le terme inoculum définit un liquide qui est chargé en nutriments, en capacité tampon, en eau et en microorganismes pouvant réaliser la digestion anaérobie. La quantité de l'inoculum apportée dans le milieu module la teneur en eau de celui-ci imbibant les déchets et favorisant ainsi l'action des microorganismes comme décrit précédemment. Les différentes sources d'inoculum sont variables et peuvent correspondre à des digestats liquides ou solides, à des boues de stations d'épuration, des fumiers, des lisiers, d'un liquide issu d'un précédent cycle de digestion anaérobie. L'origine de l'inoculum influe sur les quantités et les espèces microbiennes présentes [68]. La production de méthane ainsi que le temps de latence de la cinétique de production sont directement modulés par l'origine et la quantité de l'inoculum. La stabilité du procédé est assurée par un inoculum acclimaté et stable. L'affinité de l'inoculum pour le substrat doit être développée par une acclimatation au substrat ou avoir une origine commune pour faciliter le développement des microorganismes permettant de dégrader le substrat en question.

La dynamique des populations microbiennes est différente pour des inocula provenant de différents sites de méthanisation. En effet, la saisonnalité des déchets est l'une des causes majeures de ce changement de populations [69]. Ma et al. [70] ont montré que l'adaptation de l'inoculum pour dégradé des substrats complexes est essentielle. Cette même étude renforce le fait que la quantité d'inoculum permet d'éviter l'inhibition par accumulation de métabolites intermédiaires. Une étude sur la dégradation anaérobie de déchets de maïs mettant en jeu trois inocula différents, provenant respectivement de boues, d'effluents de déchets alimentaires et d'une laiterie ont montré des différences notables sur la production de méthane. Différents

ratios substrat / inoculum testés ont mis en évidence également une influence de la quantité d'inoculum utilisé [71].

La concentration de l'inoculum en matière organique est une mesure indirecte de sa capacité à digérer des substrats. Ce paramètre est néanmoins couramment utilisé pour calculer la charge organique d'un digesteur ou pour effectuer des tests de potentiel méthane. C'est un indicateur indirect de la viabilité de l'inoculum. Pour un inoculum provenant de la digestion de fumier, le taux de matière organique est compris entre 2 et 3 % alors que pour des boues il est de l'ordre de 10 %. Une importante quantité de matière organique modifie la réponse des microorganismes par une bonne dégradation du substrat et une importante production endogène. Si ce n'est pas le cas, une préincubation ou passivation est alors nécessaire pour préparer un inoculum en augmentant la quantité des populations microbiennes spécialisées.

Par ailleurs, le temps de stockage d'un inoculum affecte la dégradation des substrats [72]. Des tests d'activités peuvent être effectués, comme décrit par Angelidaki et al. [73], par l'ajout de substrats spécifiques permettant de sélectionner des voies métaboliques précises et de ce fait une activité microbienne définie.

### **I.5.6- Le contenu en particules solides**

Les particules solides sont indissociables de la méthanisation en voie sèche et représentent un paramètre déterminant de la production de méthane [74]. Les travaux de Motte et al. [75] mettant en œuvre la digestion anaérobie sur de la paille de blé selon plusieurs modalités telles que la teneur en matière sèche (de 15 à 25 %), la taille des particules (10 mm à 0,25 mm) et le ratio S/I (de 28 à 47), ont montré des différences importantes de production de biogaz. Il en ressort que la taille des particules et le pourcentage de matière sèche ont un rôle prépondérant sur les cinétiques de production de méthane. Un même taux de matière sèche n'est pas forcément représenté par la même taille de particules qui modifie alors la production de méthane. Toujours dans cette même étude, selon la description de la courbe de production réalisée, une phase d'acclimatation comportant deux pics de production distincts sont assimilés aux transformations de composés solubles et de composés facilement hydrolysables respectivement ; dans la seconde phase nommée « phase de croissance », la teneur en matière sèche et la taille des particules ont une importance considérable sur la cinétique de production. Au travers de ce document, il ressort clairement l'importance de la taille des particules et de la teneur en matière sèche sur la performance des procédés notamment au travers de la compartimentation de l'eau. Toutefois, une autre étude a montré que la taille des particules de

mais soit 5, 10, 15 mm n'avait pas d'influence sur la production de méthane à partir de maïs [76]. Dans une étude testant un ratio substrat / inoculum plus faible (de l'ordre de 0,15), l'effet de la taille des particules est négligeable sur la dégradation de papier et de carton produisant la même quantité de méthane et ayant la même cinétique de production à partir de différentes fractions testées [77]. Cette absence de résultats est peut-être liée au substrat utilisé et à sa composition, car une autre étude a mis en évidence une amélioration de 23 % de la production de méthane à partir de fibre sisal en diminuant la taille des particules à 2 mm, et en utilisant un ratio substrat / inoculum faible de l'ordre de 0,02 [78]. Un modèle de prédiction pour prédire l'effet de la teneur en eau sur la digestion anaérobie a été mis au point. Ce modèle prend en compte l'interaction entre l'eau et l'activité biologique, mais également les propriétés physiques du substrat [79]. Enfin, les particules sont soumises à une ségrégation en fonction de leur densité, mais également de la teneur en matière sèche du milieu et de la composition de celui-ci [80].

## **I.6- Les inhibiteurs de la digestion anaérobie**

La digestion anaérobie est un processus biologique nécessitant des conditions optimales pour obtenir une bonne dégradation des substrats et de ce fait une bonne production de biogaz nécessaire à la rentabilité des installations. Toutefois, la nature, l'origine, la composition et la quantité des substrats ainsi que la richesse en microorganismes et l'origine de l'inoculum peuvent modifier le procédé en ralentissant la production de biogaz voire en l'arrêtant complètement. L'inhibition du procédé peut être due à plusieurs facteurs soit une accumulation d'acides gras volatils (AGV), d'azote ammoniacal, d'acides gras à longues chaînes, de métaux lourds, de sulfure d'hydrogène, d'hydrogène ou d'antibiotiques.

### **I.6.1- Les acides gras volatils (AGV)**

Les acides gras volatils sont des acides organiques à courtes chaînes avec un squelette de 1 à 6 atomes de carbone. Ce sont l'acide formique, acétique, propionique, butyrique, iso-butyrique, valérique, iso-valérique, caproïque et iso-caproïque. Ce sont des métabolites intermédiaires des étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse de la digestion anaérobie. Ils sont consommés durant les phases d'acétogénèse et de méthanogénèse. Dans des conditions idéales de digestion, les vitesses de production des AGV sont compensées par les vitesses de consommation et il n'existe donc pas d'accumulation d'AGV. Néanmoins, certaines conditions peuvent entraîner des déséquilibres :

- une surcharge organique [81] ;

- la présence de toxines organiques ou inorganiques [81];
- des fluctuations de température [82].

Ces phénomènes peuvent induire des accumulations d'acides organiques (acétate, propionate) et d'alcools [81]. Cette accumulation peut avoir des conséquences sur l'ensemble du processus de digestion (Tableau 7) et par conséquent une baisse de production de méthane [83].

Cependant, les effets observés varient en fonction des types de substrats ainsi que des types de procédés utilisés. En effet, pour des boues anaérobies, des inhibitions significatives de l'ensemble du procédé ont été observées pour des concentrations de chaque AGV de 10 g.L<sup>-1</sup> [84], alors que des concentrations de 2 à 3 g.L<sup>-1</sup> d'AGV totaux se sont révélées inhibitrices sur le même substrat [85]. Ceci montre l'importance de l'acclimatation des microorganismes et de la sélection des populations les plus à même de fournir une résistance aux fortes teneurs en AGV pour une stabilité des procédés [84].

De nombreuses études ont conclu que des concentrations en AGV pouvaient ralentir fortement les cinétiques hydrolytiques des composés [86]. Cette étape étant souvent considérée comme limitante, cela affecte l'ensemble de la chaîne trophique. L'acidogénèse est quant à elle moins sensible à l'accumulation d'AGV que l'hydrolyse [87]. Cependant, l'étape d'acidogénèse peut rendre l'ensemble du processus de dégradation auto-inhibiteur due à la production d'AGV. En effet, pour des raisons thermodynamiques, propionate et butyrate ne peuvent être dégradés que lorsqu'acétate et hydrogène ont été dégradés [88]. La consommation du propionate est fortement inhibée par l'acétate à 3 g.L<sup>-1</sup> [89]. Une accumulation d'AGV formés par la phase d'acidogénèse peut alors se produire causant la défaillance de l'ensemble du processus. Les travaux de Borzacconi et ses collaborateurs en 1997, concluent que la phase de méthanogénèse est l'étape la plus touchée par une accumulation d'AGV [90]. Une accumulation d'AGV inhibe fortement la méthanogénèse, ce qui va entraîner une hausse d'acétate, et, par conséquent, une hausse d'autant plus élevée des autres AGV.

Etape	Substrat	AGV	Teneur (g. L <sup>-1</sup> )	Effet	Source
Hydrolyse	Papier	AGV totaux	>2	Inhibition de l'activité hydrolytique	(Lu, et al., 2006)
	Pomme de terre	Acétate	20	Inhibition de l'hydrolyse des protéines Limite à 60% l'hydrolyse des hydrates carbone	(Siegert et Banks, 2005)
Acidogenèse	Glucose	AGV totaux	>8	Réduction de 50% de la production de méthane	(Aguilar, et al., 1995)
Méthanogenèse	Boues	AGV totaux	10	Inhibition significative de la dégradation de l'acétate	(Barredo et Evison, 1991)
			3	Optimum	
	Boues		13	50% inhibitions	(Vedrenne, 2007)
		Acétate	25	100% inhibitions	
	Boues		1,5	Ralentit la croissance cellulaire	
		Propionate	5,9	Croissance cellulaire divisée par 100	(Wang, et al., 2009)
	Boues		1	Optimum	
		Propionate	5	50% inhibitions 100% inhibitions	Vedrenne, 2007)
	Boues+AGV		0,9	Décroissance des bactéries	(Wang, et al., 2007)
		Propionate		5	Accumulation d'AGVs
Boues		15	Optimum		
	Butyrate	25	50% inhibitions 100% inhibitions	Vedrenne, 2007)	

**Tableau 8** : Effet des concentrations AGV sur les étapes de digestion anaérobie [55].

Un bon nombre d'AGV pris séparément peut avoir une influence désastreuse sur le procédé global. Leur concentration peut donc être un indicateur pertinent du mode de fonctionnement d'un digesteur [91]. L'acétate et surtout le propionate sont souvent cités comme faisant partie

de ces indicateurs [92]. Le propionate semble être le plus toxique du processus de digestion anaérobie [93]. Certains acides organiques à chaînes plus longues sont aussi souvent considérés comme indicateurs de fonctionnement normal ou dégradés des digesteurs anaérobies, notamment le butyrate et l'iso-butyrate. Cependant, les auteurs ne s'accordent pas sur les concentrations seuils induisant des problèmes de fonctionnement des réacteurs, cela étant dépendant des types de substrats ainsi que des modes de fonctionnement [94].

Bien que les effets toxiques de fortes concentrations en AGV aient souvent été rapportés, la baisse de pH afférente semble être la cause principale responsable de cette toxicité [74]. En effet, la baisse de pH entraîne une concentration accrue des acides non dissociés (AGVH) qui aurait tendance à pénétrer plus facilement la paroi cellulaire des microorganismes [95].

Les fortes concentrations d'AGV jouent donc un rôle perturbateur dans toutes les étapes de dégradation biochimique. Leur accumulation résulte de déséquilibres entre les différents métabolismes microbiens. Par exemple l'inhibition de croissance de la flore méthanogène par l'ammoniac entraîne une accumulation d'acétate ; dans ce cas, l'accumulation d'AGV n'est pas la cause mais la conséquence d'une inhibition [96].

Malgré tout, l'accumulation d'AGV est un moyen simple de déceler un dysfonctionnement biochimique du procédé de méthanisation. Le suivi de ces composés est donc un moyen de contrôler la bonne marche des digesteurs [96].

### **1.6.2- L'azote ammoniacal**

Par dégradation biologique, la matière azotée, représentée par les protéines et l'urée, forme de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) qui peut diffuser librement au sein des membranes cellulaires.

Son passage au travers des membranes s'accompagne d'une protonation aboutissant à l'ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Cette protonation est suivie d'une fuite de potassium vers le milieu extracellulaire dans le but de maintenir un pH intracellulaire. Un déséquilibre en protons apparaît donc dans le milieu ainsi qu'un déficit en potassium au niveau intracellulaire. Les réactions enzymatiques sont alors inhibées. La diffusion de molécules d'ammoniac dépend de la physiologie des méthanogènes [97]. Les méthanogènes acétotrophes sont plus sensibles que les hydrogénotrophes. À forte concentration en ammoniac, les méthanogènes acétotrophes les plus présentes sont les Methanosarcinaceae. Les paramètres physico-chimiques du milieu modulent l'inhibition due à l'ammoniac. À un pH élevé, la forme non ionisée ( $\text{NH}_3$ ) domine dans le milieu accentuant l'effet d'inhibition. Une étude, répertoriée

dans la revue de Rajagopal et al. (2013), indique que la digestion anaérobie peut être malgré tout conduite à un pH égal à 8,5 et une concentration en ammoniac égal 2473 mg.L<sup>-1</sup>avec une production en méthane cependant faible. La température change l'activité métabolique des microorganismes ; c'est pourquoi une augmentation de la température augmente l'activité métabolique et par conséquent la concentration en ammoniac dans le milieu. Les digestions anaérobies conduites en mode thermophile sont plus sensibles à ces inhibitions qu'en mode mésophile. Des travaux repris par Yenigün et Demirel (2013) mettent en évidence qu'une même digestion anaérobie conduite en mésophilie et thermophilie n'aboutit pas à la même quantité d'ammoniac dans le milieu soit 30mg.L<sup>-1</sup>et 200 mg.L<sup>-1</sup>respectivement. Les interactions entre ammoniac, acides gras volatils, pH et température conduisent à des inhibitions de la digestion anaérobie. Toutes les études répertoriées sur les populations microbiennes par Chen et al [98] permettent d'obtenir une gamme de concentration où la tolérance et l'activité des populations sont présentes et accompagnées d'une faible production de méthane. Celle-ci est comprise entre 1,7 et 14 g.L<sup>-1</sup> d'azote ammoniacal total. Cette large gamme est due aux divers substrats, inocula, conditions opératoires ou acclimations effectuées [98]. L'acclimation des populations est un moyen d'influencer le degré d'inhibition. L'ajout de petite quantité dans le milieu permet d'acclimer les populations en augmentant au fur et à mesure la concentration tolérée. Un changement dans les populations présentes peut être constaté suite à cette acclimation permettant aux procédés de fonctionner et d'être stables. Des travaux ont permis d'acclimer à l'ammoniac des populations en mode thermophile avec un seuil de départ de 2,5 mg. L<sup>-1</sup>et un seuil de tolérance après adaptation à 4 g.L<sup>-1</sup>[98]. La présence d'autres ions dans le milieu tels que le sodium, le calcium ou le magnésium crée un effet antagoniste avec l'inhibition par l'ammoniac diminuant ainsi celle-ci [98].

Différentes techniques pour diminuer et gérer l'inhibition en ammoniac peuvent être utilisées dans un procédé tel que la précipitation chimique, la dilution de substrats, les codigestions pour gérer le ratio C/N, l'immobilisation des microorganismes par utilisation de supports, etc. [96,97].

### **I.6.3- Les éléments minéraux**

Un certain nombre d'éléments minéraux rentrent en jeu dans la digestion anaérobie. Bien qu'étant indispensables aux processus biologiques, ils deviennent toxiques à partir de certaines concentrations. Les éléments concernés sont : le magnésium, le potassium, le

calcium ainsi que le sodium. Les seuils de concentrations stimulantes et inhibitrices sont récapitulés dans le Tableau 9.

Ions	Concentration (mg. L <sup>-1</sup> )		
	Stimulante	Faiblement inhibitrice	Fortement inhibitrice
Mg <sup>2+</sup>	75 – 150	1000 - 1500	3000
K <sup>+</sup>	200 – 400	2500 - 4500	12000
Ca <sup>2+</sup>	100 – 200	2500 - 4500	8000
Na <sup>+</sup>	100 – 200	3500 - 5500	8000

**Tableau 9** : Effet des éléments minéraux sur le processus de digestion anaérobie en fonction de leur concentration [55].

#### **I.6.4- Les acides gras à longue chaîne**

Les acides gras à longue chaîne sont représentés par l'acide laurique, cyprilique, myristique, linoléique, oléique, palmitique, stéarique, etc. Tout comme les inhibitions précédentes, le degré d'inhibition va dépendre de la nature de l'acide gras et de sa concentration. D'autres paramètres tels que l'origine de l'inoculum et la distribution des particules modulent cette inhibition [99]. L'inhibition causée par les acides gras à longue chaîne est connue notamment pour inhiber les microorganismes gram-positifs, les méthanogènes sont dès lors directement concernés. L'adsorption des acides gras à longue chaîne sur les membranes cellulaires induit des modifications dans les fonctions de transports membranaires et les fonctions protectrices [98]. La  $\beta$ -oxydation intervient en temps normal pour dégrader les acides gras à longue chaîne en produisant de l'acide acétique ou propionique en fonction de l'acide gras dégradé. C'est pourquoi une accumulation d'AGV peut traduire ce phénomène ainsi qu'une baisse de pH. Les paramètres physico-chimiques du milieu influent sur le degré d'inhibition. La température de conduite du procédé modifie la composition des membranes cellulaires rendant les méthanogènes plus sensibles en mode thermophile [98]. La distribution des particules joue également un rôle non négligeable notamment dans la digestion de fumier. Lors de la digestion anaérobie de fumier dans un digesteur CSTR, l'activité des populations

méthanogènes a été trouvée dans les particules ayant une taille supérieure à 200 µm. En ajoutant des lipides, une augmentation de la méthanogénèse a été trouvée pour les particules ayant une dimension supérieure à 200 µm et pour celles comprises entre 50 et 200 µm. Cette étude démontre que l'activité des populations méthanogènes est étroitement liée à la distribution des particules en fonction des déchets digérés [100] ont mis en œuvre une digestion de fumier bovin avec ajout d'effluents lipidiques. Après analyse des fractions solides et liquides, l'accumulation d'acides gras a été démontrée dans la phase solide limitant ainsi leur dégradation.

L'adaptation des populations méthanogènes à ces conditions fait l'objet de controverses [98]. L'acclimatation de l'inoculum permet de gérer de petites quantités d'acides gras à longue chaîne dans le milieu, mais l'ajout répété d'acides gras induit la présence d'une phase de latence et donc de l'inhibition [101]. Certaines études n'ont pas trouvé de changement dans les populations microbiennes lors de digestion de lipides [102]. L'effet bactéricide et la toxicité de ces acides gras à longue chaîne sont décrits dans la littérature [101]. Les populations microbiennes présentes dégradant les acides gras dépendraient du degré de saturation de ceux-ci [103].

L'augmentation du temps de latence de la production de biogaz et la diminution de la quantité produite sont les conséquences directes de ces accumulations d'acides gras à longue chaîne dans le milieu [104].

Lors d'une inhibition de ce type, une nouvelle inoculation du digesteur est une des solutions [101]. La digestion à deux étapes permet également de gérer ce problème [105]. L'addition de certains composés tels que le calcium soluble peut diminuer cette inhibition contrairement à l'ajout de bicarbonate moins soluble [104]. L'ajout de lipase permet d'augmenter l'hydrolyse des lipides au détriment de l'accumulation d'intermédiaires dans le milieu induisant à leur tour des inhibitions [106].

### **I.6.5- Le sulfure d'hydrogène**

Cette inhibition faisant intervenir des bactéries sulfato-réductrices n'est pas moins complexe. Le sulfate, composé majoritairement présent dans les déchets d'ordures ménagères, est réduit par les bactéries sulfato-réductrices en sulfure d'hydrogène. Deux types de réaction sont répertoriés pour ces bactéries, (i) la réduction du lactate en acétate et dioxyde de carbone (conversion incomplète) et (ii) la conversion complète de l'acétate en dioxyde de carbone et ions bicarbonate. L'inhibition induite par le sulfure d'hydrogène peut prendre deux formes

soit par compétition pour les composés organiques et inorganiques du milieu avec les différents groupes microbiens au détriment de la production de méthane soit par induction d'une toxicité sur les microorganismes. Les compétitions des différents groupes microbiens de la digestion anaérobie et des bactéries sulfato-réductrices ont lieu pour le substrat. Certains paramètres tels que le ratio de microorganismes, la concentration du substrat, l'origine de l'inoculum, la faible teneur en certains composés tels que le fer peuvent influencer cette inhibition [107]. Des travaux montrent la faible compétition entre les différents groupes microbiens [107]. Ceci est certainement dû aux paramètres cités ci-dessus. La deuxième forme est la toxicité du sulfure d'hydrogène par les différents groupes microbiens [98]. La littérature montre que le sulfure d'hydrogène traverse les membranes cellulaires qui sont perméables à ce composé. Dans l'espace intracellulaire, celui-ci interagit avec les protéines, les coenzymes interférant directement avec le métabolisme. Certains auteurs démontrent que la toxicité augmente avec l'augmentation de pH [108].

Différentes techniques existent pour contrôler cette inhibition, comme la dilution des substrats, des techniques physicochimiques, des réactions chimiques et la conversion biologique [109].

#### **I.6.6- L'hydrogène**

L'hydrogène est un produit de dégradation et est utilisé pour produire du méthane via les méthanogènes hydrogénotrophes. Toutefois, la présence d'une forte pression en hydrogène dans le milieu peut devenir inhibitrice. Cette inhibition se traduit par une accumulation dans le milieu d'AGV [110]. En règle générale, la dégradation des AGV a lieu à faible pression partielle en hydrogène, entre 10<sup>-4</sup> et 10<sup>-5</sup> atm [110]. Une inhibition totale de la dégradation des acides a été obtenue pour une pression partielle en hydrogène de 3.10<sup>-2</sup> atm, en condition thermophile sur des boues [94]. Les constantes de dégradation des acides varient avec cette pression partielle en hydrogène. En effet, il a été démontré une diminution de la constante de dégradation de l'acide butyrique avec l'augmentation de la pression partielle en hydrogène [94]. Des paramètres opératoires de la digestion anaérobie peuvent influencer l'inhibition avec l'hydrogène. La vitesse de mélange du milieu agit sur la capacité de dégradation du propionate et du butyrate.

À une agitation de 100 rpm, aucune inhibition due à l'hydrogène n'est observée. En revanche à une agitation de 300 rpm, la dégradation très lente de ces mêmes acides montre l'interaction

avec l'hydrogène. La consommation de celui-ci est à associer à la vitesse de mélange du milieu [111].

Les problématiques de transferts entre les phases gazeuses et liquides ont été étudiées par Pauss et al. [112]. L'ajout d'hydrogène à 80 % dans un réacteur méthanisant du fumier a montré une production plus élevée en biogaz de 22 % par rapport au réacteur n'ayant pas subi d'ajout d'hydrogène. La teneur en dioxyde de carbone du milieu par ces changements en hydrogène est modulée soit 15 % dans le réacteur sans ajout et 38 % dans le réacteur avec ajout d'hydrogène. Dans le réacteur avec ajout d'hydrogène, l'augmentation d'acétate dans le milieu indique une légère inhibition des méthanogènes acétoclastes (Luo et al., 2012). Une autre étude utilisant la paille comme substrat avec un ratio substrat / inoculum égal à 3 a étudié l'effet inhibiteur de l'hydrogène. L'augmentation de la pression partielle en hydrogène ne semble pas influencer les communautés microbiennes. L'augmentation de la pression partielle en hydrogène dans cette étude affecte la production de méthane, la dégradation du substrat, elle induit l'inhibition des étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse et augmente la quantité d'acétate dans le milieu. Enfin, l'ajout de dioxyde de carbone dans l'atmosphère permet une consommation rapide de l'hydrogène présent et une production de méthane. La pression partielle en hydrogène est diminuée d'autant, le dioxyde de carbone est un facteur limitant [113].

Tout comme les paramètres précédents, l'hydrogène est donc inhibiteur de la digestion anaérobie.

#### **I.6.7- Les métaux lourds**

Ils vont être présents sous la forme de chrome, de cobalt, de fer, de zinc, de cadmium ou encore de nickel. Ce sont des microéléments qui, présents en faible concentration, permettent une amélioration de la production de biogaz. Si les métaux lourds sont, par leurs natures, essentiels à la méthanisation, ils peuvent présenter, en forte concentration, un effet inhibiteur pour les différentes flores microbiennes et la production des précurseurs de la méthanisation [114]. Ils sont parfois identifiés comme des causes majeures d'échecs ou de troubles dans la conduite de méthaniseurs [115]. Sous leurs formes solubles, ils entraînent la précipitation des sulfures, carbonates et hydroxydes et la formation de complexes par précipitation avec des intermédiaires de la méthanisation [116].

La toxicité des métaux lourds va impacter différemment les réactions de la méthanisation. Ainsi, la production d'acide acétique est plus impactée, par ordre décroissant de toxicité, par le Cu > Zn > Cr > Pb > Ni [117, 118].

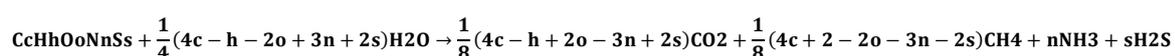
L'effet des métaux lourds est couramment attribué à leurs capacités à rompre les fonctions et structures enzymatiques, par liaisons avec les groupements thiol de certaines protéines. Ils peuvent également remplacer les métaux initialement présents dans les groupements prosthétiques et ainsi inhiber le fonctionnement des enzymes. Sur les micro-organismes, leurs formes solubles entraînent majoritairement des effets bactériostatiques [119].

Les différences entre les concentrations engendrant des effets bénéfiques pour la méthanisation et celles provoquant des effets inhibiteurs sont cependant difficiles à trouver dans la littérature.

### **I.7-Le potentiel méthanogène**

Le potentiel méthanogène ou encore BMP (Biochemical Methane Production) représente la quantité de méthane produit lorsque la matière organique d'un substrat concerné est dégradée par un consortium microbien. Le but in fine de cette mesure est de quantifier la production potentielle de méthane à partir de déchets pour dimensionner par la suite des unités de méthanisation.

La prédiction théorique repose sur la composition du substrat et est traduite par l'équation de Buswell établi en 1933 [120]. L'équation est la suivante :



Ce calcul théorique permet d'obtenir la production en méthane si toute la matière organique du substrat est convertie en méthane [121].

La méthode classique pour mesurer ce potentiel méthane consiste à mettre en contact un inoculum avec le substrat à dégrader en condition anaérobie, à une température contrôlée.

Les caractérisations des substrats et de l'inoculum en termes de matière sèche et organique sont indispensables. En général, lors de ces expérimentations, un ratio substrat / inoculum en matière organique est utilisé de l'ordre de 0,33. L'utilisation de substrats purs permet de valider l'activité de l'inoculum. L'activité endogène de l'inoculum doit être minimisée pour obtenir l'activité réelle de la dégradation de substrat. La production de biogaz peut être mesurée manuellement par la mesure de la pression produite, qualifiant cette méthode de

manométrique. Chaque jour, pendant 30 jours environ, le volume est mesuré par déplacement d'eau et la composition déterminée en chromatographie phase gaz [122] ou d'autres méthodes analytiques telles que l'ANAGAZ [123]. Toutefois ce principe a priori simple donne lieu à des valeurs bien différentes dans la littérature et au niveau inter et intra laboratoire. C'est pourquoi l'harmonisation des protocoles et des pratiques de laboratoire doit être effectuée, car à ce jour aucun protocole de référence n'existe laissant ainsi libre les expérimentateurs induisant de fortes variabilités des valeurs BMP [124].

### **I.8- Conditions physico-chimiques nécessaires à la digestion anaérobie**

La digestion anaérobie ne peut être réalisée que sous certaines conditions :

- absence d'oxygène, de nitrates ou de sulfates [125].
- pH proche de la neutralité : optimum 6,8 – 7,5 [126].
- concentration en acide gras volatils (AGV) inférieures à 2 – 3 g/l [127].
- une pression partielle en hydrogène très faible : 10 – 20 Pa au maximum [128].
- un potentiel d'oxydoréduction inférieur à -300 mV [129].
- absence d'éléments inhibiteurs : agent chlorés, antibiotiques,...
- une température stable optimale pour les micro-organismes épurateurs [130].

### **I.9- Avantages et inconvénients de la digestion anaérobie**

Les avantages de la digestion anaérobie sont :

- Une réduction de la matière sèche des boues de l'ordre de 50% [131].
- Une production d'un Biogaz valorisable sous forme d'énergie (chauffage, cogénération d'électricité).
- Une réduction du nombre de micro-organismes pathogènes [132].
- Un intérêt agronomique, lié à une concentration importante en azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) et en phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) due à la lyse de la matière organique [133].
- Une demande en énergie plus faible que les procédés aérobies et pas d'apport en oxygène.
- la possibilité de traiter des charges organiques élevées : de 2 à plus de 80 kg de DCO par mètre cube de réacteur et par jour avec des taux d'épuration de 80 à 98%.

Cependant, elle comporte aussi quelques inconvénients :

- Une forte sensibilité aux variations de charges et aux composés toxiques [134], [135] ;
- Une dégradation plus lente que pour les procédés aérobies [136] ;

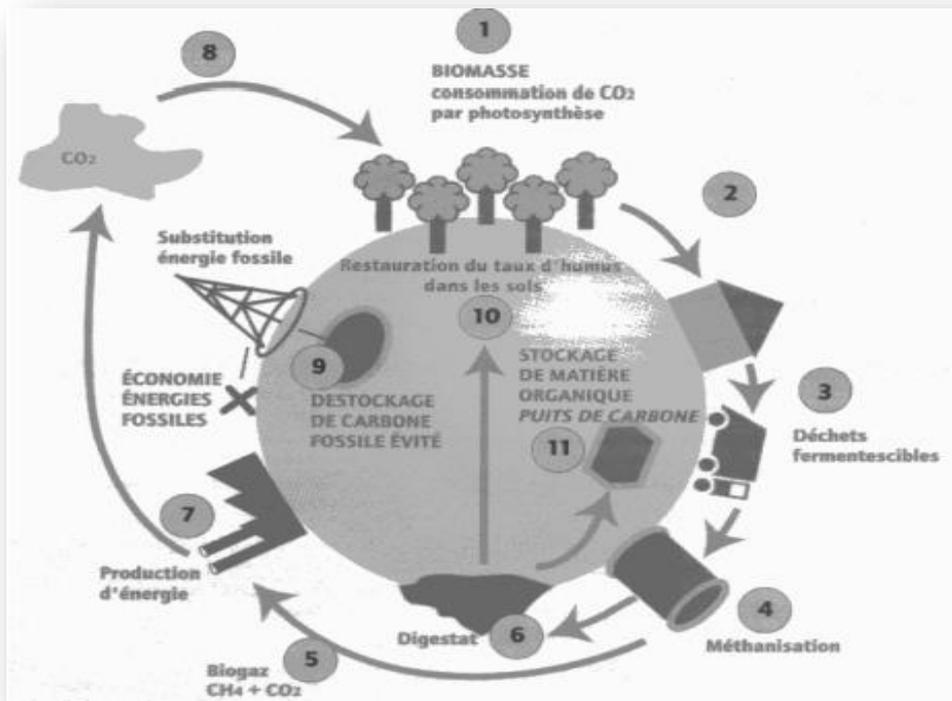
- Des coûts d'investissement importants ;
- Du fait de la faible vitesse de croissance bactérienne, la cinétique d'épuration est lente et les périodes de démarrage des réacteurs relativement longues ;
- les populations microbiennes sont sensibles aux perturbations, en particulier à l'oxygène et aux métaux lourds [137] où encore aux surcharges organiques et le procédé se révèle souvent instable ;
- le traitement par digestion anaérobie est souvent insuffisant pour rejeter directement les effluents dans le milieu naturel : un post-traitement aérobie de finition est nécessaire pour achever l'élimination du carbone et éventuellement de l'azote et du phosphore.

### **I.10- Intérêt environnemental de la digestion anaérobie**

La digestion anaérobie présente de nombreux intérêts, de nature à la fois environnementale ou économique. Tout d'abord, la digestion anaérobie est un mode de traitement éprouvé des rejets organiques qui permet aussi de produire un gaz très énergétique. Comparé au compostage qui convertit le carbone organique uniquement en CO<sub>2</sub>, la méthanisation permet de convertir une partie de ce carbone en méthane. Cette production de biogaz renouvelable constitue une source d'énergie différenciée, qui peut se substituer, dans la limite des quantités produites, aux énergies fossiles, par essence non renouvelables, à court et moyen terme. Elle évite donc le déstockage de carbone fossile qui contribue à l'augmentation de gaz carbonique dans l'atmosphère (puisque le carbone fossile est « piégé » dans les sous-sols de la planète).

Comme le compostage, la méthanisation permet de créer un « puits de carbone » (Figure 2) [55].

En effet, la méthanisation permet de stocker du carbone, soit dans le sol sous forme d'amendement organique si cela est possible techniquement et législativement, soit en centre de stockage si le retour au sol n'est pas possible. Le carbone ainsi stocké n'est pas immédiatement relargué dans l'atmosphère suivant le cycle du carbone, comme cela serait le cas pour l'incinération, mais ce relargage est différé dans le temps.



**Figure 2** : La méthanisation dans le cycle du carbone [55].

La Figure 2 montre que le carbone est consommé et piégé par la biomasse par photosynthèse (1). Après le cycle de transformation/consommation, il se retrouve sous forme de déchets (3) qui, une fois méthanisés (4), vont être transformés par le processus biologique en biogaz (5) et digestat (6). Le CO<sub>2</sub> produit lors de la transformation du biogaz en énergie (7) se réinsère dans le cycle du carbone et est recyclé par la biomasse (8). Ici, l'étape de production d'énergie (7) se substitue à l'utilisation d'énergie fossile et évite donc son déstockage (9), ce qui a pour effet la non-augmentation du CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère et par conséquent, une contribution diminuée à l'effet de serre. Ceci constitue le cycle du carbone renouvelable car il y a au pire un équilibre (solde carbone nul) entre le carbone consommé par la biomasse (8) et le carbone rejeté dans l'atmosphère.

Le carbone restant piégé dans le digestat (6) va pouvoir soit être directement rendu à la terre sous forme d'amendement organique (10) soit être stocké en ISDND2(11), ce qui constitue un stock de carbone qui mettra plusieurs années avant d'être rejeté sous forme de gaz carbonique.

Le bilan carbone est donc négatif, puisque la quantité consommée par la biomasse (8) est supérieure à la quantité rejetée dans l'atmosphère (7).

La technologie de méthanisation (en enceinte fermée) offre donc l'avantage de se situer dans un mode de gestion durable des déchets, de contribuer à la préservation des stocks d'énergies fossiles et d'offrir un solde carbone négatif, voire nul dans le pire des cas. Par rapport aux autres procédés de gestion des déchets, elle offre aussi de nombreux avantages.

Comparée au compostage :

- elle permet de tirer profit du potentiel énergétique de la matière organique tout en préservant une large part de son potentiel fertilisant;
- les installations anaérobies peuvent être énergétiquement autosuffisantes en raison de la génération de biogaz alors que la demande énergétique des procédés aérobies (brassage, injection d'oxygène) ne peut pas être couverte par la production d'énergie [137] ;
- fonctionner en réacteur fermé supprime tout rejet extérieur de poussières, de gaz, d'aérosols et de composés organiques volatils (COV) durant la phase de digestion « en réacteur ». Seule la phase de post-traitement (digestion aérobie, maturation) pourra rejeter de faibles quantités de gaz et de poussières ;
- les composés odorants qui sont transportés dans le biogaz sont détruits lors de la combustion du biogaz ;
- la digestion anaérobie permet une plus grande dégradation des COV.

Comparée à l'incinération :

- pas de production de fumées ni de CO<sub>2</sub> gazeux dégagé directement dans l'atmosphère d'où une contribution largement inférieure à l'effet de serre due à l'effet « puits de carbone ».
- une production d'énergie sous forme de biogaz alors que l'incinération ne peut que valoriser la chaleur de combustion.
- pas de nuisance olfactive due à la combustion de composés synthétiques.

## **I.11-Les digesteurs anaérobies**

### **I.11.1-Les types de digesteurs anaérobies**

Les digesteurs anaérobies sont normalement divisés en deux grandes catégories : les digesteurs de croissance en suspension et les digesteurs de croissance attachée ou biofilm, basés sur la nature de la présence de cellules bactériennes dans les digesteurs. Dans les digesteurs de croissance en suspension, les micro-organismes sont suspendus partout dans le

digesteur. Le temps de rétention hydraulique (TRH) de déchets à travers le digesteur anaérobie est le même que le temps de rétention de cellules microbiennes ou le temps de rétention solide (TRS) dans le digesteur [138].

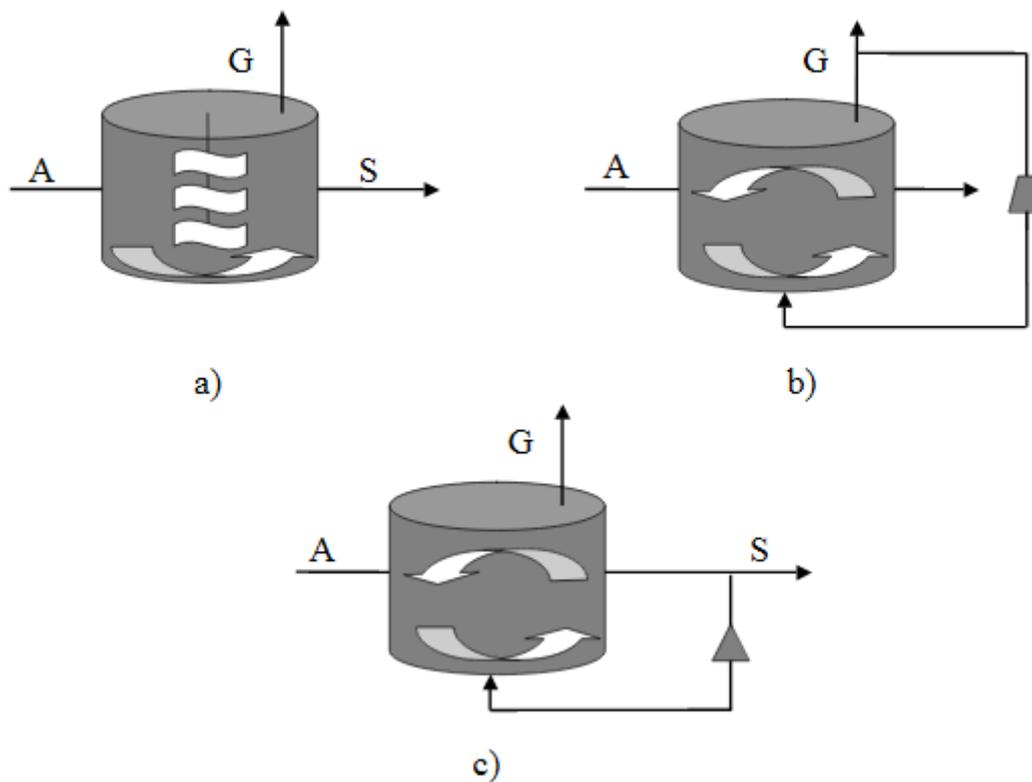
Dans des digesteurs anaérobies de croissance attachée, les bactéries anaérobies sont attachées et se développent à la surface de certains médias de soutien tels que le plastique ou des matériaux d'emballage en céramique. Les bactéries peuvent être immobilisés sur la surface du support et former des biofilms. Les avantages de l'immobilisation des bactéries comprennent (1) la concentration de cellules microbiennes élevée dans les digesteurs ; (2) haute TRS ; (3) la séparation de TRS et TRH. Cependant, les digesteurs anaérobies en croissance attachée sont généralement sensibles aux particules organiques solides dans les déchets, car ces particules causent le colmatage dans les digesteurs. Ils sont aussi plus coûteux à construire et à exploiter [138].

#### **I.11.1.1- Les digesteurs à cellules libres**

Ces réacteurs continus sont parmi les plus anciens et les plus simples. Ici la biomasse est en suspension dans le réacteur. Parmi ces fermenteurs on trouve les réacteurs infiniment mélangés, appelé également CSTR (Continuous Stirred Tank Reactor), dans lesquels un brassage continu assure l'homogénéité du milieu, ce qui favorise le contact entre la biomasse et le substrat.

##### **I.11.1.1.1- Digesteurs infiniment mélangés**

Le mélange dans le digesteur peut être assuré mécaniquement par un système de pâles, ou bien en recirculant le contenu du digesteur. Une dernière solution consiste à réinjecter le biogaz au bas du réacteur (voir figure 3). Un mélange incomplet favorise l'accumulation de matière particulaire ce qui à long terme risque de diminuer le volume



**Figure 3 :** Schéma d'un digesteur infiniment mélangé : a) mécaniquement par pâles, b) par compression et recirculation du biogaz, c) par recirculation du milieu. A : alimentation, S : sortie, G : biogaz.

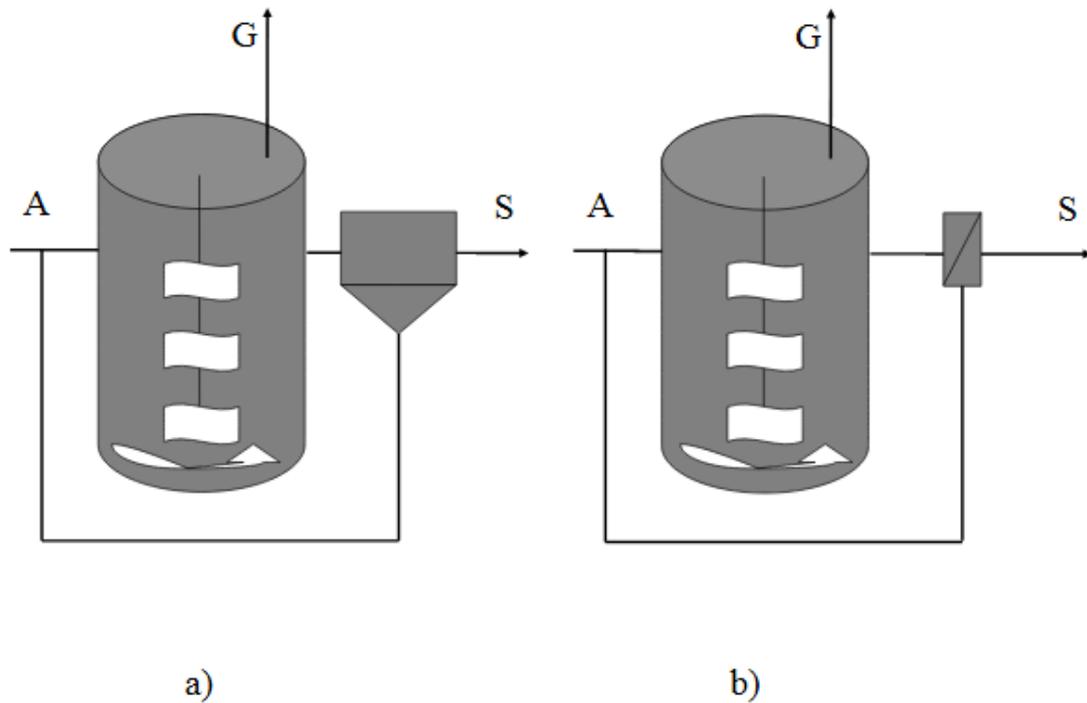
L'inconvénient de CSTR est que le taux de conversion par unité de volume du réacteur est plus faible comparé aux réacteurs à écoulement. Compte-tenu de la lente croissance des organismes méthanogènes cette technologie limite donc les débits qui peuvent être appliqués en entrée du digesteur.

#### **I.11.1.1.2- Digesteurs à contact**

L'augmentation de la quantité de biomasse dans le digesteur permet d'améliorer la performance du système et ainsi d'accroître les débits entrant et sortant ou de réduire le volume de la cuve.

Des technologies ont été développées pour découpler le temps de séjour hydraulique de celui des solides et favoriser l'accumulation de biomasse. La solution la plus simple consiste à placer en sortie du digesteur un système pour séparer la biomasse de l'effluent, et à recirculer la biomasse concentrée. La récupération de la matière particulaire du digestat peut se faire à

l'aide d'un décanteur ou bien grâce à une membrane. L'ajout de coagulants dans le décanteur peut faciliter la formation d'agrégats ou de floccs.



**Figure 4** : Schéma d'un digesteur à contact où la rétention est assurée par a) décanteur, b) membrane. A : alimentation, S : sortie, G : biogaz.

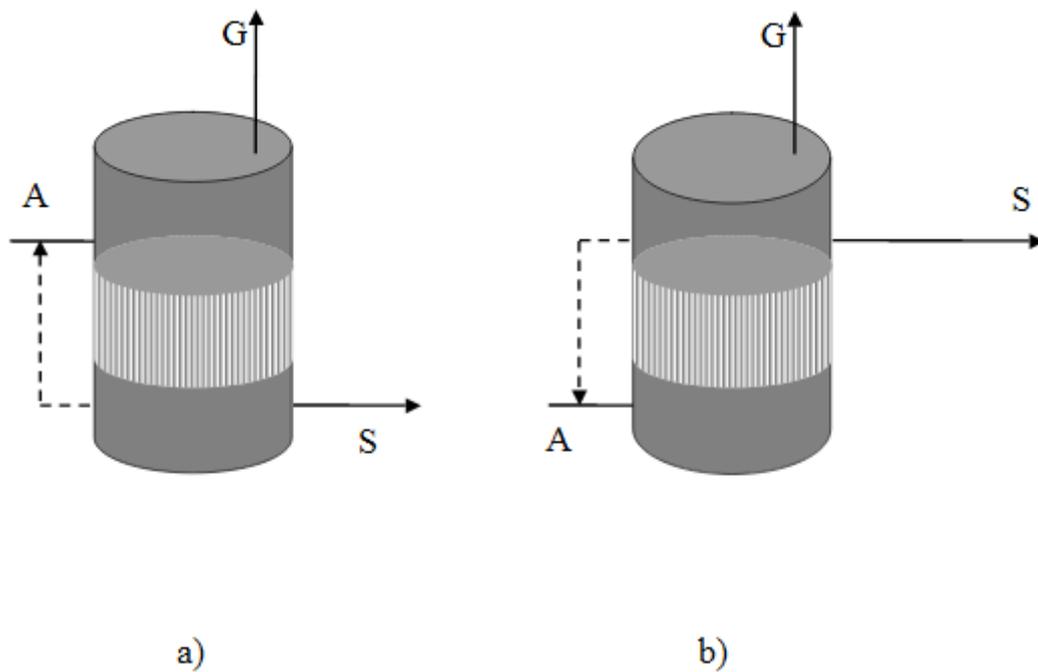
### **I.11.1.2- Les digesteurs à biofilm et à granules**

Un biofilm est un groupe de microorganismes inclus dans une matrice de polymères biologiques. Les espèces qui composent le biofilm adhèrent entre elles et forment dans ce cas des granules. Les microorganismes peuvent également se développer sur un support mobile ou fixe. L'attachement de la biomasse permet d'appliquer des débits importants sans risquer de lessiver la biomasse ; ces digesteurs sont donc plus robustes face à des chocs hydrauliques que les réacteurs à cultures libres.

#### **I.11.1.2.1- Réacteurs à lit fixe**

Les digesteurs à lit fixe ont été développés vers la fin des années soixante sur la base des filtresaérobies. Le réacteur est rempli d'un support inerte de nature variée (roche, verre, plastique, ...) et pouvant se présenter sous différentes formes (lamelles, grille, ...) sur lequel la biomasse peut se développer. L'alimentation se fait aussi bien par flux ascendant que descendant et l'effluent à traiter passe au travers du "filtre" formé par le support et la

biomasse qu'il contient. Une grande partie de la biomasse présente est en réalité coincée entre les interstices du support plus que réellement attachée.



**Figure 5** : Schéma d'un digesteur à lit fixe : a) à flux descendant, b) à flux ascendant. A : alimentation, S : sortie, G : biogaz.

Ce procédé facile à mettre en place est intéressant car il nécessite moins de mélange, et est particulièrement robuste aux surcharges organiques. Cependant les risques de colmatage du support par la matière particulaire sont assez importants. L'application d'un flux descendant et la recirculation du biogaz sont fréquemment appliquées pour faciliter l'élimination du surplus de biomasse libre (non attachée au support), limitant ainsi les risques de bouchage. Ces méthaniseurs sont donc plus orientés vers le traitement d'effluents liquides à faibles proportions de matière en suspension.

Pour éviter que ne se développent des chemins d'écoulements préférentiels, il est conseillé de choisir un support orienté offrant un grand rapport surface/volume, ce qui permet le développement d'un biofilm important tout en laissant de la place à l'écoulement de la matière particulaire.

### **I.11.1.2.2- Réacteurs UASB**

Ce procédé fut développé vers la fin des années 1970 par GätzeLettinga et ses collaborateurs en parallèle avec des chercheurs d'Afrique du Sud lorsqu'ils travaillaient sur des systèmes de filtres anaérobies. Au cours de leurs recherches, ils ont remarqué que la biomasse libre avait tendance à former d'elle-même des granules d'un diamètre équivalent de quelques millimètres.

Ils ont donc proposé d'utiliser cette autofloculation pour garantir un temps de séjour de la biomasse élevé sans utiliser un support.

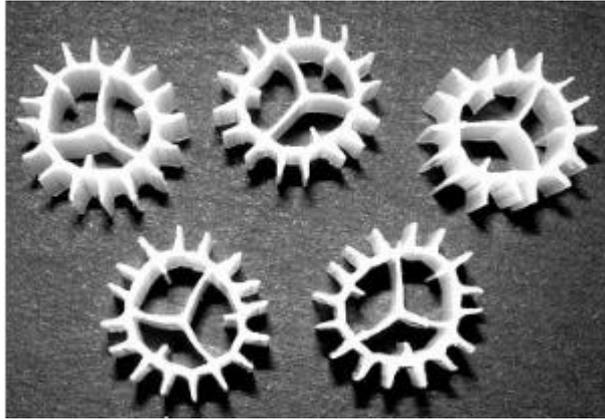
Le procédé, basé sur ce principe, le plus répandu est le digesteur UASB (pour UpflowAnaerobicSludgeBlanket), où le flux ascendant équilibre la tendance des agrégats à sédimenter, et assure la mise en suspension de la biomasse. Un système de séparation liquide/gaz/solide placé au sommet du digesteur permet de retenir la biomasse dans le réacteur. La recirculation sert à agiter et à homogénéiser le milieu.

Les réacteurs à lit de boues expansé EGSB (pour ExpandedGranularSludgeBed) sont des digesteurs UASB dans lesquels le flux ascendant est nettement supérieur ce qui augmente la hauteur du lit de boue. Dans ce cas la cuve est plus haute, et le diamètre moindre.

### **I.11.1.2.3-Réacteurs à support mobile**

Les fermenteurs à support mobile constituent la dernière génération de digesteurs à biomasse fixée. Ils ont été développés pour combiner les avantages des méthaniseurs à biomasse fixée (taux de rétention de la biomasse élevés autorisant de grands débits d'alimentation) et de ceux à cellules libres (faible risque de colmatage et bonne homogénéité du milieu).

Le digesteur est rempli avec un support inerte de faible taille sur lequel, et au sein duquel la biomasse peut se développer (voir figure 6). Le rapport surface/volume élevé du support et l'application de débits volumiques importants permet d'éviter le bouchage. Si le lit est expansé de moins de 20% on parlera de lit "expansé", et lorsque l'expansion du lit dépasse les 30% on parle de lit "fluidisé". La mobilité des supports est accrue dans le cas des lits fluidisés ce qui permet de limiter les colmatages et d'assurer un mélange efficace. Les fortes vitesses ascensionnelles au sein du réacteur favorisent la turbulence à l'interface entre le liquide et le biofilm ce qui améliore les transferts de masse. Comme dans le cas des réacteurs à lit fixe, la biomasse peut se retrouver piégée entre les supports [139].



**Figure 6** : Exemple de support mobile ; le Bioflow™[139].

## **I.11.2- Mode de fonctionnement des digesteurs**

### **I.11.2.1- Mode discontinu ou mode batch**

C'est le mode de fonctionnement le plus simple [140]. En effet, faire fonctionner un digesteur en discontinu consiste à mettre en contact la biomasse et le substrat une fois pour toutes et l'entière du substrat est apportée dès la mise en route de la fermentation. Le processus est arrêté lorsque, par épuisement du substrat et/ou accumulation de produits, la réaction ralentit provoquant une forte diminution de la vitesse de production de méthane. Ce procédé présente les avantages de la simplicité et d'un coût relativement faible.

Le mode batch est très utilisé à l'échelle laboratoire pour estimer la biodégradabilité de la matière organique à travers la mesure du « Biochemical Methane potentiel » ou BMP, exprimé en mLCH<sub>4</sub> /gMV ajoutée, tester l'activité de l'inoculum ou évaluer le risque d'inhibition [141]. Les réacteurs batch représentent une méthode rapide qui met en œuvre des matériels simples et peu onéreux pour l'estimation des BMP et des vitesses de dégradation [142]. Par contre, ce mode possède des limites comme la variabilité élevée de la production et de la qualité de biogaz [143].

### **I.11.2.2- Le mode continu**

Dans un réacteur fonctionnant en continu, il y a un apport permanent ou au moins régulier de substrat (ou de mélange substrat/digestat recirculé) accompagné d'un soutirage de digestat. Les variables à fixer en mode continu sont le temps de séjour associé à la charge appliquée. Ce mode de fonctionnement permet une production de biogaz régulière.

Trois grandes configurations existent pour la mise en œuvre de la biomasse dans les réacteurs continus : soit les cellules microbiennes sont libres et le réacteur est agité pour maintenir son

contenu homogène (réacteur mélangé), soit les cellules sont agglomérées sous forme de granules (réacteurs UASB) soit enfin, les cellules sont fixées sur un support fixe ou mobile ajouté dans le réacteur (lit fixe ou filtre anaérobie, lit fluidisé).

Pour les réacteurs fonctionnant en continu, deux types de configurations ont été développés, le réacteur continu en une étape ou le réacteur continu à deux, ou même parfois plusieurs, étapes. Dans le premier cas, toutes les réactions biochimiques se déroulent dans la même phase, alors que dans le deuxième cas, les étapes de la DA sont séparées. Dans la configuration à deux étapes, l'hydrolyse et l'acidification sont réalisées dans un premier réacteur. Dans ce digesteur, des conditions physicochimiques particulières sont imposées avec un temps de séjour plus court et un volume plus petit. Ensuite, un deuxième digesteur sera consacré au déroulement de l'acétogénèse et la méthanogénèse [144]. Ce mode de fonctionnement permet de stabiliser le procédé particulièrement pour les substrats facilement biodégradables [145] et d'apporter une meilleure tolérance aux variations de la charge appliquée. A titre d'exemple, Nielsen et al. [146] ont montré que la mise en œuvre de deux étapes avait permis d'améliorer la performance d'un digesteur traitant du fumier bovin dans des conditions thermophiles de 6-8% pour le rendement méthane et de 9% pour la dégradation de la matière organique, par rapport à un réacteur continu à une seule étape. Liu et al. (2004a, 2004b) ont trouvé une augmentation de 21% du potentiel méthane pour un digesteur à deux étapes par rapport à un réacteur à une seule étape en utilisant les déchets municipaux comme substrat pour les deux.

Les avantages du procédé à deux étapes sont : l'amélioration de la stabilité dans le digesteur, la possibilité d'augmenter la charge appliquée, augmenter l'activité spécifique des méthanogènes conduisant à l'augmentation de production de méthane, augmentation de la réduction de gMV/DCO ajouté [147]. Par contre, parmi les inconvénients de la méthanisation à deux étapes, le coût cher au niveau de démarrage, les problèmes techniques et l'élimination des nutriments dont les microorganismes méthanogènes ont besoin.

### **I.11.2.3- Le mode semi-continu ou fed-batch**

C'est un mode de fonctionnement hybride entre le mode continu et le mode discontinu. Le réacteur est alimenté régulièrement, mais sans effectuer un soutirage systématique qui n'est réalisé qu'à la fin d'un cycle dont la durée est fixée par l'opérateur. Le but est de conserver une partie des microorganismes dans le réacteur pour le cycle suivant. Le substrat est amené progressivement au cours de la fermentation, en adaptant les quantités à la biomasse déjà

formée. Dans l'étude de Ganesh et al. [148] par exemple, le réacteur a été alimenté en semi-continu par un mélange de 5 co-substrats et le digesteur a été alimenté 5 fois par semaine du lundi au vendredi, mais le soutirage n'a été effectué qu'une fois par semaine, le lundi matin, avant un nouveau cycle de 5 alimentations.

D'une façon générale, deux voies de DA peuvent être appliquées : la voie liquide lorsque la concentration en matières sèches en suspension dans le réacteur est inférieure à 12-15% [119] ou la voie sèche lorsque la concentration en matières sèches en suspension est supérieure à ces valeurs, Karagiannidis and Perkoulidis [149].

## **I.12-La Co-digestion**

### **I.12.1-Aspect général**

La co-digestion est définie comme étant la digestion simultanée de deux ou plusieurs substrats [150]. Durant ces dernières années, la co-digestion a connu un développement très important et le nombre de réacteurs de co-digestion à partir de différentes variétés de déchets solides a fortement augmenté [151].

D'une façon générale, l'avantage de mélanger plusieurs substrats est considéré à deux niveaux. En premier lieu, au niveau du procédé et du fonctionnement du digesteur, la co-digestion permet d'améliorer la stabilité des digesteurs, garantissant un meilleur traitement de déchets. En effet, la co-digestion peut être accompagnée d'une augmentation de la productivité et des rendements en méthane [152]. En deuxième lieu, sur le plan économique, la co-digestion est considérée plus favorable que la mono-digestion. En effet, cette technologie permet de traiter des substrats de types et origines différents dans une installation commune. Par conséquent, le traitement de différents types de déchets dans des installations centralisées et régionales [153] permet la conception d'unités de méthanisation de taille plus importante par rapport à la mono-digestion, ce qui améliore la rentabilité des installations.

Certains auteurs ont rapporté des effets d'antagonisme lors de la co-digestion. Cependant, ces études ne sont pas nombreuses et, dans d'autres cas, aucun effet ni de synergie ni d'antagonisme n'a été noté, plus particulièrement sur la production de méthane.

L'évaluation de la synergie / antagonisme lors de co-digestion varie dans la littérature et plusieurs approches ont été rapportées. Trois paramètres sont généralement utilisés pour évaluer l'effet de la co-digestion par rapport à la monodigestion : la performance et la stabilité des digesteurs, les vitesses de dégradation et le bilan DCO [154].

### **I.12.2-Avantages de la co-digestion**

Par rapport à la mono-digestion, la co-digestion permet souvent d'assurer une meilleure stabilité des réacteurs sur de plus longues durées. Ceci est le résultat d'un facteur clé qui consiste à équilibrer plusieurs paramètres du mélange de substrats servant à l'alimentation du digesteur pour ajuster la composition de l'alimentation aux besoins des micro-organismes. Par exemple, un rapport C/N élevé peut conduire à une carence en azote engendrant un ralentissement de l'activité microbienne. Au contraire, un rapport C/N élevé peut également générer un ralentissement de l'activité microbienne par toxicité due à l'azote ammoniacale. Le mélange de substrats avec des rapports C/N différents permet de limiter les risques de carence ou de toxicité par apport d'azote ou au contraire par dilution de l'azote. Le pH peut être équilibré par l'ajout d'un substrat ayant une alcalinité importante, tel que les déjections animales (fumiers bovins par exemple) ce qui assure une bonne protection contre les risques engendrés par des concentrations élevées en AGV.

Pour les substrats ayant une teneur élevée en matières sèches, comme la fraction organique des déchets urbains par exemple ou des résidus agricoles secs, le mélange avec un substrat ayant une faible teneur en matières sèches permet d'éviter des problèmes techniques liés au pompage et à l'agitation dans le digesteur [155].

La co-digestion permet également d'ajuster les teneurs en éléments fertilisants dans le digestat et de produire un digestat de bonne qualité en sortie de procédé [156].

Dans la littérature, plusieurs études ont été publiées où différents types de substrats ont été impliqués et où un effet de synergie de la co-digestion a été mis en évidence. La synergie se traduit par un rendement en méthane du mélange de substrats plus fort que celui obtenu lors de la mono-digestion de chaque substrat. En particulier, pour les mélanges où les fumiers sont utilisés comme co-substrat, une augmentation des rendements en méthane pouvant atteindre 200% a été observée [157]. Pour les substrats riches en carbohydrates, la co-digestion avec des substrats riches en azote comme les fumiers ou les déchets de cuisine a fait l'objet de plusieurs études et une amélioration de la performance et de la stabilité du procédé a été relevée [158]. En étudiant la co-digestion de fumiers avec de la glycérine, Astals et al. (2014) ont constaté une augmentation de 125% du rendement en méthane par rapport à celui calculé lors de la mono-digestion des fumiers. Ils ont expliqué ce résultat par une augmentation de la vitesse de croissance des microorganismes et une régulation métabolique dans le système [159].

### **I.12.3-Les substrats utilisés en co-digestion**

Les substrats solides destinés à la méthanisation peuvent être d'origines très diverses :

- Soit d'origine urbaine comme les déchets ménagers, les boues de stations d'épuration, les déchets verts, ou les biodéchets issus des activités commerciales et des commerces alimentaires,
- Soit d'origine industrielle, tels les sous-produits et résidus provenant des industries agro-alimentaires et des agro-industries qui représentent une partie non valorisée lors des procédés de fabrication,
- Soit d'origine agricole comme les déjections animales, les déchets de production agricole et les cultures énergétiques.

#### **I.12.3.1-Les déchets organiques municipaux**

Ils sont classés parmi les substrats les plus variables puisque leur biodégradabilité et leur BMP dépendent du pays où ils sont produits, de la saison et des méthodes de collecte et de stockage. Cho et al. (1995) ont rapporté que les déchets municipaux riches en viande ont un potentiel méthane élevé, alors que ce n'est pas le cas pour des déchets contenant plus de résidus végétaux [160]. De plus les déchets ménagers représentent un substrat potentiellement difficile car ils peuvent contenir des composants non biodégradables et susceptibles d'endommager le fonctionnement des réacteurs et de leurs équipements comme le verre, les plastiques et les ferrailles. Avant leur digestion, un tri (manuel ou mécanique) est nécessaire afin d'avoir des déchets plus aptes au traitement biologique anaérobie.

Les boues des stations d'épuration traitant des eaux usées sont considérées comme des déchets municipaux contenant de la matière organique disponible pour la décomposition. Les caractéristiques des boues dépendent de l'origine des eaux traitées (municipale ou industrielle) et des conditions de fonctionnement de la station d'épuration. Dans ce cas, la digestion anaérobie est utilisée pour la stabilisation des boues d'épuration et la réduction de la charge polluante. C'est une des étapes du processus de traitement des boues conduisant à leur valorisation à travers le biogaz produit, qui peut couvrir partiellement les besoins énergétiques de la station d'épuration, et à travers l'épandage agricole. Néanmoins, la méthanisation de boues n'est faisable que pour des boues fraîches possédant une fraction facilement biodégradable importante comme les boues primaires, les boues biologiques issues de stations fonctionnant à moyenne ou forte charge ou les boues mixtes.

### **I.12.3.2-Les déchets d'origine industrielle**

Ces déchets, d'origines très diverses, possèdent des rendements en méthane élevés. Ils peuvent provenir des industries agroalimentaires comme les industries de transformation de viandes, les déchets de laiterie, les déchets d'huilerie (tourteau de soja, tourteau de tournesol), les déchets de sucreries, les déchets gras. Également, le tri des fruits et légumes dans les centres commerciaux, les industries pharmaceutiques ou papetière, la restauration privée ou collective, les déchets verts. Ces substrats représentent des matières primaires essentielles pour des unités de méthanisation agricoles.

### **I.12.3.3-Les ressources agricoles**

#### **I.12.3.3.1-La biomasse**

La biomasse agricole résulte des parties résiduelles des plantes après leur récolte, ce qui inclue, par exemple, la paille de blé, de riz, de sorgho, l'herbe et les cannes de maïs et de tournesol. Ces résidus sont très riches en cellulose. Par contre, ils sont ligneux, ce qui peut engendrer des problèmes d'accessibilité à la cellulose, et fibreux, ce qui peut causer des problèmes lors de l'alimentation des digesteurs. Généralement, les potentiels méthane de ces substrats sont assez élevés mais des prétraitements peuvent être nécessaires pour améliorer l'accessibilité aux substrats et leur dégradation [161]. Amon et al. (2007) ont montré que la saison de récolte affecte aussi le potentiel méthane. En effet, lors de la DA de cultures de maïs, une augmentation du potentiel méthane entre 9% et 37% a été observée pour des échantillons récoltés après 97 jours de leur culture par rapport à ceux récoltés après 151 jours [162]. Ces résidus sont souvent laissés au champ où ils jouent un rôle important comme source de carbone, de nutriments et pour la protection mécanique des sols.

Les déchets de fruits et légumes peuvent être aussi classés en tant que biomasse dans le cas où ils ne sont pas commercialisés suite à une surproduction. Ces substrats sont très riches en carbohydrates et ont un rapport C/N très élevé. Depuis les années 1980, ces substrats sont utilisés comme cosubstrats intéressants dans la co-digestion [163].

Ces déchets sont facilement biodégradables, mais avec une hydrolyse rapide qui peut présenter un risque d'inhibition lors de leur traitement. Le procédé de méthanisation à deux étapes, avec séparation des phases d'hydrolyse-acidification et d'acétogénèse-méthanogénèse, a été développé pour protéger les Archées méthanogènes de l'accumulation des AGV. A titre d'exemple, Bouallagui et al. (2005) ont mis en œuvre le procédé à deux étapes dans des

digesteurs fonctionnant en mode SBR (Sequencing batch reactor). Ils ont montré que la séparation de phase permettait d'augmenter la stabilité du digesteur de méthanogénèse et d'augmenter ses performances [164].

#### **I.12.3.3.2-Les cultures énergétiques**

Les cultures dites « énergétiques » dont l'objectif est la production d'énergie, sont une option bien développée et appliquée dans certains pays, comme par exemple en Allemagne. Ces cultures (maïs, betterave, sorgo, ...) sont traditionnellement destinées à l'alimentation du bétail, mais elles sont caractérisées par leur capacité élevée pour la production de méthane. En Allemagne, la méthanisation de ces cultures est encouragée alors qu'en France des limites, apparaissent suite à la concurrence avec leur usage dans le secteur alimentaire.

Parmi les cultures énergétiques, on peut aussi citer les cultures intermédiaires à vocation énergétique. L'objectif de l'implantation de ces cultures est de protéger les sols de l'érosion, de capter l'azote, d'améliorer la structure physique des sols et d'accroître la biodiversité dans les écosystèmes. La concurrence avec la voie alimentaire est faible vu la production excédentaire, ceci rend ces cultures plus aptes à la production d'énergie par méthanisation.

L'ensilage de ces substrats pendant plusieurs mois permet d'avoir une réserve de matière organique biodégradable qui peut constituer une solution intéressante pour compenser les variations d'approvisionnement de substrats dans les unités de méthanisation.

#### **I.12.3.3.3-Les fumiers, lisiers et fientes (les déjections animales)**

Ces substrats représentent une source importante de matière organique pour la méthanisation vu leurs productions élevées dans les fermes agricoles. D'ailleurs, les déjections animales représentent la première ressource exploitée en méthanisation agricole et l'utilisation de ce type de déchets en méthanisation permet de réduire les gaz à effet de serre (Moller et al., 2004). La biodégradabilité et le potentiel méthane de ces déchets sont très variables. En effet, d'après Moller et al. (2004) le BMP des fumiers dépend de plusieurs facteurs : les espèces animales, la phase de croissance de l'animal, l'alimentation et la capacité de se dégrader lors du stockage. Les fumiers de ferme sont très riches en ammoniac qui peut présenter un risque pour le procédé de méthanisation en causant une inhibition de la flore microbienne (Sung and Liu, 2003). Par contre, le fumier représente un bon substrat de co-digestion, particulièrement, pour les substrats avec des C/N élevés, car il permet d'équilibrer ce rapport et d'apporter de l'alcalinité pour une meilleure performance et une meilleure stabilité du

digesteur, par exemple pour les déchets de fruits et légumes et les cultures énergétiques [165]. Globalement, ces substrats sont riches en composés lignocellulosique et sont donc classés comme des substrats lentement biodégradables.

Souvent, des prétraitements sont conseillés pour diminuer la taille des fibres, ce qui peut permettre d'améliorer le potentiel méthane [166]. Ainsi, Angelidaki and Ahring (2000) ont rapporté 20% d'amélioration des potentiels en méthane de fumiers suite aux prétraitements [167]. Dans la littérature, les fumiers sont très souvent utilisés comme substrat aussi bien dans des réacteurs à l'échelle laboratoire qu'à grande échelle [168].

#### **I.12.4-Co-digestion : Impact de l'augmentation de la charge appliquée sur les BMP et les cinétiques de dégradation.**

##### **I.12.4.1-Le mode continu**

La charge volumique appliquée (CVA) est l'un des paramètres les plus importants pour le dimensionnement et la conduite de tout digesteur. Ce facteur doit être bien choisi et bien maîtrisé pour éviter l'inhibition du procédé par l'accumulation d'intermédiaires inhibiteurs, comme les AGV, engendrées à la suite d'une surcharge organique. En conséquence, l'augmentation de la charge appliquée en mode continu est un paramètre qui a été largement étudié dans la littérature, essentiellement dans le but de déterminer la CVA optimale à utiliser à l'échelle industrielle. Ainsi, Jabeen et al. (2015) ont étudié les effets de l'augmentation de la charge appliquée (5, 6 puis 9 kg MV m<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup>) sur la co-digestion de déchets alimentaires avec des écorces de riz en mode continu et en régime mésophile [169]. L'augmentation de la CVA de 5 à 6 kg MV m<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup> a révélé la capacité de tampon élevée du digesteur et le rapport AGV/alcalinité est passé de 0,15 à 0,24 alors que cette valeur a atteint 0,94 à la charge de 9 kg MV/m<sup>3</sup>/j. Une inhibition du digesteur a été observée à cette dernière charge et la production journalière de biogaz est passée de 196 à 136 L.j<sup>-1</sup>. En conclusion d'une étude de la co-digestion de fumier bovin avec de la paille du riz, (lie et al., 2015) recommandent une charge appliquée optimale de 6 kgMVm<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup>, avec 8 kgMVm<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup> comme maximum [170]. Pour des charges plus élevées, des instabilités de réacteurs ont été observées. Ganesh et al. (2013) ont étudié le comportement de la co-digestion de plusieurs déchets solides (déchets de fruits et légumes (FVW), herbe et fumier bovin) avec l'augmentation progressive de la charge appliquée de 1,5 à 7,5 kgMV m<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup> [171]. Ils ont remarqué une augmentation de la production volumétrique de biogaz avec l'augmentation de la CVA, mais avec une diminution de 20 % sur le rendement méthane entre la plus faible et la plus forte charge appliquée. Comino et al.

(2010) ont investigué la co-digestion de fumier bovin et de cultures ensilées dans un réacteur pilote à des charges appliquées croissantes [172]. Les rendements méthane rapportés sont de 23, 49 et 61 L CH<sub>4</sub> kg MV<sup>-1</sup> respectivement à des CVA de 4,45 ; 5,15 et 7,8 g MV L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup>, avec une inhibition à cette dernière charge expliquée par une surcharge organique. Lors de la co-digestion de la fraction solide séparée du lisier avec de l'herbe ensilée, le passage d'une charge appliquée de 1 kg m<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup> à une CVA de 3 kg m<sup>-3</sup> j<sup>-1</sup> engendre une augmentation volumétrique de la production de méthane de 88%, mais avec une diminution du rendement méthane de 38%, ce qui indique une diminution des performances avec l'augmentation de la charge appliquée [173]. Agyeman and Tao (2014) ont étudié l'impact de la taille de particules sur la co-digestion de déchets alimentaires avec du fumier bovin à des charges appliquées de 0,67 à 3 g MV L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup>. Les meilleures performances ont été obtenues pour la taille la plus petite [174]. De plus, le rendement méthane le plus élevé a été mesuré à une charge appliquée de 2 g MV L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> avec l'élimination de 67% des matières volatiles ajoutées et la production de 1,40 à 1,53 L CH<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup>. Les auteurs soulignent que la co-digestion peut se dérouler jusqu'à une charge appliquée de 3 g MV L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> sans inhibition par l'ammonium. Ces mêmes conclusions ont été rapportées par Hartmann and Ahring pour la co-digestion de fumier bovin et de déchets alimentaires [175]. En effet, les plus faibles potentiels spécifiques en méthane (0,14 à 0,4 L CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> MV) ont été obtenus pour les charges appliquées les plus fortes (3,3 à 16,3 g MV L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup>). De même, Zhang et al. (2013) ont rapporté une diminution du potentiel méthane entre la plus faible et la plus forte charge appliquée en utilisant un ratio optimal de déchets alimentaires/fumier bovin de 2 en termes de MV ajoutés. Les potentiels méthanes observés sont de 388 ; 317 et 139 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> MV pour les charges appliquées de 12 ; 17 et 18 g MV L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> [176].

Par contre, Kougias et al. (2014) ont rapporté que l'augmentation de la charge appliquée pour la co-digestion d'eaux usées d'une industrie d'huile d'olive et de lisier en mode continu augmente la performance du digesteur [177]. En effet, pour des charges appliquées de 1,2 ; 2 ; 2,8 ; 3,4 et 3,8 g MV L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup>, les valeurs des potentiels méthanes sont respectivement de 278 ; 202 ; 264 ; 351 et 373 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> MV, bien que les eaux usées de presse d'huile d'olive soient riches en composés inhibiteurs (phénols). L'augmentation de l'efficacité du traitement a été expliquée par un possible changement des microorganismes dans le réacteur. Baserba et al. 2012, ont investigué l'effet de l'addition continue d'oléate sur la communauté microbienne dans un réacteur fonctionnant en mode thermophile et traitant du fumier. Ils ont rapporté que

cette addition fait changer la réponse des microorganismes et conduit à un nouveau consortium spécialisé dans la dégradation des acides gras à longue chaîne.

#### **I.12.4.2-Le mode batch**

En mode batch, le paramètre très important à considérer pour éviter tout risque de surcharge organique est la concentration initiale en matière organique. Les études évaluant l'impact de l'augmentation de la concentration initiale en substrat restent relativement rares [178]. Xie et al. (2017) ont étudié l'impact de la concentration initiale en substrat sur les phénomènes de synergie/antagonisme lors de la co-digestion de déchets alimentaires et de boues urbaines [179]. Différentes concentrations initiales en substrat ont été testées par l'augmentation de la quantité de déchets alimentaires. La concentration optimale est  $15 \text{ kg MV m}^{-3}$ . Il est intéressant de noter que le BMP trouvé en co-digestion à cette concentration optimale est plus élevé que ceux déterminés pour chaque substrat traité séparément. De plus, il a été démontré dans cette étude qu'avec l'augmentation de la concentration initiale en substrat, la phase de latence devient de plus en plus longue. Au-delà de  $15 \text{ kg MV m}^{-3}$ , les BMP diminuent suite à une surcharge organique et à l'accumulation d'AGV dans le digesteur qui conduit à l'inhibition des méthanogènes [180].

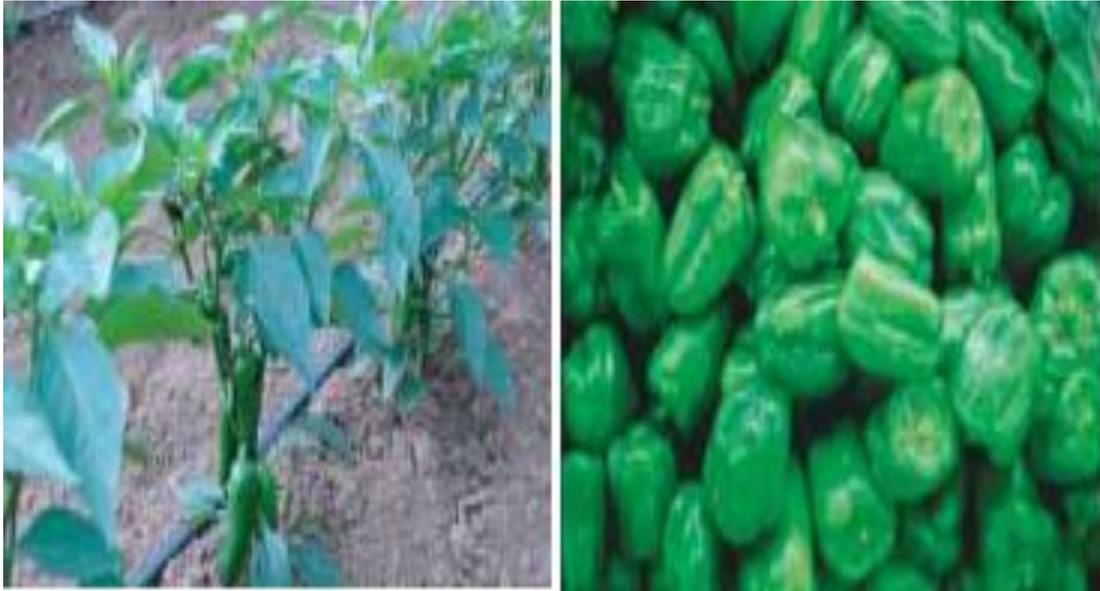
### **I.13- La production de plantes de poivrons et d'aubergines au Maroc**

#### **I.13.1- Le Poivron-Piment**

##### **I.13.1.1- Plante et importance de la culture au Maroc**

Le poivron (*Capsicum annum*) est une plante annuelle qui appartient à la famille des solanacées. Le poivron est originaire du Mexique et de l'Amérique centrale. Les qualités gustatives, nutritives et diététiques du fruit sont excellentes. Celui-ci renferme 10 à 13% de matière sèche, 4 à 5% de sucres, 1,5 à 2% de protéines et de grandes quantités de sels minéraux, particulièrement des sels de potasse, et des vitamines, surtout vitamine C.

Le poivron est 4 à 5 fois plus riche en vitamine C que le citron. La culture de poivron est assez répandue au Maroc, surtout dans la région du Souss, ainsi que dans les régions côtières et au Saïss. Elle permet d'avoir une production en deux périodes : Novembre-mi-Janvier-fin Mai. Durant la période de fin Janvier à Mars, la production est faible alors que la demande est élevée. Le Maroc se place 13<sup>ème</sup> mondial avec une production annuelle de 247.600 tonnes en 2019 sur près de 5 100 hectares, selon les données de la FAO.



### **I.13.1.2- Exigences édapho-climatiques**

Les exigences du poivron en chaleur sont plus grandes que celles de la tomate. Son optimum de croissance se situe à 24°C. Son zéro végétatif se situe à 8°C, mais la croissance de la plante se ralentit à des températures inférieures à 13°C. Le poivron est très sensible aux températures basses. Les températures supérieures à 35°C réduisent la fructification et la photosynthèse. Les exigences de la culture en lumière sont très grandes.

Dans les vergers ou sous les bananiers sous-serre, le poivron ne donne pas des rendements satisfaisants. En ce qui concerne la photopériode, le poivron est une plante de jours longs. Le poivron est très exigeant en qualité de sol. Ses exigences sont plus grandes que celles de la tomate. Le sol préféré présente les caractéristiques suivantes : sol profond, bien drainé, chaud et bien pourvu en humus et en matières nutritives aisément assimilables. Les sols légers conviennent à la culture de primeur, les sols frais, silico-argileux sont convenables à la culture de saison. Le poivron redoute plus l'acidité de sol que son alcalinité. L'optimum se situe vers un pH de 6,5-7. Le poivron est fort exigeant en humidité de sol. Celui-ci doit avoir 80-85% d'humidité afin d'obtenir de bons rendements. Lorsque l'humidité relative de l'air est basse (inférieure à 60%) et la température est élevée, les fruits ne grandissent pas, le poivron fatigue rapidement le sol. Il est très exigeant en rotation des cultures. La dissémination rapide de beaucoup de maladies interdit la monoculture. Les meilleurs rendements sont obtenus dans les terrains vierges ou nouvellement acquis, n'ayant pas été occupés par une autre solanacée pendant les 4 ou 5 dernières années. Le poivron est un bon précédent cultural pour les légumes racines.

### **I.13.1.3- Variétés, semis, plantation et travail de sol**

Les variétés disponibles sur le marché marocain sont nombreuses : 1-type allongé : Andalus, Marconi, Belconi, 2-type cottelé (bell type) : Yolo Wonder, Caistrano, Hybell, Bell Captain, King Arther, Murango, 3-type filet : Hy Fry, Biscayne, Gypsy, Sweet Wax, Red Cherry). Le choix d'une variété doit être effectué en fonction des caractéristiques de la région (conditions édapho-climatiques, marché, longueur du cycle cultural...). La multiplication du poivron se fait exclusivement par plant, même en culture de plein champ (saison ou primeur). Les plants doivent être produits en pépinière afin de réussir la culture. Cette pépinière peut être un grand tunnel ou une serre canarienne, bien étanche, chaude, aérée pendant la journée, et à sol couvert de paillage plastique. Un ha demande près de 250-300 grammes de semences. Il y a 150-200 graines/gramme de semences. Le pouvoir germinatif des graines se conserve 4 à 5 ans. Il est recommandé de semer suffisamment de plants afin de pouvoir remplacer les manquants à la même date de plantation. Le semis a lieu dans des plateaux alvéolés, à raison d'une seule graine par alvéole. Ces alvéoles sont remplis par la tourbe noire. Pour un hectare, il faut 250 à 300 sacs de 18 kg de tourbe. Après le semis, il faut veiller à couvrir les plateaux par un film plastique de 20 microns. Ce film sera enlevé juste à l'apparition des plantules émergentes. Il faut également veiller à la protection des semences dans les alvéoles contre les rats et les souris en traitant la pépinière par un raticide.

Les dates de semis sont fonction de la période visée de production. En plein champ, pour les primeurs, les dates de semis s'échelonnent d'Aout à Février dans la région d'Agadir et en Janvier-Février sur le reste du littoral atlantique. Pour la culture de saison, le semis s'échelonne de fin Janvier à fin Mars, surtout dans les régions de l'intérieur du pays. En arrière saison, le semis a lieu en Juin-Juillet. La plantation en place définitive a lieu, en général, 1 à 2 mois après le semis en période froide et 15 à 25 jours en période chaude, au stade 2-3 vraies feuilles. Pendant le mois qui précède la plantation, on procède à un labour profond à 35cm, cover-cropage pour casser les mottes, nivellement du terrain si nécessaire épandage et enfouissement de la fumure de fond (organique et minérale) sur l'ensemble de la parcelle, mise en place des brise-vents, traçage des lignes de plantation. La plantation a lieu lorsque les plants arrivent au stade 2-3 feuilles ou, parfois, si le semis a lieu dans des godets, au stade bouton floral apparent, soit 50 à 60 jours après le semis. Juste avant la plantation, on procède à une irrigation pour humidifier le sol jusqu'à une profondeur de 30 à 40cm. Les dimensions des écartements et espacements sont comme suit : 1m entre lignes simples \*0,4-0,5m entre plants, ou bien 1,20 à 1,50m entre jumelées (dans la jumelée 0,3-0,5m entre 0,4-

0,5m entre plantes dans le rang). La densité de plantation est de 20.000 et 22.000plants/ha. Les manquants doivent être remplacés immédiatement après la reprise.

#### **I.13.1.4-Irrigation et soins culturaux**

Les besoins de la culture se situent aux environs de 400mm pendant la période végétative et de 200 à 400 mm pendant la période de cueillettes, soit 600 à 800mm/cycle. Le but essentiel de tout système d'irrigation consiste à mettre à la disposition de la plante la quantité d'eau nécessaire à ses besoins en temps opportun. Toute erreur en irrigation a des conséquences graves sur la production puisque la faculté restauratrice des racines du poivron est faible. Afin d'assurer une restauration normale des racines et une bonne reprise des plants, il faut procéder de la manière suivante : on irrigue juste après la plantation et on arrête l'irrigation. La plante commence à montrer des symptômes de soif, surtout à midi, mais ce n'est pas un problème. On doit observer attentivement l'attitude des plantes : la restauration des racines commence lorsque la couleur vert foncé des feuilles revient. C'est alors à ce moment là qu'il faut apporter la 2<sup>ème</sup> irrigation. En cas de fortes chaleurs, il ne faut pas dessécher la plante, il est recommandé de l'arroser par des légères irrigations, surtout en terre sableuse. Entre les 2 premières irrigations, il ne faut pas biner afin de ne pas déranger le système racinaire. A partir de la 2<sup>ème</sup> irrigation, les arrosages doivent toujours rester rares jusqu'à la pleine floraison ou l'irrigation devient normale. A ce stade, tout déficit hydrique risque de provoquer des chutes de rendement. En ce qui concerne les soins culturaux, le tuteurage a pour but de soutenir les ramifications porteuses de fruits, ce qui permet une exposition correcte des feuilles à la lumière et une limitation des pertes de production par cassures. L'opération de tuteurage consiste à mettre de part et d'autre des lignes de plantation des piquets dépassant le sol de 0,6-1m et distants entre eux de 1,5m à 2m. Il faut attacher à ces piquets, parallèlement à la ligne de plantation, deux étages roseaux ou de ficelle, respectivement à 35-40 cm et à 60-80 cm au fur et à mesure du développement du plant. Le pâtissage consiste à placer les plantes entre les piquets et la ficelle ou le roseau afin de les soutenir et d'éviter qu'elles tombent sous le poids des fruits. L'ébourgeonnage consiste à enlever les bourgeons axillaires qui poussent sur la tige principale au fur et à mesure du développement de la plante. L'ébourgeonnage se fait le matin quand les pousses sont encore cassantes et se répète suivant l'allure à donner au plant. L'effeuillage consiste à éliminer les feuilles basales touchant le sol ou les feuilles âgées non fonctionnelles. On commence l'effeuillage dès que les premières feuilles jaunissent, ce qui permet une meilleure aération de la base de la plante.

### **I.13.1.5- Fertilisation**

La fumure de fond recommandée dans la plupart des sols à richesse moyenne est la suivante : fumier décomposé : 40-50 T/ha, N : 100kg/ha sous forme de sulfate d'ammoniaque ou d'urée, P : 150kg/ha sous forme de super triple 45%, K : 120-150kg/ha sous forme de sulfate de potasse ou de KCl sauf en cas de forte salinité de sol. Le poivron exige une grande quantité de fumure minérale et organique. Il ne supporte pas le fumier récent. Il donne plutôt de bons résultats lorsque le fumier est bien décomposé. Les besoins du poivron dépendent de son stade végétatif. On distingue 3 stades différents : Le premier stade dure environ 10 semaines suivant la plantation. Il est caractérisé par une croissance assez lente et des besoins faibles en éléments minéraux. Le deuxième stade dure également 10 semaines et il est caractérisé par une croissance rapide et un début de production. Au cours de cette période les besoins en éléments minéraux sont importants. Le troisième stade, d'une durée de 10 à 15 semaines, présente une intense activité de croissance et de production (70% de la récolte totale). Durant cette période, la consommation en éléments minéraux est la plus forte. En général, la culture est ferti-irriguée. Les solutions nutritives adaptées présentent les équilibres respectifs suivants selon les stades cités : 1-1-1, 1-0,5-1,2 et 1-0,2-2,5. Une trentaine de kg d'azote sont donnés par décade/ha. Les autres éléments sont calculés en fonction de N.

### **I.13.1.6- Protection phytosanitaire**

La pépinière doit être bien entretenue : lutte contre les larves de noctuelle (insecticides à base d'Endosulfan, de Methomly ou de Methamidophos), contre les pucerons (Pirimicarbe, Isolane, Diméthoate, méthomly) et les rongeurs (appâts empoisonnés). Les traitements par des fongicides à base de manèbe, mancozèbe ou produits similaires pourront être utilisés pour éviter certaines attaques cryptogamiques. Il est recommandé de lutter contre les principaux agents pathogènes par des traitements préventifs. En particulier, la culture doit être protégée contre l'oidium, la pourriture grise (Botrytis Cinerea), les acariens en temps chaud, le mildiou, Rhizoctoria et le coup de soleil (en cas de fort effeuillage). Les produits de traitement sont disponibles sur le marché, les doses d'utilisation sont prescrites sur les emballages.

### **I.13.1.7- Récolte**

Les fruits sont fermement attachés à la plante, il est recommandé d'utiliser un sécateur ou un couteau pour effectuer la récolte. Celle-ci a lieu au stade fruits vert avant maturité pour les variétés en frais et en pleine maturité pour les variétés d'industrie (miora pour fabrication de paprika). La récolte doit être effectuée régulièrement afin de favoriser la fructification sur les

ramifications. Le nombre de cueillettes en vert peut atteindre 15-20 fois. Celui des cueillettes en rouge 2-3 fois. Le rendement varie beaucoup en fonction de la variété, de la région de production, du type de la culture et de son entretien. Il peut atteindre 20T pour 2-3 cueillettes, 40T pour la culture de plein champ et 80T pour la culture sous serre.

## **I.13.2- L'Aubergine**

### **I.13.2.1- La culture de l'aubergine**

L'aubergine est originaire d'Asie (Inde, Birmanie). Elle appartient à la famille des solanacées. C'est une culture très ancienne ; elle n'a pas connu de changements depuis 2-3 mille ans : les plantes décrites par les anciens auteurs sont presque les mêmes que celles que nous connaissons de nos jours.



### **I.13.2.2- Plante et importance de la culture au Maroc**

L'aubergine (*Solanum melongena*) est une plante vivace mais qui se comporte comme plante annuelle. Dans les pays tropicaux, c'est une plante vivace, sous forme d'arbuste. La qualité nutritive du fruit est moyenne ; elle est comprise entre celle du poivron et celle de la tomate. Au Maroc, la culture est pratiquée au Souss-Massa, Rabat, Gharb et un peu partout dans le pays. La production d'aubergines du Maroc a atteint 68.000 tonnes sur une surface cultivée de un peu plus de 2 400 hectares et un rendement moyen de 2,8 kilos d'aubergine par mètre carré,

en 2019, selon les données de Faostat, l'agence statistique de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO).

### **I.13.2.3- Exigences au milieu**

L'aubergine est relativement exigeante en éclaircissement, probablement au regard de son origine écologique. Elle est également exigeante en chaleur et s'avère très sensible au vent. En hiver, l'étiollement de la plante peut être maîtrisé par une taille adéquate et par une réduction de l'alimentation en eau et en azote. Cela explique son bon comportement en serre de zone très septentrionale comme en Hollande.

Ses exigences en eau sont importantes et nécessitent un dispositif d'irrigation (consommation estimée à 2,5 litres d'eau/plante à la fructification ; besoins évalués à 6000-7000 m<sup>3</sup>/ha). Zéro végétatif à 12-13°C (végétation) et 15°C (racines), croissance, production de pollen et fructification optimales entre 15 et 30°C. Une bonne nouaison est assurée en contre saison lorsque sont réunis les facteurs de fertilité florale (bonne production de pollen, utilisation de bourdons) ou existe une aptitude naturelle à la parthénocarpie (fructification sans fécondation). La préférence sera donnée aux sols profonds se réchauffant vite et se ressuyant bien. La plante a un bon comportement aux concentrations salines relativement élevées (2,5 g de NaCl pour 1000).

### **I.13.2.4- Variétés, semis et plantation**

Les variétés utilisées au Maroc sont diversifiées mais ne présentent pas de résistance à la plupart des maladies. La plus utilisée est la Black Beauty. La multiplication de l'aubergine se fait exclusivement par plant, même en culture de plein champ (saison ou primeur). Les plants doivent être produits en pépinière afin de réussir la culture. L'entretien de la pépinière est le même que pour le poivron. La graine est petite (200-250 graines/gramme). Le pouvoir germinatif se conserve 5 à 6 ans. Les dates de semis sont les suivantes :

- Culture d'arrière-saison (serre ou plein champ) : semis en Juillet.
- Culture de primeur (plein champ) : semis en Janvier-Février.
- Culture de saison (plein champ) : semis en Mars-Mai.
- Culture sous serres : semis en Octobre-Décembre.

L'installation de la culture est la même que pour le poivron. Les soins culturaux sont également les mêmes (préparation du sol, plantation, fumures, irrigation, fertigation, palissage, tuteurage, ébourgeonnage, traitements phytosanitaires ...etc.).

### **I.13.2.5- Travail du sol**

Le travail du sol consiste en un labour ou bêchage à 20-25 cm suivis de façons superficielles, mais limitées le plus possible. Actuellement, une technique est à l'étude (méthode Wens – Mussler) consistant à travailler le sol avec des outils à dents sur une faible profondeur (10-15 cm), en association avec une planche haute permanente.

### **I.13.2.6- Irrigation**

En plein champ ou sous abri plastique, il est recommandé d'apporter 50 % de l'ETP jusqu'au début de la floraison, 60 à 70 % au grossissement des premiers fruits puis 80 à 100 % de l'ETP ensuite. En raison de la sensibilité de l'espèce à l'asphyxie, l'irrigation par localisation est recommandée.

### **I.13.2.7- Fertilisation et désherbage**

La réussite de la fertilisation en aubergine repose sur le maintien d'une bonne activité biologique du sol (optimisation des 3 facteurs eau-air-température agissant sur les micro-organismes), de l'utilisation d'engrais et amendement de qualité, et sur une gestion des doses basée sur les analyses de terre et d'intrants.

La fumure organique sera apportée juste avant la plantation et incorporé superficiellement. En fonction des analyses de sol, on pourra apporter :

- 15 à 20 T/ha de compost (par exemple à base de fumier de bovin)
- 1 T/ha d'engrais organique complet type 6-3-13, une moitié à minéralisation rapide (à base de guano, fientes de volailles, farine de plume) et l'autre moitié à minéralisation lente (à base de corne ou de tourteau de ricin).

Cette fertilisation suffit pour couvrir les besoins de l'aubergine ; néanmoins, en cas de nécessité, un apport de 20-30 unités/ha d'azote à base de guano ou de vinasse de betterave (avec ce dernier produit, toujours faire suivre d'un arrosage) pourra être effectué.

Il est préférable de repiquer les plants sur paillage plastique, voire sur paillage tressé. Le paillage plastique peut avoir un effet thermique intéressant, que le paillage tressé n'aura pas. De plus, un peu de désherbage manuel sera nécessaire pour l'entretien des passe-pieds et des trous du plastique.

### **I.13.2.8- Ravageurs et maladies**

De nombreux ravageurs de l'aubergine s'attaquent également à la tomate. Néanmoins, l'aubergine y est nettement plus sensible. Parmi ces ravageurs, on trouve : les acariens, les aleurodes, les doryphores, les pucerons et les nématodes.

Afin de surveiller les vols de parasites, des panneaux jaunes englués dans la culture pourraient être installés ; ce type de piégeage permet de repérer très tôt les attaques et donc d'agir au bon moment. Avec des panneaux plus grands, et en battant les plantes, on peut également effectuer du piégeage curatif (aleurodes, thrips), mais cela entraîne aussi la destruction d'auxiliaires. Si des lâchers d'auxiliaires sont effectués, il ne faut utiliser aucun insecticide.

Pour éviter les maladies de l'aubergine, il faut toujours aérer correctement les serres (mieux vaut un excès d'aération qu'un manque) et éviter toute fertilisation azotée excessive.

### **I.13.2.9- Récolte**

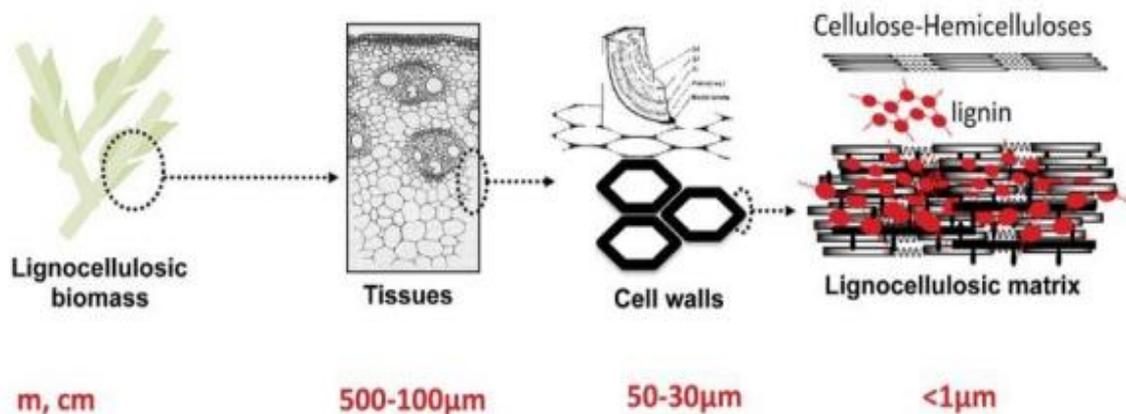
Les fruits sont fermement attachés à la plante ; il est recommandé d'utiliser un sécateur ou un couteau pour effectuer la récolte. Celle-ci doit être effectuée régulièrement afin de favoriser la fructification sur les ramifications. Le nombre de cueillettes peut atteindre 15-20 fois. Le rendement varie beaucoup en fonction de la variété, de la région de production, du type de la culture et de son entretien. Il peut atteindre 40 T pour la culture de plein champ et 80 -150 T pour la culture sous serre.

## **II. La biomasse lignocellulosique**

La biomasse lignocellulosique constitue le substrat pour la production des biocarburants de seconde génération. Elle est reconnue comme un substrat majeur de la bioreffinerie [181]. Elle comprend les déchets agricoles et forestiers, les bagasses, les molasses, les déchets municipaux et les déchets de l'industrie papetière, ainsi que les cultures énergétiques [182].

### **II.1- Notions de biologie végétale**

La plante peut être observée et étudiée à différentes échelles (Figure 7) : la plante, le tissu, la cellule végétale et la matrice lignocellulosique.



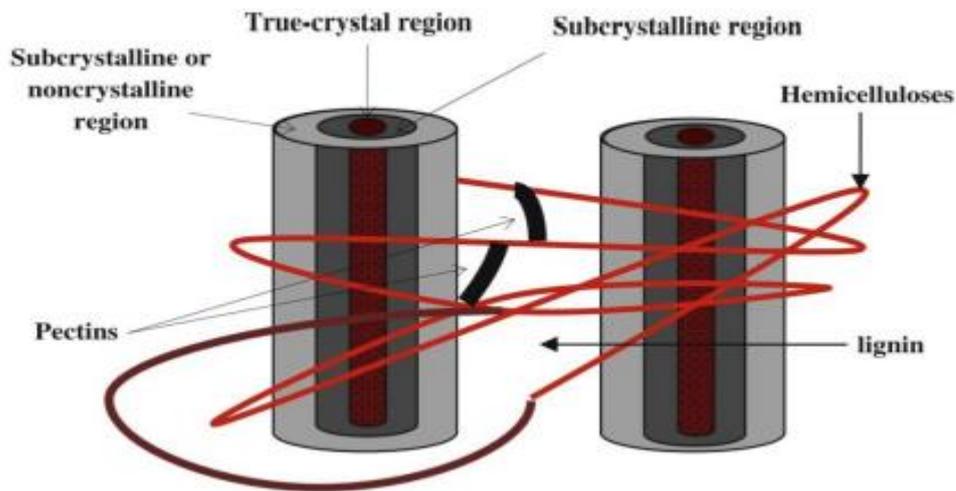
**Figure 7** : Les différentes échelles du végétal, [183].

Les cellules végétales se distinguent des cellules animales par leurs chloroplastes (siège de la photosynthèse) et leur paroi végétale. Cette paroi est composée de 3 composants majeurs : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine (ces deux premières peuvent être regroupées par le terme holocelluloses). Ces trois composants seront discutés dans la section suivante (II.2).

## **II.2- Les principaux constituants de la biomasse lignocellulosique**

### **II.2.1- La cellulose**

C'est un polymère constitué d'unités de D-glucose liées en liaisons  $\beta$ -1,4 et orientées à  $180^\circ$  l'une par rapport à l'autre [184]. Sa longueur de chaîne est déterminée par le degré de polymérisation correspondant ainsi au nombre d'unités liées entre elles pour former la chaîne macromoléculaire. Pour les macromolécules de cellulose insoluble ce degré est compris entre 100 et 20000 [185]. Une partie de ces chaînes sont empaquées latéralement en microfibrilles consolidées par des liaisons hydrogène inter et intramoléculaires et des liaisons de Van der Waals formant une structure microcristalline [186]. Cette structure ainsi formée est insoluble, résistante mécaniquement et insensible à l'hydrolyse biologique exceptée par les cellulases de certaines bactéries et champignons [187]. Les microfibrilles sont constituées de trois groupes de chaînes de glucose : les chaînes de vrais cristaux (chaînes centrales), les chaînes sous-cristallines (chaînes de transition) et les chaînes " sous-cristallines ou non cristallines " (chaînes de surface) (Figure 8). Les chaînes cristallines sont la partie la plus résistante de la cellulose pour l'hydrolyse chimique et biologique.



**Figure 8 :** Les différents parties cristallines d'une microfibrille de cellulose, de Karimi et al. (2013) [188].

La cellulose est le principal polymère porteur de la paroi cellulaire, la longueur, l'angle et la cristallinité des microfibrilles de cellulose sont des déterminants importants des propriétés physiques de la paroi cellulaire. Les régions amorphes de la cellulose se caractérisent, contrairement aux régions cristallines, par un assemblage aléatoire, désordonné et aléatoire des chaînes polymériques. Elles sont d'une grande importance en ce qui concerne les potentialités de dégradation de la cellulose, car elles sont beaucoup plus accessibles pour les enzymes cellulolytiques [189].

Atalia&Vanderhart (1984) [190] ont suggéré que la cellulose native est un mélange de deux unités cristallines différentes : la cellulose I $\alpha$  (avec une structure triclinique à une chaîne) et la cellulose I $\beta$  (une structure monoclinique à deux chaînes). La cellulose I $\alpha$  est dominante dans le coton, tandis que la cellulose I $\beta$  est dominante dans les lignocelluloses [188]. La cellulose I (ou cellulose native) est la forme naturelle et métastable de la cellulose [191]. Elle se caractérise par un arrangement parallèle des chaînes glucidiques. La cellulose II (arrangement des chaînes antiparallèle) est très rarement synthétisée de manière naturelle et peut être obtenue par des traitements chimiques de la cellulose I, tels que la mercerisation (traitement à la soude) ou la régénération (avec des liquides ioniques, par exemple). L'arrangement des chaînes est alors antiparallèle. La conversion de cellulose I en cellulose II est une réaction irréversible, nécessitant une étape de dissolution, de lavage et de recristallisation de la cellulose, ce qui entraîne une stabilité importante de la cellulose de type II. Dans le cadre des

prétraitements chimiques de la lignocellulose ayant pour but de faciliter son hydrolyse, il faut donc de veiller à ne pas se rapprocher des conditions de mercerisation de la cellulose [192].

### **II.2.2- Les hémicelluloses**

Ce sont des polysaccharides complexes à haute masse moléculaire, liés aux pectines et celluloses, présents dans les parois primaires et abondants dans les parois secondaires des parties lignifiées de la plante. Les hémicelluloses représentent entre 20% et 35% de la masse lignocellulosique. Ceux-ci incluent les hétéromannanes, xyloglucanes, hétéroxylanes et glucanes à liaisons mixtes [193]. Des unités uroniques sont également présentes. Les xylanes (polymères de xylose) sont les polysaccharides les plus abondants des hémicelluloses [187]. Le mannose est le monomère dominant dans les hémicelluloses de résineux car il est fortement acétylé et contient des groupes latéraux galactose, tandis que la xylose est dominante dans les feuillus et les résidus agricoles qui sont moins acétylés et contiennent des groupes latéraux arabinose [188]. La structure du xylane dépend du degré de substitution des chaînes linéaires xylose par les acides arabinose, hydroxycinnamiques et uroniques et de la masse molaire. Le type et la distribution de la substitution déterminent leur solubilité ainsi que leur capacité à se lier aux composants de la paroi cellulaire végétale [194].

Le xyloglucane est une hémicellulose abondante dans les parois cellulaires primaires qui réticulent les microfibrilles, directement ou indirectement [195]. Contrairement à la cellulose, les hémicelluloses ont des degrés de polymérisation inférieur (généralement 50-300), ont souvent des groupes de chaînes latérales et sont essentiellement amorphes (Pu et al. 2008)[196].

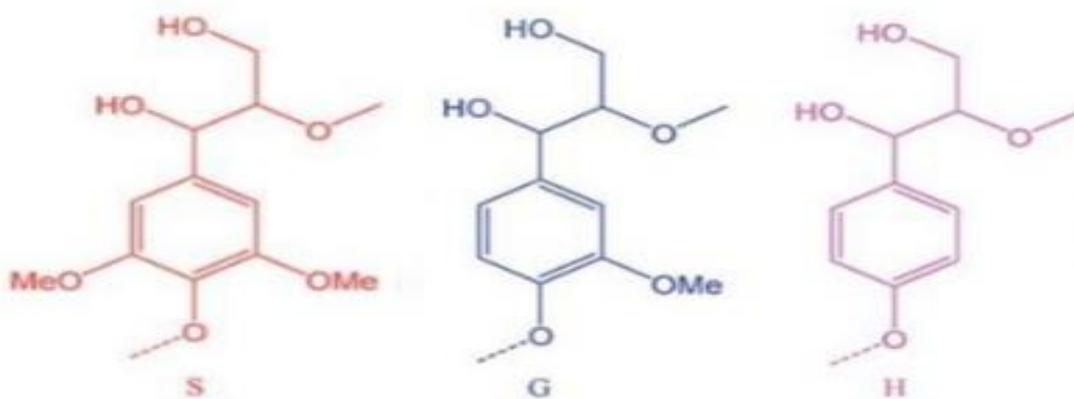
Les hémicelluloses sont fixées dans les parois cellulaires des plantes. Elles se lient à la cellulose avec la pectine pour former un réseau fibreux constitué d'hémicelluloses et de lignine qui sont liées de manière covalente par des complexes lignine-carbohydrates (LCC) [194](cf partie II.2.6).

### **II.2.3- La lignine**

La lignine représente près du quart de la masse carbonée de la biosphère. Les lignines sont des polymères aromatiques. Ce sont des polymères naturels multifonctionnels formés par combinaison oxydative de trois unités majeures C6-C3 (phénypropanoïdes) formant une structure aléatoire dans un réseau tridimensionnel par certaines liaisons inter-unités, telles que les liaisons  $\beta$ -O-4,  $\beta$ -5 et  $\beta$ - $\beta$  [197]. La liaison  $\beta$ -O-4 est la liaison la plus fréquente. C'est une

liaison dite « non condensée », une liaison éther faible qui est donc la cible des processus de dépolymérisation des lignines [198].

Les principaux éléments constitutifs de la lignine sont les alcools hydroxycinnamyles (ou monolignols), l'alcool coniférole et l'alcool sinapyle, avec des quantités généralement mineures d'alcool p-coumaryle. Les unités résultant des monolignols, lorsqu'elles sont incorporées dans le polymère de lignine, sont appelées unités guaiacyle (G), syringyle (S) et p-hydroxyphényle (H) [199] (Figure 9). Les proportions de lignines G, S et H dans les lignines sont de 35, 61 et 4% pour les tiges de maïs, 49, 46 et 5% pour la paille de blé [200].

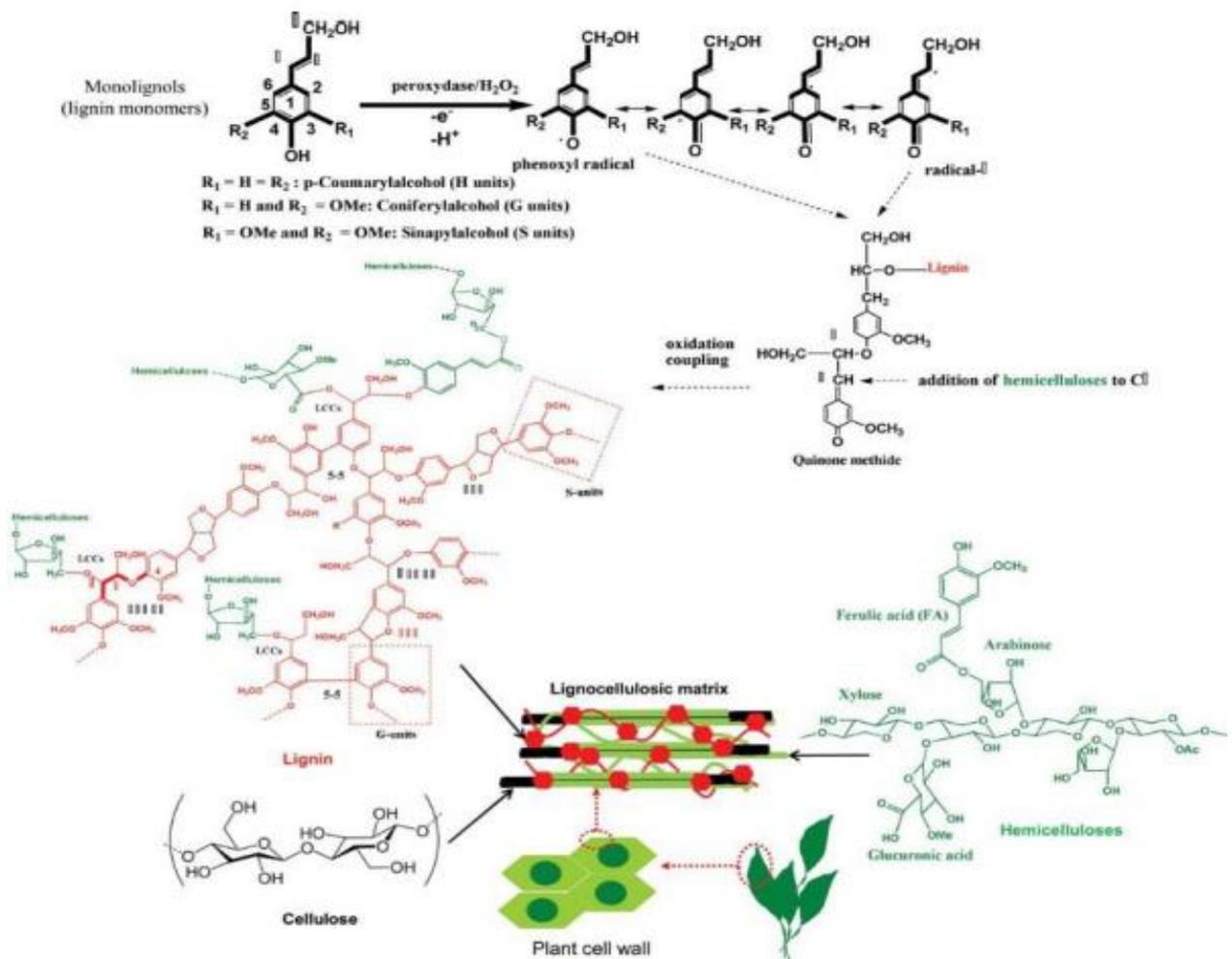


**Figure 9 :** Composition typique des unités de la lignine, adaptée de Min et al. [201].

La lignine renforce les parois cellulaires des plantes supérieures terrestres et se rencontre surtout dans les tissus vasculaires où son hydrophobicité est responsable de l'étanchéité et apporte à la fois une plus grande résistance et une rigidité accrue [187]. Elle joue un rôle important dans l'accès aux holocelluloses [202]. Insoluble et donc facilement biodégradable, la lignine ne contribue donc pas à la production de méthane mais doit être dégradée pour que les enzymes puissent dégrader la cellulose et les hémicelluloses. De plus, elle n'est pas seulement déposée dans les polysaccharides de la paroi cellulaire, mais elle est liée aux holocelluloses par certaines liaisons chimiques, telles que les liaisons R-éther, les liaisons phénylglycosidiques, les liaisons acétal et les liaisons ester. Par conséquent, la lignine est liée à d'autres composants de la paroi cellulaire par des liaisons ester et éther, y compris des ponts d'acide férulique pour former un réseau de glucides phénoliques par des liaisons esters dans des parois secondaires [203].

Les liaisons forment des complexes lignine-carbohydrates (LCC, détaillés dans la section II.2.6) qui sont des obstacles à une bioconversion efficace de la paille en biogaz [197].

La diversité dans laquelle la lignine est impliquée renforce encore sa structure et sa robustesse de résistance. La différence de teneur en lignine entre les différentes couches de paroi est le résultat des voies uniques de synthèse de la lignine au cours du développement des plantes. En effet, la lignification constitue la dernière étape de la division cellulaire, de l'expansion et de l'allongement avant la mort cellulaire (Figure 10). Les monomères de lignine sont biosynthétisés à l'intérieur de la membrane cellulaire puis transloqués vers la paroi cellulaire par des mécanismes qui ne sont pas encore entièrement compris [204].



**Figure 10 :** schéma simplifié de la lignification, de l'organisation supramoléculaire et de la composition de la paroi végétale [194].

Grâce à l'utilisation de deux composites différents de lignine (soit G, soit GS), Barakat, Gaillard, et al. (2014) démontré que la lignine de type GS est différente d'une lignine de type G. Les ensembles Cellulose-Xylane-LGS et Cellulose-Xylane-LG peuvent donc être utilisés comme modèles pour les plantes herbacées et ligneuses. La seule différence entre les monomères de lignine G et S est la substitution par un groupe méthoxyle en position ortho

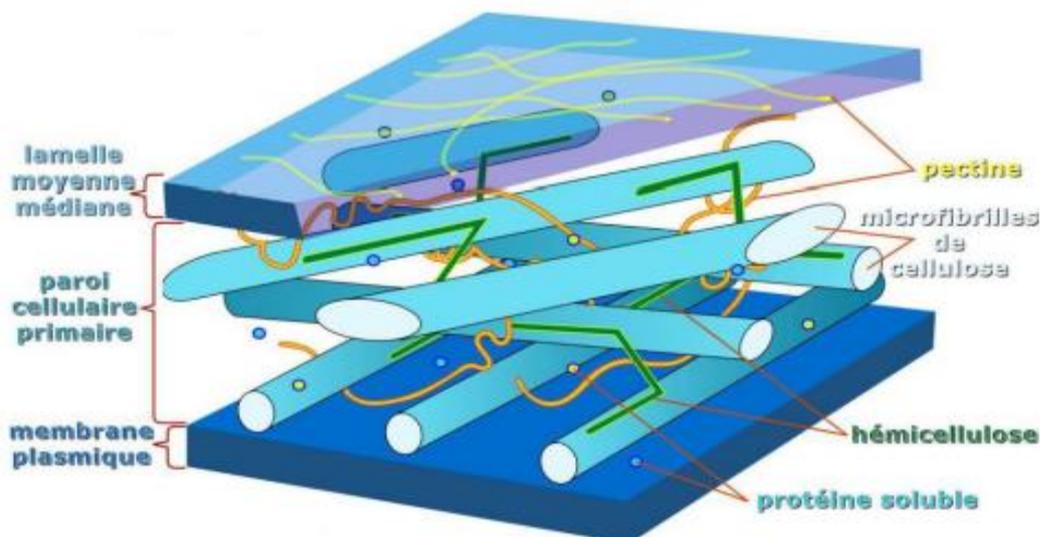
dans la lignine-S. Le groupe méthoxyle permet de bloquer les sites intermonomériques de couplage et de modifier la distribution électronique. Cette réactivité facilite la formation de liaisons  $\beta$ -O-4 qui limitent la ramification des chaînes et augmentent le poids moléculaire et la densification des polymères formés dans le cas de la lignine-S et donc une plus solide interaction avec les polysaccharides limitant ainsi la bioaccessibilité de la matière.

Dans les bioraffineries, les lignines sont valorisées de différentes façons : vanilline, acide férulique, lignanes optiquement actifs et monolignols [205].

#### **II.2.4- Les extractibles**

Au sein des extractibles, les cendres comprennent certains composés inorganiques tels que Ca, K, Si peuvent atteindre des teneurs de l'ordre de 20% des matières sèches [206]. Ses composés comprennent également des sucres solubles, des enzymes et des protéines (expansines, endoglucanases) [207]. Les pectines, polysaccharides les plus complexes et hétérogènes de la paroi cellulaire, existent principalement dans la paroi cellulaire primaire et jouent un rôle dans l'expansion, la résistance, la porosité, l'adhésion et la signalisation intercellulaire [208].

Le tout (cellulose, hémicelluloses, lignine et extractibles) forme une structure complexe, évolutive : la paroi végétale primaire (Figure 11).



**Figure 11:** Organisation de la paroi végétale primaire, adapté de Wertz & Bédoué (2013) [207].

#### **II.2.5- Evaluation du potentiel méthane des différents composés de la biomasse lignocellulosique**

Selon Li et al. (2018)[209], le BMP de la cellulose était supérieur à celui des hémicelluloses (cellulose microcristalline :  $251 \pm 9$  mL CH<sub>4</sub> .g VS<sup>-1</sup>), α-cellulose :  $242 \pm 8$  mL CH<sub>4</sub> .g VS<sup>-1</sup>, xylan :  $203 \pm 3$  mL CH<sub>4</sub> .g VS<sup>-1</sup>, glucomannane :  $179 \pm 6$  mL CH<sub>4</sub> .g VS<sup>-1</sup> et arabinogalactane :  $224 \pm 5$  mL CH<sub>4</sub> .g VS<sup>-1</sup>). Cependant, les hémicelluloses étaient hydrolysées plus rapidement que la cellulose et la lignine était très difficile à digérer. Les auteurs démontrés que la BMP inférieure des hémicelluloses par des concentrations plus élevées d'acides acétique, n-butérique et n-valérique hydrolysés à partir de ces dernières, ayant entraîné une baisse de pH et donc une inhibition plus sévère de la production de méthane que celle de la cellulose. La méthanogénèse est progressivement rétablie après ajustement du pH. De plus, par rapport aux mono-digestions, l'ajout d'hémicelluloses à de la cellulose a augmenté le rendement en méthane et la biodégradabilité. L'ajout de lignine à la cellulose a réduit le rendement en méthane de la cellulose plus que celui aux hémicelluloses Buffière et al. (2006) ont montré un lien entre le potentiel en méthane de divers résidus lignocellulosiques et la somme de leur teneur en cellulose et en lignine : plus la somme de la cellulose et de la lignine est élevée, plus le BMP est faible [210]. Le rôle de barrière de la lignine est bien connu. (Berlin et al. 2006) ont observé que les complexes cellulases sont plus fortement inhibées que les xylanases par de la lignine purifiée [211]. Les hémicelluloses absorberaient les monolignols de la lignine via des interactions hydrophobes [212]. Cette absorption peut bloquer l'accès des enzymes aux hémicelluloses. Cependant, l'adsorption des hémicelluloses sur la cellulose forme des complexes avec un taux d'hydrolyse élevé mais inférieur à celui des hémicelluloses seules [213]. Les hémicelluloses se dégradent plus facilement que la cellulose dans des conditions anaérobies [214].

### **II.2.6- Facteurs influençant la composition de la biomasse lignocellulosique**

La cellulose est le composé de la paroi végétale le plus abondant, représentant 30 à 70 % de la biomasse lignocellulosique, tandis que les hémicelluloses et la lignine représentent 25 à 35% et 10 à 25 % de la biomasse, respectivement [189]. Leurs quantités relatives, et donc la composition de la biomasse, dépendent essentiellement de la nature du substrat (feuillu, résineux et herbacé) [215].

Par ailleurs, pour une biomasse donnée, divers facteurs peuvent interférer avec la composition des parois végétales et des liaisons. En effet [216] ont montré que le nombre de liaisons ester varie entre les différents génotypes de miscanthus. (Godin et al. 2013) [217] ont montré que la composition biochimique dépend du moment de la récolte. Habituellement, plus cela est retardé, moins l'enzyme est digestible en raison de l'augmentation de la teneur en cellulose et

en lignine. Motte et al. (2014) ont étudié les différentes fractions morphologiques de la paille de blé (nœuds, feuilles, entre-nœuds, rachis et balle) [218]. Leurs variations des teneurs en carbone et en azote sont statistiquement significatives, ce qui a fortement influencé le ratio C/N. Les entre-nœuds de la paille de blé sont le constituant massique majeur avec des teneurs en lignine et cellulose élevées. Les hémicelluloses et solubles sont plus dans le rachis. Les nœuds, par leur teneur élevée en lignine, ont le plus faible potentiel méthane ( $140 \text{ NmL.g VS}^{-1}$ ) ainsi que pour les entre-nœuds ( $148 \text{ NmL.g VS}^{-1}$ ). Ces auteurs suggèrent que pour étudier les relations entre la composition biochimique d'une biomasse et de son potentiel méthane, d'autres pistes doivent être explorées comme leurs propriétés structurales à l'échelle du tissu.

Les conditions de culture ont également un impact. Par exemple, une irrigation qui favorise la production de la biomasse et donc produit une lignification des tiges qui seront plus grandes que pour des plants non irrigués et donc qui seront moins lignifiées car le soutien devra être moins important [219]. De même, lorsque le substrat utilisé est une culture énergétique, intermédiaire ou principale, le but est de produire un maximum de méthane par unité de surface (maximum de rendement en biomasse, maximum de rendement en biogaz et concentration en méthane la plus élevée). Cela dépend de la culture, de son génotype de la période de récolte et de la composition en nutriments [220].

Le Tableau 10 indique la composition biochimique de différents types de biomasses lignocellulosiques contrastées.

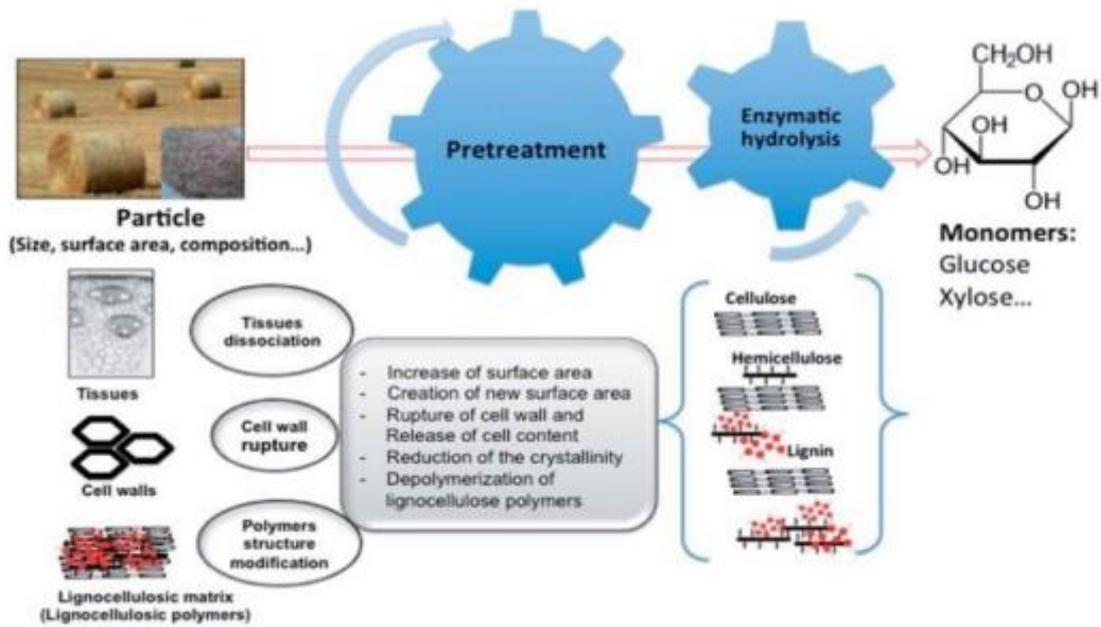
<b>Biomasse lignocellulosique</b>	<b>Cellulose (%MS)</b>	<b>Hémicelluloses (%MS)</b>	<b>Lignine (%MS)</b>
<b>Sycomore américain</b>	37.2 - 41.8	17.6 - 19.6	25.0 - 27.3
<b>Pin</b>	42.0 - 50.0	24.0 - 27.0	20.0
<b>Bagasse de canne à sucre</b>	31.9 - 43.4	12.2 - 25.5	23.1 - 27.6
<b>Paille de riz</b>	29.2 - 34.7	23.0 - 25.9	17.0 - 19.0
<b>Tige de maïs</b>	30.6 - 38.1	19.1 - 25.3	16.7 - 21.3
<b>Paille d'avoine</b>	31.0 - 35.0	20.0 - 26.0	10.0 - 15.0
<b>Graminées</b>	25.0 - 40.0	35.0 - 50.0	10.0 - 30.0
<b>Déchets papeterie</b>	60.0 - 70.0	10.0 - 20.0	5.0 - 10.0
<b>Fumier bovin</b>	1.6 - 4.7	1.4 - 3.3	2.7 - 5.7

**Tableau 10:** Composition biochimique de différents types de biomasses lignocellulosiques, d'après Harmsen et al. (2010)[215] et Mussato (2016) [206].

### III. Les différents prétraitements de la biomasse lignocellulosique

#### III.1-Généralités

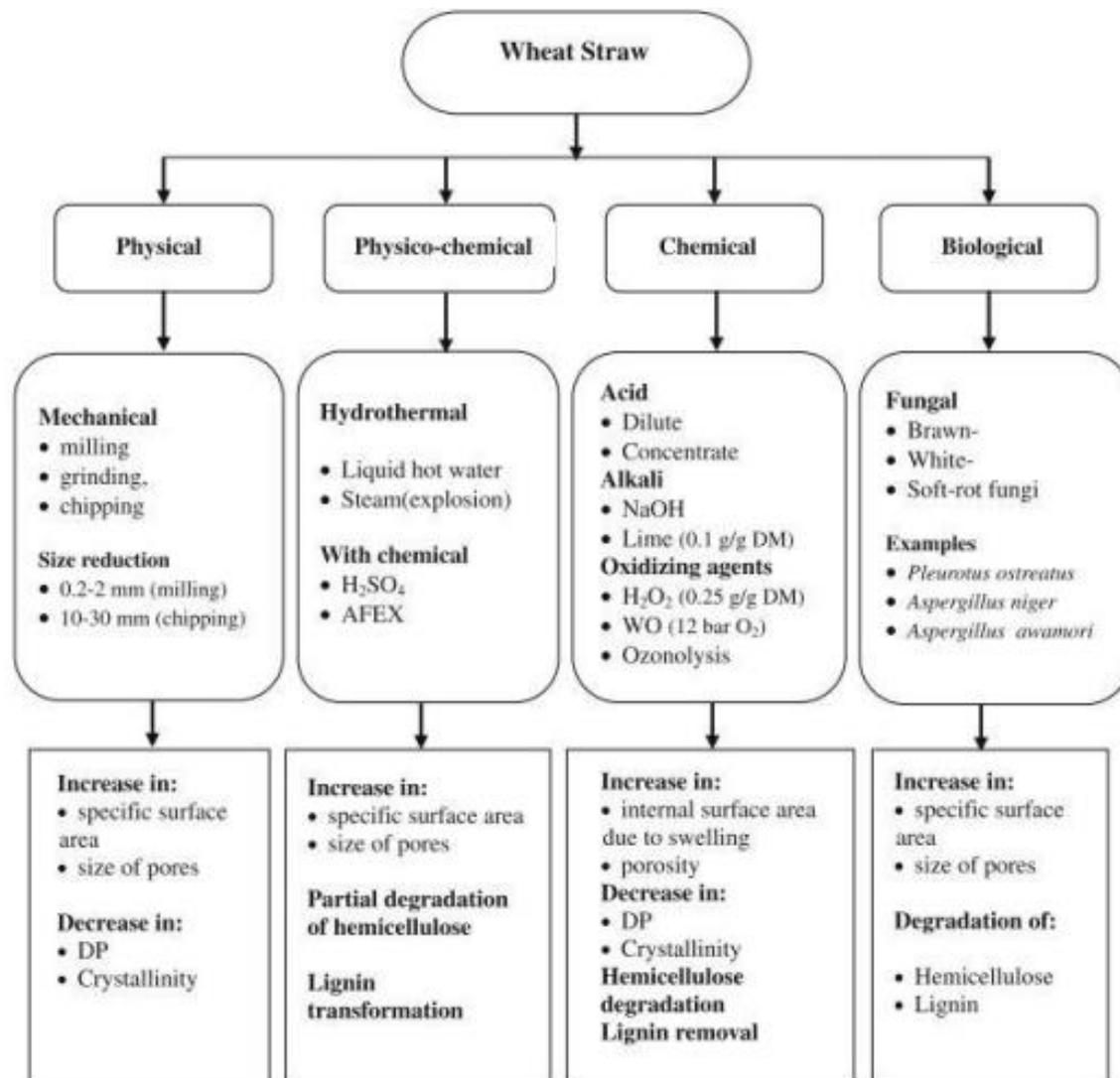
Le prétraitement de la biomasse pour la dépolymérisation des composés lignocellulosiques en sucres fermentescibles est étudié depuis de nombreuses années. Leurs utilisations varient selon le produit visé. Lors de la saccharification (pour la production d'éthanol par exemple), le but est d'isoler la cellulose de la lignine et des hémicelluloses pour avoir de bons rendements lors de l'hydrolyse enzymatique. Pour la production d'H<sub>2</sub> en fermentation sombre, l'objectif est de solubiliser les sucres. En ce qui concerne la production de CH<sub>4</sub> par DA, les objectifs sont de délignifier via la rupture des liaisons lignines-carbohydrates, réduire la cristallinité de la cellulose et augmenter la surface et la taille des pores [221]. Cela induit des changements physico-chimiques, structuraux et biochimiques [222], (Figure 12). Les conversions chimiques, physico-chimiques et biochimiques sont les technologies les plus prometteuses pour dépolymériser la biomasse lignocellulosique en sucres fermentescibles [223].



**Figure 12 :** Différentes étapes de conversion de la biomasse et paramètres influençant l'activité des particules lignocellulosiques, adapté de Barakat, Mayer, et al. (2014)[224].

### III.2- Technologies de prétraitements

Pour améliorer le potentiel méthane, de nombreux prétraitements sont étudiés : physiques (ex : broyage), chimiques (ex : acides, alcalins), thermiques (ex : explosion à la vapeur), thermochimiques et biologiques (ex : flore fongique) [225]. Les principaux sont présentés par la Figure 13 en prenant l'exemple de la paille de blé.



**Figure 13 :** Les prétraitements les plus communs utilisés sur la paille et leurs effets possibles (DP, degree of polymerization; WO, wetoxidation), adapté de Talebnia et al. (2010)[226].

### III.2.1-Prétraitements physiques

Ce type de prétraitement vise à augmenter la surface spécifique, à réduire le degré de polymérisation de la cellulose ainsi que sa cristallinité.

#### III.2.1.1-Mécanique

La taille des particules a un effet sur la biodégradabilité des substrats solides [227]. En effet, le broyage sur les résidus solides a un effet généralement positif sur la cinétique car ce type de prétraitement permet souvent d'augmenter la surface spécifique de la matière organique, augmentant ainsi la surface de contact pour les micro-organismes. Cependant, l'impact sur le potentiel méthanogène dépend de la nature du substrat, principalement de sa biodégradabilité initiale [228].

### **III.2.1.2-Thermique**

Les prétraitements thermiques impliquent l'utilisation de hautes températures ( $> 100^{\circ}\text{C}$ ) sous des pressions parfois importantes. Selon le refroidissement appliqué, plusieurs processus peuvent être distingués : en effet, une chute de pression rapide a la particularité de faire exploser le tissu lignocellulosique. En règle générale, la chaleur perturbe les liaisons chimiques de la paroi des membranes cellulaires et induit une solubilisation des hémicelluloses puis de la lignine et une réduction de la cristallinité de la cellulose, rendant la cellulose plus accessible à l'attaque des enzymes [229].

Les prétraitements hydrothermiques consistent en la dégradation thermique de la cellulose et des hémicelluloses avec l'eau comme « milieu d'extraction » [230]. Le prétraitement hydrothermal (HTTP) ou encore appelé « Liquid hot waterpretreatment» se réalise à des températures et pressions élevées :  $160\text{--}260^{\circ}\text{C}$ ,  $0.69\text{--}4.83\text{ MPa}$ , pendant une courte durée (quelques secondes à plusieurs minutes). Il peut également être réalisé à température ambiante et pression normale mais pendant une durée relativement longue. Ces conditions évitent la corrosion et la formation de coproduits mais requièrent une énergie importante [231]. Le chauffage hydrothermal entraîne la solubilisation et à l'altération de la lignine ainsi qu'à la solubilisation des holocelluloses [232].

Le prétraitement par explosion à la vapeur consiste en le traitement de la biomasse avec de la vapeur saturée à haute pression suivi d'une réduction rapide de la pression de la vapeur pour obtenir une décompression explosive. Ce procédé conduit à deux phases. La phase aqueuse (hydrolysat) contient principalement de la xylose et du glucose, du mannose, de l'arabinose et du galactose solubilisés à partir d'hémicelluloses. La fraction solide humide est enrichie en lignine et cellulose [233].

### **III.2.1.3-Micro-ondes**

Contrairement au prétraitement thermique, ce type de prétraitement ne repose pas sur la conduction régie par un gradient de température mais par chauffage électromagnétique dû à la rotation des dipôles moléculaires [234]. Par conséquent, son effet n'est pas seulement thermique.

### **III.2.1.4-Extrusion**

L'extrusion est un processus (thermo)mécanique qui applique de grandes forces de compression et de cisaillement à un matériau. L'agencement des différents pas, longueurs,

angles de décalage, positions et espacements définissent une configuration de vis [235]. Ainsi, cela conduit donc à une multitude de paramètres qui peuvent affecter l'efficacité du prétraitement et son adaptabilité aux propriétés de la biomasse prétraitée.

### **III.2.2-Prétraitements thermochimiques**

Les agents chimiques les plus couramment utilisés sont les acides ou les alcalins. Les premiers sont reconnus pour dissoudre les sucres, les deuxièmes pour décomposer la lignine.

#### **III.2.2.1-Prétraitements acides**

Les agents acides sont utilisés pour solubiliser les carbohydrates, déstructurer la lignine insoluble et les séparer de la lignine insoluble [236]. La principale réaction qui se produit est l'hydrolyse des hémicelluloses, en particulier du xylane, puisque le glucomannane est plus stable [237]. Néanmoins, les prétraitements acides conduisent à la formation possible de composés inhibiteurs tels que le furfural provenant des hémicelluloses ainsi qu'à la précipitation de la lignine solubilisée. Ce phénomène est d'autant plus prononcé lors de l'utilisation d'acides concentrés [238]. Les acides les plus utilisés sont  $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$ ,  $HNO_3$  et  $HCl$ . Ils nécessitent une température (60-190°C) et une pression élevée pour être efficaces [239].

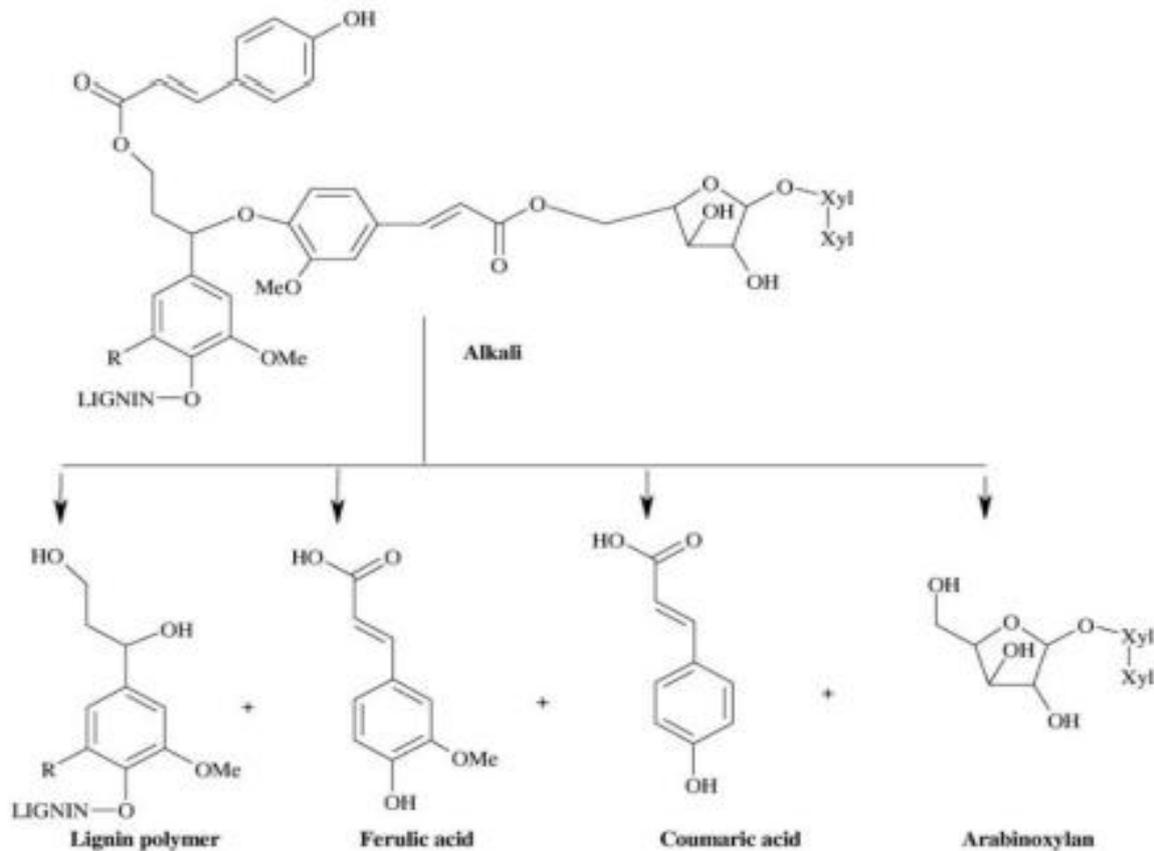
Le prétraitement à l'acide dilué est également le procédé le plus efficace pour les lignocelluloses et il génère moins de produits de dégradation que les prétraitements à l'acide concentré.

#### **III.2.2.2-Prétraitements alcalins**

Les prétraitements alcalins sont efficaces pour la dégradation de la lignine, augmentant l'accessibilité des enzymes à la cellulose et aux hémicelluloses [240](Figure 14). En effet, ce type de prétraitement permet la saponification des ponts uroniques entre les hémicelluloses et la lignine, le gonflement des fibres ainsi que l'augmentation de la taille des pores facilitant ainsi la diffusion des enzymes hydrolytiques.

Les bases utilisées sont la soude, la chaux, la potasse et l'hydroxyde d'ammonium [241]. Alternativement, la solution alcaline peut être récupérée par séparation liquide-solide pour ensuite être réutilisée pour l'ajustement du pH. Ceci ne pouvait pas être réalisé avec les acides car leur neutralisation serait nécessaire avant la DA [236]. En général, les prétraitements alcalins dissocient principalement les polymères de la paroi en extrayant les férulates liés aux hémicelluloses et à la lignine réticulée [242]. La cellulose, bien qu'insoluble dans l'eau, a un

caractère hydrophile : la fixation de très nombreuses molécules d'eau entraîne donc son gonflement. De plus, les agents alcalins peuvent cliver le composant ester des ponts éther formés entre l'acide férulique lignine (via phénylpropane), libérant ainsi la lignine des carbohydrates et de l'acide férulique en faible quantité [243].



**Figure 14 :** Clivage du complexe lignine/phenolique-carbohydrates de maïs par un agent alcalin de Y. & D.J. (1985) et adapté par Buranov&Mazza (2008)[243].

L'effet des réactifs alcalins est influent. Après cela, seuls les prétraitements alcalins à la soude et à la chaux seront développés. Il a été démontré que la soude a un meilleur effet sur la chaux ou la potasse sur la biomasse lignocellulosique, quelle que soit la température appliquée lors du prétraitement [240]. Idem pour le nombre équivalent de moles dans  $\text{OH}^-$  [244]. Cependant, pour une réflexion globale, il faut prendre en compte le prix du réactif ainsi que sa capacité à se propager à travers les digestats.

### III.2.2.2.1-Comportement des sucres en milieu alcalin

Lors de la dégradation alcaline des monosaccharides en solution aqueuse, les produits de réaction sont composés principalement de nombreux acides sacchariniques ( $\leq \text{C6}$ ). Des

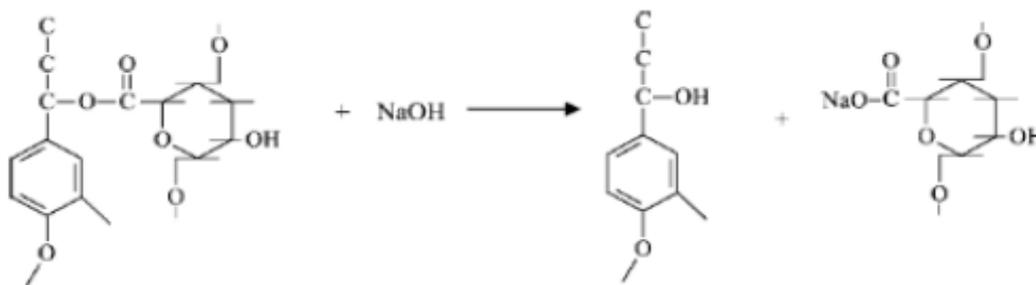
composés de poids moléculaire plus élevé (>C6) et divers composés carbonylés insaturés non acides et cycliques sont également formés en petites quantités [245].

La dégradation alcaline est initiée à l'extrémité réductrice des sucres, ce qui entraîne la conversion du résidu en hydroxyacides. La dégradation alcaline du glucose entraîne la formation d'un mélange d'hydroxyacides dont la composition varie en fonction du métal alcalin, de la température et de la concentration des réactifs [246].

### III.2.2.2-Prétraitement à la soude

Le prétraitement à l'hydroxyde de sodium est étudié depuis les années 1900, dans le but initial d'augmenter la digestibilité de la cellulose chez les animaux du rumen [241].

Ce réactif induit la saponification des liaisons ester présentes entre la lignine et les carbohydrates (Figure 15). Cela induit la série suivante de solubilisation : hémicelluloses > lignine >> cellulose [236]. L'ordre de réactivité des sucres vis-à-vis de l'action de la soude pour leur solubilisation est, d'après [247] : fructose > glucose > mannose.



**Figure 15 :** complexe lignine-carbohydrates réagissant avec la soude, d'He et al. [197].

En général, les conditions de prétraitement à la soude à appliquer sont : la température comprise entre 10 °C et 200 °C, les concentrations de NaOH entre 0,1 % et 10 %, et les temps de contact compris entre quelques minutes et 5 jours et diminuent généralement avec l'augmentation de la température de prétraitement [248].

Des prétraitements à la soude sur des sorghos fourragers et sucriers ont déjà été réalisés à des concentrations de 4 et 10 g NaOH/100g TS avec une concentration en matières sèches de 35g TS/L, à 55°C, pendant 12 h sous agitation. Ce prétraitement permet une solubilisation partielle des holocelluloses et de la lignine. L'effet est une augmentation entre 40% et 64% de la cinétique de méthanisation suite à la solubilisation des hémicelluloses et cellulose mais aucun effet positif sur le rendement en méthane en test BMP [249].

Une autre étude du même auteur a été réalisée pour les mêmes concentrations que précédemment mais à 40°C et 55°C pour des temps de contact de 12 h et 24 h avec du sorgho fourrager ensilé. Comme précédemment la solubilisation de la matière a été augmentée et l'augmentation de la température et du temps de contact permettent une amélioration de la cinétique [248].

Cependant, l'utilisation de la soude présente un inconvénient majeur. Si le prétraitement est intégré dans une chaîne de valorisation, y compris la DA, le retour au sol du digestat issu de la digestion d'un substrat prétraité à la soude peut représenter un risque de pollution des sols au sodium [235].

### **III.2.2.2.3-Prétraitement à la chaux**

Un ajout de CaO ou de Ca (OH)<sub>2</sub> a été testé sur différents substrats lignocellulosiques et s'est avéré particulièrement efficace pour augmenter la biodégradabilité des substrats à haute teneur en lignine [250]. Dans une autre étude, la chaux a été utilisée sur des tiges de tournesol à une concentration de 4g.100g TS<sup>-1</sup>, à des températures de 30°C, 55°C et 80°C pour un temps de contact de 24 h. A 55°C, la constante de cinétique de l'hydrolyse a été augmentée de 5% et le BMP de 26%. La lignine a été dégradée de 30% [251].

Son utilisation est limitée car certains résultats publiés ont montré que la chaux vive est moins capable d'éliminer la lignine que la soude ou la potasse. Ce fait pourrait être dû à sa faible solubilité. De plus, la formation d'un complexe calcium-lignine est possible. En effet, les ions calcium possédant deux charges positives ont tendance à se réticuler dans des conditions alcalines à lignine chargée négativement et donc à ioniser les groupes fonctionnels, empêchant une dégradation accrue de la lignine [240].

### **III.2.2.3-Prétraitements oxydants**

Le prétraitement oxydant implique l'ajout d'un oxydant tel que le peroxyde d'hydrogène ou l'acide peracétique à la biomasse en suspension dans l'eau. Lors du prétraitement oxydatif, plusieurs réactions peuvent se produire, comme la substitution électrophile, le déplacement des chaînes latérales, le clivage des liaisons alkyl aryl éther ou le clivage oxydatif des noyaux aromatiques. Dans de nombreux cas, l'oxydant utilisé n'est pas sélectif et il peut donc se produire une perte d'hémicellulose et de cellulose. Il existe un risque élevé de formation d'inhibiteurs, car la lignine est oxydée et dissoute en composés aromatiques [238].

L'un des procédés de prétraitement oxydatif les plus connus est l'ozonation qui permet une dégradation sélective de la lignine en réagissant préférentiellement avec les composés oléfiniques, aromatiques et phénoliques en raison de leur densité électronique. La réactivité et les voies de réaction de ces composés varient en fonction des substituants [252].

#### **III.2.2.4-Prétraitements liquide ionique**

Les liquides ioniques sont des sels qui ont la particularité d'être liquides à température relativement basse. Ce type de prétraitement repose sur la perturbation des liaisons hydrogène intermoléculaires et intramoléculaires de la cellulose, qui sont principalement remplacées par des liaisons hydrogène entre l'anion et les protons hydroxyles glucidiques. La cristallinité est diminuée et la surface spécifique augmentée. Une addition d'anti-solvant est toutefois nécessaire pour récupérer la cellulose [253]. Ce prétraitement, selon les conditions d'utilisation, peut également conduire à la conversion de la cellulose I en cellulose II [222].

#### **III.2.2.5-Prétraitement AFEX**

Le prétraitement AFEX (AmmoniaFiberEXplosion) est l'un des prétraitements thermochimiques les plus utilisés en amont de la saccharification de la biomasse. Il repose sur le même principe que celui par explosion à la vapeur. Il s'agit d'un traitement de la biomasse à la vapeur, la biomasse étant, dans ce cas, en contact avec de l'ammoniaque liquide. Il est ensuite récupéré dans la vapeur, permettant sa réutilisation. AFEX améliore considérablement la digestibilité de la paroi cellulaire sans éliminer la lignine ou les hémicelluloses dans des flux liquides séparés et produit un substrat facilement fermentescible et ne nécessitant aucun post-traitement [254].

#### **III.2.2.6-Les prétraitements de type OrganoSolv**

Ce type de prétraitement agit sur la lignine et les hémicelluloses en dissolvant la première et une partie de la seconde, et en laissant la cellulose en phase solide. C'est une scission solvolytique des liaisons éther dans la lignine et des liaisons hémicelluloses-lignine par un solvant organique ou aqueux organique à haute température (100-250 °C). Les solvants les plus couramment utilisés dans ce procédé sont le méthanol, l'éthanol, l'acétone, les alcools à point d'ébullition élevée et les acides organiques (comme l'acide formique et acétique). La vitesse de délignification dépend du solvant utilisé [255].

### **III.2.3-Prétraitements biologiques**

Ce type de prétraitement présente plusieurs avantages : un coût raisonnable, le respect de l'environnement et leur applicabilité à une large gamme de matières premières. Ils peuvent être divisés en trois catégories : enzymatique, anaérobie et aérobie [256].

Différents types de champignons peuvent être utilisés, qui sont divisés en différents groupes selon leurs caractéristiques macroscopiques, leurs variétés et leurs espèces. La pourriture brune ou pourriture cubique, de couleur brune caractéristique et de décomposition en masse, participe principalement à la destruction de la cellulose et de l'hémicellulose dans des conditions de température et d'humidité élevées. La performance et la virulence des champignons de la pourriture blanche dans la dégradation du bois sont d'un grand intérêt. En effet, seules les pourritures blanches minéralisent complètement la matière lignocellulosique. Néanmoins aucun micro-organisme n'est capable d'utiliser la lignine comme seule source de carbone et d'énergie et il est donc généralement admis que la dégradation de la lignine est nécessaire aux micro-organismes pour pouvoir accéder à la cellulose et aux hémicelluloses. Ils nécessitent une humidité élevée et une chaleur importante. Leur attaque est aérienne. La pourriture molle regroupe des champignons aérobies supportant des humidités élevées (>50 %), des chaleurs élevées (50°C) et des sécheresses saisonnières. Ils causent le ramollissement du bois ainsi que sa coloration noirâtre [257]. Cependant, durant le prétraitement, une quantité négligeable de sucres a pu être utilisée et donc conduire à des pertes de potentiel méthane [258].

L'ensilage, en plus d'être un moyen de stockage pour compenser les variations saisonnières, pourrait être un prétraitement augmentant le rendement en méthane [259] même si la teneur en MS diminue [260]. Il se réalise en conditions humides et anaérobies favorisant ainsi les fermentations lactiques et acétiques.

### **III.2.4-Facteurs pouvant influencer l'efficacité d'un prétraitement**

#### **III.2.4.1-Impact de l'humidité (teneur en MS)**

C'est un paramètre peu souvent pris en considération pour l'optimisation. Cependant, c'est un paramètre significatif. En effet, plus la concentration en substrat est élevée (donc le faible taux d'humidité), plus la masse sera faible et donc le coût de prétraitement, notamment lors du prétraitement thermique [261]. Dans cette étude, les auteurs ont trouvé une corrélation entre la teneur en MS d'un prétraitement à basse température (60 et 80°C) et le rendement en méthane.

Ils suggèrent que teneur en MS optimisée (ou une humidité correcte) aurait pu favoriser une meilleure distribution des enzymes et un meilleur transfert de masse, ce qui aurait finalement augmenté le rendement en méthane. De même, dans un prétraitement acide ou basique effectué à la même concentration à différentes concentrations de MS, la "dilution" des réactifs sera différente, entraînant des conditions de pH différentes ensemble.

#### **III.2.4.2-Impact de la composition biochimique**

Comme discuté dans la section II.2.7, les effets du prétraitement peuvent varier car la composition biochimique de la biomasse varie avec les conditions de culture, du génotype, du tissu choisi, etc. Vandenbrink et al. (2013)[262] ont montré que l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique variait d'un type de tissu à l'autre (feuilles ou tiges) et d'un génotype à l'autre.

#### **III.2.4.3-Impact de la granulométrie**

Peces et al. (2015)[261] ont signalé qu'il n'y avait pas de différence significative entre les productions de méthane de différentes fractions de grains d'orge brassé (5-2mm, 2-1 mm et inférieur à 1 mm). Ces auteurs ont émis l'hypothèse que la fraction 5 mm était déjà une petite taille suffisante. Cela a également été observé sur les productions de méthane et cinétiques de différentes fractions de sorgho ensilé comprises entre 2 mm et 0,25 mm [263].

#### **III.2.4.4-Impact des conditions de chauffage**

Parmi différentes conditions de chauffage utilisées lors de prétraitements alcalins (micro-ondes, autoclave et bain-marie), la micro-onde était le plus efficace pour délignifier la matière lignocellulosique [240].

## **IV-Modèles de cinétiques de la digestion et la co-digestion anaérobie**

### **IV.1-Généralités**

La digestion anaérobie (DA) est une réaction complexe de conversion de la matière organique en biogaz et digestat. Durant les étapes de méthanisation de nombreux microorganismes sont impliqués.

Le bon état écologique de l'écosystème microbien en lien avec les paramètres environnementaux de fonctionnement conditionne la stabilité du procédé et permet d'éviter que ne s'accumulent des métabolites à certaines étapes de réaction pouvant entraîner

l'inhibition de certaines étapes et des dysfonctionnements. Avec le développement des technologies de la DA, il est devenu indispensable de développer des outils permettant l'optimisation et le contrôle du procédé.

La modélisation représente un outil très efficace pour développer notre connaissance à propos de la DA et répondre à des questions de recherche ainsi qu'aux problématiques industrielles. Elle permet d'optimiser la conception, le fonctionnement, le contrôle et le suivi des procédés. En effet, les modèles améliorent la compréhension du système, en facilitant la formulation et la validation de certaines hypothèses et réduisent ainsi les coûts et les risques de dysfonctionnement [264]. Dans ce cadre, plusieurs modèles ont été développés pour prédire les processus physiques, chimiques et biologiques en utilisant des équations mathématiques [265] avec une variété d'approches utilisées pour l'estimation des paramètres cinétiques et la validation des modèles. La modélisation d'un procédé biologique consiste à traduire sous forme d'équations mathématiques les cinétiques réactionnelles qui se produisent au cours du processus de DA.

Un modèle est le résultat d'une procédure de modélisation (intégrant la définition de la structure du modèle, l'identification des paramètres et les expériences permettant sa validation) qui doit être en cohérence avec les objectifs de l'obtention du modèle. Plusieurs raisons peuvent justifier le développement d'un modèle :

- La compréhension du comportement ou du fonctionnement du digesteur et/ou des interactions des composants du système ;
- Des tests d'hypothèses sur le comportement d'un modèle dépendant de sa structure ;
- L'optimisation et le dimensionnement ;
- La prédiction du comportement ou le contrôle d'un système.

D'après (Spriet, 1985) un modèle approprié doit être développé sur les bases des principes suivants : (i) la simplicité, (ii) la causalité, (iii) l'identifiabilité (les valeurs des paramètres doivent être identifiables à partir des données disponibles) et finalement (iv) la capacité prédictive (le modèle doit rester valide dans une large gamme de conditions opératoires).

Les modèles dédiés à la DA sont nombreux. D'une façon générale, on peut distinguer 3 types de modèles en se basant sur leur niveau de complexité. Les modèles à une seule étape, à deux étapes, à trois ou plusieurs étapes. Le niveau de complexité dépend principalement de l'objectif du modèle.

Dans le premier cas, la méthanogénèse est considérée comme l'étape limitante du procédé. Son avantage principal réside en sa simplicité. Seules les mesures des paramètres globaux de fonctionnement sont nécessaires (AGV, MVS et méthane produit) à des temps du temps de séjour différents. Ces essais expérimentaux permettent d'identifier les principaux paramètres cinétiques du modèle. Ensuite, les modèles à deux étapes supposent que les bactéries acidogènes transforment la matière organique en acides, et ces derniers seront transformés en biogaz par les méthanogènes. Ces modèles, également assez simples, sont cependant un peu plus proches de la réalité. Enfin, les modèles à trois ou plusieurs étapes proposent une représentation plus proche de celle des experts de la digestion anaérobie, en intégrant davantage d'étapes de la méthanisation. L'avantage de ces modèles est qu'ils permettent d'améliorer les connaissances sur le procédé. Par contre, leur inconvénient principal est le nombre élevé des paramètres à identifier. Dans la section suivante, l'historique de l'application de différents modèles pour la DA est détaillé en se basant sur la littérature.

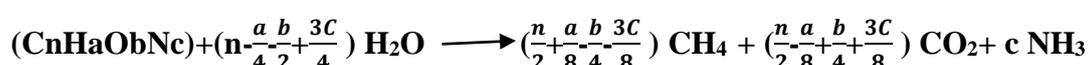
#### **IV.2-Les modèles appliqués à la co-digestion**

Si les modèles utilisés pour modéliser les systèmes de co-digestion peuvent être groupés en plusieurs catégories, ils présentent quelques caractéristiques communes comme la prédiction du potentiel en méthane, la composition élémentaire, la composition biochimique, l'utilisation de la DCO comme unité principale, la composition de la fraction organique, l'utilisation des transferts d'électrons dans le bilan de masse... Selon l'objectif de modélisation, le choix du modèle se fera plutôt vers un modèle détaillé type ADM1 pour une meilleure compréhension du processus, ou un modèle simplifié pour faire du contrôle ou pour prédire la performance [266]. Dans la partie suivante, on illustre ce propos en rapportant quelques modèles appliqués à la co-digestion.

##### **IV.2.1-Les modèles statiques**

Ces modèles estiment la biodégradabilité d'un échantillon (le BMP) en se basant sur la composition de la matière organique à travers une corrélation entre cette dernière et la biodégradabilité. Deux approches sont utilisées :

- Une première dans laquelle l'analyse de l'échantillon est basée sur la composition élémentaire ( $C_nH_aO_b$ ). (Buswell 1993) a calculé le BMP en supposant que la matière organique est totalement transformée en méthane et dioxyde de carbone.



$$B_{th} = \frac{22,4 \left( \frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8} \right)}{12n + a + 16b + 14c} \text{ (L CH}_{4\text{STP gMV}^{-1}\text{)}$$

Avec : -  $B_{th}$  est le potentiel méthanogène à produire (BMP) en utilisant sur la composition biochimique, et en se basant sur les éléments C, O, H et N

- Une deuxième approche dans laquelle l'analyse se base sur la composition biochimique en termes de carbohydrates, protéines et lipides :

**$B_{th} = 415\% \text{ Carbohydrates} + 496\% \text{ Protéines} + 1014\% \text{ Lipides (L}_{\text{STP}}\text{CH}_4, \text{gMV}^{-1})$**  La première approche est utilisée pour la caractérisation de différents types de boues et de déchets solides, mais les résultats théoriques surestiment les valeurs expérimentales des BMP. Ceci peut être expliqué par le fait que l'analyse des composants élémentaires tient compte de la totalité de la matière organique biodégradable et non-biodégradable [267]. De plus, une partie de la matière organique qui est utilisée pour la croissance des bactéries n'est pas intégrée dans le modèle d'Angelidaki et Sander (2004)[268]. Enfin, l'absence de certains minéraux peut limiter la biodégradation et le  $\text{CO}_2$  est très soluble : une fraction produite reste « piégée » en solution. Davidsson et al. (2007) [269] ont confirmé que pour les déchets solides, la deuxième approche qui se base sur la composition biochimique est plus efficace que celle basée sur la composition élémentaire.

En 1980 Chandler et al. ont montré que la biodégradabilité est inversement proportionnelle au contenu en lignine :

$$BD = 0,83 - (0,028) * X_1$$

Où BD est la fraction biodégradable des matières volatiles et  $X_1$  est le contenu initial en lignine.

Buffière et al. (2006) [270] ont mis en évidence une relation entre la biodégradabilité et la somme des contenus de cellulose et lignine pour les déchets de cuisine. Dans le même cadre, Gunaseelan (2007) [271] ont montré qu'il existe une forte corrélation entre la biodégradabilité et le contenu en carbohydrates, protéines, lipides, les fibres au détergent acide, la cellulose et les cendres. L'extraction a été réalisée à travers la méthode Van Soest.

$$BD = 0,045 + 1,23 * [\text{Carbohydrates}] + 0,24 * [\text{Protéines}] + 1,51 * [\text{Lipides}] - 0,68 * \text{AFD} - 0,81 * \text{Cellulose} - 6,1 * A,$$

avec :

- AFD : fibres aux détergents acides (acid detergent fibers content)
- A : les cendres dans les fibres au détergent acides.

Plus tard Mottet et al. (2010) [272] ont fait le lien entre le fractionnement chimique en utilisant le Van Soest avec la biodégradabilité des boues en utilisant la régression des moindres carrés partiels (PLS : partial least square regression). Cette méthode se base sur l'extraction de 50% - 80% de matières sèches avec des détergents neutres. Ensuite, d'autres détergents ciblent l'hémicellulose, la cellulose et la lignine. L'application de cette approche, sur la boue municipale mène à une sous-estimation de 35% des valeurs expérimentales de BMP [273].

#### **IV.2.2-Les modèles statistiques**

Ces modèles sont construits à partir de corrélations entre des paramètres opératoires (Le ratio substrat / cosubstrats, rapport C/N, la charge appliquée et la température) et les sorties (Le rendement méthane et la réduction de MV), à un instant donné, typiquement à la fin d'une séquence de réaction en mode batch [274]. Pour la co-digestion, deux types de modèles statistiques ont été utilisés. Le modèle « simplex-centroid mixture design » qui se base sur les différentes combinaisons des substrats mélangés comme variable et le plan composite centré qui fait intervenir les paramètres opératoires de la réaction de méthanisation.

Dans les deux cas, ces modèles permettent l'optimisation de la production de méthane à partir de mélanges. L'utilisation des modèles statistiques a été rapportée dans plusieurs études de la co-digestion dans le but d'optimiser la composition des mélanges. Pagés Diaz et al. (2014) [275] ont étudié la co-digestion des déchets d'abattoir, de fumier, des déchets municipaux et de céréales (crops) en mode batch dont l'objectif est d'optimiser la composition des mélanges et faire corrélérer le procédé biologique avec les résultats statistiques. Pour cela, ils ont utilisé un modèle (la méthodologie des surfaces de réponse - plans d'expériences).

Les modèles statistiques représentent des outils pour l'optimisation des conditions opératoires de la DA. Par contre, la variation des substrats et des conditions opératoires d'une étude à une autre limite l'utilisation de ce type de modèle. Autrement dit, ces modèles sont pertinents dès lors que l'on a balayé suffisamment de conditions différentes avec de nombreux substrats. Le nombre de combinaisons « conditions opératoires/substrat » devient très vite inaccessible à l'expérience. En outre, le faible degré de similarité des cinétiques de dégradation, des inhibitions entre le digesteur à l'échelle laboratoire et les réacteurs pilote peuvent engendrer des problèmes de prédictions lorsque l'on souhaite réaliser des changements d'échelles.

### IV.2.3-Les modèles dynamiques

#### IV.2.3.1-ADM1

Malgré sa complexité, le modèle ADM1 représente le modèle le plus utilisé pour la modélisation de la co-digestion. Lübken et al. (2007) [276] ont appliqué l'ADM1 pour simuler la production d'énergie d'un digesteur traitant du fumier et des cultures énergétiques dans des conditions thermophiles. Les caractéristiques d'entrée du modèle comprenaient le contenu des carbohydrates, des protéines et lipides, des particules inertes et de la biomasse. Après avoir optimisé certains paramètres cinétiques et stœchiométriques du modèle ADM1, Fezzani and Ben Cheikh, (2008a) [277] ont obtenu des simulations satisfaisantes d'un système de co-digestion de grignons d'olive et de déchets solides d'olivier dans un réacteur tubulaire fonctionnant en semi-continu sous des conditions mésophiles [277] et thermophiles [278]. Leur modèle comprenait une légère modification pour prédire des dysfonctionnements du réacteur pour de courts temps de séjours hydrauliques. Plus précisément, le facteur d'inhibition appliqué à la vitesse de conversion de l'acétate a été modifié pour tenir compte de l'inhibition de l'étape méthanogène par l'accumulation des AGV dans le digesteur. Ensuite, en 2009, les mêmes auteurs ont publié une extension de l'ADM1 pour inclure la biodégradation des composés phénoliques [279], en incorporant le processus de dégradation du phénol d'abord dans le benzoate puis dans l'acétate. Ceci a nécessité l'addition de cinq variables d'état, de six processus de conversion du phénol et de l'effet inhibiteur correspondant des composés phénoliques sur la vitesse de dégradation de l'acétate. Esposito et al. (2008a) [280] ont concentré leurs recherches sur le processus de désintégration pour la co-digestion des boues municipales avec la fraction organique de déchets solides. La dégradation des boues a été modélisée en utilisant l'ADM1, tandis que la « cinétique basée sur la surface » (surface-based kinetics) a été utilisée pour simuler le processus de désintégration de la fraction organique des déchets.

Ensuite, Derbal et al. (2009) [281] ont rapporté une simulation pour la co-digestion de boues municipales avec des déchets organiques en réacteur pilote sous conditions mésophiles. Les données obtenues à partir de leur recherche indiquent que l'ADM1 est un outil approprié pour le contrôle d'un digesteur anaérobie à grande échelle. Une bonne concordance entre les résultats modélisés et expérimentaux a été trouvée, mais ce modèle s'est avéré peu flexible pour être étendu à d'autres cas (Hagos et al., 2016). L'explication tient au fait que les paramètres cinétiques utilisés ont été tirés de la littérature alors qu'ils auraient dû être ré-identifiés [281]. Galí et al. (2009) [282] et Zaher et al. (2009) [283] ont développé deux

extensions de l'ADM1 en utilisant MATLAB / SIMULINK. Le modèle développé par Galí et al. (2009)[282] peut être utilisé pour un ou deux réacteurs agités en série, qui peuvent être remplis séparément soit en continu soit en semi-continu. Le nombre de substrats considérés peut également être choisi [284]. Des déchets agricoles ont été utilisés en mono et co-digestion et ont été traités en mode batch (puis en CSTR pour la validation). Les travaux incluent la détermination de particules complexes suite au fractionnement de la DCO, et les constantes de désintégration. L'un des processus les plus importants de l'ADM1 est la mortalité de la biomasse, qui alimente un compartiment de matière organique particulaire. Ce modèle a été validé à partir de des données expérimentales de la mono-digestion de boues primaire et secondaire. Depuis 2010, on note une baisse des travaux sur la co-digestion utilisant l'ADM1 [285]. Depuis quelques années, plusieurs chercheurs travaillent à la simplification de l'ADM1, notamment à des fins de contrôle [286].

#### **IV.2.3.2-Les modèles cinétiques classiques**

Les modèles cinétiques classiques (notamment d'ordre 0 ou d'ordre 1) sont très utilisés dans la modélisation de la digestion anaérobie. Dans leur étude, El-Mashad and Zhang [287] ont utilisé un modèle avec une équation de premier ordre pour la simulation de la production de méthane à partir de la co-digestion de fumiers et des déchets alimentaires à 35°C en mode batch. Dennehy et al. [288] ont étudié la co-digestion de lisier et de déchets alimentaires en mode batch et ont testé plusieurs types des modèles pour la modélisation de systèmes fonctionnant avec une concentration élevée d'AGV. Un modèle d'ordre 1, celui de Compertz et les modèles d'ordre 1 à deux constantes (Dual pooled first order kinetic model) ont été testés puis comparés. Ils ont trouvé que ce dernier type de modèle donne les meilleurs résultats pour une co-digestion avec une concentration élevée d'AGV dans le digesteur, ce qui est assez logique si l'on note que le modèle retenu est celui qui comporte le plus de paramètres. Carrera-Chapela et al. [289] ont rapporté que l'hydrolyse pourrait être modélisée en utilisant le modèle de Contois, puisque c'est une réaction intégrant des enzymes extracellulaires alors que Ya. Lokshina et al. [290] soulignent qu'un modèle de Monod est suffisant. À noter que ces deux modèles intègrent la charge appliquée comme un paramètre fondamental de la performance du digesteur.

Ces modèles (tableau 11) sont faciles à implémenter sur un logiciel de simulation et permettent le calcul (et donc une estimation) de la vitesse d'hydrolyse. Par contre, des limitations ont été notées pour leur utilisation. À titre d'exemple, ces modèles sont généralement utilisés à l'échelle laboratoire et ne donnent pas des informations ou un savoir-

faire valable aux réacteurs opérés à grande échelle. En outre cette étape limitante dépend aussi des conditions opératoires (température, concentration initiale en substrat, propriétés de substrat, la charge appliquée et la configuration de réacteur) [291].

Modèle	Expression	Exemple d'application
<b>Modèle d'Ordre 1</b>	$dS/dt = K_{S, \max} * S$ $M(t) = P (1 - e^{-kt})$	(Dennehy et al., 2016; Kafle and Kim, 2011)
<b>Modèle de Monod</b>	$dS/dt = (-\mu_m / Y) * (SX / (K_s + S))$	(Ya.Lokshina et al., 2001)
<b>Modèle de Contois</b>	$dS/dt = (-\mu_m / Y) * (SX / (K_x X + S))$	(Karim et al., 2007)
<b>Modèle de Haldane</b>	$dS/dt = (-\mu_m / Y) * (SX / (K_s + S + S * (S / K_I)))$	(Carrera-Chapela et al., 2016)
<b>Modèle de Gompertz</b>	$M(t) = P * \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{R_{\max} \cdot e}{p} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$	(Xie et al., 2011)

**Tableau.11** : Les modèles cinétiques classiques.

Dans les équations ci-dessus, **S** est la concentration du substrat (g/L); **X** est la concentration en biomasse (g/L); **K<sub>S, max</sub>** est la vitesse maximale spécifique de dégradation du modèle d'ordre 1 (j<sup>-1</sup>); **μ<sub>m</sub>** est la vitesse maximale de croissance des modèles de Monod, Contois et Haldane (h<sup>-1</sup>); **Y** est le coefficient de rendement; **K<sub>x</sub>** est la constante de la cinétique de Contois; **K<sub>s</sub>** est le coefficient de demi-saturation du modèle de Monod (g/L); **K<sub>I</sub>** est la constant inhibition (g/L); **M** est le cumul de methane produit (mL/g MV); **P** est le rendement final en methane (mL/g MV); **t** est le temps de réaction (j); **R<sub>max</sub>** est la vitesse maximale de production de méthane mL/gMV/j); **λ** est la phase de latence (j); **e** est la constante 2.7183.

#### **IV.2.3.3- Les modèles basés sur la dynamique des fluides**

L'hydrodynamique joue un rôle important dans l'étude des réacteurs anaérobies parce qu'elle peut influencer les vitesses des réactions biologiques en modifiant la vitesse de transfert de matière et la vitesse de distribution des réactions dans le réacteur [292].

À titre d'exemple, l'agitation dans les réacteurs permet d'augmenter la surface de contact entre les substrats et les microorganismes. Elle augmente et favorise le transfert de masse des coproduits. Yu et al. (2013)[293] ont rapporté que les modèles de dynamiques des fluides offrent une approche polyvalente pour étudier les vitesses, les turbulences, les trajectoires de particules, les taux de dissipation d'énergie, pour optimiser le transfert de composants dissous en fonction de la géométrie et définir les emplacements d'alimentation.

Wu (2012) [294] a utilisé les modèles basés sur la dynamique des fluides pour la caractérisation de la fermentation dans des digesteurs anaérobies tout en intégrant l'agitation et le transfert thermique. Le modèle développé a permis de suivre la distribution des AGV, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, pH ainsi que le transfert thermique. Van Hulle et al. (2014)[295] ont couplé l'ADM1 avec les modèles basés sur la dynamique des fluides pour l'évaluation de la performance des procédés avec des agitations non-idéales. Ils ont rapporté une diminution de 10% sur le rendement en méthane à cause de l'accumulation des AGV suite à l'arrêt de l'agitation. [292] ont couplé l'ADM1 avec un modèle hydrodynamique à dispersion axiale pour étudier l'effet du taux de dilution ( $D = \text{débit d'alimentation} / \text{volume de réacteur}$ ) sur la biomasse. Ils ont trouvé qu'avec l'augmentation du taux de dilution, les concentrations en carbohydrates et en lipides augmentent, alors que les concentrations en glucides simples et acides gras volatiles commencent à diminuer. Ils ont noté aussi qu'une augmentation du taux de dilution entraîne une modification de la composition des microorganismes dans le système et les concentrations de toutes les variables d'état. Les résultats avec le modèle spatial sont proches de ceux obtenus avec l'ADM1. Ces auteurs affirment que la capacité d'un ADM1 spatialisé pour prédire la distribution spatiale des variables d'états peut être très utile pour développer une approche systématique de conception et d'optimisation de réacteurs anaérobies.

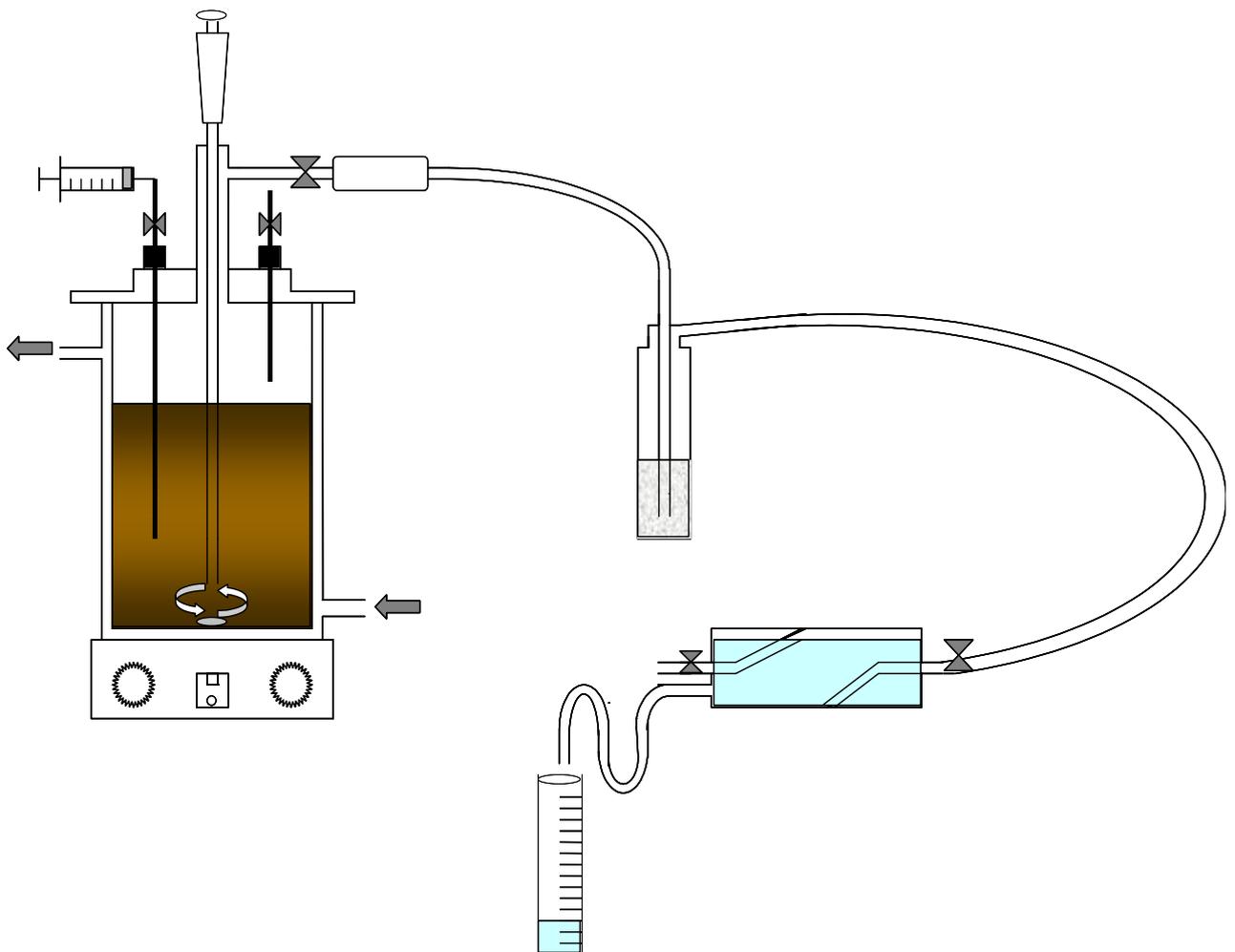
# *Chapitre II :* *Matériels et Méthodes*

## Chapitre II : Matériels et Méthodes

### II.1- Equipement de digestion anaérobie

Le système utilisé pour les essais de digestion anaérobie est constitué des éléments suivants (figure 16, figure 17) :

- Digesteur CSTR.
- Système d'agitation.
- Système d'absorption du dioxyde de carbone.
- Système de mesure du méthane.



**Figure 16** : Schéma de l'équipement de digestion anaérobie (Laboratoire UCO).



**Figure 17:** Système expérimental de digestion anaérobie (Réacteurs de 1,0L de volume utilisable) (Laboratoire UCO).

### **II.1.1- Digesteurs anaérobies**

Parmi les différents types de digesteurs existants [296], on a choisi les réacteurs discontinus avec mélange complet et croissance bactérienne en suspension sans système de rétention de la biomasse. Les réacteurs en verre utilisés étaient d'un volume utile de 1,0 L, de forme cylindrique et munis d'un couvercle avec un système de fermeture hermétique. Le couvercle comporte quatre ouvertures : la première, centrale, de plus grand diamètre, et trois autres sur les côtés, à travers la plus grande desquelles le système d'alimentation du réacteur est connecté. Il se compose d'un tube, qui est inséré au centre du volume de réaction, et d'une bouteille d'alimentation avec un bouchon, qui est scellé hydrauliquement, de sorte que l'alimentation peut être effectuée de manière discontinue. L'échantillonnage peut être effectué avec agitation ou décantation, de sorte que les différentes longueurs des tubes d'échantillonnage minimisent l'entraînement de la biomasse si nécessaire (décantation). Pendant l'échantillonnage, il est nécessaire de compenser la pression avec un gaz inerte ( $N_2$ ) ; de plus, le système d'injection de ce gaz permet d'inertiser l'espace de tête du réacteur au début des expériences et lorsque cela est nécessaire.

En outre, les réacteurs sont dotés d'une chemise dans laquelle circule de l'eau à 37,8°C provenant d'un bain thermostatique modèle LAUDA RTM 20, ce qui permet de maintenir la température du milieu réactionnel dans le domaine mésophile.

### **II.1.2- Système d'agitation (mélangeur)**

L'agitateur utilisé était le modèle MAGNA AN-2 dans le cas des réacteurs d'un volume utile de 1,0 L. Il est équipé d'un sélecteur de vitesse qui permet de mettre la biomasse en suspension dans le milieu réactionnel. La vitesse d'agitation était comprise entre 150 et 200 rpm afin de ne pas provoquer la rupture des agrégats bactériens [297] et de permettre le contact entre le substrat et les micro-organismes.

### **II.1.3- Système d'absorption du dioxyde de carbone**

On utilise un barboteur d'un volume de 50 ml, partiellement rempli de NaOH (6N), dans lequel on fait barboter le biogaz de chaque digesteur afin de retenir le dioxyde de carbone qu'il contient.

### **II.1.4- Système de mesure du méthane**

Le méthane est mesuré par déplacement d'eau, à l'aide d'un gazomètre cylindrique d'une capacité de 1,0 L et d'un cylindre de même volume pour les réacteurs de 1,0 L, tandis que des gazomètres et des cylindres d'une capacité de 2,0 L sont utilisés pour les réacteurs de 3,5 L. Le méthane déplace un volume équivalent d'eau qui est recueilli et mesuré dans le cylindre.

Dans les deux cas, les résultats obtenus pour le volume de méthane accumulé sont normalisés en tenant compte de l'effet de la pression atmosphérique, de la température et de la pression de vapeur d'eau à la température ambiante au moment de la mesure, et finalement exprimés aux conditions standards (0°C et 760 mm Hg). La température et la pression sont déterminées dans une station météorologique équipée d'un thermomètre et d'un baromètre. Sur la base de la loi des gaz idéaux, on obtient le volume dans les conditions expérimentales et le volume dans les conditions standard :

$$P_{\text{real}} \times V = n \times R \times T \quad (\text{Eq. II.1.4.1})$$

$$NP \times NV = n \times R \times NT \quad (\text{Eq. II.1.4.2})$$

Où :

$P_{\text{real}}$  la pression réelle exprimée en atm.

**V** est le gaz généré dans les conditions expérimentales (NL).

**R** est la constante du gaz idéal (atm-L/K-mol).

**T** est la température ambiante exprimée en K.

**NP** est la pression de vapeur aux conditions normales (atm).

**NV** est le volume de gaz généré exprimé aux conditions standard (0°C, 1 atm) (NL).

**NT** est la température aux conditions normales (K).

En combinant les deux expressions et en substituant les paramètres, on obtient l'expression souhaitée :

$$NV = V \times \left( \frac{P_{\text{real}}}{NP} \right) \times \left( \frac{NT}{T} \right) \quad (\text{Eq. II.1.4.3})$$

$$NV = V \times \left( \frac{P_{\text{real}}}{1 \text{ atm}} \right) \times \left( \frac{273K}{T} \right) \quad (\text{Eq. II.1.4.4})$$

En outre,  $P_{\text{real}}$  dépend de deux facteurs, la pression atmosphérique mesurée et la pression de vapeur, en raison du système expérimental utilisé pour mesurer le volume de méthane généré (par déplacement d'eau), en calculant ce dernier à partir des valeurs de pression de vapeur d'eau de 0 à 370°C (Handbook of Chemistry and Physics, 2004-2005).

Enfin, on obtient l'expression à appliquer :

$$NV = V \times \left( \frac{P_{\text{real}} - P_v}{1 \text{ atm}} \right) \times \left( \frac{273K}{T} \right) \quad (\text{Eq. II.1.4.5})$$

Où :

**P<sub>v</sub>** est la pression de vapeur à température ambiante (atm).

## **II.2- Systèmes expérimentaux utilisés pour le prétraitement des déchets**

Un prétraitement thermique a été utilisé pour solubiliser la fraction organique des boues d'épuration et des extrudats de fraises usagées. Le prétraitement a été effectué à l'aide d'un autoclave Selecta AUTESTER MOD 437-G (figure 18), équipé d'un contrôle de la température, de la pression et du temps. Pendant les essais, la température et la pression ont été fixées à 120 °C et 2 atm, respectivement, en ne faisant varier que le temps de prétraitement.



**Figure 18** : Equipement expérimental (autoclave) utilisé pour le prétraitement thermique (Laboratoire UCO).

Les résidus étudiés ont été introduits dans l'autoclave contenu dans des flacons NORMAX de 0,25 L de volume (figure 19). Pendant le processus, les bouteilles ont été maintenues fermées pour éviter la perte des composés volatils libérés pendant le prétraitement, ainsi que pour éviter la dilution de l'échantillon due à la vapeur d'eau générée par l'autoclave. De même, l'ouverture des bouteilles d'essai et la caractérisation de leur contenu ont été effectuées une fois leur température égalisée à la température ambiante.



**Figure 19** : Flacons NORMAX utilisé pour le prétraitement thermique (Laboratoire UCO).

### **II.3.Méthodes d'analyse**

Les déterminations analytiques effectuées pour la caractérisation des matières premières (substances résiduelles) et le suivi du processus de digestion anaérobie sont :

- pH
- Alcalinité
- Acidité volatile
- Acides gras volatils (détermination chromatographique)
- Solides totaux
- Solides minéraux
- Solides volatils
- Demande chimique en oxygène total et soluble
- Carbone total, carbone inorganique et carbone organique total
- Azote total Kjeldahl
- L'azote ammoniacal
- Phosphore soluble
- Métaux lourds

Les déterminations des échantillons du digesteur ont été effectuées selon les méthodes standards de l'APHA (APHA, 1989) [298]. D'autre part, la caractérisation des substrats a été réalisée selon les protocoles d'analyse des composts développés par le département américain de l'agriculture et le conseil américain du compostage [299], à l'exception de la détermination de la lignine, qui a été réalisée selon la norme TAPPI T 222 OM-88[300].

### II.3.1-pH

On a utilisé un pH-mètre "Crison" modèle Digit 2001, équipé d'une électrode en verre qui est immergée dans un volume approprié d'échantillon : la lecture numérique donne la valeur du pH avec deux décimales. L'étalonnage a été effectué quotidiennement avec des solutions tampons de pH 4,01, 7,00 et 9,21.

### II.3.2-Alcalinité

L'alcalinité d'une eau est une mesure de sa capacité à tamponner les changements de pH et est donc une mesure de la stabilité dans les digesteurs anaérobies. La valeur moyenne peut varier considérablement en fonction du pH du point final utilisé. Elle est également importante dans de nombreuses utilisations et traitements des eaux naturelles et usées car elle est principalement fonction de la teneur en carbonates, bicarbonates et hydroxydes, bien que les valeurs moyennes d'alcalinité incluent également la contribution des borates, phosphates, silicates et autres bases présentes dans l'échantillon analysé.

La détermination est effectuée en prenant un volume connu d'échantillon, normalement 10 ml, dans un bécher et en ajoutant lentement une solution d'acide sulfurique à partir d'une burette jusqu'à atteindre un pH de 4,5. Le volume d'acide dépensé est mesuré et le résultat est exprimé en mg de CaCO<sub>3</sub>/L.

L'alcalinité de l'échantillon est donnée par l'expression :

$$\text{Alc} = \frac{V \times N \times 50 \times 1000}{Vm} \quad (\text{Eq. II.3.2.1})$$

Où :

**Alc** = alcalinité exprimée en mg CaCO<sub>3</sub>/L.

**V** = volume d'acide sulfurique dépensé, en mL.

**N** = normalité de l'acide sulfurique (0,1N).

**50** = poids équivalent de CaCO<sub>3</sub>.

**V<sub>m</sub>** = volume de l'échantillon prélevé, en mL.

### **II.3.3-Acidité volatile**

Pour sa détermination, on utilise une méthode indirecte, qui consiste en une distillation à la vapeur. Cette méthode est basée sur la propriété des acides gras à chaîne courte d'être entraînés par la vapeur d'eau dans un milieu acide. Il s'agit d'une technique très précise qui permet de récupérer jusqu'à 98 % des acides organiques volatils présents dans l'échantillon.

La procédure de détermination consiste à prélever un volume d'échantillon, normalement 10ml, à déterminer la quantité d'acide sulfurique 0,5 N nécessaire pour amener le pH à 3,5, puis à prélever un autre volume égal d'échantillon et à l'introduire dans le distillateur. Immédiatement après, on ajoute la quantité d'acide sulfurique préalablement déterminée, ce qui évite la perte d'acides volatils.

Le distillat est distillé à une vitesse telle qu'un volume de 200 ml est recueilli en 15 minutes environ, après quoi une autre fraction de 50 ml est recueillie pour s'assurer que toutes les fractions acides ont été recueillies. Le distillat est recueilli dans une fiole conique, bouchée avec du papier paraffiné, et titré avec du NaOH 0,1 N, en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur.

La teneur en acide volatile de l'échantillon, exprimée en mg d'acide acétique/L, est donnée par :

$$AV = \frac{V \times N \times 60 \times 1000}{V_m} \quad (\text{Eq. II.3.3.1})$$

Où :

**AV** = acidité volatile, en mg d'acide acétique/L.

**V** = volume de NaOH, mL.

**N** = normalité exacte du NaOH ( $\approx 0,1$  N).

**60** = poids moléculaire de l'acide acétique.

**V<sub>m</sub>** = volume de l'échantillon prélevé, en mL.

### **II.3.4-Acides gras volatils (détermination chromatographique)**

Les acides gras volatils analysés individuellement sont l'acide acétique, propionique, butyrique, isobutyrique, valérique, isovalérique et caproïque. Dans le cas des résidus solides, la détermination est effectuée après extraction à l'eau distillée selon la méthode décrite par Thompson et al. (2001)[301]. La détermination est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard HP-5890 équipé d'une colonne semi-capillaire Nukol-silica de 15 m x 0,53 mm (d.i.) et d'un détecteur à ionisation de flamme (DIF). La température du four est progressivement augmentée de 100 à 150 °C à une vitesse de 4 °C/min. L'hélium (28,6 kPa) est utilisé comme gaz porteur à un débit de 50 mL/min. L'hydrogène (14,3 kPa) et l'air (28,6 kPa) sont utilisés pour allumer la flamme du FID.

### **II.3.5-Solides totaux (ST)**

La détermination des solides totaux comprend les solides organiques et inorganiques présents dans l'échantillon.

Une quantité bien homogénéisée d'échantillon est pesée sur une balance de précision et contenue dans un creuset en porcelaine dont le poids à vide est connu à l'avance. L'échantillon est séché dans un four à 103-105 °C jusqu'à obtenir un poids constant. L'augmentation de poids subie par le creuset représente la teneur totale en solides de l'échantillon. La formule suivante permet d'exprimer les résultats en mg/kg.

$$ST \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{(A-B) \times 10^6}{m} \quad (\text{Eq. II.3.5.1})$$

Où :

**ST**= total des solides présents dans l'échantillon, en mg/kg.

**A**= poids de l'échantillon séché plus poids du creuset, g.

**B**= poids du creuset, g.

**m**= masse initiale de l'échantillon, g.

### **II.3.6-Solides minéraux (SM)**

Le creuset contenant le résidu sec issu de la détermination des solides totaux, de poids connu, est placé dans un four à 550°C où il est calciné jusqu'à obtention d'un poids constant. La

endre restant dans le creuset coïncide avec la fraction minérale de l'échantillon. La formule suivante permet d'exprimer les résultats en mg/kg.

$$\mathbf{SM} \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{(\mathbf{A}-\mathbf{B}) \times 10^6}{\mathbf{m}} \quad (\text{Eq. II.3.6.1})$$

Où :

**SM**= matières solides minérales présentes dans l'échantillon, mg/kg.

**A**= poids de l'échantillon calciné plus le poids du creuset en porcelaine, g.

**B**= poids du creuset, g.

**m**= masse initiale de l'échantillon, g.

### **II.3.7-Solides volatils (SV)**

Les matières solides volatiles sont calculées comme la différence entre les matières solides totales et les matières solides minérales. La formule suivante permet d'exprimer les résultats en mg/kg.

$$\mathbf{SV} = \mathbf{ST} - \mathbf{SM} \quad (\text{Eq. II.3.7.1})$$

Où :

**SV** = matières solides volatiles, mg/kg.

**ST** = matières solides totales, mg/kg.

**SM** = matières solides minérales, mg/kg.

### **II.3.8- Demande chimique en oxygène totale et soluble (DCO totale et DCO soluble)**

La demande chimique en oxygène est une mesure de la matière organique contenue dans un échantillon donné par le biais de l'oxygène nécessaire pour oxyder cette matière organique.

La méthode utilisée pour son dosage est celle du dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) : l'échantillon est soumis à une oxydation chimique à chaud ( $150^\circ\text{C}$ ), par addition d'un excès d'oxydant ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) de concentration connue, en milieu  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Après la période de digestion (2 h), l'excès de dichromate qui n'a pas réagi est titré contre le FAS (sulfate d'ammonium ferreux,  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), connu sous le nom de sel de Mohr. Pour quantifier la quantité de bichromate ajoutée et les interférences possibles dues à la matière organique ajoutée aux échantillons avec l'eau de dilution, un blanc d'eau distillée est inclus avec l'échantillon et, par

différence avec un blanc, la quantité de bichromate consommée lors de l'oxydation de l'échantillon est déterminée.

Les espèces inorganiques à l'état réduit qui peuvent être présentes dans l'échantillon sont également oxydées au cours de la digestion, donc si le niveau de ces espèces est élevé, leur concentration dans l'échantillon doit être connue afin d'apporter les corrections nécessaires. Toutefois, afin de réduire ces interférences, du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> est ajouté en même temps que le H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ajouté à l'échantillon, de sorte que les espèces inorganiques précipitent en réagissant avec le mercure pour former des composés peu solubles.

La formule suivante permet d'exprimer les résultats en mg O<sub>2</sub>/kg, bien qu'ils aient également été exprimés en mg O<sub>2</sub>/L.

$$\text{DCO} \left( \frac{\text{mg O}_2}{\text{kg}} \right) = \frac{(\text{B}-\text{M}) \times 8 \times 1000 \times \text{NFAS}}{\text{m}} \quad (\text{Eq. II.3.8.1})$$

Où :

**DCO** = demande chimique en oxygène, mg O<sub>2</sub>/kg.

**B** = volume de FAS dépensé pour le titrage du blanc, mL.

**M** = volume de FAS passé dans le titrage de l'échantillon, mL.

**NFAS** = normalité exacte du FAS.

**m** = poids de l'échantillon, g.

**8** = poids équivalent d'oxygène.

Pour la détermination de la DCO soluble, la procédure est la même que pour la DCO totale, mais après filtration de l'échantillon. Le modèle de filtre utilisé est le Watman GF/C de 47 mm φ. Dans ce cas, le résultat est exprimé en mg O<sub>2</sub>/L.

### **II.3.9- Carbone total, carbone inorganique et carbone organique total**

Le carbone total est une mesure de la teneur en carbone, à la fois inorganique et organique, présente dans la fraction soluble d'un échantillon. Il a été déterminé par une technique instrumentale, à l'aide d'un analyseur de carbone Dohrmann modèle DC-190. La méthode de détermination est basée sur l'oxydation catalytique de tout le carbone présent dans l'échantillon en CO<sub>2</sub>, et la détection ultérieure de ce produit final par spectrométrie infrarouge. Cette oxydation est réalisée dans un four rempli d'un catalyseur en platine déposé sur des

particules d'alumine, ainsi que du gaz porteur qui fait office d'oxydant (Oxygène N50). D'autre part, le carbone inorganique contenu dans l'échantillon est déterminé dans la même instrumentation. L'échantillon vaporisé est barboté, avec le gaz porteur, dans une solution d'acide phosphorique à 20 %, de sorte que seule la fraction de CO<sub>2</sub> correspondant au carbone inorganique contenu dans l'échantillon atteint le détecteur spectrophotométrique infrarouge.

### **II.3.10- Azote total Kjeldahl**

Dans un tube Kjeldahl, 0,2 à 2,0 grammes d'échantillon sont ajoutés, suivis de 5 ml d'acide sulfurique concentré et de 5 grammes de catalyseur Kjeldahl (Cu-Se). Il est ensuite soumis à une digestion pendant 180 minutes à 350°C. Après ce temps, les échantillons sont laissés refroidir et distillés en présence de 35 % de NaOH jusqu'à pH > 9,5. Le distillat est recueilli sur un volume excédentaire d'acide sulfurique 0,1N (10 mL) auquel on a ajouté quelques gouttes de méthyl orange. Après distillation (200 ml), l'excès d'acide qui n'a pas été neutralisé lors de la distillation est titré par une solution de NaOH 0,1N jusqu'à ce que l'indicateur vire. La formule suivante permet d'exprimer les résultats en mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g :

$$N - NTK \left( \frac{\text{mg N-NH}_4^+}{\text{g échantillon}} \right) = \frac{[(V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times N_{\text{H}_2\text{SO}_4}) - (V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}})] \times 14}{m} \quad (\text{Eq. II.3.10.1})$$

Où :

**N-NTK** = azote total Kjeldahl, mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g d'échantillon.

**VH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** = volume d'acide sulfurique ajouté à l'erlenmeyer lors de la distillation, en mL.

**NH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** = normalité de l'acide sulfurique ajouté dans l'erlenmeyer lors de la distillation.

**VNaOH** = volume de NaOH dépensé dans le titrage, mL.

**NNaOH** = standard de NaOH utilisé dans le titrage.

**m** = masse de l'échantillon, g.

### **II.3.11- Azote ammoniacal**

Prenez un volume connu d'échantillon et déterminez la quantité de NaOH à 35 % nécessaire pour porter le pH du volume prélevé à 9,5. Un autre volume égal d'échantillon est prélevé et placé dans l'appareil de distillation Kjeldahl. On ajoute immédiatement un volume de NaOH égal à celui déterminé précédemment, ce qui permet d'éviter la perte de NH<sub>3</sub> qui commence à être libéré par l'échantillon.

Le distillat est distillé par entraînement à la vapeur et recueilli sur un volume excédentaire d'acide sulfurique 0,1N (10 mL) auquel on a ajouté quelques gouttes de méthyl orange. Après distillation (200 ml), l'excès d'acide qui n'a pas été neutralisé par l'ammoniac libéré est titré par une solution de NaOH (0,1N) jusqu'à ce que l'indicateur vire. La formule suivante permet d'exprimer les résultats en mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> /g :

$$N - NH_4^+ \left( \frac{\text{mg } N-NH_4^+}{\text{g échantillon}} \right) = \frac{[(V_{H_2SO_4} \times N_{H_2SO_4}) - (V_{NaOH} \times N_{NaOH})] \times 14}{m} \quad (\text{Eq II.3.11.1})$$

Où :

**N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>** = azote ammoniacal, mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g d'échantillon.

**VH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** = volume d'acide sulfurique ajouté à l'erlenmeyer lors de la distillation, en mL.

**N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** = normalité de l'acide sulfurique ajouté dans l'erlenmeyer lors de la distillation.

**VNaOH** = volume de NaOH dépensé dans le titrage, mL.

**NNaOH** = standard de NaOH utilisé dans le titrage.

**m** = masse de l'échantillon, g.

### **II.3.12-Phosphore soluble**

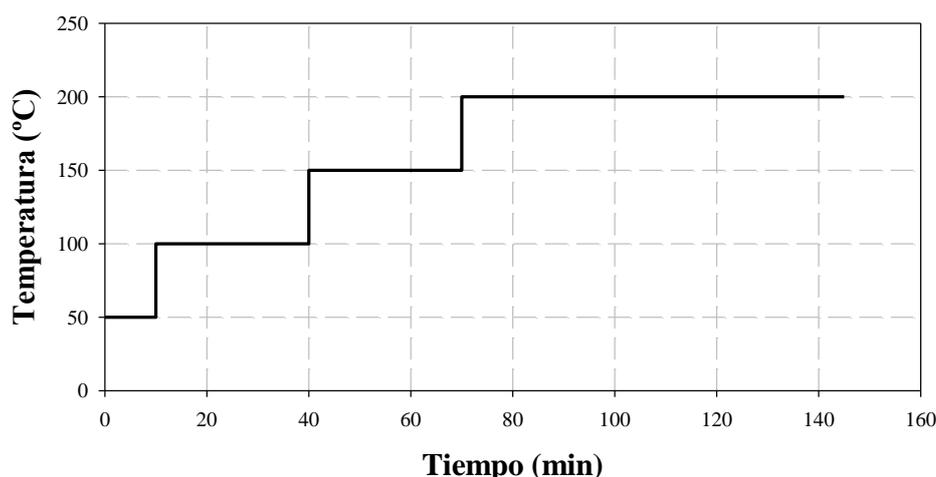
La détermination du phosphore soluble a été effectuée par la méthode colorimétrique. Environ 1 g de l'échantillon à analyser est pesé dans un tube Kjeldahl. Puis on ajoute 10 ml d'un réactif de digestion, composé de :

-500 ml d'acide sulfurique concentré/L de réactif.

-500 ml d'acide nitrique concentré par litre de réactif.

-100 g de nitrate de potassium par litre de réactif.

Le tube Kjeldahl est placé dans le bloc de digestion. L'échantillon est soumis à une température maximale de 200°C pendant 75 minutes, l'augmentation de la température étant progressive. La rampe de température est illustrée à la figure 20.



**Figure20** : Rampe de température utilisée pour la détermination du phosphore soluble.

Lorsque le processus de digestion est terminé, l'échantillon est transféré dans un bécher de 250 ml ; un peu d'eau distillée est ajoutée au tube contenant l'échantillon pour laver les résidus de l'échantillon dans le bécher. Le pH de l'échantillon est ajusté entre 6,8 et 7,2 par l'addition de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et de NaOH. Il est ensuite filtré et transféré dans une fiole jaugée de 100 mL. Le flacon est ensuite complété jusqu'au trait avec de l'eau distillée et 50 ml d'échantillon sont prélevés dans le flacon et transférés dans un erlenmeyer de 100 ml et 8 ml d'un second réactif combiné sont ajoutés, composé de :

- 50 ml d'acide sulfurique dilué (140 ml d'acide sulfurique concentré/L) dans 100 ml de réactif.
- 5 mL de solution de tartrate d'antimoine et de potassium (2,7 g/L) dans 100 mL de réactif.
- 15 ml de solution de molybdate d'ammonium (40,0 g/L) dans 100 ml de réactif.
- 30 mL de solution d'acide ascorbique (17,6 g/L) dans 100 mL de réactif.

Tous les échantillons sont ensuite analysés dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 880 nm. La concentration est obtenue en fonction d'une ligne d'étalonnage préalablement réalisée avec des étalons de concentration connue. Pour la correction de la turbidité ou de la couleur interférente, un blanc est préparé avec de l'eau distillée.

$$\mathbf{U. A. = 0,075 C + 0,0092} \quad \mathbf{(Eq. II.3.12.1)}$$

Où :

**U.A.** = unités d'absorbance obtenues dans le spectrophotomètre à 880 nm.

**C** = concentration de phosphore soluble, mg/L.

### **II.3.13-Métaux lourds**

La teneur en métaux lourds est déterminée par spectrométrie d'absorption atomique, également appelée spectrophotométrie de flamme. Un spectrophotomètre modèle AAnalyst 100/300 (Perkin-Elmer) a été utilisé. Il se compose d'un ordinateur avec un logiciel spécifique, du spectrophotomètre et de l'alimentation en gaz pour la combustion de la flamme. Les gaz utilisés étaient l'acétylène comme combustible et l'air synthétique comme comburant, la proportion de chacun variant en fonction du métal à analyser.

Afin de réaliser l'analyse, l'échantillon est soumis à une étape de digestion préliminaire selon la procédure suivante :

Environ 1 gramme d'échantillon est placé dans un creuset en porcelaine et calciné dans un four à 550°C pendant 1 heure. Après refroidissement, 10 mL d'acide chlorhydrique (riche à 37 %) sont ajoutés. Les échantillons sont amenés à sec sur une plaque chauffante à 150 °C. Enfin, 20 mL d'acide chlorhydrique (2N) sont ajoutés. Le contenu des creusets est filtré dans une fiole jaugée de 100 mL à l'aide d'un entonnoir et d'un papier filtre, et la solution filtrée est ajoutée au volume de 100 mL avec de l'eau ultrapure pour obtenir la solution à analyser.

Les métaux analysés sont le cuivre (Cu), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le plomb (Pb), le nickel (Ni) et le zinc (Zn), dont la concentration est déterminée en ppm (mg/L).

Après la digestion, l'analyse de l'échantillon commence par sa nébulisation, de sorte que les plus petites particules passent dans le brûleur où elles sont totalement atomisées à haute température, le reste étant évacué vers un réservoir de stockage. Une fois l'échantillon atomisé, un faisceau de lumière provenant d'une lampe est projeté sur lui. Une lampe, avec une longueur d'onde spécifique, est utilisée pour chacun des métaux analysés. Une partie du faisceau lumineux sera absorbée par un métal donné et le reste atteindra le détecteur. Le logiciel calcule la différence entre le faisceau lumineux émis et celui qui atteint ensuite le détecteur, l'absorption étant fonction de la concentration du métal présent dans l'échantillon.

Pour l'analyse de chacun des métaux, une ligne standard est préparée avec des dilutions du métal à différentes concentrations. Ces dilutions sont préparées à partir de normes commerciales de concentration de 1000 ppm. Lors de l'analyse de l'échantillon, le logiciel compare le signal de l'échantillon par rapport à la ligne standard créée, de manière à ce que le signal corresponde à une certaine concentration.

# *Chapitre III :*

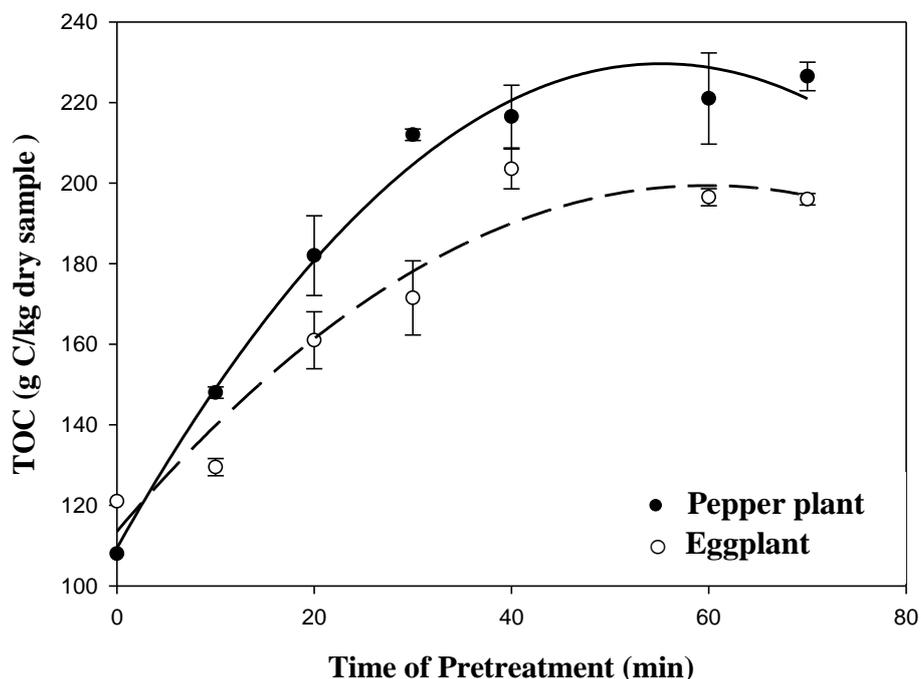
## *Résultats et Discussions*

## Chapitre III : Résultats et Discussions

### III.1.Évaluation du prétraitement hydrothermique

Le prétraitement hydrothermique est destiné à solubiliser la matière organique et à accélérer le processus de biométhanisation. Simultanément, la concentration de certains composés toxiques peut augmenter, notamment les composés phénoliques et d'autres substances issues de la dégradation des sucres tels que les acides organiques, les dérivés du furane et le furfural [302].

Pour évaluer le prétraitement hydrothermique, la solubilisation du carbone et de l'azote pendant la durée de l'expérience a été considérée. La figure 21 montre la variation de la concentration en TOC (valeurs absolues) avec le temps de prétraitement.



**Figure 21 :** Variation de la concentration en TOC dans les substrats à différents temps de prétraitement (valeurs absolues).

Comme on peut le voir, le TOC a augmenté avec le temps jusqu'à 40 minutes. Après ce temps, aucune augmentation de la teneur en TOC n'a été observée pour les deux substrats, et

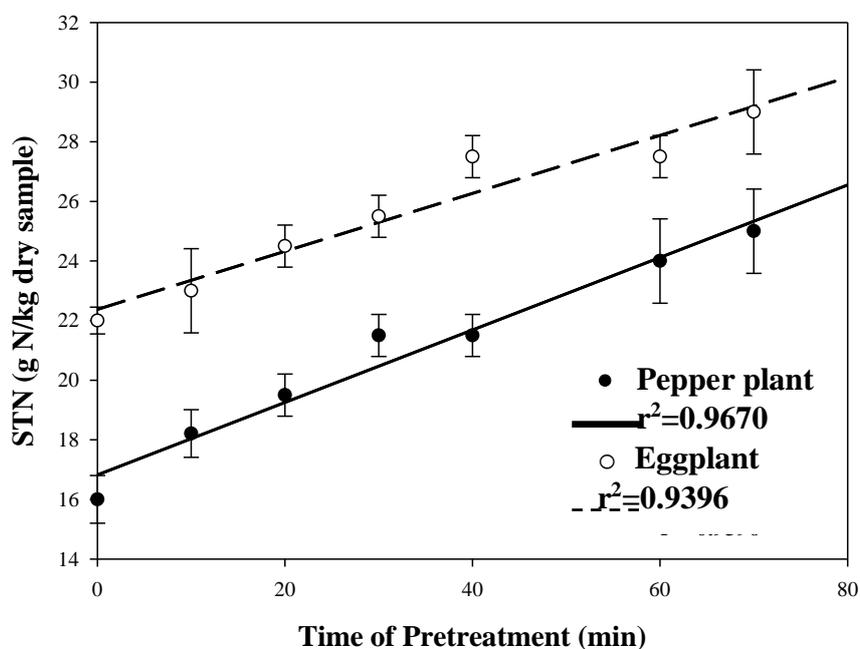
les valeurs de PP sont restées supérieures aux valeurs de le PE correspondantes. Comme la montre la figure, l'augmentation de la concentration en TOC dans le PP après le prétraitement a conduit à une augmentation de 108 g TOC/kg par rapport au substrat non traité (une augmentation de 100 %). EP a montré une augmentation de 82 g C/kg (68%), ce qui était inférieure à la précédente. Ces valeurs correspondent à un temps de prétraitement de 40 minutes, puisque la solubilisation de la matière organique ne s'améliorant pas aux temps plus élevés. D'autres auteurs ont évalué la solubilisation de la matière organique dans les algues à travers les CODs et ont obtenu le le pourcentage de solubilisation le plus élevé pour un prétraitement hydrothermique à 120°C pendant 30 minutes [303], bien que cela dépend des caractéristiques de chaque substrat.

À des temps de prétraitement courts, des composés plus labiles (par exemple, des sucres) sont solubilisés, tandis que des composés plus récalcitrants nécessitent généralement des périodes plus longues pour se solubiliser (composés lignocellulosiques et acides humiques). Par conséquent, un temps de prétraitement de 40 min a permis un niveau adéquat de solubilisation des composés organiques qui pourrait augmenter la vitesse du processus de biométhanisation ultérieur.

Des durées plus longues ne seraient pas souhaitables en raison des besoins énergétiques plus élevés et de la solubilisation parallèle de l'azote, qui pourrait devenir un inhibiteur de la digestion anaérobie à des concentrations élevées. Cependant, à des concentrations adéquates, l'azote soluble est un nutriment essentiel au bon développement du processus [304].

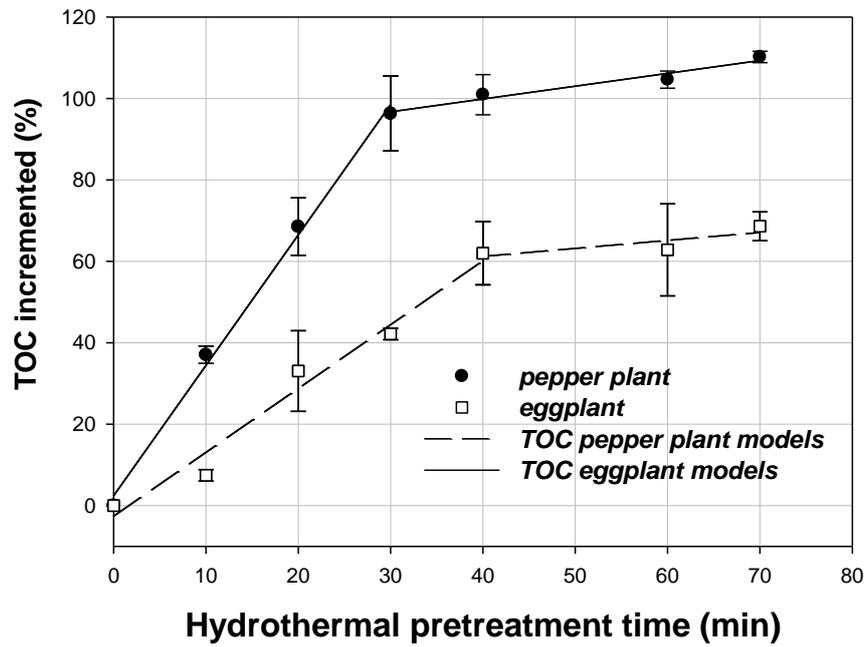
La figure 22 montre le comportement de solubilisation de l'azote total soluble (STN), qui est similaire pour les deux substrats. L'azote solubilisé augmentait linéairement par rapport au temps de prétraitement (PP  $r^2= 0,9670$  et EP  $r^2= 0,9395$ ). Comme on peut le voir sur la figure, EP a une teneur en STN plus élevé que le PP pour les différents temps de prétraitement.

Cependant, le PP montre une augmentation plus importante de la teneur en STN qu'EP. Plus précisément, le STN a augmenté de 56% et de 27% par rapport aux valeurs de PP et EP sans prétraitement, respectivement. Ces deux valeurs sont supérieures aux 22% obtenus par Tampio et al. (2014) [305] pour les déchets alimentaires prétraités à 160°C. Plus précisément, en termes de valeurs relatives, la figure 23 montre comment le temps de prétraitement hydrothermique a influencé la solubilisation du carbone (figure 23A) et de l'azote (figure 23B). Plus précisément, deux étapes ont été clairement identifiées dans la solubilisation du TOC et du STN : "l'hydrolyse initiale" et "l'hydrolyse intensive".

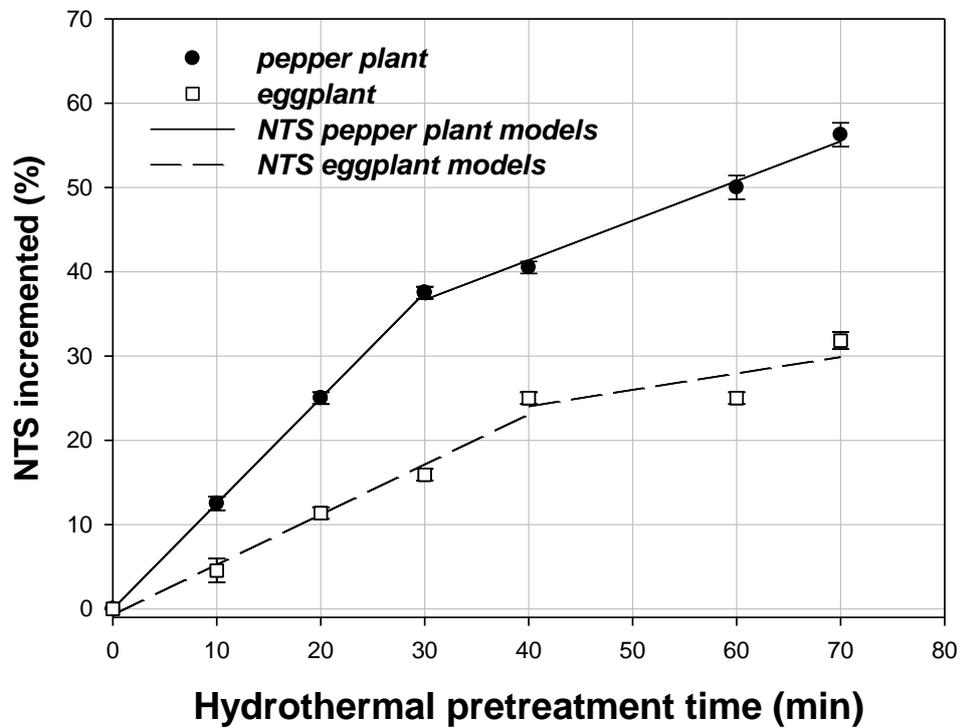


**Figure 22** : Variation de la concentration en STN dans les substrats à différents temps de prétraitement (valeurs absolues).

A)



B)



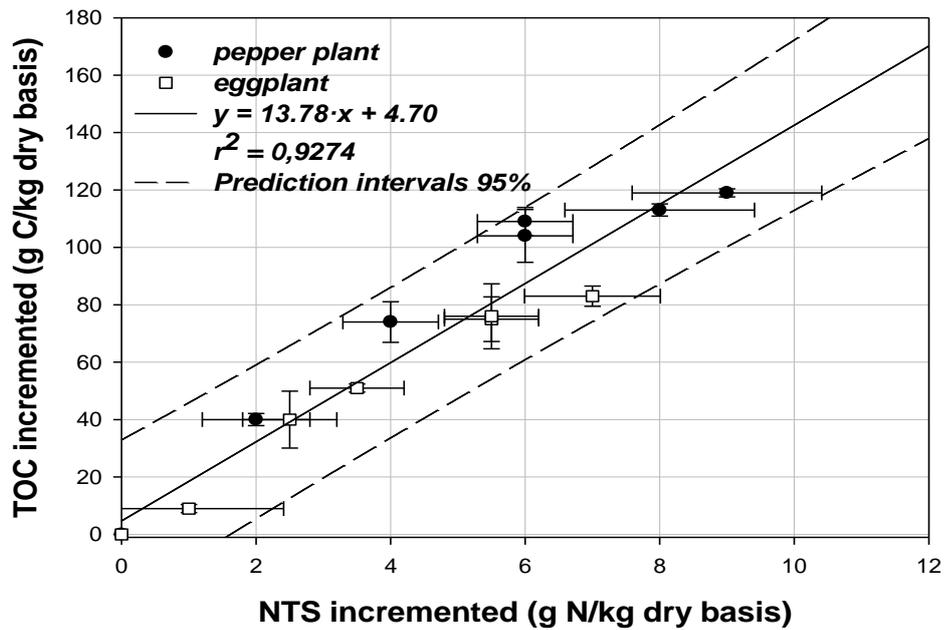
**Figure 23 :** Valeurs relatives de la solubilisation du carbone (A) et de l'azote (B) avec le temps de prétraitement hydrothermique.

Le tableau 12 montre les principaux résultats de l'ajustement linéaire des résultats expérimentaux obtenus à partir du prétraitement hydrothermique pour le poivron et l'aubergine. Comme on peut le voir, il a été entériné qu'après 40 minutes de prétraitement, la solubilisation de la matière organique et de l'azote était assez stable pour tous les temps expérimentaux étudiés.

	<b>Slope</b> (g C/gN)	<b>Ordinate</b> (g C/kg, dry basis)	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Slope</b> (g C/gN)	<b>Ordinate</b> (g C/kg, dry basis)	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>TOC INCREMENTED</b>						
		<i>Initial hydrolysis</i>			<i>Intensive hydrolysis</i>	
<i>Pepper Plant</i>	3.20	2.41	0.9958	0.31	87.65	0.9449
<i>Eggplant</i>	1.57	-2.62	0.9676	0.19	53.42	0.6823
<b>TSN INCREMENTED</b>						
		<i>Initial hydrolysis</i>			<i>Intensive hydrolysis</i>	
<i>Pepper Plant</i>	1.25	0.00	0.9999	0.47	22.56	0.9882
<i>Eggplant</i>	0.59	-0.71	0.9844	0.19	16.23	0.5714

**Tableau 12 :** Paramètres de l'ajustement linéaire de la solubilisation du carbone organique et de l'azote avec le temps de prétraitement.

Comme le prétraitement affecte l'ensemble du substrat, la figure 24 montre qu'il existe une tendance croissante et proportionnelle à la solubilisation des deux éléments (carbone et azote) avec l'augmentation du temps de prétraitement hydrothermique, avec une pente de 13,78 g TOC/g STN. Il existe une relation linéaire claire entre les deux variables, avec un coefficient de corrélation de 0,9274 et dans un intervalle de prédiction de 95 %, dans lequel 100 % des données expérimentales sont incluses. Par conséquent, l'augmentation du carbone dans la fraction liquide est proportionnelle à la solubilisation de l'azote, indiquant ainsi que le prétraitement hydrothermique affecte l'ensemble du substrat [306]. Gil et al. (2019)[307] ont rapporté une pente de 10 g TOC/g STN dans le prétraitement hydrothermique de la plante de tomate, ce qui coïncide avec les valeurs obtenues dans cette étude.

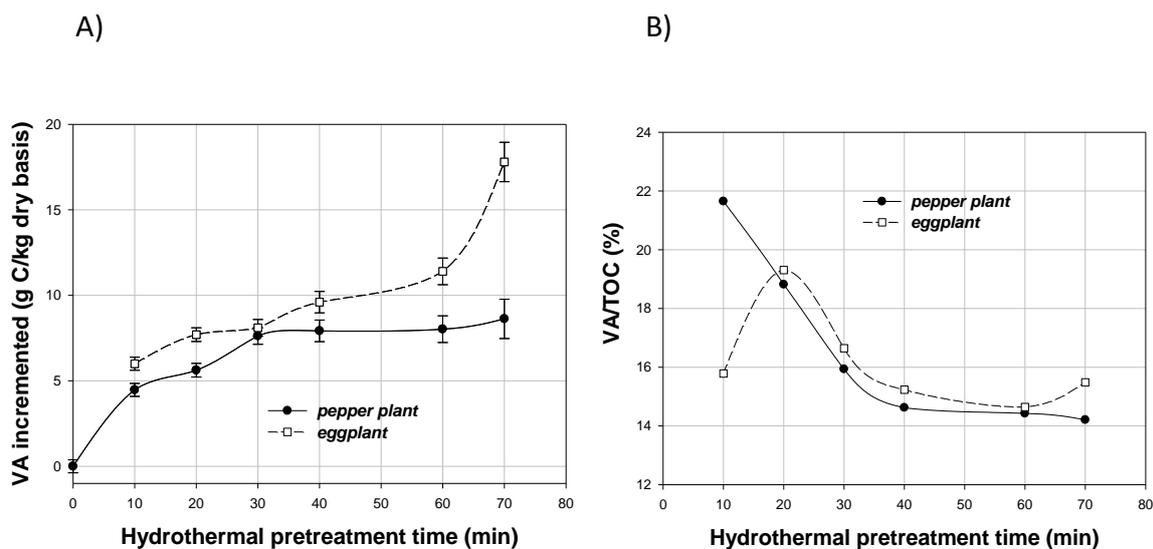


**Figure 24** : Relation de la solubilisation du carbone et de l'azote avec le prétraitement.

Il est important de noter que des températures supérieures à 160°C favorisent la solubilisation de la biomasse lignocellulosique, mais des composés phénoliques sont également présents, qui peuvent avoir des effets inhibiteurs et/ou toxiques pour la population microbologique [308, 309,310]. Cependant, étant donné que dans ces expériences la température de fonctionnement était inférieure à 160°C, aucun composé indésirable ne devrait être formé. De plus, un pH compris entre 4 et 7 empêche la dégradation des sucres et la formation d'inhibiteurs [311]. Dans ce cas, le pH après prétraitement variait de 6,63 à 6,00 et de 7,00 à 6,02 unités de pH pour EP et PP, respectivement, correspondant à la matière première et au temps de prétraitement maximal.

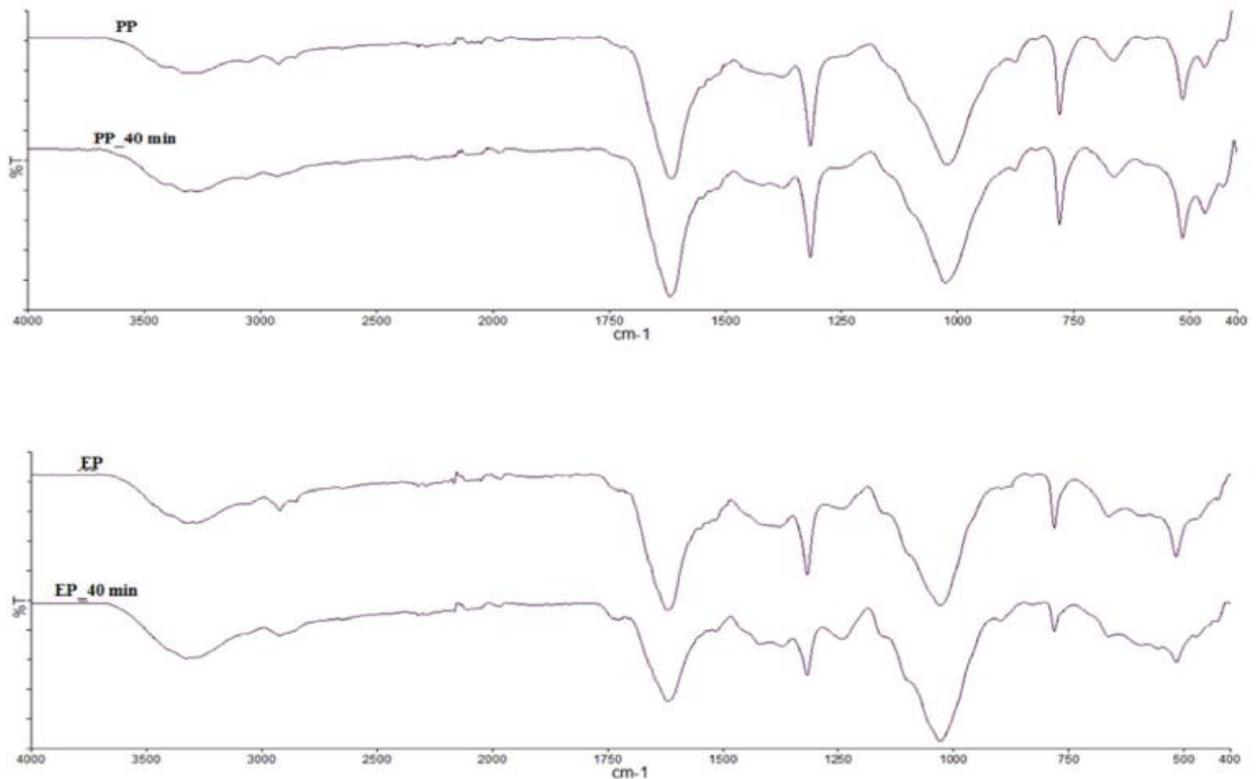
Une autre caractérisation de la fraction solubilisée issue du prétraitement hydrothermique du poivron et de l'aubergine a démontré la présence d'acides gras à chaîne courte (C2-C6), qui pourraient être des composés souhaitables dans la digestion anaérobie de ces plantes. Comme on peut le voir sur la figure 25A, la solubilisation des acides volatils était progressive avec le temps de prétraitement. Dans le cas de l'aubergine, la concentration en acide total variait de

19 à 40 g C/kg de déchets secs, alors que chez le poivron, elle n'augmentait que de 23 à 32 g C/kg de déchets secs. Cependant, à des moments inférieurs à 40 min, la fraction d'acides dans la concentration totale de matière organique soluble était la plus élevée (figure 25B). Ces résultats, ainsi que ceux exprimant la solubilisation totale de la matière carbonée, ont conduit à la sélection d'un temps de prétraitement de 40 min, à 120°C et 2 atm.



**Figure 25 :** Solubilisation des acides volatils (A) et rapport VA/TOC (B) avec temps de prétraitement.

Suite à l'application du prétraitement hydrothermique, les changements structurels possibles dans les substrats ont été évalués à 40 minutes. Comme on peut le voir dans les spectres FTIR (Fig. 26), il n'y a eu aucun changement dans les groupes fonctionnels présents dans les substrats EP et PP après le prétraitement. Cela indique que la matière prétraitée a une structure chimique similaire à celle du substrat initial.



**Figure 26** : Spectres FTIR du substrat avec et sans prétraitement (400-4000  $\text{cm}^{-1}$  longueur d'onde). (A) Prétraitement PP et PP (40 min), (B) Prétraitement EP et EP (40 min).

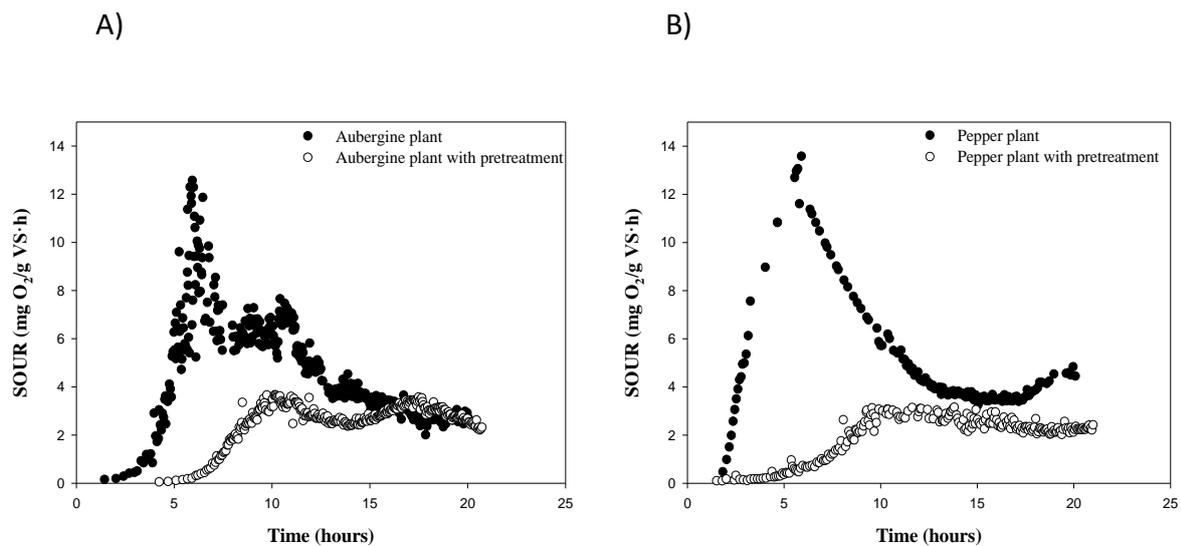
La large bande à  $1042 \text{ cm}^{-1}$  est due à l'étirement C-O, C-C ou à la flexion de C-OH dans les hémicelluloses [312]. Les pics correspondant à  $1045$  et  $1270 \text{ cm}^{-1}$  sont généralement liés à la teneur en lignine [313]. Ces auteurs ont appliqué un prétraitement hydrothermique à des températures supérieures à  $165^\circ\text{C}$  à la paille de blé et aux tiges de maïs et ont constaté des variations dans les profils.

Compte tenu de l'ensemble de la caractérisation des substrats prétraités, on peut affirmer que le prétraitement hydrothermique est une méthode efficace pour accélérer la solubilisation en raison de son effet à la fois sur les propriétés physico-chimiques du PP et de l'EP dans les conditions d'étude. Il est important de noter que les résultats du prétraitement dépendront du type de substrat, du type de prétraitement et des conditions opératoires. De plus, en raison de

la complexité des structures lignocellulosiques, le même prétraitement appliqué à différents substrats peut donner des résultats différents [314].

### III.2. Test de biodégradabilité

Le taux de consommation d'oxygène dans la dégradation microbienne de la matière organique contenue dans les substrats peut être évalué par biodégradabilité aérobie à condition que la solubilisation et/ou l'hydrolyse se produisent dans les 20 heures dans les essais respirométriques décrits dans la section Matériels et méthodes. En effet, la détermination de la consommation d'oxygène est utile pour évaluer la biodégradabilité du substrat. La figure 27 montre les résultats du test de biodégradabilité de l'EP et PP lors de l'application d'un prétraitement hydrothermique de 40 min sans prétraitement.



**Figure 27 :** Biodégradabilité aérobie (A) aubergine, (B) poivrons.

Comme le montre la figure, le taux de consommation d'oxygène augmente jusqu'à atteindre une valeur maximale ( $SOUR_{max}$ ) et puis diminue en raison d'une diminution de la matière organique biodégradable disponible dans la liqueur de mélange. Comme on peut le voir, la valeur SOUR maximale diffère pour chaque échantillon, dont les valeurs spécifiques pour chaque échantillon sont présentées dans le tableau 13. Les valeurs SOUR<sub>max</sub> les plus élevées

pour les deux substrats correspondent aux échantillons sans prétraitement, indiquant ainsi une activité microbiologique plus élevée. De plus, la valeur  $OD_{20}$  est une variable proportionnelle à la biodégradabilité des échantillons évalués [307]. Ces valeurs sont également présentées dans le tableau 2, où il est montré que l' $OD_{20}$  la plus élevée correspond aux deux substrats sans prétraitement. Ce comportement peut être dû au fait que le prétraitement assainit le substrat en inhibant sa population microbienne et le test de biodégradabilité indique donc des valeurs plus faibles dans ces cas. Il est à noter que dans ce type de test, l'inoculation de microorganismes n'est pas réalisée comme dans le cas de la demande biologique en oxygène (DBO).

En résumé, l'essai respirométrique indique que les deux substrats sont biodégradables dans des conditions aérobies et pourraient donc être sensibles aux conditions anaérobies. En fait, plusieurs auteurs ont observé une corrélation entre la biodégradabilité aérobie et anaérobie dans les déchets de différents types, ainsi que dans les substrats lignocellulosiques et autres provenant des déchets de l'industrie de la viande [315,316].

		<b>SOUR<sub>max</sub></b> (mg O <sub>2</sub> /(g VS·h))	<b>OD<sub>20</sub></b> (mg O <sub>2</sub> /g VS)
<b>Eggplant</b>	Withoutpretreatment	12	78
	Withpretreatment (40 min)	4	37
<b>Pepper plant</b>	Withoutpretreatment	13	111
	Withpretreatment (40 min)	3	20

**Tableau 13 :** Variables respirométriques :  $SOUR_{max}$  et  $OD_{20}$ .

### **III.3. Évaluation de la digestion anaérobie**

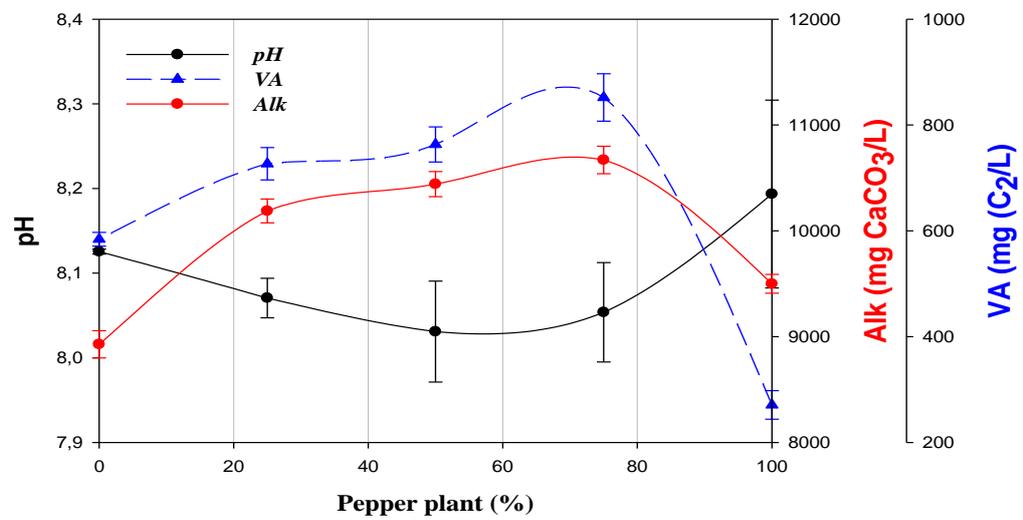
#### **III.3.1. Paramètres de surveillance et stabilité**

Après l'évaluation des conditions de prétraitement hydrothermique, la digestion anaérobie de PP et EP avec un prétraitement hydrothermique de 40 minutes a été évaluée. En effet, l'objectif de la réalisation d'un prétraitement hydrothermique du poivron et de l'aubergine était d'améliorer la production de méthane et la stabilité du processus de valorisation. La stabilité

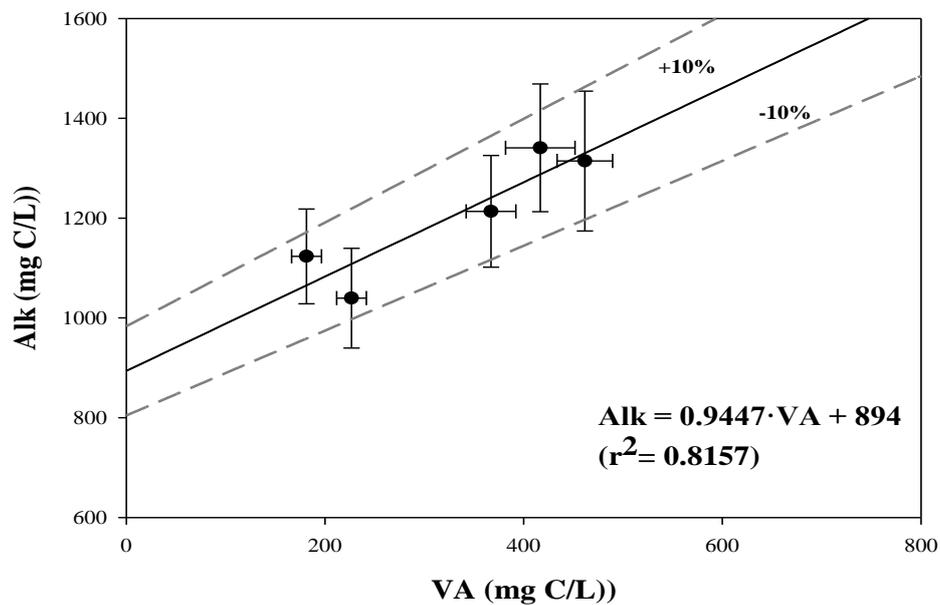
du processus anaérobie est un facteur essentiel pour la récupération d'énergie appropriée du substrat prétraité, étant donné que la déstabilisation du processus peut facilement se produire. Plus précisément, la stabilité de la digestion anaérobie a été évaluée en fonction de l'évolution du pH, de l'alcalinité et de l'acidité volatile pendant la digestion anaérobie des PP et EP prétraités. Le pH indique la stabilité du système pendant les processus de digestion anaérobie [317]. Les méthanogènes (micro-organismes anaérobies responsables de la production de méthane) sont particulièrement sensibles au pH [318]. Une valeur de pH comprise entre 6,5 et 8,5 a été rapportée dans la littérature comme étant adéquate pour la digestion anaérobie, mais le pH optimal pour un processus efficace est d'environ 7,0 [316]. En effet, la méthanogenèse est inhibée à des valeurs de pH inférieures à 6,5 et supérieures à 8,5 [315]. Dans ce cas, le pH était approximativement constant tout au long des expériences, avec une valeur moyenne de  $8,15 \pm 0,06$  (figure 28A). Cette valeur était légèrement supérieure à la valeur optimale recommandée dans la littérature pour la digestion anaérobie, ce qui pourrait être une conséquence de la valeur du pH observée dans l'inoculum de la station d'épuration. Néanmoins, le processus s'est avéré stable même à ces valeurs de pH.

La figure 28A montre les valeurs d'alcalinité atteintes pour chaque pourcentage des substrats dans le mélange. La tendance de l'alcalinité était en ligne avec la variation du pH à l'augmentation de la charge ajoutée. Plus précisément, les valeurs d'alcalinité ont augmenté de  $8395 \pm 370$  à  $10\,780 \pm 540$  mg  $\text{CaCO}_3$  /L. Les valeurs d'alcalinité les plus basses coïncident avec les charges des substrats individuels, tandis que la concentration de VA a augmenté pratiquement tout au long des expériences, les valeurs les plus basses étant observées pour la digestion individuelle des déchets.

A)



B)



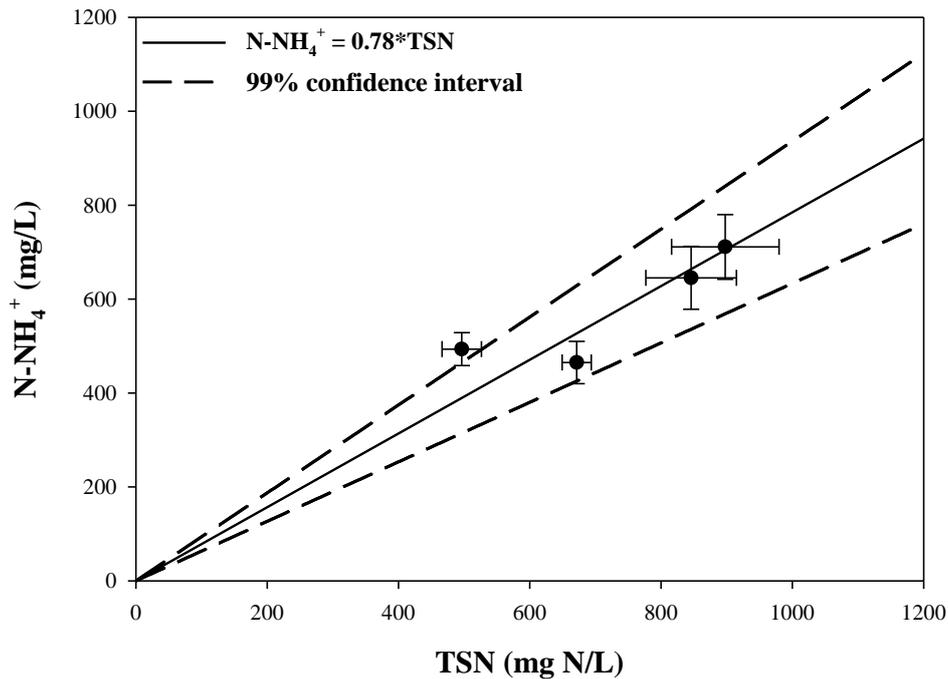
**Figure 28 :**(A) Variation du pH, VA (mg C<sub>2</sub>/L) et Alk(mg CaCO<sub>3</sub>/L) au cours de la codigestion anaérobie. (B) Relation entre VA (mg C/L) et Alk (mg C/L) lors de la codigestion.

Bien que les valeurs d'alcalinité soient élevées, elles sont compensées par la teneur en VA car le rapport VA/ Alk était inférieur à 0,1 tout au long du processus expérimental, ce qui indique un processus stable [319]. Comme on peut l'observer sur la figure 28B, Alk et VA ajustés à

une relation linéaire ( $r^2$  de 0,8157). Les valeurs obtenues au cours du procédé sont à  $\pm 10\%$  près, ce qui est cohérent avec le rapport VA/ Alk indiqué ci-dessus. De plus, Lane (1984) a décrit que pour des digestions stables, il est impératif de maintenir un rapport satisfaisant entre les niveaux de VA et d'alcalinité, compte tenu de la relation empirique montrée dans l'Eq.1 :

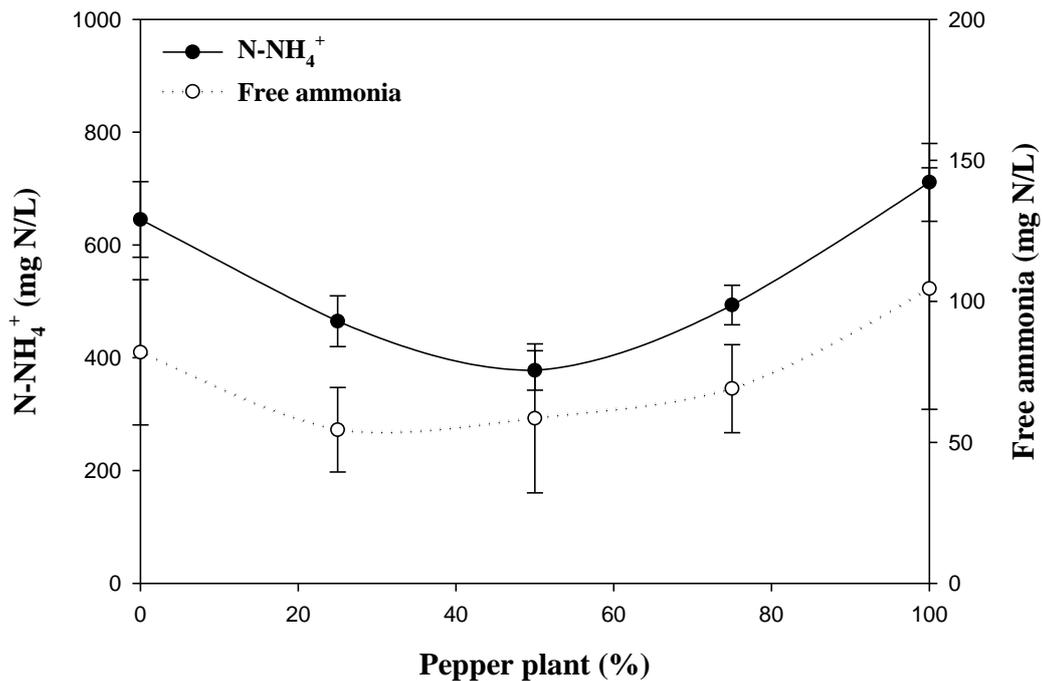
$$\text{Alk (mg CaCO}_3\text{/L)} - 0,7 \cdot \text{VA (mg acétique/L)} \text{ (Eq.1)}$$

qui ne doit pas être inférieur à 1500 pour une digestion équilibrée. Les valeurs obtenues à partir de l'Eq.1 étaient toujours supérieures à 1500 (entre  $8280 \pm 260$  et  $10\,160 \pm 270$ ). Ces résultats indiquent la grande stabilité du procédé et montrent que la biométhanisation des deux substrats étudiés était une alternative prometteuse après la réalisation du prétraitement hydrothermique. De plus, il est important de surveiller la concentration en ammoniac libre car c'est l'un des principaux inhibiteurs de la digestion anaérobie [320]. En ce qui concerne l'évolution de la teneur en azote soluble dans la liqueur de mélange des digesteurs lors de la co-digestion, 78 % de la teneur en TSN est sous forme ammoniacale (Figure 29). La teneur en azote est comprise entre  $377 \pm 35$  et  $711 \pm 69$  mg N/L et ne dépasse pas les valeurs indiquées dans la littérature comme inhibitrices [304].



**Figure 29 :** Relation entre la concentration de TSN et de  $\text{N-NH}_4^+$  dans la liqueur de mélange des digesteurs.

D'autre part, la teneur en azote ammoniacal, la température et le pH sont des facteurs qui déterminent la formation d'ammoniac libre. Cette forme d'azote est considérée comme étant responsable de l'inhibition de l'ammoniac [321]. La figure 30 montre la teneur en ammoniac libre au cours du processus de co-digestion anaérobie, qui a été calculée selon le processus décrit dans la littérature [322]. Les valeurs de l'ammoniac libre sont restées constantes de  $54 \pm 15$  à  $104 \pm 42$  mg N/L, les valeurs les plus basses étant observées pour des charges de 50 % de chaque substrat dans le mélange et les valeurs les plus élevées étant à 100 % de chaque substrat, ce qui coïncide avec le comportement de l'azote ammoniacal. Par conséquent, les valeurs observées n'étaient pas élevées et ne dépassaient pas les valeurs indiquées dans la littérature comme inhibiteurs du processus [323,304]. Étant donné que les valeurs les plus basses ont été obtenues pour les charges correspondant à 50 % de chaque substrat (PP:EP, 50:50), ce pourcentage de résidus dans le mélange pourrait convenir au traitement combiné dans les conditions expérimentales.

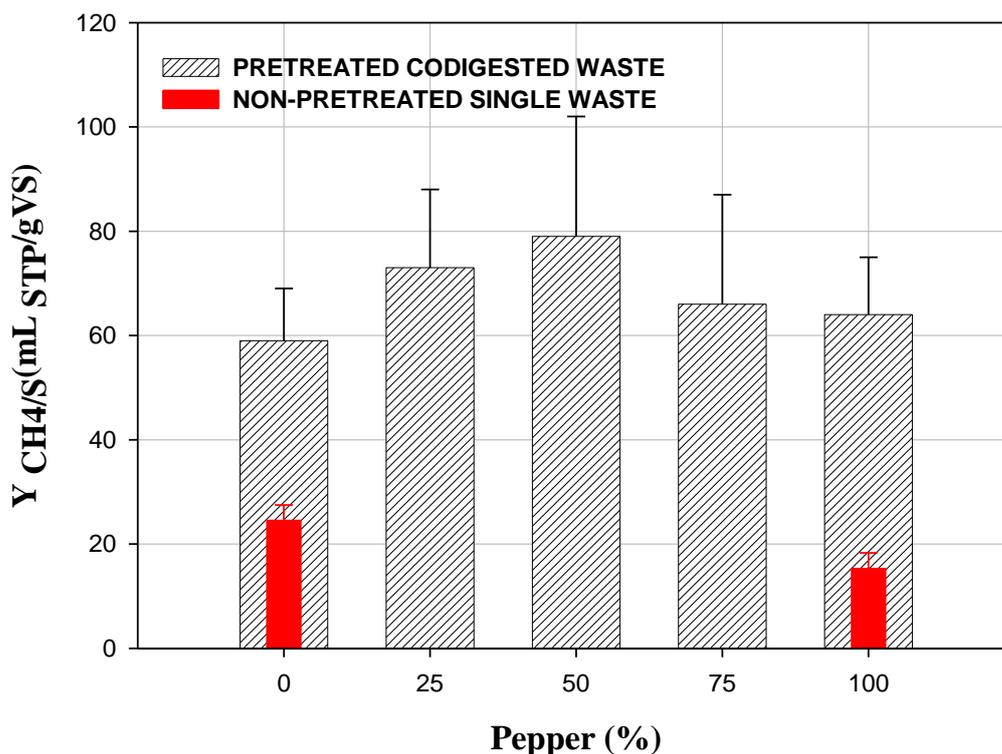


**Figure30 :** Variation de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et d'ammoniac libre dans la liqueur de mélange des digesteurs alimentés avec différents pourcentages de substrats prétraités.

### **III.3.2. Coefficient de rendement en méthane et solubilisation de la matière organique**

La matière organique contenue dans les substrats a été dégradée par l'activité microbienne et transformée en biogaz lors de la biométhanisation, dont les performances en méthane ont été quantifiées. En fait, la production de gaz méthane est l'un des paramètres les plus importants qui doit être optimisé dans les processus de digestion anaérobie.

Afin d'évaluer la production de méthane au cours du processus, le rendement de production des substrats PP et EP sans prétraitement a été pris comme référence. Les valeurs obtenues pour la production de rendement de méthane à partir des déchets simples et co-digérés sont présentées à la figure 31.



**Figure31 :** Production de méthane ( $Y_{CH_4/S}$ ) à partir de déchets simples et co-digérés.

Comme on peut le voir, le coefficient de rendement en méthane était plus élevé avec les déchets prétraités par rapport aux substrats non traités. La biométhanisation des déchets prétraités a obtenu des valeurs maximales de rendement en méthane de  $59 \pm 10$  et  $64 \pm 11$  mL STP  $CH_4$  /g VS pour l'aubergine et le poivron, respectivement, contre  $25 \pm 3$  et  $15 \pm 3$  mL STP  $CH_4$  /g VS pour les mêmes déchets non prétraités. En ce qui concerne le processus de co-digestion, un effet synergique clair a été observé en termes de production de méthane après la réalisation du prétraitement. Le rendement maximal en méthane a été atteint à un pourcentage de mélange de 50 % de poivrons et de 50 % d'aubergines avec un coefficient de rendement en méthane de 79 mL STP  $CH_4$ /g de VS.

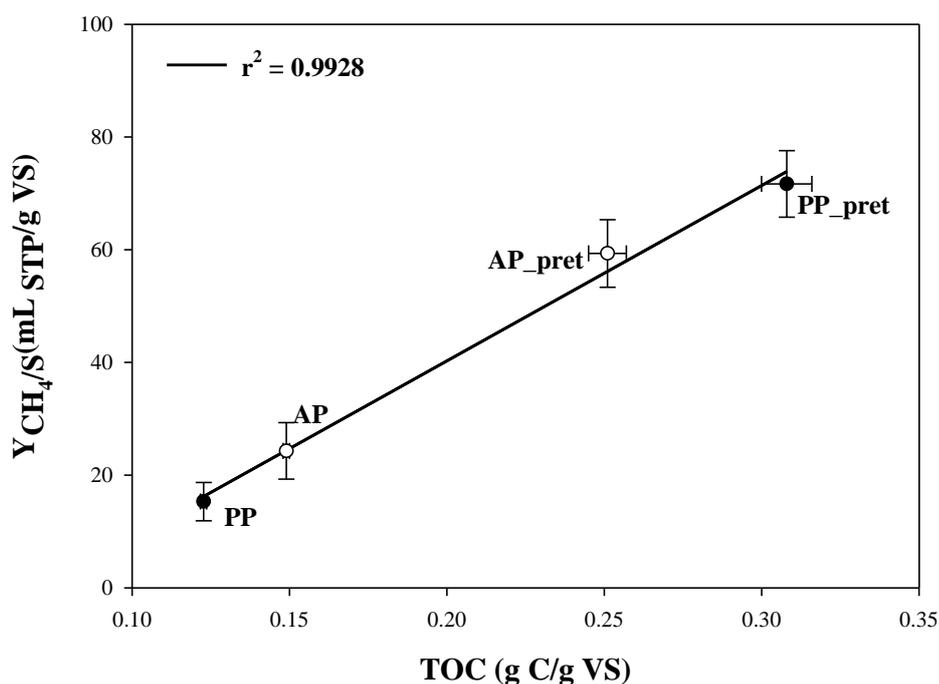
Des résultats similaires ont été obtenus par Sen et al., (2013)[324], qui ont évalué la co-digestion du tourteau de graines de Jatropha (JSC) avec la bagasse pour améliorer le potentiel

de production de biogaz. La biométhanisation unique du substrat produit un rendement de biogaz de 0,064 m<sup>3</sup>/kgVS, tandis que la co-digestion a augmenté le carbone/azote des aliments (10 % JSC + 5 % Bagasse, p/v) de 14 à 26,5 (JSC seul), ce qui a donné un rendement en biogaz de 0,136 m<sup>3</sup>/kg VS de JSC. Une étude récente a évalué la co-digestion de la macroalgue brune *Saccharinalatissima* avec des boues d'épuration municipales mixtes (WWS) dans des conditions mésophiles et thermophiles [325]. Le temps de rétention hydraulique (HRT) et le taux de charge organique (OLR) ont été fixés respectivement à 19 jours et 2,1 g VS/ L.j . Initialement, WWS était digéré seul. Par la suite, un pourcentage de l'OLR total (20 %, 50 % et enfin 80 %) a été remplacé par la biomasse de *S. latissima*. Des conditions de digestion optimales ont été observées à une charge d'algues moyennement faible ( $\leq 50$  % de l'OLR total) avec un rendement moyen en méthane proche de 220 et 250 NmL /g d'algues VS dans des conditions mésophiles et thermophiles, respectivement. Dans notre cas, les résultats ont également démontré la pertinence d'appliquer un prétraitement hydrothermique au poivrier et à l'aubergine dans les conditions de l'étude. De plus, la co-digestion a permis une amélioration significative du rendement en méthane. Gil et al. (2018)[307], entre autres auteurs, ont expliqué que ce phénomène est dû à un équilibre adéquat entre les nutriments importants dans la biométhanisation (C, N et P). Costa et al. (2014) [326] ont comparé l'effet des prétraitements hydrothermaux, acides et alcalins sur la bagasse de canne à sucre et ont également obtenu les meilleures valeurs de potentiel biochimique de méthane pour le prétraitement hydrothermique. Ils ont obtenu une valeur de production de méthane de 198 mL CH<sub>4</sub>/g de substrat prétraité à 200°C pendant 10 min. D'autres études ont appliqué un prétraitement alcalin et une co-digestion avec des boues pour améliorer la production de méthane à partir de microalgues dans des expériences par lots [327]. Les résultats ont montré que le prétraitement alcalin augmentait le degré de désintégration des microalgues de 20 % à

34 % au maximum après 12 h de traitement, mais que la production spécifique de méthane n'augmentait que de 279 à 298 mL/g VS.

La co-digestion avec les boues a stimulé la production de méthane, et la meilleure synergie en termes de production de méthane (343 mL/g VS) s'est produite lorsque le rapport microalgues/boues a atteint 2:1 en fonction de leur VS. Le rendement était supérieur de 12,4 % et 20,0 % à ceux de la monodigestion des microalgues et des boues, respectivement. Par conséquent, la co-digestion était un meilleur choix pour améliorer la production de méthane à partir de microalgues.

Il est à noter que les résultats obtenus pour le rendement de production du poivron et de l'aubergine sont cohérents avec ceux obtenus pour le TOC dans la liqueur de mélange. Les valeurs de TOC les plus faibles (100 mg C/L) coïncident avec les valeurs de production de méthane les plus élevées dues principalement à la transformation de la matière organique solubilisée et biodégradable en biogaz. La figure 32 montre la teneur en TOC des substrats avec et sans prétraitement par rapport à la production de méthane observée sur chacun d'eux. Comme on peut le voir, il existe une corrélation linéaire ( $r^2 = 0,9928$ ) entre la teneur en TOC de chaque substrat et la production totale de méthane. Cette linéarité est similaire à celle obtenue par Pecorini et al. (2016) [328] pour la production de méthane et de DCO dans le traitement des substrats lignocellulosiques.



**Figure32** : Corrélation entre le TOC dans les substrats et le coefficient de rendement en méthane ( $Y_{CH_4/S}$ ).

### III.4. Analyse cinétique

La modélisation cinétique est un outil important pour comprendre les mécanismes dynamiques de la digestion anaérobie. La modélisation fournit des informations clés pour la conception des réacteurs, prédire la production de méthane et optimiser la performance des bioréacteurs [329]. Le modèle cinétique le plus adapté doit être choisi non seulement pour prévoir les performances des différents réacteurs, mais aussi pour mieux examiner les voies métaboliques et les mécanismes mis en jeu lors de la digestion anaérobie de la biomasse lignocellulosique[330]. Selon le substrat et les conditions opératoires, le procédé de digestion anaérobie en mode discontinu présente une phase de latence et donc tous les modèles ne sont pas adaptés. Dans ce contexte, le modèle de Gompertz modifié est adapté et fournit également la valeur du taux de production spécifique maximale de méthane et la production maximale de méthane accumulée comme paramètres d'ajustement [331].

De plus, le modèle décrit la densité cellulaire pendant les périodes de croissance microbienne en termes de taux de croissance exponentiels et de durée de la phase de latence [332]. En fait, le modèle de Gompertz modifié est toujours considéré comme l'un des modèles les plus appropriés pour prédire la production de méthane [333,334].

Par conséquent, dans cette étude, la production cumulée de méthane a été modélisée à l'aide du modèle de Gompertz modifié (Eq.2) :

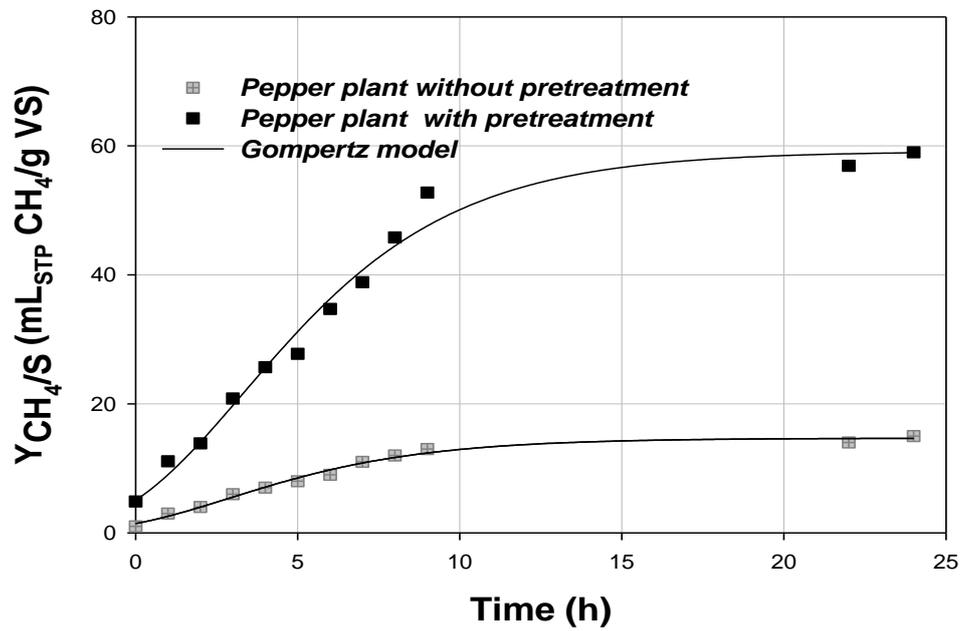
$$Y_{CH_4/S} = G_m \exp(-\exp(-\mu_m(t-\lambda)/G_m)) \quad (\text{Eq. 2})$$

Où  $Y_{CH_4/S}$  est le rendement estimé en méthane (mL STP /g VS ajouté) à un temps de digestion donné  $t$  (h),  $G_m$  est le potentiel de production de méthane maximum du substrat (mL STP /g VS ajouté),  $\mu_m$  est le taux de production spécifique maximum de méthane (mL STP /g VS ajouté  $^{-1}$ ) et  $\lambda$  est la période de phase de latence ou le temps minimum requis pour produire du biogaz (h).

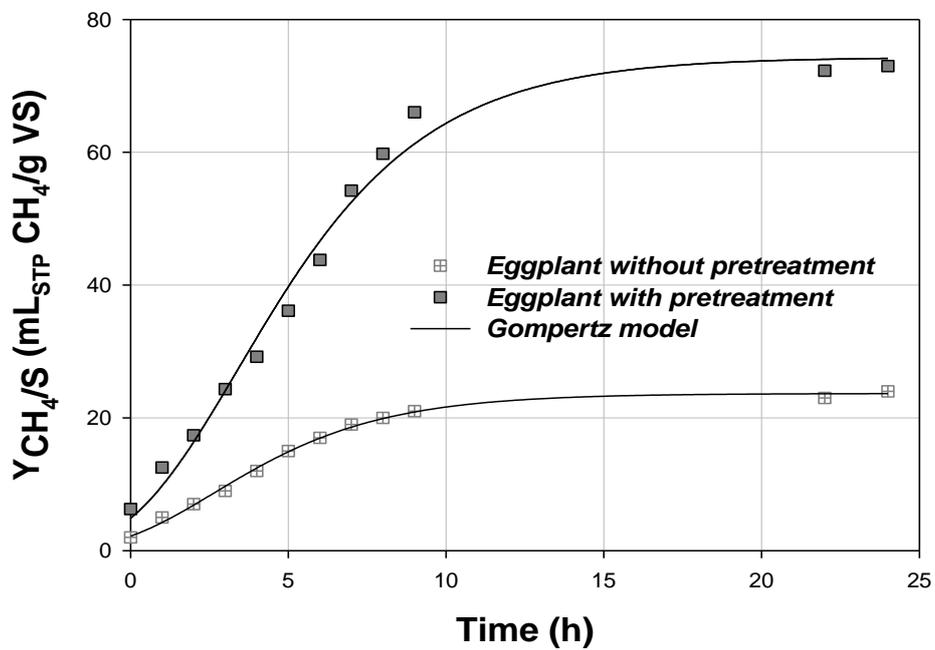
Figure 33 montre un exemple de l'évolution du rendement de production de méthane mesuré, ainsi que les courbes représentatives de ces productions spécifiques ajustées à partir du modèle de Gompertz modifié des charges ajoutées de poivron et d'aubergine avec et sans prétraitement hydrothermique (pour des charges de 1 g VS /L).

Comme on peut le voir, la production de méthane a tendance à suivre la fonction sigmoïde générale (courbe en S) avec la présence d'une phase de latence dans la production de méthane, qui a été légèrement retardée par rapport à la dégradation de la matière organique. Par la suite, la production de méthane a augmenté rapidement en raison de la croissance exponentielle des micro-organismes dans les digesteurs et de la consommation de matière organique facilement biodégradable au début du processus. Après cette augmentation, la production de méthane commence à se stabiliser jusqu'à s'arrêter complètement. Cela pourrait être dû à l'absence de matière organique biodégradable disponible en fin de procédé.

A)



B)



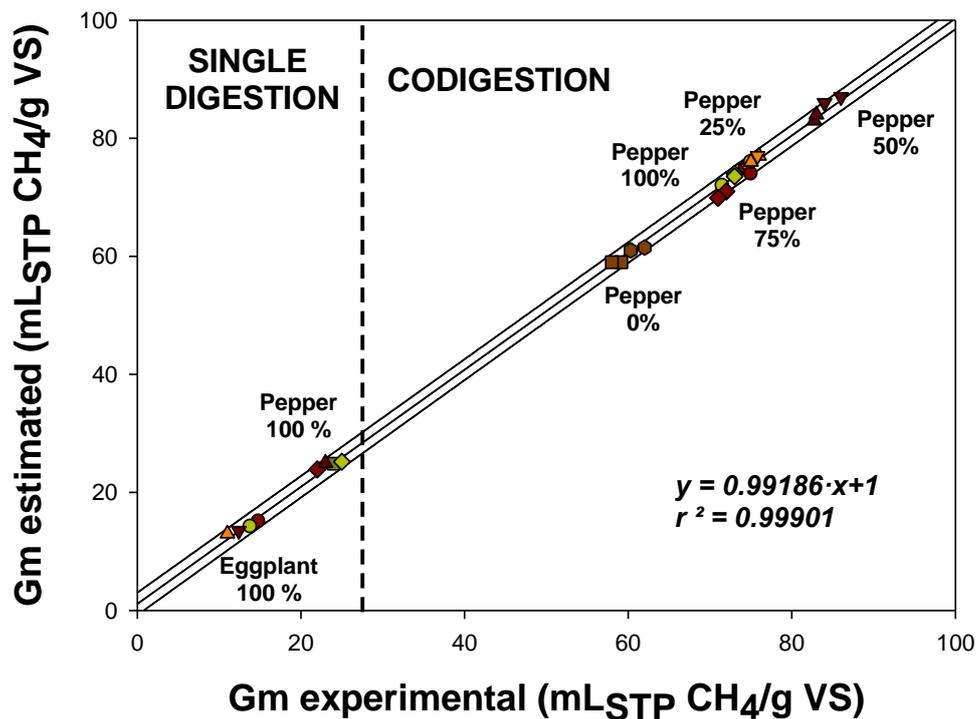
**Figure33** : Effet du prétraitement hydrothermique sur le rendement de la production de méthane lors de l'ajustement du modèle de Gompertz modifié à la digestion anaérobie unique du poivron et de l'aubergine.

Le tableau 14 montre les valeurs des différents paramètres du modèle pour chaque substrat unique (non traité et prétraité) et leur co-digestion. Comme on peut l'observer, les valeurs du coefficient de corrélation étaient nettement élevées dans la plupart des cas, ce qui indique la pertinence du modèle cinétique pour reproduire la production de méthane avec le temps dans les conditions d'étude.

	<b>Gm</b> (mL <sub>STP</sub> CH <sub>4</sub> /g VS)	<b>μm</b> (mL <sub>STP</sub> CH <sub>4</sub> /gVS <sub>added</sub> .h)	<b>λ</b> (h)	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>SINGLE ANAEROBIC DIGESTION</b>				
<b>100% pretreatedpepper</b>	85.22 ± 2.60	22.97 ± 1.72	3.34 ± 0.22	0.9851
<b>100% untreatedpepper plant</b>	59.16 ± 1.81	15.95 ± 1.12	3.34 ± 0.16	0.9892
<b>100% pretreatedeggplant</b>	74.32 ± 2.06	21.86 ± 1.87	3.41 ± 0.191	0.9878
<b>100% untreatedeggplant</b>	23.67 ± 0.32	7.75 ± 0.28	2.66 ± 0.09	0.9967
<b>ANAEROBIC CO-DIGESTION</b>				
<b>25% pretreatedpepper</b>	73.02 ± 2.87	14.78 ± 2.07	2.97± 0.35	0.9750
<b>50% pretreatedpepper</b>	82.76 ± 19.44	9.12 ± 2.53	7.91 ± 0.98	0.9034
<b>75% pretreatedpepper</b>	74.58 ± 5.80	11.54 ± 2.08	9.71 ± 0.79	0.9882

**Tableau 14** : Paramètres du modèle de Gompertz modifié : potentiel maximal de production spécifique de méthane(Gm), taux de production spécifique maximum de méthane ( $\mu m$ ), latence ( $\lambda$ ) et coefficients de régression ( $R^2$ ).

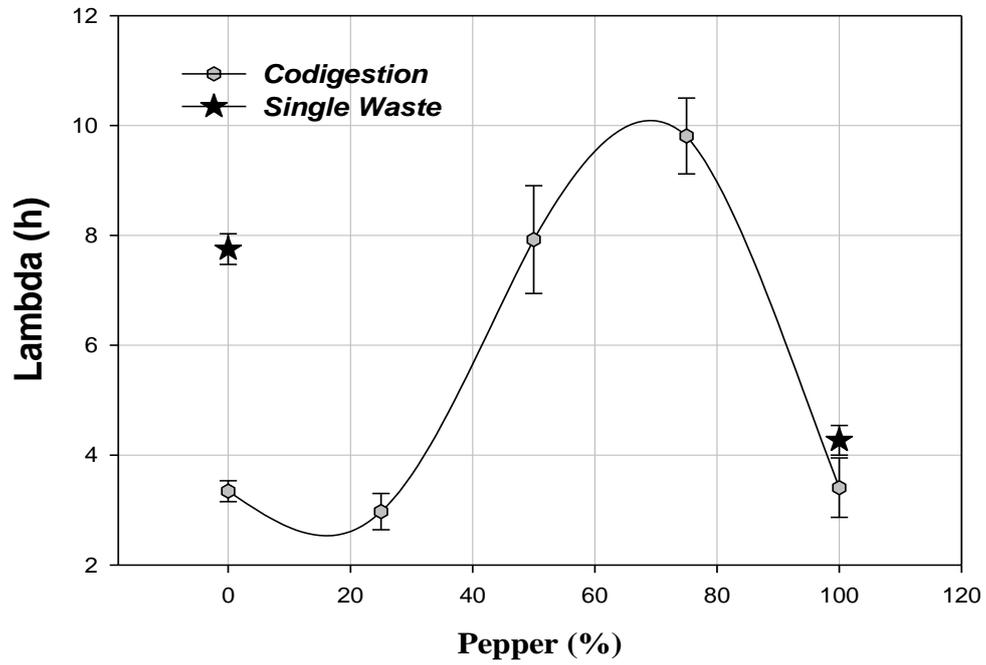
De plus, la figure 34 montre les valeurs simulées du potentiel de production spécifique maximale de méthane par rapport aux valeurs expérimentales de la même variable pour l'ensemble de l'expérience. Un très bon accord entre les deux variables a été observée ( $r^2 = 0,99901$ ), ce qui confirme la pertinence du modèle proposé.



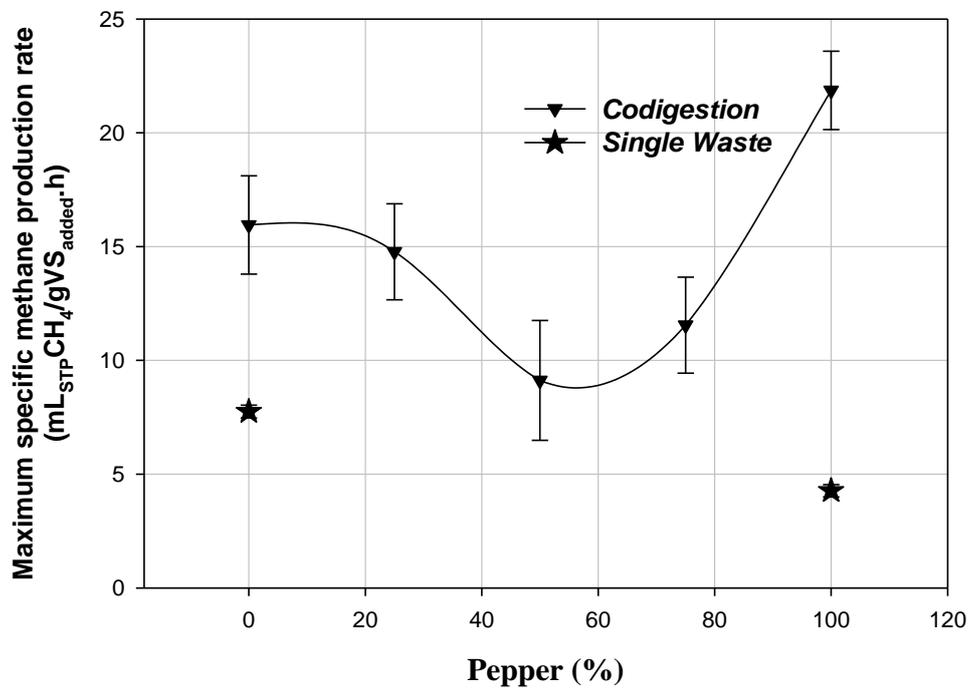
**Figure 34 :** Validation du modèle par des valeurs simulées de la production maximale cumulée de méthane par rapport aux valeurs expérimentales.

Enfin, la figure 35 montre la variation des valeurs du temps de latence ( $\lambda$ ) et du taux de production spécifique maximal de méthane. ( $\mu_m$ ) avec le pourcentage de poivrons dans le mélange à co-digérer, ainsi que pour les déchets simples. Le temps de latence ( $\lambda$ ) est également un indicateur important de la biodégradabilité du substrat et de son taux d'utilisation [335]. Comme on peut le voir, il y a eu une augmentation marquée des valeurs de  $\lambda$  avec des pourcentages croissants de poivron dans le mélange de déchets co-digéré (de  $2,95 \pm 0,35$  à  $9,71 \pm 0,79$  h). Il convient de noter que l'augmentation du temps de latence s'est également accompagnée d'une diminution du taux de production spécifique maximal de méthane aux pourcentages les plus élevés de poivron dans le mélange de déchets. L'augmentation des composés solubles ralentit l'apparition de la génération de méthane et la cinétique de dégradation.

A)



B)



**Figure 35** : Évolution des valeurs de temps de latence ( $\lambda$ ) et du taux de production spécifique maximale de méthane ( $\mu\text{m}$ ) avec le pourcentage de poivron dans le mélange co-digéré.

Cependant, selon le faible temps de la phase de latence, la valeur la plus élevée du taux de production spécifique maximale de méthane a été obtenue pour la seule digestion du poivron prétraité ( $22 \pm 2$  mLSTPCH<sub>4</sub>/g VS·h). Cela pourrait s'expliquer par la nature lignocellulosique des déchets étudiés, qui rend la dégradation plus difficile. Bolado-Rodríguez et al. (2016)[336] ont utilisé le modèle de Gompertz pour ajuster la production cumulée de méthane à partir de la fraction solide de paille de blé et de bagasse de canne à sucre (deux substrats lignocellulosiques) prétraitée par autoclavage thermique à 121 °C pendant 60 min. Ils ont obtenu un potentiel méthane de 225 mLSTPCH<sub>4</sub> /g VS et un temps de latence  $\lambda = 17,5$  h, supérieurs à ceux de notre prétraitement hydrothermal avec co-digestion (50% poivron + 50% aubergine) (Gm:  $79 \pm 23$  mL CH<sub>4</sub> /g VS et  $\lambda = 7,91 \pm 0,98$  h). La présence d'une concentration plus élevée d'hydrates de carbone dans ces résidus hydrolysés augmente à la fois le rendement en méthane et le temps de phase de latence, comme cela s'est produit avec la co-digestion à l'étude. Cependant, les valeurs de  $\mu_m$  étaient toujours plus élevées pour les substrats co-digérés que pour les traitements simples, indiquant ainsi la pertinence du traitement combiné, avec les avantages sociaux, économiques et environnementaux qui en découlent.

## Conclusion générale

L'agriculture intensive est l'un des piliers de la société actuelle en raison de la nécessité de produire des aliments, mais c'est aussi l'une des plus grandes sources de production de déchets organiques. En fait, les zones géographiques présentant d'importants problèmes d'élimination des déchets agro-industriels se sont répandues dans le monde entier, notamment dans les pays les plus productifs. Dans ce contexte et dans le cadre du concept d'économie circulaire, il est considéré comme essentiel de réutiliser les déchets agronomiques et de restituer l'énergie à l'environnement économique, ainsi que l'eau et les ressources aux sols. Cependant, bien que la gestion adéquate des déchets agricoles soit nécessaire, la biodégradabilité faible ou lente des résidus végétaux en raison de leur contenu lignocellulosique pourrait entraver la pertinence du processus de valorisation.

Le travail de recherche expérimental réalisé dans cette thèse de doctorat a démontré que l'application d'un prétraitement hydrothermique facilite la biométhanisation des déchets de poivrons et d'aubergines, qui sont des déchets lignocellulosiques abondants et fréquemment cultivés dans les régions méditerranéennes.

Les expériences réalisées à l'échelle du laboratoire ont montré une solubilisation intensive de différentes fractions carbonées et azotées des substrats originaux lorsqu'ils sont soumis à un prétraitement hydrothermique à 120°C et 2 atm pendant 40 min. Plus précisément, plusieurs changements structuraux ont été observés dans les spectres FTIR des substrats après l'application du prétraitement, tandis qu'une caractérisation plus poussée de la fraction solubilisée dérivée du prétraitement hydrothermique du poivron et de l'aubergine a démontré la présence d'acides gras à chaîne courte (C2-C6), qui pourraient être des composés souhaitables dans la digestion anaérobie de ces plantes résiduelles. La solubilisation des acides volatils était progressive avec le temps de prétraitement. Dans le cas de l'aubergine, la

concentration en acides totaux a varié de 19 à 40 g C/kg de déchets secs, tandis que dans le cas du poivron, elle n'a augmenté que de 23 à 32 g C/kg de déchets secs.

D'autre part, bien que le prétraitement ait assaini les substrats en inhibant leur contenu microbien, les tests respirométriques réalisés ont confirmé que les deux substrats sont biodégradables en conditions aérobies et pourraient donc être susceptibles d'être valorisés en anaérobiose. En fait, la co-digestion anaérobie ultérieure s'est avérée capable de valoriser les déchets prétraités.

Plus précisément, le processus de biométhanisation de mélanges de déchets contenant du poivron et de l'aubergine en pourcentages variables s'est avéré stable en termes de pH (avec une valeur moyenne de  $8,15 \pm 0,06$ ) et de rapport VA/Alk (inférieur à 0,1 tout au long de l'expérimentation). En ce qui concerne l'évolution de la teneur en azote soluble dans la liqueur de mélange des digesteurs pendant la co-digestion, sa concentration n'a pas dépassé les valeurs indiquées dans la littérature comme étant inhibitrices. Les valeurs les plus faibles d'ammoniac libre ont été observées pour des charges de 50% de chaque substrat dans le mélange et les valeurs les plus élevées à 100% de chaque substrat, ce qui coïncide avec le comportement de l'azote ammoniacal et suggère la pertinence de la co-digestion des deux déchets.

En outre, le coefficient de rendement du méthane était plus élevé avec les déchets prétraités par rapport aux substrats non traités. La biométhanisation des déchets prétraités a conduit à des valeurs maximales de rendement en méthane de  $59 \pm 10$  et  $64 \pm 11$  mLSTP CH<sub>4</sub>/g VS pour l'aubergine et le poivron, respectivement ( $25 \pm 3$  et  $15 \pm 3$  mLSTP CH<sub>4</sub>/g VS pour les mêmes déchets non traités). En ce qui concerne le processus de co-digestion, un effet synergique clair a été observé en termes de production de méthane après avoir effectué le prétraitement. Le rendement maximal de méthane a été atteint à un pourcentage de mélange de 50% de poivron-50% d'aubergine avec un coefficient de rendement de méthane de 79

mLSTP/g VS. En outre, la fraction digérée et stabilisée (contenant de l'eau et des matières en suspension) pourrait être une source de nutriments pour les sols et une manière intéressante de maintenir les ressources (eau, azote, phosphore, carbone, etc.) dans la zone de culture elle-même.

Enfin, un modèle cinétique de Gompertz modifié a été proposé pour décrire la production de méthane en fonction du temps. Le modèle cinétique a reproduit avec succès les résultats expérimentaux de chaque substrat individuel (non traité et prétraité) et de leur co-digestion, avec un coefficient de corrélation de 0,999. En outre, il y avait une augmentation marquée des valeurs du temps de latence ( $\lambda$ ) avec des pourcentages croissants de poivron dans le mélange de déchets co-digérés (de  $2,95 \pm 0,35$  à  $9,71 \pm 0,79$  h). L'augmentation du temps de latence s'est également accompagnée d'une diminution du taux de production spécifique maximal de méthane ( $\mu_m$ ) aux pourcentages les plus élevés de poivrier dans le mélange de déchets. Cependant, les valeurs de  $\mu_m$  étaient toujours plus élevées pour les substrats co-digérés que pour les traitements individuels, indiquant ainsi la pertinence du traitement combiné.

Par conséquent, en tenant compte de la nécessité de rechercher des processus durables dans ses trois aspects : social, économique et environnemental, la valorisation centralisée des déchets agricoles fréquents à haut volume de génération, à travers une co-digestion anaérobie améliorée, est une option assez prometteuse.

## Références bibliographiques

- [1] Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., Ladisch, M., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 96, 673–686.
- [2] Kumari, D., Singh, R., 2018. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: a critical review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 90, 877–891.
- [3] Deublein, D.S.A., 2008. *Biogas from Waste and Renewable Resources - an Introduction*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, Weinheim.
- [4] Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., Ladisch, M., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 96, 673–686.
- [5] Us, E., Perendeci, N.A., 2012. Improvement of methane production from green house residues: Optimization of thermal and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pretreatment process by experimental design. *Chem. Eng. J.* 181–182, 120–131.
- [6] Parra, S., Aguilar, F.J., Calatrava, J., 2008. Decision modelling for environmental protection: The contingent valuation method applied to greenhouse waste management. *Biosyst Eng.* 99, 469–477.
- [7] Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, Junta de Andalucía 2016. Líneas de actuación de las consejerías de agricultura, pesca y desarrollo rural y de medio ambiente y ordenación del territorio en materia de gestión de restos vegetales en la horticultura de Andalucía.  
[https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Lineas\\_actuacion\\_materia\\_gestion\\_restos\\_vegetales\\_horticultura\\_Andalucia.pdf](https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Lineas_actuacion_materia_gestion_restos_vegetales_horticultura_Andalucia.pdf)
- [8] Kim, Y., Kreke, T., Ko, J.K., Ladisch, M.R., 2015. Hydrolysis-determining substrate characteristics in liquid hot water pretreated hardwood. *Biotechnol. Bioeng.* 112, 677–687.
- [9] Gu, Y., Zhang, Y., Zhou, X., 2015. Effect of Ca (OH) (2) pretreatment on extruded rice straw anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 196, 116–122.
- [10] Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Quéméneur, M., Trably, E., Steyer, J.P., Carrère, H., 2014. Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzates inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. *Biotechnol. Adv.* 32, 934–951.
- [11] Nissila, M.E., Lay, C.-H., Puhakka, J.A., 2014. Dark fermentative hydrogen production from lignocellulosic hydrolyzates - A review. *Biomass Bioenergy* 67, 147–159.
- [12] Bougrier, C., Delgenes, J.P., Carrère, H., 2008. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. *Chem. Eng. J.* 139, 236–244.
- [13] Lim, J.W., Wang, Jing-Yuan, 2013. Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Waste Manage.* 33 (4), 813–819.
- [14] Carrère, H., Dumas, C., Battimelli, A., Batstone, D.J., Delgenes, J.P., Steyer, J.P., Ferrer, I., 2010. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. *J. Hazard. Mater.* 183, 1–15.
- [15] Li, W., Guo, J., Cheng, H., Wang, W., Dong, R., 2017. Two-phase anaerobic digestion of municipal solid wastes enhanced by hydrothermal pretreatment: Viability, performance and microbial community evaluation. *Appl. Energy* 189, 613–622.
- [16] Hendriks, A.T., Zeeman, G., 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 100, 10–18.
- [17] Kumari, D., Singh, R., 2018. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: a critical review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 90, 877–891.
- [18] Bong C.P.C., Lim L.Y., Lee C.T., Ho W.S., Klemes J.J., 2017. The kinetics for mathematical modelling on the anaerobic digestion of organic waste - a review. *Chem. Eng. Trans.* 61, 1669–1674.  
<https://doi.org/10.3303/CET1761276>

- [19] Krishania, M., Vijay, V.K., Chandra, R., 2013. Methane fermentation and kinetics of wheat straw pretreated substrates co-digested with cattle manure in batch assay. *Energy* 57, 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.05.028>
- [20] Bakraoui, M., Karouach, F., Ouhammou, B., Lahboubi, N., Gnaoui, Y.E., Bari, H.E..n.d. Kinetics study of methane production from anaerobic digestion of sludge and wastewater recycled pulp and paper by different models simulation 10.
- [21] Charles, W., Walker, L., Cord-Ruwisch, R., 2009. Effect of preaeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresour. Technol.* 100, 2329–2335. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.051>.
- [22] Melikoglu, M., Lin, C.S.K., Webb, C., 2013. Analysing global food waste problem: Pinpointing the facts and estimating the energy content. *Cent. Eur. J. Eng.* 3, 157–164. <https://doi.org/10.2478/s13531-012-0058-5>.
- [23] Marchaim, U., (1994). Les procédés de production de biogaz pour le développement de technologies durables. I. 1014-4218, FAO. 95
- [24] Lusk, P., Wheeler, P. et Rivard, C., (1996). Deploying anaerobic digesters: Current status and future possibilities, National renewable energy Laboratory
- [25] Braun, R., (2007), Anaerobic digestion: A multi-faceted process for energy, environmental management and rural development. Improvement of crop plants for industrial end uses. P. Ranalli, Springer: 335-416.
- [26] Oleszkiewicz, J.A. et Poggi-Varaldo, H.M., (1997), High-solids anaerobic digestion of mixed municipal and industrial waste. *Journal of Environmental Engineering* 123 (11): 1087-1092.
- [27] Appels L, Baeyens J, Degrève J, Dewil R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Prog Energy Combust Sci* 2008;34:755–81. doi:10.1016/j.pecs.2008.06.002.
- [28] Godon J-J. Aspects biochimiques et microbiologiques de la méthanisation. *Moletta R Méthanisation* 2008:61–85.
- [29] Sperling M von, Chernicharo CA de L. Biological wastewater treatment in warm climate regions. Vol. 1: [...]. London: IWA [u.a.]; 2005.
- [30] Harper SR, Pholand FG. Recent Developments in Hydrogen Management During Anaerobic Biological Wastewater Treatment. *BiotechnolBioeng* 1986;XXVIII:585–602.
- [31] Rotaru A-E, Shrestha PM, Liu F, Shrestha M, Shrestha D, Embree M, et al. A new model for electron flow during anaerobic digestion: direct interspecies electron transfer to *Methanosaeta* for the reduction of carbon dioxide to methane. *Energy Env Sci* 2014;7:408–15. doi:10.1039/C3EE42189A.
- [32] Sun J. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. *PolymDegrad Stab* 2004;84:331–9. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2004.02.008.
- [33] Åkerholm M, Hinterstoisser B, Salmén L. Characterization of the crystalline structure of cellulose using static and dynamic FT-IR spectroscopy. *Carbohydr Res* 2004;339:569–78. doi:10.1016/j.carres.2003.11.012.
- [34] Hanaki K, Matsuo T, Nagase M. Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process. *BiotechnolBioeng* 1981;23:1591–1610.
- [35] Lyberatos G, Skiadas IV. Modelling of anaerobic digestion—a review. *Glob Nest Int J* 1999;1:63–76.
- [36] Mata-Alvarez J, editor. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. London: IWA; 2003.
- [37] Pavlostathis, S., Giraldo-Gomez, E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 21(5-6), 411-490.
- [38] Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S., Pavlostathis, S., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H., Vavilin, V. 2002. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1(ADM 1). *Water Sci. Technol.*, 45(10), 65-73.
- [39] Chynoweth, D.P., Pullammanappallil, P. 1996. Anaerobic digestion of municipal solid wastes. *Microbiology of solidwaste*, 71-113.

- [40] Bayard, R. & Gourdon, R. (2010). Traitement Biologique des Déchets. Techniques de l'Ingénieur, Génie des Procédés, 42 (J 129), J3966/1-J3966/26.
- [41] Mata-Alvarez, J., Mace, S., Llabres, P. 2000. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresour. Technol.*, 74(1), 3-16.
- [42] Siritwongrungsom, V., Zeng, R.J., Angelidaki, I. 2007. Homoacetogenesis as the alternative pathway for H<sub>2</sub> sink during thermophilic anaerobic degradation of butyrate under suppressed methanogenesis. *Water Res.*, 41(18), 4204-4210.
- [43] Amani, T., Nosrati, M., Sreerishnan, T.R., 2010. Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects - a review. *Environ. Rev.* 18, 255-278.
- [44] Mizuno, O., Li, Y.Y., Noike, T., 1997. The behavior of sulfate-reducing bacteria in acidogenic phase of anaerobic digestion. *Water Res.* 32, 1626-1634.
- [45] Angelidaki, I. et Sanders, W., (2004), Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 3: 117-129.
- [46] Buffière, P. et Frédéric, S., (2008), A comprehensive method for organic matter characterization in solid wastes in view of assessing their anaerobic biodegradability. *Water Science and Technology* 58 (9): 1783-1788.
- [47] Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H. et Vavilin, V.A., (2002), The iwa anaerobic digestion model n°1 (adm1). *Water Science and Technology* 45 (10): 65-73.
- [48] Veeken, A. et Hamelers, B., (1999), Effect of temperature on hydrolysis rate of selected biowaste components. *Bioresour. Technol.* 69: 249-254.
- [49] Sanders T. M., Veeken A. H. M., Zeeman G. & Van der Lier J. B., Analysis and optimisation of the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste, chap. 3, In: MATA-ALVAREZ Eds. *Biomethanization of the organic fraction of municipal solid waste*, London : IWA publishing, 2003, 313 p.
- [50] Aguilar-Juarez O., Analyse et modélisation des réactions biologiques aérobies au cours de la phase d'exploitation d'un casier d'un centre d'enfouissement technique. Thèse de doctorat spécialité Génie des Procédés, INSA de Toulouse, 2000, 233 p.
- [51] Mata-Alvarez, J., (2003). *Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes*. London, IWA Publishing: 323.
- [52] Bayard, R. et Gourdon, R., (2001). Traitement biologique des déchets. *Techniques de l'ingénieur*. G2: 22.
- [53] Fukuzaki, S., Nishio, N. et Nagai, S., (1990), Kinetics of the methanogenic fermentation of acetate. *Applied and Environmental Microbiology* 56 (10): 3158-3163.
- [54] Borja, R., Sanchez, E. et Weiland, P., (1996), Influence of ammonia concentration on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure in upflow anaerobic sludge blanket (uasb) reactors. *Process Biochemistry* 31 (5): 477-483.
- [55] Julien Bollon. Etude des mécanismes physiques et de leur influence sur la cinétique de méthanisation en voie sèche : essais expérimentaux et modélisation. <http://theses.insa-lyon.fr/publication/2012ISAL0011/these.pdf>.
- [56] Hernández M. Hydrogen production from anaerobic co-digestion of coffee mucilage and swine manure. 2012.
- [57] Siddiqui Z, Horan NJ, Anaman K. Optimisation of C:N Ratio for Co-Digested Processed Industrial Food Waste and Sewage Sludge Using the BMP Test. *Int J Chem React Eng* 2011;9. doi:10.1515/1542-6580.2327.
- [58] Nurliyana MY, H'ng PS, Rasmina H, Kalsom MSU, Chin KL, Lee SH, et al. Effect of C/N ratio in methane productivity and biodegradability during facultative co-digestion of palm oil mill effluent and empty fruit bunch. *Ind Crops Prod* 2015; 76:409–15. doi:10.1016/j.indcrop.2015.04.047.
- [59] Parkin GF, Owen WF. Fundamentals of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludges. *J Environ Eng* 1986;112:867–920.

- [60] Sosnowski P, Wieczorek A, Ledakowicz S. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. *Adv Environ Res* 2003;7:609–616.
- [61] Lay, J.J., Li, Y.Y. et Noike, T., (1998), Developments of bacterial population and methanogenic activity in a laboratory scale landfill reactor. *Water Research* 32 (12): 3673-3679.
- [62] Benbelkacem, H., Bayard, R., Abdelhay, A., Zhang, Y. et Gourdon, R., (2010), Effect of leachate injection modes on municipal solid waste degradation in anaerobic bioreactor. *Bioresource Technology* 101: 5206-5212.
- [63] Le Hyaric, R., Chardin, C., Benbelkacem, H., Bollon, J., Bayard, R., Escudié, R. et Buffière, P., (2011), Influence of substrate concentration and moisture content on the specific methanogenic activity of dry mesophilic municipal solid waste digestate spiked with propionate. *Bioresource Technology* 102 (2): 822-827.
- [64] Laubie, B., Buffière, P., Benbelkacem, H. et Bayard, R., (2011), Anaerobic digestion in dry conditions: Influence of the moisture content on the specific methanogenic activity. *Water Science and Technology* IN PRESS.
- [65] Mora-Naranjo, N., Meima, J., Haarstick, A. et Hempel, D.C., (2004), Modelling and experimental investigation of environmental influences on the acetate and methane formation in solid waste. *Waste Management* 24: 763-773.
- [66] Pommier, S., Chenu, D., Quintard, M. et Lefebvre, X., (2007), A logistic model for the prediction of the influence of water on the solid waste methanization in landfills. *Biotechnology and Bioengineering* 97 (3): 473-482.
- [67] Klink, R.E., Ham, R.K., 1982. Effects of moisture movement on methane production in solid waste landfill samples. *Resour. Conserv.* 8, 29-41.
- [68] Raposo, F., De la Rubia, M.A., Fernández-Cegri, R.B., 2011a. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 16, 861-877.
- [69] Raposo, F., Fernandez-Cegri, V., De la Rubia, M.A., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., Demirer, G., Fernandez, B., Fernandez-Polanco, M., Frignon, J.C., Ganesh, R., Kaparaju, P., Koubova, J., Méndez, R., Menin, G., Peene, A., Scherer, P., Torrijos, M., Uellendahl, H., Wierinck, I., de Wilde, V., 2011b. Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 86, 1088-1098.
- [70] Ma, J., Frear, C., Wang, Z.W., Yu, L., Zhao, Q., Li, X., Chen, S., 2013. A simple methodology for rate-limiting step determination for anaerobic digestion of complex substrates and effect of microbial community ratio. *Bioresource Technol.* 134, 391-395.
- [71] Xu, F., Shi, J., Lv, W., Yu, Z., Li, Y., 2013. Comparison of different liquid anaerobic digestion effluents as inocula and nitrogen sources for solid-state batch anaerobic digestion of corn stover. *Waste Manage.* 33, 23-32.
- [72] Raposo, F., De la Rubia, M.A., Borja, M., Alaiz, M., 2008. Assessment of modified and optimized method for determining chemical oxygen demand of solid substrates and solutions with high suspended solid content. *Talanta.* 76, 448-453.
- [73] Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., van Lier, J.B., 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Sci. Technol.* 59, 927-934.
- [74] Ward, A.J., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones, D.J., 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technol.* 99, 7928-7940.
- [75] Motte, J.C., Escudié, R., Bernet, N., Degenes, J.P., Steyer, J.P., Dumas, C., 2013a. Dynamic effect of total solid content, low substrate/inoculum ratio and particle size on solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technol.* 144, 141-148.
- [76] Li, Y., Zhu, J., Wan, C., Park, S.Y., 2011b, Solid state anaerobic digestion of corn stover for biogas production. *Transaction of ASABE.* 54, 1415-1421.

- [77]Pommier, S., Mañas Llamas, A., Lefebvre, X., 2010. Analysis of the outcome of shredding pretreatment on the anaerobic biodegradability of paper and cardboard materials. *Bioresource Technol.* 101, 463-468.
- [78]Mshandete, A., Björnsson, L., Kivaisi, A.K., Rubindamayugi, M.S.T., Mattiasson, B., 2006. Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. *Renew. Energ.* 31, 2385-2392.
- [79] Pommier, S., Chenu, D., Quintard, M., Lefebvre, X., 2007. A logistic model for the prediction of the influence of water on the solid waste methanization in landfills. *Biotechnol. Bioeng.* 97, 473-482.
- [80]Benbelkacem, H., Garcia Bernet, G., Bollon, J., Loisel, D., Bayard, R., Steyer, J.P., Gourdon, R., Buffière, P., Escudière, R., 2013. Liquid mixing and solid segregation in high-solid anaerobic digesters. *Bioresource Technol.* 147, 387-394.
- [81]Ahring, B.K., Sandberg, M. et Angelidaki, I., (1995), Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied Microbiology and Biotechnology* 43: 559-565.
- [82]Nozhevnikova, A.N., Rebak, S., Kotsyurbenko, O.R., Parshina, S.N., Holliger, C. et Lettinga, G., (2000), Anaerobic production and degradation of volatile fatty acids in low temperature environments. *Water Science and Technology* 41 (12): 39-46.
- [83]Gourdon, R. et Vermande, P., (1987), Effects of propionic acid concentration on anaerobic digestion of pig manure. *Biomass* 13 (1): 1-12.
- [84] Aguilar, A., Casas, C. et Lema, J.M., (1995), Degradation of volatile fatty acids by differently enriched methanogenic cultures: Kinetics and inhibition. *Water Research* 29(2): 505-509.
- [85]Vedrenne, F., (2007). Etude des processus de dégradation anaérobie et de production de méthane au cours du stockage des lisiers. Science de l'Environnement. Rennes, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie. Thèse de doctorat: 210.
- [86]Veeken, A., Kalyuzhnyi, S., Scharff, H. et Hamelers, B., (2000), Effect of pH and vfa on hydrolysis of organic solid waste. *Journal of Environmental Engineering* 120 (12): 1076-1081.
- [87]Siegert, I. et Banks, C.J., (2005), The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry* 40: 3412-3418.
- [88] Boone, D.R. et Bryant, M.P., (1980), Propionate-degrading bacterium, *syntrophobacterwolunii* sp. Nov. *Gen. Nov.*, from methanogenic ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology* 40 (3): 626-632.
- [89] Van Lier, J.B., Grolle, K.C.F., Frijters, C.T.M.J., Stams, A.J.M. et Leittiga, G., (1993), Effects of acetate, propionate, and butyrate on the thermophilic anaerobic degradation of propionate by methanogenic sludge and defined cultures. *Applied and Environmental Microbiology* 59 (4): 1003-1011.
- [90]Borzacconi, L., Lopez, I. et Anido, C., (1997), Hydrolysis constant and vfa inhibition in acidogenic phase of msw anaerobic degradation. *Water Science and Technology* 36 (6/7): 479-484.
- [91] Nielsen, H.B., Uellendahl, H. et Ahring, B.K., (2007), Regulation and optimization of the biogas process: Propionate as a key parameter. *Biomass and Bioenergy* 31: 820-830.
- [92]Kaspar, H.F. et Wuhrmann, K., (1978), Kinetic parameters and relative turnovers of some important catabolic reactions in digesting sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 36 (1): 1-7.
- [93]Barredo, M.S. et Evison, L.M., (1991), Effect of propionate toxicity on methanogen-enriched sludge, *methanobrevibacterium smithii*, and *methanospirillum hungatii* at different pH values. *Applied and Environmental Microbiology* 57 (6): 1764-1769.
- [94]Ahring, B.K. et Westermann, P., (1987), Thermophilic anaerobic degradation of butyrate by a butyrate-utilizing bacterium in coculture and triculture with methanogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 53 (2): 429-433.
- [95] Fukuzaki, S., Nishio, N. et Nagai, S., (1990), Kinetics of the methanogenic fermentation of acetate. *Applied and Environmental Microbiology* 56 (10): 3158-3163.
- [96] Nielsen, H.B., Uellendahl, H. et Ahring, B.K., (2007), Regulation and optimization of the biogas process: Propionate as a key parameter. *Biomass and Bioenergy* 31: 820-830.

- [97] Mata-Alvarez, J., Mace, S. et Llabres, P., (2000), Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology* 74 (1): 3-16.
- [98] Chen, Y., Chen, J.J. et Creamer, K.S., (2008), Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology* 99: 4044-4064.
- [99] Hwu, C.S., Donlon, B., Lettinga, G., 1996. Comparative toxicity of long chain fatty acid to anaerobic sludges from various origins. *Water Sci. Technol.* 34, 351-358.
- [100] Mladenovska, Z., Dabrowski, S., Ahring B.K., 2003. Anaerobic digestion of manure and mixture of manure with lipids: biogas reactor performance and microbial community analysis. *Water Sci. Technol.* 48, 271-278.
- [101] Rinzema, A., Boone, M., van Knippenberg, K., Lettinga, G., 1994. Bactericidal effect of long chain fatty acids in anaerobic digestion. *Water Env. Res.* 66, 40-49.
- [102] Palatsi, J., Illa, J., Prenafeta-Boldú, F.X., Laureni, M, Fernandez, B., Angelidaki, I., Flotats X, 2010. Long-chain fatty acids inhibition and adaptation process in anaerobic thermophilic digestion: Batch tests, microbial community structure and mathematical modeling. *Bioresource Technol.* 101, 2243-2251.
- [103] Sousa, D.Z., Pereira, M.A., Alves, J.I., Stams, A.J.M., Alves, M.M., 2007. Anaerobic microbial LCFA degradation in bioreactors. 11th IWA World Congress on Anaerobic Digestion 23-27 September 2007 Brisbane, Australia.
- [104] Hempel, C., Jaroschek, O., 2012. Procédé et installation pour la méthanisation de la biomasse. WO2012079735A2 patent.
- [105] Lalman, J.A., Bagley, D.M., 2000. Anaerobic degradation and inhibitory effects of linoleic acid. *Water Res.* 34, 4220-4228.
- [106] Cirne, D.G., Paloumet, X., Björnsson, L., Alves, M.M., Mattiason, B., 2007. Anaerobic digestion of lipid-rich waste—Effects of lipid concentration. *Ren. Energ.* 32, 965-975.
- [107] Isa, Z., Grusenmeyer, S., Verstrate, W., 1986. Sulfate Reduction Relative to Methane Production in High-Rate Anaerobic Digestion: Microbiological Aspects. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 580-587.
- [108] O’Flaherty, V., Mahony, T., O’Kennedy, R., Colleran, E., 1998. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. *Process Biochem.* 33, 555-559.
- [109] Syed, M., Soreanu, G., Falleta, P., Béland, M., Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes - A review. *Can. Biosyst. Eng.* 48, 2.1-2.13.
- [110] Amani, T., Nosrati, M., Sreekrishnan, T.R., 2010. Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects - a review. *Environ. Rev.* 18, 255-278.
- [111] Luo, G., Johansson, S., Boe, K., Xie, L., Zhou, Q., Angelidaki, I., 2012. Simultaneous Hydrogen Utilization and In Situ Biogas Upgrading in an Anaerobic Reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 109, 1088-1094.
- [112] Pauss, A., Andre, G., Perrier, M. et Guiot, S.R., 1990. Liquid-to-gas mass transfer in anaerobic processes: Inevitable transfer limitations of methane and hydrogen in the biomethanation process. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1636-1644.
- [113] Cazier, E.A., Trably, E., Steyer, J.P., Escudíé, R., 2015. Biomass hydrolysis inhibition at high hydrogen partial pressure in solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technol.* 190, 106-113.
- [114] Abdel-Shafy HI, Mansour MSM. Biogas production as affected by heavy metals in the anaerobic digestion of sludge. *Egypt J Pet* 2014;23:409–17. doi:10.1016/j.ejpe.2014.09.009.
- [115] Hickey RF, Vanderwielen J, Switzenbaum MS. The effect of heavy metals on methane production and hydrogen and carbon monoxide levels during batch anaerobic sludge digestion. *water res* 1989;23:207–18.
- [116] Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresour Technol* 2008;99:4044–64. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057.

- [117] Choi E, Rim JM. Competition and Inhibition of Sulfate Reducers and Methane Producers in Anaerobic Treatment. *Water Sci Technol* 1991;23:1259–64.
- [118] Gorris LGM, van Deursen JMA, van der Drift C, Vogels GD. Inhibition of propionate degradation by acetate in methanogenic fluidized bed reactors. *Biotechnol Lett* 1989;11:61–6. doi:10.1007/BF01026788.
- [119] Oleszkiewicz JA, Sharma VK. Stimulation and inhibition of anaerobic processes by heavy metals—a review. *Biol Wastes* 1990;31:45–67.
- [120] Buswell, D., 1933. La voie sèche discontinue : les enseignements de 6 années d'exploitation au GAEC du Bois.
- [121] Galler, C., Winter, J., 2005. Bacterial Metabolism in Wastewater Treatment Systems. *Environmental Biotechnology: Concepts and applications*. Edition H.-J.Jördening and J.Winter, Wiley –VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, FRG. ISBN: 3-527-30585-8.
- [122] Angelidaki, I., Arhing, B.K., 1992. Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 37, 808-812.
- [123] Bassard, D., André, L., Dotal, N., Valentin, L., Nonus, M., Paus, A., Ribeiro, T., 2014. A simple and rapid one-time method to evaluate the non-acidic gas composition of bioprocesses. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 37, 337-341.
- [124] Raposo, F., De la Rubia, M.A., Fernández-Cegrí, R.B., 2011a. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 16, 861-877.
- [125] Degrémont. « Mémento technique de l'eau, 9<sup>eme</sup> Edition, Tome 1 et 2, Editions Lavoisier, Paris. (1989).
- [126] Moletta, R. « Procédés biologiques anaérobies, Dans Gestion des problèmes environnementaux dans les industries agroalimentaires » Technique et documentation - Editions Lavoisier, Paris (2002).
- [127] McCarty, P.L. “The development of anaerobic treatment and its future” *Water Science and Technology* 44, 149-156 (2001).
- [128] Trably, E. Etude et optimisation de la biodégradation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs) et de Polychlorobiphényles (PCBs) au cours de la digestion anaérobie et aérobie de boues urbaines contaminées, Génie des procédés, Université Montpellier II, Montpellier, 280 p (2002).
- [129] Suh, Y. J. et Roussaux, P. “An LCA of alternative wastewater sludge treatment scenarios”, *Resources, Conservation and Recycling*, 35, 191-200 (2002).
- [130] Bitton, G. *Wastewater microbiology*, Wiley-Liss Editor, New York (1994).
- [131] Bendixen, H. J. “Safeguards against pathogens in Danish biogas plants” *Water Science and Technology*, 30, (12), 171-180 (1994).
- [132] Schnurer, A., Schink, B. and Svensson, B. H. “*Clostridium ultunense* sp. nov., a Mesophilic bacterium oxidizing acetate in syntrophic association with a hydrogenotrophic methanogenic bacterium” *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46, (4), 1145-1152 (1996).
- [133] Münch, E. V. and Greenfield, P. F. “Estimating VFA concentrations in fermenters by measuring pH” *Water Research*, 32, (8), 2431-2441 (1998).
- [134] Schnurer, A., Zellner, G. and Svensson, B. H. “Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation in biogas reactors” *FEMS Microbial Ecology*, 29, (3), 249-261 (1999).
- [135] Oles, J., Dichtl, N. and Niehoff, H. “Full scale experience of two stage thermophilic/mesophilic sludge digestion” *Water Science and Technology*, 36, (6-7), 449-456 (1997).
- [136] OTV. “Traiter et valoriser les boues”. Ouvrage collectif n°2, Editions Lavoisier, Cachan (1997).
- [137] Klaus Fricke, Heike Santen, Rainer Wallmann, 2005. Comparison of selected aerobic and anaerobic procedures for MSW treatment. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2004.12.018>
- [138] J. Cheng, *Biomass to Renewable Energy Processes*, New York: CRC Press, 2010.

- [139] E. R. Hall, L. W. Hulshoff, G. Lettinga, J. F. Malina & J. F. G. Pohland, Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes, vol. 7 de WaterQuality Management Library, Technomic Publishing Company, 1992.
- [140] Ward, A.J., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones, D.L., 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresour. Technol.* 99, 7928–7940. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.044>.
- [141] Raposo, F., De la Rubia, M.A., Fernández-Cegri, V., Borja, R., 2012. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16, 861–877. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.008>.
- [142] Parawira, W., Murto, M., Zvauya, R., Mattiasson, B., 2004. Anaerobic batch digestion of solid potato waste alone and in combination with sugar beet leaves. *Renew. Energy* 29, 1811–1823. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2004.02.005>
- [143] Linke, B., 2006. Kinetic study of thermophilic anaerobic digestion of solid wastes from potato processing. *Biomass and Bioenergy* 30, 892–896. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2006.02.001>.
- [144] Liu, D., Liu, D., Zeng, R.J., Angelidaki, I., 2006. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. *Water Res.* 40, 2230–2236. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.03.029>.
- [145] Bouallagui, H., Lahdheb, H., Ben Romdan, E., Rachdi, B., Hamdi, M., 2009. Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co-substrates addition. *J. Environ. Manage.* 90, 1844–1849.
- [146] Stage Thermophilic (68°C/55°C) Anaerobic Digestion with One-Stage Thermophilic (55°C) Digestion of Cattle Manure. *Biotechnol. Bioeng.* 86, 291–300. <https://doi.org/10.1002/bit.20037>.
- [147] Bouallagui, H., Touhami, Y., Ben Cheikh, R., Hamdi, M., 2005. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochem.* 40, 989–995. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.03.007>.
- [148] Ganesh, R., Torrijos, M., Sousbie, P., Steyer, J.P., Lugardon, A., Delgenes, J.P., 2013. Anaerobic co-digestion of solid waste: Effect of increasing organic loading rates and characterization of the solubilised organic matter. *Bioresour. Technol.* 130, 559–569. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.119>.
- [149] Karagiannidis, A., Perkoulidis, G., 2009. A multi-criteria ranking of different technologies for the anaerobic digestion for energy recovery of the organic fraction of municipal solid wastes. *Bioresour. Technol.* 100, 2355–2360.
- [150] Xie, S., Lawlor, P.G., Frost, J.P., Hu, Z., Zhan, X., 2011. Effect of pig manure to grass silage ratio on methane production in batch anaerobic co-digestion of concentrated pig manure and grass silage. *Bioresour. Technol.* 102, 5728–5733. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.009>.
- [151] Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Macé, S., Astals, S., 2011. Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling. *Crit. Rev. Biotechnol.* 31, 99–111. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.525496>.
- [152] Lo, H.M., Kurniawan, T.A., Sillanpää, M.E.T., Pai, T.Y., Chiang, C.F., Chao, K.P., Liu, M.H., Chuang, S.H., Banks, C.J., Wang, S.C., Lin, K.C., Lin, C.Y., Liu, W.F., Cheng, P.H., Chen, C.K., Chiu, H.Y., Wu, H.Y., 2010. Modeling biogas production from organic fraction of MSW co-digested with MSWI ashes in anaerobic bioreactors. *Bioresour. Technol.* 101, 6329–6335. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.048>
- [153] Macias-Corral, M., Samani, Z., Hanson, A., Smith, G., Funk, P., Yu, H., Longworth, J., 2008. Anaerobic digestion of municipal solid waste and agricultural waste and the effect of co-digestion with dairy cow manure. *Bioresour. Technol.* 99, 8288–8293. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.057>.
- [154] Aichinger, P., Wadhawan, T., Kuprian, M., Higgins, M., Ebner, C., Fimml, C., Murthy, S., Wett, B., 2015. Synergistic co-digestion of solid-organic-waste and municipal- sewage-sludge: 1 plus 1 equals more than 2 in terms of biogas production and solids reduction. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.07.033>.
- [155] Angelidaki, I., Ellegaard, L., Ahring, B.K., 1997. Modelling anaerobic codigestion of manure with olive oil mill effluent. *Water Sci. Technol.* 36, 263–270. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00531-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00531-3).

- [156]Jingura, R.M., Matengaifa, R., 2009. Optimization of biogas production by anaerobic digestion for sustainable energy development in Zimbabwe. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 13, 1116–1120. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2007.06.015>.
- [157] Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Bodiroza, V., 2006. Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure : Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. *Int. Congr. Ser.* 1293, 217–220. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.007>.
- [158] Comino, E., Rosso, M., Riggio, V., 2010. Investigation of increasing organic loading rate in the co-digestion of energy crops and cow manure mix. *Bioresour. Technol.* 101, 3013–3019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.025>.
- [159]Astals, S., Batstone, D.J., Mata-alvarez, J., Jensen, P.D., 2014. Identification of synergistic impacts during anaerobic co-digestion of organic wastes. *Bioresour. Technol.* 169, 421–427. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.024>.
- [160] Cho, J.K., Park, S.C., Chang, H.N., 1995. Biochemical methane potential and solid state anaerobic digestion of Korean food wastes. *Bioresour. Technol.* 52, 245–253. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(95\)00031-9](https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00031-9).
- [161]Lissens G, Thomsen AB, De Baere L, Verstraete W, Ahring BK., 2004a Thermal wet oxidation improves anaerobic bio- degradability of raw and digested biowaste. *Environ Sci Technol.*38, 3418–3424 .
- [162]Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Machmüller, A., Hopfner-Sixt, K., Bodiroza, V., Hrbek, R., Friedel, J., Pötsch, E., Wagenstristl, H., Schreiner, M., Zollitsch, W., 2007. Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations. *Bioresour. Technol.* 98, 3204–3212. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.007> .
- [163]Hills, D.J., Roberts, D.W., 1982. Conversion of tomato, peach and honeydew solid- waste into methane gas. *Transactions of the Asae.* 25, 820–826.
- [164]Bouallagui, H., Touhami, Y., Ben Cheikh, R., Hamdi, M., 2005. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochem.* 40, 989–995. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.03.007> .
- [165]Pavan, P., Bolzonella, D., Battistoni, E., Cecchi, F., 2007. Anaerobic co-digestion of sludge with other organic wastes in small wastewater treatment plants: an economic considerations evaluation. *Water Science and Technology.* 56, 45–53.
- [166]Carrere, H., Rafrafi, Y., Battimelli, A., Torrijos, M., Delgenes, J.P., Motte, C., 2012. Improving methane production during the codigestion of waste-activated sludge and fatty wastewater: Impact of thermo-alkaline pretreatment on batch and semi-continuous processes. *Chem. Eng. J.* 210, 404–409. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.005> .
- [167]Angelidaki I, AhringBK.Methods for increasing the biogas potential fromthe recalcitrant organicmatter contained inmanure. *Water Sci Technol* 2000;41(3):189–94.
- [168]Jabeen, M., Zeshan, Yousaf, S., Haider, M.R., Malik, R.N., 2015. High-solids anaerobic co-digestion of food waste and rice husk at different organic loading rates. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 102, 149–153. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.03.023> .
- [169]Li, D., Liu, S., Mi, L., Li, Z., Yuan, Y., Yan, Z., Liu, X., 2015. Effects of feedstock ratio and organic loading rate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and cow manure. *Bioresour. Technol.* 189, 319–326.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.033> .

**[170]**Ganesh, R., Torrijos, M., Sousbie, P., Steyer, J.P., Lugardon, A., Delgenes, J.P., 2013. Anaerobic co-digestion of solid waste: Effect of increasing organic loading rates and characterization of the solubilised organic matter. *Bioresour. Technol.* 130, 559–569.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.119> .

**[171]**Feng, L., Wahid, R., Ward, A.J., Møller, H.B., 2017. Anaerobic co-digestion of cattle manure and meadow grass: Effect of serial configurations of continuous stirred tank reactors

(CSTRs). *Biosyst. Eng.* 160, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2017.05.002> .

**[172]**Comino, E., Rosso, M., Riggio, V., 2010. Investigation of increasing organic loading rate in the co-digestion of energy crops and cow manure mix. *Bioresour. Technol.* 101, 3013–

3019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.025> .

**[173]**Xie, S., Wu, G., Lawlor, P.G., Frost, J.P., Zhan, X., 2012. Methane production from anaerobic co-digestion of the separated solid fraction of pig manure with dried grass silage.

*Bioresour. Technol.* 104, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.076> .

**[174]**Hartmann, H., Ahring, B.K., 2005. Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure. *Water Res.* 39, 1543–1552.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.02.001>.

**[175]**Zhang, C., Su, H., Tan, T., 2013. Batch and semi-continuous anaerobic digestion of food

waste in a dual solid-liquid system. *Bioresour. Technol.* 145, 10–16.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.030> .

**[176]**Kougias, P.G., Kotsopoulos, T.A., Martzopoulos, G.G., 2014. Effect of feedstock composition and organic loading rate during the mesophilic co-digestion of olive millwastewater and swine manure. *Renew. Energy* 69, 202–207.

<https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.03.047> .

**[177]**Raposo, F., Fernández-Cegri, V., de la Rubia, M.A., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., Demirer, G., Fernández, B., Fernández-Polanco, M., Frigon, J.C., Ganesh, R., Kaparaju,

P., Koubova, J., Méndez, R., Menin, G., Peene, A., Scherer, P., Torrijos, M., Uellendahl,

H., Wierinck, I., de Wilde, V., 2011. Biochemical methane potential (BMP) of solid

organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an

international interlaboratory study. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 86, 1088–1098.

<https://doi.org/10.1002/jctb.2622> .

**[178]**Xie, Wickham, R., Nghiem, L.D., 2017. Synergistic effect from anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic wastes. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 116, 191–197.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.037> .

**[179]**Regueiro, L., Lema, J.M., Carballa, M., 2015. Key microbial communities steering the functioning of anaerobic digesters during hydraulic and organic overloading shocks.

*Bioresour. Technol.* 197, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.076> .

**[180]**Agyeman, F.O., Tao, W., 2014. Anaerobic co-digestion of food waste and dairy manure:

Effects of food waste particle size and organic loading rate. *J. Environ. Manage.* 133,

268–274. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.12.016> .

- [181] Ghatak, H.R., 2011. Biorefineries from the perspective of sustainability: Feedstocks, products, and processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- [182] Wertz, J.-L. & Bédoué, O., 2013. Lignocellulosic Biorefineries
- [183] Barakat, A., Mayer, C., et al., 2014. Mechanical Pretreatments of Lignocellulosic Biomass: towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production. *RSC Advances*, 4, pp.48109–48127. Available at: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2014/ra/c4ra07568d>.
- [184] Klemm, D. et al., 2005. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material *Angewandte Chemie International Edition*, 44, pp.3358–3393.
- [185] Karimi, K. & Taherzadeh, M.J., 2016b. A critical review on analysis in pretreatment of lignocelluloses: Degree of polymerization, adsorption/desorption, and accessibility. *Bioresource Technology*.
- [186] Mcfarlane, H.E. & Annett, D., 2014. The Cell Biology of Cellulose Synthesis., pp.1–26.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040240>
- [187] Pelmont, J., 2008. *Glossaire de biochimie environnementale*, EDP Sciences.
- [188] Karimi, K., Shafiei, M. & Kumar, R., 2013. Progress in Physical and Chemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass, Biofuel Technologies: Recent Developments. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-34519-7>
- [189] Kumar, R., Singh, S. & Singh, O. V., 2008. Bioconversion of lignocellulosic biomass: Biochemical and molecular perspectives. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(5), pp.377–391.
- [190] Atalia, R.H. & Vanderhart, D.L., 1984. Native Cellulose: A Composite of Two Distinct Crystalline Forms. *Cellulose*, pp.6–8.
- [191] Chundawat, S.P.S. et al., 2011. Multi-scale visualization and characterization of lignocellulosic plant cell wall deconstruction during thermochemical pretreatment. *Energy & Environmental Science*, 4, pp.973–984.
- [192] Lazuka, A., 2018. Production de synthons par des consortia microbiens à partir de paille de blé : approches macrocinétique, enzymatique et métaprotéomique.
- [193] Pauly, M. et al., 2013. Hemicellulose biosynthesis. *Planta*, pp.627–642.
- [194] Monlau, F. et al., 2013. Lignocellulosic Materials Into Biohydrogen and Biomethane: Impact of Structural Features and Pretreatment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 43(3), pp.260–322. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2011.604258>.
- [195] Cosgrove, D.J., 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(11), pp.850–861.
- [196] Pu, Y. et al., 2008. The new forestry biofuels sector. , pp.58–73.
- [197] He, Y. et al., 2008. Physicochemical Characterization of Rice Straw Pretreated with Sodium Hydroxide in the Solid State for Enhancing Biogas Production. *Energy & Fuels*, (7), pp.2775–2781.
- [198] Méchin, V., 2000. Etude de facteurs biochimiques et génétiques explicatifs de la variabilité pour la valeur alimentaire du maïs fourrage. Institut National Agronomique Paris-Grignon.
- [199] Vanholme, R. et al., 2010. Lignin Biosynthesis and Structure 1. *Plant Physiology*, 153(July), pp.895–905.
- [200] Grabber, J.H. et al., 2004. Genetic and molecular basis of grass cell-wall degradability. I. Lignin-cellwall matrix interactions. *Comptes Rendus Biologies*, 327, pp.455–465.
- [201] Min, D.Y. et al., 2014. The structural changes of lignin and lignin-carbohydrate complexes in corn stover induced by mild sodium hydroxide treatment. *RSC Advances*, 4(21), pp.10845–10850.
- [202] Kikas, T. et al., 2016. Basis of energy crop selection for biofuel production: Cellulose vs . lignin. *International Journal of Green Energy*, pp.49–54.

- [203] Zhang, Y. et al., 2011. Impact of lignin structure and cell wall reticulation on maize cell wall degradability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), pp.10129–10134.
- [204] Zeng, Y. et al., 2014. Lignin plays a negative role in the biochemical process for producing lignocellulosic biofuels. *Current Opinion in Biotechnology*.
- [205] Buranov, A.U. & Mazza, G., 2008. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products*, 8, pp.237–259.
- [206] Mussato, S.I., 2016. Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery.
- [207] Wertz, J.-L. & Bédoué, O., 2013. Lignocellulosic Biorefineries.
- [208] Houston, K. et al., 2016. The Plant Cell Wall: A Complex and Dynamic Structure As Revealed by the Responses of Genes under Stress Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 7(August), pp.1–18.
- [209] Li, W. et al., 2018. Methane production through anaerobic digestion: Participation and digestion characteristics of cellulose, hemicellulose and lignin. *Applied Energy*, 226(May), pp.1219–1228. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.05.055>.
- [210] Buffiere, P. et al., 2006. Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties. *Water Science and Technology*, 53(8), pp.233–241.
- [211] Berlin, A. et al., 2006. Inhibition of cellulase, xylanase and  $\beta$ -glucosidase activities by softwood lignin preparations. *Journal of Biotechnology*, 125(2), pp.198–209. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165606001714>.
- [212] Dauwe, R. et al., 2007. Molecular phenotyping of lignin-modified tobacco reveals associated changes in cell-wall metabolism, primary metabolism, stress metabolism and photorespiration. *Plant Journal*, 52(2), pp.263–285.
- [213] Eronen, P. et al., 2011. Interactions of structurally different hemicelluloses with nanofibrillar cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), pp.1281–1290. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.031>.
- [214] Monlau, F., Barakat, A., et al., 2012. Comparison of seven types of thermo-chemical pretreatments on the structural features and anaerobic digestion of sunflower stalks. *Bioresource Technology*.
- [215] Harmsen, P. et al., 2010. Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass.
- [216] Lygin, A. V. et al., 2011. Composition of cell wall phenolics and polysaccharides of the potential bioenergy crop – Miscanthus. *GCB*, 3, pp.333–345.
- [217] Godin, B. et al., 2013. Chemical characteristics and biofuels potentials of various plant biomasses: Influence of the harvesting date. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- [218] Motte, J.C. et al., 2014. Morphological structures of wheat straw strongly impacts its anaerobic digestion. *Industrial Crops and Products*.
- [219] Carmi, A. et al., 2006. Effects of irrigation and plant density on yield, composition and in vitro digestibility of a new forage sorghum variety, Tal, at two maturity stages. *Animal Feed Science and Technology*, 131, pp.120–132.
- [220] Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Machmüller, A., et al., 2007. Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations. *Bioresource Technology*, 98(17), pp.3204–3212.
- [221] Agbor, V.B. et al., 2011. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, 29(6), pp.675–685. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>.
- [222] Cheng, G. et al., 2011. Transition of Cellulose Crystalline Structure and Surface Morphology of Biomass as a Function of Ionic Liquid Pretreatment and Its Relation to Enzymatic Hydrolysis. *Biomacromolecules*.

- [223] Rabemanolontsoa, H. & Saka, S., 2016. Various pretreatments of lignocellulosics. *Bioresource Technology*.
- [224] Barakat, A., Mayer, C., et al., 2014. Mechanical Pretreatments of Lignocellulosic Biomass: towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production. *RSC Advances*, 4, pp.48109–48127. Available at: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2014/ra/c4ra07568d>.
- [225] Paul, S. & Dutta, A., 2018. Challenges and opportunities of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. *Resources, Conservation and Recycling*, 130(November 2017), pp.164–174. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.12.005>.
- [226] Talebnia, F., Karakashev, D. & Angelidaki, I., 2010. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*.
- [227] Raposo, F., Rubia, M.A. De & Borja, R., 2011. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), pp.861–877. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.008>.
- [228] Moletta, R., 2011. *La méthanisation 2ème édit.*, Lavoisier.
- [229] Patinvoh, R.J. et al., 2016. Innovative Pretreatment Strategies for Biogas Production. *Bioresource Technology*, 224(November), pp.13–24. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852416316042>.
- [230] Bobleter, O., Niesner, R. & Röhr, M., 1976. The hydrothermal degradation of cellulosic matter to sugars and their fermentative conversion to protein. *Journal of Applied Polymer Science*, 20(8), pp.2083–2093.
- [231] Mustafa, A.M. et al., 2018. Effect of hydrothermal and Ca (OH)<sub>2</sub> pretreatments on anaerobic digestion of sugarcane bagasse for biogas production. *Bioresource Technology*, 259, pp.54–60. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.028>.
- [232] Phuttaro C, Sawatdeenarunat C, Surendra KC, Boonsawang P (2019) Anaerobic digestion of hydrothermally-pretreated lignocellulosic biomass: Influence of pretreatment temperatures, inhibitors and soluble organics on methane yield. *Bioresour Technol* 284:128–138. doi: 10.1016/j.biortech.2019.03.114
- [233] Datar, R. et al., 2007. Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process. *International Journal of Hydrogen Energy* *Hydrogen Energy*, 32, pp.932–939.
- [234] Hosseini Koupaie, E. & Eskicioglu, C., 2015. Below and above boiling point comparison of microwave irradiation and conductive heating for municipal sludge digestion under identical heating/cooling profiles. *Bioresource Technology*.
- [235] Zheng, J. & Rehmann, L., 2014. Extrusion pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(10), pp.18967–18984.
- [236] Pavlostathis, S.G. & Gossett, J.M., 1985. Alkaline treatment of wheat straw for increasing anaerobic biodegradability. *Biotechnology and bioengineering*, 27(3), pp.334–344.
- [237] Carrere, H. et al., 2016. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. *Bioresource Technology*.
- [238] Hendriks, A.T.W.M., Zeeman, G., 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 100, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027>
- [239] Behera, S. et al., 2014. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36, pp.91–106. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.047>.
- [240] Shah, T.A. et al., 2018. Effect of Alkali Pretreatment on Lignocellulosic Waste Biomass for Biogas Production. *International Journal of Renewable Energy Research*, 8(3), pp.24–

- [241] Kim, J.S., Lee, Y.Y. & Kim, T.H., 2016. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 199, pp.42–48.
- [242] Mosier, N. et al., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96(6), pp.673–686.
- [243] Buranov, A.U. & Mazza, G., 2008. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products*, 8, pp.237–259.
- [244] Soares Rodrigues, C.I., Jackson, J.J. & Montross, M.D., 2016. A molar basis comparison of calcium hydroxide, sodium hydroxide, and potassium hydroxide on the pretreatment of switchgrass and miscanthus under high solids conditions. *Industrial Crops & Products*, 92, pp.165–173. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.010>.
- [245] Yun Yang, B. & Montgomery, R., 1996. Alkaline degradation of glucose: Effect of initial concentration of reactants. *Carbohydrate Research*, 280(1), pp.27–45.
- [246] Yang, B.Y. & Montgomery, R., 2007. Alkaline degradation of invert sugar from molasses. *Bioresource Technology*, 98(16), pp.3084–3089.
- [247] Dubois, M. & Rigal, L., 1995. La dégradation alcaline des hexoses. , 1590(iii), pp.1582–1590.
- [248] Sambusiti, C. et al., 2012. Influence of alkaline pre-treatment conditions on structural features and methane production from ensiled sorghum forage. *Chemical Engineering Journal*, 211–212, pp.488–492.
- [249] Sambusiti, C. et al., 2013b. Effect of sodium hydroxide pretreatment on physical, chemical characteristics and methane production of five varieties of sorghum. *Energy*.
- [250] Ramos-suárez, J.L. et al., 2017. Alkaline and oxidative pretreatments for the anaerobic digestion of cow manure and maize straw: Factors influencing the process and preliminary economic viability of an industrial application. *Bioresource Technology*, 241, pp.10–20.
- [251] Monlau, F., Barakat, A., et al., 2012. Comparison of seven types of thermo-chemical pretreatments on the structural features and anaerobic digestion of sunflower stalks. *Bioresource Technology*.
- [252] Travaini R, Martín-juárez J, Lorenzo-hernando A, Bolado-rodríguez S (2016) Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. *Bioresour Technol* 199:2–12 . doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.143
- [253] Sun, L. et al., 2013. Unveiling high-resolution, tissue specific dynamic changes in corn stover during ionic liquid pretreatment. *RSC Advances*, 3(6), pp.2017–2027.
- [254] Chundawat, S.P.S. et al., 2011. Multi-scale visualization and characterization of lignocellulosic plant cell wall deconstruction during thermochemical pretreatment. *Energy & Environmental Science*, 4, pp.973–984.
- [255] Mancini, G. et al., 2016. Solvent Pretreatments of Lignocellulosic Materials to Enhance Biogas Production: A Review. *Energy and Fuels*, 30(3), pp.1892–1903.
- [256] Brémond, U. et al., 2018. Biological pretreatments of biomass for improving biogas production: an overview from lab scale to full-scale. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90(June 2017), pp.583–604. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.103>.
- [257] Lekounougou, S.-T., 2008. Evaluation et Compréhension des Mécanismes fongiques impliqués dans la dégradation du bois. Thèse Docteur de l' Université Henri Poincaré, Nancy-I.
- [258] Rouches, E. et al., 2016. Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 59, pp.179–198. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.317>.
- [259] Bruni, E. et al., 2010. Anaerobic digestion of maize focusing on variety, harvest time and pretreatment. *Applied Energy*, 87(7), pp.2212–2217. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.01.004>.

- [260]Gao, R. et al., 2012. Methane yield through anaerobic digestion for various maize varieties in China. *Bioresource Technology*, 118, pp.611–614. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.051>.
- [261] Peces, M., Astals, S. & Mata-alvarez, J., 2015. Effect of moisture on pretreatment efficiency for anaerobic digestion of lignocellulosic substrates. *Waste Management*, 46, pp.189–196. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2015.08.022>.
- [262]Vandenbrink, J.P. et al., 2013. Tissue specific analysis of bioconversion traits in the bioenergy grass *Sorghum bicolor*. *Industrial Crops and Products*, 50, pp.118–130
- [263]Sambusiti, C. et al., 2013a. Effect of particle size on methane production of raw and alkaline pretreated ensiled sorghum forage. *Waste and Biomass Valorization*.
- [264]Donoso-Bravo, A., Mailier, J., Martin, C., 2011. Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: a review. *Water Res.* 45, 5347–5364. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.059>.
- [265] Esposito, G., Frunzo, L., Panico, A., Antonio, G., 2008a. Mathematical modelling of disintegration-limited co-digestion of OFMSW and sewage sludge 1513–1519.
- [266]Bernard, O., Chachuat, B., Helias, A. and Rodriguez, J., 2006. Can we assess the model complexity for a bioprocess. *Water Sci. Technol.* 53, 85–92
- [267]Lesteur, M., Bellon-Maurel, V., Gonzalez, C., Latrille, E., Roger, J.M., Junqua, G., Steyer, J.P., 2010. Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review. *Process Biochem.* 45, 431–440. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.11.018>
- [268]Angelidaki, I., Sanders, W., 2004. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* 3, 1569–1705. <https://doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3>
- [269]Davidsson, Å., Gruvberger, C., Christensen, T.H., Hansen, T.L., Jansen, J. la C., 2007. Methane yield in source-sorted organic fraction of municipal solid waste. *Waste Manag.* 27, 406–414. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.02.013>
- [270]Buffiere, P., Loisel, D., Bernet, N., Delgenes, J.-P., 2006. Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties. *Water Sci. Technol.* 53, 233–241.
- [271]Gunaseelan, V.N., 2007. Regression models of ultimate methane yields of fruits and vegetable solid wastes, sorghum and napiergrass on chemical composition. *Bioresour. Technol.* 98, 1270–1277. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.014>
- [272]Mottet, A., Franc, E., Latrille, E., Philippe, J., Déléris, S., Vedrenne, F., Carrère, H., 2010. Estimating anaerobic biodegradability indicators for waste activated sludge. *Chem. Eng. J.* 160, 488–496. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.03.059>
- [273]Jimenez, J., Gonidec, E., Rivero, J., 2014. Prediction of anaerobic biodegradability and bioaccessibility of municipal sludge by coupling sequential extractions with fluorescence spectroscopy: Towards ADM1. *Water Res.*
- [274]Xie, S., Wu, G., Lawlor, P.G., Frost, J.P., Zhan, X., 2012. Methane production from anaerobic co-digestion of the separated solid fraction of pig manure with dried grass silage. *Bioresour. Technol.* 104, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.076>
- [275]Pagés-Díaz, J., Pereda-Reyes, I., Taherzadeh, M.J., Sárvári-Horváth, I., Lundin, M., 2014. Anaerobic co-digestion of solid slaughterhouse wastes with agro-residues: Synergistic and antagonistic interactions determined in batch digestion assays. *Chem. Eng. J.* 245, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.02.008>
- [276]Lübken, M., Wichern, M., Bischof, F., Prechtel, S., Horn, H., 2007. Development of an empirical mathematical model for describing and optimizing the hygiene potential of a thermophilic anaerobic bioreactor treating faeces. *Water Sci. Technol.* 55, 95–102. <https://doi.org/10.2166/wst.2007.132>
- [277]Fezzani, B., Ben Cheikh, R., 2008a. Modelling of the mesophilic anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with olive mill solid waste using anaerobic digestion model No. 1 (ADM1). *Bioresour. Technol.* 99, 6565–77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.035>

- [278] Fezzani, B., Ben Cheikh, R., 2008b. Implementation of IWA anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) for simulating the thermophilic anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with olive mill solid waste in a semi-continuous tubular digester. *Chem. Eng. J.* 141, 75–88. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.10.024>
- [279] Fezzani, B., Ben Cheikh, R., 2009. Extension of the anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) to include phenolic compounds biodegradation processes for the simulation of anaerobic co-digestion of olive mill wastes at thermophilic temperature. *J. Hazard. Mater.* 162, 1563–70. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.127>
- [280] Esposito, G., Frunzo, L., Panico, A., Antonio, G., 2008a. Mathematical modelling of disintegration-limited co-digestion of OFMSW and sewage sludge 1513–1519.
- [281] Derbal, K., Bencheikh-lehocine, M., Cecchi, F., Meniai, A., Pavan, P., 2009. Bioresource Technology Application of the IWA ADM1 model to simulate anaerobic co-digestion of organic waste with waste activated sludge in mesophilic condition. *Bioresour. Technol.* 100, 1539–1543. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.07.064>
- [282] Galí, A., Benabdallah, T., Astals, S., 2009. Bioresource Technology Modified version of ADM1 model for agro-waste application. *Bioresour. Technol.* 100, 2783–2790. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.052>
- [283] Zaher, U., Li, R., Jeppsson, U., Steyer, J., Chen, S., 2009. GISCOD: general integrated solid waste co-digestion model. *Water Res.* 43, 2717–27. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.018>
- [284] Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Macé, S., Astals, S., 2011. Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling. *Crit. Rev. Biotechnol.* 31, 99–111. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.525496>
- [285] Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Guiza, M.S., Fonoll, X., Peces, M., Astals, S., 2014. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 36, 412–427. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.039>
- [286] Hassam, S., Ficara, E., Leva, A., Harmand, J., 2015. A generic and systematic procedure to derive a simplified model from the anaerobic digestion model No. 1 (ADM1). *Biochem. Eng. J.* 99, 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.03.007>
- [287] El-Mashad, H.M., Zhang, R., 2010. Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresour. Technol.* 101, 4021–4028. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.027>
- [288] Dennehy, C., Lawlor, P.G., Croize, T., Jiang, Y., Morrison, L., Gardiner, G.E., Zhan, X., 2016. Synergism and effect of high initial volatile fatty acid concentrations during food waste and pig manure anaerobic co-digestion. *WasteManag.* 56, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.06.032>
- [289] Carrera-Chapela, F., Donoso-Bravo, A., Jeison, D., D??az, I., Gonzalez, J.A., Ruiz-Filippi, G., 2016. Development, identification and validation of a mathematical model of anaerobic digestion of sewage sludge focusing on H<sub>2</sub>S formation and transfer. *Biochem. Eng. J.* 112, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.03.008>
- [290] Ya.Lokshina, L., A.Vavilin, V., H.Kettunen, R., A.Rintala, J., ChristofHolliger, N.NoZhevnikova, A., 2001. Evaluation of kinetic coefficients using integrated Monod and Haldane Models for low- temperature acetoclastic methanogens. *Water Res.* 35, 2913–2922. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00595-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00595-9)
- [291] Speece, R.E., 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* 17 (9), 416–427.
- [292] Hmissi., 2018. Développement et validation d'un modèle hydrodynamique d'un réacteur anaérobie à lit fixe à flux ascendant : Evaluation de la répartition axiale des alcalinités, Univ. Tunis El Manar, thèse de doctorat soutenue le 13 avril 2018
- [293] Yu, L., Wensel, P., Ma, J., Chen, S., 2013. Mathematical Modeling in Anaerobic Digestion (AD). *J. Bioremediation Biodegrad.* S4, 1–12. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.S4-003>
- [294] Wu, B., 2012. Integration of mixing, heat transfer, and biochemical reaction kinetics in anaerobic methane fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* 109, 2864–2874. <https://doi.org/10.1002/bit.24551>
- [295] Van Hulle, S.W.H., Vesvikar, M., Poutiainen, H., Nopens, I., 2014. Importance of scale and hydrodynamics for modeling anaerobic digester performance. *Chem. Eng. J.* 255, 71–77. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.06.041>

- [296]American Public Health Association, Washington DC, USA.
- [297]Handbook of Chemistry and Physics, CRC PRESS, D. R. LIDE, (2004-2005).
- [298]Nebot, E., 1992. Caracterización de los principales parámetros de operación de sistemas de tipo filtro anaerobio: aplicación al diseño. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz.
- [299]Ramalho, R.S., 1996. Tratamiento de aguas residuales. Ed. Reverte. London, UK.
- [300]TAPPI T 222 OM-88. Acid Insoluble Lignin in Wood and Pulp. Ed. TAPPI, Norcross, USA.
- [301]Thompson, W.H., Leege, P.B., Millner, P.D. & Watson, M.E., 2001. Test methods for the examination of composting and compost. Bethesda: US Composting Council.
- [302]Dong, H., Bao, J., 2010. Biofuel via biodegradation. *Nat. Chem. Biol.* 6, 316–318. <https://doi.org/10.1038/nchembio.355>
- [303]Cho, S., Park, S., Seon, J., Yu, J., Lee, T., 2013. Evaluation of thermal, ultrasonic and alkali pretreatments on mixed-microbial biomass to enhance anaerobic methane production. *Bioresour Technol.* 143, 330-336.
- [304]Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresour Technol.* 99: 4044-4064.
- [305]Tampio, E., Ervasti, S., Paavola, T., Heaven, S., Banks, C., Rintala, J., 2014. Anaerobic digestion of autoclaved and untreated food waste. *Waste Manage.* 34, 370-377.
- [306]Serrano, A., Siles, J.A., Martín, M.A., Chica, A.F., Estévez-Pastor, F.S., Toro-Baptista, E., 2016. Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge through. *J Environ Manage.* 177, 231-239.
- [307]Gil, A., Siles, J.A., Gutiérrez, M.C., Martín, M.A., 2019. Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for aerobic and anaerobic biodegradation. *Biomass Conv Bioref.* <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00380-x>
- [308]Pellera, F.M., Gidarakos, E., 2017. Microwave pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. *J Environ Chem Eng.* 5, 352–365.
- [309]Hendriks, A.T., Zeeman, G., 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol.* 100, 10–18.
- [310]Gossett, J.M., Stuckey, D.C., Owen, W.F., McCarty, P.L., 1982. Heat treatment and anaerobic digestion of refuse. *Journal of Environmental Engineering Division.* 108, 437-454.
- [311]Kumari, D., Singh, R., 2018. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: a critical review. *Renew Sust Energ Rev.* 90, 877-891.
- [312]Xiao, B., Sun, X.F., Sun, R-C., 2001. Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw. *Polym Degrad Stabil.* 74 (2), 307-319.
- [313]Kaparaju, P., Felby, C., 2010. Characterization of lignin during oxidative and hydrothermal pre-treatment processes of wheat straw and corn stover. *Bioresour Technol.* 101, 3175–3181
- [314]Pellera, F-M, Gidarakos, E., 2018. Chemical pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. *Waste Manage.* 71, 689-703.
- [315]Liu, X., Bayard, R., Benbelkacem, H., Buffière, P., Gourdon, R., 2015. Evaluation of the correlations between biodegradability of lignocellulosic feedstocks in anaerobic digestion process and their biochemical characteristics. *Biomass Bioenerg.* 81, 534-543.
- [316]Buendía, I.M., Fernández, F.J., Villaseñor, J., Rodríguez, L., 2008. Biodegradability of meat industry wastes under anaerobic and aerobic conditions. *Water Res.* 42 (14), 3767-3774.
- [317]Panigrahi, S., Dubey, B.K., 2019. A critical review on operating parameters and strategies to improve the biogas yield from anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Renew. Energy* 143, 779–797. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.040>

- [318] Jain, Siddharth, Jain, Shivani, Wolf, I.T., Lee, J., Tong, Y.W., 2015. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 52, 142–154. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.07.091>
- [319] Balaguer, M.D., Vicent, M.T., Paris, J.M., 1992. Anaerobic fluidized bed reactor with sepiolite as support for anaerobic treatment of vinasses. *BiotechnolLett.* 14, 433-438.
- [320] Borowski, S., Domanski, J., Weatherley, L., 2014. Anaerobic co-digestion of swine and poultry manure with municipal sewage sludge. *WasteManage.* 34, 513-521.
- [321] Angelidaki, I., Ahring, B.K., 1993. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Appl MicrobiolBiot.* 38, 560-564.
- [322] Østergaard, N., 1985. Biogasproduktionen det termofiletemperaturinterval. STUB rapport nr. 21. Kemiteknik Dansk Teknologisk Institut, Taastrup.
- [323] Rajagopal, R., Massè, D.I., Singh, G., 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresour. Technol.* 143, 632-641.
- [324] Sen, K., Mahalingam S., Sen B., 2013. Rapid and high yield biogas production from Jatropha seed cake by co-digestion with bagasse and addition of Fe<sup>2+</sup>. *Environ. Technol.* 34 (22), 2989-2994. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.798000>.
- [325] Ometto, F., Berg, A., Bjorn, A., Safaric, L., Svensson, B.H., Karlsson, A., Ejlertsson, J., 2018. Inclusion of *Saccharina latissima* in conventional anaerobic digestion systems. *Environ. Technol.* 39 (5), 628 – 639.
- [326] Costa, A.G., Pinheiro, G.C., Pinheiro, F.G.C., Dos Santos, A.B., Santaella, S.T., Leitão, R.C., 2014. The use of thermochemical pretreatments to improve the anaerobic biodegradability and biochemical methane potential of the sugarcane bagasse. *Chem. Eng. J.* 248, 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.03.060>
- [327] Du, X., Tao, Y., Liu, Y., Li, H., 2020. Stimulating methane production from microalgae by alkaline pretreatment and co-digestion with sludge. *Environ. Technol.* 41 (12), 1546 – 1553 <https://doi.org/HYPERLINK> "https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1540665" \t "\_blank"10.1080/09593330.2018.1540665
- [328] Pecorini, I., Baldi, F., Carnevale, E.A., Corti, A., 2016. Biochemical methane potential tests of different autoclaved and microwaved lignocellulosic organic fractions of municipal solid waste. *Waste Manage.* 56, 143-150.
- [329] Zhen, G., Lu, X., Kobayashi, T., Li, Y.-Y., Xu, K., Zhao, Y., 2015. Mesophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge and *Egeria densa* : Performance assessment and kinetic analysis. *Appl. Energy* 148, 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.03.038>
- [330] Nguyen, D.D., Jeon, B.-H., Jeung, J.H., Rene, E.R., Banu, J.R., Ravindran, B., Vu, C.M., Ngo, H.H., Guo, W., Chang, S.W., 2019. Thermophilic anaerobic digestion of model organic wastes: Evaluation of biomethane production and multiple kinetic models analysis. *Bioresour. Technol.* 280, 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.033>
- [331] Krishania, M., Vijay, V.K., Chandra, R., 2013. Methane fermentation and kinetics of wheat straw pretreated substrates co-digested with cattle manure in batch assay. *Energy* 57, 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.05.028>
- [332] Donoso-Bravo, A., Pérez-Elvira, S.I., Fdz-Polanco, F., 2010. Application of simplified models for anaerobic biodegradability tests. Evaluation of pre-treatment processes. *Chem. Eng. J.* 160, 607–614. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.03.082>
- [333] Zhen, G., Lu, X., Li, Y.-Y., Zhao, Y., 2014. Combined electrical-alkali pretreatment to increase the anaerobic hydrolysis rate of waste activated sludge during anaerobic digestion. *Appl. Energy* 128, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.04.062>
- [334] Fernández-Rodríguez, M.J., Rincón, B., Feroso, F.G., Jiménez, A.M., Borja, R., 2014. Assessment of two-phase olive mill solid waste and microalgae co-digestion to improve methane production and process kinetics. *Bioresour. Technol.* 157, 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.096>
- [335] Bakraoui, M., Karouach, F., Belhadj, S., Joute, Y., Ouhammou, B., Aggour, M., Essamri, A., Bari, H.E., 2018. Modified gompertz kinetic study of methane production from anaerobic digestion of recycled paper mill sludge 6.

[336] Bolado-Rodríguez S, Toquero C, Martín-Juárez J, Travaini R., Garcá-Encina P.A. 2016. Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatment on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse. *Bioresource Technol.*, 201:182–190. doi:10.1016/j.biortech.2015.11.047.

# Annexe



## Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant)



K. Hamraoui<sup>a,1</sup>, A. Gil<sup>b,1</sup>, H. El Bari<sup>a</sup>, J.A. Siles<sup>b</sup>, A.F. Chica<sup>b</sup>, M.A. Martín<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Renewable Energy and Environment Laboratory-Faculty of Sciences Ibn Tofail, Kénitra, Morocco

<sup>b</sup> University of Córdoba (Spain), Department of Inorganic Chemistry and Chemical Engineering, Campus Universitario de Rabanales, Carretera N-IV, km 396, Edificio Marie Curie, 14071 Córdoba, Spain

### ARTICLE INFO

Article history:  
Received 19 November 2018  
Revised 13 September 2019  
Accepted 9 October 2019

Keywords:  
Anaerobic digestion  
Lignocellulosic feedstock  
Hydrothermal pretreatment  
Eggplant  
Pepper plant  
Biogas

### ABSTRACT

Plant residues are an important source of organic matter that can be degraded by aerobic or anaerobic biological processes. However, due to the presence of lignocellulosic material, these residues are not easily biodegradable. Greenhouse crops, such as pepper and eggplant, generate large amounts of this type of waste after harvesting. In this study, a hydrothermal pretreatment was applied at 120 °C and different times to evaluate the enhancement of C and N solubilization in these residues. The highest solubilization of C was obtained at 40 min, as no significant increases were observed at higher times (100% and 68% for pepper plant [PP] and eggplant [EP], respectively). The solubilization of N shows a linear behavior (PP  $r^2 = 0.9670$  and EP  $r^2 = 0.9395$ ). Aerobic and anaerobic biodegradability were also evaluated, with better results found for the anaerobic digestion of the pretreated substrates. The nutrients balance with anaerobic co-digestion of both pretreated substrates (50:50% wt) improved methane production by 1.4 and 1.8 with respect to the substrates individually.

© 2019 Published by Elsevier Ltd.

### 1. Introduction

The use of renewable energy sources is a critical issue worldwide due to the serious negative environmental consequences of using fossil fuels and the future depletion of these fuels. In this regard, biomass has become one of the most promising markets for renewable energy sources.

Agriculture is one of the major sources for the production of biomass. After the harvesting of crops, plant residues consisting mainly of stems, leaves and some fruits remain. It is important that these plant residues are managed properly, since uncontrolled incineration has negative effects on the environment, such as air pollution and loss of resources, and the abandonment of these resi-

dues can lead to the spread of diseases and pests and the contamination of soil and aquifers, among others (Moreno et al., 2015). However, the plant residues generated after harvesting also provide an accessible source of renewable energy (Anjum et al., 2016), as this biomass source is a substrate capable of being biodegraded. Anaerobic digestion (AD) is an alternative technology to improve the management of this organic waste and recover energy. AD is of interest for these residues since methane is produced from the lignocellulosic wastes, with the consequent economic and environmental benefits (Kumari and Singh, 2018; Chandra et al., 2012).

Anaerobic digestion is considered a viable and mature technology. The benefits of this technology include the recovery of bioenergy, the reduction in environmental pollution and the production of organic fertilizer from the digested residues. The type and structure of substrates also affect the efficiency of biogas production. Organic materials are mainly composed of carbohydrates, proteins and lipids, which can be degraded to simpler compounds by microorganisms in four stages: hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis (Deublein, 2008).

However, this type of lignocellulosic biomass (LB) has the disadvantage that it is not easily biodegradable by anaerobic microorganisms because the biodegradable organic matter remains trapped in the lignocellulosic structure (Mosier et al., 2005). Ligno-

Abbreviations: Alk, alkalinity (mg CaCO<sub>3</sub>/L); EP, eggplant; FS, fixed solids (mg/L; g/kg); LB, lignocellulosic biomass; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ammonical nitrogen (g/L; g/kg); PP, pepper plant; STN, soluble total nitrogen (g N/kg); STP, standard temperature and pressure conditions (0 °C and 1 atm); TCOD, total chemical oxygen demand (mg O<sub>2</sub>/kg); TKN, total Kjeldahl nitrogen (mg/kg); TOC, total organic carbon (g C/kg); TP, total phosphorus (mg/kg); TS, total solids (mg/L; g/kg); VA, volatile acidity (mg CH<sub>3</sub>COOH/L); VS, total volatile solids (mg/L; g/kg); YCH<sub>4</sub>, methane yield coefficient (mL CH<sub>4</sub>/g VS).

\* Corresponding author.

E-mail address: [iq2masam@uco.es](mailto:iq2masam@uco.es) (M.A. Martín).

<sup>1</sup> Hamraoui K. and Gil A. equally contributed to the work.

<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.020>  
0956-053X/© 2019 Published by Elsevier Ltd.



# Hydrogen Peroxide Pretreatment of Lignocellulosic Biomass (Pepper Plant and Eggplant) for Anaerobic Digestion

K. Hamraoui<sup>1</sup>(✉), J. A. Siles<sup>2</sup>, A. F. Chica<sup>2</sup>, M. Ángeles Martín Santos<sup>2</sup>, and H. El Bari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Renewable Energy and Environment Laboratory, Faculty of Sciences  
Ibn Tofail, Kénitra, Morocco

<sup>2</sup> Department of Inorganic Chemistry and Chemical Engineering, University of Cordoba,  
Campus Universitario de Rabanales, Edificio Marie Curie (C-3). Ctra.N-IV, km 396.14071,  
Cordoba, Spain

**Abstract.** Since many years the anaerobic digestion (AD) process has been confirmed as an effective technique for converting organic material into methane-rich-biogas. Nonetheless, the complex lignocellulosic biomass (LB) structure impedes the ability of microorganisms to degrade and convert these compounds into biogas through AD. In this context, a pretreatment step is necessary to enhance LB degradability in order to achieve higher biogas production rate and yield. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of LB (such as pepper plants and eggplant) is a promising approach to increasing the production of biogas in AD among the different pretreatment methods.

This study reports the effects of hydrogen peroxide pretreatment (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) on the C/N ratio and volatile fatty acids (VFA) of pepper plant and eggplant.

The optimal concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for the use of pretreated pepper plant and eggplant plant was 3% and 1%, respectively reaching  $709,5 \pm 3,5$  g N/kg dry matter and  $509,3 \pm 2,93$  g N/kg dry matter.

The results showed that the concentration of soluble total nitrogen (STN) of LB increased from  $46,0\text{g} \pm 0,98$  g N/kg dry matter to  $61,5 \pm 1,41$  g N/kg dry matter of pepper plant at 3% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and from  $45,5 \pm 0,48$  g N/kg to  $60,7 \pm 1,11$  g N/kg dry sample of eggplant. Finally, the maximum VFA concentration was reached at 2% of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in pepper plant (160% higher than the value observed in the raw material) and at 3% of eggplant (238% VFA higher than the original substrate).

**Keywords:** Anaerobic digestion · Lignocellulosic biomass · Hydrogen peroxide pretreatment

## 1 Introduction

Increasing energy demand and issues related to non-renewable energy resources have led to numerous searches for alternative sources of energy [1]. Among energy sources,

© The Author(s), under exclusive license to Springer Nature Switzerland AG 2021  
J. R. da Costa Sanches Galvão et al. (Eds.): *Proceedings of the 1st International Conference on Water Energy Food and Sustainability (ICoWEFS 2021)*, pp. 318–324, 2021.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-75315-3\\_36](https://doi.org/10.1007/978-3-030-75315-3_36)