



HAL
open science

Study of the impact of aerobic pretreatment on anaerobic digestion of food waste

Henry Fisgativa

► **To cite this version:**

Henry Fisgativa. Study of the impact of aerobic pretreatment on anaerobic digestion of food waste. Other. Université de Rennes, 2016. English. NNT : 2016REN1S095 . tel-01489559

HAL Id: tel-01489559

<https://theses.hal.science/tel-01489559>

Submitted on 14 Mar 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1

sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie

Ecole doctorale Science de la Matière

présentée par

Henry Fisgativa

Préparée à l'unité de recherche OPAALE
Optimisation des procédés en agriculture, agroalimentaire et
environnement
IRSTEA

**Etude de l'impact d'un
prétraitement aérobic
sur la digestion
anaérobic de déchets
de cuisine**

**Thèse soutenue à Rennes
Le 13 Décembre 2016**

devant le jury composé de :

Geneviève FEUILLADE-CATHALIFAUD

Professeur, ENSIL Limoges / *rapporteur*

Pierre BUFFIERE

Professeur, INSA Lyon / *rapporteur*

Teresa GEA

Professeur, Université Autonome de Barcelone /
examineur

Hélène CARRERE

Directrice de recherche, INRA de Narbonne /
examineur

Patrick DABERT

Directeur de recherche, Irstea de Rennes / *examineur*

Maxime ROUEZ

Ingénieur R&D, Suez Environnement / *examineur*

Anne TREMIER

Ingénieur de Recherche (HDR), Irstea de Rennes /
directrice de thèse

Résumé

Compte tenu de la forte incitation réglementaire à la valorisation de déchets de cuisine, le développement de procédés de méthanisation à petite échelle (10 à 100 T de déchets par an) pourrait voir un essor potentiellement important. Cependant, la simplicité (préparation limitée des substrats, peu d'apport d'eau) et la robustesse (stabilité) du procédé représentent des enjeux cruciaux pour valider cette échelle de fonctionnement. Dans le procédé de méthanisation, l'étape d'hydrolyse reste la plus limitante due, d'une part, à une lente cinétique, qui provoque une dégradation non uniforme des carbohydrates structuraux (p.ex. la cellulose), et d'autre part, d'une transformation rapide des composants facilement biodégradables, ce qui peut générer une accumulation d'acides gras volatils, conduisant à une inhibition de l'activité méthanogène. Dans l'objectif de surmonter les problèmes liés à l'étape d'hydrolyse, de nombreux travaux ont été menés sur les prétraitements mécaniques, thermiques, ou chimiques de la matière organique. En comparaison, l'utilisation d'une pré-étape aérobie a été relativement peu étudiée. Un prétraitement aérobie pourrait aider à éliminer les fractions les plus biodégradables pour limiter les risques d'acidose du milieu et à mieux dégrader certaines fractions de la matière organique plus résistante. Toutefois l'utilisation d'un prétraitement aérobie peut provoquer une oxydation excessive des déchets, limitant leur potentiel méthanogène. Par conséquent, il est indispensable de bien maîtriser les conditions d'aération. Ce travail de thèse avait donc l'objectif de valider l'impact du prétraitement aérobie dans la digestion anaérobie de déchets de cuisine et de suggérer quel mode de mise en œuvre du prétraitement aérobie il faudrait préconiser.

Mot clés : déchets de cuisine, digestion anaérobie, prétraitement aérobie, acidification, population microbienne, exoenzymes

Abstract

Given the strong incentive to source separation of organic fractions of household waste, the development of anaerobic processes on a small scale (10 to 100 t of waste per year) could see significant growth. However, to validate this scale of operation, stability and efficiency of the treatment process will represent crucial issues. Concerning anaerobic processes, the hydrolysis step is the limiting step for two reasons. First, due to relatively slow kinetics, non-uniform degradation of structural carbohydrates (e.g. cellulose) may be produced. On the other hand, the rapid transformation of easy biodegradable compounds produces a rapid production of volatile fatty acids, which may lead to their accumulation, inhibiting the methanogenic activity. To overcome the problems associated with the hydrolysis step, many studies have been conducted on the mechanical, thermal or chemical pre-treatment of the organic matter introduced into the digesters. In comparison, the use of an aerobic biological pre-stage has been relatively less studied. Aerobic degradation can indeed eliminate more biodegradable fractions to reduce the risk of acidosis in the digester and enhance the degradation of some recalcitrant organic fraction. However the duration of the aerobic treatment should be well managed not to oxidize excessively the methanogenic potential of the pre-treated organic waste. The aim of the thesis was to validate the effectiveness of a pre-treatment to improve the anaerobic digestion of food waste and to suggest the best ways to implement this pre-treatment.

Keywords : food waste, anaerobic digestion, aerobic pre-treatment, acidification, microbial population, exoenzymes

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier Dieu pour être la source qui nourrit mon esprit, pour m'aider à trouver la force nécessaire d'affronter toutes les épreuves rencontrées au long de ces trois ans et pour m'avoir donné l'opportunité de croiser dans mon chemin toutes les personnes qui ont fait cette expérience possible.

Tout ce travail de thèse n'aurait pas été possible sans mon encadrante et directrice de thèse Anne Tremier, merci pour la confiance que tu m'as accordée pour réaliser cette thèse, merci pour ta patience, pour toutes les heures de relecture et de corrections, merci pour m'avoir aidé à me focaliser. Sans cela, je pense que je serais encore en train de faire toutes les analyses possibles pour caractériser les déchets... merci aussi d'avoir partagé avec moi ta manière organisée et logique d'aborder les différentes problématiques, j'ai toujours apprécié la manière dont mes écrits s'amélioraient substantiellement après tes suggestions de réorganisation. Enfin, merci pour tout ton encouragement et pour avoir été toujours présente pendant ces trois ans de travail.

Je souhaite remercier aussi Patrick Dabert, mon directeur pendant les premiers mois de thèse, pour m'avoir contaminé de ta passion pour le monde de la microbiologie, un monde fascinant qu'il me reste encore à découvrir. Merci aussi à Nicolas, Julie B., Jean-Philippe., Jean-Claude, Mylène, Sylvie, Patricia et Sophie pour m'avoir aidé dans la collecte, tri et caractérisation des déchets de cuisine. J'espère que les poules en sac plastique, les courses des asticots ou les odeurs de crevette en voie de décomposition ne vous ont pas trop dérangés. Je remercie aussi Céline, Anne, Axelle, Pascal, Cyril, Julie B. et Guillaume pour leur aide dans les pilotes expérimentaux.

Je tiens ensuite à remercier Pierre Buffière et Geneviève Feuillade d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse en tant que rapporteurs et membres du jury de soutenance, ainsi que les examinateurs Teresa Gea, Hélène Carrère, Patrick Dabert et Maxime Rouez. De la même manière, je remercie Rémy Bayard, Laurent Mazéas, Pascal Peu, Hélène Carrère et Patrick Dabert pour avoir participé aux discussions autour de ce travail lors des différents comités de pilotages.

Un grand merci à Amine et Marie qui ont abattu beaucoup de travail lors de leurs stages. Merci Amine pour ton aide au laboratoire, pour ton engagement au travail et pour ta grande curiosité scientifique. Les enzymes hydrolytiques ont été bien explorés grâce à toi. Merci Marie pour tout ton travail au pilote, merci d'avoir partagé avec moi les moments d'étonnement chaque fois qu'on trouvait des résultats intéressants (peut être on est célèbres au Japon ??), merci de m'avoir encouragé pour maintenir le rythme de travail la dernière année de thèse et pour ton travail si clair (cahier de labo parfait, organisation des analyses superbes et un excellent rapport de stage).

Je remercie aussi toute l'équipe de l'Irstea Rennes, qui, avec sa bienveillance et bonne ambiance, ont fait que le travail de thèse a été très agréable. Merci donc à Isabelle (pour ton aide sympathique

dans la partie administrative), Brigitte M. (pour ton sourire à toutes les heures de la journée, le meilleur accueil), Fabrice E. (aussi pour ton sourire contagieux !), Christine (pour ta personnalité unique, pleine de sensibilité et de vigueur à la fois, tu es admirable), Brigitte O., Claire, Lynda, Thierry, Fabrice B., Amaury, Marie-Line, Anne-Marie, Laurence, Fabrice G., Romain G. et j'ai en passe.

Mes remerciements aussi à tous les « Jeunes Chercheurs » qui sont le cœur de la bonne ambiance à l'Irstea. Merci donc à Axelle (merci pour la compagnie des dernières semaines de thèse et pour tes « Hola qué tal ? »), Samuel (musicien exceptionnel !), Romain C. (colocation et covoiturage de « Ayy hombre ! »), Cyril (pour ton travail exemplaire et pour ton talent en recrutement), Ruzica (merci pour ta tranquillité, je te considère presque comme une sœur), Carlos Andrés (un poco de Colombia en Rennes !), Faustine, Etienne, Lucas, Jordan, Clément, Anne-Laure, Simon, Younes, Benjamin, Amandine et Jianhao.

Merci aussi à ma famille, qui attend avec impatience mon retour à la « tierrita » (c'est-à-dire le territoire colombien), mais qui m'ont toujours encouragé et appuyé à distance. Mon plus grand merci à mon père pour ton aide et ta présence constante, pour me donner ton exemple de travail, merci pour ta détermination. Sans ton aide, je ne n'aurais pas pu traverser l'océan, il y a déjà plus de 5 ans, pour commencer une aventure plus grande que je n'aurais jamais imaginé.

Et le meilleur pour la fin, merci à ma belle, Christelle, merci pour ton amour inconditionnel et ta grande compagnie, merci pour ta patience pour tous les jours où j'arrivais tard. Sans toi la maison serait tombée en miettes et j'aurais fini en état de malnutrition !, pour tout le temps que tu as pris pour lire mes écrits et me signaler les fautes d'orthographe et les phrases mal tournées, jusqu'au bout, merci d'avoir choisi de rester à Rennes pour m'attendre et merci de me donner la plus grande joie avec le nouvel être qui vient au monde, notre plus beau projet après la thèse ! Merci encore et toujours.

Table de matières

Chapitre 1 : Contexte et problématique de la thèse	21
1. Les déchets alimentaires.....	23
1.1. Production des déchets alimentaires et impact sur l'environnement.....	23
1.2. Exigences réglementaires spécifiques aux déchets alimentaires	25
1.3. Caractéristiques physicochimiques et typologie des déchets de cuisine.....	29
2. La digestion anaérobie des déchets de cuisine	32
2.1. Etapes principales	32
2.2. Conditions physico-chimiques du processus.....	34
2.3. Potentiels et difficultés de la digestion anaérobie de déchets de cuisine	35
2.4. Pertinence du développement de systèmes de digestion anaérobie décentralisés ..	37
2.5. La méthanisation par voie sèche des déchets de cuisine.....	38
3. Prétraitement de déchets organiques	38
3.1. Prétraitements sur différents substrats organiques	38
3.2. Prétraitement aérobie des déchets de cuisine.....	40
4. Objectifs de la thèse et méthodologie générale	41
4.1. Etape 1 : Caractérisation des déchets de cuisine.....	42
4.2. Etape 2 : Etude de l'impact du prétraitement aérobie sur la traitabilité anaérobie des biodéchets de cuisine.....	43
4.3. Etape 3 : Mise en œuvre du prétraitement en amont d'un digesteur de laboratoire	43
Etape 1 : Caractérisation des déchets de cuisine	49
Chapitre 2 : Etat des connaissances sur la caractérisation des déchets de cuisine.....	53
Abstract	58
1. Introduction.....	59
2. Method.....	61

2.1.	Collection of literature data	61
2.2.	Studied FW characteristics	61
2.3.	Information characterizing data origins	62
2.4.	Statistical analysis	63
3.	Results of the statistical review of FW characteristics.....	64
3.1.	Mean characteristics and representativeness.....	64
3.2.	Impact of FW categories on FW quality variation.....	66
4.	Discussion: Pros and cons of FW characteristics for valorisation through AD	69
4.1.	Recall of AD fundamentals and influencing factors	69
4.2.	Comparison between FW quality and optimal conditions for AD treatment	71
4.3.	Lacks in terms of characterization of FW for a better understanding of ad stability	74
5.	Conclusion	75
Chapitre 3. Influence de la composition et des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques sur la biodégradabilité de déchets de cuisine		85
Abstract		90
1.	Introduction.....	92
2.	Materials and methods	94
2.1.	Food waste collection and sampling.....	94
2.2.	Samples preparation	94
2.3.	Statistical analysis and FW characteristics relationships	99
3.	Results and Discussion	100
3.1.	Characterization of the FW.....	100
3.2.	Relationships between FW characteristics.....	112
4.	Conclusion	117
Etape 2 : Etude de l'impact du prétraitement aérobie sur la traitabilité anaérobie des biodéchets de cuisine		125

Chapitre 4. Etude de l'impact d'une pré-aération sur les caractéristiques biochimiques et biologiques du déchet de cuisine et sa biodégradabilité anaérobie129

Abstract	134
1.	Introduction.....135
2.	Materials and methods137
2.1.	Composition and sampling of food waste feedstock137
2.2.	Experimental pre-treatment set-up.....137
2.3.	Preparation of the samples138
2.4.	Physical-chemical and biochemical analyses.....138
2.5.	Anaerobic biodegradability tests139
2.6.	Determination of enzymes139
2.7.	Determination of the microbial community.....140
3.	Results and discussion143
3.1.	Impact of O ₂ concentration on FW biodegradation kinetics143
3.2.	Anaerobic biodegradability of pre-treated FW144
3.3.	Changes in the biochemical characteristics of FW after aerobic pre-treatment.....146
3.4.	Effect of aeration on the biological activity in the FW148
4.	Conclusion155

Etape 3 : Couplage d'un prétraitement aérobie en amont d'une digestion anaérobie par voie sèche de déchets de cuisine161

Chapitre 5 : Etude de la performance du pilote de digestion anaérobie par voie sèche sur des déchets de cuisine165

1.	Introduction.....167
2.	Matériels et méthodes.....168
2.1.	Substrat utilisé168
2.2.	Le pilote de méthanisation par voie sèche.....168

2.3.	Conditions à tester	170
2.4.	Planification des expériences	172
2.5.	Reproductibilité	172
2.6.	Suivi analytique.....	173
2.7.	Bilan matière par suivi de la DCO et de l'azote total (NTK).....	173
2.8.	Modélisation de cinétiques de production de méthane	174
2.9.	Traitement statistique des résultats du plan d'expérience.....	175
3.	Résultats et discussion	176
3.1.	Potentiel biodégradable des substrats traités.....	176
3.2.	Validation de la reproductibilité de la mise en œuvre de la méthanisation.	176
3.3.	Performances de la digestion anaérobie en fonction des paramètres de mise en œuvre et du substrat.....	178
3.4.	Effet statistique de la mise en œuvre du procédé et du substrat sur la performance de la digestion anaérobie	185
4.	Conclusion	187
Chapitre 6 : Effet du prétraitement aérobie sur la performance de la digestion anaérobie en voie sèche des déchets de cuisine		
		191
1.	Introduction.....	193
2.	Matériels et méthodes.....	194
2.1.	Plan d'expérience.....	194
2.2.	Description des essais expérimentaux.....	194
2.3.	Analyse des paramètres de suivi de la méthanisation.....	196
2.4.	Modélisation des cinétiques de production de méthane	196
3.	Résultats.....	198
3.1.	Evaluation globale de la mise en œuvre de la méthanisation.....	198

3.2.	Performances de la digestion anaérobie en fonction des prétraitements appliqués	
	200	
3.3.	Modélisation des cinétiques de production	215
3.4.	Analyse statistique des résultats	217
4.	Conclusion	219
Chapitre 7 : Conclusions et perspectives		225
1.	Avancées des connaissances et perspectives sur les caractéristiques des déchets dits de cuisine	227
2.	Avancées et perspectives sur la compréhension de l'effet d'un prétraitement aérobie et des processus inhérents	230
3.	Avancées et perspectives sur le couplage de procédés : prétraitement aérobie + digestion par voie sèche de type LBR.....	233
4.	Questions d'ingénierie et de recherche au-delà des axes de la thèse.....	236
Synthèse des références		239

Liste de figures

Figure 1. Déchets alimentaires par habitant, dans les étapes de production, distribution et consommation, dans les différentes régions du monde (Gustavsson <i>et al.</i> , 2011)	23
Figure 2. Répartition des déchets alimentaires dans l'UE28 en 2012 (Stenmarck <i>et al.</i> , 2016).....	24
Figure 3. Composition moyenne nationale des OMR français (Fangeat & Militon, 2010)	27
Figure 4. Exemple de déchets alimentaires d'une communauté du Royaume-Uni après le tri (Heaven <i>et al.</i> , 2013)	31
Figure 5. Composition typologique des déchets de cuisine selon des analyses réalisées (%MB) au Royaume-Uni, Finlande, Portugal et Italie (Heaven <i>et al.</i> , 2013)	31
Figure 6. Schématisation des différentes étapes de la méthanisation et leurs produits (Gourdon, 2002).	32
Figure 7. Etudes bibliométriques des travaux sur les prétraitements de différents substrats organiques (Compilation de 112 articles entre 1978 et 2011). (Carlsson <i>et al.</i> , 2012) où PEF : « Pulse electric field »	39
Figure 8. Biogaz cumulé produit par les déchets après l'application des différents prétraitements (Ma <i>et al.</i> , 2011)	40
Figure 9. Food waste in the food supply chain for USA, Canada, Australia and New Zealand (Gustavsson <i>et al.</i> , 2011).....	59
Figure 10. Distribution of food waste source in total and by continents (% of data).....	62
Figure 11. Scheme of sample preparation	95
Figure 12. Food waste typological composition from the three sources: collective catering (RIA), vegetarian restaurant (VEG) and biowaste from a municipality (BIO)	100
Figure 13. Fractionation of VS by the typological composition (numerical values are in Appendix 1).....	102
Figure 14. Biochemical characteristics of the FW (RIA, VEG and BIO)	105
Figure 15. Relative abundance of the bacterial phyla found in the RIA, VEG and BIO FW. OTUs whose number of reads is lower than 1% of the total number of reads in all FW samples have been grouped in the Bacteria OTU<1% class.	107
Figure 16. Relative abundance of the bacterial genera found in the RIA, VEG and BIO FW. Dominant colours were kept comparable with Figure 15 (red for Proteobacteria, blue for Firmicutes and green for Bacteroidetes). OTUs whose number of reads is lower than 1% of the total number of reads in all FW samples have been grouped in the Bacteria OTU<1% class.....	108
Figure 17. Changes in FW reactors subjected to gas flows with different oxygen contents (0%, 5%, 10% and 21%): (a) CO ₂ production, (b) CO ₂ :O ₂ ratio, (c) temperature	144

Figure 18. Variations in biomethane potential after aerobic pre-treatment with oxygen concentrations of 0% (violet), 5% (green), 10% (red) and 21% (blue) on the basis of (a) wet weight and (b) volatile solids.	145
Figure 19. Biochemical fractionation of VS during the aerobic pre-treatment at different oxygen contents (0%, 5%, 10% and 21% of O ₂) and at different pre-treatment times (1, 2, 3 and 4 days). Errors bars represent the variation in the total VS from each condition.	146
Figure 20. Variation in the concentrations of the simple sugars (a) and volatile fatty acids (b) in FW after aerobic pre-treatment (0%, 5%, 10% and 21% of O ₂ content) at different times (1, 2, 3 and 4 days).....	148
Figure 21. Principal coordinate plots of the distances between the microbial community structures of all samples.....	153
Figure 22. Main bacterial phyla in (a) (0%) anaerobic conditions and (b) (21%) aerobic pre-treatment. P. Pseudomonas; L. Leuconostoc; Lb. Lactobacillus; c. Clostridiales; a. Acetobacter; Eb. Enterobacteriaceae; ab. Achromobacter; r. Rummeliibacillus; s. Sphingobacterium.....	154
Figure 23. Photographie du déchet initial avant mélange et composition typologique en masse humide	168
Figure 24. Schéma et photo du pilote de méthanisation par voie sèche (Degueurce, 2016).	169
Figure 25. Évolution du coefficient de variation au cours de la méthanisation, pour l'expérience de reproductibilité.....	177
Figure 26. Productions cumulés de méthane au cours de la méthanisation avec (a) ratio 2.1, 1 jour et (b) ratio 1, 4 jours, pour les déchets sans structurant (bleu), avec structurant (orange) et avec papier (vert)	179
Figure 27. Evolution de la concentration en acides gras volatils dans les déchets de cuisine sans structurant (bleu), avec structurant (orange) et avec papier (vert) pour les conditions : (a) ratio L/S 2.1, recirculation chaque jour et (b) ratio L/S 1, recirculation chaque quatre jours.	182
Figure 28. Interactions résultant du plan d'expérience pour les facteurs discrets : Substrat (1 : avec structurant, 2 : sans structurant et 3 : avec papier) et Ratio (1 : ratio L/S 2.1, recirculation chaque jour et 2 : ratio L/S 1, recirculation chaque 4 jours), pour les réponses : (a) Production de méthane simulé (P_{∞}), (b) Vitesse maximale de méthane (R_m) et (c) phase de latence (λ). Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance.....	186
Figure 29. Schéma du pilote utilisé pour les prétraitements aérobie (source interne).....	195
Figure 30. Exemple visuel des déchets de cuisine <i>Avant digestion</i> : (a) initial (sans papier), (b) après 2 jours de stockage (sans papier) (R2S2), (c) après prétraitement à 5% d'O ₂ (avec papier) (R7S2) et <i>Après digestion</i> : (d) sans prétraitement, avec ratio 2.1, 1 jour (sans papier) (R1S2), (e) après stockage,	

avec ratio 1, 4 jours (sans papier) et (f) après prétraitement à 5% d'O ₂ avec ratio 1, 4 jours (avec papier) (R7S2).....	201
Figure 31. Production de méthane pendant la digestion anaérobie de déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O ₂ (vert) et 21%O ₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)	203
Figure 32. Vitesse de production de méthane avec des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O ₂ (vert) et 21%O ₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)	206
Figure 33. Evolution du pH pendant la digestion des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O ₂ (vert) et 21%O ₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)	208
Figure 34. Evolution de la concentration en AGV pendant la digestion des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O ₂ (vert) et 21%O ₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)	210
Figure 35. Evolution de la concentration en acétate pendant la digestion des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O ₂ (vert) et 21%O ₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)	213
Figure 36. Résultats statistiques pour les réponses : (a) vitesse moyenne pour atteindre 90% de méthane (NLCH ₄ .kg MV ⁻¹ .jours ⁻¹) et (b) réduction de volume de déchet pour le prétraitement 1 : sans prétraitement, 2 : stockage, 3 : 5%O ₂ et 4 : 21%O ₂ . Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 88 et 75% respectivement.....	218

Liste des tableaux

Tableau 1. Mode de mise en œuvre de la collecte séparée des biodéchets ménagers et proportion de la population nationale desservie (Sidaine & Gass, 2013)	26
Tableau 2. Seuils de production de biodéchets ou d'huiles alimentaires en France pour entrer dans l'obligation légale de valorisation des biodéchets (Ministere de l'écologie, 2011)	28
Tableau 3. Caractéristiques physicochimiques de différents déchets alimentaires de Taiwan (Chang & Hsu, 2008)	29
Tableau 4. Exemple de caractéristiques de déchets de cuisine provenant des dans différentes sources de production et différent auteurs	30
Tableau 5. Potentiel méthanogène de déchets de cuisine selon différents auteurs	36
Table 6. Resume of food waste characteristics from database, standard deviations in parenthesis ...	65
Table 7. Kruskal-Wallis probability and Bonferroni groups for significant variations sources.....	66
Table 8. Resume of FW characteristics means including subcategories variations, standard deviations in parenthesis	67
Table 9. Comparison of FW composition in UK, Finland, Portugal, Italy and the 2008 UK WRAP analysis (Heaven <i>et al.</i> , 2013).....	74
Table 10. Comparison of the typological composition of samples from this study (RIA, VEG and BIO) against the data of the Valorgas (average from UK, Finland, Portugal and Italy) and WRAP (UK) projects	101
Table 11. FW characteristics. Standard deviation in parenthesis.....	103
Table 12. Number of sequences and diversity indexes of the NGS dataset for each FW.....	106
Table 13. Identification and relative abundance of the Fungi OTUs observed in FW	111
Table 14. High correlation coefficient of FW characteristics against biodegradability characteristics (confidence level >95%).....	115
Table 15. Characteristics of the raw food waste.	137
Table 16. Exoenzyme quantification in the different pre-treatment conditions.	149
Table 17. Qualitative activity of exoenzymes extracted from FW under different oxygen conditions and at different times	150
Table 18. Number of sequences and diversity indexes of the NGS dataset for each FW sample.....	152
Tableau 19. Récapitulatif de différentes expériences réalisées selon les conditions à considérer (ratio lixiviat/substrat, périodicité de recirculation et structure du déchet)	172
Tableau 20. Caractéristiques physico-chimiques des substrats et inoculum.....	173
Tableau 21. Bilans DCO et NTK (entrée/sortie de méthanisation) des réacteurs utilisés pour déterminer le bon fonctionnement des expériences	177

Tableau 22. Comparaison de la production de méthane cumulée et de la matière volatile dégradée selon les conditions de méthanisation étudiés.	180
Tableau 23. Paramètres de l'équation de Gompertz pour les conditions testées	185
Tableau 24. Analyses de variance pour le potentiel de méthane (P_{∞}), la vitesse maximale de production de méthane (R_m) et la phase de latence (λ).	185
Tableau 25. Récapitulatif des indicateurs de fonctionnement des différents expériences réalisées selon les conditions à considérer (déchet avec ou sans papier, type de prétraitement, ratio inoculum/déchet et fréquence de recirculation du lixiviat).....	199
Tableau 26. Concentration en NH_4^+ après 7 jours et à la fin de la digestion avec différents prétraitements (sans prétraitement, stockage, 5% O_2 et 21% O_2) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours). Concentration initiale dans l'inoculum pour toutes les conditions : 5.2 g.L ⁻¹	214
Tableau 27. Réponses de la simulation des différentes expériences réalisées selon les conditions à considérer (déchet avec ou sans papier, type de prétraitement, ratio inoculum/déchet et fréquence de recirculation du lixiviat).....	216
Tableau 28. Valeurs de probabilité de l'analyse de variance pour les différentes réponses du plan d'expérience. Entre parenthèse, condition impactant significativement et positivement la réponse pour : substrat (1) sans papier (2) avec papier et pour le ratio (1) ratio 2.1, 1jour (2) ratio 1, 4 jours	217

Liste de communications relatives à cette thèse

Publications scientifiques

Fisgativa, H., Tremier, A., Dabert, P. 2016. Characterizing the variability of food waste quality: A need for efficient valorisation through anaerobic digestion. *Waste Manag*, **50**, 264-74.

Fisgativa, H., Tremier, A., Le Roux, S., Bureau, C., Dabert, P. 2017. Understanding the anaerobic biodegradability of food waste: relationship between the typological, biochemical and microbial characteristics. *J Environ Manage*, **188**, 95-107.

Fisgativa, H., Tremier, A., Saoudi, A., Le Roux, S., Bureau, C., Dabert, P. 2016. Impact of an aerobic pre-treatment on the anaerobic biodegradability of food waste: Effect on biochemical composition and microbial populations. Soumis à Bioresource Technology.

Communications orales avec proceedings

Fisgativa, H., Tremier, A. Influence of food waste characteristics variations on treatability through anaerobic digestion. RAMIRAN 2015 - 16th International Conference Rural-Urban Symbiosis, Hamburg, Germany, September 8-10, 2015.

Fisgativa, H., Saoudi, A., Tremier, A. Impact of an aerobic pre-treatment on the anaerobic biodegradability of food waste. WasteEng2106 - 6th International Conference on Engineering for Waste Biomass Valorisation, Albi, France, May 23-26, 2016.

Communications affichées

Fisgativa, H., Saoudi, A., Tremier, A. Impact of an aerobic pre-treatment on the anaerobic biodegradability of food waste. Journée des Doctorants 2016 - Ecole Doctoral SDLM.

Chapitre 1 : Contexte et problématique de la thèse

1. Les déchets alimentaires

1.1. Production des déchets alimentaires et impact sur l'environnement

Selon la FAO (Gustavsson *et al.*, 2011), environ **un tiers** des aliments produits dans le monde sont perdus ou gaspillés, au long de toute la chaîne alimentaire, de la production et à la consommation (production agricole, post-récolte et stockage, transformation, distribution et consommation). Cela représenterait environ 1300 millions de tonnes de déchets par an. Le coût économique direct du gaspillage alimentaire (en se basant sur le prix à la production), est d'environ 750 milliards de dollars (555 milliards d'euros) (Jan *et al.*, 2013), équivalant au PIB des Pays Bas en 2015 (The World Bank, 2016). L'empreinte carbone de ce gaspillage est selon Bousquet *et al.* (2006) de 3.3 GtCO₂Eq par an, ce qui représenterait 11% des émissions de gaz à effet de serre (GES) au niveau mondial. Pour mieux comprendre l'ampleur de ce chiffre, si le gaspillage alimentaire était un pays, il serait le troisième émetteur de GES au niveau mondial, après la Chine (10.3 GtCO₂Eq par an) et les Etats-Unis (5.3 GtCO₂Eq par an) (Olivier *et al.*, 2015), proche des émissions de GES de l'Union Européenne (3.7 GtCO₂Eq par an).

Chaque étape de la chaîne alimentaire montre différents taux de pertes qui diffèrent principalement selon les conditions sociales, économiques et/ou techniques du lieu d'étude. Par exemple, les pays en développement présentent plus de déchets alimentaires pendant les premières étapes et les étapes moyennes de la chaîne (Production agricole, post-récolte et stockage, transformation et distribution) tandis que les pays industrialisés ont beaucoup plus de déchets au niveau de la consommation (Figure 1). Dans les pays industrialisés, 35 % des pertes interviennent à l'étape de la consommation, soit environ 100 kg par habitant par an (environ 222 millions de tonnes) (Gustavsson *et al.*, 2011).

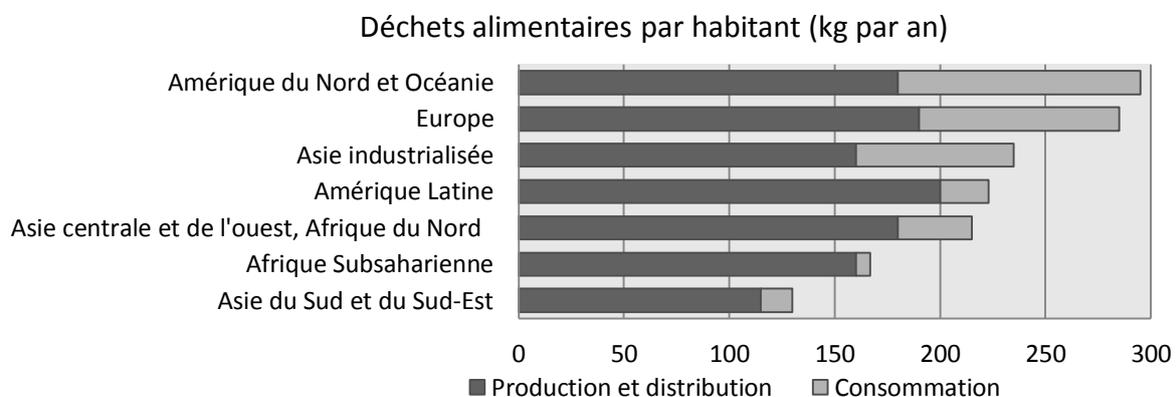


Figure 1. Déchets alimentaires par habitant, dans les étapes de production, distribution et consommation, dans les différentes régions du monde (Gustavsson *et al.*, 2011)

La Commission Européenne estime qu'environ 88 millions de tonnes de déchets alimentaires ont été produites en 2012 en Europe (Stenmarck *et al.*, 2016). Cette production correspond à une émission totale de 170 MtCO₂Eq par an, soit l'équivalent de 173 kilogrammes par habitant par an (Monier *et al.*, 2010; Stenmarck *et al.*, 2016). Selon les prévisions, en l'absence de mesures de réduction et prévention adéquates, cette quantité pourrait être portée à 126 Mt de déchets alimentaires en 2020, soit une augmentation de 40 %. En Europe, les déchets alimentaires produits dans les ménages représentent la part de production la plus importante, avec **53%** du total (Figure 2), soit environ 46Mt de déchets, donc en moyenne 92 kilogrammes par habitant par an.

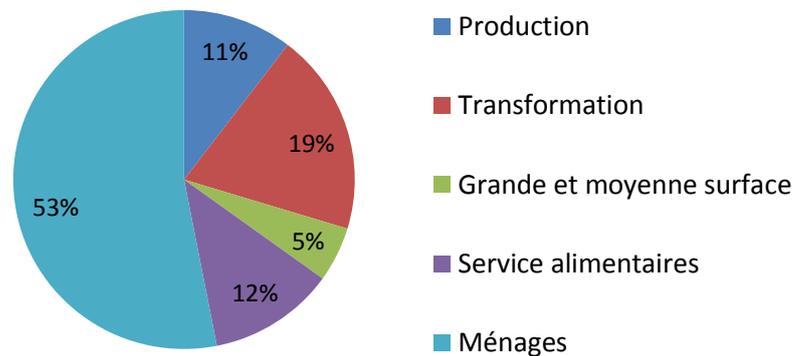


Figure 2. Répartition des déchets alimentaires dans l'UE28 en 2012 (Stenmarck *et al.*, 2016)

Une étude récente des pertes et gaspillage alimentaires publiée par l'ADEME en Mai 2016 (INCOME Consulting - AK2C, 2016) a estimé que 18% de la production alimentaire en France est perdue, équivalant à 10Mt des déchets alimentaires par an. Cette perte représente 16 milliards d'euros en France, avec une part d'impact importante au stade de la consommation (45%). Cependant, au quotidien, le poids des pertes et gaspillages, dispersés dans de multiples étapes de consommation, est souvent infime. Pour le consommateur à domicile par exemple, les pertes et gaspillages sont en moyenne de 30 kg par personne par an ce qui correspond à environ 30g par repas par personne. Cela signifie que la production des déchets est répartie sur tout le territoire dans des quantités qui pourrait être considérées comme faibles, mais qui une fois totalisées représentent des tonnages importants. A ce stade, la participation de la population en général pour récupérer et valoriser les déchets de cuisine produits à la source ne peut se faire qu'avec une indispensable prise de conscience de la problématique liée à l'impact de la production de déchets de cuisine. La prévention et la réduction du gaspillage alimentaire constituent des aspects importants de la sécurité alimentaire et de l'utilisation efficace des ressources. C'est pourquoi, plusieurs pays ont introduit graduellement des limitations réglementaires à l'enfouissement des déchets et encouragent la collecte et la valorisation des déchets organiques comme étudié dans la section suivante.

1.2. Exigences réglementaires spécifiques aux déchets alimentaires

Afin de protéger au mieux l'environnement, la directive 2008/98/CE établit que les états membres de l'Union Européenne doivent prendre des mesures pour le traitement de leurs déchets conformément à la hiérarchie suivante : prévention, réutilisation, recyclage, autre valorisation (notamment valorisation énergétique) et élimination. Cette directive s'applique aussi pour les déchets organiques.

La prévention est le facteur clé de la réduction des déchets alimentaires. Il existe de nombreuses campagnes de sensibilisation pour amener les personnes à connaître la problématique de la production des déchets de cuisine. Les projets Miniwaste (programme LIFE+, Commission européenne), « Love food Hate waste » (WRAP, UK) et « Too good for the bin » d'Allemagne (zugutfuerdietonne.de) sont autant d'exemples d'initiatives politiques pour lutter contre le gaspillage. Néanmoins, malgré les efforts réalisés et des actions de prévention, les déchets alimentaires continuent à être produits en grande quantité et constituent un potentiel de ressource organique très important.

La directive 2008/98/CE intègre les déchets de cuisine dans la catégorie « biodéchets¹ » et encourage les actions suivantes:

- La collecte séparée des biodéchets à des fins de compostage et de digestion des biodéchets;
- Le traitement des biodéchets d'une manière compatible avec un niveau élevé de protection de l'environnement;
- L'utilisation de matériaux sans risque pour l'environnement et produits à partir de biodéchets.

Il est donc important pour chaque état membre d'avancer dans sa législation sur la collecte et la valorisation des déchets alimentaires, tant pour réduire leur potentiel nuisible que pour les valoriser en produits d'intérêt.

Pour comprendre le point d'application de cette directive il est intéressant de connaître le mode de mise en œuvre de la collecte des biodéchets dans différents pays (Tableau 1). L'étude réalisée par Sidaine and Gass (2013), a comparé les engagements réglementaires de 7 pays de l'Union Européenne (la France, l'Autriche, l'Allemagne, l'Italie, la Belgique, l'Espagne et le Royaume-Uni) ainsi que de pays ne faisant pas partie de l'Union Européenne, comme le Canada (Québec), les Etats-Unis, l'Australie et la Suisse. L'étude montre que la collecte séparée des biodéchets n'est obligatoire

¹ « Biodéchets » (selon la directive 2008/98/CE): les déchets biodégradables de jardin ou de parc, les déchets alimentaires ou de cuisine issus des ménages, des restaurants, des traiteurs ou des magasins de vente au détail, ainsi que les déchets comparables provenant des usines de transformation de denrées alimentaires.

actuellement qu'en Catalogne et en Sardaigne (Italie). Les pays les mieux couverts par la collecte des biodéchets sont la Belgique (Flandre), la Suisse et l'Autriche. Dans ces Etats, comme en Allemagne, le compostage domestique a toujours accompagné la collecte séparée, très souvent en complément, plus rarement, comme alternative à la collecte séparée sur toute une collectivité. Cela montre que l'axe prévention est indispensable mais que son efficacité ne peut se faire qu'avec le temps.

Tableau 1. Mode de mise en œuvre de la collecte séparée des biodéchets ménagers et proportion de la population nationale desservie (Sidaine & Gass, 2013)

	Mode de mise œuvre de la collecte des biodéchets	Proportion de la population desservie en 2010/2011
France	Volontariat	9 % (dont 6 % DV*)
Allemagne	Volontariat, Obligatoire à partir de 2015	entre 55 et 60 %
Autriche	Obligation si pas de gestion domestique	entre 70 et 80 %
Angleterre	Volontariat	53 % (y compris DV*)
Pays de Galles	Obligatoire à partir de 2013	-
Ecosse	Obligatoire à partir de 2013 (sauf zones rurales)	-
Irlande du Nord	Volontariat	-
Italie	Volontariat (Obligatoire en Sardaigne)	41% (y compris DV*)
Espagne	Volontariat	entre 5 et 10 %
Catalogne	Obligatoire	74%
Suisse	Volontariat	entre 70 et 80 %
Canada (Québec)	Volontariat	9%
Belgique (Flandre)	Volontariat	67%
Belgique (Bruxelles)	Volontariat (Uniquement DV)	Toute la ville sauf hyper-centre
Belgique (Wallonie)	Volontariat	50%
Etats-Unis	Volontariat	Très peu
Australie	Volontariat	41% (uniquement DV*)

*DV – Déchets verts

Comme on peut le voir, la proportion de la population desservie par la collecte séparée de biodéchets en France montre une large possibilité d'évolution. Pour l'instant, seulement 3% des déchets alimentaires font l'objet d'une collecte spécifique. Le reste des biodéchets est donc dirigé

principalement vers les ordures ménagères résiduelles (OMR²). La caractérisation la plus récente des OMR publiée par l'ADEME (Fangeat & Militon, 2010) montre qu'environ 30% des déchets ménagers sont putrescibles³ (Figure 3), soit 72 kilogrammes par habitant par an (6 Mt par an) de biodéchets majoritairement constitués de déchets de cuisine, bien que l'on puisse aussi y trouver certains déchets verts, papiers-cartons et textiles sanitaires, apportant aux déchets certains composants moins facilement biodégradables.

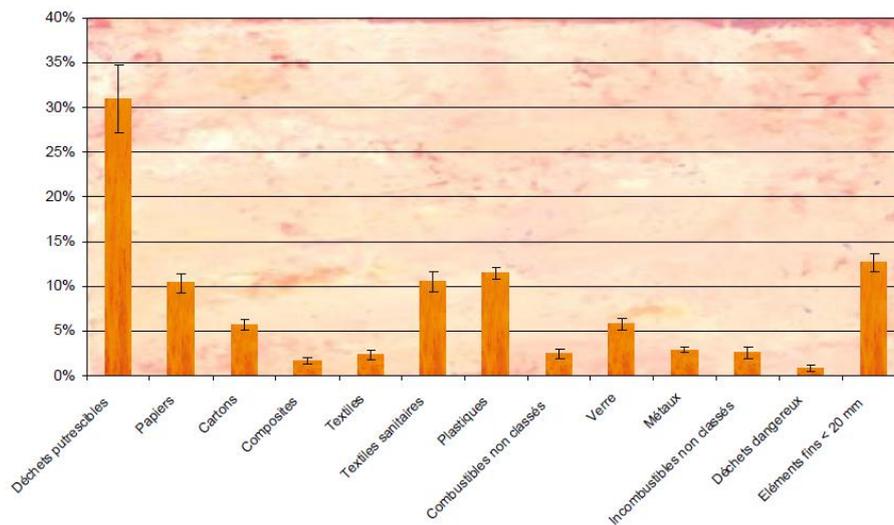


Figure 3. Composition moyenne nationale des OMR français (Fangeat & Militon, 2010)

Pour les OMR, l'incinération est le moyen de gestion le plus répandu en France. Ce mode de gestion peut être considéré comme une voie de valorisation si l'énergie est récupérée (chaleur et/ou électricité). Cependant, la part de biodéchets présente dans les OMR possède un fort potentiel fermentescible qui pourrait être mieux valorisé par des processus biologiques tels que le compostage ou la méthanisation.

Pour faire face au manque de valorisation des biodéchets, la loi du Grenelle sur l'environnement de 2009 définit des objectifs ambitieux de valorisation (hors incinération) de la matière organique (MO) à 45% pour 2015, contre 24% en 2004. La loi vise aussi à améliorer la gestion des biodéchets en favorisant en priorité la gestion de proximité de ces derniers, avec le compostage domestique et de proximité, puis la méthanisation et le compostage centralisés, en ciblant en particulier les gros

² Les Ordures Ménagères Résiduelles (OMR) représentent la part des ordures ménagères collectées en mélange, restant après collectes sélectives (verre + emballages et journaux-magazines (matériaux secs) et éventuellement biodéchets), soit en porte-à-porte, soit en apport volontaire. (Fangeat, E., Militon, C. 2010. La composition des ordures ménagères et assimilées en France - Résultats de la campagne nationale de caractérisation 2007. ADEME.)

³ Déchets putrescibles : Ce sont les déchets susceptibles de se dégrader spontanément dans les OMR. Ils sont composés principalement par les déchets de légumes et des fruits, déchets de viande, de restes de repas, tontes de gazons, entre autres. On peut les appeler aussi « déchets fermentescibles » (ibid.)

producteurs collectés séparément. Pour atteindre ces objectifs, la loi dite de Grenelle II est entrée en vigueur en 2012. Cette loi oblige à la gestion séparée (collecte ou gestion de proximité) des biodéchets des gros producteurs. Les gros producteurs ont donc l'obligation, selon les seuils spécifiés au Tableau 2, de mettre en place une séparation des biodéchets afin qu'ils soient dirigés vers une filière de valorisation organique ou de proximité. Pour l'instant, il n'y a pas d'obligation équivalente pour les biodéchets des ménages, bien que la loi de transition énergétique (LOI n° 2015-992 du 17 août 2015) encourage la généralisation de leur collecte séparée. En effet, la loi de la transition énergétique, cherche à l'augmentation de la quantité de déchets organiques valorisés, en fixant des seuils de valorisation à 55% en 2020 et 65% en 2025. Les collectivités devront généraliser le tri à la source des déchets organiques pour que chaque citoyen dispose d'une solution lui permettant de ne plus jeter ses biodéchets avec les OMR.

Tableau 2. Seuils de production de biodéchets ou d'huiles alimentaires en France pour entrer dans l'obligation légale de valorisation des biodéchets (Ministère de l'écologie, 2011)

<i>Année</i>	<i>Seuil biodéchets (t/an)</i>	<i>Seuil huiles alimentaires (Litres/an)</i>
2012	120	1500
2013	80	600
2014	40	300
2015	20	150
2016	10	60

Les premières années de mise en place du seuil, ceux-ci ont concerné principalement les grands hypermarchés et industries. A partir de 2014, le seuil est entré dans l'échelle de production de déchets de la restauration collective et le dernier seuil inclus enfin tous les restaurants qui servent entre 200 et 500 repas par jour. En application du 8° de l'article L. 541-46 du code de l'environnement, ne pas mettre en place le tri à la source des biodéchets devient un délit. Les producteurs qui n'appliquent pas correctement cette restriction encourrent une amende de 75000€ et une peine d'emprisonnement de 2 années.

1.3. Caractéristiques physicochimiques et typologie des déchets de cuisine

En raison de la forte humidité des biodéchets, les technologies de bioconversion, comme la digestion anaérobie, sont plus souhaitables que les technologies thermochimiques, comme la combustion ou la gazéification (Zhang *et al.*, 2007). Cependant, les performances de la digestion anaérobie sont influencées par la nature du déchet et par ses caractéristiques de dégradation (Carlsson *et al.*, 2012). L'étude des caractéristiques des déchets est utile pour mieux comprendre le comportement des déchets lors d'une valorisation biologique. Dans le Tableau 3 nous pouvons observer un exemple de caractérisation de déchet avec ses variations. Les caractéristiques physicochimiques des déchets de cuisine montrent de fortes variations, par exemple dans les valeurs d'humidité, de matière volatile (MV) ou le ratio C/N.

Tableau 3. Caractéristiques physicochimiques de différents déchets alimentaires de Taiwan (Chang & Hsu, 2008)

<i>Caractéristique</i>	<i>Teneur</i>
Humidité (% MB*)	65 – 80
Cendres (% MB)	3 – 5
MV* (% MB)	18 – 30
Carbohydrates (% MS*)	40 – 60
Protéines (% MS)	10 – 30
Gras (% MS)	15 – 40
Carbone (% MS)	45 – 65
Hydrogène (% MS)	6 – 7
Nitrogène (% MS)	1 – 3
Oxygène (% MS)	40 – 50
Ration C/N	15 – 40

MB – Matière brute, MS – Matière sèche, MV- Matière volatile

En plus de ces variations générales, on observe une variation des caractéristiques selon la source du déchet, et même s'il provient de producteurs similaires (Tableau 4). Avec ces résultats c'est difficile de déterminer les valeurs moyennes générales des déchets selon la source ou même le pays de production.

Tableau 4. Exemple de caractéristiques de déchets de cuisine provenant des dans différentes sources de production et différent auteurs

Source	Pays	pH	Humidité (%)	MV/MS (%)	C/N	Référence
Restaurant universitaire	Chine	4.1	82.8	95.6	17.8	(Xiao <i>et al.</i> , 2013)
Restaurant universitaire	Chine	4.2	72.8	94.2	16.6	(Lin <i>et al.</i> , 2013)
Salle à manger	Corée	5.8	93.2	93.9	18.3	(Shin <i>et al.</i> , 2004)
Cuisine communautaire	Canada	3.9	89.7	-	19.1	(Adhikari <i>et al.</i> , 2008)
Restaurant	France	5.3	78.7	82.1	20.2	(Adhikari <i>et al.</i> , 2013)
Restaurant	France	-	72.9	94.8	-	(Peu <i>et al.</i> , 2012)
Déchet Ménagère	Espagne	5.3	70.8	85.1	17.0	(López <i>et al.</i> , 2010)
Déchet Ménagère	Royaume Uni	5.1	76.3	92.1	16.4	(Banks <i>et al.</i> , 2011)
Déchet Ménagère	Royaume Uni	5.2	74.3	91.2	16.4	(Banks <i>et al.</i> , 2011)
Supermarché	Etats Unis	4.1	84.8	90.8	11.4	(Brown & Li, 2013)
Cuisine industrielle	Belgique	-	74.5	94.1	17.8	(De Vrieze <i>et al.</i> , 2013)
FFOM*	Espagne	5.7	49.0	71.2	20.0	(López <i>et al.</i> , 2010)
FFOM	Taiwan	6.8	95.6	92.7	-	(Lee <i>et al.</i> , 2008)
FFOM	Belgique	3.8	83.4	93.4	-	(Ma <i>et al.</i> , 2011b)

*FFOM – Fraction fermentescible des ordures ménagères

De la même manière, des variations dans la composition typologique des déchets de cuisine ont été observées. L'étude Valorgas (Heaven *et al.*, 2013) montre que pour les 4 pays européens étudiés (Royaume-Uni, Finlande, Portugal et Italie), l'influence de la collecte sélective de déchets et des consignes de tri entre chaque pays est notable. Par exemple, les biodéchets étudiés au Royaume-Uni ont été collectés auprès des ménages en porte-à-porte tandis que les déchets de Finlande ont été échantillonnés auprès de la compagnie responsable de la collecte des déchets, qui prend en charge à la fois les déchets de GMS, restaurants, services de traiteur et des ménages. D'autre part, les biodéchets analysés pour le Portugal et l'Italie sont issus de gros producteurs de déchets (i.e. restaurants, cantines, hôtels) et ménages.



Figure 4. Exemple de déchets alimentaires d'une communauté du Royaume-Uni après le tri (Heaven *et al.*, 2013)

Les fruits et légumes constituent entre 45 et 70% du total de poids sec pour tous les pays. La proportion de viande et de poisson reste similaire dans tous les pays (environ 8%). La proportion de pain et produits de boulangerie a été supérieure pour le Royaume-Uni et la proportion des produits de pâtes/riz farines/céréales a été plus importante pour l'Italie.

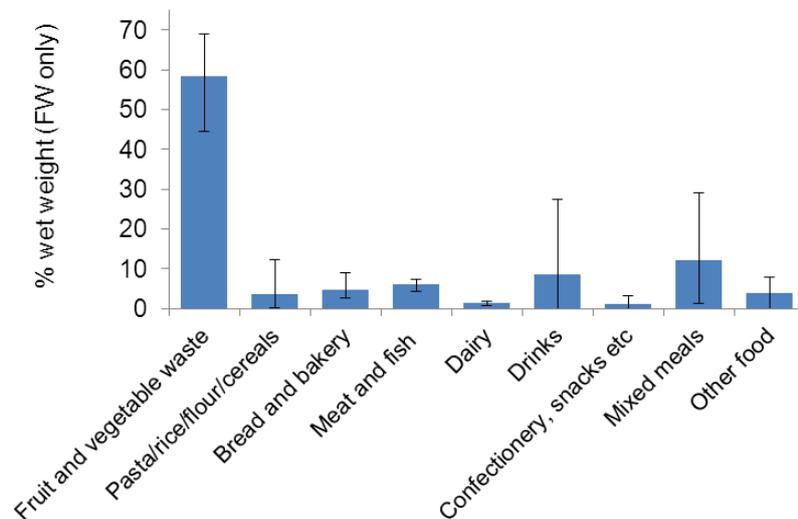


Figure 5. Composition typologique des déchets de cuisine selon des analyses réalisées (%MB) au Royaume-Uni, Finlande, Portugal et Italie (Heaven *et al.*, 2013)

En raison de leur forte humidité et de leur grande proportion de fruits et légumes, les déchets de cuisine, quelque jours après la collecte, suivent naturellement une décomposition, principalement par voie anaérobie (sans oxygène). Celle-ci produit des inconvénients environnementaux (production

de GES et de lixiviats qui percolent dans le sol), sociaux (mauvais odeurs) et de santé (prolifération potentielle de bactéries pathogènes). Paradoxalement, les mêmes composants qui produisent ces impacts négatifs sont souhaitables au processus de valorisation biologique, en captant les produits d'intérêt résultants. La section suivante se concentre sur la compréhension du processus de la digestion anaérobie et se focalise en particulier sur les caractéristiques spécifiques du processus par rapport aux déchets de cuisine.

2. La digestion anaérobie des déchets de cuisine

2.1. Etapes principales

La digestion anaérobie (ou méthanisation) peut être définie comme étant le processus naturel de dégradation de la matière organique par des micro-organismes en absence d'oxygène. Ce phénomène se déroule selon 4 étapes biochimiques du fait de l'activité de plusieurs groupes de microorganismes qui fonctionnent en syntrophie, produisant un gaz composé principalement par méthane (CH_4) et dioxyde de carbone (CO_2) appelé biogaz. Ce processus de transformation de la matière organique peut être divisé en quatre étapes successives (Figure 6), qui ont leur caractéristiques propres et impliquent chacune différents groupes de microorganismes.

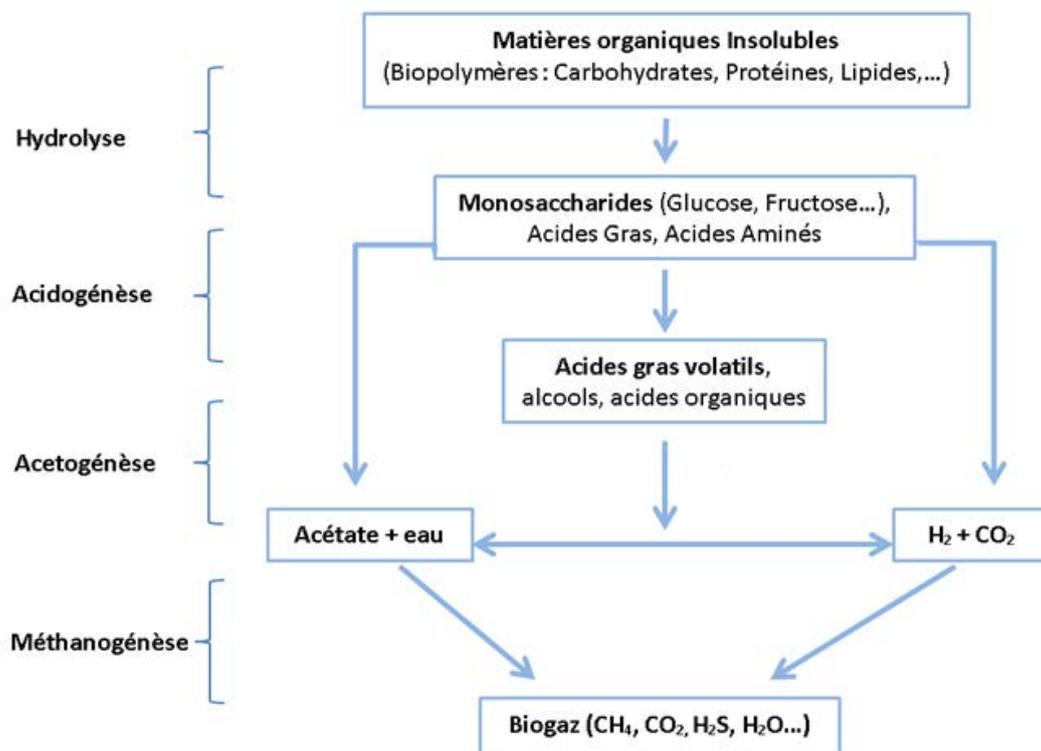


Figure 6. Schématisation des différentes étapes de la méthanisation et leurs produits (Gourdon, 2002).

2.1.1. Hydrolyse

L'hydrolyse est la première des quatre principales étapes biochimiques de la digestion anaérobie durant laquelle les molécules de haut poids moléculaire ou biopolymères (polysaccharides, lipides, protéines, acides nucléiques) sont transformées en monomères (monosaccharides, acides gras, acides aminés et bases azotées). Durant cette étape, les biopolymères vont être transformés en leurs molécules constitutives élémentaires grâce principalement à des enzymes extracellulaires secrétées par des microorganismes hydrolytiques anaérobies stricts ou facultatifs (Goel *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2007). Ainsi, les vitesses d'hydrolyse de même que les produits d'hydrolyse sont différents en fonction du substrat hydrolysé. Les hydrates de carbone sont convertis en monosaccharides de types glucose, galactose, fructose (Tong *et al.*, 1990). Les protéines sont converties en acides aminés (Batstone *et al.*, 2002) ainsi qu'en polypeptides et ions d'ammonium (Sanders *et al.*, 2000). Les lipides sont dissociés principalement en acides gras à longues chaînes libres et glycérol (Batstone *et al.*, 2002a; Deublein & Steinhauser, 2011). Par rapport à la vitesse de transformation, l'hydrolyse des carbohydrates se fait en quelques heures et l'hydrolyse des protéines et des lipides en quelques jours. Par ailleurs, la lignocellulose et la lignine sont très lentement dégradées et de manière incomplète, c'est pourquoi l'hydrolyse est généralement considérée comme l'étape limitante de la digestion anaérobie, pour la difficulté de la dégradation des intrants (Moletta, 2011).

2.1.2. Acidogénèse

Les monomères obtenus grâce à l'étape d'hydrolyse sont transformés principalement en acides gras volatils (AGV) (acétate, propionate, isobutyrate, valérate et isovalérate) ainsi qu'en alcools, CO₂, hydrogène (H₂) ou encore en sulfure d'hydrogène (H₂S) (Moletta, 2011). Les microorganismes impliqués peuvent être anaérobies stricts ou facultatifs, qui vont transformer les monomères avec des mécanismes intracellulaires. Dans cette étape, une forte compétition peut avoir lieu entre les différentes espèces de microorganismes, et de nombreuses voies métaboliques peuvent être possibles. Cette étape est particulièrement impactante pour la stabilité du procédé car une accumulations des AGV peut causer une inhibition des microorganismes impliqués dans la dernière étape, causant ainsi une mauvaise performance des réacteurs, voire l'arrêt de la méthanisation (Jha *et al.*, 2011).

2.1.3. Acétogénèse

Lors de cette troisième étape ont lieu les réactions endergoniques (apport d'énergie nécessaire pour pouvoir se réaliser) de transformation des métabolites des précédentes étapes en produits

précurseurs du méthane (acétate, H₂ et CO₂) (Deublein & Steinhauser, 2011; Moletta, 2011). L'hydrogène produit est limitant pour les bactéries acétogènes mais il est nécessaire pour les microorganismes méthanogènes, ils doivent donc vivre en symbiose (Deublein & Steinhauser, 2011).

2.1.4. Méthanogenèse

Enfin, lors de cette dernière étape, les produits issus de l'acétogenèse sont transformés en CH₄ par l'intervention de microorganismes anaérobies stricts appartenant au domaine des *Archaea*. Classiquement, deux catégories d'*Archaea* méthanogènes sont représentées :

- Les méthanogènes hydrogénophiles, productrices de CH₄ à partir d'H₂ et de CO₂.
- Les méthanogènes acétoclastes, qui produisent le CH₄ majoritairement à partir de l'acétate.

Elles génèrent environ 70% du méthane produit en conditions mésophiles (Moletta, 2011).

2.2. Conditions physico-chimiques du processus

Pour un bon fonctionnement des différentes étapes de la méthanisation, il faut maintenir des conditions physico-chimiques dans des plages de valeur favorables pour les microorganismes, notamment la température de fonctionnement et des seuils de pH.

Trois gammes de température sont normalement utilisées pour ce procédé (Kothari *et al.*, 2014) :

- Psychrophile (inférieure à 20 °C). Le procédé est alors moins consommateur d'énergie, mais a une efficacité moindre en production de méthane. Cette gamme de température est rarement utilisée dans l'industrie.
- Mésophile (entre 30 et 40 °C). C'est la gamme de température, classiquement utilisée dans les procédés, qui correspond à la température optimale pour la croissance de la majorité des microorganismes, permettant un meilleur rendement que la méthanisation psychrophile et une moins forte instabilité que la méthanisation thermophile.
- Thermophile (entre 50 et 60 °C). Très étudiée actuellement, elle permet une production plus rapide que les deux conditions précédentes, mais avec quelques contraintes. Les bactéries thermophiles sont plus sensibles aux variations de température. Des variations de 1°C peuvent perturber la digestion thermophile, alors que la digestion mésophile résiste à des variations de 2 à 3°C. La forte dépense énergétique nécessaire pour maintenir le procédé à

température constante doit être compensée par une forte production en CH_4 , qui n'est pas toujours garantie (Jha *et al.*, 2011).

Pour ce qui est du pH, chaque étape de la méthanisation possède sa propre gamme optimale de fonctionnement : entre 5,5 et 6,5 pour les étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse (Kothari *et al.*, 2014) ; la production d'acétate a été caractérisée comme optimale entre pH 8 et 11, avec un maximum à pH 8, pour l'étape d'acétogénèse (Nie *et al.*, 2007); enfin, l'étape de méthanogénèse aurait son optimum à un pH entre 6,7 et 7,5 (Deublein & Steinhauser, 2011).

D'autres paramètres comme le potentiel redox peuvent jouer un rôle important pendant la méthanisation. Par exemple, les *Archaea* méthanogènes sont des microorganismes anaérobies stricts, et des traces d'oxygène peuvent suffire à les tuer. Elles ne se développent donc qu'à de très faibles potentiels d'oxydoréduction entre -300 et -500mV (Moletta, 2011).

2.3. Potentiels et difficultés de la digestion anaérobie de déchets de cuisine

Comme mentionné précédemment les déchets de cuisine sont généralement des déchets très humides, dont la matière volatile (MV) représente 72 à 97 % de la MS ce qui en fait un déchet très intéressant pour une valorisation par digestion anaérobie. Ces déchets sont en effet fortement méthanogènes : 322 à 571 $\text{NLCH}_4 \cdot \text{kgMV}^{-1}$ (Tableau 5).

Malgré le fort potentiel des déchets de cuisine pour produire du biogaz, plusieurs auteurs ont démontré des difficultés au long de leurs expériences dues à différents types d'instabilités. C'est le cas notamment des AGV, qui peuvent aussi bien influencer la valeur du pH dans les digesteurs que devenir toxiques à trop forte concentration pour le développement de microorganismes. Selon Veeken and Hamelers (2000), l'hydrolyse est complètement inhibée avec une concentration des AGV de 40-50 gDCO/L et selon Zhang *et al.* (2012), la digestion entre dans un fort état de stress au-delà d'une teneur en AGV de 20 gDCO/L.

L'azote ammoniacal peut également être responsable d'inhibition. Généralement présent sous forme d'ammonium (NH_4^+), il est présent sous forme plus toxique d'ammoniac (NH_3) si le pH du milieu devient trop basique (pKa 9,2). Selon Benabdallah El Hadj *et al.* (2009), une inhibition de 50% dans la production de méthane peut être observée à 215 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$ pour des réacteurs en température mésophile et à 468 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$ pour une température thermophile. De son côté, Hartmann and Ahring (2005) ont montré une inhibition à 650 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$ et Mata-Álvarez (2003) une inhibition avec une présence d'ammoniac total supérieur à 1200 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$.

Tableau 5. Potentiel méthanogène de déchets de cuisine selon différents auteurs

Pays	Origine	Potentiel	
		méthanogène (NLCH4.kgMV ⁻¹)	Référence
Chine	Restaurant universitaire	322	(Liu et al., 2013)
EEUU	Restaurants, hôtels et commerces	353	(El-Mashad & Zhang, 2010)
Suède	Ménager	395	(la Cour Jansen et al., 2004)
Chine	Restaurant universitaire	410	(Zhang et al., 2013)
EEUU	Restaurants, hôtels et commerces	440	(Zhang et al., 2007)
Royaume-Uni	Déchet de cuisine collecté à la source	501	(Tampio et al., 2014)
Irlande	Restaurant universitaire	528	(Browne et al., 2013)
Chine	Restaurant	540	(Wang & Zhao, 2009)
Chine	Cafeteria	540	(Dai et al., 2013)
France	Restaurant	571	(Peu et al., 2012)

La performance de la méthanisation est liée aussi à la composition biochimique des déchets de cuisine. La forte hétérogénéité des déchets de cuisine fait que la performance de l'hydrolyse est difficilement prévisible. D'un côté, la grande présence des sucres simples (35 % en moyenne) qui ont un temps de transformation rapide (Deublein & Steinhauser, 2011) (de quelques heures) peuvent provoquer une accumulation des AGV. Ainsi selon Scano *et al.* (2014), la haute teneur en sucres simples favorise généralement l'acidification rapide, inhibant principalement l'activité des archées méthanogènes. Ces auteurs affirment que l'utilisation de substrats avec des teneurs en sucres simples inférieures à 40% assure une stabilité du procédé et un bon taux de production de méthane. D'un autre côté, l'hydrolyse des carbohydrates structuraux semble non optimale dans les procédés de digestion. En effet, la cellulose n'est digérée en moyenne qu'à 50-60% en 30 à 40 jours (Chynoweth *et al.*, 1998) alors que le rumen d'une vache à un rendement de 60-65% en 48h (Moletta, 2011).

D'autres composants biochimiques présents dans les déchets de cuisine peuvent aussi mener à une instabilité dans le procédé. Selon Mata-Alvarez (Mata-Álvarez, 2003), une teneur élevée des protéines amène à une haute teneur d'azote dans l'hydrolyse, qui conduit à des concentrations élevées de NH₃ ou de NH₄⁺ dans le digesteur. Enfin, les déchets de cuisine peuvent montrer une déficience en éléments trace nécessaires pour la digestion anaérobie, provoquant une accumulation des AGV avec éventuellement une baisse consécutive du pH et par conséquent l'arrêt de la méthanisation.

La problématique de l'étape d'hydrolyse, particulièrement pour le traitement de déchets de cuisine, est donc double. Il s'agit à la fois de favoriser l'activité enzymatique hydrolytique, tout en évitant des conditions conduisant à l'acidose du digesteur.

2.4. Pertinence du développement de systèmes de digestion anaérobie décentralisés

Compte tenu de la forte incitation à un tri à la source des fractions organiques des déchets ménagers, des coûts inhérents aux collectes de déchets, et de la ressource que peuvent représenter les « gros producteurs » (restaurant, cantines scolaires, GMS) en terme de valorisation de déchets, le développement de procédés biologiques de valorisation de la matière organique à petite échelle paraît pertinent.

En effet, la valorisation sur site du déchet organique pourrait permettre un meilleur taux de captage de ce flux de déchets. Une étude sur le cycle de vie de la méthanisation des biodéchets montre que le transport de déchets vers les centres de traitement est un des facteurs les plus impactants pour l'environnement (Xu *et al.*, 2015). La digestion anaérobie à proximité serait donc particulièrement intéressante car elle pourrait permettre une valorisation énergétique localisée des flux de déchets organiques, diminuant le transport. Selon Lou *et al.* (2012), les digesteurs décentralisés de petite taille montrent des performances de production de méthane (entre 254 et 462 NLCH₄.kgMV⁻¹) similaires aux installations de traitement des déchets centralisés des pays industrialisés. Au niveau économique, la mise en place de systèmes décentralisés reste, dans les cas de raccordement au réseau de gaz, plus coûteux que des systèmes centralisés (13€ct versus 5 €ct par m³ de biogaz produit), principalement en raison du coût du système de raccordement au réseau par rapport à l'échelle de l'installation (Hengeveld *et al.*, 2014). Cependant, il a été montré que les avantages d'un système décentralisé est aussi dans la coopération entre producteurs proches. La mise en place d'un procédé décentralisé pourrait donc être encouragée par des aides et législations pour diminuer l'impact environnemental dû au transport des déchets et pour aider à la mise en place d'un nouveau concept de valorisation localisée des déchets urbains qui pourrait s'intégrer dans les réflexions/solutions pour des schémas de « ville durable ». Pour valider l'intérêt environnemental des digesteurs de petite taille, il faut néanmoins veiller à sécuriser les procédés notamment en minimisant les fuites de biogaz. Selon Bruun *et al.* (2014), ces fuites, qui peuvent atteindre 40% de la production de biogaz sur des réacteurs utilisés dans les pays en voie de développement, peuvent être causées par une mauvaise étanchéité du digesteur, par des pertes dans les tuyaux de transport du biogaz ou par l'émission volontaire du biogaz dû à une sous-dimensionnement des moteurs de cogénération.

2.5. La méthanisation par voie sèche des déchets de cuisine.

Une voie de développement actuelle de la méthanisation, notamment dans le domaine agricole, est celle des procédés discontinus en voie sèche. En effet, en raison de leur forte charge en matières sèches, ces procédés permettent de concentrer plus de matière à traiter dans des réacteurs de plus petits volumes (Jha et al., 2011), tout en étant moins consommateurs d'énergie (Kothari *et al.*, 2014) et de gérer moins de lixiviats et d'obtenir en fin de digestion un digestat plus facile à post-traiter et/ou utiliser (Forster-Carneiro *et al.*, 2008). La méthanisation par voie sèche semble ainsi une alternative appropriée pour la valorisation des déchets de cuisine appliquée à de petites structures (à partir de 10 tonnes par an).

Mais ce mode de méthanisation possède aussi ses limites : chargement des réacteurs moins facile que pour la voie liquide, le mélange du déchet pendant la méthanisation peut être complexe et l'hétérogénéité du déchet peut amener à des dégradations incomplètes (Kothari *et al.*, 2014). Une des solutions au mélange des déchets est de remplacer le mélange mécanique par une recirculation d'inoculum (appelé par la suite lixiviat) liquide, par aspersion régulière du massif de déchet. Cette circulation de liquide permet de transporter et de distribuer les différents microorganismes à travers le solide, de faire diffuser les composés d'intérêt et de limiter la concentration locale en composés toxiques (Sponza & Ağdağ, 2004). Malheureusement, peu de données sont actuellement disponibles dans la littérature sur la méthanisation par voie sèches de déchets de cuisine. Quoi qu'il en soit, les problématiques liées à l'hydrolyse, comme commentées dans la section précédente, sont tout aussi valables pour un processus digestion anaérobie par voie sèche, spécialement dans les cas de procédés en batch sans agitation mécanique du déchet.

3. Prétraitement de déchets organiques

3.1. Prétraitements sur différents substrats organiques

Afin de surmonter les problèmes liés à l'étape d'hydrolyse, de nombreux travaux ont été menés sur les prétraitements mécaniques, thermiques, ou chimiques de la matière organique à introduire dans les digesteurs. La Figure 7 montre la répartition des études de prétraitements sur différents substrats. Nous pouvons observer que la plupart des études ont été menées sur le prétraitement des boues de station d'épuration, les prétraitements thermiques et mécaniques étant les plus étudiés (Carlsson *et al.*, 2012). Une étude plus récente (Carrere *et al.*, 2016) montre que les déchets de station d'épuration sont les plus étudiés, suivis par les déchets des abattoirs et les fumiers. Cette étude conclut que si les prétraitements sont adéquatement dimensionnés, ils peuvent aider à

améliorer le potentiel de production de méthane. Les substrats avec des fractions ligno-cellulosiques semblent être les plus impactés par les prétraitements (principalement enzymatiques et par des champignons) aidant à leur digestion (Carrere *et al.*, 2016; Hendriks & Zeeman, 2009).

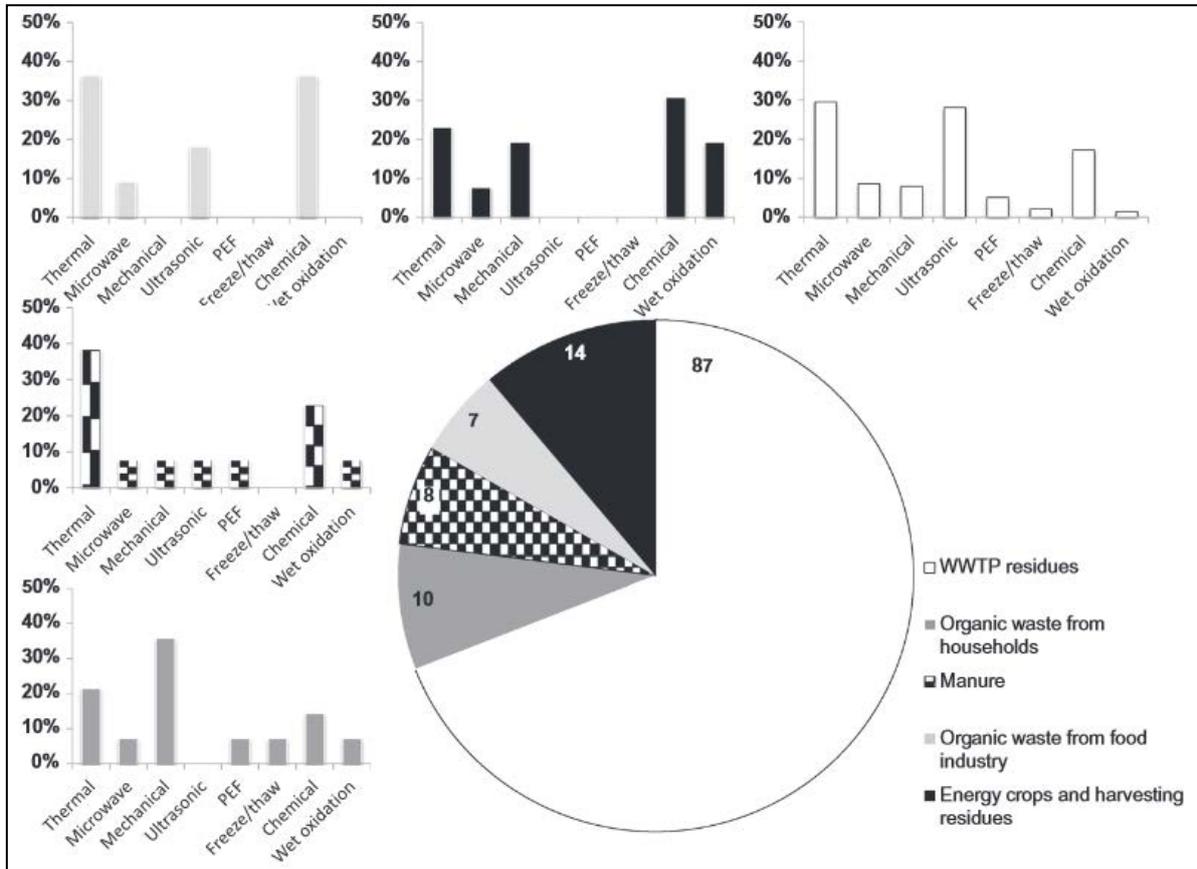


Figure 7. Etudes bibliométriques des travaux sur les prétraitements de différents substrats organiques (Compilation de 112 articles entre 1978 et 2011). (Carlsson *et al.*, 2012) où PEF : « Pulse electric field »

Pour les déchets de cuisine, les prétraitements les plus étudiés sont donc les prétraitements thermiques et chimiques. L'étude réalisée par Ma *et al.* (2011) montre l'effet des prétraitements thermiques à haute température (120°C pendant 1 heure) et à basse température (-80°C pendant 6h), acide (jusqu'à pH 2 à l'aide de HCl à 10N), par pression (pressurisation à 10 bars à l'aide du CO₂ pendant quelques minutes) et thermo-acide (120°C avec HCl) (Figure 8). La meilleure solubilisation de la DCO a été obtenue par le prétraitement thermo-acide mais la meilleure production de biogaz par le prétraitement par pression, montrant la différence entre la solubilisation et la biodégradabilité des déchets. Il s'agit cependant de prétraitements coûteux (énergie, réactifs). Le prétraitement par pression conduit à un déficit économique si l'on aditionne le bénéfice de la production supplémentaire de biogaz au coût supplémentaire du prétraitement (-100 Euros par tonne traitée). Seul le prétraitement par congélation démontre un profit économique (+11 Euros par tonne traitée).

Cependant, un prétraitement par congélation est technologiquement difficile à mettre en œuvre (cellules adaptées, logistique de congélateurs...), spécialement à grande échelle.

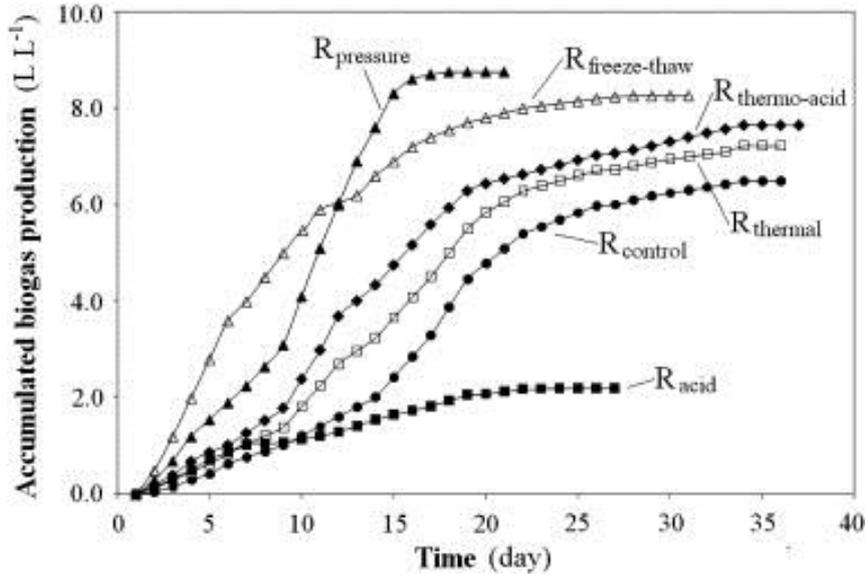


Figure 8. Biogaz cumulé produit par les déchets après l'application des différents prétraitements (Ma *et al.*, 2011)

3.2. Prétraitement aérobie des déchets de cuisine

Une autre voie de prétraitement réside dans la possibilité d'utiliser un traitement aérobie comme pré-étape à la méthanisation. L'oxygène est souvent connu comme étant un inhibiteur et un agent toxique pour la digestion anaérobie (Botheju *et al.*, 2010; Chu *et al.*, 2005), en raison de l'intolérance à la présence d'oxygène des microorganismes acétogènes et méthanogènes strictement anaérobies. De plus, l'oxygène est le principal responsable de l'oxydation des précurseurs de la fermentation méthanique (matières organiques solubles : glucose, alcool,...) en CO₂. Cependant, une quantité limitée d'oxygène peut tout de même améliorer le rendement des réacteurs de digestion anaérobie (Botheju *et al.*, 2010). La coexistence entre les microorganismes aérobie et anaérobies au sein d'un bioréacteur a été démontrée par plusieurs auteurs. Des études sur différents déchets organiques ont montré que l'aération partielle des digesteurs anaérobies peut être bénéfique autant sur le traitement des déchets que sur le rendement énergétique du biogaz produit (Botheju *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2009).

Une pré-aération contrôlée (et pressurisée) de 48h a pu réduire la concentration de la fraction organique facilement dégradable d'ordures ménagères, qui est la cause commune de l'acidification des bioréacteurs en batch, en vue de leur digestion anaérobie en condition thermophile (Charles *et al.*, 2009). Grâce à la croissance bactérienne très importante en condition aérobie la chaleur nécessaire pour les conditions thermophiles a été atteinte sans apport énergétique. De plus, une

importante activité enzymatique, des cellulases et protéases extracellulaires a été observée tout au long de la période d'aération.

Une étude a été réalisée par Xu *et al.* (2014) sur l'effet des différents taux de micro-aération sur l'hydrolyse des déchets de cuisine et son impact sur le rendement en méthane pendant la digestion anaérobie. La DCO et le rendement en méthane ont vu une augmentation de 5% et 18% respectivement, pour un taux d'aération de 258 L-air/kgMS/j, et une production d'AGV trois fois plus grande qu'en anaérobie stricte. Le taux d'hydrolyse du réacteur prétraité avec un taux d'oxygène de 129 L-air/kgMS/j, était similaire au taux d'hydrolyse du réacteur strictement anaérobie, avec une diminution du rendement méthanique. Toutefois, une aération plus intense (387 L-air/kgMS/j) a aussi diminué le rendement en méthane à cause de l'oxydation poussée des produits solubles. Cette étude a montré qu'un taux d'aération optimal peut stimuler la solubilisation des matières organiques solides sans risque de perte considérable de la MO.

Enfin, l'activité aérobie pourrait permettre d'augmenter la synthèse et l'activité d'enzymes hydrolytiques extracellulaires (Johansen & Bakke, 2006). Toutefois, il convient de bien maîtriser le temps de traitement aérobie et/ou son alternance avec le traitement anaérobie pour ne pas oxyder excessivement le potentiel méthanogène des déchets organiques prétraités.

4. Objectifs de la thèse et méthodologie générale

Au regard du besoin d'améliorer la stabilité de la digestion anaérobie des déchets de cuisine à petite échelle, il apparaît donc intéressant de pousser plus avant l'étude de l'intérêt et la faisabilité de mise en œuvre d'un couplage de traitements aérobie et anaérobie en vue d'optimiser la valorisation par digestion anaérobie des biodéchets de cuisine. L'objectif principal de la thèse a donc été : « **Etudier l'intérêt d'un prétraitement aérobie pour améliorer la digestion anaérobie des déchets de cuisine** ». Pour atteindre cet objectif la méthodologie suivie a été divisée en trois étapes principales :

- Caractérisation des déchets de cuisine
- Etude de l'impact du prétraitement aérobie sur la traitabilité anaérobie des biodéchets de cuisine
- Mise en œuvre du prétraitement aérobie en amont d'un digesteur anaérobie de laboratoire.

4.1. Etape 1 : Caractérisation des déchets de cuisine

Comme indiqué dans les sections précédentes, la nature des déchets de cuisine peut considérablement différer en fonction du producteur (ménages, restauration collective, déchets alimentaires des GMS, FOMM), de la saison, du territoire, etc. Il convient donc de mieux connaître les caractéristiques de déchets de cuisine, qui pourraient permettre de mieux comprendre leur comportement lors la valorisation par digestion anaérobie et de mieux appréhender les caractéristiques qui peuvent amener aux inhibitions du procédé.

Les Chapitres 2 et 3 de ce manuscrit sont dédiés à cette étude. Le Chapitre 2 présente une compilation des données de la littérature décrivant les caractéristiques des déchets de cuisine ou assimilés. A partir de cette compilation des études statistiques ont été réalisées pour connaître les valeurs moyennes générales et leurs variations. Les déchets ont été classifiés selon la localisation géographique de la collecte, la source du déchet et saison de collecte, pour déterminer la part de variation des caractéristiques liée à l'origine des déchets. Les valeurs obtenues pour chaque caractéristique selon leur origine ont été discutées afin de les mettre en relation avec les conditions de la digestion anaérobie et d'identifier les avantages et inconvénients pour la conduite du procédé de digestion anaérobie. Ces travaux font l'objet d'un article publié dans la revue *Waste and Management* intégré à ce chapitre.

Le Chapitre 3 porte sur une étude expérimentale pour déterminer les caractéristiques de 6 échantillons de déchets de cuisine, 2 prélèvements d'un restaurant administratif, 2 prélèvements d'un restaurant végétarien et 2 prélèvements de déchets de collecte séparé ménager. Les déchets collectés ont suivi une caractérisation exhaustive afin de connaître :

- la composition physicochimique et biochimique
- la biodégradabilité anaérobie (BMP)
- les espèces microbiennes en présence et leur lien avec des activités anaérobies

Les résultats de cette expérience complètent l'étude bibliographique sur les déchets de cuisine et ont permis de mettre en relation la composition typologique, les caractéristiques physicochimiques et la dégradation des déchets. Ils font l'objet d'un article publié à la revue *Journal of Environmental Management* également intégré à ce chapitre. Les résultats du Chapitre 2 et 3 ont été présentés au travers d'une communication orale à RAMIRAN 2015 en Hamburg, Allemagne (Septembre 8-10, 2015).

4.2. Etape 2 : Etude de l'impact du prétraitement aérobique sur la traitabilité anaérobique des biodéchets de cuisine

Cette deuxième étape, constitue le chapitre 4 du manuscrit et porte sur une étude expérimentale du prétraitement aérobique. Des essais de dégradation aérobique de 4 jours ont été réalisés dans 4 réacteurs simultanément. Différents taux d'oxygène (0%, 5%, 10% et 21 %) ont été testés pour d'observer les variations de la dégradation de la matière organique dans les déchets de cuisine en fonction de la concentration d'oxygène à laquelle ils ont été exposés. Les variations des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et biologiques (hydrolases, population bactérienne et de champignons), entre autres, ont été déterminées pour étudier ces variations et le possible impact sur la biodegradabilité anaérobique résiduelle de déchets pré-traités. Cette étude fait l'objet d'une soumission à la revue *Bioresource Technology*, intégrée à ce chapitre. Les résultats de cette étude ont été également présentés au travers d'une communication orale à WasteEng 2016 en Albi, France (Mai 23-26, 2016).

4.3. Etape 3 : Mise en œuvre du prétraitement en amont d'un digesteur de laboratoire

Les chapitres 5 et 6 s'intéressent à la validation des facteurs de prétraitement influençant la traitabilité anaérobique identifiée dans le chapitre 4. Pour cela la chaîne de traitement « prétraitement aérobique + digestion » a été étudiée en pilote à l'échelle du laboratoire. Dans un premier temps, les conditions pour avoir une bonne digestion anaérobique des déchets de cuisine dans des digesteurs dits de méthanisation « sèche » ont été étudiées. Des tests avec différents taux de recirculation et ratio d'inoculum ont servi à déterminer les meilleures conditions de méthanisation des déchets de cuisine. Dans un deuxième temps, différentes conditions de prétraitement, identifiées dans le Chapitre 4, ont été appliquées en amont de la digestion anaérobique. Dans ce Chapitre, on s'attache en particulier à étudier le déroulement de l'étape d'hydrolyse en suivant la production d'AGV (cinétique et quantité) et l'efficacité de la méthanisation en mesurant les quantités et cinétiques d'émissions de biogaz et la proportion de méthane dans le biogaz. Une caractérisation physicochimique, biochimique et microbiologique des déchets et de l'inoculum est également menée à l'issue de la digestion afin d'identifier un éventuel impact du prétraitement.

Enfin, dans une dernière partie, les différents résultats obtenus sont synthétisés et permettront d'émettre des propositions de mise en œuvre d'un procédé de digestion en voie sèche des déchets de cuisine à petite échelle.

Références

- Adhikari, B.K., Barrington, S., Martinez, J., King, S. 2008. Characterization of food waste and bulking agents for composting. *Waste Management*, 28(5), 795-804.
- Adhikari, B.K., Trémier, A., Barrington, S., Martinez, J. 2013. Biodegradability of municipal organic waste: A respirometric test. *Waste and Biomass Valorization*, 4(2), 331-340.
- Banks, Zhang. 2011. *Optimising Processes for the Stable Operation of Food Waste Digestion* University of Southampton.
- Banks, C.J., Chesshire, M., Heaven, S., Arnold, R. 2011. Anaerobic digestion of source-segregated domestic food waste: Performance assessment by mass and energy balance. *Bioresource Technology*, 102(2), 612-620.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H., Vavilin, V., Processes, I.T.G.o.M.o.A.D. 2002. *Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1)*.
- Benabdallah El Hadj, T., Astals, S., Gali, A., Mace, S., Mata-Alvarez, J. 2009. Ammonia influence in anaerobic digestion of OFMSW.
- Botheju, D., Lie, B., Bakke, R. 2010. Oxygen effects in anaerobic digestion - II. Modeling, Identification and Control, 31(2), 55-65.
- Bousquet, P., Ciais, P., Miller, J.B., Dlugokencky, E.J., Hauglustaine, D.A., Prigent, C., Van der Werf, G.R., Peylin, P., Brunke, E.G., Carouge, C., Langenfelds, R.L., Lathiere, J., Papa, F., Ramonet, M., Schmidt, M., Steele, L.P., Tyler, S.C., White, J. 2006. Contribution of anthropogenic and natural sources to atmospheric methane variability. *Nature*, 443(7110), 439-443.
- Brown, D., Li, Y. 2013. Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas production. *Bioresource Technology*, 127(0), 275-280.
- Browne, J.D., Allen, E., Murphy, J.D. 2013. Improving hydrolysis of food waste in a leach bed reactor. *Waste Management*, 33(11), 2470-2477.
- Bruun, S., Jensen, L.S., Khanh Vu, V.T., Sommer, S. 2014. Small-scale household biogas digesters: An option for global warming mitigation or a potential climate bomb? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 736-741.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F. 2012. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review. *Waste Management*, 32(9), 1634-1650.
- Carrere, H., Antonopoulou, G., Affes, R., Passos, F., Battimelli, A., Lyberatos, G., Ferrer, I. 2016. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. *Bioresource Technology*, 199, 386-397.
- Chang, J.I., Hsu, T.-E. 2008. Effects of compositions on food waste composting. *Bioresource Technology*, 99(17), 8068-8074.
- Charles, W., Walker, L., Cord-Ruwisch, R. 2009. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 100(8), 2329-2335.
- Chu, L.-B., Zhang, X.-W., Li, X., Yang, F.-L. 2005. Simultaneous removal of organic substances and nitrogen using a membrane bioreactor seeded with anaerobic granular sludge under oxygen-limited conditions. *Desalination*, 172(3), 271-280.
- Chynoweth, D., Wilkie, A., Owens, J. 1998. *Anaerobic processing of piggery wastes: a review*.

- Dai, X., Duan, N., Dong, B., Dai, L. 2013. High-solids anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste in comparison with mono digestions: Stability and performance. *Waste Management*, 33(2), 308-316.
- De Vrieze, J., De Lathouwer, L., Verstraete, W., Boon, N. 2013. High-rate iron-rich activated sludge as stabilizing agent for the anaerobic digestion of kitchen waste. *Water Research*, 47(11), 3732-3741.
- Deublein, D., Steinhauser, A. 2011. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*. John Wiley & Sons.
- El-Mashad, H.M., Zhang, R. 2010. Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology*, 101(11), 4021-4028.
- Fangeat, E., Militon, C. 2010. La composition des ordures ménagères et assimilées en France - Résultats de la campagne nationale de caractérisation 2007. ADEME.
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M., Romero, L.I. 2008. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresource Technology*, 99(15), 6994-7002.
- Goel, R., Mino, T., Satoh, H., Matsuo, T. 1998. Comparison of hydrolytic enzyme systems in pure culture and activated sludge under different electron acceptor conditions. *Water Science and Technology*, 37(4), 335-343.
- Gourdon, R. 2002. Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, mécanisables, compostables. RECORD.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., Meybeck, A. 2011. Global food losses and food waste. FAO.
- Hartmann, H., Ahring, B.K. 2005. A novel process configuration for anaerobic digestion of source-sorted household waste using hyper-thermophilic post-treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(7), 830-837.
- Heaven, S., Zhang, Y., Arnold, R., Paavola, T., Vaz, F., Cavinato, C. 2013. Compositional analysis of food waste from study sites in geographically distinct regions of Europe. *Valorgas*.
- Hendriks, A.T., Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol*, 100(1), 10-8.
- Hengeveld, E.J., van Gemert, W.J.T., Bekkering, J., Broekhuis, A.A. 2014. When does decentralized production of biogas and centralized upgrading and injection into the natural gas grid make sense? *Biomass and Bioenergy*, 67, 363-371.
- INCOME Consulting - AK2C. 2016. Pertes et gaspillages alimentaires : l'état des lieux et leur gestion par étapes de la chaîne alimentaire.
- Jan, O., Tostivint, C., Turbé, A., O'Connor, C., Lavelle, P. 2013. Food Wastage Footprint Impacts on natural resources Technical Report. FAO Natural Resources and Management Department.
- Jha, A.K., Li, J., Nies, L., Zhang, L. 2011. Research advances in dry anaerobic digestion process of solid organic wastes. *African Journal of Biotechnology*, 10(64), 14242-14253.
- Johansen, J.E., Bakke, R. 2006. Enhancing hydrolysis with microaeration. *Water Sci Technol*, 53(8), 43-50.
- Kothari, R., Pandey, A.K., Kumar, S., Tyagi, V.V., Tyagi, S.K. 2014. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 174-195.

- la Cour Jansen, J., Gruvberger, C., Hanner, N., Aspegren, H. 2004. Digestion of sludge and organic waste in the sustainability concept for Malmš, Sweden. *Water Science & Technology*, 49(10), 163-169.
- Lee, Z.-K., Li, S.-L., Lin, J.-S., Wang, Y.-H., Kuo, P.-C., Cheng, S.-S. 2008. Effect of pH in fermentation of vegetable kitchen wastes on hydrogen production under a thermophilic condition. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(19), 5234-5241.
- Lin, Y., Wu, S., Wang, D. 2013. Hydrogen-methane production from pulp & paper sludge and food waste by mesophilic–thermophilic anaerobic co-digestion. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(35), 15055-15062.
- Liu, X., Li, R., Ji, M., Han, L. 2013. Hydrogen and methane production by co-digestion of waste activated sludge and food waste in the two-stage fermentation process: Substrate conversion and energy yield. *Bioresource Technology*, 146(0), 317-323.
- López, M., Soliva, M., Martínez-Farré, F.X., Fernández, M., Huerta-Pujol, O. 2010. Evaluation of MSW organic fraction for composting: Separate collection or mechanical sorting. *Resources, Conservation and Recycling*, 54(4), 222-228.
- Lou, X.F., Nair, J., Ho, G. 2012. Field performance of small scale anaerobic digesters treating food waste. *Energy for Sustainable Development*, 16(4), 509-514.
- Ma, J., Duong, T.H., Smits, M., Verstraete, W., Carballa, M. 2011. Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments. *Bioresource Technology*, 102(2), 592-599.
- Mata-Álvarez, J. 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA publishing.
- Ministere de l'écologie, d.d.d., des transports et du logement. 2011. Arrêté du 12 juillet 2011 fixant les seuils définis à l'article R. 543-225 du code de l'environnement
- Moletta, R. 2011. La méthanisation. Lavoisier.
- Monier, V., Escalon, V., O'Connor, C. 2010. Preparatoy study on food waste across EU 27. European Commission (DG ENV). 978-92-79-22138-5.
- Nie, Y.Q., Liu, H., Du, G.C., Chen, J. 2007. Acetate production by acidification-homoacetogenesis two-phase coupling process: effect of initial pH. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 23(4), 686-91.
- Olivier, J., Janssens-Maenhout, G., Muntean, M., Peters, J. 2015. Trends in global CO2 emissions: 2015 Report. PBL Netherlands Environmental Assessment Agency, The Hague; European Commission, Joint Research Centre (JRC). Institute for Environment and Sustainability (IES).
- Peu, P., Picard, S., Diara, A., Girault, R., Béline, F., Bridoux, G., Dabert, P. 2012. Prediction of hydrogen sulphide production during anaerobic digestion of organic substrates. *Bioresource Technology*, 121(0), 419-424.
- Sanders, W.T., Geerink, M., Zeeman, G., Lettinga, G. 2000. Anaerobic hydrolysis kinetics of particulate substrates. *Water Sci Technol*, 41(3), 17-24.
- Scano, E.A., Asquer, C., Pistis, A., Ortu, L., Demontis, V., Cocco, D. 2014. Biogas from anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Experimental results on pilot-scale and preliminary performance evaluation of a full-scale power plant. *Energy Conversion and Management*, 77, 22-30.
- Shin, H.-S., Youn, J.-H., Kim, S.-H. 2004. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29(13), 1355-1363.

- Sidaine, J.-M., Gass, M. 2013. État de l'art de la collecte séparée et de la gestion de proximité des biodéchets. AWIPLAN, ADEME.
- Sponza, D.T., Ağdağ, O.N. 2004. Impact of leachate recirculation and recirculation volume on stabilization of municipal solid wastes in simulated anaerobic bioreactors. *Process Biochemistry*, 39(12), 2157-2165.
- Stenmarck, A.s., Jensen, C., Quested, T., Moates, G., Buksti, M., Cseh, B.z., Juul, S., Parry, A., Politano, A., Redlingshofer, B. 2016. Estimates of European food waste levels. FUSIONS EU. 9188319016.
- Tampio, E., Ervasti, S., Paavola, T., Heaven, S., Banks, C., Rintala, J. 2014. Anaerobic digestion of autoclaved and untreated food waste. *Waste Management*, 34(2), 370-377.
- The World Bank. 2016. World Development Indicators.
- Tong, X., Smith, L.H., McCarty, P.L. 1990. Methane fermentation of selected lignocellulosic materials. *Biomass*, 21(4), 239-255.
- Veeken, A., Hamelers, B. 2000. Effect of substrate-seed mixing and leachate recirculation on solid state digestion of biowaste. *Water Science and Technology*, 41(3), 255-262.
- Wang, X., Zhao, Y.-c. 2009. A bench scale study of fermentative hydrogen and methane production from food waste in integrated two-stage process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(1), 245-254.
- Xiao, L., Deng, Z., Fung, K.Y., Ng, K.M. 2013. Biohydrogen generation from anaerobic digestion of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(32), 13907-13913.
- Xu, C., Shi, W., Hong, J., Zhang, F., Chen, W. 2015. Life cycle assessment of food waste-based biogas generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49, 169-177.
- Xu, S., Selvam, A., Wong, J.W.C. 2014. Optimization of micro-aeration intensity in acidogenic reactor of a two-phase anaerobic digester treating food waste. *Waste Management*, 34(2), 363-369.
- Zhang, C., Xiao, G., Peng, L., Su, H., Tan, T. 2013. The anaerobic co-digestion of food waste and cattle manure. *Bioresource Technology*, 129(0), 170-176.
- Zhang, R., El-Mashad, H.M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., Gamble, P. 2007. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresour Technol*, 98(4), 929-35.
- Zhang, Y., Banks, C.J., Heaven, S. 2012. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. *Journal of Environmental Management*, 104(0), 166-174.
- Zhu, M., Lü, F., Hao, L.-P., He, P.-J., Shao, L.-M. 2009. Regulating the hydrolysis of organic wastes by micro-aeration and effluent recirculation. *Waste Management*, 29(7), 2042-2050.

Etape 1 : Caractérisation des déchets de cuisine

La nature des déchets de cuisine peut considérablement différer en fonction du producteur (ménages, restauration collective, déchets alimentaires des GMS, FOMM), de la saison, du territoire, etc. Il convient donc de mieux connaître les caractéristiques de déchets de cuisine, qui pourraient permettre de mieux comprendre leur comportement lors la valorisation par digestion anaérobie et de mieux appréhender les caractéristiques qui peuvent amener aux inhibitions du procédé. Les Chapitres 2 et 3 de ce manuscrit sont dédiés à cette étude.

Chapitre 2 : Etat des connaissances sur la caractérisation des déchets de cuisine

Synthèse:

Comme indiqué dans le chapitre précédent, les procédés de valorisation biologique par digestion anaérobie sont sensibles aux valeurs initiales des caractéristiques du substrat traité. Les déchets de cuisine ne font donc pas exception à cette règle. Différentes valeurs de compositions physicochimiques, élémentaires, biochimiques ou biologiques ont été observées dans des publications qui utilisent les déchets de cuisine pour des traitements biologiques. Cependant, il est difficile d'identifier des valeurs moyennes et les variations spécifiques de chaque caractéristique dans la littérature. De plus, les déchets de cuisine utilisés dans ces publications recouvrent différentes origines : pour certains auteurs il s'agit de la fraction fermentescible des ordures ménagères (FFOM) triée mécaniquement ou des biodéchets des ménages collectés séparément tandis que d'autres auteurs utilisent des déchets de restaurant, des déchets organiques de grandes et moyennes surfaces (GMS), et parfois des mélanges des déchets organiques ménagers avec des déchets verts. Les différences de définition quant à l'origine du déchet de cuisine pourraient amener des ambiguïtés par rapport aux variations observées dans la digestion anaérobie qui pourraient être expliquées par l'impact de l'origine du déchet et de ses caractéristiques spécifiques. Il convient donc de chercher à mieux expliquer les variations des caractéristiques des déchets de cuisine et leur possible impact sur la digestion anaérobie.

Ce chapitre présente donc une caractérisation bibliographique détaillée des déchets de cuisine, compilant les caractéristiques de 102 déchets de cuisine décrits dans 70 publications scientifiques. Les données compilées ont été l'objet d'une étude statistique visant à déterminer les valeurs moyennes des différentes caractéristiques des déchets ainsi que leurs variations. De plus, cette étude statistique a permis de déterminer l'impact de l'origine géographique, la source et la saison de collecte sur les variations des caractéristiques observées. Enfin les valeurs trouvées pour les différentes caractéristiques ont été discutées au regard de leur possible impact sur la digestion anaérobie.

Les résultats montrent que les déchets de cuisine sont effectivement très variables, avec des coefficients de variation entre 9% à 250% pour certaines caractéristiques comme les nutriments, micronutriments et les métaux lourds. A partir du jeu de données étudié, il a été montré que seuls le pH (5.1) et le BMP ($460 \text{ NmLCH}_4.\text{gMV}^{-1}$) présentent des CV inférieurs à 20% et suivent une loi normale, et que leurs valeurs peuvent être raisonnablement utilisées par exemple pour des analyses de cycle de vie ou pour des pré-dimensionnements des procédés.

Les valeurs moyennes de seulement 9 des 37 autres caractéristiques étudiées sont effectivement affectées par les sources de variations testées : continent de la collecte, source de la collecte et

saison de collecte (MS, MV, C, O, N, C/N, CEL, azote ammoniacal total (TAN) et Na). Les variations des autres caractéristiques n'ont pas pu être expliquées à partir de ces paramètres. Aucune différence significative entre ces 9 caractéristiques n'a pu être trouvée entre des déchets de cuisine provenant des **restaurants**, des **ménages** (biodéchet collecté séparément) ou des déchets de **GMS**, indiquant que les caractéristiques pour ces trois sources de déchets peuvent être considérées comme comparables. Cependant la FFOM (séparée mécaniquement) et les déchets de cuisine mélangés avec des déchets verts montrent des fortes différences.

En général, les déchets de cuisine sont favorables pour la digestion anaérobie avec des fortes teneurs en MV (88%MS), DCO (198 gO₂.kgMB⁻¹) et BMP (460 NmLCH₄.gMV⁻¹). La valeur élevée de la MS moyenne (23%MB) des déchets de cuisine favorisent l'utilisation d'une digestion anaérobie par voie sèche pour éviter d'ajouter des fortes quantités d'eau nécessaires pour la digestion anaérobie en voie humide. Cependant, des problèmes potentiels dans la digestion anaérobie peuvent être constatés principalement dues au faible pH initial (5.1) et à la grande teneur en glucides simples (36.4%MV) de ce type de déchets. Les glucides simples sont rapidement transformés en acides gras volatils (AGV) et peuvent diminuer encore plus le pH, limitant le développement des microorganismes méthanogènes et donc limitant la transformation de la matière organique en méthane. De plus, les accumulations de TAN, générées potentiellement par les protéines (21%MV), pourraient impacter les bactéries acétogènes (spécialement les bactéries qui dégradent l'acide propionique).

Pour ce qui concerne les variations spécifiques, les hautes valeurs de Na (5.3%MS) pour les déchets asiatiques, la forte proportion de cellulose (25%MV) pour les déchets de la FFOM, le TAN élevé (~2600 g.kg MS⁻¹) des déchets de cuisine avec des déchets verts et la faible teneur en C/N (13.6) pour les déchets collectés pendant l'été, sont des valeurs qui pourraient conduire à des instabilités pour la digestion anaérobie de ces sources de déchets de cuisine en particulier.

La teneur en déchets verts dans les déchets pose une question intéressante, montrant des modifications de paramètres importants pour la digestion anaérobie (MS, C et TAN) principalement en raison de la teneur de branches et de feuilles dans les déchets. Dans les cas de déchets collectés pendant l'été, la faible teneur en C/N pourrait être aussi expliquée par les taux de déchets verts dans les déchets de cuisine à cette époque de l'année, mais ils seraient plus probablement composés par des tontes de pelouses, apportant plus de teneur en azote et donc diminuant le C/N.

Pour donner des solutions à des variations spécifiques de certaines caractéristiques comme le haut taux de sucres, de CEL ou de TAN, l'utilisation d'un prétraitement aérobie a été identifié comme bénéfique pour éviter de possibles instabilités dans les digesteurs. En effet, ce type de prétraitement peut améliorer la sécrétion d'exoenzymes et dégrader plus facilement des fractions organiques plus

récalcitrantes, en plus de diminuer le taux de sucres dans les déchets et donc éviter l'accumulation des AGV.

Ces résultats ont été publiés dans l'article présenté ci-après.

Characterizing the variability of food waste quality: a need for efficient valorisation through anaerobic digestion

Henry Fisgativa, Anne Tremier*, Patrick Dabert

Irstea, UR GERE, 17 avenue de Cucillé, CS 64427, F-35044 Rennes Cedex, France

*Corresponding author. Tel.: +33 2 23 48 21 55; Email address: anne.tremier@irstea.fr

Published at Waste Management 50, 264-74. 2016.

Abstract

In order to determine the variability of food waste (FW) characteristics and the influence of these variable values on the anaerobic digestion (AD) process, FW characteristics from 70 papers were compiled and analysed statistically. Results indicate that FW characteristics values are effectively very variable and that some of these variations may be explained by the geographical origin, the type of collection source and the season of the collection. Considering the whole range of values for physicochemical characteristics (especially VS, DCO and BMP), FW show good potential for AD treatment. However, the high carbohydrates contents (36.4%VS) and the low pH (5.1) might cause inhibitions by the rapid acidification of the digesters. In which concern the characteristics variations, FW categories were proposed and the adequacy of their characteristics with AD treatment was discussed. Four FW categories have been identified with critical characteristics values for AD performance: 1) the high dry matter and total ammonia nitrogen (TAN) content of FW collected with green waste, 2) the high cellulose content of FW from the organic fraction of municipal solid waste, 3) the low C/N ratio of FW collected during summer, 4) the high value of TAN and Na of FW from Asia. For these cases, an aerobic pre-treatment or a corrective treatment seems to be advised to avoid instabilities along the digestion. Finally, the results of this review-paper provide a data basis of values for FW characteristics that could be used for AD process design and environmental assessment.

Keywords: Food waste; physical-chemical characteristics; statistical analysis; anaerobic digestion

1. Introduction

Worldwide, about 1.3 billion tons of food is lost or wasted per year, which represents one-third of production in the food supply chain for human consumption (Gustavsson *et al.*, 2011). According to FAO (Jan *et al.*, 2013), the direct cost of wastage of agricultural food products (excluding fish and seafood), based on the year 2009 producer prices, is about USD 750 billion. The carbon footprint of food produced and not eaten is estimated at 3.3 GTCO₂Eq, which could be ranked, if food wastage was a country, as the third top greenhouse gases emitter, after China and USA. The European Commission estimated that about 89 MT (170 MTCO₂Eq) of food were lost or wasted in Europe in 2006, equivalent to 179 kg/capita/year. Moreover, 42% were generated by households (Monier *et al.*, 2010). Food loss refers to the decrease in edible food mass at the early stages of the food supply chain, such as production and postharvest handling, and occurs mostly in developing countries. Food waste (FW), also called kitchen waste, refer to the discard of foodstuff, mainly composed of unsold food, food preparation leftovers and uneaten food from households, restaurants and large producers as collective caterers and supermarkets (Tom & Hannah, 2009). FW are more typical of lifestyles observed in high-income countries (Figure 9) (Jan *et al.*, 2013).

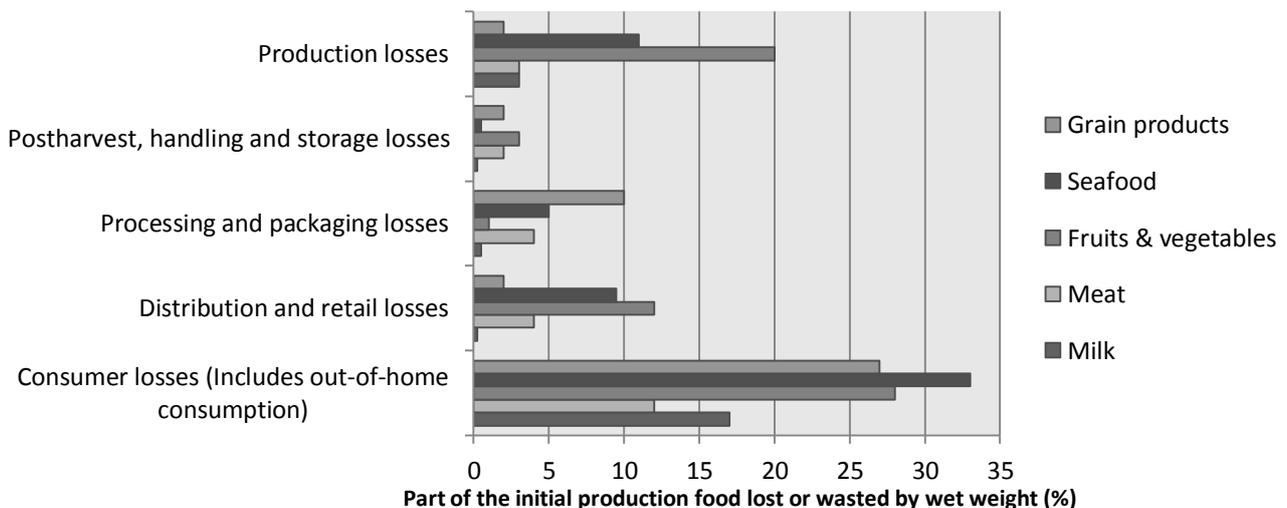


Figure 9. Food waste in the food supply chain for USA, Canada, Australia and New Zealand (Gustavsson *et al.*, 2011)

Nowadays, more FW reach landfills than any other single material (21.3% of the municipal solid waste in 2011 in USA (EPA, 2011)). Once in landfills, FW follow a natural biodegradation, principally in anaerobic way, releasing environmental harmful elements as leachates and gases, concentrated chemical oxygen demand (COD), ammonia, volatile fatty acids (VFA), and methane (CH₄) (Ağdağ & Sponza, 2007). That is why landfills are the third largest anthropogenic source of CH₄ in the world, representing about 11% of estimated total emissions, after 33% of emissions linked to fossil fuels

(production, distribution and combustion), and enteric fermentation in farm animals, representing about 27% of the emissions (Bousquet *et al.*, 2006; EPA, 2012). Several countries are gradually introducing limitations for FW landfilling, setting national objectives of FW collection and valorisation. According to the European Council Directive (EC, 1999), the biodegradable municipal waste going to landfills in 2016 must be reduced to 35% of the total amount (by weight) of the one produced in 1995. Additionally, each country has its own targets, as Belgium and Germany, which FW valorisation objectives are 75% by 2015 and 70% by 2020 respectively (Sidaine & Gass, 2013). In the same way, producers and holders of over 10 tons per year of FW in France will have to implement a source-separation management for a subsequent valorisation starting from 2016 (Ministere de l'écologie, 2011). More strictly, some countries like Scotland (from 2021 (Sidaine & Gass, 2013)) and South Korea (since 2005 (Cho *et al.*, 2013)) are seeking to prohibit the direct landfilling of FW.

The high organic matter and the water content of FW, which mainly cause the harmful elements of FW in landfills, can be valorised by biological treatments. Traditionally, the recovery of the biological value of FW is led by composting but incineration is also performed on FW, mixed with dry waste to raise their calorific value (EC, 2003; EC, 2009; Zhang *et al.*, 2007). Nowadays, global targets claim the need for alternative and energetically more efficient routes of valorisation. Among the biological valorisation, the anaerobic digestion (AD) of FW has demonstrated to be one of the most advantageous technologies to maximise the substrate and energy recovery (Castillo *et al.*, 2006; Forster-Carneiro *et al.*, 2008; Fricke *et al.*, 2007; Hartmann & Ahring, 2006; Krishna & Kalamdhad, 2014). However, to respond to the current extensive need of FW valorisation, AD treatments have to fulfil essential conditions such as robustness, high adaptive capacity and good economic performances. The performances of AD processes of FW are largely influenced by the substrate characteristics and kinetics of degradation (Carlsson *et al.*, 2012). But so far, no clear information is available, neither about the FW characteristics variations caused by the different sources, nor about the possible effects of these variations on AD of FW.

The aim of this review-paper is thus to give an overview of the general mean values of FW characteristics, to highlight the origins of their major variations and to discuss the AD behaviour against these variations. In this objective, a statistical analysis was applied on FW characteristics collected from scientific papers studying various techniques of valorisation of FW throughout the world. The results will improve our knowledge of FW characteristics, provide some advices for a more efficient valorisation of FW making use of AD and supply more accurate data for environmental assessment, simulation and predesign of AD with FW as feedstock.

2. Method

2.1. Collection of literature data

In order to make an analytical description, FW characteristics from 102 different samples, proposed in 70 studies conducted throughout the world between 2001 and 2014, have been extracted from scientific databases such as Scopus® and Web of Science™. The bibliographical references of FW characteristics used are listed in the appendix.

2.2. Studied FW characteristics

All characteristics gathered were classified in physicochemical characteristics, elementary composition, biochemical characteristics, nutritional elements and heavy metals. Only characteristics with at least 9 available data were considered in the present study in order to keep a sufficient representativeness.

The definition of some characteristics may be different among publications. For this paper purpose, it was chosen to aggregate them in the same unit as shown in Table 6. For example, some researchers told about the organic matter (OM) rather than of the volatile solids (VS), but in the present study it was chosen to gather both type of data as VS. Similarly, total sugars and carbohydrates were assembled together as carbohydrates. Carbohydrates value does not include structural carbohydrates, as cellulose (CEL) and hemicellulose (HEM). Some authors took the total nitrogen content (N) as for the total Kjeldahl nitrogen (TKN), assuming a negligible amount of nitrites ($\text{NO}_2\text{-N}$) and nitrates ($\text{NO}_3\text{-N}$) in FW (Adhikari *et al.*, 2013). In the present study, N and TKN were taken separately because of nitrites and nitrates evidenced in some studies (Seo *et al.*, 2004; Sundberg *et al.*, 2011). Moreover, some authors made the difference between NH_4^+ and NH_3 , but, depending on the pH, NH_4^+ and NH_3 can be transformed into one form or the other (Anthonisen *et al.*, 1976). All data of NH_4^+ and NH_3 were thus aggregated as total ammonia nitrogen (TAN). The carbon/nitrogen ratio (C/N) was calculated in some studies with N or TKN indistinctly without a clear notification, thus it was not possible to make the distinction in this paper. Additionally, some minerals like Fe and Zn were sometimes considered as heavy metals or nutritional elements. In the present study they were included in nutritional elements.

2.3. Information characterizing data origins

In order to perform a statistical analysis, FW characteristics data were sorted considering three categories of possible variation factors: continents of the analysed FW, collection sources and season of collection.

In the category “continent”, three main subcategories were chosen: Asia, North America (NA) and European Union (EU), with a proportion of data of 42%, 15% and 43% respectively. The availability of data from Africa, Oceania and Central and South America was very limited. They were thus not included in this study.

For the category “collection source”, five subcategories were chosen: restaurant food waste (RFW), household food waste (HFW), FW mixed with green waste (FWGW), FW of large producers (FWLP) and organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). RFW represents the most important part of the available data with 41% of the total, as shown on Figure 10.

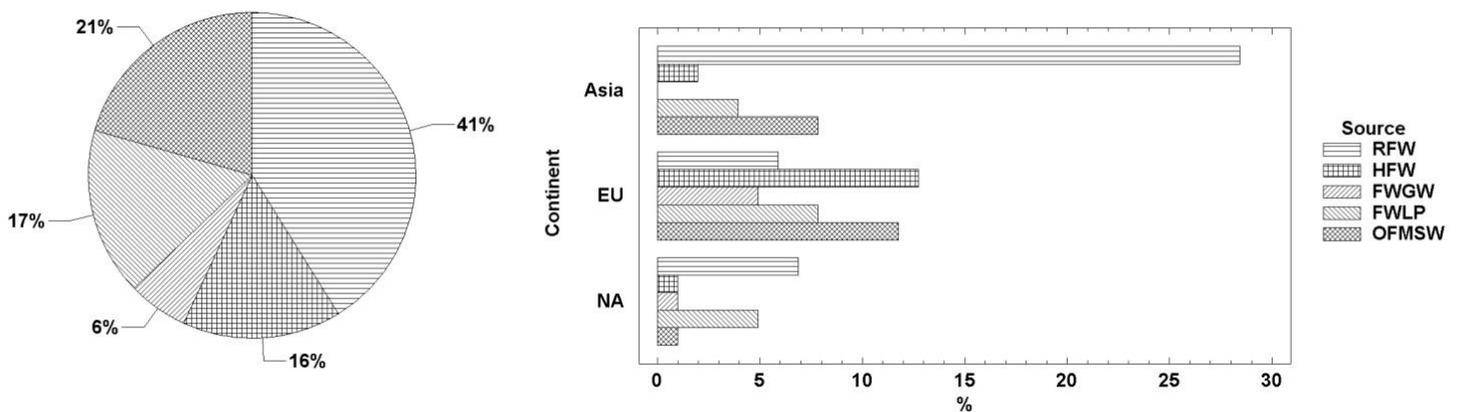


Figure 10. Distribution of food waste source in total and by continents (% of data)

Most of the authors described that FW from restaurants and households were source sorted. The subcategory FWGW concerned FW of different source (RFW, HFW, FWLP and OFMSW) that were mixed with green waste (GW). The FWLP were mainly constituted by unsold food products of supermarkets and hypermarkets. Few authors described the procedure for homogenization and packaging deconditioning of FWLP, so these procedures were not listed in the present study. Lastly, OFMSW represent all organic waste sorted (mechanically or by other methods) after mixed collection of MSW.

Finally for the category “season”, the available data were very limited, as only 15 studies specified the season of FW collection. Nevertheless, 2 subcategories could be identified: summer and winter, with a proportion of data of 47% and 53% respectively.

2.4. Statistical analysis

2.4.1. Representativeness of the mean value

A statistical study was performed using Statgraphics Centurion XVI[®] software. All data were characterized with the mean (\bar{x}), standard deviation (σ), coefficient of variation (CV) and a confidence interval (CI), as shown in Table 6. The normality of the distribution was tested by calculating the standardized skewness and the standardized kurtosis (Baillargeon, 2008).

For Martin and Gendron (Martin & Gendron, 2003), a CV between 0% and 16% shows a low variation on the sample. With a CV between 16% and 33%, the sample has an important variation and the mean may contain many errors. Finally with a CV over 33%, the variation in the sample is too high to consider the mean as representative for the whole population. In our case, to determine whether a FW characteristic mean is representative from the data set, this later must have a low CV (close or below 16 %) and follow a normal distribution.

2.4.2. Variance analysis

For the case where the mean characteristic value could not be considered as representative, the Kruskal–Wallis test was used to compare the medians of FW characteristics in order to test the variation caused by the three categories (“continent”, “collection source” and “season”). However, interactions between the categories were not studied. With a Kruskal–Wallis probabilities (KWP) lower than 0.05, a link between the variation of the characteristics and the selected categories is probable with certitude of 95%. In such cases, the Bonferroni correction was used to specify the subcategories that may generate these variations. For each characteristic, the subcategories are defined as belonging to a statistical group (1, 2 or 3). When several subcategories belong to the same group, significant statistical difference cannot be observed amongst themselves. To implement the Bonferroni correction, the data set was segregated into each individual subcategory. Only, the subcategories with at least 3 data were taken into account.

3. Results of the statistical review of FW characteristics

3.1. Mean characteristics and representativeness

Average data and CV for FW characteristics are presented in Table 6. In this section, a comparison between the FW and others substrates characteristics is proposed and the representativeness of FW characteristics values is discussed.

With a mean pH of 5.1, FW is more acid than other organic waste as green waste with a pH around 7.3 (Zhang & Sun, 2014), cattle manure with 8.7 (Bah *et al.*, 2014) and sewage sludge with 7.8 (Martín *et al.*, 2015). pH presents a CV lower than 16% and follows a normal distribution, inducing that its mean real value ranges (considering the CI) between 4.9 and 5.3 with a real σ between 0.6 and 0.8. These mean value and range of variation of pH can be universally used for process design or environmental assessment.

The BMP of 460.0 NLCH₄/kg VS (± 87.6) is higher than most of organic waste BMPs: BMP from cattle manure and sludge sewage are 250 and 270 NLCH₄/kg VS respectively (Lesteur *et al.*, 2010). BMP values for FW follow a normal distribution with a CV of 19% that is close to being considered as low. Using the CI, the real mean ranges between 397.3 and 522.6 mLCH₄/g VS and the real σ between 60.2 and 159.3. These values can be reasonably used, whatever the type of FW, for first simulation of biodegradable potential for example.

Neither of the other mean values for physicochemical, biochemical or elementary characteristics can be considered as representative of the whole FW types. Indeed they present either CV up to 33% or do not follow a normal distribution. As an example, VS presents a low CV (9.3%), but it is not considered as representative because it does not follow a normal distribution. Because of these variations, the comparison of these FW characteristics mean values with other waste makes no sense.

In general, FW prove to have varied proportions of nutriments and micronutrients and low presence of heavy metals. Nevertheless, once again these characteristics present very high CV (some of them exceed 100 and even 200%) and did not follow normal distribution.

The causes of variations and non-normality have been searched and are presented in the next section in order to provide a better understanding of FW characteristics variability and to identify more representative means depending on chosen categories.

Table 6. Resume of food waste characteristics from database, standard deviations in parenthesis

Parameters	n	\bar{x} (σ)	CV (%)	Std. Skew.	Std. Kurt.	CI
<i>Physicochemical Characteristics</i>						
pH	65	5.1 (0.7)	13.9	1.3	-0.7	0.2
DM (% WW)	94	22.8 (10.0)	43.7	2.3	1.4	2.0
VS (% DM)	73	88.2 (8.2)	9.3	-6.0	5.5	1.9
CODt (g/kg WW)	15	198.0 (89.1)	45.0	0.4	-1.2	49.4
CODs (g/kg WW)	14	99.0 (157.0)	158.7	5.0	8.9	163.9
BMP (NLCH ₄ /kg VS)	10	460.0 (87.6)	19.0	-0.4	-0.9	62.6
<i>Elementary composition</i>						
C (% DM)	68	45.5 (7.5)	16.6	-1.5	5.6	1.8
H (% DM)	28	7.0 (3.3)	46.5	7.6	16.4	1.3
O (% DM)	21	33.2 (6.7)	20.1	-2.4	1.5	3.0
N (% DM)	79	2.8 (1.1)	40.3	4.7	4.7	0.3
S (% DM)	23	0.4 (0.2)	56.9	1.7	-0.2	0.1
C/N	68	18.5 (5.9)	31.8	3.4	1.8	1.4
<i>Biochemical Characteristics</i>						
Carbohydrates (% VS)	24	36.4 (20.8)	57.2	-0.2	-0.8	8.8
HEM (% VS)	9	9.4 (5.0)	52.8	0.9	0.3	3.8
CEL (% VS)	10	8.7 (8.2)	94.5	1.3	-0.1	5.8
LIG (% VS)	11	6.6 (6.1)	92.8	1.5	0.2	4.1
Proteins (% VS)	26	21.0 (13.0)	62.2	5.9	13.2	5.3
Fats (% VS)	28	15.4 (8.0)	52.0	3.53	4.54	3.1
<i>Nutritional elements</i>						
TKN (g/kg DM)	30	16.0 (12.1)	75.8	0.6	-1.5	4.5
TAN (mg/L)	35	731.4 (958.4)	131.0	6.1	8.4	317.5
NO ₃ -N (ppm DM)	9	104.8 (49.7)	47.4	1.7	2.1	348.1
Ca (% DM)	12	1.6 (1.3)	85.5	0.2	-1.3	0.9
K (% DM)	24	1.2 (0.7)	57.7	1.6	0.7	0.3
Mg (% DM)	11	0.2 (0.2)	116.4	2.8	2.8	0.2
Na (% DM)	12	2.2 (2.9)	132.3	2.5	1.2	1.8
P (% DM)	33	0.5 (0.3)	62.9	2.6	1.6	0.1
Fe (ppm DM)	16	482.5 (815.0)	168.9	5.0	8.6	431.9
Mn (ppm DM)	15	62.5 (48.4)	77.5	1.1	0.4	26.7
Mo (ppm DM)	10	1.2 (1.1)	90.2	1.1	-0.2	0.8
Zn (ppm DM)	18	86.6 (110.3)	127.4	3.4	3.1	54.7
<i>Heavy metals</i>						
Cd (ppm DM)	12	0.3 (0.4)	116.5	3.6	5.3	0.3
Cr (ppm DM)	13	27.7 (71.4)	258.1	5.1	9.1	42.8
Cu (ppm DM)	16	23.5 (37.2)	157.9	3.6	3.2	19.7
Hg (ppm DM)	9	0.3 (0.4)	157.0	1.9	0.4	0.3
Ni (ppm DM)	14	9.9 (25.2)	255.9	5.6	10.3	14.5
Pb (ppm DM)	12	18.3 (46.1)	252.4	4.6	7.6	29.0

3.2. Impact of FW categories on FW quality variation

The Kruskal–Wallis test was realized for all FW characteristics, except pH and BMP. Variations observed for nine characteristics demonstrated to be significantly influenced by the three studied categories (Table 7): geographical origin, collection source, and season.

Three characteristics showed to be impacted by the geographical origin of the FW: DM, TAN and Na content. In comparison to DM general mean (22.8%), FW from Asia and North America (NA) present lower values (18.5% and 18.1 respectively) than DM of FW from EU (23.7%). TAN value of FW from Asia shows to be lower than the TAN means of FW from EU and NA (249.5 against 989.0 and 1434.3 mg/L respectively). Meanwhile, Na values for FW from Asia shows to be the highest (5.3 against 0.5 and 0.9 %DM, respectively for EU and NA).

Table 7. Kruskal-Wallis probability and Bonferroni groups for significant variations sources

Parameters	Continent			Collection source						Seasons			
	KWP	Asia	EU	NA	KWP	RFW	HFW	FWGW	FWLP	OFMSW	KWP	Summer	Winter
<i>Physicochemical Characteristics</i>													
DM (% WW)	0.00	1	2	1	0.00	1	1	2	1	1	0.06	-	-
VS (% DM)	0.19	-	-	-	0.01	1	1/2	1/2	1/2	2	nd	nd	nd
<i>Elementary composition</i>													
C (% DM)	0.72	-	-	-	0.01	1	1/2	3	1/2	2/3	0.02	1	2
O (% DM)	0.20	-	-	-	0.01	1	1/2	1/2	1/2	2	nd	nd	nd
N (% DM)	0.24	-	-	-	0.16	-	-	-	-	-	0.04	1	2
C/N	0.42	-	-	-	0.12	-	-	-	-	-	0.01	1	2
<i>Biochemical Characteristics</i>													
CEL (% VS)	0.10	-	-	-	0.02	1/2	1	nd	1/2	2	nd	nd	nd
<i>Nutritional elements</i>													
TAN (mg/L)	0.00	1	2	2	0.01	1	1	2	1	1	0.31	-	-
Na (% DM)	0.01	1	2	2	0.07	-	-	-	-	-	nd	nd	nd

KWP: Kruskal-Wallis Probability, nd: Not determined, - : without significant variations. Only characteristics which showed a KWP lower than 0.05, in some subcategories, are presented in this table. Subcategories that belong to the same group for a FW characteristics proved to have no significant statistical differences between themselves.

The category “collection source” had the most frequent impact on FW characteristics with six characteristics impacted: DM, VS, CEL, C, O and TAN content. For these characteristics, no significant statistical difference was evidenced between the FW collected from restaurants, households and large producers (respectively RFW, HFW and FWLP) as shown in Table 7. On the contrary FW issued from municipal solid waste (OFMSW) or collected with mixed green waste (FWGW) demonstrated significant differences with the other collection source sub-categories. Concerning FWGW, DM (39.4%WW) and TAN (2627.5 mg/L) are higher and the C content (35.8 %DM) is lower than the general mean value. The presence of GW in FWGW seems to be a very important factor of variation for FW characteristics. Regarding OFMSW, a high content of CEL (25.2 %VS) and a low VS (82.1%DM) and O content (27.5%DM) are stated. This difference can highlight the difficulty to separate the napkins, papers and cardboards, and the higher presence of impurities in OFMSW, which may explain the stated variations.

Table 8. Resume of FW characteristics means including subcategories variations, standard deviations in parenthesis

Parameters	\bar{x} (σ)	Continent means			Collection source means					Seasons means		
		Asia	EU	NA	RFW	HFW	FWGW	FWLP	OFMSW	Summer	Winter	
<i>Physicochemical Characteristics</i>												
pH	5.1 (0.7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DM (% WW)	22.8 (10.0)	18.5 (7.1)	28.4 (9.8)	18.1 (9.7)	19.1 (6.8)	23.4 (6.7)	39.4 (8.4)	23.1 (7.7)	24.0 (14.1)	-	-	-
VS (% DM)	88.2 (8.2)	-	-	-	91.6 (4.1)	-	-	-	82.1 (12.3)	nd	nd	nd
CODt (g/kg WW)	198.0 (89.1)	-	-	nd	-	nd	nd	-	-	nd	nd	nd
CODs (g/kg WW)	99.0 (157.0)	-	-	nd	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd
BMP (mLCH ₄ /g VS)	460.0 (87.6)	-	-	nd	-	-	nd	-	nd	nd	nd	nd
<i>Elementary composition</i>												
C (% DM)	45.5 (7.5)	-	-	-	48.6 (7.1)	48.0 (2.7)	35.8 (12.1)	46.5 (2.4)	41.0 (8.1)	46.4 (1.4)	48.4 (0.8)	48.4 (0.8)
H (% DM)	7.0 (3.3)	-	-	-	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd
O (% DM)	33.2 (6.7)	-	-	-	39.1 (1.0)	-	-	-	27.5 (8.85)	nd	nd	nd
N (% DM)	2.8 (1.1)	-	-	-	-	-	nd	-	-	3.8 (1.7)	2.4 (0.5)	2.4 (0.5)
S (% DM)	0.4 (0.2)	-	-	-	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd
C/N	18.5 (5.9)	-	-	-	-	-	-	-	-	13.6 (4.7)	20.5 (4.5)	20.5 (4.5)
<i>Biochemical Characteristics</i>												
Carbohydrates (% VS)	36.4 (20.8)	-	-	-	-	-	nd	nd	-	nd	nd	nd
HEM (% VS)	9.4 (5.0)	nd	-	nd	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd
CEL (% VS)	8.7 (8.2)	-	-	nd	-	3.1 (1.76)	nd	-	25.2	nd	nd	nd
Lignin (% VS)	6.6 (6.1)	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Proteins (% VS)	21.0 (13.0)	-	-	nd	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd
Fats (% VS)	15.4 (8.0)	-	-	nd	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd
<i>Nutritional elements</i>												
TKN (g/kg DM)	16.0 (12.1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TAN (mg/L)	731.4 (958.4)	249.5 (286.0)	989.0 (1190.0)	1434.3 (402.0)	483.5 (569)	309.9 (259)	2627.5 (1690)	771.9 (449)	193.0 (210)	-	-	-
NO ₃ -N (ppm DM)	104.8 (49.7)	nd	-	nd	nd	nd	-	-	nd	nd	nd	nd
Ca (% DM)	1.6 (1.3)	-	-	-	-	-	nd	-	nd	nd	nd	nd
K (% DM)	1.2 (0.7)	-	-	-	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd
Mg (% DM)	0.2 (0.2)	nd	-	-	-	-	nd	-	nd	nd	nd	nd
Na (% DM)	2.2 (2.9)	5.3 (3.5)	0.5 (0.2)	0.9 (0.4)	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P (% DM)	0.5 (0.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
Fe (ppm DM)	482.5 (815.0)	nd	-	-	-	-	nd	-	3300.0	nd	nd	nd
Mn (ppm DM)	62.5 (48.4)	nd	-	-	-	-	nd	-	nd	nd	nd	nd
Mo (ppm DM)	1.2 (1.1)	nd	-	-	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Zn (ppm DM)	86.6 (110.3)	nd	-	nd	-	-	nd	-	250.7 (165)	nd	nd	nd
<i>Heavy metals</i>												
Cd (ppm DM)	0.3 (0.4)	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	nd
Cr (ppm DM)	27.7 (71.4)	nd	-	-	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	nd
Cu (ppm DM)	23.5 (37.2)	nd	-	-	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd
Hg (ppm DM)	0.3 (0.4)	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ni (ppm DM)	9.9 (25.2)	nd	-	-	nd	-	nd	-	-	nd	nd	nd
Pb (ppm DM)	18.3 (46.1)	nd	-	-	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	nd

Where: nd Not determined, - without significant variations

The “season” category explained the variations of only three characteristics: C, N and C/N. A lower C content (46.4%DM) and a high N content (3.8 %DM) are evidenced in FW collected in summer. Consequently a lower C/N ratio (13.6) is evidenced too. It must be recalled here that data for “season category” covered different types of collection sources. Thus in the same way as FWGW, these differences on C and N contents are probably caused by a higher supply of GW (or assimilated waste as vegetables peels) in FW collected during summer. This assumption is supported by the GW characteristics, with a higher DM, N and TAN content and a lower C content than FW (Chen *et al.*, 2014), that may explain the differences observed in FWGW and in FW collected in summer.

In Table 8 are presented the specific mean values of each characteristic impacted by the selected categories. With these values it is possible to select, with more accuracy, the value of each specific FW characteristic according to its geographical localisation, collection source and season of collection. It is especially interesting when data are needed to design a process or to supply an environmental assessment analysis. However, the chosen categories explain the variations of only 9 of the 37 characteristics that were studied. Thus other studies would be necessary to clarify the origins of the other characteristics variations. Moreover, interactions between categories were not investigated because of a lack of relevant data.

4. Discussion: Pros and cons of FW characteristics for valorisation through AD

4.1. Recall of AD fundamentals and influencing factors

AD is a biological treatment which can lead to energy production, pollution control and fertilising substrate recovery from organic waste. Microorganisms that produce methane (CH_4) utilise a limited number of substrates, mainly acetate, hydrogen (H_2) and carbon dioxide (CO_2). Consequently, a decomposition of raw substrate is necessary to provide these elements to the microorganisms. As well known, AD follows four key steps: hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis. These steps tend to work more or less simultaneously depending on availability of degraded molecules, environmental conditions and biomass development. Several studies already reviewed the fundamentals of AD, the environmental conditions and the inhibitors of the process (Deublein & Steinhauser, 2011). Thus this section only aims at summarizing the major phases of AD of OM and their main influencing factors in order to make then a link with the anaerobic treatability of FW.

In the hydrolysis step, the complex composite particles and particulate carbohydrates, proteins and lipids are broken down in water soluble monomers as glucose, amino acids, and long chain fatty acids (LCFA) (Batstone *et al.*, 2002). This step follows variable kinetics, depending on the complexity of OM. This degradation is achieved mainly by bacteria secreting extracellular enzymes. The facultative anaerobic bacteria consume the remaining available oxygen after establishing anaerobic conditions, decreasing the reduction potential and adapting the conditions to the strictly anaerobic bacteria. In the acidogenesis step the monomers produced in the hydrolysis step are degraded in VFA, lactate, ethanol, H_2 and CO_2 . This transformation is performed by hydrolytic fermentative bacteria (facultative anaerobic organism), which are also present in the hydrolysis step. However, this acidogenesis step has a faster kinetics than hydrolysis. In the acetogenesis step, the metabolites from hydrolysis and acidogenesis steps are transformed mainly in acetate (CH_3COOH or $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), H_2 and CO_2 . Two groups of acetogens may be identified: the obligate hydrogen producing acetogens, which degrade VFA, LCFA, alcohols and aromatics compounds in acetate and the homoacetogens, which produce acetate from H_2 and CO_2 (Anderson *et al.*, 2003). Finally, the methanogenesis is the step responsible of CH_4 production which remains distinct from the other steps because the methanogens micro-organisms are not bacteria but *Archaea*. This step can only work in strict anaerobic conditions.

Because of these complex succession of biological steps, AD of OM is a process with a more delicate balance than aerobic digestion, making the instability of digesters a common problem.

In order to avoid instabilities, the knowledge and control of environmental and physicochemical factors influencing AD process are essential. In addition, in order to keep a steady state, the digesters

must not be subjected to sudden changes of operating conditions (surcharges, variations of alimentation composition, temperature and pH ...). Influencing factors that are linked to the characteristics of the substrate to be introduced in the digester are listed below.

pH is one of the most essential parameter for AD, because of a sensibility of microorganisms to pH variations. However, each step of the process shows different sensibility to the pH. A pH between 7.0 and 8.0 is suitable for protein degradation and between 6.0 and 9.0 for carbohydrate degradation (Walker *et al.*, 2010). For fermentative bacteria, a comprehensive pH range from 4.0 to 8.5 is suitable. Most methanogens work optimally in a pH range from 6.5 to 7.2 (Zhang *et al.*, 2014), with a methanogenesis step failure below pH of 5.5 and a limitation above a pH of 8.0. pH is highly linked with TAN and VFA concentration, making these elements the major parameters of the pH balance management.

TAN is produced by the biological degradation of amino acids, proteins and urea. TAN concentration is beneficial to methanogens at low concentrations (<200mg/L or 12mM (Liu & Sung, 2002; Walker *et al.*, 2010)) but in high concentration is inhibitory. It was found that concentrations above 2500 mg/L led to 50% inhibition of methanogenic activity in several substrates (Benabdallah El Hadj *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2012). According to Poggi-Varaldo *et al.* (Poggi-Varaldo *et al.*, 1997), different concentrations of TAN in digester are inhibitor in mesophilic conditions depending on substrate as follows: cow manure with TAN>3000 mg/L, agro-industrial wastes with TAN>5000 mg/L, sewage sludge with TAN>5000 mg/L, OFMSW with TAN>2500 mg/L and FW with TAN>3500 mg/L. However, in thermophilic conditions, the process can be inhibited by TAN concentrations in digester of above 1700 mg/l (Chen *et al.*, 2008) whatever the substrate. Process instability caused by TAN excess often results in VFA accumulation (Chen *et al.*, 2008), decreasing the pH.

As mentioned previously, VFA are produced in the acidogenesis step from monomers (monosaccharides, amino acids, long chain fatty acids). Monomers high availability produces a rapid VFA production. If acetogen microorganisms are not sufficiently developed to consume the available VFA, for example because of inhibition by TAN concentrations, then VFA may accumulate in the digester. High stress in AD was found with VFA concentration by 20 g/L (Zhang *et al.*, 2012) and a complete inhibition of the acetogenesis step by a concentration of 40-50 g COD/L (equivalent to 25-31 g/L of VFA) (Veeken & Hamelers, 2000). Anyhow, a right balance between carbohydrates and proteins contents and the correct pH control is essential to avoid inhibition from TAN and VFA concentrations.

To ensure the microorganisms activity, a good nutritional balance is necessary. The C and N are the principal elements consumed by microorganisms, which need between 15 to 30 times more C

than N. In general, AD works fine with a C/N ratio between 20 and 30 (Teglia *et al.*, 2011), though, it was recently observed that the digestion proceeds well at low C/N between 15 and 20 (Zhang *et al.*, 2014). In addition, many micronutrients as Ca, K, Mg, Na, P and Fe are indispensable for microorganisms. A compilation of the function of each micronutrient in AD was proposed by Walker (Walker *et al.*, 2010). The optimal values of micronutrients are difficult to calculate because the bioavailability depends on multiple factors which are specific to each substrate and configuration.

Concerning heavy metals (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{6+}), inhibitions have been observed in AD. But, as for the micronutrients, the limits are very variable and depend of reactor conditions and configuration. In addition, the definition of heavy metals differs among the studies, making difficult to compare the inhibition values. According to Lin (Lin, 1992), the relative toxicity of heavy metals to degradation of acetic acid in mesophilic AD of sewage sludge was found to be $\text{Cd} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{Ni}$.

Finally, the initial DM content of substrate may determine the additional water needs in AD and the most suitable AD technique. Dry and wet AD conditions are available to treat solid substrates. Dry AD facilitates the dry substrate manipulation, with batch and semi-continuous process but higher structure cost may be present. In this case, the desirable initial DM is between 20% and 40%, which allows performing the AD without important water addition. Wet AD facilitates the contact between the microorganisms and the substrate with continuous and completely mixed process but higher water requirements are needed to adjust the substrate initial DM content. Indeed, the desirable DM content within the digester is under 20%.

4.2. Comparison between FW quality and optimal conditions for AD treatment

Considering the whole range of values for physicochemical characteristics (especially VS, DCO and BMP) shown in Table 8, FW show a good potential for AD treatment. However, within the scientific literature dealing with AD of food waste, several authors highlighted the occurrence of instabilities in the treatment that cause the falls of pH, a lower gas yield and the increase of CO_2 content in biogas (Mata-Alvarez *et al.*, 1992). Traditionally, remedial measures are applied as alkali addition, feed interruption and mixing with a nitrogen-rich supplement (Jiang *et al.*, 2012). The results of the present study allow proposing appropriate AD configuration to avoid instabilities linked to the FW characteristics values as a function of different categories, and to improve FW adequacy with AD treatment.

The statistical analysis (section 3.1) stated that the initial pH of FW is 5.1 (± 0.7) whatever the FW categories. Even if this range of pH is favourable for fermentative bacteria that could easily develop in the first days of the AD process, a higher pH is necessary in the digester in order to favour the development of methanogen microorganisms. Moreover, this low pH combined with the potentially

high carbohydrates and proteins contents of FW (respectively 36.4 %VS (± 20.8) and 21.0 %VS (± 13.0)), may explain the rapid acidification of reactors, caused mainly by the high production of VFA and the high concentration of ammonium ion (NH_4^+) in the digesters (Deublein & Steinhauser, 2011; Mata-Álvarez, 2003; Scano *et al.*, 2014). Consequently, inhibitions of acetogenesis and methanogenesis steps could be evidenced. On the other hand, the structural carbohydrates contents (CEL with and HEM) may be higher than 8.7 and 9.4 % of VS respectively and may induce an incomplete degradation of the OM (only 50% of CEL is decomposed during AD at 37°C for 30 days) (Haug, 1993). Concerning micro-nutriments, Ca (1.6 %DM (± 1.3)), K (1.2 %DM (± 0.7)), Mg (0.2 %DM (± 0.2)), Na (2.2 %DM (± 2.9)), P (0.5 %DM (± 0.3)) and Fe (482.5 ppm (± 815)) are present in FW and, according to Walker (Walker *et al.*, 2010), their concentrations are close to those recommended to AD. Only the nitrogen/phosphorus ratio might sometimes be lower than the value recommended by Walker to improve the AD process (N/P=7).

Looking more accurately at the characteristic values found per FW categories, some additional attention points may be highlighted according to the FW geographical origin on one hand, and the FW producer and collection sources on the other hand.

Concerning the geographical origin, the statistical study showed that:

- TAN concentration for Asia (249.5 mg/L) is considered close to the optimal concentration (Liu & Sung, 2002) and TAN concentration from NA (1434.3 mg/L) and EU (989.0 mg/L) are higher but not considered as inhibitory as discussed previously.
- The high Na content in Asian FW (5.3 %DM) can be considered as moderately inhibitory of AD (Moletta, 2011), thus a special attention is advised in this continent.

Concerning the producer and collection sources, the waste characteristics highlighted that:

- The mean value of DM in FWGW (39.4%, Table 8) is higher than in the other subcategories. The treatment of such a FW in wet AD may be more difficult because of higher needs for additional water in the digester and because of mixing difficulties. Thus for such a collection type, a dry process might be preferable.
- TAN concentration of FWGW (2627.5 mg/L) is inhibitory and might cause a 50% reduction in the methane yield, even at low OLR (Benabdallah El Hadj *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012). Moreover, a process instability may be present due to VFA accumulation.
- Regarding structural carbohydrates, the high content of CEL in OFMSW (25.2 %VS), compared to the global mean value (8.7 %VS), may cause difficulties to calculate the OLR, because of the accumulation of recalcitrant OM. According to Diaz *et al.* (Diaz *et al.*, 2011), the lack of oxygen supply in the early hydrolysis step, affect the AD of CEL, resulting in a production of biogas during the first days but an incomplete transformation of CEL.

Finally, the minimum recommended C/N ratio (15) for AD, is not reached by FW in summer (13.6). As a consequence, failures may occur by excess of N, ending in TAN and VFA accumulation, or deficiencies of C in AD.

Considering the above analysis highlighting links between specific characteristics of FW categories and possible instabilities of AD treatment, specific AD configurations or management attention points may be advised to limit these instabilities:

- In the case of FW with low DM, especially FW from NA with 18.1%, a wet AD seems to be beneficial to take advantage of the initial water contents. On the contrary, in case of high DM as in FWGW, a water addition, a mixing with substrates with lower DM or a separation of GW of FW is advised to develop a correct AD process

- Because of the FW low pH, the feeding of the digester must be carefully managed, in terms of OLR, in order to avoid decrease of pH in the digester.

- In the same way, a specific attention must be paid to the control of the TAN concentration, by dilution with water or by air stripping before FW introduction in the digester (Chen *et al.*, 2008; Krishna & Kalamdhad, 2014).

- In all cases, GW content in FW seems to generate several difficulties in AD process: DM and TAN content. Thus a separation of the fraction of GW may be useful to avoid instabilities or a co-digestion with substrates with a low TAN content has to be advised. Such solutions will improve the AD of FWGW and of summer FW that can be affected by the low C/N of the substrate. Moreover for FWGW, composting treatment might to be preferred to AD to take advantage of high DM contents and to avoid problems linked to long degradation time of green wastes in AD.

- Finally, to avoid VFA accumulation an enhancement of the acetogen and methanogen microorganisms may be promoted by inoculum addition to consume more rapidly the VFA produced. The carbohydrates content, that generates VFA, may also be partially eliminated by an aerobic pre-treatment. Such aerobic pre-treatment is also recommended to increase the exoenzymes production, improving CEL and other polysaccharides degradation (Bon & Ferrara, 2007). Charles *et al.* (Charles *et al.*, 2009) showed that higher production of exoenzymes enhance the hydrolysis step of AD of FW. Variations in the populations of microorganisms were stated depending of the oxygen availability in the hydrolysis step, favouring, par exemple, the development of CEL degrader bacteria (*bacteroidetes*) (Lim *et al.*, 2014).

4.3. Lacks in terms of characterization of FW for a better understanding of ad stability

In this study we have shown high variations in FW characteristics. However, the chosen categories explain the variations of only 9 of the 37 studied characteristics. Therefore, other factors should be studied to identify other causes of variations of the FW characteristics. As an example, the typology of the FW compounds might be interesting since FW are composed by a variable content of fruits, vegetables, cereals, bakery, meat, dairy, among others (Heaven *et al.*, 2013), as shown in Table 9. Furthermore, details about the different FW sorting or collection techniques or about the initial degradation degree caused by the FW storage before AD may be interesting to understand the variations of FW characteristics.

Table 9. Comparison of FW composition in UK, Finland, Portugal, Italy and the 2008 UK WRAP analysis (Heaven *et al.*, 2013)

% wet weight	UK	Finland	Portugal	Italy	UK (WRAP)
Fruit and vegetable waste	60.9	44.5	59.2	69.0	46.6
Pasta/rice/flour/cereals	1.5	0.4	0.2	12.4	2.5
Bread and bakery	9.0	3.8	3.1	2.8	13.4
Meat and fish	6.7	4.3	7.3	6.2	8.4
Dairy	1.7	2.0	0.7	1.4	3.5
Drinks	7.1	27.5	0.2	0.0	8.0
Confectionery, snacks etc.	0.7	3.2	0.3	0.0	1.7
Mixed meals	12.3	6.3	29.0	1.4	12.9
Other food	0.2	8.0	0.0	6.9	3.0

To complete the understanding of the effect of FW characteristics on AD, a thorough knowledge of the links between FW biochemical characteristics and biodegradability might be important. As an example, we concluded that the potentially high carbohydrates content in FW may cause instabilities, but a clear differentiation in the composition of these carbohydrates would be important to know their real impact in AD. Studies in compost degradation kinetics have shown that water soluble organic particles with a size lower than 1.5.kDa are more easily biodegradable than larger water soluble particles. It was also stated that several hydrolysis steps occur to transform water non-soluble organic matter into low size water soluble organic molecules (Tremier *et al.*, 2014). Such a fractionation of the OM might be useful to understand the hydrolysis step in AD and in particular in the case of the use of an aerobic pre-treatment.

5. Conclusion

FW generated through the world cause several environmental and economic injuries. Anaerobic digestion demonstrated to be one of the best technologies for energy and substrate valorisation of FW. However the FW characteristics proved to be highly variable as stated in this study and some of them may generate instability in AD process. This study showed that only two FW characteristics have universal values with CV lower than or close to 16%: pH and BMP. The variations of some characteristics have been explained by the geographical origin, the collection source and the collection season of FW. In particular, this study showed significant differences for: 1/ characteristics of Asian FW against EU and NA; 2/ characteristics of OFMSW and FWGW against RFW, HFW and LPFW and; 3/ characteristics of FW collected in summer against FW collected in winter. FW characteristics values may affect their treatment through an AD process: the low pH, the high carbohydrates content, the high value of TAN and Na of FW especially from Asia; the high DM, and TAN from FWGW; the high CEL content of FW from OFMSW and the low C/N ratio of FW collected during summer. Correction treatment during AD or aerobic pre-treatment of FW seems to be advised to avoid instability in digesters caused by these characteristics. For the characteristics which variations could not be explained, other causes of variations have to be searched in the future: for example, the typology of FW, the sourced collected methods or the socio-economic situations of FW producers. In addition, other characteristics like the biodegradation kinetics, the biomass content, the enzymatic variations and the soluble OM fractionation may help to understand clearly the AD of FW and to propose perspectives of optimization of the process.

Appendix

Bibliographical references used in the statistical study of FW characteristics variations:

1. ADEME, C., 2010. La composition des ordures ménagères et assimilées en France - Résultats de la campagne nationale de caractérisation 2007. ADEME.
2. Adhikari, B.K., Barrington, S., Martinez, J., King, S., 2008. Characterization of food waste and bulking agents for composting. *Waste Management* 28, 795-804.
3. Adhikari, B.K., Trémier, A., Barrington, S., 2012. Performance of five Montreal West Island home composters. *Environmental Technology (United Kingdom)* 33, 2383-2393.
4. Adhikari, B.K., Trémier, A., Barrington, S., Martinez, J., 2013. Biodegradability of municipal organic waste: A respirometric test. *Waste and Biomass Valorization* 4, 331-340.
5. 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. *Journal of Environmental Management* 133, 268-274.
6. Banks, Zhang, 2011. Optimising Processes for the Stable Operation of Food Waste Digestion University of Southampton.
7. Brown, D., Li, Y., 2013. Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas production. *Bioresource Technology* 127, 275-280.
8. Browne, J.D., Allen, E., Murphy, J.D., 2013. Improving hydrolysis of food waste in a leach bed reactor. *Waste Management* 33, 2470-2477.
9. Cekmecelioglu, D., Uncu, O.N., 2013. Kinetic modeling of enzymatic hydrolysis of pretreated kitchen wastes for enhancing bioethanol production. *Waste Management* 33, 735-739.
10. Cesaro, A., Belgiorno, V., 2013. Sonolysis and ozonation as pretreatment for anaerobic digestion of solid organic waste. *Ultrasonics Sonochemistry* 20, 931-936.
11. Chang, J.I., Hsu, T.E., 2008. Effects of compositions on food waste composting. *Bioresource Technology* 99, 8068-8074.
12. Chang, J.I., Tsai, J.J., Wu, K.H., 2006. Thermophilic composting of food waste. *Bioresource Technology* 97, 116-122.
13. Chen, Y., Luo, J., Yan, Y., Feng, L., 2013. Enhanced production of short-chain fatty acid by co-fermentation of waste activated sludge and kitchen waste under alkaline conditions and its application to microbial fuel cells. *Applied Energy* 102, 1197-1204.
14. Cho, S.K., Im, W.T., Kim, D.H., Kim, M.H., Shin, H.S., Oh, S.E., 2013. Dry anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: Performance and methanogenic community analysis. *Bioresource Technology* 131, 210-217.
15. Curry, N., Pillay, P., 2012. Biogas prediction and design of a food waste to energy system for the urban environment. *Renewable Energy* 41, 200-209.
16. Dai, X., Duan, N., Dong, B., Dai, L., 2013. High-solids anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste in comparison with mono digestions: Stability and performance. *Waste Management* 33, 308-316.
17. De Vrieze, J., De Lathouwer, L., Verstraete, W., Boon, N., 2013. High-rate iron-rich activated sludge as stabilizing agent for the anaerobic digestion of kitchen waste. *Water Research* 47, 3732-3741.
18. Dong, L., Zhenhong, Y., Yongming, S., 2010. Semi-dry mesophilic anaerobic digestion of water sorted organic fraction of municipal solid waste (WS-OFMSW). *Bioresource Technology* 101, 2722-2728.
19. Eisted, R., Christensen, T.H., 2011. Characterization of household waste in Greenland. *Waste Management* 31, 1461-1466.
20. El-Mashad, H.M., Zhang, R., 2010. Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology* 101, 4021-4028.

21. Esteves, S., Devlin, D., 2010. Food Waste Chemical analysis. Chemical characterisation of food wastes collected from Welsh Local Authorities for supporting decisions related to anaerobic digestion process design and operation. WRAP.
22. Han, S.-K., Shin, H.-S., 2004. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy* 29, 569-577.
23. Han, S.-K., Shin, H.-S., 2012. Performance of an Innovative Two-Stage Process Converting Food Waste to Hydrogen and Methane. *Journal of the Air & Waste Management Association* 54, 242-249.
24. Heaven, S., Zhang, Y., Arnold, R., Paavola, T., Vaz, F., Cavinato, C., 2013. Compositional analysis of food waste from study sites in geographically distinct regions of Europe. Valorgas.
25. Huerta-Pujol, O., Gallart, M., Soliva, M., Martínez-Farré, F.X., López, M., 2011. Effect of collection system on mineral content of biowaste. *Resources, Conservation and Recycling* 55, 1095-1099.
26. Ismail, F., Abd-Aziz, S., MeiLing, C., Hassan, M.A., 2009. Statistical optimization of biohydrogen production using food waste under thermophilic conditions. *Open Renewable Energy Journal* 2.
27. Jayalakshmi, S., Joseph, K., Sukumaran, V., 2009. Bio hydrogen generation from kitchen waste in an inclined plug flow reactor. *International Journal of Hydrogen Energy* 34, 8854-8858.
28. Jo, J.H., Jeon, C.O., Lee, D.S., Park, J.M., 2007. Process stability and microbial community structure in anaerobic hydrogen-producing microflora from food waste containing kimchi. *Journal of Biotechnology* 131, 300-308.
29. Kim, J.K., Oh, B.R., Chun, Y.N., Kim, S.W., 2006. Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic digestion of food waste. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 102, 328-332.
30. Kim, S.-H., Han, S.-K., Shin, H.-S., 2004. Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge. *International Journal of Hydrogen Energy* 29, 1607-1616.
31. Kim, S.-H., Shin, H.-S., 2008. Effects of base-pretreatment on continuous enriched culture for hydrogen production from food waste. *International Journal of Hydrogen Energy* 33, 5266-5274.
32. Kuo, W.-C., Chao, Y.-C., Wang, Y.-C., Cheng, S.-S., 2012. Bioaugmentation Strategies to Improve Cellulolytic and Hydrogen Producing Characteristics in CSTR Intermittent Fed with Vegetable Kitchen Waste and Napiergrass. *Energy Procedia* 29, 82-91.
33. Kwon, S.-H., Lee, D.-H., 2004. Evaluation of Korean food waste composting with fed-batch operations I: using water extractable total organic carbon contents (TOC_w). *Process Biochemistry* 39, 1183-1194.
34. la Cour Jansen, J., Gruvberger, C., Hanner, N., Aspegren, H., 2004. Digestion of sludge and organic waste in the sustainability concept for Malmö, Sweden. *Water Science & Technology* 49, 163-169.
35. Lee, Z.-K., Li, S.-L., Kuo, P.-C., Chen, I.C., Tien, Y.-M., Huang, Y.-J., Chuang, C.-P., Wong, S.-C., Cheng, S.-S., 2010. Thermophilic bio-energy process study on hydrogen fermentation with vegetable kitchen waste. *International Journal of Hydrogen Energy* 35, 13458-13466.
36. Lee, Z.-K., Li, S.-L., Lin, J.-S., Wang, Y.-H., Kuo, P.-C., Cheng, S.-S., 2008. Effect of pH in fermentation of vegetable kitchen wastes on hydrogen production under a thermophilic condition. *International Journal of Hydrogen Energy* 33, 5234-5241.
37. Li, L., Diederick, R., Flora, J.R.V., Berge, N.D., 2013. Hydrothermal carbonization of food waste and associated packaging materials for energy source generation. *Waste Management* 33, 2478-2492.

38. Li, S.-L., Kuo, S.-C., Lin, J.-S., Lee, Z.-K., Wang, Y.-H., Cheng, S.-S., 2008. Process performance evaluation of intermittent–continuous stirred tank reactor for anaerobic hydrogen fermentation with kitchen waste. *International Journal of Hydrogen Energy* 33, 1522-1531.
39. Lin, Y., Wu, S., Wang, D., 2013. Hydrogen-methane production from pulp & paper sludge and food waste by mesophilic–thermophilic anaerobic co-digestion. *International Journal of Hydrogen Energy* 38, 15055-15062.
40. Liu, X., Li, R., Ji, M., Han, L., 2013. Hydrogen and methane production by co-digestion of waste activated sludge and food waste in the two-stage fermentation process: Substrate conversion and energy yield. *Bioresource Technology* 146, 317-323.
41. López, M., Soliva, M., Martínez-Farré, F.X., Fernández, M., Huerta-Pujol, O., 2010. Evaluation of MSW organic fraction for composting: Separate collection or mechanical sorting. *Resources, Conservation and Recycling* 54, 222-228.
42. Ma, J., Duong, T.H., Smits, M., Verstraete, W., Carballa, M., 2011. Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments. *Bioresource Technology* 102, 592-599.
43. Morin, S., Lemay, S., Barrington, S., 2003. An urban composting system, CSAE/SCGR, Montreal, Quebec.
44. Park, Y., Hong, F., Cheon, J., Hidaka, T., Tsuno, H., 2008. Comparison of thermophilic anaerobic digestion characteristics between single-phase and two-phase systems for kitchen garbage treatment. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 105, 48-54.
45. Peu, P., Picard, S., Diara, A., Girault, R., Béline, F., Bridoux, G., Dabert, P., 2012. Prediction of hydrogen sulphide production during anaerobic digestion of organic substrates. *Bioresource Technology* 121, 419-424.
46. Pleissner, D., Lam, W.C., Sun, Z., Lin, C.S.K., 2013. Food waste as nutrient source in heterotrophic microalgae cultivation. *Bioresource Technology* 137, 139-146.
47. Rao, M.S., Singh, S.P., 2004. Bioenergy conversion studies of organic fraction of MSW: kinetic studies and gas yield–organic loading relationships for process optimisation. *Bioresource Technology* 95, 173-185.
48. Redondas, V., Gómez, X., García, S., Pevida, C., Rubiera, F., Morán, A., Pis, J.J., 2012. Hydrogen production from food wastes and gas post-treatment by CO₂ adsorption. *Waste Management* 32, 60-66.
49. Schwalb, M., Rosevear, C., Chin, R., Barrington, S., 2011. Food waste treatment in a community center. *Waste Management* 31, 1570-1575.
50. Seo, J.Y., Heo, J.S., Kim, T.H., Joo, W.H., Crohn, D.M., 2004. Effect of vermiculite addition on compost produced from Korean food wastes. *Waste Management* 24, 981-987.
51. Shin, H.-s., Youn, J.-h., 2005. Conversion of food waste into hydrogen by thermophilic acidogenesis. *Biodegradation* 16, 33-44.
52. Shin, H.-S., Youn, J.-H., Kim, S.-H., 2004. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. *International Journal of Hydrogen Energy* 29, 1355-1363.
53. Singh, A., Jain, A., Sarma, B.K., Abhilash, P.C., Singh, H.B., 2013. Solid waste management of temple floral offerings by vermicomposting using *Eisenia fetida*. *Waste Management* 33, 1113-1118.
54. Sundberg, C., Franke-Whittle, I.H., Kauppi, S., Yu, D., Romantschuk, M., Insam, H., Jönsson, H., 2011. Characterisation of source-separated household waste intended for composting. *Bioresource Technology* 102, 2859-2867.
55. Tampio, E., Ervasti, S., Paavola, T., Heaven, S., Banks, C., Rintala, J., 2014. Anaerobic digestion of autoclaved and untreated food waste. *Waste Management* 34, 370-377.
56. Tang, Y.-Q., Koike, Y., Liu, K., An, M.-Z., Morimura, S., Wu, X.-L., Kida, K., 2008. Ethanol production from kitchen waste using the flocculating yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain KF-7. *Biomass and Bioenergy* 32, 1037-1045.

57. Teglia, C., Tremier, A., Martel, J.L., 2011. Characterization of solid digestates: Part 2, assessment of the quality and suitability for composting of six digested products. *Waste and Biomass Valorization* 2, 113-126.
58. Vavouraki, A.I., Volioti, V., Kornaros, M.E., 2013. Optimization of thermo-chemical pretreatment and enzymatic hydrolysis of kitchen wastes. *Waste Management*.
59. Wang, H., Nie, Y., 2001. Municipal Solid Waste Characteristics and Management in China. *Journal of the Air & Waste Management Association* 51, 250-263.
60. Wang, X., Zhao, Y.-c., 2009. A bench scale study of fermentative hydrogen and methane production from food waste in integrated two-stage process. *International Journal of Hydrogen Energy* 34, 245-254.
61. Xiao, L., Deng, Z., Fung, K.Y., Ng, K.M., 2013. Biohydrogen generation from anaerobic digestion of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy* 38, 13907-13913.
62. Yan, S., Li, J., Chen, X., Wu, J., Wang, P., Ye, J., Yao, J., 2011. Enzymatical hydrolysis of food waste and ethanol production from the hydrolysate. *Renewable Energy* 36, 1259-1265.
63. Yang, F., Li, G.X., Yang, Q.Y., Luo, W.H., 2013. Effect of bulking agents on maturity and gaseous emissions during kitchen waste composting. *Chemosphere* 93, 1393-1399.
64. Ye, J., Li, D., Sun, Y., Wang, G., Yuan, Z., Zhen, F., Wang, Y., 2013. Improved biogas production from rice straw by co-digestion with kitchen waste and pig manure. *Waste Management* 33, 2653-2658.
65. Yun, Y.S., Park, J.I., Park, J.M., 2005. High-rate slurry-phase decomposition of food wastes: Indirect performance estimation from dissolved oxygen. *Process Biochemistry* 40, 1301-1306.
66. Zhang, C., Xiao, G., Peng, L., Su, H., Tan, T., 2013. The anaerobic co-digestion of food waste and cattle manure. *Bioresource Technology* 129, 170-176.
67. Zhang, R., El-Mashad, H.M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., Gamble, P., 2007. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 98, 929-935.
68. Zhang, Y., Banks, C.J., Heaven, S., 2012. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. *Journal of Environmental Management* 104, 166-174.
69. Zhao, M.-X., Ruan, W.-Q., 2013. Biogas performance from co-digestion of Taihu algae and kitchen wastes. *Energy Conversion and Management* 75, 21-24.
70. Zhu, H., Parker, W., Basnar, R., Proracki, A., Falletta, P., Béland, M., Seto, P., 2008. Biohydrogen production by anaerobic co-digestion of municipal food waste and sewage sludges. *International Journal of Hydrogen Energy* 33, 3651-3659.

References

- Adhikari, B.K., Trémier, A., Barrington, S., Martinez, J., Daumoin, M., 2013. Gas emissions as influenced by home composting system configuration. *Journal of Environmental Management* 116, 163-171.
- Ağdağ, O.N., Sponza, D.T., 2007. Co-digestion of mixed industrial sludge with municipal solid wastes in anaerobic simulated landfilling bioreactors. *Journal of Hazardous Materials* 140, 75-85.
- Anderson, K., Sallis, P., Uyanik, S., 2003. 24 - Anaerobic treatment processes, in: Mara, D., Horan, N. (Eds.), *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. Academic Press, London, pp. 391-426.
- Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S., Srinath, E.G., 1976. Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 48, 835-852.
- Bah, H., Zhang, W., Wu, S., Qi, D., Kizito, S., Dong, R., 2014. Evaluation of batch anaerobic co-digestion of palm pressed fiber and cattle manure under mesophilic conditions. *Waste Management* 34, 1984-1991.
- Baillargeon, J., 2008. Application et interprétation des techniques statistiques avancées.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H., Vavilin, V., Processes, I.T.G.o.M.o.A.D., 2002. *Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1)*.
- Benabdallah El Hadj, T., Astals, S., Gali, A., Mace, S., Mata-Alvarez, J., 2009. Ammonia influence in anaerobic digestion of OFMSW.
- Bon, E.P., Ferrara, M.A., 2007. Bioethanol production via enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. *The Role of Agricultural Biotechnologies for Production of Bioenergy in Developing Countries*. FAO. Available via: <http://www.fao.org/biotech/seminaroct2007.htm> 12.
- Bousquet, P., Ciais, P., Miller, J.B., Dlugokencky, E.J., Hauglustaine, D.A., Prigent, C., Van der Werf, G.R., Peylin, P., Brunke, E.G., Carouge, C., Langenfelds, R.L., Lathiere, J., Papa, F., Ramonet, M., Schmidt, M., Steele, L.P., Tyler, S.C., White, J., 2006. Contribution of anthropogenic and natural sources to atmospheric methane variability. *Nature* 443, 439-443.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F., 2012. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review. *Waste Management* 32, 1634-1650.
- Castillo, E.F., Cristancho, D.E., Victor Arellano, A., 2006. Study of the operational conditions for anaerobic digestion of urban solid wastes. *Waste Management* 26, 546-556.
- Charles, W., Walker, L., Cord-Ruwisch, R., 2009. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 100, 2329-2335.
- Chen, X., Yan, W., Sheng, K., Sanati, M., 2014. Comparison of high-solids to liquid anaerobic co-digestion of food waste and green waste. *Bioresource Technology* 154, 215-221.

- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology* 99, 4044-4064.
- Cho, S.K., Im, W.T., Kim, D.H., Kim, M.H., Shin, H.S., Oh, S.E., 2013. Dry anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: Performance and methanogenic community analysis. *Bioresource Technology* 131, 210-217.
- Deublein, D., Steinhauser, A., 2011. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*. John Wiley & Sons.
- Diaz, I., Donoso-Bravo, A., Fdz-Polanco, M., 2011. Effect of microaerobic conditions on the degradation kinetics of cellulose. *Bioresour Technol* 102, 10139-10142.
- EC, 1999. Council Directive 1999/31/EC of 26 April 1999 on the landfill of waste. *Off. J. Eur. Commun. L*, 182 (1999), pp. 0001–0019 16/07/1999.
- EC, 2003. Directive 2003/30/EC of the European Parliament and of the Council of 8 May 2003 on the promotion of the use of biofuels or other renewable fuels for transport. *Off. J. Eur. Union L*, 123/42, pp. 0042–0046.
- EC, 2009. Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/EC and 2003/30/EC. *Off. J. Eur. Union L*, 140/16 (2009), pp. 0016–0062 5/6/2009.
- EPA, U.S., 2011. *Municipal solid waste in the united states, 2011 facts and figures*.
- EPA, U.S., 2012. *Global Anthropogenic Non-CO2 Greenhouse Gas Emissions: 1990 - 2030*.
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M., Romero, L.I., 2008. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresource Technology* 99, 6994-7002.
- Fricke, K., Santen, H., Wallmann, R., Hüttner, A., Dichtl, N., 2007. Operating problems in anaerobic digestion plants resulting from nitrogen in MSW. *Waste Management* 27, 30-43.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., Meybeck, A., 2011. *Global food losses and food waste*. FAO.
- Hartmann, H., Ahring, B., 2006. Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: an overview. *Water Science & Technology* 53, 7-22.
- Haug, R.T., 1993. *The practical handbook of compost engineering*. CRC Press.
- Heaven, S., Zhang, Y., Arnold, R., Paavola, T., Vaz, F., Cavinato, C., 2013. *Compositional analysis of food waste from study sites in geographically distinct regions of Europe*. Valorgas.
- Jan, O., Tostivint, C., Turbé, A., O'Connor, C., Lavelle, P., 2013. *Food Wastage Footprint Impacts on natural resources Technical Report*. FAO Natural Resources and Management Department.

- Jiang, Y., Heaven, S., Banks, C.J., 2012. Strategies for stable anaerobic digestion of vegetable waste. *Renewable Energy* 44, 206-214.
- Krishna, D., Kalamdhad, A.S., 2014. Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production – A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2, 1821-1830.
- 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 Biochemistry* 45, 431-440.
- Lim, J.W., Chiam, J.A., Wang, J.-Y., 2014. Microbial community structure reveals how microaeration improves fermentation during anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Bioresource Technology* 171, 132-138.
- Lin, C.-Y., 1992. Effect of heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion. *Water Research* 26, 177-183.
- Liu, T., Sung, S., 2002. Ammonia inhibition on thermophilic aceticlastic methanogens. *Water Science and Technology* 45, 113-120.
- Martin, L., Gendron, A., 2003. Méthodes statistiques appliquées à la psychologie: traitement de données avec Microsoft Excel 2000. Éditions SMG.
- Martín, M.Á., González, I., Serrano, A., Siles, J.Á., 2015. Evaluation of the improvement of sonication pre-treatment in the anaerobic digestion of sewage sludge. *Journal of Environmental Management* 147, 330-337.
- Mata-Álvarez, J., 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA publishing.
- Mata-Alvarez, J., Llabrés, P., Cecchi, F., Pavan, P., 1992. Anaerobic digestion of the Barcelona central food market organic wastes: Experimental study. *Bioresource Technology* 39, 39-48.
- Ministere de l'écologie, d.d.d., des transports et du logement, 2011. Arrêté du 12 juillet 2011 fixant les seuils définis à l'article R. 543-225 du code de l'environnement
- Moletta, R., 2011. La méthanisation. Lavoisier.
- Monier, V., Escalon, V., O'Connor, C., 2010. Preparatoy study on food waste across EU 27. European Commission (DG ENV).
- Poggi-Varaldo, H., Rodriguez-Vazquez, R., Fernandez-Villagomez, G., Esparza-Garcia, F., 1997. Inhibition of mesophilic solid-substrate anaerobic digestion by ammonia nitrogen. *Applied Microbiology and Biotechnology* 47, 284-291.
- Scano, E.A., Asquer, C., Pistis, A., Ortu, L., Demontis, V., Cocco, D., 2014. Biogas from anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Experimental results on pilot-scale and preliminary performance evaluation of a full-scale power plant. *Energy Conversion and Management* 77, 22-30.

- Seo, J.Y., Heo, J.S., Kim, T.H., Joo, W.H., Crohn, D.M., 2004. Effect of vermiculite addition on compost produced from Korean food wastes. *Waste Management* 24, 981-987.
- Sidaine, J.-M., Gass, M., 2013. État de l'art de la collecte séparée et de la gestion de proximité des biodéchets. AWIPLAN, ADEME.
- Sundberg, C., Franke-Whittle, I.H., Kauppi, S., Yu, D., Romantschuk, M., Insam, H., Jönsson, H., 2011. Characterisation of source-separated household waste intended for composting. *Bioresource Technology* 102, 2859-2867.
- Teglia, C., Tremier, A., Martel, J.L., 2011. Characterization of solid digestates: Part 2, assessment of the quality and suitability for composting of six digested products. *Waste and Biomass Valorization* 2, 113-126.
- Tom, Q., Hannah, J., 2009. Household Food and Drink Waste in the UK. Wrap.
- Tremier, A., Denes, J., Gratteau, L., Menasseri-Aubry, S., 2014. Characterization of the biochemical composition of solid organic resources to predict their aerobic biodegradation kinetics. Proceedings of 5th International Conference on Engineering for Waste and Biomass Valorisation – August 25–28, 2014 – Rio de Janeiro, Brazil.
- Veeken, A., Hamelers, B., 2000. Effect of substrate-seed mixing and leachate recirculation on solid state digestion of biowaste. *Water Science and Technology* 41, 255-262.
- Walker, L.R., Murdoch University. Faculty of Sustainability, E., Sciences, L., 2010. An Investigation Into the Bioprocesses of DiCOM®: A Technology Combining Composting and Thermophilic Anaerobic Digestion for the Treatment of Municipal Solid Waste. Murdoch University.
- Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., Tan, T., 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 38, 383-392.
- Zhang, L., Sun, X., 2014. Changes in physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar. *Bioresource Technology* 171, 274-284.
- Zhang, R., El-Mashad, H.M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., Gamble, P., 2007. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 98, 929-935.
- Zhang, Y., Banks, C.J., Heaven, S., 2012. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. *Journal of Environmental Management* 104, 166-174.

Chapitre 3. Influence de la composition et des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques sur la biodégradabilité de déchets de cuisine

Synthèse :

Dans le chapitre précédent, sur la base des données de la littérature, des différences significatives ont été identifiées pour plusieurs caractéristiques des déchets de cuisine en fonction de l'origine de ces derniers. Certaines valeurs des caractéristiques dans les déchets ont été identifiées comme valeurs potentiellement risquées pour le déroulement correct de la digestion anaérobie. Cependant, le potentiel de méthanisation s'est montré peu variable (en moyenne $460 \text{ NLCH}_4 \cdot \text{kgMV}^{-1}$ pour tous les déchets de cuisine en général). Les relations entre les caractéristiques physico chimiques, biochimiques ou biologiques et la biodégradabilité anaérobie n'ont donc pas pu être observées. Par ailleurs, certaines caractéristiques biochimiques (p.ex. fractionnement de la MO soluble à l'eau) et microbiologiques (population bactérienne et fongique) susceptibles de montrer des relations directes avec la biodégradabilité n'étaient pas renseignées dans les données de la littérature.

Le Chapitre 3 est donc consacré à une caractérisation élargie des déchets de cuisine via l'analyse d'échantillons prélevés sur le terrain. Les objectifs de ce Chapitre sont de comparer les résultats expérimentaux avec la littérature et de compléter les données de la littérature avec des caractéristiques physico-biochimiques et microbiologiques manquantes. De plus, une étude statistique est réalisée pour observer les relations entre la variabilité de certaines caractéristiques physico chimiques, biochimiques ou biologiques et la composition typologique des déchets de cuisine. Enfin, cette expérience met en relation le potentiel de biodégradation anaérobie avec les caractéristiques physico-biochimiques et microbiologiques des déchets.

Pour cela, les déchets de cuisine de 2 restaurants de l'agglomération rennaise (restaurant inter administratif et restaurant végétarien) et les biodéchets collectés séparément par le SMICTOM des Pays de Vilaine ont été échantillonnés. Ces déchets ont été choisis car leurs origines (déchets de restaurant et biodéchets ménagers collectés séparément) devraient leur donner certaines caractéristiques physico chimiques, biochimiques ou biologiques comparables selon la littérature (Chapitre 2) bien que leur composition typologique soit a priori différente (absence de viande dans les déchets du restaurant végétarien et plus de diversité dans les déchets ménagers collectés à la source). L'impact de la composition typologique sera donc recherché.

Les résultats ont montré qu'en général les caractéristiques étudiées restent dans les plages de variations des données compilées dans la littérature. Les déchets sont riches en composants biodégradables avec des teneurs de MV entre 169 et 291 $\text{gMV} \cdot \text{kgMB}^{-1}$, des teneurs en DCO totale entre 1169 et 1796 $\text{gO}_2 \cdot \text{kgMV}^{-1}$, et une BMP entre 372 et 421 $\text{NLCH}_4 \cdot \text{kgMV}^{-1}$.

L'étude sur de la composition typologique des déchets montre un impact de cette dernière notamment sur quelques caractéristiques comme la densité, MV, la fraction SOL_{NDF} (fractionnement

Van Soest) et l'hémicellulose. Cependant la composition typologique n'a pas montré des influences directes sur les caractéristiques de biodégradation (BMP, biogaz produit, DCO totale, biodégradabilité anaérobie (BD)), en démontrant que les déchets de cuisine en général gardent un équilibre de composition qui amène à de bons taux de production de méthane.

Un résultat à remarquer est que les biodéchets ménagers montrent plus de variations dans leurs caractéristiques que les déchets des restaurants. Cela est très probablement explicable par le temps de stockage : les déchets ont été déposés dans des sacs plastiques biodégradables dans des poubelles et laissés à l'air libre entre 3 et 4 jours avant leur collecte et la campagne d'échantillonnage. Ces déchets présentent un état de décomposition plus avancé que les déchets des restaurants qui ont été collectés le jour même de leur production. Ce temps de stockage avant collecte semble expliquer les variations des caractéristiques, spécialement les caractéristiques de biodégradation et les microorganismes. Par exemple, par rapport à la BD, les biodéchets ménagers montrent les valeurs les plus élevées (91%) en comparaison des autres déchets (entre 67 et 79%). Cela signifie que la DCO qui a été consommé pendant le stockage des déchets ménagers a été compensé par l'évolution de la DCO restante qui semble être plus disponible pour être transformée en méthane. En effet, la DCO est positivement corrélé à la production de biogaz mais négativement avec le taux de méthane. Cela peut signifier que une partie de la DCO est dégradé plus rapidement, produisant plus de CO₂ dans les étapes initiales de la dégradation et que des carbohydrates structuraux moins facilement dégradables commence à être dégradée dans les phases finales du procédé, en produisant d'avantage de CO₂ plutôt que du CH₄.

Du point de vue microbiologique, une population plus importante de bactéries est constatée pour les biodéchets ménagers. Aucune *Archaea* n'a été détectée. Les biodéchets ménagers présentent des indices de la richesse et de la diversité des bactéries plus importants, liés aussi à une dégradation plus avancée donnant donc une population microbienne plus active et diverse. La population microbienne se montre également impactée par la nature des déchets et donne des pistes intéressantes par rapport à leur biodégradabilité. Cependant, la forte teneur en légumes dans les déchets semble montrer un impact inattendu dans les résultats de la population microbienne. En effet, de l'ADN végétal est apparu dans les résultats d'ADN bactérien. L'explication la plus plausible est donc que les mitochondries des cellules végétales (fruits et légumes) ont été identifiées comme étant des espèces des bactéries. L'élimination des bactéries du phylum *Cyanobacteria* est donc conseillée pour éviter de biaiser les résultats d'abondance relative des bactéries. Dans le cas des champignons, un biais analytique a aussi été constaté, cette fois en trouvant des séquences de *Basidiomycota Agaricus bisporus* qui est communément appelé Champignon de Paris. Ce sont donc des champignons qui sont présents dans les déchets en raison du menu servi et qui ne traduisent pas

des processus potentiels de biodégradation. Par exemple, la haute présence de *Lactobacillus* semble être liée à un apport important de yaourt dans les déchets du restaurant et donc liée au menu de la journée. Ces bactéries pourraient donc augmenter le taux de dégradation de sucre et possiblement induire une acidification du milieu.

Les résultats de cette étude permettent de mieux connaître les caractéristiques de biodégradabilité anaérobie des différents déchets de cuisine ainsi que permettent de cibler les caractéristiques physicochimiques et biologiques que peuvent l'influencer.

Ces résultats ont été publiés dans l'article ci-après accepté auprès de Journal of Environmental Management.

Understanding the anaerobic biodegradability of food waste: relationship between the typological, biochemical and microbial characteristics

Henry Fisgativa¹, Anne Tremier^{1*}, Sophie Le Roux¹, Chrystelle Bureau², Patrick Dabert¹

¹ Irstea, UR OPAALE, 17 avenue de Cucillé, CS 64427, F-35044 Rennes Cedex, France

² Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony Cedex, France

*Corresponding author. Tel.: +33 2 23 48 21 55; Email address: anne.tremier@irstea.fr

Published at *Journal of Environmental Management*, **188**, 95-107. 2017.

Abstract

In this study, an extensive characterisation of food waste (FW) was performed with the aim of studying the relation between FW characteristics and FW treatability through an anaerobic digestion process. In addition to the typological composition (paper, meat, fruits, vegetables contents, etc) and the physicochemical characteristics, this study provides an original characterization of microbial populations present in FW. These intrinsic populations can actively participate to aerobic and anaerobic degradation with the presence of *Proteobacteria* and *Firmicutes* species for the bacteria and of *Ascomycota* phylum for the fungi. However, the characterisation of FW bacterial and fungi community shows to be a challenge because of the biases generated by the non-microbial DNA coming from plant and by the presence of mushrooms in the food. In terms of relations, it was demonstrated that some FW characteristics as the density, the volatile solids and the fibres content vary as a function of the typological composition. No direct relationship was demonstrated between the typological composition and the anaerobic biodegradability. However, the Pearson's matrix results reveal that the anaerobic biodegradation potential of FW was highly related to the total chemical oxygen demand (tCOD), the total solid content (TS), the high weight organic matter molecules soluble in water ($SOL_W > 1.5\text{kDa}$) and the C/N ratio content. These relations may help predicting FW behaviour through anaerobic digestion process. Finally, this study also showed that

the storage of FW before collection, that could induce pre-biodegradation, seems to impact several biochemical characteristics and could improve the biodegradability of FW.

Keywords : Food waste; anaerobic digestion; typological composition; microbial population

1. Introduction

Nowadays, one third of the global food production is wasted (Gustavsson *et al.*, 2011). In fact, 1300 billion tons of food waste (FW) are produced each year, emitting roughly 3.3 billion tons of CO₂Eq. This emission represents 9.6% of global CO₂ emissions (WEDODATA, 2015). The food wastage is evidenced at all stages of the food supply chain. In developing countries, most of the food wastage occurs in early stages (production, transport) (80-95%), meanwhile, in industrialized countries, the proportion of FW at the consumer level is higher (30-40%) (Gustavsson *et al.*, 2011). In this context, several countries are working both on increasing prevention of FW and on reducing FW landfilling and promoting strategies of valorisation, mainly via biological fertiliser and bioenergy production (Sidaine & Gass, 2013).

FW shows a high potential to produce methane (CH₄) by anaerobic digestion (AD). In average, about 460 normal litres (NL) of CH₄ can be produced per kilogram of volatile solids (VS) of FW (Fisgativa *et al.*, 2016). This represents almost twice as much as the methanogenic potential of cattle manure (270 NLCH₄.kgVS⁻¹) and sewage sludge (255 NLCH₄.kgVS⁻¹) (Peu *et al.*, 2012). FW shows also high VS content (about 88 % of the total solids (TS)), a good moisture content (about 77% of the wet weight (WW)), a balanced carbon-to-nitrogen ratio (C/N) (18.5) and high carbohydrates and proteins content (36%VS and 21%VS respectively) (Fisgativa *et al.*, 2016). These characteristics make FW a very suitable substrate to be valorised toward AD process. However, several authors stated instabilities in anaerobic treatment of FW caused by rapid production of volatile fatty acids (VFA) and total ammonia nitrogen (TAN), especially at high organic loading rates (OLR) (>9 kgVS⁻¹.m⁻³.d⁻¹) (Deublein & Steinhauser, 2011; Jabeen *et al.*, 2015; Mata-Álvarez, 2003; Scano *et al.*, 2014). The accumulation of these metabolites results in instabilities of the anaerobic digestion mechanisms, which are especially harmful to the methanogens microorganisms.

In addition, recent studies showed that the initial characteristics of FW impact the development of the AD process (Bayard *et al.*, 2015; Fisgativa *et al.*, 2016). Values of TS, VS, chemical oxygen demand (COD), C/N ratio, cellulose (CEL) and lignin content (LIG) among others, can be used as indicators of the FW biodegradability (Bayard *et al.*, 2015; Fisgativa *et al.*, 2016; Triolo *et al.*, 2011). Nevertheless, most of these characteristics present very high variations (some with coefficients of variations above 100%) within FW, making difficult to predict them without specific laboratory analyses for each FW substrate. Fisgativa *et al.* (2016) attempted to relate variations of FW characteristics with geographical origin, collection source and season of collection. They suggested specific average values for some characteristics as TS or CEL content. However 76% of the characteristics variations were not explained by these categories. Thus the investigation of new

factors as the typological composition could help a better understanding of the causes of variation of FW characteristics. This need of complementary analytical parameters for FW was also underlined by Bayard *et al.* (2015) who suggested to study the content of microorganisms or the fractionation of water-soluble molecules in order to provide further information on the anaerobic biodegradability of FW.

Therefore, the purpose of this work is to provide an extensive characterisation of FW, searching to compare and complement the FW characteristics found in literature. Moreover, a statistical analysis was performed to highlight relationships between the physicochemical and biochemical characteristics of FW on one hand, and the typological composition and anaerobic biodegradability of FW (biogas potential) on the other hand. These relations may help predicting FW behaviour through AD.

2. Materials and methods

2.1. Food waste collection and sampling

For this study, FW samples were collected from 3 different sources near to Rennes, France: a collective catering (RIA) and a vegetarian restaurant (VEG) producing respectively 17 and 11 tons of kitchen waste per year, and the separated biowaste from a municipality (BIO) that collects 45 tons per week of organic waste from households, bakeries, restaurants and public institutions.

Each source of FW was sampled twice, at two weeks intervals. A method of quartering was used to constitute a 17 kg sample in order to perform the laboratory analyses. In the case of the restaurants, the whole production of kitchen waste and dishes leftovers of the day of sampling was collected to constitute the samples. Concerning BIO the sampling was made from around 400 kg of waste on the composting plant where the collected waste is delivered. Manual sorting of biodegradable plastic bags was performed. Because of the collection frequency on the territory (once or twice a week), FW from BIO showed clear signs of biodegradation in the storage bins before sampling.

2.2. Samples preparation

The scheme of samples preparation is presented on Figure 11. Fifteen kilograms of FW were stored at 4°C up to 2 days until the typological sorting and the free air space (FAS) and density measures were performed. Two kilograms were frozen with liquid nitrogen, ground at 2mm and stored at -20°C in order to be used later for physicochemical, biochemical and elementary analyses. Additionally, about 5 grams of ground wastes were further milled with liquid nitrogen for 1 min with a ball mill (300 Dangoumill, Prolabo) up to obtain a homogeneous powder and stored at -80°C for molecular microbiology analyses.

In order to determine the characteristics of the water soluble matter, a water extraction was performed at room temperature on 250 g of ground substrate in 1.5 L of water for 1 hour under agitation. The mixture was then centrifuged (17700 g for 20 min at 4°C) in order to separate the water extract (SOL_w) from the water-non-soluble matter (NSOL).

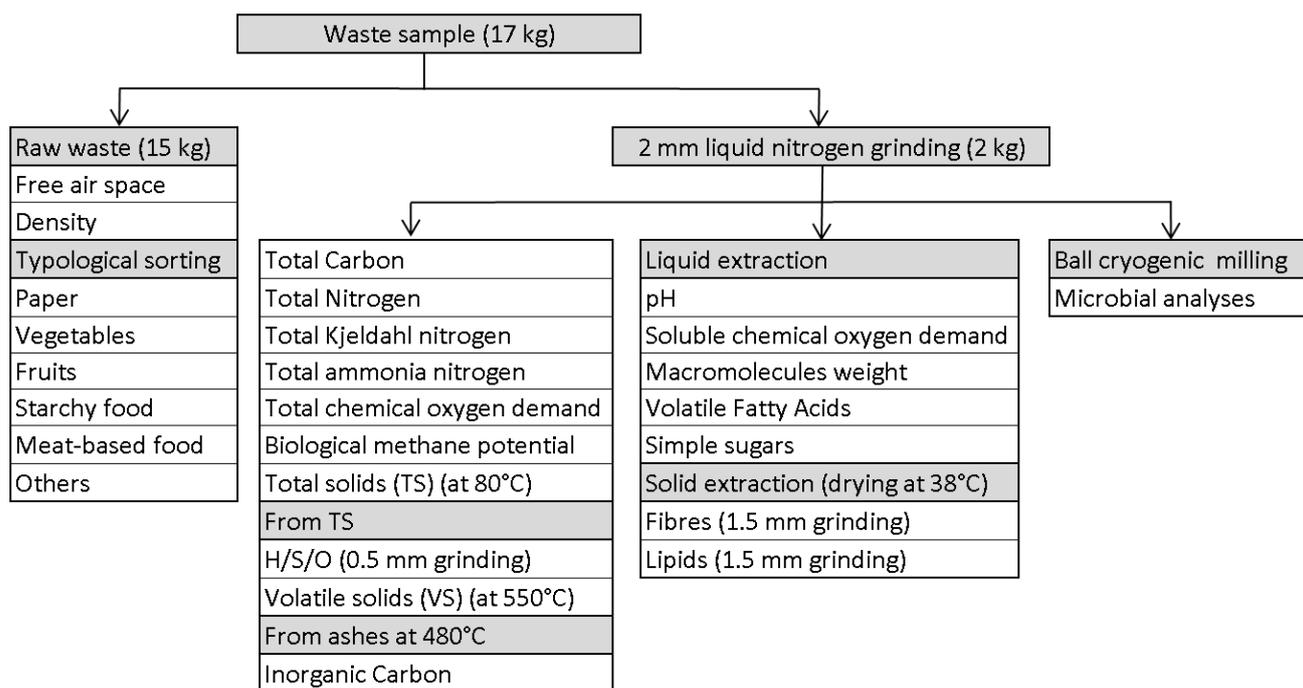


Figure 11. Scheme of sample preparation

2.2.1. Typological sorting

FW was manually sorted following the typological composition studied in Valorgas (Heaven *et al.*, 2013) and WRAP projects (Esteves & Devlin, 2010). For the present study, no distinction was made between cooked and raw food waste. As shown in Figure 11, the fractions considered were: Paper (napkins and paper towels), vegetables (cooked and non-cooked rests), fruits (peels and uneaten portions), starchy food (bread, rice, pasta among others), meat-based food (including red meat, poultry and fish) and others (including dairy products, sauces, bones and shells). The proportion of each fraction was expressed as a percentage of the wet weight (WW) and a determination of TS and VS was performed in order to identify the contribution of each fraction into the total TS and VS of FW.

2.2.2. Physicochemical and elementary characterisation

Ground samples were analysed for TS content by drying at 80°C until constant weight. Concerning the VS content, soluble chemical oxygen demand (sCOD), total Kjeldahl nitrogen (TKN) and total ammonia nitrogen (TAN) content, the measurements were performed using standard methods (APHA, 2012). The total chemical oxygen demand (tCOD) was performed based on the AFNOR NF T 90-101, 2001. pH was measured on the SOL_w fraction. Elementary analyses of total carbon (C), inorganic carbon (IC), total nitrogen (N), total hydrogen (H), total sulphur (S), and total

oxygen (O) were performed with an elementary analyser (Thermo Flash 2000) according to the manufacturer's instructions. Briefly, wet samples were used to determine C and N. Dry samples were used to determine H, S and O and ashes from 480°C calcination were used to determine IC. The samples were placed in a tin capsule in a combustion furnace heated to 1000 °C. During combustion, the gas stream was then analysed by chromatography with catharometric detection.

Density (ρ) and free air space (FAS) of raw FW were measured with an experimental device developed by Berthe (2007). FAS represents the volume of air in a porous matrix, which influences both the substrate biodegradability and the biological process effectiveness. For this measurement, two stainless steel cells were used: one filled with a known weight and volume of FW and the other empty. Then, the empty cell was connected to the compressed air until reaching 250-280 kPa absolute pressure and was then connected to the filled cell until stabilisation of pressure and temperature (about 6 minutes). Finally, the pressure and temperature differences between the two cells were measured to determine the FAS value, making use of the ideal gas law as described by Berthe (2007).

2.2.3. Anaerobic biodegradability

The biochemical methane potential (BMP) method was adapted by Vedrenne *et al.* (2008). The measurement was performed in triplicate 520 ml bottles, hermetically closed, containing 40 ml of inoculum and 3-5 grams of ground substrate. The inoculum used was obtained from a well-established anaerobic pilot plant (100 L) acclimated to degrade pig slurry supplemented with horse feed. Bottles were incubated at 38°C along about 40 days. Daily pressure measurements enabled to quantify biogas production. Biogas was then sampled for CH₄ and CO₂ analysis by gas chromatography. Finally, the anaerobic biodegradability (BD) was calculated as a relation between the experimental BMP and the total COD (tCOD) as shown by Bayard *et al.* (2015), taking into account that 1 gram tCOD produces 0.35 L of CH₄.

$$BD = \frac{BMP * 100}{0.35 * tCOD} \quad \text{Eq. 1}$$

where BD is expressed in %; BMP in NLCH₄.kgVS⁻¹ and tCOD in gO₂.kgVS⁻¹.

2.2.4. Biochemical analyses

The non-soluble fractions (NSOL) were dried at 38°C until constant weight and then analysed by the modified Van Soest fibres analysis method, as proposed by Tremier *et al.* (2014). This method

discretizes the NSOL organic matter (OM) into 4 fractions: soluble in neutral detergent (SOL_{NDF}), hemicellulose-like OM (HEM), cellulose-like OM (CEL) and lignin-like OM (LIG). Difference between VS content on the global FW and NSOL give the VS content of the water-soluble extract (SOL_W). Furthermore, the composition of organic macromolecules in SOL_W was determined using size-exclusion HPLC method combined with an evaporative light scattering detector (ELSD). A calibration with DEXTRAN molecules of known molecular weight allowed subdividing the area of the chromatogram. To the purpose of this study, a subdivision in OM molecules of weight higher and lower than 1.5 k Da (SOL_W>1.5 and SOL_W<1.5 respectively) was chosen, based on the hypothesis that molecules lower than 1.5 kDa can diffuse through the cellular membrane to be used effectively for microbial metabolism (Tremier *et al.*, 2014). Taking this into account, SOL_W>1.5 is supposed to need further hydrolysis by exoenzymes before being consumed by microorganisms.

A second kind of biochemical analysis of the OM is proposed inhere based on total lipids (TL), total proteins (TP) and total carbohydrates (TC) determination. To determinate TL content, a nuclear magnetic resonance (NMR) measurement was performed as described by Picard *et al.* (2014). The analysis was carried out on the dried NSOL fraction, as for the Van Soest fibres method, ground at 1.5 mm. TL measurements were performed with a low field NMR operating at a frequency of 10 MHz using a Bruker spectrometer Minispec MQ 10. About 1.5 g of dried sample was placed in a 30mm-diameter NMR tube with an approximate height of 10 mm. The calibration equation of the NMR apparatus was calculated with four reference tubes filled with different heights of colza oil (CAS 8002139) between 1 and 10 mm. For each sample and for each reference tube, the free induction decay was measured for about 45s using a relaxation delay of 3s and 9 scans accumulation. TL was then calculated on the basis of a simple linear regression (Toussaint *et al.*, 2002). The TP content was calculated from the sample nitrogen content as described by Dintzis *et al.* (1988):

$$TP = (TKN - TAN) * 6.25 \quad \text{Eq. 2}$$

where TKN and TAN are expressed in g N.kgTS⁻¹ and 6.25 is the average ratio of protein N in a typical protein (gN.g pure protein⁻¹). Then, total carbohydrates (TC) content was considered being the residual fraction of VS outwards the sum of TL and TP.

Finally, volatile fatty acids (VFA) (C2 to C5: acetic, propionic, butyric, isobutyric and isovaleric) and glucose, fructose, and sucrose contents were determined from SOL_W by HPLC, as described by Peu *et al.* (2004). This determination was performed in order to identify the fractions of VS being soluble in water to complement the macromolecule analysis.

2.2.5. Microbiological analysis

DNA extraction

Total DNA was extracted from about 200 mg of FW powder previously stored at -80°C, using the Macherey Nagel Genomic DNA for Food kit according to the manufacturer's instructions. The extracted DNA was eluted in 100 µL of sterile water and stored at -20 °C until further analyses. The concentration and purity of the DNA were checked by spectrophotometry (ND-1000, NanoDrop Tech.). DNA quality was analysed on 0.7% agarose gel in tris acetate EDTA (TAE 1X) buffer.

SSU rRNA quantification

The bacterial and fungal communities of each sample were quantified using the real-time qPCR technique targeting the 16S and 18S rRNA genes, respectively. All PCR amplifications were carried out using the iQ SYBR Green Supermix 2X (Bio-Rad) and the CFX thermal cycler (BioRad) according to the supplier's instructions. The PCR reactions ran in a 25 µL final working volume made of 12.5 µL SYBR Green Supermix (2X) (BioRad), 1.5 µL (10 µM) of each primer GE116 (5'-ATGGCTGTCGTCAGCT-3') and GE 117 (5'-ACGGGCGGTGTGTAC-3') for *Bacteria* (Amann *et al.*, 1995; Ferris *et al.*, 1996), or 1.0µL (10µM) of each primer GE122 (5'-TTAGCATGGAATAATRAATAGGA-3') and GE123 (5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3') for *Fungi* (Borneman & Hartin, 2000), 2 µL of previously extracted DNA and completed with sterile water. To check for potential inhibitors of PCR amplification, each measurement was made in triplicate on 10 and 100-fold diluted DNA. The amplification reaction for *Bacteria* was: initial denaturation at 94°C for 10min followed by 45 cycles at 95°C for 30s, 60°C for 50s and 72°C for 30s. For *Fungi* the amplification reaction was an initial denaturation at 95°C for 2min, followed by 40 cycles at 95°C for 30s, 55°C for 30s and 72°C for 30s. Finally, a melting curve analysis was performed to check the specificity of amplification and primer dimer formation. The gene copy numbers were calculated by comparison with DNA standards of known concentration amplified in the same runs.

Bacterial and archaeal community analysis

Bacterial and archaeal diversity analysis was performed by the BIOMIC team of Irstea (Antony, France) on an Ion Torrent™ PGM (Life Technologies, USA) platform as described in detail in Poirier *et al.* (2016). Briefly, the V4-V5 hypervariable 16S rRNA gene regions of each DNA sample were amplified by PCR using the primer pair 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTA-3') and 928R (5'-CCCGYCAATTCMTTTRAGT-3'). PCR products cleaning, quantification and sequencing of the PCR products libraries were performed according to manufacturer's instructions (Agilent & Life Technologies). After sequencing, the PGM software filtered out low quality and polyclonal sequence reads, and quality filtered data were exported as FastQ files.

Sequences (5500 to 45000 reads per sample) were analyzed using the Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME) software (Caporaso *et al.*, 2010) and USEARCH v5.2.136 (Edgar, 2013). Sequences with quality score < 20, chimeric sequences and singletons were removed. Clustering into Operational Taxonomic Units (OTUs) was done for sequences sharing more than 97% similarity. Taxonomic identification of the OTUs was done using the longest sequence of each OUT, a minimum length of 150 bp and a minimum percent identity of 75.0 with the Ribosomal Database Project database (Maidak *et al.*, 2001). OTUs whose number of reads was lower than 1% of the total number of reads in all samples were considered as subdominant OTUs.

Alpha diversity (diversity within one sample) was used to describe the microbial richness, diversity and evenness with Goods coverage, Shannon, Simpson and evenness indexes.

Fungal community analysis

Fungal diversity was studied by classical cloning and sequencing. A 18S rRNA gene fragment of 422 bp was amplified from DNA extracts using primers GE 122 (5'TTAGCATGGAATAATRAATAGGA 3') and GE 123 (5'TCTGGACCTGGTGAGTTTCC 3') (Borneman & Hartin, 2000). PCR amplifications were carried out using the T100 thermal cycler (Biorad) and reactions ran in a 20µL final volume made of 2.0µL of *Taq* polymerase buffer (10X) (Sigma Aldrich, France), 1.6µL of dNTP mix (10mM each), 0.8µL of each primers (10µM), 0.8 µL of MgCl₂ (50mM), 0.4µL of *Taq* polymerase (5U/µL), 2µL of extracted DNA diluted 10 fold completed with sterile water. PCR products were purified using the kit Wizard SV Gel and PCR Clean up system (Promega) according to the manufacturer instructions. Then the purified PCR products were cloned using the pGEM-T easy vector system II (Promega) according to the manufacturer instructions. The last step was modified to increase the number of clones, with a 10min centrifugation at 10 000g before plating the cells suspension on LB/Amp/IPTG/XGal plates. For each samples, 15 to 36 clones were randomly selected for sequencing at the Genomics platform of Nantes (Biogenouest Genomics). The sequences were compared against the NCBI database for identification using the Blast software (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

2.3. Statistical analysis and FW characteristics relationships

The statistical analyses were performed using Statgraphics Centurion XVI[®] software. All data were characterized with a mean (\bar{x}) and a standard deviation (σ). A comparison between this study's results and the average data of FW characteristics compiled from the literature (Fisgativa *et al.*, 2016) was performed observing the overlapping of the boxplots from each characteristic. Moreover, the matrix of correlation of Pearson was used to study the relations between the physicochemical and the biochemical characteristics on one hand, and the typological sorting of FW and the biodegradability characteristics of FW on the other hand.

3. Results and Discussion

3.1. Characterization of the FW

3.1.1. Typological composition

The results of the typological composition are shown in Figure 12. High variations of the composition were assessed among the samples of a same source of waste. The typological composition of FW from VEG seem to be the most variable: the vegetables content varies between 40%WW and 63%WW and the fruits content between 0.5%WW and 26%WW. Despite this high intrinsic variability, significant differences were noticed among the three different sources of waste, especially concerning paper and vegetables contents. These variations show that the typological composition is impacted by the menu, the food preparation methods and the sorting instructions. As an example, concerning the paper content, these results highlight the impact of sorting instructions on FW composition: VEG guests are invited to sort the napkins separately from the organic waste, while RIA users are not.

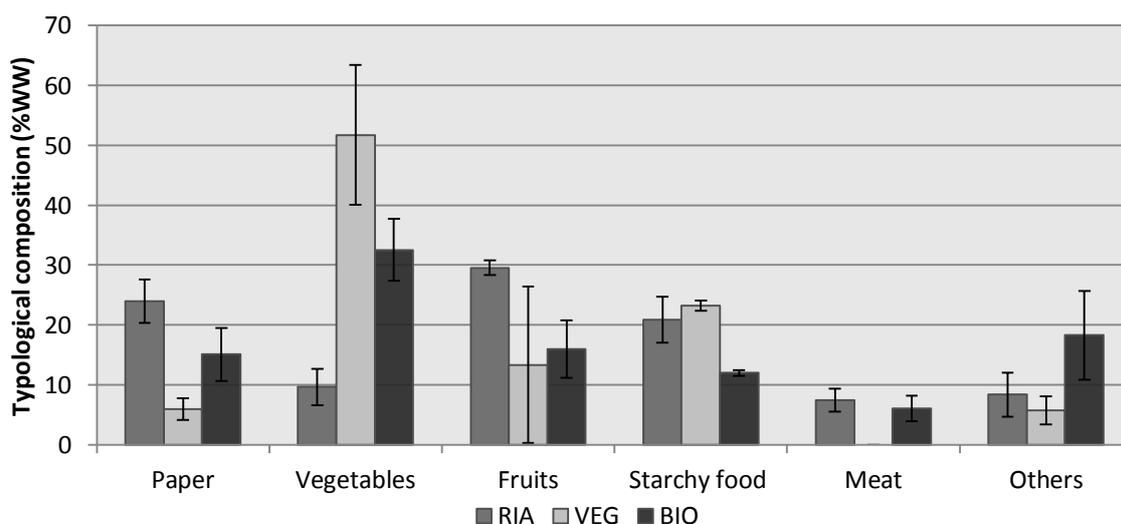


Figure 12. Food waste typological composition from the three sources: collective catering (RIA), vegetarian restaurant (VEG) and biowaste from a municipality (BIO)

The typological composition of FW from this study was compared with the results of the Valorgas and the WRAP project. The Valorgas project (Heaven *et al.*, 2013) studied the major regional differences in typological composition of source separated organic waste from 4 European countries (United Kingdom, Finland, Portugal and Italy). The WRAP project (Ventour, 2008) studied FW disposed via separate containers from 11 municipalities in United Kingdom. It can be seen that the composition of BIO is the most similar to the one of other European projects studying FW typological

composition (Table 10). The values of vegetables and fruits contents from BIO are equivalent to the ones found in the WRAP project. The paper, meat and others contents are very closed to results of the Valorgas project. The starchy food content measured in the present study is an average of the starchy food content for the two other studies. Taking into account the similarity of the BIO composition with data from these two projects, it can be assumed that household FW selectively collected has a similar average typological composition all over European countries. Nevertheless, the typological composition of household FW varies from the one of restaurant FW which also depends from the type of menu.

Table 10. Comparison of the typological composition of samples from this study (RIA, VEG and BIO) against the data of the Valorgas (average from UK, Finland, Portugal and Italy) and WRAP (UK) projects

Typological composition	RIA (%WW)	VEG (%WW)	BIO (%WW)	Valorgas (%WW) (Heaven <i>et al.</i> , 2013)	WRAP (%WW) (Ventour, 2008)
Paper	24.0	6.0	15.1	6 - 18	-
Vegetables	9.7	51.7	32.5	58.4	30.2
Fruits	29.6	13.4	16.0		16.4
Starchy food	20.9	23.2	12.0	8.3	15.9
Meat	7.5	0.0	6.1	6.1	8.4
Others ¹	8.4	5.7	18.3	18.4	21.1

¹others category includes: dairy products, sauces, bones, seafood shells and eggshells (numerical values are shown in appendix 1)

Considering an objective of FW valorisation through anaerobic digestion, the variations in the typological composition may impact biogas production process because of differentiate biodegradability for the different typological categories. The coefficients of variation (Table 11) for the mean TS (26%) and VS (28%) assess important differences among the three sources. As shown in Figure 13, each typological category contributes differently to the global VS. In RIA, the higher contribution to the total VS of FW is paper, where 34% of the total VS is explained by the paper content, followed by starchy food with 29% of the VS. The high contribution of paper in VS might cause a longer lag-phase time in AD kinetics, induced by the need of solubilisation of the complex organic matter present in paper (mainly CEL and HEM) (Diaz *et al.*, 2011). Meanwhile, VS from VEG is constituted mainly by vegetables (34% of the total VS) and starchy food (33%). These fractions may be more easily assimilated by the AD microorganisms than paper, but a higher risk of acidification might be promoted (Scano *et al.*, 2014). The contribution of each fraction into the VS of BIO is more balanced but with dominant contributions of vegetables (23% of the VS), starchy food (22%) and “others” (19%). The “others” category in BIO was mainly composed by bones and shells (10% of the total VS). As referred to Heaven *et al.* (2013), bones and shells are not broken down during the digestion process and their exclusion is advised in order to avoid damages to the treatment

equipment. To understand clearly the influence of the FW typology on AD, correlations with other characteristics and with the anaerobic biodegradability will be studied in the section 3.2.

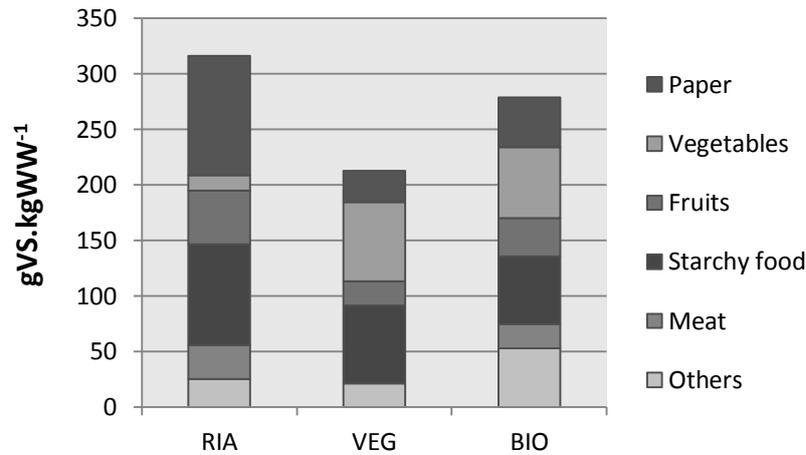


Figure 13. Fractionation of VS by the typological composition (numerical values are in Appendix 1)

3.1.2. Physicochemical characteristics compared to literature values

A large physicochemical characterisation was performed on the collected FW (Table 11). The data were compared with the average values from FW characteristics calculated by Fisgativa *et al.* (2016), which were compiled from 70 papers studying 102 different FW.

Significant differences between the average values from the literature and the experimental values were revealed comparing the boxplots (graphics not shown) for each characteristic. It concerns 4 characteristics from BIO (TS, VS, sCOD and TAN), 3 characteristics from RIA (TS, VS and sCOD) and 2 characteristics from VEG (tCOD and C). The difference on TS and VS may be explained by the high paper content in RIA and by the high “others” content in BIO as shown in Figure 13. The high presence of these components seems to impact also the sCOD value of the waste traducing less solubilised OM. In the case of the TAN value, Fisgativa *et al.* (2016) linked the high TAN content with the presence of plants residues in the waste. In the present study, BIO is the only waste containing plants residues (1.1%WW) (Appendix 1) that explains the high TAN content. Finally, the high values of tCOD and C in VEG might be due to a large presence of non-comestible leftovers of vegetables preparation as peels or husks, which are less present in RIA and BIO

Table 11. FW characteristics. Standard deviation in parenthesis

FW Characteristics	Acronym	Literature average (\bar{x} (σ)) (Fisgativa et al., 2016)	RIA (\bar{x} (σ))	VEG (\bar{x} (σ))	BIO (\bar{x} (σ))	CV from three sources (%)
Physicochemical characteristics						
pH	-	5.1 (0.7)	5.2 (0.0)	5.9 (0.9)	4.7 (0.2)	13.3
Free air space (%)	FAS	-	67.9 (5.9)	59.6 (10.5)	44.1 (13.1)	23.5
Density (g.L ⁻¹)	ρ	-	364.4 (63.0)	505.0 (18.3)	506.9 (37.0)	17.5
Total solids (gTS.kgWW ⁻¹)	TS	191.0 (68.0) ^a	310.1 (23.2)	200.9 (10.7)	337.4 (5.3)	23.2
Volatile solids based on WW (gVS.kgWW ⁻¹)	VS	208.5 (54.5) ^a	291.3 (15.7)	168.8 (10.0)	288.7 (7.7)	25.3
Volatile solids based on TS (gVS.kgTS ⁻¹)	VSTS	916.0 (41.0) ^a	940.1 (19.5)	842.5 (94.7)	856.0 (36.3)	7.5
Total chemical oxygen demand (gO ₂ .kgVS ⁻¹)	tCOD	1010 (452.5)	1438 (72.1)	1796 (7.1)	1169 (37.1)	19.3
Soluble chemical oxygen demand (gO ₂ .kgVS ⁻¹)	sCOD	505.0 (157.0)	301.2 (0.9)	507.6 (65.4)	199.9 (42.2)	43.0
Total Kjeldahl nitrogen (gN.kgVS ⁻¹)	TNK	18.1 (14.6)	21.1 (0.6)	20.9 (5.2)	26.9 (3.0)	17.5
Total ammonia nitrogen (gN.kgVS ⁻¹)	TAN	0.4 (0.5) ^a	0.3 (0.1)	0.8 (0.2)	1.4 (0.2)	65.2
Volatile fatty acids (g.kgVS ⁻¹)	VFA	-	n.d.	n.d.	2.5 (1.0)	n.d.
Simple sugars ^b (g.kgVS ⁻¹)	-	-	328.7 (98.1)	397.3 (28.3)	61.8 (21.9)	553.6
Anaerobic biodegradation characteristics						
Biogas production (NL.kgVS ⁻¹)	-	-	763.8 (58.0)	858.3 (38.6)	653.1 (39.6)	13.0
Biomethane potential (NLCH ₄ .kgVS ⁻¹)	BMP	460.0 (87.6)	397.4 (31.6)	420.8 (42.0)	371.8 (27.0)	8.7
Methane content (%)	CH ₄ %	-	52.0 (0.2)	49.0 (2.7)	56.9 (0.7)	7.2
Anaerobic biodegradability (%)	BD	-	79.0 (2.3)	66.9 (6.4)	90.8 (3.7)	14.2
Elementary composition						
Carbon (%VS)	C	48.6 (7.1) ^a	52.5 (0.3)	64.1 (0.7)	51.7 (2.0)	11.1
Nitrogen (%VS)	N	3.1 (1.3)	2.3 (0.2)	2.4 (0.5)	3.0 (0.4)	16.4
Oxygen (%VS)	O	39.1 (1.0) ^a	38.9 (1.3)	43.4 (3.6)	38.8 (3.3)	8.2
Hydrogen (%VS)	H	7.9 (3.7)	6.7 (0.4)	7.3 (0.1)	7.5 (0.5)	6.5
Sulphur (%VS)	S	0.4 (0.2)	0.2 (0.1)	0.2 (0.1)	0.2 (0.0)	21.2
Carbon-to-nitrogen	C/N	18.5 (5.9)	22.4 (1.4)	26.4 (5.8)	17.4 (3.1)	67.9
Inorganic carbon (gC.kgVS ⁻¹)	IC	-	11.1 (10.4)	65.1 (57.4)	40.2 (28.9)	97.6
Macronutrients content						
Total Carbohydrates (%VS)	TC	61.1 (23.7)	69.7 (0.8)	68.5 (2.0)	64.3 (0.8)	4.1
Total Proteins (%VS)	TP	21.0 (13.0)	13.0 (0.5)	12.7 (3.4)	15.9 (2.0)	17.2
Total Lipids (%VS)	TL	15.4 (8.0)	17.3 (0.3)	18.8 (1.4)	19.8 (1.2)	7.7

"WW" wet weight; "NL" normal litres (0°C. 1 atm); "-" non-available; "n.d." non-detected; ^a specific average value to restaurant wastes; ^b simple sugars are constituted by sucrose, glucose and fructose

Comparing the values of the three sources of waste studied here, high variations (CV>33%) were assessed for the sCOD, TAN, IC, and simple sugar content. The high variations of sCOD were also noticed by Fisgativa *et al.* (2016) and thus these experimental results confirm that this characteristic is highly variable in FW in general.

The physical characteristics (FAS and density) are not available for FW in the literature data. The present results demonstrated to be influenced by the sources of FW. The FAS of RIA, VEG and BIO is high in comparison with other raw waste as chicken manure which FAS is around 25% (KÜLcÜ, 2015), but more similar to a compost which FAS is around 60% (Berthe, 2007). RIA has the highest value (68%) against VEG (60%) and BIO (44%). The high paper content in RIA may explain this value. On the other hand, storage of BIO before collection might have induced a settlement, which can explain its

low FAS value. In the same way, the density of RIA was lower than the one of the other sources of waste (364 g/L) that can be linked to its high paper content. These variations of the physical characteristics among FW sources are interesting to be known in the view of their valorisation through a dry anaerobic digestion process. Indeed performances of such processes are largely influenced by the hydrolysis step (Myint & Nirmalakhandan, 2009) and the leachate recirculation properties (Andre *et al.*, 2015; Degueurce *et al.*, 2016), which are both linked to the porosity and the density of the substrate.

3.1.3. Biochemical characteristics

Biological processes rely on the biochemical transformations of the OM, but concerning FW, biochemical characteristics were even less studied than physicochemical characteristics. In this study a fractionation of the OM in water soluble (SOL_W) and solid fractions was operated. Using the macromolecules weight analysis of SOL_W , two water soluble fractions were proposed, as stated in section 2.2.4.: $SOL_W < 1.5\text{kDa}$ that is considered as directly available to microorganisms for biodegradation; $SOL_W > 1.5\text{kDa}$ that is supplied by the hydrolysis of non-water soluble fractions and has still to be hydrolysed to be used by microorganisms. Clear differences were observed between the three sources of waste. As shown in Figure 14, in BIO, almost 30% of the total VS were already solubilised against only 18% in VEG and 10% in RIA. Furthermore, the proportion of high molecular weight water soluble molecules ($SOL_W > 1.5\text{ kDa}$) in BIO is the highest (17.9%VS) compared to RIA (2.3%VS) and VEG (1.6 %VS). This latter difference may be linked to a beginning of biodegradation starting during the storage of BIO before its collection. The differences on total SOL_W contents may be explained by the differences on the simple sugar content which is the lowest for BIO (61.8 g.kgVS⁻¹) in comparison with RIA (328.7 g.kgVS⁻¹) and VEG (397.3 g.kgVS⁻¹) (Table 11). The high initial sugar content in RIA and VEG might favour the rapid production of VFA and CO₂ during their anaerobic digestion.

Concerning the non-soluble fraction (NSOL), in VEG around 15% of the total VS are composed of lignin (LIG) while it is 5%VS in BIO and 11%VS in RIA (Figure 14). These differences in the proportion of LIG among the three sources of waste might have been caused by the varying proportion of meal preparation leftovers containing mainly vegetables and fruits peels. A high content of LIG may reduce the biodegradability potential of waste as stated by Buffiere *et al.* (2008) and Triolo *et al.* (2011).

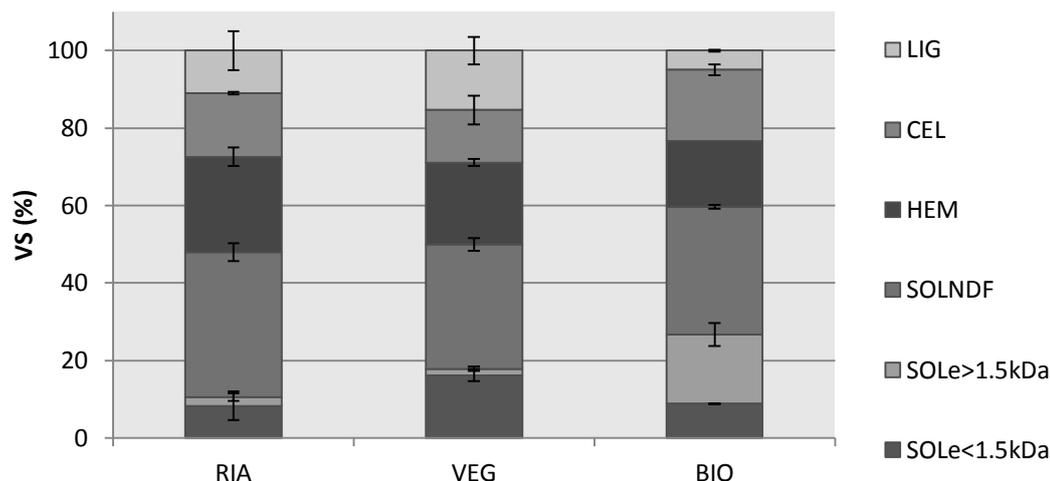


Figure 14. Biochemical characteristics of the FW (RIA, VEG and BIO)

Finally, the content in total carbohydrates (TC), total lipids (TL) and total proteins (TP) of the three FW studied did not show any significant difference with the average from literature. According to Heaven et al. (2013), a rapid method to identify the protein content of a FW is to use its meat content. With an average content of 26% of protein in meat (USDA Nutrient Database No. 10061), it can be found a theoretical protein content of 2.7%VS in RIA and 1.8%VS in BIO. These values only explain a part of the proteins content in RIA and BIO as calculated with the N content: 13.0%VS and 15.9%VS respectively (Table 11). Moreover, the protein content in VEG (12.7%VS) cannot be explained by its meat content (0%WW). Proportions of other high protein food fractions as cheese (mozzarella, 18%), eggs (13%), beans (mature soybeans, 36%) or nuts and seeds (as pumpkin or watermelon seeds, 33%) (USDA Nutrient Database), may explain the protein values on the waste. This protein content is important to be known for further AD treatment because it is closely linked to the potential of the waste to be biodegraded in biomethane.

3.1.4. Biological characteristics

Bacterial and fungal concentrations

The microbial content of each FW was estimated by rRNA gene amplification using real time qPCR. It averages 2.7×10^9 , 6.8×10^9 and 1.54×10^{10} copies.g WW⁻¹ for *Bacteria* in RIA, VEG and BIO respectively and about 1.0×10^8 , 8.2×10^7 and 3.1×10^8 copies.g WW⁻¹ for *Fungi*. No amplification was obtained for the *Archaea* (data not shown). The concentrations variability between both sampling times was low, below a factor of 2 for the RIA and BIO samples and about a factor of 5 for VEG. Calculation of the concentrations per gram of VS or TS did not change significantly the numbers.

The FW contains thus a high number of *Bacteria* and *Fungi* that can be compared to data from other ecosystems like compost (about 1×10^9 bacterial and 1×10^7 fungal rRNA gene copies.gVS⁻¹ (Zeng *et al.*, 2012)) or soil (between $1-5 \times 10^{11}$ bacterial and about 1×10^8 fungal rRNA gene copies.gTS⁻¹ (Siles & Margesin, 2016)). The slightly higher number of *Bacteria* in the BIO samples may result from microbial growth linked to partial FW biodegradation during storage.

Bacterial community structure

The 16S rRNA-targeted Next-generation sequencing (NGS) technology was used to determine the bacterial and archaeal communities' structure and identify the main species present in fresh FW. Table 12 shows the number of raw and quality checked sequences for the six FW samples after data analysis using the QIIME software package. The number of treated sequences ranged between 2 171 for RIA2 and 25 158 for VEG2 clustering within 54 to 129 OTUs on a basis of 97% similarity within an OTU. Despite the different number of sequences between samples, the rarefaction data analysis showed a very good coverage above 98% for all sequence libraries but with RIA2, VEG1 and VEG2 having very low evenness and diversity indexes. This suggests the dominance of some OTUs, which will be confirmed later on during identification (Figure 15 and Figure 16). The higher richness and diversity indexes of BIO samples could be related again with the FW biodegradation and bacterial growth proposed above.

Table 12. Number of sequences and diversity indexes of the NGS dataset for each FW

FW	RIA1	RIA2	VEG1	VEG2	BIO1	BIO2
Number of raw sequences	26451	5580	14437	46124	32035	29035
Number of sequences after treatment ¹	7240	2171	4002	25158	7029	6905
Number of OTUs (richness)	54	78	76	64	107	129
Diversity coverage (%)	99.1	98.8	98.8	98.5	98.3	98.1
Evenness	0.60	0.33	0.42	0.29	0.67	0.72
Simpson	0.85	0.45	0.57	0.41	0.91	0.95
Shannon-Weaver	3.45	2.07	2.65	1.75	4.50	5.08

¹ sequences treatment was a quality filtering followed by chimera and singletons removal

The relative abundance of the OTUs in the raw sequences dataset is presented on Figure 15a. It suggests that the dominant bacterial phyla are the *Firmicutes*, the *Cyanobacteria* and the *Proteobacteria*. None of the retrieved sequences belonged to the archaeal domain, which is in agreement with their non-detection by qPCR. However, further analysis of the sequences showed that the OTUs identified as *Cyanobacteria* were actually rDNA sequences from plant and vegetable chloroplasts belonging to the *Streptophyta* group. These sequences, which represent 80%, 71% and

94% of the RIA2, VEG1 and VEG2 sequence libraries, certainly masked the subdominant bacterial species. Similar results were published by David *et al.* (2014) when analysing the bacterial content of human diet menus. A comparison between the chloroplast sequences relative abundance and the FW typological composition did not show any evident correlation (data not shown), suggesting that the observed variations are linked to heterogeneous sampling despite freezing, grounding and milling of the FW (see section 2.2.5.). Accordingly, a few OTUs from the α -*Proteobacteria* were identified as mitochondrial rDNA related to the *Rickettsiales* and coming from vegetables, rice and wheat.

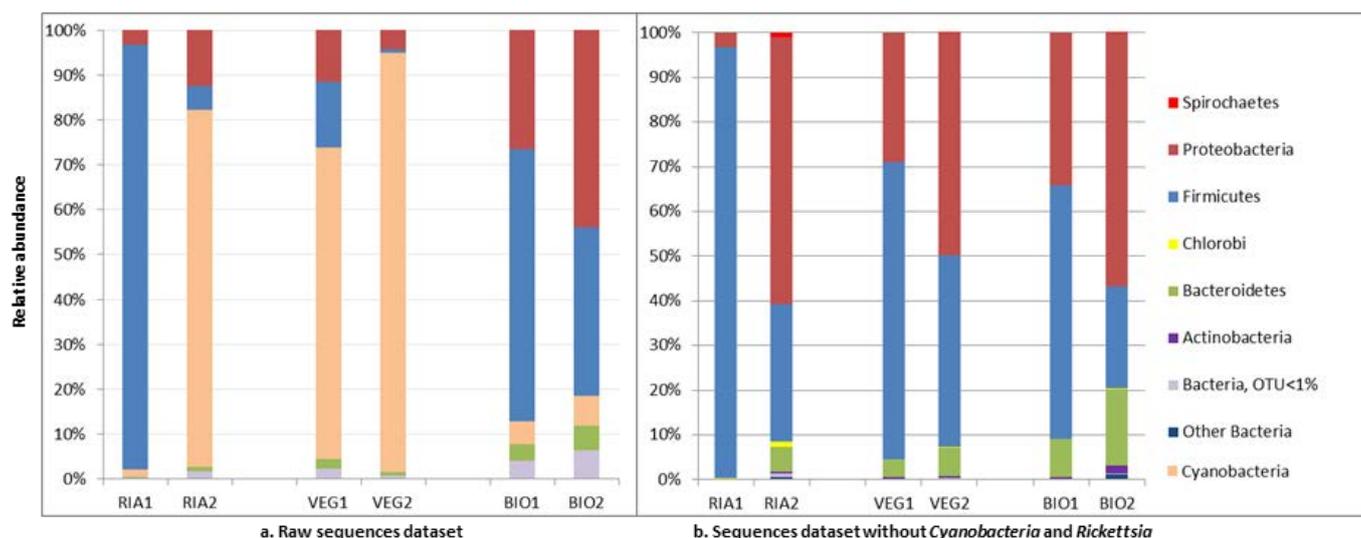


Figure 15. Relative abundance of the bacterial phyla found in the RIA, VEG and BIO FW. OTUs whose number of reads is lower than 1% of the total number of reads in all FW samples have been grouped in the Bacteria OTU<1% class.

Once both chloroplast and mitochondrial rDNA were removed from the analysis, a higher bacterial diversity became visible (Figure 15b). The major phyla observed were then the *Firmicutes*, the *Proteobacteria* and to a lesser extent the *Bacteroidetes*.

Within the *Firmicutes*, the most detected OTUs belonged to the lactic acid bacteria *Lactobacillus* and *Leuconostoc*, and to a lesser extent *Streptococcus* and *Lactococcus* (Figure 16). All these genera are facultative anaerobes that ferment sugars to produce primarily lactic acid (Makarova *et al.*, 2006; Zhang & Cheryan, 1991). They grow at pH between 4.5 and 6.4. They are extensively used in food and dairy industry but can also be found naturally on plants, fruits, wastewater and more. Some are also involved in aliment spoilage. It is thus not surprising to find them in FW where they may come from raw food and start to degrade organic matter and acidify the waste. However, a systematic correlation between the relative abundance of these lactic acid bacteria and the FW typological composition could not be found. For instance, the lactic acid bacteria made up to 90%, 53% and 64% of the sequences of the RIA1, VEG1 and BIO1 libraries respectively (Figure 16) while dairy products were identified as 10, 2 and 0% of the typological composition of the corresponding FW.

The *Proteobacteria* represented only 3% of the RIA1 sequence library and between 27% and 56% of the other libraries. It is probable that their prevalence in RIA1 was masked by the high abundance of lactic acid bacteria in this FW. Nevertheless, the observed *Proteobacteria* were dominated by members of the Gamma subclass and particularly the Families of *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Xanthomonadaceae* and *Moraxellaceae*. All these groups can degrade a large variety of organic molecules up to mineralisation in aerobic conditions. They are widespread in water, plants, soil and waste treatment plants and are known for causing food spoilage. The *Enterobacteriaceae* differ from the others since they can ferment sugars in anaerobic conditions to produce lactic acid and various other end products (acetate, succinate, formiate, ethanol, butanediol, H₂ and CO₂) (Lim *et al.*, 2013).

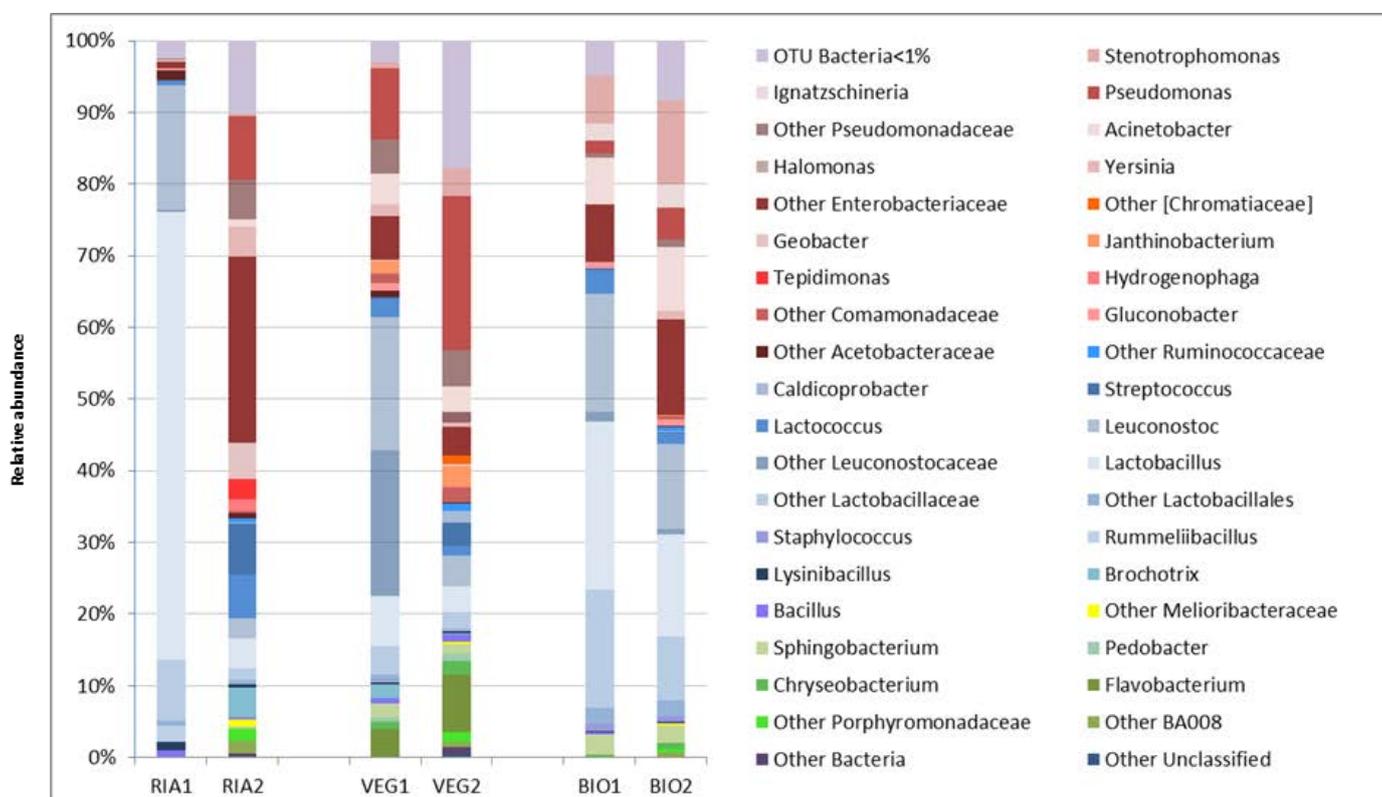


Figure 16. Relative abundance of the bacterial genera found in the RIA, VEG and BIO FW. Dominant colours were kept comparable with Figure 15 (red for Proteobacteria, blue for Firmicutes and green for Bacteroidetes). OTUs whose number of reads is lower than 1% of the total number of reads in all FW samples have been grouped in the Bacteria OTU<1% class.

Finally, the *Bacteroidetes* were present in all FW at relative abundances of 0.1%, 6%, 4%, 6%, 8% and 17% for RIA1, RIA2, VEG1, VEG2, BIO1 and BIO2 respectively. The sequences were distributed in several genera and lot of OTUs contained less than 1% of the total sequences, especially in BIOs FW.

For the VEGs FW, most of the sequences belonged to the *Flavobacteriaceae* family that is made of environmental bacteria of various respiratory and degradative metabolisms.

To conclude, the characterisation of FW bacterial community is a challenge because of the biases generated by the amplification of non-microbial DNA coming from plant chloroplasts or mitochondria and by the presence in FW of food material coming with high endogenic concentrations of bacteria (dairy products essentially). These artefacts certainly impacted the relative abundance of the data presented here. Nevertheless, the microbial groups detected show a high potential for FW aerobic and anaerobic degradation with the presence of *Proteobacteria* and *Firmicutes* species, possibly resulting in high levels of solubilisation in aerobic conditions, and the acidification of the waste with the production of VFA, ethanol and other alcohols in anaerobic conditions (Lim *et al.* (2013))

Fungal community structure

The *Fungi* represent a group of utmost importance in the field of aerobic FW biodegradation since they can degrade complex organic matter to produce simple organic and inorganic molecules. Several are plant decomposers and/or food spoilers. Others like yeasts and *Penicillium* species are used in agrofood industry. A lot of species produce extracellular enzymes.

The presence of *Fungi* in FW was determined by PCR amplification targeting the 18S rRNA fungal genes followed by classical cloning and sequencing as described in section 2.2.5. Between 17 and 36 sequences were obtained for each FW DNA except BIO2 that could not be amplified and cloned properly for unknown reasons. A total of 130 sequences was analysed to produce the relative abundances presented in Table 13. Most of the sequences belonged to the *Ascomycota* with relative abundances of 90%, 87%, 88% and 86% for respectively RIA1, RIA2, VEG2 and BIO1. Only the VEG1 FW library was dominated by sequences from the *Basidiomycota* that represented 82% of the sequences. However, this strong difference between VEG1 and the other FW is linked to the very high abundance (79% of the library) of sequences from the *Basidiomycota* *Agaricus bisporus* that is the common table mushroom also named button mushroom, white mushroom or champignon de Paris. This mushroom certainly came with the food. Once corrected from this overabundance of *Agaricus bisporus*, the dominant *Fungi* present in all FW are the *Ascomycota* from the filamentous genus *Penicillium* and from the yeast order *Saccharomycetales*.

The sequences from the three *Penicillium* species represent 50%, 22% and 12% of the RIA1, RIA2 and VEG1 FW libraries. *Penicillium* are aerobic fast growing filamentous fungi ubiquitous in soil and commonly present wherever organic material is available. They are saprophytic and produce several metabolites (Kirk *et al.*, 2008). Many species are used for cheese ripening. This could explain their prevalence within these three FW since visible cheese products had been observed during the characterization of their typological composition.

The *Saccharomycetales* yeasts were represented by the genera *Kazachstania*, *Debaryomyces* and *Geotrichum*. All these groups are widely spread in environment where they mineralise numerous organic compounds (plants, vegetables, food, etc) in aerobic conditions and ferment carbohydrates in anaerobic conditions. *Kazachstania* species dominated the RIA2 (48%), VEG2 (47%) and BIO1 (22%) libraries. These species ferment glucose and galactose and assimilate few carbon and nitrogen compounds. *Geotrichum candidum* represented 15% and 24% of the RIA1 and VEG2 libraries respectively. This yeast is a plant pathogen that is also used in cheese manufacture (Domsch *et al.*, 1980). Its growth can be supported by several carbohydrates, ethanol and glycerol. It has strong lipase and protease activities and release fatty acids and peptides. It grows at pH of 5.0 to 6.7 and catabolizes lactic acid and can thus limit the acidification provoked by acid lactic bacteria (Boutrou & Gueguen, 2005).

Finally, *Debaryomyces hansenii* was found at 20% in RIA1 library. This yeast ferments lactose and metabolizes lactic acid limiting thus the acidification produced by lactic acid bacteria. It is favoured by hyper-saline environments (up to 25% NaCl) and can survive a pH range between 3 and 10. It is used in cheese and sausage productions (Breuer & Harms, 2006).

Finally other less abundant OTUs were identified as fermentative yeasts species from the *Ascomycota* (*Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces*, and *Kluyveromyces* genera), the *Basidiomycota* (*Cryptococcus* yeast species) and the fungus like *Tricholoma saponaceum* and the *Zygomycota* (*Mucor* sp.). A majority of these genera were present in the BIO1 FW which showed a higher species richness than the other FW. These *Fungi* are all widespread in the environment, especially in places rich in carbohydrate sources. A few sequences could not be identified in RIA2 (4% of sequences) and BIO1 (6%). Others were identified as non-specific amplifications of shrimp or plant DNA that made up to 5% of RIA1 and as much as 12% of VEG2 sequences.

Thus, like for the analysis of the bacterial community, the results obtained for the fungal domain were partly biased by *Fungi* coming from food and by unspecific DNA amplifications. However, the species found are filamentous aerobic *Fungi* and fermentative yeasts that bring proteolytic and lipolytic activities that certainly participate to FW biodegradation in aerobic and anaerobic conditions. One interesting parameter is the ability of some species to degrade lactic acid that may help preventing a strong acidification of the waste during storage in anaerobic conditions.

Table 13. Identification and relative abundance of the Fungi OTUs observed in FW

Taxonomy	Closest relative		Relative abundance (%)						
	Name	ACC	Similarity (%)	RIA1	RIA2	VEG1	VEG2	BIO1	
Fungi; Dikarya; Ascomycota									
	<i>Ascomycota sp.</i>	DIVA1	EU887731	98		3			
<i>Ascomycota</i>	<i>Tetracladium sp./ Articulospora proliferata/ Fontanospora fusiramosa</i>		KM096352	99			6		
<i>Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales</i>	<i>Penicillium sp (chrysogenum, HKF76, Y32)</i>		HM773243	98-100	50	22	12	6	
	<i>Talaromyces purpureogenus/ Aspergillus flavus</i>		KM605187/ HM773227	99		4			
<i>Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>		JX910900	98			6		
	<i>Doratomyces stemonitis/ Scopulariopsis brevicaulis</i>		KM096361	98	5				
	<i>Debaryomyces hansenii</i>		LC041126	99	20			3	
	<i>Kazachstania sp. (jiainicus, naganishii, sinensis, transvaalensis)</i>		KC881057/ HE978314	94-100		48		47	
<i>Saccharomycotina; Saccharomycetes; Saccharomycetales</i>	<i>Geotrichum candidum</i>		KM357929	97-99	15	4		24	
	<i>Candida (solani, litseae, FN7S06)</i>		AF201300/ KF964120	98-99				14	
	<i>Barnettozyma (californica, sucrosica)</i>		EF550414	99				3	
	<i>Pichia (heedii, kluyveri)</i>		EF550390 / EF550389	95-99				19	
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>		KU058154	96-99				11	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		KU350743	98-100		9		6	
	<i>Saccharomycotina sp/ Ogataea parapolyomorpha</i>		AB915874	97-98				3	
				Total (%)	90	87	15	88	86
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Basidiomycota									
	<i>Tricholoma saponaceum</i>		KJ425343	97			3		
<i>Agaricomycotina</i>	<i>Agaricus bisporus</i>		AY787216	97-99		9	79		
	<i>Cryptococcus (albidus, saitoi, liquefaciens)</i>		KU147486/ KF036651/ KF036638	99				3	
				Total (%)	0	9	82	0	3
Fungi incertae sedis; Mucoromycotina									
	<i>Lichteimia (ramosa, corymbifera)</i>		LK023322/ KJ123705	99				3	
<i>Mucorales</i>	<i>Mucor sp (6LC, fuscus)</i>		JN247746	94-97	5		3		
	<i>Rhizopus sp</i>		KM057747	97				3	
				Total (%)	5	0	3	0	6
Eukaryota; non Fungi									
<i>Metazoa</i>	<i>Penaeus (shrimp)</i>		KM486610	99	5				
<i>Plants</i>			KT225383/ KT179694	98-99				12	
Unidentified						4		6	

3.1.5. Food waste anaerobic biodegradability

The biochemical methane potential (BMP) from the three FW was about $400 \text{ NLCH}_4 \cdot \text{kgVS}^{-1}$, with no significant variations within the values from the three sources (CV of 6%) (Table 11), confirming the values from the literature. This means that the global potential to generate methane from VS of FW remains high and stable, regardless of FW origin and composition. Actually, FW, mainly composed of easily degradable organic matter (vegetables, fruits, starchy food and meat) with high COD content (between 1169 and $1796 \text{ gO}_2 \cdot \text{kgVS}^{-1}$) and high water content (between 71% and 83%WW), makes thus a good substrate to AD process. However, despite similar BMP values, the total biogas production (including mainly CH_4 and CO_2) of the three FW was different, showing a higher volume for VEG ($858 \text{ NL} \cdot \text{kgVS}^{-1}$) than for BIO ($653 \text{ NL} \cdot \text{kgVS}^{-1}$). The reason is that VEG biogas showed lower methane content (49% CH_4) compared to BIO (57% CH_4). This probably results from the high sugar content of the initial VS in VEG, causing a rapid consumption and then increasing the CO_2 content of the biogas (Scano *et al.*, 2014).

In addition, the anaerobic biodegradability (BD) of FW was 79% for RIA, 67% for VEG and 91% for BIO. Considering that BIO had the lowest tCOD and sCOD content per kg of VS, it means that this COD is more available for AD than the ones of RIA and VEG. This observation may be linked with previous results suggesting a partial pre-degradation of BIO during storage. The assumption could be formulated of a release of pre-hydrolysed compounds with higher biodegradability during the storage. Such an assumption should be further verified.

3.2. Relationships between FW characteristics

3.2.1. Influence of the FW typological composition on the physicochemical and biological characteristics

As assumed in part 3.1.2., the typological composition of FW might represent an important source of variation of the FW characteristics. However, the way the typological categories influence the FW characteristics variations is not well-known. In this section, relations between the physicochemical characteristics and the typological composition of RIA, VEG and BIO waste were studied. Based on the Pearson matrix (Appendix 2), the pairs of characteristics that show a high probability of correlation were:

- Paper and density (-0.84)
- Vegetables and: (a) density (0.90), (b) VS (-0.95) and (c) SOL_{NDF} (-0.84)

- Fruits and VS (0.93)
- Starchy food and HEM (0.87)

It can be seen that the density was highly impacted by the content of paper and vegetables. Paper is a low weight but bulky component that decreases density, whereas vegetables are heavy components that increase density. According to Fisgativa *et al.* (2016), some variations on the VS value can be explained by the variation of the collection source (difference between FW from restaurant and FW from the organic fraction of municipal solid waste). In this study, the organic matter and the fibres content (VS, SOL_{NDF} and HEM content) also show to be impacted by the typological composition. VS content demonstrates an opposite behaviour against the content of vegetables (negatively linked) and fruits (positively linked). The VS relation with the vegetable content may be linked to lower VS content in vegetables (88%TS) and their higher moisture value (82 %WW) (Appendix 1). However, the vegetable content seems to be inversely proportional to the paper content (correlation coefficient of -0.80) (Figure 12 and Appendix 2), causing possibly a bias in the results in which at low vegetable content, the high content of paper provide more VS and vice versa.

Making a linear regression, these different relations may provide some relations to assess the initial VS based on the fruits and vegetables content as follows:

$$VS = 5.5 * \text{Fruits content} + 772 \quad R^2 = 0.95 \quad \text{Eq. 3}$$

$$VS = -2.8 * \text{Vegetables content} + 967 \quad R^2 = 0.76 \quad \text{Eq. 4}$$

in which, fruit and vegetable contents are presented in %WW of the total FW and VS in gVS.kgTS⁻¹. It can be seen that the relation based on fruits content demonstrates a better correlation coefficient ($R^2=0.95$), making fruits content a better indicator of VS against vegetables. This relation might be considered in the case of FW with a typological composition into the range of variations of this study. Though, the type of fruits considered may induce bias on the relation that is not evidenced with the actual data set.

Variations of HEM content seem to be explained by the starchy food. Bread wheat and others cereals as Durum wheat, Rye and Hull-less barley, possibly present in the starchy food fraction, show a high HEM content (between 16 and 42 %VS) (Žilić *et al.*, 2011), confirming these results. Thus, starchy food content might be considered as a good first indicator of the HEM content in FW.

These results highlight the influence of the typological composition on the physical structure of FW and in the quality of the organic matter of the waste. The design of AD processes might depend upon typological composition, impacting by example, the size of the reactors, the OLR capacity or

settlement problems. In that case, knowledge of the typological composition of the FW may be important to balance the fractions that might impact the process. However, it was expected that the FW biodegradability show some variations based on the typological composition but no direct relationship was demonstrated between the typological composition and the anaerobic biodegradability with the actual data set.

3.2.2. Microbiological characteristics relations with the other FW characteristics

The bacterial and fungal concentrations, studied in the section 3.1.4., reveal some relations with physicochemical characteristics as follows:

- Bacteria and: (a) $SOL_{w>1.5kDa}$ (0.86) and (b) TC (-0.83)
- Fungi and: (a) FAS (-0.90), (b) TAN (0.86) and (c) $SOL_{w>1.5kDa}$ (0.95)

It can be seen that the $SOL_{w>1.5kDa}$ content is highly related with the microorganisms content. Two complementary assumptions can be explored to explain these relations: (1), high microorganisms content help to hydrolyse the non-soluble OM to increase the $SOL_{w>1.5kDa}$ content in the waste, and/or (2) High $SOL_{w>1.5kDa}$ availability promotes a better development of the bacteria and the fungi. As commented in section 3.1.4, a lot of species of fungi present in the waste are able to degrade proteins and lipids present in the NSOL fraction, which reinforce the first assumption. The positive relation of TAN with fungi also supports this hypothesis showing that the more NSOL organic matter is hydrolysed, the more nitrogen content is mineralised. The negative relation of fungi with FAS also reinforces the assumption that fungi promote degradation of structural carbohydrates within the waste leading to lower porosity. In the same time, the increase of $SOL_{w>1.5kDa}$ favoured by NSOL hydrolysis probably promotes carbon use by bacterial species for their growth as stated by the negative relation between bacteria and TC but also between TC and $SOL_{w>1.5kDa}$.

3.2.3. Anaerobic biodegradability relations with the FW characteristics

Taking into account that no relations were assessed between the typological composition and the anaerobic biodegradability, in this section a more in-depth study was performed based on the physicochemical, biochemical and elementary characteristics. Correlations of two anaerobic biodegradation indicators (biogas production and content of CH_4 in the biogas) with the experimental FW characteristics were extracted from the Pearson matrix (Appendix 2) and are sum up in Table 14. It must be noted that other authors studied the relation between the BMP, which is the product of the biogas production and the biogas methane content, and the VS, the tCOD or the organic carbon

(Bayard *et al.*, 2015; Triolo *et al.*, 2011). In this study it was preferred to analyse independently the biogas production, which shows the global anaerobic biodegradability of the waste, and the methane content in the biogas, which traduces the energetic potential of the waste biodegradable matter.

Table 14. High correlation coefficient of FW characteristics against biodegradability characteristics (confidence level >95%)

Biodegradability characteristic	FW characteristic	CC
Biogas	tCOD	0.96*
	pH	0.87
	C	0.81
	Fungi	-0.82
CH ₄ %	tCOD	-0.90*
	TS	0.86
	C/N	-0.89
	SOL _w >1.5	0.88
	TC	-0.82

where; CC - Correlation coefficient; * - confidence level >99%

As demonstrated by other authors (Bayard *et al.*, 2015; Buffiere *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2015), the anaerobic biodegradation potential of FW was highly related to their tCOD with confidence level higher than 99% (Table 14), which supports the reliable use of this parameter to predict FW biodegradation. Making a simple regression it is possible to predict the biogas production with a simple expression:

$$\mathbf{Biogas} = \frac{\mathbf{tCOD}}{\mathbf{3}} + \mathbf{270} \quad \mathbf{R^2} = \mathbf{0,92} \quad \text{Eq.5}$$

where, biogas is expressed in NL.kgVS⁻¹ and tCOD in gO₂.kgVS⁻¹. Thus, tCOD confirms to be a good indicator of the anaerobic biodegradation potential of the FW as the total carbon content (C), which also shows a logical positive relation with tCOD and biogas. The waste with the highest pH values (near to 6) had a better biogas production, showing that a low pH of initial waste may reduce the anaerobic biodegradation potential of FW. In the case of the negative relation of fungi content and biogas production, it is probably largely induced by the BIO characteristics, as fungi were much more detected in this waste that has also the lower tCOD.

Concerning the quality of the biogas, it is interesting to observe that lower C/N ratio and total carbohydrate content (TC) favour the CH₄ content in biogas. It can be explained by a need of nitrogen compounds as proteins to generate appropriate molecules for the methanogenic microorganisms. Usually, a C/N between 20 and 30 is advised for a good degradation (Teglia *et al.*, 2011). In our case, a C/N ratio near to 17, as analysed for BIO, seems to be suitable to a better methane proportion in biogas. This low C/N ratio in FW is also mentioned by Zhang *et al.* (2014), which observed that the

digestion of FW proceeds well at C/N between 15 and 20. According to the Pearson's matrix, high TS, low tCOD and high contents of $SOL_W > 1.5$ seems to favour CH_4 . Actually, in the present study the most moistured waste (VEG) also presented the organic matter (VS) with the highest COD but the lowest protein content. On the other hand, the driest waste (BIO) had the VS with the lowest tCOD but the highest protein content leading to higher methane content in the biogas. Moreover, when proteins or proteins hydrolysis products are concentrated in the water soluble fraction SOL_W there are more available for methane production. It may explain why $SOL_W > 1.5$ kDa is positively correlated to methane content in biogas.

These conclusions should be validated by characterising a larger panel of FW samples which would also permit to state on interactions between the correlated parameters. Nevertheless, these results shows that the chemical oxidability of the organic matter measured with tCOD is not sufficient to assess the methane potential of FW but that the biochemical composition of FW and the physical accessibility of the macronutrients are highly influencing methane content. Samples from BIO meet these conditions and it is possible that storage conditions prior to their collection have favoured the biological accessibility to the methanogenic potential of the substrate.

4. Conclusion

In this study, a large FW characterisation was performed in order to identify the characteristics that might impact the anaerobic biodegradability. This article provides characteristics that were not available in the literature (as biochemical fractionation and fungi and bacteria consortium) and supplies interesting clues to a better understanding of anaerobic biodegradability of FW. The principal conclusions are the following:

- Statistical results confirm the high variability of the characteristics of FW. The typological composition of waste can explain a part of these variations. However, it does not show direct relations with anaerobic biodegradability characteristics.
- Less studied characteristics in the literature, as FAS, density, the soluble organic matter, show to be highly correlated with the biodegradability characteristics. The knowledge of the initial values of tCOD and $SOL_w > 1.5kDa$ seems to be good indicators to the anaerobic biodegradability and the total biogas production.
- The pre-degradation during storage of FW seems to impact several characteristics. Low values of tCOD, VS, macromolecules, simple sugar were assessed as well as high anaerobic biodegradability. These results may induce that an exposition of FW to air prior to anaerobic digestion may enhance the biodegradability of FW. Such an assumption will be interesting to further study.

Acknowledgements

This study was managed within a PhD work. Thanks are due to Region Bretagne which gives its financial support to the PhD grant. We also thank the Genomics platform of Nantes (Biogenouest Genomics) for its technical support.

Appendix 1

Detailed composition of FW by category

Typological composition	% WW			TS (% WW)			VS (% TS)		
	<i>RIA</i>	<i>VEG</i>	<i>BIO</i>	<i>RIA</i>	<i>VEG</i>	<i>BIO</i>	<i>RIA</i>	<i>VEG</i>	<i>BIO</i>
Paper	24.0	6.0	15.1	47.6	54.7	31.2	94.9	87.0	91.0
Vegetables	9.7	51.7	32.5	15.4	15.6	22.9	92.0	86.6	82.1
Fruits	29.6	13.4	16.0	17.8	20.0	24.9	92.5	92.0	86.7
Starchy Food	20.9	23.2	12.0	43.6	33.6	54.1	97.6	90.2	93.1
Meat	7.5	0.0	6.1	43.6	-	38.1	95.7	-	88.9
Others:									
Dairy products	4.5	1.2	0.0	54.5	27.8	-	95.8	92.6	-
Sauces	0.5	4.0	0.0	16.6	16.8	-	96.4	90.5	-
Bones and shells	0.4	0.2	10.3	66.7	75.8	61.5	74.4	27.0	62.7
Coffee – tea residues	1.2	0.3	3.3	34.5	29.1	35.1	98.2	97.1	86.6
Plant residues	0.0	0.0	1.1	-	-	30.4	-	-	95.7
Biodegradables bags	0.0	0.0	2.6	-	-	34.5	-	-	92.8

References

- Amann, R.L., Ludwig, W., Schleifer, K.H., 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59, 143-169.
- Andre, L., Durante, M., Paus, A., Lespinard, O., Ribeiro, T., Lamy, E., 2015. Quantifying physical structure changes and non-uniform water flow in cattle manure during dry anaerobic digestion process at lab scale: Implication for biogas production. *Bioresour. Technol.* 192, 660-669.
- APHA, 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Bayard, R., Gonzalez-Ramirez, L., Guendouz, J., Benbelkacem, H., Buffière, P., Gourdon, R., 2015. Statistical Analysis to Correlate Bio-physical and Chemical Characteristics of Organic Wastes and Digestates to Their Anaerobic Biodegradability. *Waste and Biomass Valorization* 6, 759-769.
- Berthe, L., 2007. Etude et compréhension des processus de biodégradation: Estimation de la biodégradabilité de matrices organiques solides. Université de Provence Aix - Marseille I.
- Borneman, J., Hartin, R.J., 2000. PCR Primers That Amplify Fungal rRNA Genes from Environmental Samples. *Appl. Environ. Microb.* 66, 4356-4360.
- Boutrou, R., Gueguen, M., 2005. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. *International journal of food microbiology* 102, 1-20.
- Breuer, U., Harms, H., 2006. *Debaryomyces hansenii*--an extremophilic yeast with biotechnological potential. *Yeast* 23, 415-437.
- Buffiere, P., Frederic, S., Marty, B., Delgenes, J.P., 2008. A comprehensive method for organic matter characterization in solid wastes in view of assessing their anaerobic biodegradability. *Water Sci. Technol.* 58, 1783-1788.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Pena, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunencko, T., Zaneveld, J., Knight, R., 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods* 7, 335-336.
- David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., Ling, A.V., Devlin, A.S., Varma, Y., Fischbach, M.A., Biddinger, S.B., Dutton, R.J., Turnbaugh, P.J., 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 505, 559-563.
- Degueurce, A., Tremier, A., Peu, P., 2016. Dynamic effect of leachate recirculation on batch mode solid state anaerobic digestion: Influence of recirculated volume, leachate to substrate ratio and recirculation periodicity. *Bioresour. Technol.* 216, 553-561.
- Deublein, D., Steinhauser, A., 2011. Biogas from waste and renewable resources: an introduction. John Wiley & Sons.
- Diaz, I., Donoso-Bravo, A., Fdz-Polanco, M., 2011. Effect of microaerobic conditions on the degradation kinetics of cellulose. *Bioresour. Technol.* 102, 10139-10142.

Dintzis, F.R., Cavins, J.F., Graf, E., Stahly, T., 1988. Nitrogen-to-protein conversion factors in animal feed and fecal samples. *J. Anim. Sci.* 66, 5-11.

Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.-H., 1980. *Compendium of soil fungi* (2nd ed.). Academic Press, London, UK.

Edgar, R.C., 2013. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat. Methods* 10, 996-998.

Esteves, S., Devlin, D., 2010. Food Waste Chemical analysis. Chemical characterisation of food wastes collected from Welsh Local Authorities for supporting decisions related to anaerobic digestion process design and operation. WRAP.

Ferris, M.J., Muyzer, G., Ward, D.M., 1996. Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community. *Appl. Environ. Microb.* 62, 340-346.

Fisgativa, H., Tremier, A., Dabert, P., 2016. Characterizing the variability of food waste quality: A need for efficient valorisation through anaerobic digestion. *Waste Manag.* 50, 264-274.

Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., Meybeck, A., 2011. Global food losses and food waste. FAO.

Heaven, S., Zhang, Y., Arnold, R., Paavola, T., Vaz, F., Cavinato, C., 2013. Compositional analysis of food waste from study sites in geographically distinct regions of Europe. *Valorgas*.

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. Biodeter. Biodegr.* 102, 149-153.

Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A., 2008. *Dictionary of the Fungi*, 10th ed. CABI, Wallingford, UK.

KÜLcÜ, R., 2015. Determination of the relationship between FAS values and energy consumption in the composting process. *Ecol. Eng.* 81, 444-450.

Lim, J.W., Chen, C.L., Ho, I.J., Wang, J.Y., 2013. Study of microbial community and biodegradation efficiency for single- and two-phase anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Bioresour. Technol.* 147, 193-201.

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.

Maidak, B.L., Cole, J.R., Lilburn, T.G., Parker, C.T., Jr., Saxman, P.R., Farris, R.J., Garrity, G.M., Olsen, G.J., Schmidt, T.M., Tiedje, J.M., 2001. The RDP-II (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res.* 29, 173-174.

Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., Pavlov, A., Pavlova, N., Karamychev, V., Polouchine, N., Shakhova, V., Grigoriev, I., Lou, Y., Rohksar, D., Lucas, S., Huang, K., Goodstein, D.M., Hawkins, T., Plengvidhya, V., Welker, D., Hughes, J., Goh, Y., Benson, A., Baldwin, K., Lee, J.H., Díaz-Muñiz, I., Dosti, B., Smeianov, V., Wechter, W., Barabote, R., Lorca, G., Altermann, E., Barrangou, R., Ganesan, B., Xie, Y., Rawsthorne, H., Tamir, D., Parker, C., Breidt, F., Broadbent, J., Hutkins, R., O'Sullivan, D., Steele, J., Unlu, G., Saier, M., Klaenhammer, T., Richardson, P., Kozyavkin,

- S., Weimer, B., Mills, D., 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 15611-15616.
- Mata-Álvarez, J., 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA publishing.
- Myint, M.T., Nirmalakhandan, N., 2009. Enhancing anaerobic hydrolysis of cattle manure in leachbed reactors. *Bioresour. Technol.* 100, 1695-1699.
- Peu, P., Béline, F., Martinez, J., 2004. Volatile fatty acids analysis from pig slurry using high-performance liquid chromatography. *Int. J. Environ. An. Ch.* 84, 1017-1022.
- Peu, P., Picard, S., Diara, A., Girault, R., Beline, F., Bridoux, G., Dabert, P., 2012. Prediction of hydrogen sulphide production during anaerobic digestion of organic substrates. *Bioresour. Technol.* 121, 419-424.
- Picard, S., Beline, F., Girault, R., Bridoux, G., Cambert, C., Davenel, A., 2014. Determination of lipid fraction from organic wastes using Nuclear Magnetic Resonance (NMR): Comparison to the soxhlet method, in: IWA (Ed.), 13th World Congress on Anaerobic Digestion, Santiago de Compostela, Spain.
- Poirier, S., Bize, A., Bureau, C., Bouchez, T., Chapleur, O., 2016. Community shifts within anaerobic digestion microbiota facing phenol inhibition: Towards early warning microbial indicators? *Water Res.* 100, 296-305.
- Scano, E.A., Asquer, C., Pistis, A., Ortu, L., Demontis, V., Cocco, D., 2014. Biogas from anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Experimental results on pilot-scale and preliminary performance evaluation of a full-scale power plant. *Energ. Convers. Manage.* 77, 22-30.
- Sidaine, J.-M., Gass, M., 2013. État de l'art de la collecte séparée et de la gestion de proximité des biodéchets. AWIPLAN, ADEME.
- Siles, J.A., Margesin, R., 2016. Abundance and Diversity of Bacterial, Archaeal, and Fungal Communities Along an Altitudinal Gradient in Alpine Forest Soils: What Are the Driving Factors? *Microbial ecology* 72, 207-220.
- Teglia, C., Tremier, A., Martel, J.L., 2011. Characterization of solid digestates: Part 2, assessment of the quality and suitability for composting of six digested products. *Waste and Biomass Valorization* 2, 113-126.
- Toussaint, C.A., Médale, F., Davenel, A., Fauconneau, B., Haffray, P., Akoka, S., 2002. Determination of the lipid content in fish muscle by a self-calibrated NMR relaxometry method: comparison with classical chemical extraction methods. *J. Sci. Food Agr.* 82, 173-178.
- Tremier, A., Denes, J., Gratteau, L., Menasseri, S., 2014. Characterization of the biochemical composition of solid organic resources to predict their aerobic biodegradation kinetics 5th International Conference on Engineering for Waste and Biomass Valorisation, Rio de Janeiro, Brazil.
- Triolo, J.M., Sommer, S.G., Moller, H.B., Weisbjerg, M.R., Jiang, X.Y., 2011. A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: influence of lignin concentration on methane production potential. *Bioresour. Technol.* 102, 9395-9402.

Vedrenne, F., Beline, F., Dabert, P., Bernet, N., 2008. The effect of incubation conditions on the laboratory measurement of the methane producing capacity of livestock wastes. *Bioresour. Technol.* 99, 146-155.

Ventour, L., 2008. *The food we waste*. WRAP Banbury/Oxon.

WEDODATA, 2015. *Global Carbon Atlas*, 2015/12/07 ed, <http://www.globalcarbonatlas.org>.

Zeng, Y., De Guardia, A., Ziebal, C., De Macedo, F.J., Dabert, P., 2012. Nitrification and microbiological evolution during aerobic treatment of municipal solid wastes. *Bioresour. Technol.* 110, 144-152.

Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., Tan, T., 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 38, 383-392.

Zhang, D.X., Cheryan, M., 1991. Direct fermentation of starch to lactic acid by *Lactobacillus amylovorus*. *Biotechnol. Lett.* 13, 733-738.

Žilić, S., Dodig, D., Milašinović-Šeremešić, M., Kandić, V., Kostadinović, M., Prodanović, S., Savić, Đ., 2011. Small grain cereals compared for dietary fibre and protein contents. *Genetika*+ 43.

Etape 2 : Etude de l'impact du prétraitement
aérobie sur la traitabilité anaérobie des
biodéchets de cuisine

Cette deuxième étape, porte sur une étude expérimentale du prétraitement aérobie. Des essais de dégradation aérobie entre 1 et 4 jours ont été réalisés dans 4 réacteurs simultanément. Différents taux d'oxygène (0%, 5%, 10% et 21 %) ont été testés pour d'observer les variations de la dégradation de la matière organique dans les déchets de cuisine en fonction de la concentration d'oxygène à laquelle ils ont été exposés. Les variations des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et biologiques (hydrolases, population bactérienne et de champignons), entre autres, ont été déterminées pour étudier ces variations et le possible impact sur la biodegradabilité anaérobie résiduelle de déchets pré-traités.

Chapitre 4. Etude de l'impact d'une pré-
aération sur les caractéristiques
biochimiques et biologiques du déchet de
cuisine et sa biodégradabilité anaérobie

Synthèse :

Comme souligné dans le premier chapitre, un prétraitement aérobie peut offrir une solution à l'instabilité constatée pendant la digestion anaérobie des déchets de cuisine. Le deuxième et troisième chapitre ont permis d'identifier les caractéristiques de biodégradabilité anaérobie (BMP, biodégradabilité anaérobie (BD)) et les caractéristiques liées à la biodégradation (p.ex. DCO, sucres simples, proportion de molécules organiques solubles à l'eau) des déchets de cuisine. En effet, les résultats obtenus ont permis de caractériser le déchet et de connaître leur comportement lors de la digestion anaérobie. A ce stade est possible d'observer l'impact de différentes conditions de prétraitement aérobie sur les caractéristiques identifiées comme liées à la dégradation anaérobie.

Pour mener cette étude, des essais de biodégradation de 1 à 4 jours avec l'injection contrôlée d'air ont été réalisés simultanément dans 4 réacteurs de 10 litres. Les déchets ont été utilisés non broyés pour observer l'effet du prétraitement en conditions plus réalistes. De plus, 5% de papier (poids humide) ont été ajoutés afin de conserver les teneurs en papier identifiées précédemment dans des collectes sans tri du papier et pour observer l'impact du prétraitement sur des fractions plus récalcitrantes de la MO.

Différents taux d'oxygène (0%, 5%, 10% et 21 %) ont été testés pour observer les variations induites sur la dégradation de la matière organique et pour étudier l'impact de l'oxygène durant la dégradation. Pour suivre la cinétique de cette dégradation, un réacteur a été arrêté chaque jour et la totalité de la matière a été homogénéisée avant analyse. Les caractéristiques physico-chimiques, biochimiques, biologiques (hydrolases, populations bactérienne et fongique) et indicateurs de dégradation (BMP, DCO) ont été déterminés. La production de CO₂, CH₄ et N₂O et la consommation d'O₂ ont été suivies en continu au long de la dégradation.

L'analyse des résultats montre une diminution de la MV et de la MS dans toutes les conditions (aérobies et anaérobies). Aucune production de CH₄ ni de N₂O n'a été observée durant les 4 jours. Les conditions d'oxygénation à 5%O₂ et 10%O₂ mènent à des productions de CO₂ et des consommations d'O₂ plus faibles qu'à 21%, montrant que ces 2 conditions sont limitantes en oxygène pour la dégradation aérobie.

Les tests BMP nous ont quant à eux permis d'étudier l'impact de la dégradation aérobie de la matière sur la biodégradabilité anaérobie. Les résultats montrent que le potentiel de production de méthane par rapport à la matière brute est diminué d'environ 7% dans toutes les conditions de prétraitement après 4 jours de prétraitement dû principalement à la perte de MV. Cependant, la production de méthane par rapport à la matière volatile reste similaire. Cette stabilité du BMP par rapport à la matière volatile pourrait être expliquée par la variation des fractions biochimiques

aboutissant à une plus grande accessibilité à la digestion anaérobie de certaines fractions initialement récalcitrantes. Cela se traduit notamment par une consommation des molécules organiques hydrosolubles facilement biodégradables ($SOL_w < 1.5\text{kDa}$) d'autant plus forte que le taux d'oxygénation est fort. Ainsi plus le taux d'oxygène est élevé dans le gaz injecté, plus de disparition de sucres simples (glucose, fructose, saccharose) a été constatée, passant d'une élimination de 26% de sucres simples dans les conditions anaérobies à 80% dans les conditions de forte oxygénation. Ce résultat explique donc que la diminution de la fraction $SOL_w < 1.5\text{kDa}$ est principalement liée à la disparition de sucres simples. A l'inverse les fractions solubles moins facilement biodégradables ($SOL_w > 1.5\text{kDa}$) tendent à augmenter. Cette solubilisation de la MV particulière avait déjà été remarquée dans le chapitre 3 sur les déchets ménagers ayant suivi une pré-dégradation de quelques jours lors de son stockage. Ces résultats peuvent être liés aux développements de la biomasse bactérienne et des enzymes hydrolytiques eux même impactés par la présence d'oxygène.

En particulier, la détermination de la concentration et des types d'exoenzymes hydrolytiques a donc été réalisée. Une forte augmentation de la production des exoenzymes a été constatée spécialement dans le troisième et quatrième jour de prétraitement à 21% O_2 . Pour les conditions avec 5% et 10% O_2 , des productions inférieures ont été constatées et pour les conditions anaérobies, une diminution constante est observée. Dans le même temps, une diversification des enzymes hydrolytiques a été observée, à l'aide du kit APIZYM. Des enzymes de dégradation des protéines (Phosphatases et Amino-peptidases) et de carbohydrates (β -galactosidases, α -glucosidases et N-acetyl- β -glucosaminidase) ont notamment été fortement retrouvées dans les déchets après prétraitement aérobie à 21% O_2 contrairement aux conditions anaérobies. Cette forte production des exoenzymes, ayant la capacité d'augmenter la dégradation de carbohydrates et protéines, peut expliquer la stabilité du BMP par rapport à la MV et donc peut être utile lors de la digestion anaérobie pour rendre plus disponibles ces fractions.

En ce qui concerne les bactéries, le prétraitement a induit de faibles variations quant à la quantification totale. Le principal impact du prétraitement est observé dans l'évolution de la population bactérienne. Une prédominance de 96% du phylum *Firmicutes*, majoritairement composé par des *Lactobacillus*, dans les conditions de prétraitement sans oxygène a été observée. La forte présence de ce groupe de bactéries peut expliquer la production progressive des AGV dans les échantillons sans oxygénation. Toutefois, une diversification de la population bactérienne a été observée avec l'ajout d'oxygène au bout de 2 jours de prétraitement, principalement dans la condition à 21% O_2 . La prédominance de 57% du phylum *Proteobacteria* est observée pour des conditions d'aération de 21% d' O_2 . Une diminution du phylum *Firmicutes* (40%) et l'apparition du phylum *Bacteroidetes* (3%) a été également observée. La présence des *Proteobacteries* et des

Bacteroidetes peut expliquer la production des exoenzymes dans les déchets prétraités à 21% d'O₂. De plus, la diminution du phylum *Firmicutes* pourrait aussi expliquer la diminution de production des AGV avec le prétraitement. De plus, une augmentation significativement de la quantité de champignons a été observée, avec une différence d'environ un log entre la condition anaérobie et le taux de 21%O₂. Cette augmentation peut aussi expliquer le taux plus élevé des exoenzymes durant le prétraitement aérobie.

Ce chapitre a ainsi permis d'observer que les déchets de cuisine ayant subi un prétraitement aérobie montrent des évolutions dans leur composition physicochimique, biochimique et biologique qui pourraient aider à éviter des forts risques d'acidification. Cependant, une perte de matière volatile a été constatée, spécialement après 3 jours de prétraitement aérobie, qui se traduit par une diminution de BMP par rapport à la matière brute. Un prétraitement aérobie de 2 jours avec un taux d'oxygène de 21% semble être un compromis intéressant pour éviter de fortes inhibitions dues à l'accumulation des acides sans impacter significativement le potentiel de méthanisation.

Ces résultats font l'objet d'un article soumis à Bioresource Technology, présenté ci-après.

Impact of an aerobic pre-treatment on the anaerobic biodegradability of food waste: Effect on biochemical composition and microbial populations

Henry Fisgativa¹, Anne Tremier^{1*}, Amine Saoudi¹, Sophie Le Roux¹, Chrystelle Bureau², Patrick Dabert¹

¹ Irstea, UR OPAALE, 17 avenue de Cucillé, CS 64427, F-35044 Rennes Cedex, France

² Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony Cedex, France

*Corresponding author. E-mail: anne.tremier@irstea.fr Tel.: +33 2 23 48 21 55

Soumis à Bioresource Technology

Abstract

This study analysed the impact of an aerobic pre-treatment on the anaerobic biodegradability of food waste over a period of four days of aeration at different oxygen concentrations (0%, 5%, 10% and 21% of O₂). Results showed that the biological methane potential of the food waste based on volatile solids ($\sim 513 \text{ NLCH}_4 \cdot \text{kgVS}^{-1}$) was unchanged after two days of pre-treatment. A decrease in simple sugars, volatile fatty acids, and in water soluble low molecular weight organic molecules was assessed during the pre-treatment, which could reduce the risk of acidification in subsequent anaerobic digestion. The microbial community analysis shows that first days of pre-treatment stimulate the dominance of lactic acid bacteria that can be counteracted rapidly by aeration of the waste. An increase in exoenzyme activity observed after 21%O₂ aerobic pre-treatment could enhance hydrolysis during anaerobic digestion of the slowly biodegradable molecules contained in food waste.

Keywords: Aerobic pre-treatment; anaerobic digestion; microbial populations; exoenzymes; food waste

1. Introduction

The management and treatment of food waste (FW) is a subject of growing interest worldwide. In Europe, about 89 MT of FW are produced each year, mainly by households and food services (53% and 12% of the total FW respectively) (Monier *et al.*, 2010; Stenmarck *et al.*, 2016). Anaerobic digestion has been shown to be an appropriate technique to treat FW, resulting in the production of an energy-rich biogas and a digestate which can be used as biological fertiliser (Li *et al.*, 2011; Zamanzadeh *et al.*, 2016). However, the stability and efficiency of anaerobic digestion of FW remain problematic. On one hand, the high concentration of simple sugars in FW may inhibit methane production, because of the rapid accumulation of volatile fatty acids (VFA) (Scano *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2012). Inhibition can be total starting from a concentration of VFA of 40-50 gCOD.L⁻¹ (Veeken & Hamelers, 2000). On the other hand, the structural carbohydrates in FW are hydrolysed slowly, with about only 50% of the cellulose degraded after 30 days, as a result of slow degradation kinetics (Deublein & Steinhauser, 2011).

Several studies have been conducted on mechanical, thermal, chemical or enzymatic pre-treatments aimed at overcoming the instabilities associated with the hydrolysis step (Carrere *et al.*, 2016; Kondusamy & Kalamdhad, 2014). Even though some pre-treatments were shown to enhance anaerobic degradation, side effects on the structure of the waste, difficult implementation, and high energy requirements counteracted their positive effects (Carlsson *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2011). Fewer studies have been conducted of the impact of an aerobic biological pre-treatment, maybe because it is sometime considered to be a specific process configuration of AD and not as a pre-treatment in itself (Carlsson *et al.*, 2012), but aerobic pre-treatment could be appropriate because of its low energy requirement. Indeed, providing oxygen can limit the accumulation of VFA, thanks to the oxidation of initially easily biodegradable organic matter (Lim & Wang, 2013) and can also enhance the hydrolysis of slowly biodegradable compounds by promoting the biological excretion of hydrolytic enzymes (Charles *et al.*, 2009; Lim & Wang, 2013; Meng *et al.*, 2016). In the same way, aerobic pre-treatment may promote the growth of a significantly more diverse microbial community. Lim *et al.* (2014) reported a higher proportion of *Firmicutes*, which may be able to metabolise a wider range of substrates, plus the appearance of *Bacteroidetes*, which contain cellulolytic and proteolytic microbial groups, i.e. to enable faster consumption of complex molecules during anaerobic co-digestion of brown water and FW.

Most studies dealing with aerobic pre-treatment were performed in micro aeration conditions during the hydrolysis/acidogenesis stage of a two-phase wet AD process (González-González & Cuadros, 2015; Lim & Wang, 2013; Xu *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2009). However, considering that FW is

mainly produced by small scale producers such as households and food services, and that collection is not easy, there is a need for small size AD systems that could treat FW locally. Such reactors need to produce few leachates and the digestate must be easy to transport and/or to use (Forster-Carneiro *et al.*, 2008). A single stage dry AD process in batch mode could thus be more appropriate for this kind of substrate (Fisgativa *et al.*, 2016).

Only a few examples of aerobic pre-treatment before AD in batch mode can be found in the literature, and these were mainly performed with mechanical sorting of the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). Brummeler and Koster (1990) applied an aerobic pre-treatment in a composting-like configuration (air flow $12.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ for 10 days) with the aim of enhancing dry anaerobic batch digestion of OFMSW. This treatment resulted in lower initial acid formation linked to the degradation of the easily degradable part of the substrate during the pre-treatment. However, the authors reported a loss of 40% of the BMP. In the same way, Charles *et al.* (2009) conducted 5-day pre-aeration in batch reactors of OFMSW pressurized at 25 kPa. These authors found that pre-aeration reduced the excess of easily degradable organic compounds and that two days of pre-treatment were sufficient to avoid over aeration, which consumes substrates that would otherwise be available to produce biogas. In all cases, they observed that the variations in the waste initial biochemical characteristics, caused by an intensive aeration, affected the behaviour of subsequent anaerobic digestion. According to Haug (1993), the extent of organic degradation is minimal at oxygen (O_2) concentrations below 5% and remains similar up to concentrations of about 10%. An air ambient O_2 concentration ($\sim 21\%$) increases organic degradation. Thus, lower O_2 content in the pre-treatment gas flow could reduce the risk of excessive degradation of the VS. No recent studies of this kind of pre-treatment before AD of FW have been performed and a better understanding of how an aerobic pre-treatment with different concentrations of O_2 influences the FW characteristics and their anaerobic biodegradability is needed.

The aim of this study was thus to investigate the impact of an aerobic pre-treatment on FW characteristics in batch mode (10-litre reactors). Variations in the anaerobic biodegradability (BMP tests), physicochemical, biochemical and biological characteristics (enzymes content and microbial populations) of FW were monitored over the course of the 4-day pre-treatment tests performed with a continuous gas flow with different O_2 concentrations.

2. Materials and methods

2.1. Composition and sampling of food waste feedstock

The study used food waste (FW) (kitchen waste and leftovers of the dishes served) produced by a collective catering establishment (RIA Rennes), which produces 17 tons of waste per year, corresponding to nearly 700 customers per day. FW was collected over a period of three days and mixed to obtain a representative sample with the following typological composition: 30% vegetables, 24% fruit, 19% meat, 13% starchy food, 9% bones and shells and 5% paper per wet weight (WW). Raw FW was stored at -20 °C for later use in the experiments to ensure the same freezing conditions. The characteristics of the raw FW (analysed as described in section 2.3 below) are listed in Table 15.

Table 15. Characteristics of the raw food waste.

Parameter	Food waste (FW)
pH	5.3
Total solids (TS, g.kgWW ⁻¹)	295.3±14.7
Volatile solids (VS, g.kgTS ⁻¹)	868.9±20.9
Total chemical oxygen demand (COD, gO ₂ .kgVS ⁻¹)	1714.0±51.4
Total carbon (C, %VS)	56.1±4.0
Total nitrogen (N, %VS)	3.7±0.4
C/N ratio (%)	15.1
Volatile fatty acids (VFA, g.kgVS ⁻¹)	9.8
Ammonium content (NH ₄ ⁺ , g.kgVS ⁻¹)	0.3±0.01
Biomethane potential (BMP, NLCH ₄ .kgVS ⁻¹)	513.4±31.6

where, WW- wet weight

2.2. Experimental pre-treatment set-up

The pre-treatment pilot consisted of four 10-litre respirometric glass cells equipped with a gas flow inlet and outlet. The cells containing 3 kilos (~6 litres) of FW samples were maintained at a temperature of 40 °C using a water bath heated by an automatic thermostat. The temperature of the cell contents was recorded using a Platinum resistance thermometer. The pre-treatment tests were carried out by circulating 50 L.h⁻¹ of gas, as described in Tremier *et al.* (2005) with a recirculation rate of 5 L.min⁻¹ to ensure homogenous conditions. The O₂ content in the gas flow was set at 0%, 5%, 10% and 21% by mixing compressed air with nitrogen (N₂). The concentrations of O₂ were chosen based

on observations made by Haug (1993). Incoming and outgoing O₂, CO₂, N₂O and CH₄ concentrations in the air were measured in each cell at 3-minute intervals using an ABB gas analyser (model URAS26EL3020, ABB). The CO₂:O₂ ratio was the relation between the CO₂ produced and the O₂ consumed in each condition. For each O₂ concentration, four cells were started at the same time and one cell was stopped each day of the 4-day experiment in order to measure variations in the characteristics of the FW during the course of pre-treatment. The contents of each cell were immediately homogenised and frozen at -20 °C.

2.3. Preparation of the samples

One kilogram of each frozen FW (raw FW and FW after the experiments) was mixed with liquid nitrogen and ground to 2 mm using a Robot Coupe R15 Food Processor for physical-chemical and biochemical analyses. About 7 grams of ground FW samples were further ground in liquid nitrogen for 1 min with a ball mill (300 Dangoumill, Prolabo) to obtain a homogeneous powder, which was stored at -80 °C for further molecular microbiological and enzymatic analyses.

2.4. Physical-chemical and biochemical analyses

Total solids (TS) were analysed after drying at 80 °C until constant weight. Volatile solids (VS), chemical oxygen demand (COD) and ammonium (NH₄⁺) were measured using standard methods (APHA, 2012).

Aqueous extraction was performed to separate water soluble (SOL_w) and non-water-soluble (NSOL) organic matter. The NSOL fraction was dried at 80 °C until constant weight and then analysed using the modified Van Soest fibre analysis method, as described by Tremier *et al.* (2014). This method discretised the organic matter (OM) from NSOL into neutral detergent (SOL_{NDF}), hemicellulose-like OM (HEM), cellulose-like OM (CEL) and lignin-like OM (LIG) fractions. The SOL_w VS content was calculated from the difference between VS contents in total FW and NSOL. The composition of macromolecules was determined on the SOL_w OM by a size-exclusion HPLC method as described by Tremier *et al.* (2014). For the purpose of the present study, water soluble OM molecules bigger and smaller than 1.5 kDa (SOL_w>1.5 and SOL_w<1.5 respectively) were distinguished. This distribution is based on the hypothesis that SOL_w<1.5 molecules can diffuse through the cellular membrane and be used for microbial metabolism (Tremier *et al.*, 2014), while SOL_w>1.5 molecules require prior hydrolysis by exoenzymes before being consumed by microorganisms.

In addition, volatile fatty acid contents (VFA) (C2 to C5: acetic, propionic, butyric, isobutyric and isovaleric fatty acids) were determined from the SOL_w fraction by HPLC, as described by Peu *et al.*

(2004). Simple sugars were determined as the sum of glucose, fructose and sucrose contents, at the same time as VFA determination, using an ELSD detector.

2.5. Anaerobic biodegradability tests

To determine the methane yield of raw and treated FW, the biological methane potential (BMP) method described by Vedrenne *et al.* (2008) was used. Measurements were made in triplicate using hermetically closed 572 ml-bottles, containing 40 ml of inoculum and 3-5 grams of ground substrate (ratio 1 gVS inoculum:1gVS FW). The inoculum was obtained from a well-established anaerobic pilot reactor (100 L) acclimated to degrade pig slurry supplemented with horse feed. The bottles were incubated at 38 °C for about 40 days. Daily pressure measurements enabled quantification of biogas production. Biogas was then sampled for CH₄ and CO₂ analysis by gas chromatography.

2.6. Determination of enzymes

2.6.1. Total exoenzymes activity

Fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis is a simple but precise way to measure the enzymatic hydrolytic activity of a biological sample. The extracellular enzymes (exoenzymes) present in the sample hydrolyse the FDA into fluorescein, a soluble molecule which can be quantified by fluorescence (Emission 530). The method used in this study was adapted from Adam and Duncan (2001). The reagents used were (a) potassium phosphate buffer (60 mM, pH 7.6) prepared by mixing K₂HPO₄ (60 mM) and KH₂PO₄ (60mM) at a volume ratio equal to 6.462; (b) FDA stock solution (FDA 1000 mg / ml in acetone) (Sigma-Aldrich Co. Ltd) (stored at -20 °C); and (c) Pure fluorescein (Sigma-Aldrich Co. Ltd) stock solution (fluorescein sodium salt 2000 µg / ml in 60 mM potassium phosphate, pH 7.6). The solution was stored at 4 °C in the dark.

For the analyses, 5 g of frozen FW powder were mixed with 50 ml sterile water and vigorously stirred with a stomacher (Stomacher 400, Tekmar, Cincinnati, OH, USA) for 10 min. After 10 min of decantation, centrifugation was performed at 3000 g at 4°C for 10 min as described by Parawira *et al.* (2005). Next, 2 ml of the supernatant were mixed with 15 ml of the potassium phosphate buffer solution and 0.2 ml of FDA solution in a 40 ml flask. The flask was closed, mixed by hand and placed on an orbital incubator (150 rpm) at 37 °C for 30 min. Control samples were prepared without the addition of FDA. After incubation, 15 ml of acetone were added immediately to stop the reaction. After 10 min of decantation, the contents of the flask were centrifuged (3000 g at 4 °C for 3 min). The supernatant was filtered (Whatman, No. 2) and analysed in a black microwell plate with a fluorimeter

(GloMax®-Multi Detection System, Promega). Pure fluorescein diluted with potassium phosphate buffer (0 to 6 µg.mL⁻¹) was used as calibration solution, showing the following relation:

$$FC = 2 * 10^{-6} * F - 0.0044 (R^2 = 0.99) \quad \text{Eq. 6}$$

where FC is the fluorescence concentration in µg.mL⁻¹ and F is the fluorescence intensity in arbitrary units (AU).

2.6.2. Hydrolytic exoenzyme activities

The types of enzymatic activities were determined using an APIZYM kit (BioMérieux Co, France) according to the supplier's instructions. The kit allows rapid monitoring of 19 hydrolytic enzymatic activities (proteases, glucosidases, lipases, etc.) from a complex sample without the need for purification. Next, 65 µl of the filtered supernatant used for the FDA analysis were placed in each well. The APIZYM gallery was covered and incubated at 37 °C for 4 h. After incubation, one drop of reagent ZYM A (BioMérieux Co, France) and one drop of reagent ZYM B (BioMérieux Co, France) were added to each well. After being left for 5 min for the colour development, the gallery was exposed to a 500 W light source for about 10 seconds to eliminate colour from negative reactions. Finally, a score between 0 and 5 was assigned depending on the intensity of the residual colour by comparing each well with the control well, according to the supplier's instructions. This kit is reported in the literature to be able to identify qualitative hydrolytic exoenzymes activity in aerobic and anaerobic digestion studies (Charles *et al.*, 2009; Tiquia *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2014).

2.7. Determination of the microbial community

2.7.1. DNA extraction

Total DNA was extracted from about 200 mg of frozen FW powder, using the Macherey Nagel Genomic DNA for Food kit according to the manufacturer's instructions. The extracted DNA was eluted in 100 µL of sterile water and stored at -20 °C until further analyses. The concentration and purity of the DNA were checked by spectrophotometry (ND-1000, NanoDrop Tech.). DNA quality was analysed on 0.7% agarose gel in Tris acetate EDTA (TAE 1X) buffer.

2.7.2. Microbial community analysis

The bacterial and fungal communities of each sample were quantified using real-time qPCR targeting the 16S and 18S rRNA genes as described in Fisgativa *et al.* (2017). Briefly, PCR amplifications were carried out in a 25 μ L final working volume using the iQ SYBR Green Supermix 2X (Bio-Rad) and the CFX thermal cycler (BioRad) according to the supplier's instructions. The primer pairs used were GE116 (5'-ATGGCTGTCGTCAGCT-3') and GE 117 (5'-ACGGGCGGTGTGTAC-3') for *Bacteria* and GE122 (5'-TTAGCATGGAATAATRAATAGGA-3') and GE123 (5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3') for *Fungi*. Amplifications were made in triplicate on 10 and 100-fold diluted DNA. The amplification reaction for *Bacteria* was initial denaturation at 94 °C for 10 min followed by 45 cycles at 95 °C for 30 s, at 60 °C for 50s and at 72 °C for 30 s. For *Fungi*, the amplification reaction was an initial denaturation at 95 °C for 2 min, followed by 40 cycles at 95 °C for 30 s, at 55 °C for 30 s and at 72 °C for 30 s. A melting curve analysis was performed to check the specificity of the amplification and primer dimer formation. The gene copy numbers were calculated by comparison with DNA standards of known concentration amplified in the same runs.

Bacterial and archaeal diversity analysis was performed by the IRSTEA BIOMIC team (Antony, France) on an Ion Torrent™ PGM (Life Technologies, USA) platform as described in detail by Poirier *et al.* (2016). Briefly, the V4-V5 hypervariable 16S rRNA gene regions of each DNA sample were amplified by PCR using the primer pair 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTA-3') and 928R (5'-CCCCGYCAATTCMTTTRAGT-3'). PCR products cleaning, quantification and sequencing of the PCR products libraries were performed according to manufacturer's instructions (Agilent & Life Technologies). After sequencing, the PGM software filtered out low quality and polyclonal sequence reads, and quality filtered data were exported as FastQ files.

Sequences (20796 to 83525 reads per sample) were analysed using the Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME) software (Caporaso *et al.*, 2010) and USEARCH v5.2.136 (Edgar, 2013). Sequences with a quality score < 19, chimeric sequences and singletons were removed. Sequences sharing more than 97% similarity were clustered into operational taxonomic units (OTUs). Taxonomic identification of the OTUs was done using the longest sequence of each OTU, a minimum length of 150 bp and a minimum percent identity of 75.0 with the Ribosomal Database Project database (Maidak *et al.*, 2001). OTUs whose number of reads was < 1% of the total number of reads in all samples were considered as subdominant OTUs.

Alpha diversity (diversity within one sample) was used to describe the microbial richness, diversity and evenness with the Shannon, Simpson and evenness indexes. β -diversity (diversity between samples) used the UniFrac distance matrix and principal coordinate plots (PCoA). Uncertainty in PCoA plots was estimated using jackknife analysis (jackknife replicate = 10).

Fungal diversity was investigated by collecting mycelium on day 4 of the 21% O₂ content condition and extracting DNA from the mycelium using the protocol described above. Classical cloning and sequencing was performed as in Fisgativa *et al.* (2017). A 18S rRNA gene fragment of 422 bp was amplified from the DNA extracted using primers GE 122 (5'TTAGCATGGAATAATRRRAATAGGA 3') and GE 123 (5'TCTGGACCTGGTGAGTTTCC 3') and a 20 µL final reaction mix made of: 2.0 µL of *Taq* polymerase buffer (10X) (Sigma Aldrich, France), 1.6 µL of dNTP mix (10 mM each), 0.8 µL of each primer (10 µM), 0.8 µL of MgCl₂ (50 mM), 0.4 µL of *Taq* polymerase (5U/µL), 2 µL of extracted DNA diluted 10 fold completed with sterile water. PCR products were purified and cloned successively using the kit Wizard SV Gel and PCR Clean up system (Promega) and the pGEM-T easy vector system II (Promega) according to the manufacturers' instructions. Forty-eight clones were randomly selected for sequencing at the Genomics platform of Nantes (Biogenouest Genomics). The sequences were compared against the NCBI database for identification using Blast software (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

3. Results and discussion

3.1. Impact of O₂ concentration on FW biodegradation kinetics

During the 4-day aerobic pre-treatment, variations in the kinetics of gas production (CO₂, CH₄ and N₂O) were monitored to analyse putative aerobic and anaerobic metabolic activities. No production of CH₄ or N₂O was observed whatever the O₂ concentration, showing that neither methanogen nor partial nitrifying or denitrifying activity took place during the pre-treatment. In contrast, variations in CO₂ production were observed. A peak in CO₂ production (Figure 17a) was observed in all conditions during the first 10 to 24 hours of the pre-treatment. CO₂ production may result from biological activities such as respiration or fermentation, but also from physical-chemical transformations. The fact a similar amount of CO₂ was produced whatever the O₂ concentration, and the CO₂:O₂ ratio (Figure 17b), which was higher at 5% O₂ and at 10% than at 21% O₂ during the first 24 hours revealed the absence of a relation between O₂ consumption and CO₂ production during this period, especially at lower O₂ concentrations. Thus, this CO₂ peak does not appear to be linked with the biodegradation process but rather with the degassing of carbonates present in FW because of the increase in temperature (Figure 17c), which rose during the first 10 hours.

After 24 hours of pre-treatment, with 0% O₂, minimum but constant production of CO₂ (~ 2.5 mmol CO₂.kgTS⁻¹) was observed, probably corresponding to fermentation and to the CO₂ generated by formate, butyrate or acetate production (Batstone *et al.*, 2002). In the aerobic conditions, CO₂ production rose, revealing a constant relation with O₂ consumption (Figure 17b). These results are in agreement with those obtained by Botheju *et al.* (2010), who reported an increase in CO₂ generation with increasing O₂ load and a decrease with decreasing O₂ load. a shows that the production of CO₂ at 5% O₂ and 10% O₂ is low compared to that at 21% O₂, confirming the observations of Haug (1993) that low O₂ concentrations in the air result in low organic decomposition. In addition, the increase in CO₂ production was linked with the increase in temperature (Figure 17c), showing an aerobic process with an exothermic reaction.

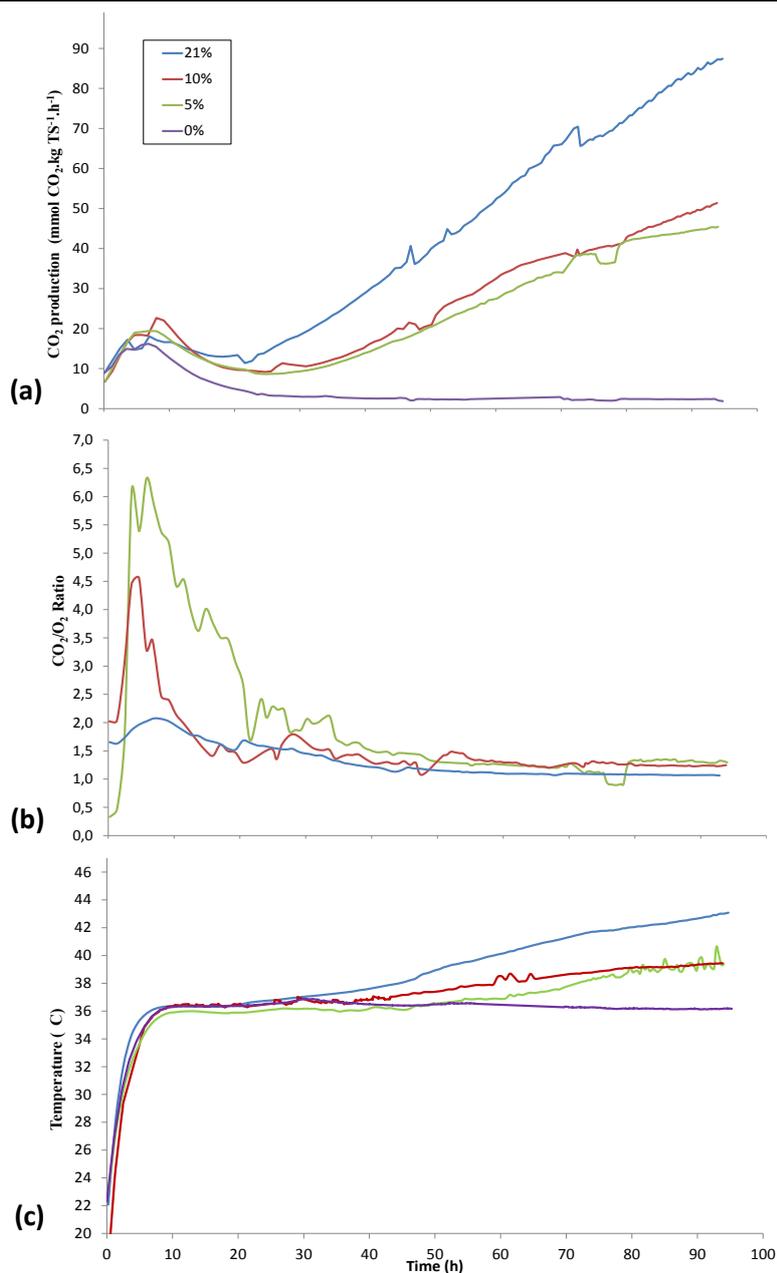


Figure 17. Changes in FW reactors subjected to gas flows with different oxygen contents (0%, 5%, 10% and 21%): (a) CO₂ production, (b) CO₂:O₂ ratio, (c) temperature

3.2. Anaerobic biodegradability of pre-treated FW

Given the variable CO₂ production during aerobic pre-treatment, differences in the capacity to produce biogas from the pre-treated FW were expected. The methane yield of the pre-treated FW was analysed using BMP tests. Figure 18a shows that methane yield based on wet weight does not really differ from the initial FW methane yield after two days of pre-treatment. However, a significant decrease of almost 7% was observed after 4 days in all conditions (aerobic and anaerobic).

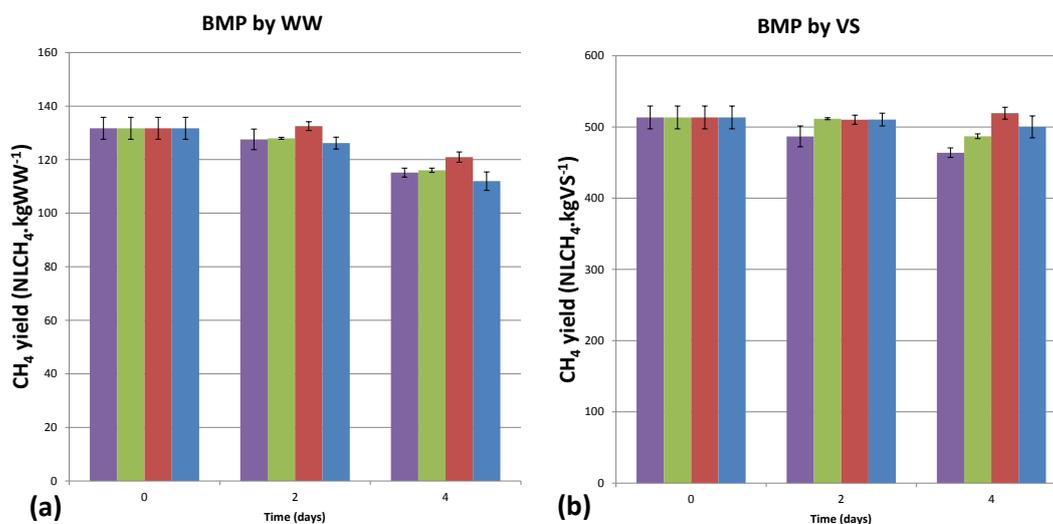


Figure 18. Variations in biomethane potential after aerobic pre-treatment with oxygen concentrations of 0% (violet), 5% (green), 10% (red) and 21% (blue) on the basis of (a) wet weight and (b) volatile solids.

Interestingly, the reduced BMP observed in Figure 18a after 4 days of pre-treatment was not visible when methane production was calculated on the basis of the VS (Figure 18b) in aerobic conditions, especially at 10% and 21%.

These results suggest that the OM degraded during the pre-treatment to produce CO₂, which cannot be used later on for methane production, was offset by changes in the VS quality of the FW. We can assume that the VS fractions which were initially recalcitrant to anaerobic degradation became more biodegradable thanks to the aerobic pre-treatment. Thus even if the quantity of total VS content decreased, its intrinsic biodegradability remained unchanged. On the contrary, residual BMP calculated on the basis of the VS after four days in anaerobic conditions decreased. This demonstrates that in anaerobic conditions, the consumption of the most biodegradable VS fraction is not offset by the solubilisation of more recalcitrant VS fractions.

To explore the effect of the pre-treatment on the quality of the VS in more detail, analyses were performed of the organic matter, biomass development and enzymatic activities.

3.3. Changes in the biochemical characteristics of FW after aerobic pre-treatment

3.3.1. Variations in volatile solids and in fibre content

To understand the variations in the quality of the organic matter in the FW during the aerobic pre-treatment, a modified Van Soest fractionation was performed on all samples.

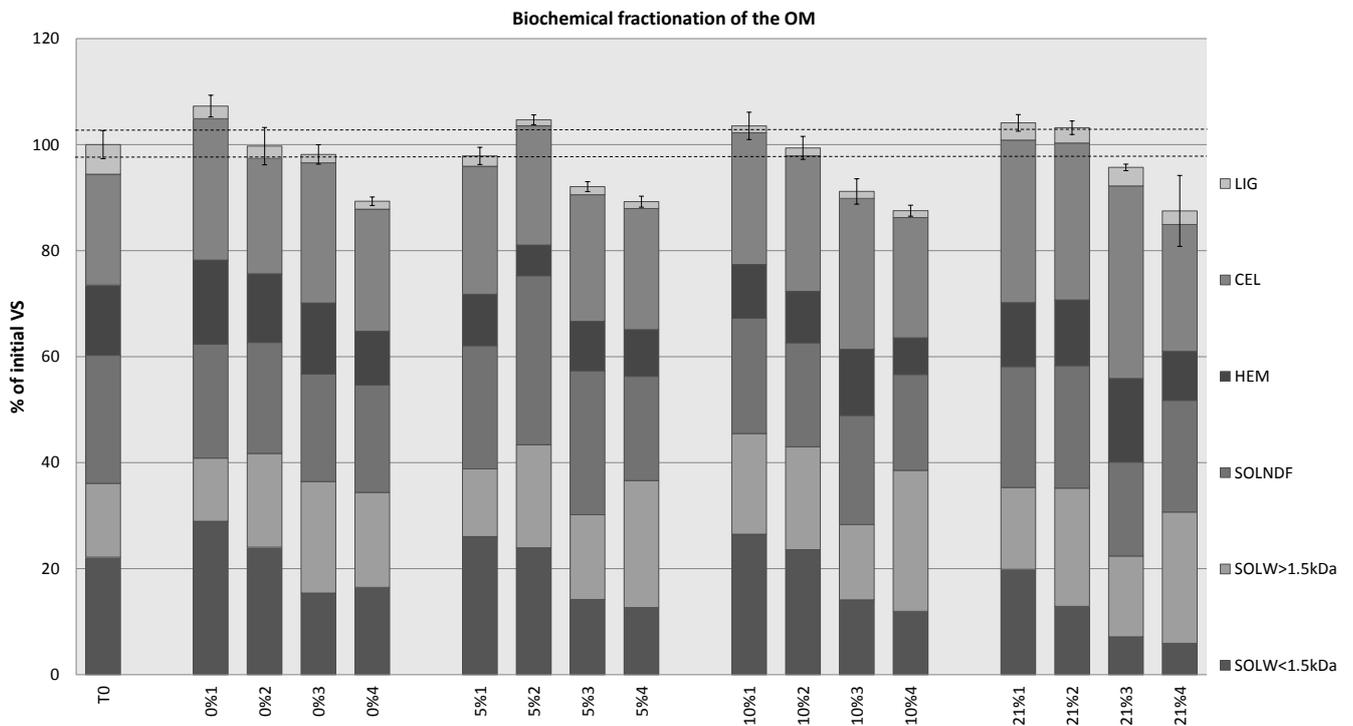


Figure 19. Biochemical fractionation of VS during the aerobic pre-treatment at different oxygen contents (0%, 5%, 10% and 21% of O₂) and at different pre-treatment times (1, 2, 3 and 4 days). Errors bars represent the variation in the total VS from each condition.

Similar VS reduction was observed in all conditions, in which about 12% of the VS were lost after four days of pre-treatment (Figure 19). With 0% O₂, significant variations were observed only on the fourth day of pre-treatment, whereas with 5% O₂, 10% O₂ and 21% O₂, significant variations were visible from the third day of pre-treatment. The 7% reduction in the methane yield based on the wet weight assessed on the fourth day (Figure 18a) is closely linked to the overall decrease in VS. This result confirms the observations of Charles *et al.* (2009) who reported that two days of aerobic pre-treatment were optimal to avoid excessive VS degradation, which may reduce methane potential.

Looking at the different fractions, a clear change in the SOL_W>1.5 and SOL_W<1.5 proportions was observed at all oxygen concentrations. The SOL_W<1.5 fraction decreased at higher O₂ content and also with time, and overall, the SOL_W>1.5 tended to increase. The proportion of SOL_W<1.5 fraction decreased progressively from 60% of the SOL fraction of VS in the raw waste to 19% of the same

fraction with 21% O₂ on day 4 of pre-treatment. With 0% O₂ SOL fraction on day 4 was 48%, i.e. less effect than with 21% O₂. In the case of SOL_W>1.5 the SOL fraction increased from 39% (raw FW) to 52%, 65% , 69% and 81% for the four days with 0%, 5%, 10% and 21% O₂ respectively. These data support our previous hypothesis that BMP stability on VS basis is explained by two concomitant phenomena: on one hand, the rapid elimination of the most easily biodegradable molecules by aerobic respiration; and on the other hand, the increase in the SOL_W>1.5 caused by a solubilisation of some OM from the NSOL fraction.

However, in the NSOL fractions, the LIG and CEL fractions showed no clear differences among all pre-treatments. Only the HEM and SOL_{NDF} fractions showed some variations which could explain the increase in the SOL_W>1.5kDa, but with actual results no direct relation was suggested.

3.3.2. Variations in simple sugar and volatile fatty acid concentrations

To investigate variations in the SOL_W<1.5kDa fraction in more detail, its concentrations of simple sugars (sucrose, glucose and fructose) and volatile fatty acids were monitored. Figure 20 shows that simple sugar contents decreased regularly with time in both aerobic and anaerobic conditions. An unexpected decrease occurred on the third day of the experiment without oxygen. This was due to an error which led to infiltration of air for about 12 h before the cell concerned was stopped. Aside from this uncontrolled result, the decrease in sugar content was seen to be amplified by higher O₂ content (Figure 20a). In the same way, 80% removal of the total simple sugars was observed with high oxygenation (21% O₂, 4 days) in comparison to the concentration of simple sugars in the raw FW. In comparison, only 26% of the total sugars were removed in the conditions without oxygen (0% O₂, 4 days). These results appear to be linked with the degradation of the SOL_W<1.5kDa fraction (Figure 19) and the high production of CO₂ (Figure 17a) at high O₂ concentrations, which could be partly caused by the consumption of simple sugars.

The volatile fatty acid (VFA) content was monitored in the same way and showed an increase in their concentration in anaerobic conditions and with time (Figure 20b). Compared to anaerobic conditions (0% O₂), the accumulation of VFA was lower, with a slight decrease after 4 days at 10% O₂ (30% less than at 0% O₂ after 4 days) and a marked decrease at 21% O₂ (60% lower than 0% O₂ after 4 days). This reduced production may be the result of either the reduced availability of simple sugars as can be seen in Fig. 4a, preventing the microorganisms to produce VFA at high O₂ concentrations, or more probably a rate of VFA consumption faster than that of their production at high O₂ concentrations.

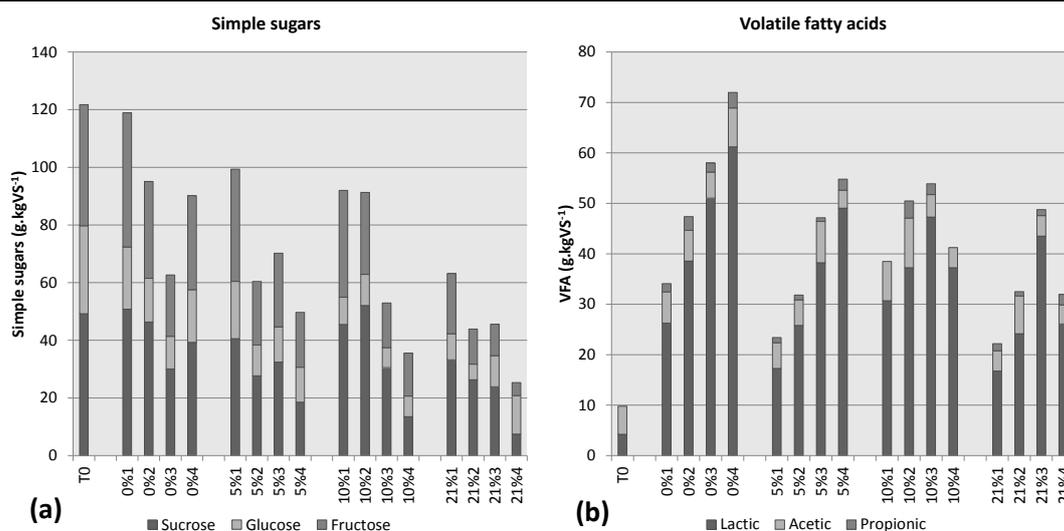


Figure 20. Variation in the concentrations of the simple sugars (a) and volatile fatty acids (b) in FW after aerobic pre-treatment (0%, 5%, 10% and 21% of O₂ content) at different times (1, 2, 3 and 4 days).

To better understand the SOL_w>1.5kDa, variations in the concentration of simple sugars and VFA, determination of the biological activity (by enzymes and by the microbial community) in the FW may help unravel the degradation mechanisms involved during the pre-treatment.

3.4. Effect of aeration on the biological activity in the FW

3.4.1. Variations in enzyme contents

Total exoenzyme content

The FDA method was used to determine total exoenzyme contents, as described in section 2.5. As shown in Table 16, a progressive increase in the production of enzymes was observed with 21% O₂, with two or three fold higher values after 3 and 4 days of pre-treatment than in the other aerobic conditions. More irregular production was observed with 5% and 10% of O₂, showing that these conditions limit the production of exoenzymes. At 0% O₂, enzyme contents decreased, and were 8 and 15 times lower than with 21% O₂ after 3 and 4 days of pre-treatment respectively. These results show that the exoenzymes are mainly produced under full aerobic conditions, suggesting that the increase in the SOL_w>1.5kDa (Figure 19) may be caused by solubilisation of OM from the NSOL fraction thanks to the increased activity of hydrolytic exoenzymes, as also observed by Charles *et al.* (2009).

Table 16. Exoenzyme quantification in the different pre-treatment conditions.

Pre-treatment condition	Exoenzymes production ($\mu\text{gF.gTS}^{-1}.\text{h}^{-1}$)				
	Raw waste	1 day	2 days	3 days	4 days
0%O ₂	92.0±1.9	113.2±3.6	101.3±1.0	50.9±0.3	50.4±1.4
5% O ₂	92.0±1.9	127.1±1.1	214.3±1.2	89.9±0.6	210.1±1.0
10% O ₂	92.0±1.9	197.9±2.3	112.2±0.6	140.7±1.8	305.0±1.2
21% O ₂	92.0±1.9	45.3±1.0	126.3±0.5	422.6±3.0	784.1±11.0

Qualitative activity of exoenzymes

Simultaneously, the range of hydrolytic enzymes present in the FW was determined using the APYZIM kit (Table 17). The main enzyme categories identified were phosphatases and glycosidases. Phosphatases are linked to cellular metabolism; alkaline phosphatases are involved in respiratory activity, and were thus logically observed in aerobic conditions and less in anaerobic conditions. Glycosidases (β -galactosidases, α - and β - glucosidases and N-acetyl- β -glucosaminidase) activity is higher in high oxygenation conditions and glycosidases are involved in the biodegradation of carbohydrates, especially that of cellulose. Little lipid and protein degradation activity was detected. Only leucine arylamidase activity, which is involved in the first steps of extracellular protein degradation (Muller *et al.*, 2004), was observed in presence of O₂. Total activity was considered as the sum of the qualitative indicator (1 to 5) given for the activities of all the enzymes tested. Total enzyme activity increased with time and with oxygen availability, confirming the results of the FDA analysis.

Table 17. Qualitative activity of exoenzymes extracted from FW under different oxygen conditions and at different times

Enzymatic group	Enzyme type	T0	0%				5%				10%				21%			
		0	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Phosphatases	Alkaline phosphatase	4	1	1	2	1	3	3	3	4	4	4	4	5	0	3	4	5
	Acid phosphatase	5	5	4	3	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	5	5	2	2	1	5	4	3	3	5	5	4	5	5	5	5	5
Lipase	Esterase (C 4)	2	5	3	1	0	1	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	3
	Esterase Lipase (C 8)	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1.5
	Lipase (C 14)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5
Amino-Peptidase	Leucine arylamidase	5	0	0	0	0	0	3	2	5	1	2	3	4	0	3	5	5
	Valine arylamidase	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cystine arylamidase	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Proteases	Trypsin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	α -chymotrypsin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Glycosyl-hydrolases	α -galactosidase	0	2	2	1	0	2	2	2	2	1	1	3	3	2	0	2	2
	β -galactosidase	2	4	4	3	3	4	4	5	5	4	5	5	5	4	4	4	4
	β -glucuronidase	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	α -glucosidase	1	3	3	0	0	2	2	3	4	2	2	2	2	3	2	4	4
	β -glucosidase	1	3	3	0	0	3	2	4	4	2	3	3	3	2	2	3	3
	N-acetyl- β -glucosaminidase	4	4	4	2	2	4	3	4	4	3	3	3	3	5	2	4	4
	α -mannosidase	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	2	0	1	1
	α -fucosidase	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total activity		31	34	29	14	10	29	30	33	40	30	33	34	38	31	29	40	46

3.4.2. Variations in the microbial community

To better understand the impact of the aerobic pre-treatment on the FW characteristics, variations in microorganisms were monitored using rRNA gene targeted tools.

Microbial abundance

Real-time qPCR was used to quantify variations in the bacterial and fungal communities. The number of bacteria and fungi in the initial FW was about $6.2 \cdot 10^{10}$ and $2.1 \cdot 10^9$ copies of rRNA gene per gram of initial TS. During the four days of incubation, the concentration of bacteria remained relatively stable (variation of less than one log10) suggesting that the different O₂ content did not affect the total number of bacteria. The variation concerned only a slight increase in the bacterial concentration with 5% O₂ on day 3 and day 4 (about $5.8 \cdot 10^{11}$ rRNA gene / g of TS_{ini}). However, the number of fungi was affected by oxygenation. In absence of oxygen, their number dropped by about

one log₁₀ to about 3 10⁸ rRNA genes by gram of TS_{ini} on day 3. In presence of oxygen, their number increased about 4, 19 and 35 times with 21%, 10% and 5% of O₂. Interestingly, the strongest effect came from lower oxygenation. This could be explained by higher affinity of fungi than bacteria to oxygen or by lower bacterial activity which did not monopolize consumption of easily biodegradable OM.

Fungi identification

The fungi present on day 4 with 21% O₂ content was analysed by classical cloning and sequencing of the 18S rRNA genes as described in section 2.7.2. Out of the 48 clones sequenced, 31 were identified as *Rhizopus oryzae* isolate A2 (acc. KM527239) and 12 as *Lichtheimia ramosa* (acc. LK023322), all with 99% of sequence similarity. These fungi belong to the Order *Mucorales* of the Class *Zygomycetes*, which are fast growing fungi. They are white filamentous fungi saprotrophic on plants, widespread in soil and found on a wide range of organic substrates including fruit and vegetables. *Rhizopus oryzae* secretes maltase and dextrinase and can produce alcohol and lactic acid through fermentation of starch under anaerobic conditions. *Lichtheimia ramosa* has been reported to produce xylanase and β-glucosidase on fruit waste (Silva *et al.*, 2013). Other sequences were identified as *Pichia* sp., *Candida* sp. and *Saccharomycetaceae*. These data suggest that fungi may participate in the production of lactic acid and enzymatic activities measured in section 3.4.1.

Bacterial diversity

Bacterial and archaeal diversity were analysed by 16S rRNA gene Ion torrent next generation sequencing. The results of this analysis are summarised in Table 18.

A mean of 10,105 +/- 4,937 sequences was analysed per sample except for sample 5% O₂ on day 4, which, for unknown reasons, repeatedly gave a low number of sequences (1,394). As observed in Fisgativa *et al.* (2017) and David *et al.* (2014) the data from the raw FW (T0) were strongly polluted by DNA sequences identified as chloroplasts (*Cyanobacteria/ Streptophyta* group) originating from the vegetables. These sequences represented 64% of the T0 library but their number dropped notably after one day of incubation (10-15% in day 1 libraries and only a few percent in the day 2 to 4 libraries). They were removed from the libraries before further community analyses.

Once these artefactual sequences were removed, the mean coverage for all libraries was very good: 98.7% with a minimum of 97.1%. The number of dominant OTUs per sample was relatively low and stable with time: 64 for the T0 and 48 +/-17, 43 +/-10, 71 +/-24, 51 +/-11 as mean and standard deviation for the four days with 0%, 5%, 10% and 21% O₂ respectively. The diversity indexes were

relatively stable with time and were within the range observed previously on other FW by Fisgativa *et al.* (2017).

Table 18. Number of sequences and diversity indexes of the NGS dataset for each FW sample.

FW	T0	0% O ₂ (min-max)	5% O ₂ (min-max)	10% O ₂ (min-max)	21% O ₂ (min-max)
Number of raw sequences	28133	20796- 29111	6452- 62097	24162- 32293	22491-83525
Number of sequences after treatment ¹	5094	5081-15644	1394-9587	6059-17856	5071-16019
Number of OTUs (richness)	64	32-70	38-47	46-96	40-65
Diversity coverage (%)	98.5	98.4-99.5	98.5-99.5	97.1-98.9	98-99.2
Evenness	0.67	0.63-0.68	0.59-0.67	0.58-0.69	0.64-0.73
Simpson	0.89	0.84-0.89	0.81-0.87	0.84-0.91	0.86-0.91
Shannon-Weaver	4.01	3.24-4.01	3.07-3.58	3.25-4.49	3.43-4.16

The β -diversity indexes allow comparison of the global community structure of all the samples and present the data as a distance matrix between the samples. Figure 21 shows that the structure of the FW bacterial community changed considerably but similarly during the first day of incubation whatever the O₂ content. This suggests a strong impact of the incubation conditions which may be linked to the temperature applied, as temperature is an important parameter for microbial communities. Thereafter, the communities evolved in the same way except for with 21% O₂ when the changes occurred more rapidly and were stronger.

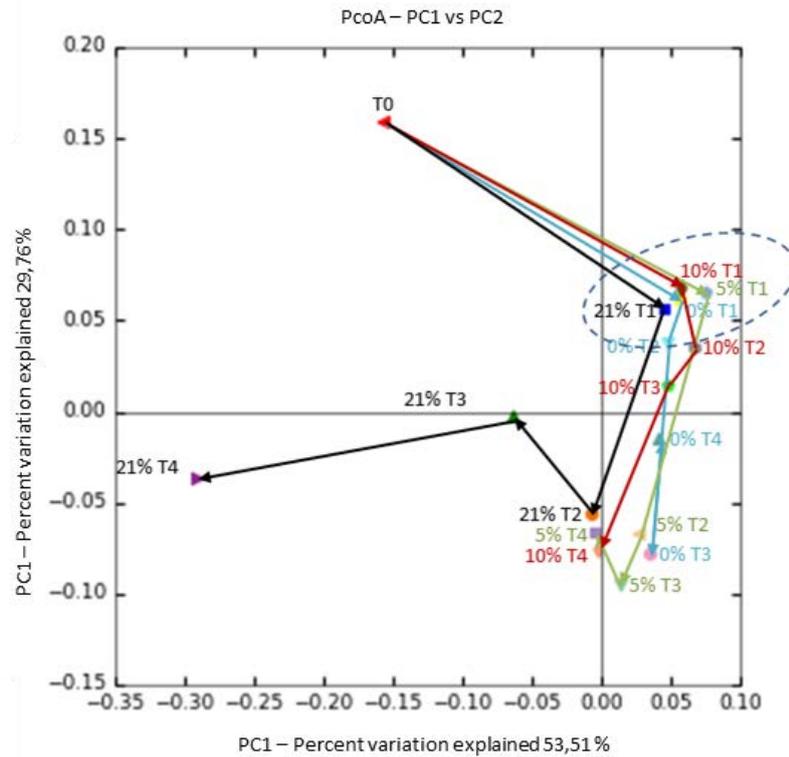


Figure 21. Principal coordinate plots of the distances between the microbial community structures of all samples.

Changes in the bacterial populations

When the data were analysed at the species level, no archaeal sequence was identified and less than 4% of the sequences fell within OTUs, i.e. less than 1% of the total sequences. Actually, most of the sequences belonged to the *Firmicutes* and the *Proteobacteria* phyla with clear differences in the changes in the bacterial communities between the anaerobic (0% O₂) and the high aerobic conditions (21% O₂) (Figure 22). With 5% and 10% O₂, the bacterial communities gave intermediate results (data not shown). In the raw FW, both phyla were almost equally abundant: 51% of the total sequences were *Proteobacteria* and 46% *Firmicutes*. After one day of incubation, the proportion of *Firmicutes* increased up to 90% of the total sequences, whatever the O₂ content. It remained between 90% and 97% of the sequences in the absence of oxygen but decreased to 86%, 80% and finally 45% of the total sequences after 2,3 and 4 days with 21% of O₂. According to Lim *et al.* (2014), *Firmicutes* are able to metabolise a wider range of substrates, increasing VFA production under micro aeration of brown and food waste. The *Proteobacteria* are known to produce hydrolytic enzymes, their growth may explain the higher exoenzyme production shown in Table 16.

During all the incubations, the dominant *Firmicutes* in the raw FW, identified as *Leuconostoc*, was slowly replaced by *Lactobacillus*. Both genera are facultative anaerobe bacteria that ferment

carbohydrates to produce lactic acid, thus explaining the high lactic acid proportion in VFA shown in Figure 20. The shift from *Leuconostoc* to *Lactobacillus* could be explained by the higher growth rate of *Lactobacillus* and the incubation temperature of 40 °C (Castenholz *et al.*, 2001). Among *Proteobacteria*, the dominant *Pseudomonas* (27% of the total sequences) observed in FW was replaced by environmental species of *Enterobacteriaceae* (22% of the sequences on day 4 with 21% O₂) like *Klebsiella*, *Enterobacter* or *Serratia*. *Pseudomonas* are strictly aerobic bacteria, whereas most *Enterobacteriaceae* can grow in absence of O₂ by fermenting sugars and produce lactic acid, alcohols and various other end products. All these data suggest that the microbial community was limited in O₂ in all conditions during the first day of incubation, favouring the production of VFA. Thereafter, strict anaerobic bacteria, identified as members of the *Clostridiales*, were observed only in the 0% O₂ condition for day 2 to 4. For the other oxygen rates, the presence of O₂ allowed the enrichment of various microbial groups that belonged to the *Proteobacteria*. The most interesting group may be *Acetobacter*, which is a strictly aerobic non-fermentative α -*Proteobacteria* and mineralise acetic and lactic acids into CO₂ and H₂O. It can grow at a pH as low as 5.4 and its appearance after two days of incubation at 5%, 10% and 21% O₂ suggest that it may counteract the action of the lactic acid bacteria (*Leuconostoc* and *Lactobacillus*).

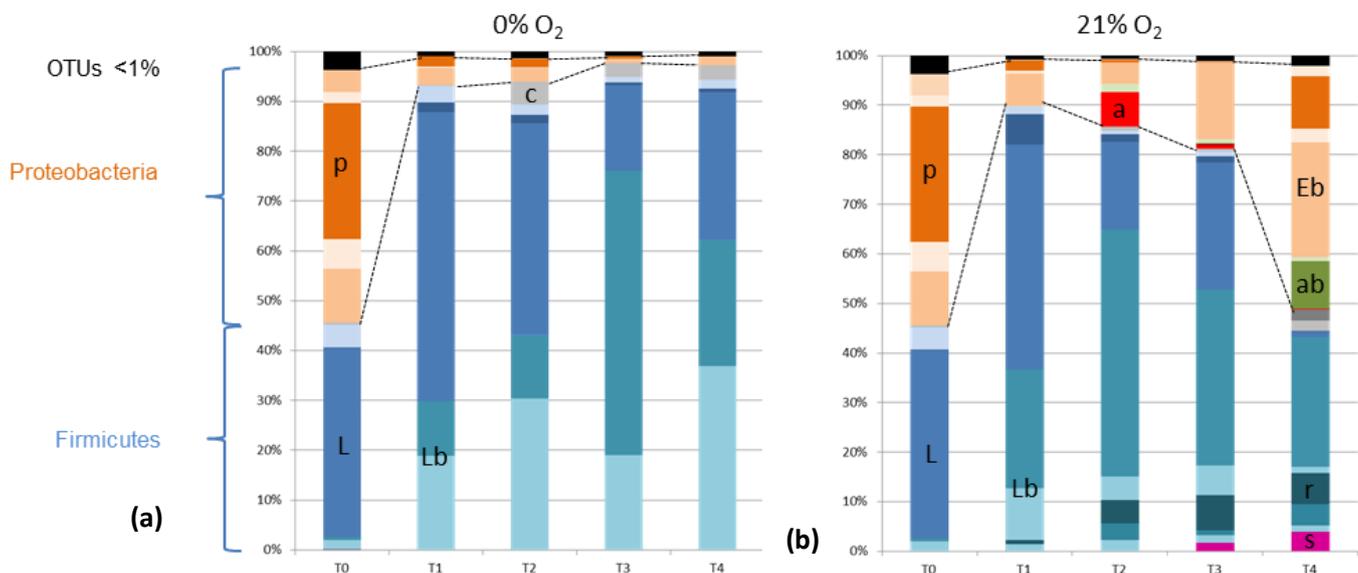


Figure 22. Main bacterial phyla in (a) (0%) anaerobic conditions and (b) (21%) aerobic pre-treatment. P. *Pseudomonas*; L. *Leuconostoc*; Lb. *Lactobacillus*; c. *Clostridiales*; a. *Acetobacter*; Eb. *Enterobacteriaceae*; ab. *Achromobacter*; r. *Rummeliibacillus*; s. *Spingobacterium*.

To conclude, the bacterial community analysis shows that even a short time pre-treatment strongly impact the microbial community structure. The growth of lactic acid bacteria during the first

day of incubation promotes VFA production that can be counteracted later on by aeration and enrichment in *Proteobacteria*. The reduced amount of VFA observed under oxygenated conditions can be explained both by the decrease of the number of VFA producers (*Firmicutes*) and the enrichment in VFA consumers (like *Acetobacter*). The shift from a VFA producing community to a VFA degrading community depends upon the oxygen rate. It happens between 1 and 2 days of aeration for the pre-treated waste at 21% O₂.

The development of the bacterial diversity would be reinforced with a longer aerated pre-treatment as shown with the 4 days results, which appears to be involved in the production of exoenzymes, the consumption of simple sugars and the reduction in VFA. Nevertheless, a 4 days pre-treatment at 21% O₂ condition reduces methane potential (7% based on WW), so the cost-benefit of its implementation needs to be evaluated on a case by case basis.

4. Conclusion

Aerobic pre-treatment of food waste was performed to investigate its impact on the anaerobic biodegradability of food waste and on their characteristics. Neither an increase nor a reduction in the biomethane potential based on VS was observed after 2 days of pre-treatment. Moreover, changes in the characteristics of the waste (decrease in simple sugars and volatile fatty acids, increase in exoenzyme content and diversification of the microbial community) may help avoid acidification. Further studies at pilot scale will now be conducted to confirm the benefits of the observed variations in characteristics on a batch AD treatment.

References

- Adam, G., Duncan, H. 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(7-8), 943-951.
- APHA. 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W.T.M., Siegrist, H., Vavilin, V.A. 2002. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Science and Technology*, 45(10), 65-73.
- Botheju, D., Lie, B., Bakke, R. 2010. Oxygen effects in anaerobic digestion - II. *Modeling, Identification and Control*, 31(2), 55-65.
- Brummeler, E.t., Koster, I.W. 1990. Enhancement of dry anaerobic batch digestion of the organic fraction of municipal solid waste by an aerobic pretreatment step. *Biological Wastes*, 31(3), 199-210.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Pena, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunencko, T., Zaneveld, J., Knight, R. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*, 7(5), 335-6.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F. 2012. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: a review. *Waste Manag*, 32(9), 1634-50.
- Carrere, H., Antonopoulou, G., Affes, R., Passos, F., Battimelli, A., Lyberatos, G., Ferrer, I. 2016. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. *Bioresour Technol*, 199, 386-97.
- Castenholz, R., Rippka, R., Herdman, M. 2001. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Boone, DR.; Castenholz, RW., editors. Vol. 1, Springer New York:.
- Charles, W., Walker, L., Cord-Ruwisch, R. 2009. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresour Technol*, 100(8), 2329-35.
- David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., Ling, A.V., Devlin, A.S., Varma, Y., Fischbach, M.A., Biddinger, S.B., Dutton, R.J., Turnbaugh, P.J. 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559-63.
- Deublein, D., Steinhauser, A. 2011. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*. John Wiley & Sons.
- Edgar, R.C. 2013. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat Meth*, 10(10), 996-998.
- Figativa, H., Tremier, A., Dabert, P. 2016. Characterizing the variability of food waste quality: A need for efficient valorisation through anaerobic digestion. *Waste Manag*, 50, 264-74.

Fisgativa, H., Tremier, A., Le Roux, S., Bureau, C., Dabert, P. 2017. Understanding the anaerobic biodegradability of food waste: relationship between the typological, biochemical and microbial characteristics. *J Environ Manage*, 188, 95-107.

Forster-Carneiro, T., Perez, M., Romero, L.I. 2008. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresour Technol*, 99(15), 6994-7002.

González-González, A., Cuadros, F. 2015. Effect of aerobic pretreatment on anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMWW): An ecoefficient treatment. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 339-345.

Haug, R.T. 1993. *The practical handbook of compost engineering*. CRC Press.

Kondusamy, D., Kalamdhad, A.S. 2014. Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production – A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(3), 1821-1830.

Li, Y., Park, S.Y., Zhu, J. 2011. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1), 821-826.

Lim, J.W., Chiam, J.A., Wang, J.Y. 2014. Microbial community structure reveals how microaeration improves fermentation during anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Bioresour Technol*, 171, 132-8.

Lim, J.W., Wang, J.Y. 2013. Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Waste Manag*, 33(4), 813-9.

Ma, J., Duong, T.H., Smits, M., Verstraete, W., Carballa, M. 2011. Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments. *Bioresour Technol*, 102(2), 592-9.

Maidak, B.L., Cole, J.R., Lilburn, T.G., Parker, C.T., Saxman, P.R., Farris, R.J., Garrity, G.M., Olsen, G.J., Schmidt, T.M., Tiedje, J.M. 2001. The RDP-II (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Research*, 29(1), 173-174.

Meng, Y., Jost, C., Mumme, J., Wang, K., Linke, B. 2016. Oxygen tolerance capacity of upflow anaerobic solid-state (UASS) with anaerobic filter (AF) system. *J Environ Sci (China)*, 45, 200-6.

Monier, V., Escalon, V., O'Connor, C. 2010. Preparatory study on food waste across EU 27. European Commission (DG ENV). 978-92-79-22138-5.

Muller, T., Muller, M., Behrendt, U. 2004. Leucine arylamidase activity in the phyllosphere and the litter layer of a Scots pine forest. *FEMS Microbiol Ecol*, 47(2), 153-9.

Parawira, W., Murto, M., Read, J.S., Mattiasson, B. 2005. Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste. *Process Biochemistry*, 40(9), 2945-2952.

Peu, P., Beline, F., Martinez, J. 2004. Volatile fatty acids analysis from pig slurry using high-performance liquid chromatography. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 84(13), 1017-1022.

- Poirier, S., Desmond-Le Quemener, E., Madigou, C., Bouchez, T., Chapleur, O. 2016. Anaerobic digestion of biowaste under extreme ammonia concentration: Identification of key microbial phylotypes. *Bioresour Technol*, 207, 92-101.
- Scano, E.A., Asquer, C., Pistis, A., Ortu, L., Demontis, V., Cocco, D. 2014. Biogas from anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Experimental results on pilot-scale and preliminary performance evaluation of a full-scale power plant. *Energy Conversion and Management*, 77, 22-30.
- Silva, C.A.d.A., Lacerda, M.P.F., Leite, R.S.R., Fonseca, G.G. 2013. Production of enzymes from *Lichtheimia ramosa* using Brazilian savannah fruit wastes as substrate on solid state bioprocesses. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16, 9-9.
- Stenmarck, A.s., Jensen, C., Quested, T., Moates, G., Buksti, M., Cseh, B.z., Juul, S., Parry, A., Politano, A., Redlingshofer, B. 2016. Estimates of European food waste levels. FUSIONS EU. 9188319016.
- Tiquia, S.M., Wan, J.H.C., Tam, N.F.Y. 2001. Extracellular enzyme profiles during co-composting of poultry manure and yard trimmings. *Process Biochemistry*, 36(8-9), 813-820.
- Tremier, A., De Guardia, A., Massiani, C., Paul, E., Martel, J.L. 2005. A respirometric method for characterising the organic composition and biodegradation kinetics and the temperature influence on the biodegradation kinetics, for a mixture of sludge and bulking agent to be co-composted. *Bioresour Technol*, 96(2), 169-80.
- Tremier, A., Denes, J., Gratteau, L., Menasseri, S. 2014. Characterization of the biochemical composition of solid organic resources to predict their aerobic biodegradation kinetics *5th International Conference on Engineering for Waste and Biomass Valorisation, Rio de Janeiro, Brazil*.
- Vedrenne, F., Béline, F., Dabert, P., Bernet, N. 2008. The effect of incubation conditions on the laboratory measurement of the methane producing capacity of livestock wastes. *Bioresource Technology*, 99(1), 146-155.
- Veeken, A.H., Hamelers, B.V. 2000. Effect of substrate-seed mixing and leachate recirculation on solid state digestion of biowaste. *Water Sci Technol*, 41(3), 255-62.
- Xu, S.Y., Karthikeyan, O.P., Selvam, A., Wong, J.W. 2014. Microbial community distribution and extracellular enzyme activities in leach bed reactor treating food waste: effect of different leachate recirculation practices. *Bioresour Technol*, 168, 41-8.
- Xu, S.Y., Lam, H.P., Karthikeyan, O.P., Wong, J.W. 2011. Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: effect of pH and bulking agent. *Bioresour Technol*, 102(4), 3702-8.
- Zamanzadeh, M., Hagen, L.H., Svensson, K., Linjordet, R., Horn, S.J. 2016. Anaerobic digestion of food waste - Effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. *Water Res*, 96, 246-54.
- Zhang, Y., Banks, C.J., Heaven, S. 2012. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. *J Environ Manage*, 104(0), 166-74.
- Zhu, M., Lu, F., Hao, L.P., He, P.J., Shao, L.M. 2009. Regulating the hydrolysis of organic wastes by micro-aeration and effluent recirculation. *Waste Manag*, 29(7), 2042-50.

Etape 3 : Couplage d'un prétraitement
aérobie en amont d'une digestion anaérobie
par voie sèche de déchets de cuisine

L'étape 3 s'intéresse à la validation des facteurs de prétraitement influençant la traitabilité anaérobie identifiée dans les étapes précédents. Dans un premier temps, le chapitre 5 est dédié à l'étude de l'influence des conditions de digestion anaérobie des déchets de cuisine dans des digesteurs de méthanisation sèche. Différents taux de recirculation et ratio d'inoculum et différentes conditions du substrat ont été étudiés pour valider le fonctionnement des réacteurs avec les déchets de cuisine. Dans un deuxième temps, le chapitre 6 est dédié à étudier comment les différentes conditions de prétraitement, identifiées dans l'étape 2, pourraient modifier le comportement de la digestion anaérobie en diminuant notamment les possibles instabilités identifiées pour la digestion anaérobie des déchets de cuisine. Dans ce chapitre, la production cumulée de méthane et le déroulement de l'étape d'hydrolyse par le suivi de la production d'AGV et la modélisation des cinétiques de production de méthane ont principalement été étudiées. Une analyse statistique pour déterminer les différences significatives entre les résultats a en particulier été menée. Les résultats de cette dernière étape de la thèse permettent d'émettre des propositions de mise en œuvre du procédé de digestion en voie sèche des déchets de cuisine à petite échelle et de discuter l'intérêt de l'application d'un prétraitement aérobie.

Chapitre 5 : Etude de la performance du pilote de digestion anaérobie par voie sèche sur des déchets de cuisine

1. Introduction

Dans les chapitres précédents, l'étude de la digestion anaérobie des déchets de cuisine a majoritairement porté sur l'étude de la biodégradabilité anaérobie maximale (BMP, DCO) et les impacts potentiels de différentes caractéristiques et de la typologie dans le comportement théorique de la digestion. Il est à présent indispensable d'étudier la digestion anaérobie des déchets de cuisine à une échelle expérimentale de taille pilote plus réaliste pour confirmer les observations des chapitres précédents.

Il est important de garder à l'esprit que le but est d'avoir, à terme, un procédé robuste, stable, efficace et facile à mettre en place. Un procédé robuste, qui traite seulement des déchets de cuisine, étant peu étudié, il s'agit ici donc d'étudier les paramètres opérationnels de la digestion anaérobie en se basant sur certains facteurs variables étudiés dans la littérature (périodicité, temps et volume de recirculation, etc.) et sur les contraintes expérimentales que suppose leur implémentation. C'est pourquoi des limitations des conditions à tester ont dû être faites. La reproductibilité des résultats a également été quantifiée. Les performances de la digestion ont été suivies à l'aide de paramètres clefs comme la production de CH_4 , d'AGV ou la dégradation de la MV.

2. Matériels et méthodes

2.1. Substrat utilisé

Les substrats étudiés sont des déchets de cuisine (restes des préparations et restes des repas) prélevés auprès d'un restaurant inter-administratif (RIA Rennes) les 23 et 25 février 2016. Les déchets du 23 février ont été conservés à 4°C jusqu'à la collecte du 25 février et le tout a été conditionné le 26 février. Les déchets n'ont pas été broyés avant digestion pour conserver les conditions testées dans le chapitre précédent et qui veulent être celles d'un procédé avec une préparation minimale du substrat (conditions d'un procédé simple et robuste). Pour assurer l'homogénéité des échantillons, les deux prélèvements ont été mélangés puis sous échantillonnés par quartage et pelletage fractionné en sac d'environ 5 kg. Ils ont ensuite été conservés à -20°C et la quantité nécessaire aux expériences a été décongelée à température ambiante un à deux jours avant les essais. Il faut noter que des échantillons de déchets ont été aussi congelés et décongelés avant analyses en suivant le même protocole, pour connaître les caractéristiques initiales du déchet entrant en digestion. Les déchets de cuisine ont une teneur en MS de 222,8 gMS.kgMB⁻¹, une teneur en MV de 868,6 gMV.kgMS⁻¹, une densité moyenne de 0,9 kg.L⁻¹ et sont composés principalement de fruits et de légumes (Figure 23).

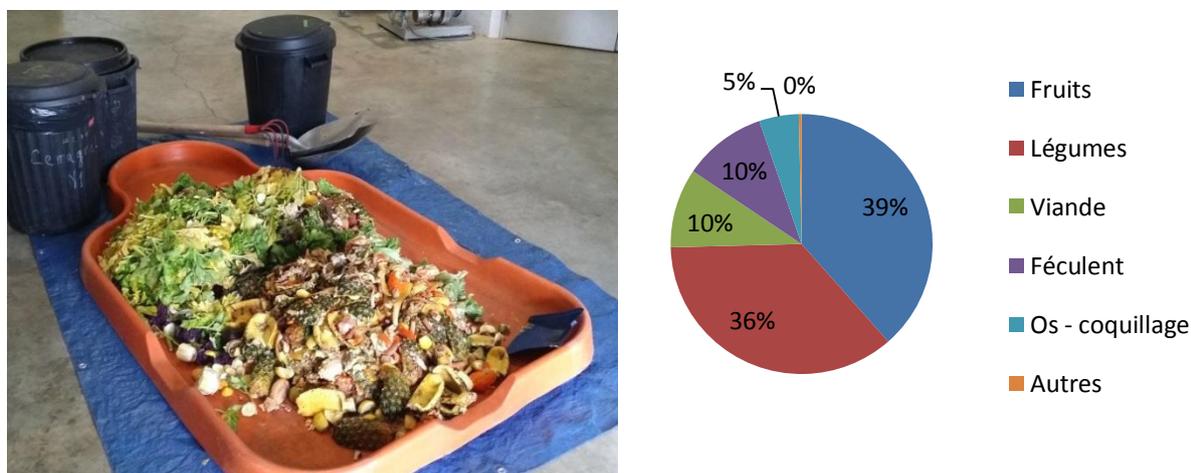


Figure 23. Photographie du déchet initial avant mélange et composition typologique en masse humide

2.2. Le pilote de méthanisation par voie sèche

Le pilote utilisé se compose de 8 réacteurs de type LBR (leach bed reactor : un réacteur à lit fixe où un lixiviat peut recirculer), en inox et hermétiquement fermés, pour maintenir les conditions anaérobies nécessaires à la digestion. Ces réacteurs ont été construits dans le cadre d'une thèse

étudiant la méthanisation du fumier par voie sèche à l'Irstea de Rennes (Degueurce, 2016) (Figure 24).

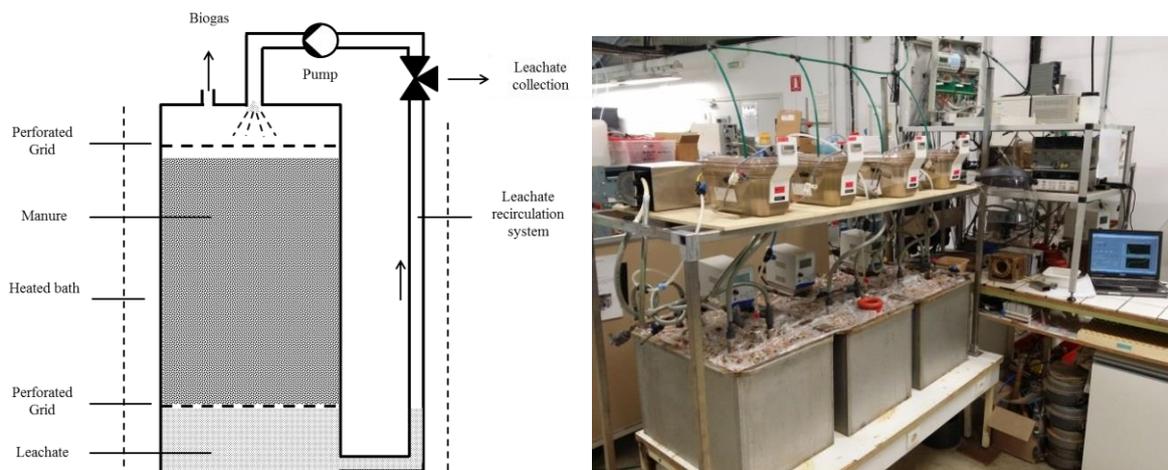


Figure 24. Schéma et photo du pilote de méthanisation par voie sèche (Degueurce, 2016).

Le volume total d'une cellule est d'environ 12 L et une grille perforée inférieure permet une séparation de la phase solide (déchet) et de la phase liquide (lixiviat). Chaque cellule est reliée à une pompe péristaltique, permettant la recirculation du lixiviat par le haut du système. A un temps donné, le lixiviat stocké dans le fond est ramené en tête de cellule, la grille perforée supérieure permet sa répartition à la surface du déchet solide et le lixiviat percole ensuite dans le solide jusqu'à retourner en fond de cuve.

Le lixiviat utilisé qui sert aussi d'inoculum à la digestion est un digestat provenant d'une unité de méthanisation liquide mésophile (41°C) traitant majoritairement des déchets de grandes et moyennes surfaces et déchets céréaliers. L'inoculum a été prélevé 3 à 4 jours avant le lancement des essais de méthanisation et stocké dans une étuve à 38°C. De plus, l'inoculum a été filtré à 1 mm pour éliminer les fractions solides.

Pour ce qui est du suivi des paramètres durant la digestion, le couvercle de chaque cellule est relié à un compteur de biogaz à auget permettant un suivi continu de sa production. Un point hermétique de prélèvement de biogaz est également présent pour l'analyse ponctuelle de sa composition. De même, le circuit de recirculation du lixiviat possède son propre point de prélèvement pour permettre de suivre les paramètres qui lui sont propres (AGV, pH, etc.). Enfin, la température des cellules est contrôlée par maintien des cellules dans une cuve d'eau thermostatée.

Les pompes et les acquisitions des cinétiques ont été contrôlées par l'intermédiaire d'une centrale d'acquisition et contrôle Agilent, pilotée grâce à un programme sous Labview. De plus, les volumes de biogaz produit ont été normalisés aux conditions normales de pression et température (0°C, 1 atm) grâce au suivi journalier de la pression et température du hall expérimental. Les

prélèvements ont été réalisés sur les solides avant chargement dans les cellules (début d'expérience) et à la fin des manipulations (déchet digéré). Pour les lixiviats et pour les échantillons gazeux, les prélèvements ont été réalisés tous les jours la première semaine (environ 10 ml) et trois fois par semaine dans la suite des expériences. Les prélèvements gazeux sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (Agilent - Pré colonne Porapak N 0.9N et colonne remplie Porapak Q 4M.- Gaz vecteur : azote N₂ (<100 ppb d'impuretés)).

2.3. Conditions à tester

Au niveau de la structure du déchet, de par sa nature (forte proportion en eau (78%WW), densité (0.9 kg.L⁻¹)) et de par le type de réacteur utilisé (avec recirculation du lixiviat), le déchet utilisé peut subir un tassement pendant le procédé. Ce tassement peut nuire à l'efficacité de la digestion en créant des chemins préférentiels pour l'écoulement du lixiviat lors de sa recirculation. Par conséquent, il peut s'avérer intéressant d'utiliser un structurant pour permettre au lit de déchets de maintenir une certaine porosité globale qui serait favorable à la digestion par une meilleure circulation du lixiviat. L'utilisation d'un agent structurant neutre (anneaux en plastique) pourrait faciliter la percolation de l'inoculum à travers le déchet et éviter des possibles tassements (Xu *et al.*, 2011).

La présence de papier dans les déchets de cuisine est également un sujet à étudier. La séparation du papier (serviettes principalement) du reste des déchets de cuisine fait partie de consignes de tri, spécialement dans la restauration collective. Cependant, à ce jour le papier séparé des déchets de cuisine n'a pas de débouché de valorisation dédié et finit donc avec les ordures ménagères résiduelles dans une filière d'incinération. Or, le papier pourrait être aussi un élément structurant les déchets de cuisine en évitant leur tassement. De plus, la matière organique du papier pourrait être aussi dégradée par la digestion anaérobie. Donc l'ajout du papier (type essuie-tout) au déchet de cuisine va être étudié comme agent structurant (diminution de la densité après ajout du papier à 0.75 kg.L⁻¹ en moyenne), permettant possiblement de proposer une solution de valorisation différente au tri du papier.

Trois conditions de préparation du substrat ont donc été étudiées : Présence de structurant inerte selon un ratio **volumique 2 : 1** (structurant : déchets de cuisine); présence de papier (**5% de papier** par rapport au poids humide du déchet) et; déchet sans structurant ni papier.

En ce qui concerne les conditions de mise en œuvre du procédé de méthanisation sèche, certaines conditions ont été fixées en s'appuyant sur des résultats de la littérature et l'expérience antérieure du laboratoire :

- Température mésophile. Comme étudié dans les chapitres précédents, il est conseillé de conserver une température mésophile pour la digestion par souci d'économie d'énergie et de stabilité du procédé en routine. Une température de **39 °C** à l'intérieur du réacteur (soit 40 °C dans la cuve thermostatée) a donc été choisie comme constante pour toutes les expériences.
- Durée de l'expérimentation : Selon la littérature, pour les déchets de cuisine dans des réacteurs LBR la durée de la digestion varie entre 15 et 25 jours (Browne *et al.*, 2013; Ghanem *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2014). Cependant ces expériences ont été réalisées avec des déchets broyés entre 5 et 12 mm. Sur ce pilote, la durée de digestion pour le fumier de bovins était de 29 jours (Degueurce *et al.*, 2016). Une durée expérimentale d'environ **27 jours** a été donc fixée pour étudier la performance de la digestion des déchets de cuisine.

De plus, il a été montré dans la littérature que la recirculation du lixiviat était un des facteurs pouvant améliorer la digestion anaérobie (Sponza & Agdag, 2004). Précédemment, dans les études réalisées sur le fumier avec ce pilote, les facteurs ratio inoculum/déchet et débit de recirculation du lixiviat ont été observés comme ayant une interaction forte (Degueurce *et al.*, 2016) : ils ne seront pas découplés pour cette étude. Néanmoins il convenait d'étudier comment ce couple de paramètre peut impacter la digestion des déchets de cuisine. Les valeurs à tester dans les présents travaux ont été choisies en fonction des résultats du plan d'expériences précédemment réalisé sur le pilote avec des fumiers de bovins (Degueurce *et al.*, 2016), en ciblant les conditions optimales identifiées par cette étude :

- **ratio L /S 2,1 kg/kg ; fréquence de recirculation une fois par jour** de 1,67 L de lixiviat (280 mL.min⁻¹) (ratio L/S 2.1, 1j)
- **ratio L/S 1 kg/kg ; fréquence de recirculation une fois tous les 4 jours** de 1,67 L de lixiviat (280 mL.min⁻¹) (ratio L/S 1, 4j)

Selon les résultats de Degueurce *et al.* (2016), ces paramètres conduiraient à une production maximale de CH₄ théorique d'environ 165 NLCH₄.kgMV⁻¹ sur de la digestion anaérobie du fumier de bovins. Dans le cas des présents travaux sur les déchets de cuisine il s'agit de déterminer si ces deux couples conduisent à des résultats contrastés.

En résumé, 2 facteurs de variation des performances de la digestion anaérobie ont été testés avec différents niveaux d'étude :

- Conditions de préparation du substrat initial: Sans structurant, avec structurant inerte (ratio 2:1) et avec papier (5% en poids humide).
- Conditions de méthanisation : ratio L/S 2.1 recirculé chaque jour et ratio L/S 1 recirculé tous les 4 jours.

2.4. Planification des expériences

Afin de tester la reproductibilité de la mise en œuvre expérimentale et l'impact des conditions de mise en œuvre décrites précédemment, 12 essais ont été réalisés (Tableau 19) : 8 lors d'une première série puis 4 au cours des deux séries suivantes qui comportaient également des essais avec le substrat prétraité qui sont décrits dans le chapitre 6.

Tableau 19. Récapitulatif de différentes expériences réalisées selon les conditions à considérer (ratio lixiviat/substrat, périodicité de recirculation et structure du déchet)

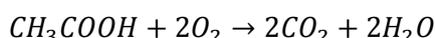
Série	Réacteur	Code	Ratio, L/S, périodicité de recirculation	Structure de déchet
1	1	R1S1	L/S 2.1, 1 jour	Structurant ratio 2:1
	2	R2S1	L/S 1, 4 jour	Structurant ratio 2:1
	3	R3S1	L/S 2.1, 1 jour	Structurant ratio 2:1
	4	R4S1	L/S 1, 4 jour	Structurant ratio 2:1
	5	R5S1	L/S 2.1, 1 jour	Sans structurant
	6	R6S1	L/S 2.1, 1 jour	Sans structurant
	7	R7S1	L/S 2.1, 1 jour	Sans structurant
	8	R8S1	L/S 1, 4 jour	Sans structurant
2	4	R4S2	L/S 2.1, 1 jour	Ajout de papier (5%MB)
	5	R5S2	L/S 1, 4 jour	Ajout de papier (5%MB)
3	6	R6S3	L/S 1, 4 jour	Sans structurant
	7	R7S3	L/S 2.1, 1 jour	Ajout de papier (5%MB)

2.5. Reproductibilité

Afin d'optimiser le nombre d'expérimentations et la durée expérimentale, il a été choisi de ne pas réaliser de triplicata sur toutes les conditions. Afin de s'assurer de la représentativité des résultats obtenus à partir d'un seul essai, une mesure de la reproductibilité expérimentale a été réalisée dans 3 cellules dans les conditions sans structurant et sans papier avec un ratio 2.1, 1 jour (R5S1, R6S1 et R7S1).

2.6. Suivi analytique

Les prélèvements solides et liquides sont conservés à -20 °C. Les échantillons solides sont broyés à l'azote liquide avant analyse, jusqu'à obtention d'une poudre. Les analyses de MS, MV, DCO, NTK, NH_4^+ , AGV, pH, BMP ont été réalisées comme décrit dans le chapitre 3, section 2.2. Les principales caractéristiques physico-chimiques des déchets de cuisine et de l'inoculum utilisé sont résumées au Tableau 20. Les concentrations des AGV données par la HPLC sont exprimées en g.L^{-1} . Afin de pouvoir additionner les différents AGV, il faut les exprimer en gDCO.L^{-1} . Pour cela, la quantité d'oxygène nécessaire pour dégrader totalement chaque acide doit être calculée. Par exemple pour l'acide acétique la réaction théorique est la suivante :



Cela signifie que pour dégrader une mole d'acide acétique, il faut 2 moles d' O_2 , soit 64 g d' O_2 . La masse molaire de l'acide acétique étant 60 g.mol^{-1} , un gramme d'acide acétique correspondrait à 1.0667 (64/60) grammes de DCO. La même logique a été suivie pour transformer les valeurs des autres acides (propionique, isobutyrique, butyrique et iso valérique).

Tableau 20. Caractéristiques physico-chimiques des substrats et inoculum

	Inoculum	Déchet de cuisine (sans papier)	Déchet de cuisine (avec papier, 5 % MB)
MS (gMS.kgMB^{-1})	26.4	222.8	250.7
MV (gMV.kgMB^{-1})	17.7	193.5	224.5
NTK (gN.kgMB^{-1})	7.7	5.9	7.6
NH_4^+ (gN.kgMB^{-1})	5.2	0.8	n.d.
DCO totale ($\text{gO}_2.\text{kgMB}^{-1}$)	48.4	266.6	323.6
BMP ($\text{NLCH}_4.\text{kgMV}^{-1}$)	141.8	464.0	433.2

n.d. – non déterminé

2.7. Bilan matière par suivi de la DCO et de l'azote total (NTK).

L'analyse de la DCO est réalisée en début et fin de traitement, sur les échantillons liquides et solides. Cette détermination de la demande chimique en oxygène a pour but d'établir un bilan entrée/sortie, pour s'assurer du bon fonctionnement des réacteurs et vérifier si toutes les voies de la méthanisation sont complètes. Les bilans se basent sur la conservation de la DCO, selon la relation suivante :

$$\text{Bilan DCO (\%)} = \frac{\text{DCO}_{\text{Solide}_{\text{sortie}}} + \text{DCO}_{\text{Liquide}_{\text{sortie}}} + \text{DCO}_{\text{CH}_4_{\text{produit}}}}{\text{DCO}_{\text{Solide}_{\text{entrée}}} + \text{DCO}_{\text{Liquide}_{\text{entrée}}}} \times 100$$

La DCO consommée pour former le biogaz est évaluée à partir de la relation stœchiométrique de Buswell qui établit que dans des conditions idéales de méthanisation 1 g de DCO donne 0,35 NL de méthane.

De la même manière, l'analyse de toutes les formes de l'azote par la méthode Kjeldahl (NTK) permet de réaliser des bilans sortie/entrée de traitement. La quantité d'azote totale doit être conservée, puisqu'il ne doit pas y avoir de production de gaz comportant de l'azote, dans des conditions de pH inférieures au pKa $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ (pH = 9.25). Le bilan sera donc le suivant :

$$\text{Bilan NTK (\%)} = \frac{\text{NTK}_{\text{Solide}_{\text{sortie}}} + \text{NTK}_{\text{Liquide}_{\text{sortie}}}}{\text{NTK}_{\text{Solide}_{\text{entrée}}} + \text{NTK}_{\text{Liquide}_{\text{entrée}}}} \times 100$$

Les bilans reposent sur les équations stœchiométriques de Gujer and Zehnder (1983), qui indiquent que, si toutes les voies de la méthanisation sont complètes, la totalité de la DCO biodégradable est transformée en CH_4 . Toutefois, si une des voies n'est pas complète, alors une partie de cette DCO peut être relarguée sous la forme d'intermédiaires carbonés volatils et de H_2 , qui ne sont pas quantifiés dans cette équation bilan. Un bilan DCO inférieur à 80% peut donc signifier que toute la DCO accessible n'a pas été transformée en CH_4 . Cependant, cela peut aussi indiquer des fuites sur le réacteur, qui conduisent à une sous-estimation de la quantité de méthane produit. À cela peuvent également s'ajouter des erreurs expérimentales liées à la prise d'échantillon très faible (100 mg) pour les analyses. De la même manière, dans le cas d'un bilan NTK inférieur à 80%, cela peut signifier que des conditions de fonctionnement des réacteurs (pH > 9.25) ont été propices à la volatilisation de l'ammoniac formé au cours de la digestion dans le biogaz. Ce NH_3 volatilisé n'est pas quantifié dans le bilan. La sous-estimation du bilan azotée peut également être due à des fuites sur le réacteur.

2.8. Modélisation de cinétiques de production de méthane

Les données expérimentales de production cumulée de méthane ont été modélisées par l'équation cinétique de Gompertz modifiée (Díaz *et al.*, 2011) à l'aide d'Excel, pour une comparaison numérique des résultats.

$$P(t) = P_{\infty} e^{-e^{\left(\frac{R_m}{P_{\infty}}(\lambda - t) + 1\right)}}$$

où $P(t)$ est la production cumulée de méthane ($\text{NLCH}_4 \cdot \text{kgMV}^{-1}$) à l'instant t , P_{∞} est la production potentielle maximale de méthane ($\text{NLCH}_4 \cdot \text{kgMV}^{-1}$), R_m la vitesse maximale de production de méthane ($\text{NLCH}_4 \cdot \text{kgMV}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$), λ le temps de latence (jours) et t est le temps écoulé (jours).

2.9. Traitement statistique des résultats du plan d'expérience

Les résultats des expérimentations décrites ci-avant ont été analysés selon un plan d'expérience factoriel à plusieurs facteurs discrets, à l'aide du logiciel STATGRAPHICS Centurion XVI. Ce plan est utilisé dans le but de comparer l'impact de variations des conditions de méthanisation basés sur des facteurs qualitatifs (type de préparation du substrat et conditions de mise en œuvre de la digestion anaérobie selon le couple ratio/périodicité de recirculation) sur la variation des résultats de la méthanisation.

3. Résultats et discussion

3.1. Potentiel biodégradable des substrats traités.

La mesure du BMP a permis d'évaluer la production maximale de CH₄ dans des conditions optimales de dégradation pour les deux types de substrats considérés : le déchet seul et le déchet avec ajout de 5% de papier. Les résultats obtenus pour la production de CH₄ totale sont les suivants :

- **464** NL de NLCH₄.kgMV⁻¹ pour le déchet sans papier.
- **433** NL de NLCH₄.kgMV⁻¹ pour le déchet avec ajout de 5% de papier.

Les deux résultats entrent dans la moyenne générale du BMP calculée au Chapitre 1 (460±88 NLCH₄.kgMV⁻¹). Le papier étant un substrat plus difficilement biodégradable (principalement composé par de la cellulose et l'hémicellulose), sa seule présence peut expliquer la production légèrement plus faible (7% plus faible) pour le test BMP du déchet avec 5% de papier.

La valeur obtenue grâce à ce test permet d'avoir une valeur de référence pour déterminer l'efficacité du procédé de méthanisation, en termes de production totale de CH₄, qui sera exprimée en pourcentage de CH₄ obtenu par rapport au potentiel maximum du déchet traité.

3.2. Validation de la reproductibilité de la mise en œuvre de la méthanisation.

Il est possible de constater que pour les trois répétitions la production finale de CH₄ cumulée ne varie que de 7%, à la fin de l'expérience (Figure 25). Etant donnée la faible valeur de CV pour ces trois réacteurs, alors même qu'il s'agit d'un procédé biologique sur des déchets de cuisine non broyés, la mise en œuvre expérimentale a été considérée comme reproductible. Il est également intéressant d'observer l'évolution du CV au cours de la biodégradation. Globalement, il faut constater que le CV varie tout au long de la digestion. Cela peut s'expliquer par le fait que la production de CH₄ est faible les premiers jours. Puisque le calcul du CV se base sur la moyenne, plus celle-ci sera petite, plus la variation sera grande. Ainsi, le CV croit initialement jusqu'au 30% au jour 5 et ne revient à une valeur inférieure à 10% qu'après 15 jours de digestion. La stabilisation du CV correspond également à l'inflexion de la production de méthane.

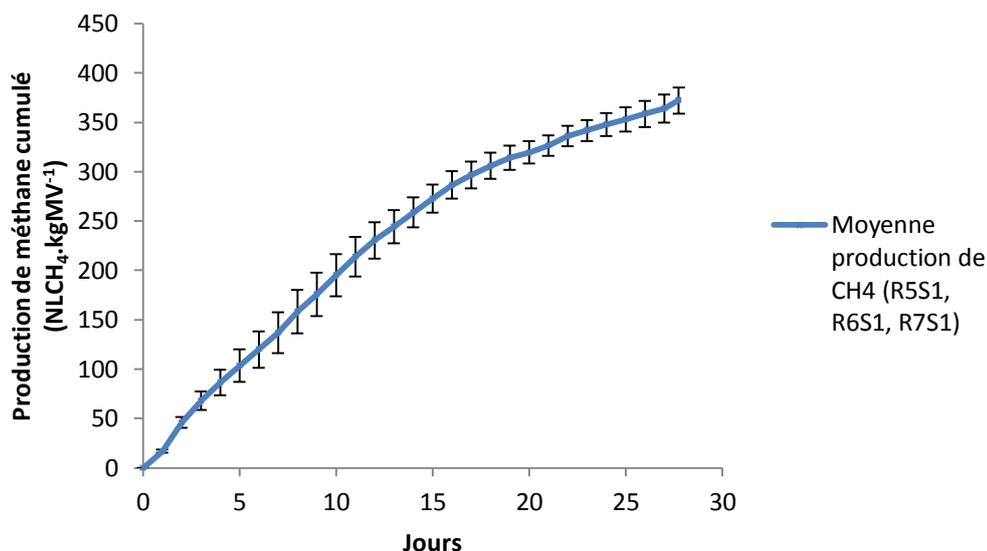


Figure 25. Évolution du coefficient de variation au cours de la méthanisation, pour l'expérience de reproductibilité

De plus, un indicateur du bon fonctionnement du procédé de méthanisation est les bilans de DCO et NTK réalisés entre l'entrée et la sortie du procédé. Ces bilans sont présentés Tableau 21.

Tableau 21. Bilans DCO et NTK (entrée/sortie de méthanisation) des réacteurs utilisés pour déterminer le bon fonctionnement des expériences

Réacteur	Bilan DCO (%)	Bilan NTK (%)
R5S1	91,7	92,7
R6S1	107,4	98,2
R7S1	102,8	95,7
Moyenne	100,7	95,5
CV	8,0	2,9

Les bilans DCO donnent des indications sur l'aboutissement des différentes voies de la méthanisation. Les résultats mettent en évidence de bons bilans de DCO sur les réacteurs, supérieurs à 80%, indiquant qu'il n'y a pas eu de problème de fuites sur les réacteurs. Le CV du bilan DCO est faible et donc une bonne reproductibilité du bilan est observée. Les bilans NTK ont été également très répétables (CV de 2.9%) et supérieurs à 80% ce qui indique que l'azote ne s'est pas échappé du réacteur sous forme gazeuse (NH₃).

3.3. Performances de la digestion anaérobie en fonction des paramètres de mise en œuvre et du substrat

Il s'agit ici d'observer l'effet que peuvent avoir les conditions de méthanisation sur le procédé, en comparant la production de CH₄ cumulée pour chaque ratio d'inoculum et recirculation choisi et selon les conditions de préparation du substrat.

3.3.1. Production cumulée de méthane

La Figure 26 représente l'évolution de la production cumulée de CH₄, pour les conditions de méthanisation avec un ratio inoculum/substrat de 2,1 et une recirculation chaque jour (Figure 26a) et avec un ratio inoculum/substrat de 1 et une recirculation tous les 4 jours (Figure 26b).

Dans le cas du ratio 2,1 (recirculation journalière), la production de méthane sans papier et sans structurant se caractérise par un démarrage rapide jusqu'à un point d'inflexion à partir de 15 jours. Un début de plateau en fin d'expérience peut être visible pour le réacteur R5S1, mais pour les autres réacteurs (R6S1 et R7S1) la vitesse de production semble encore élevée. Dans cette condition, à la fin de 27 jours de digestion il a été atteint entre 72% et 86% du BMP calculé pour le déchet (Tableau 22). Un résultat similaire a été observé par Juanga *et al.* (2007), qui ont obtenu en 28 jours de digestion 84% du BMP dans des réacteurs avec recirculation croisée (échange de lixiviats entre deux réacteurs).

Pour la condition avec structurant, une production encore plus répétable que pour les 3 réacteurs sans structurant a été observée. La production de méthane est similaire à la production sans structurant dans les premiers jours de digestion, cependant, une réduction de la production a été observée après 10 jours. En effet, au début de l'expérience l'hypothèse que des instabilités pourraient se présenter par le tassement des déchets a été posée, cependant les déchets sans structurant montrent de meilleurs taux de production de méthane que avec structurant. Il semblerait qu'après 10 jours de digestion les fractions facilement biodégradables ont été consommées et que la porosité créée par le structurant limite la dégradation des fractions moins facilement biodégradables, contrairement aux réacteurs sans structurant. Finalement la production de méthane avec structurant n'exprime que 53% du BMP total, et donc l'addition de structurant fait perdre 27 % du potentiel méthanogène en comparaison avec les déchets sans structurant, montrant que l'utilisation de structurant diminue la capacité de dégrader la matière organique des déchets.

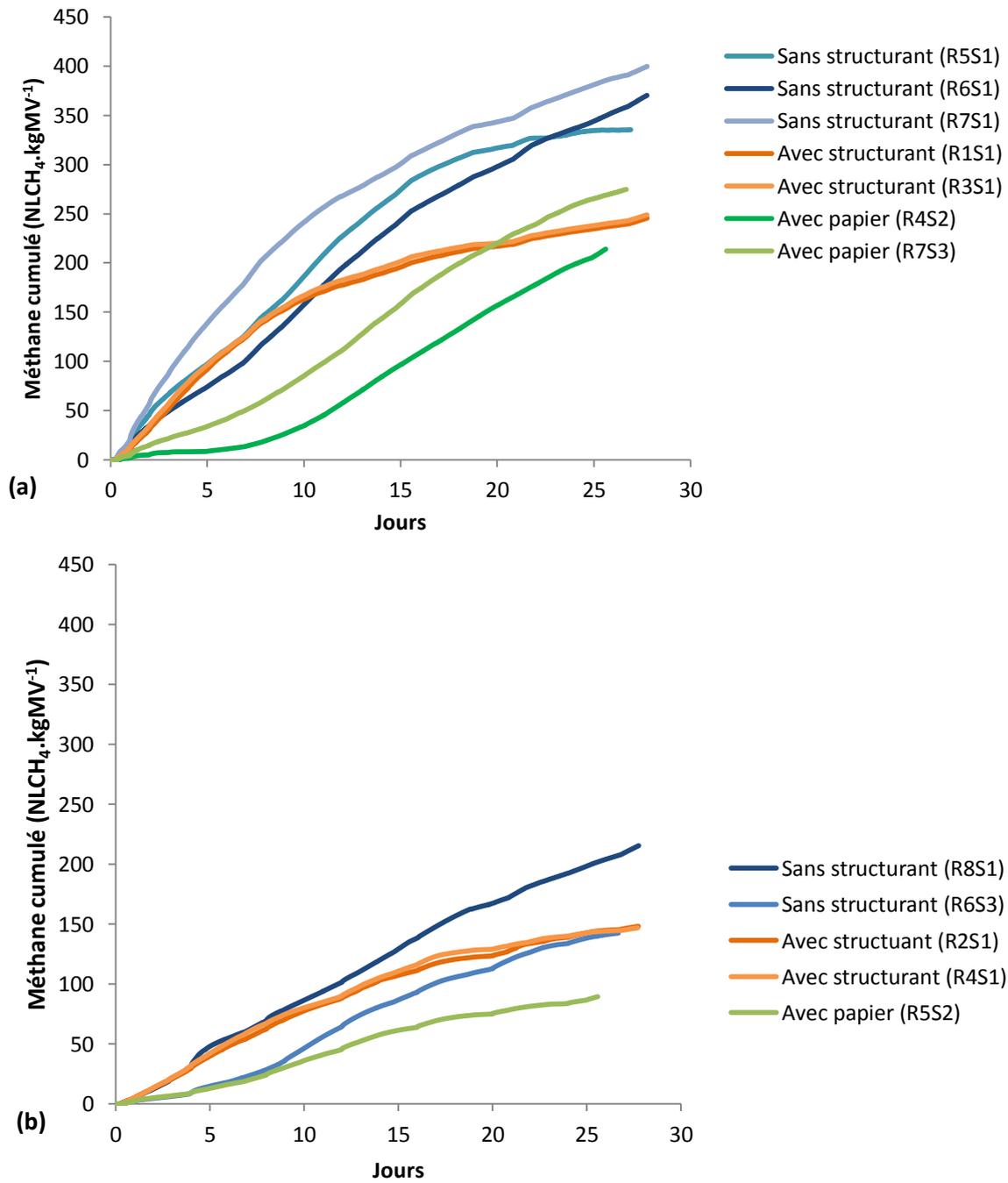


Figure 26. Productions cumulés de méthane au cours de la méthanisation avec (a) ratio 2.1, 1 jour et (b) ratio 1, 4 jours, pour les déchets sans structurant (bleu), avec structurant (orange) et avec papier (vert)

En présence de papier (R4S2, R7S3), la première phase de production de méthane est plus lente que pour les conditions avec et sans structurant sans papier. En effet, une production faible est observée jusqu'au jour 5, et le point d'inflexion est à peine atteint à 25 jours. Les deux cellules avec papier montrent des différences plus marquées que dans le cas des expériences avec et sans structurant. Cela peut-être dû à des variations induites par hétérogénéités d'écoulement du lixiviat liées à la présence du papier, qui en plus de changer la structure de déchet peut aussi absorber une partie du lixiviat recirculé. Malgré l'instabilité initiale de production, à la fin de l'expérience entre 48% et 63% du BMP a été produit, ce qui est similaire au rendement de production des cellules avec structurant.

Tableau 22. Comparaison de la production de méthane cumulée et de la matière volatile dégradée selon les conditions de méthanisation étudiés.

Conditions de méthanisation	Type de substrat	Code Cellule	Méthane cumulé (NLCH ₄ .kgMV ⁻¹)	Taux du BMP atteint (%)	Dégradation de la MV (%)	
Ratio 2.1, 1 jour	Sans structurant	R5S1	335,4	72,3	62,5	
		R6S1	370,6	79,9	62,0	
		R7S1	399,7	86,1	61,6	
	Avec structurant	R1S1	245,9	53,0	17,7	
		R3S1	248,9	53,6	25,4	
		Avec papier	R4S2	214,1	49,5	55,6
			R7S3	275,0	63,5	54,1
Ratio 1, 4 jours	Sans structurant	R8S1	215,8	46,5	58,2	
		R6S3	142,5	30,7	45,5	
	Avec structurant	R2S1	148,2	31,9	17,5	
		R4S1	147,3	31,7	22,8	
		Avec papier	R5S2	90,2	20,8	37,1

Le ratio 1 (recirculation tous les 4 jours) impacte très significativement la production de méthane. En effet, quel que soit le substrat considéré, le ratio 1 a toujours un effet sur les performances de la méthanisation : la quantité de CH₄ produite est en moyenne deux fois moins importante que celle obtenue avec le ratio 2.1 (seulement 31% à 45% du BMP exprimés en 27 jours de traitement). Il faut noter que la cinétique de production est inférieure et que la production n'est pas stabilisée à l'issue des essais avec ce ratio. Cette observation explique également que la variation observée pour le cumul de méthane produit entre les deux cellules sans structurant soit plus importante que la variation observée dans les essais de reproductibilité. Ainsi la production cumulée

atteinte en fin d'expérience avec le ratio 1 correspond à celle atteinte à environ 10 jours avec le ratio 2,1. Or à cette date la variabilité des résultats était plus importante (30%) que la variabilité finale mesurée sur le cumul de méthane (7%). Pour les déchets avec structurant, la reproductibilité reste bonne, confirmant que le structurant aide à dégrader certaines parties de la MV d'une manière plus stable au début de la digestion. Les déchets avec papier dans ce ratio montrent aussi un démarrage plus long et la plus faible production de méthane parmi toutes les conditions testées avec une production de seulement 20% du BMP. Cette observation est cohérente avec la réduction observée sur les résultats de production en conditions de recirculation 2,1 (chaque jour) (réduction de 7% du BMP), bien qu'ici la différence soit plus importante. Cette condition cumule plusieurs désavantages identifiés précédemment : difficulté à dégrader le papier, absorption potentielle du lixiviat par le papier et ralentissement de la réaction à ratio 1, 4 jours.

3.3.2. Suivi de la concentration en AGV dans les réacteurs

Pour essayer de comprendre les évolutions de la production de méthane dans les différentes conditions, le suivi de l'accumulation des AGV dans le lixiviat a été réalisé (Figure 27). Pour le ratio 2.1 avec les déchets avec structurant une diminution de la concentration en AGV a été observée pendant les 10 premiers jours (Figure 27a). Dans les premiers 10 jours de digestion, les AGV sont donc consommés plus rapidement qu'ils ne sont produits, aboutissant à une production rapide de méthane (Figure 27a). Après 10 jours, le ralentissement de la production de méthane pourrait être expliqué par une absence d'accumulation d'AGV qui traduit la moindre hydrolyse et acidogénèse des fractions organiques lors de la présence de structurant engendrant une moindre production de méthane. Un démarrage de la production des AGV plus rapide pour les conditions avec papier et sans structurant a été observé, qui serait donc lié au démarrage plus rapide de la production de méthane dans ces réacteurs (Figure 26). Cela signifie que la production des AGV est indispensable pour le démarrage de l'étape de la méthanisation mais il faut qu'ils soient disponibles pour les méthanogènes de l'inoculum.

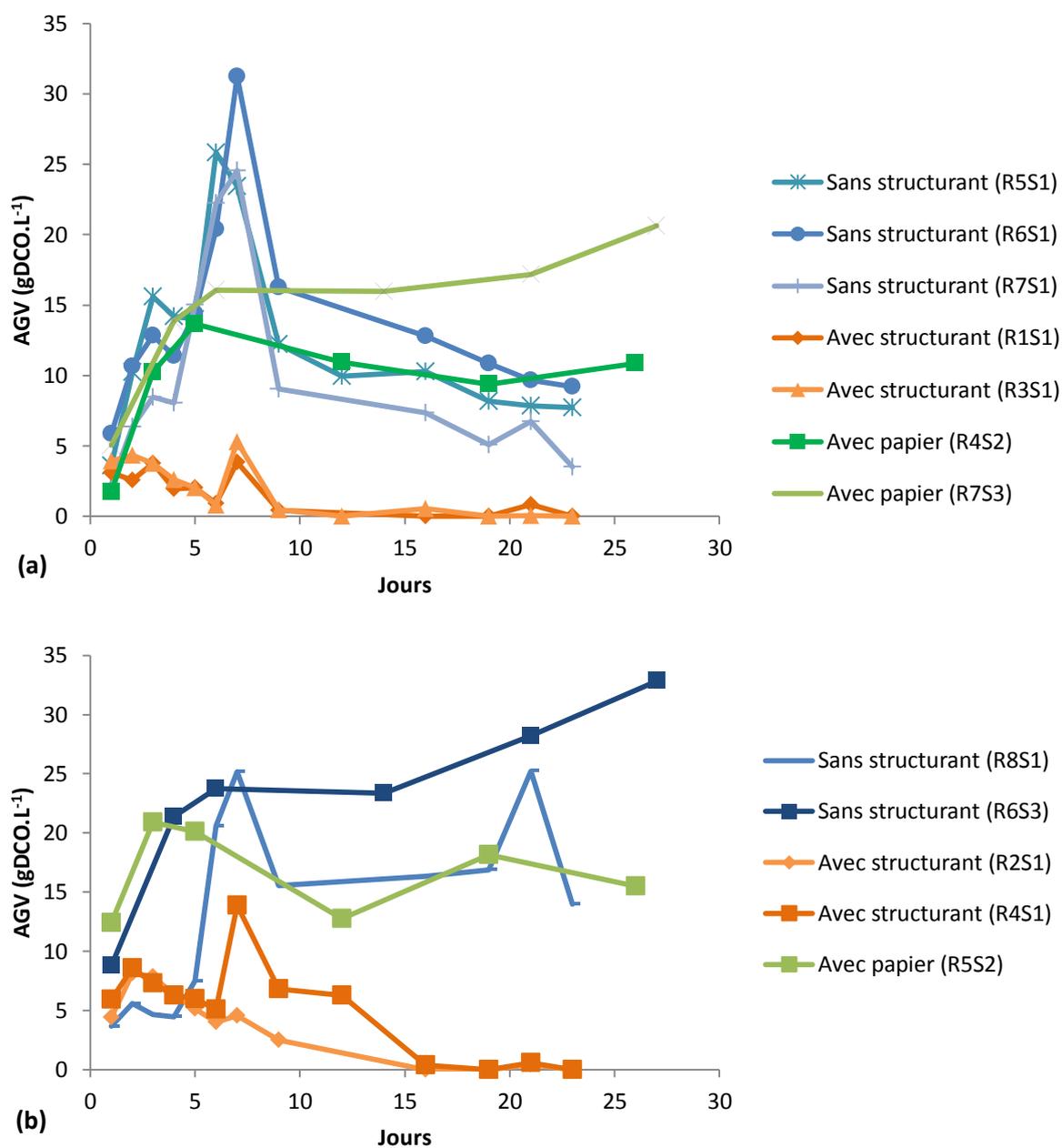


Figure 27. Evolution de la concentration en acides gras volatils dans les déchets de cuisine sans structurant (bleu), avec structurant (orange) et avec papier (vert) pour les conditions : (a) ratio L/S 2.1, recirculation chaque jour et (b) ratio L/S 1, recirculation chaque quatre jours.

Dans le cas des réacteurs sans structurant une production rapide des AGV a été constatée jusqu'à atteindre un pic le septième jour, entre 24 et 31 gDCO.L⁻¹. La consommation des AGV s'avère ensuite plus rapide que leur production puisque leur concentration décroît pour finir avec des concentrations entre 5 et 10 gDCO.L⁻¹. Ces résultats sont comparables aux résultats de Dong *et al.* (2010), qui montrent un pic d'AGV, après 5 jours de traitement, pour la digestion anaérobie de la fraction fermentescible des ordures ménagères. Cependant, ils observent une concentration nulle des AGV après 10-15 jours de digestion tandis que dans notre système, la concentration des AGV reste plus élevée et n'atteint pas de valeurs nulles à la fin de la digestion.

Selon Zhang *et al.* (2012), la digestion entre dans un fort état de stress au-delà d'une teneur en AGV de 20 gDCO.L⁻¹. Cette concentration a été dépassée par les trois réacteurs sans structurant, cependant, aucune inhibition de la production de méthane n'a été constatée. Le pic d'AGV relativement court (quelques jours), allié à la recirculation journalière qui modifie les conditions de contacts entre les AGV, les substrats et leurs microorganismes, diminuent le potentiel inhibiteur de la haute concentration en AGV. Un effet tampon de la concentration en ammonium dans l'inoculum (5.2 g.L⁻¹) a probablement limité les risques d'acidoses dans les réacteurs. En effet, Charles *et al.* (2009) ont observé une augmentation de la production de méthane en présence d'un lixiviat tamponné, expliquée par l'adéquation rapide des communautés microbiennes pour démarrer la méthanogenèse.

En ce qui concerne la production des AGV pour les déchets avec papier au ratio 2.1 (Figure 27a), une tendance similaire aux conditions sans papier et sans structurant a été constatée dans les premiers jours. Cependant, l'accumulation des AGV dans les premiers jours de digestion ne se traduit pas par une production de méthane équivalente aux conditions sans papier, en raison probablement de la nature absorbante du papier, qui pourrait empêcher les microorganismes d'accéder au substrat pour générer du méthane. Après 10 jours de digestion la production des AGV est stable, entre 10 et 15 gDCO.L⁻¹, avec une tendance plus élevée pour le réacteur R7S3, ce qui est cohérent avec la production plus élevée de méthane dans ce réacteur.

Concernant la condition de méthanisation avec un ratio L/S 1 et une recirculation tous les quatre jours, les concentrations des AGV sont similaires voire plus élevées que pour le ratio L/S2.1, bien que la production de méthane est inférieure. Cela pourrait indiquer que l'hydrolyse et l'acidogénèse se déroulent correctement mais que les étapes suivantes seraient plus longues à ce mettre en place d'où une concentration en AGV maintenue et une faible production de méthane. Cela peut montrer que dans cette condition de méthanisation, le processus est plus sensible aux instabilités par accumulation des AGV. En effet, le plus faible volume du lixiviat et le temps entre chaque recirculation (4 jours) pourraient ne pas être suffisants pour contrebalancer l'effet inhibiteur de la

concentration des AGV qui est attribué à la recirculation des lixiviats, comme observé aussi par Veeken and Hamelers (2000b).

3.3.3. Cinétiques de dégradation

Les paramètres ajustés par l'équation de Gompertz montrent une bonne corrélation avec la production expérimentale de méthane (Tableau 23). Les valeurs simulées de la production maximale de méthane (P_{∞}) sont similaires aux valeurs expérimentales (entre 26 et 28 jours). Cependant, les valeurs supérieures de P_{∞} (CV entre simulation et expérimental > 7%) dans les cas de ratio 2.1 avec papier (i.e. 344 au lieu de 275 NLCH₄.kgMV⁻¹) montrent que la simulation estime que la dégradation n'était pas finie lors de l'arrêt des cellules expérimentales. La vitesse maximale de production simulée montre des tendances différentes selon la condition de mise en œuvre du procédé testée, quelles que soient les conditions de préparation du substrat : les vitesses de production au ratio 2.1 sont deux fois plus élevées que les vitesses au ratio 1. Les vitesses les plus faibles sont observées pour les déchets avec papier dans les deux conditions de recirculation, confirmant ainsi que la présence de ce substrat dans les déchets impacte directement les performances de la digestion anaérobie. Le temps de latence simulé présente de fortes variations pour des conditions de mise en œuvre du procédé et de substrat équivalentes. Cependant les déchets avec structurant, pour les deux ratios, montrent un démarrage de la dégradation plus rapide, et un temps pour arriver à une production significative de méthane est plus court (λ entre 0.4 et 0.8 jours). La teneur en papier dans les déchets cause une plus longue phase de latence, montrant possiblement que les teneurs en cellulose et hémicellulose du papier retardent la production de méthane ou que les effets d'absorption du papier retardent le contact de l'inoculum avec les déchets. Les résultats de Díaz *et al.* (2011) montrent que la phase de latence de la digestion anaérobie de déchets cellulosiques peut être diminué par des injections journaliers d'air dans les réacteurs de digestion anaérobie. Cela pourrait indiquer qu'un prétraitement aérobie des déchets de cuisine pourrait aider à diminuer la phase de latence de la digestion anaérobie, améliorant le temps pour arriver à une production significative de méthane.

Tableau 23. Paramètres de l'équation de Gompertz pour les conditions testées

Conditions de méthanisation	Type de substrat	Code Cellule	Méthane				R ²
			cumulé expérimental (NLCH ₄ .kgMV ⁻¹)	P _∞ (NLCH ₄ .kgMV ⁻¹)	R _m (NLCH ₄ .kgMV ⁻¹ .j ⁻¹)	λ (jours)	
Ratio 2.1, 1 jour	Sans structurant	R5S1	335,4	358,1	21,1	0,8	0,995
		R6S1	370,6	389,8	18,7	1,5	0,996
		R7S1	399,7	372,8	25,7	0,0	0,992
	Avec structurant	R1S1	245,9	225,5	19,3	0,5	0,996
		R3S1	248,9	229,0	19,6	0,4	0,996
		R4S2	214,1	279,8	13,0	7,7	1,000
	Ratio 1, 4 jours	Sans structurant	R7S3	275,0	344,4	14,2	3,9
R8S1			215,8	238,5	9,8	1,3	0,997
Avec structurant		R6S3	142,5	157,1	8,3	4,4	0,999
		R2S1	148,2	146,0	8,5	0,8	0,997
		R4S1	147,3	145,1	9,1	0,8	0,997
Avec papier		R5S2	90,2	95,8	5,3	3,2	0,999

3.4. Effet statistique de la mise en œuvre du procédé et du substrat sur la performance de la digestion anaérobie

L'analyse statistique des résultats obtenus pour les paramètres du modèle de Gompertz modifié (P_∞, R_m, λ) pour les différentes conditions expérimentales a permis d'évaluer si les deux facteurs expérimentaux (couple ratio/débit de recirculation (A) et mode de préparation du substrat (B)) impactent significativement la réponse et si ces deux facteurs interagissent (Tableau 24).

Tableau 24. Analyses de variance pour le potentiel de méthane (P_∞), la vitesse maximale de production de méthane (R_m) et la phase de latence (λ).

Réponse	Facteur	Probabilité
P _∞	A:Ratio	0,002
	B:Substrat	0,007
	Interaction AB	0,071
R _m	A:Ratio	0,000
	B:Substrat	0,028
	Interaction AB	0,429
λ	A:Ratio	0,945
	B:Substrat	0,045
	Interaction AB	0,205

Le potentiel de production de méthane et la vitesse maximale de production de méthane sont significativement impactés (probabilité supérieure à 95 %) par les 2 facteurs étudiés. Le temps de latence ne semble lui impacté que par la préparation du substrat. Il n'existe pas d'interaction entre les deux facteurs étudiés. La Figure 28 permet de discriminer les résultats en fonction des valeurs discrètes des facteurs de variation étudiés. En particulier dans le cas des variations observées pour la phase de latence, l'analyse statistique montre ici que la présence de structurant inerte ne modifie pas significativement la durée de la phase de latence alors que l'ajout de papier l'augmente significativement, confirmant ainsi les observations précédentes.

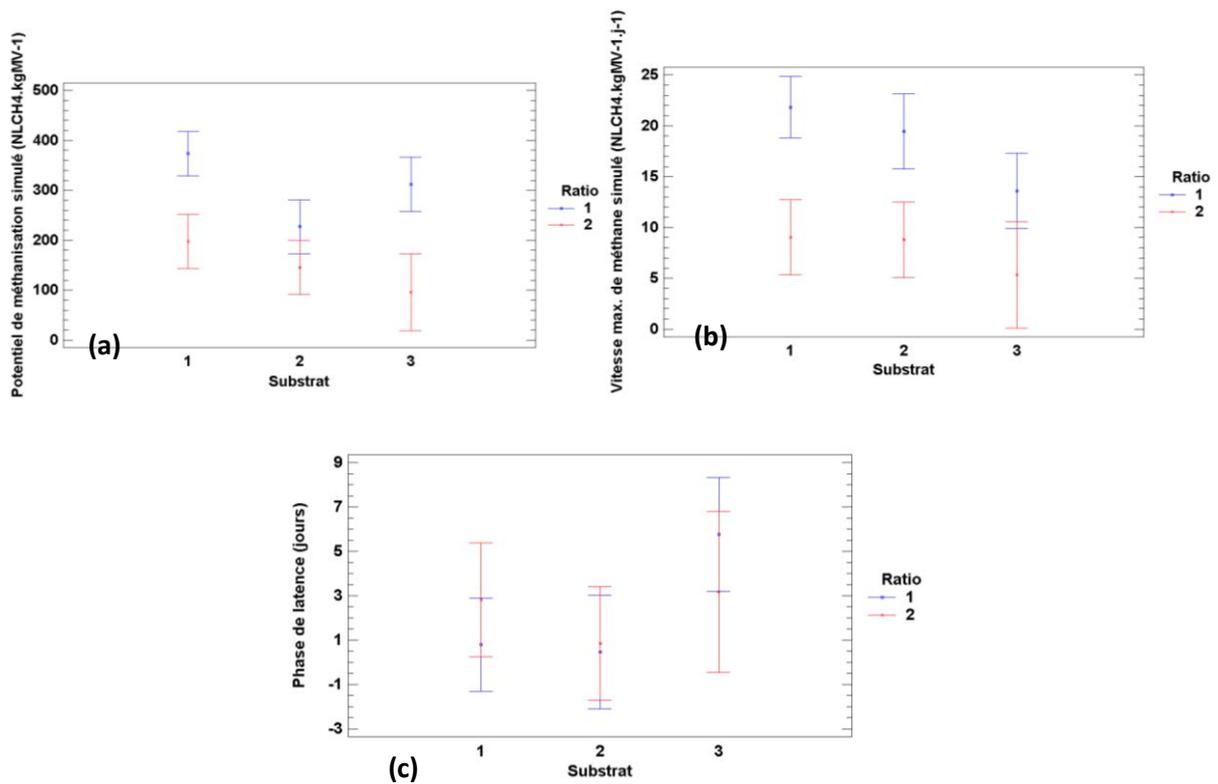


Figure 28. Interactions résultant du plan d'expérience pour les facteurs discrets : Substrat (1 : avec structurant, 2 : sans structurant et 3 : avec papier) et Ratio (1 : ratio L/S 2.1, recirculation chaque jour et 2 : ratio L/S 1, recirculation chaque 4 jours), pour les réponses : (a) Production de méthane simulé (P_{∞}), (b) Vitesse maximale de méthane (R_m) et (c) phase de latence (λ). Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance.

4. Conclusion

Les essais de digestion anaérobie sans prétraitement du déchet de cuisine ont permis de montrer que les conditions de mise en œuvre du procédé et de préparation du substrat influencent significativement la performance de la digestion :

- Les conditions de recirculation impactent significativement la performance de la digestion et doivent donc être étudiées en présence de prétraitement.
- L'apport de structurant n'a pas d'intérêt en terme d'optimisation de la digestion anaérobie des déchets de cuisine par le procédé testé.
- Dans la condition de recirculation ratio 2.1/fréquence journalière avec un substrat sans papier et sans structurant, la production de méthane exprimée atteint plus de 80% de BMP, traduisant de très bonnes conditions de traitement. Il sera donc intéressant d'observer si le prétraitement conserve, optimise ou diminue cette performance.
- L'intégration de papier dans le déchet de cuisine conduit à l'introduction d'une phase de latence et à un ralentissement significatif de la cinétique de production de méthane. Il sera donc intéressant d'observer l'effet du prétraitement aérobie sur ces conditions en particulier (Díaz *et al.*, 2011).
- Des concentrations d'AGV considérées comme inhibitrices ont été observés pendant la digestion. Cependant, ces concentrations pour les conditions étudiées n'ont pas montré des réels impacts négatifs. Toutefois dans un procédé à plus grande échelle, cette haute concentration en AGV pourrait amener à des instabilités difficiles à maîtriser. Il sera intéressant d'observer si le prétraitement aérobie peut aider à diminuer les concentrations en AGV, comme observé dans le chapitre 4, limitant possiblement les risques d'acidoses sur ces conditions de méthanisation.

Références

- Browne, J.D., Allen, E., Murphy, J.D. 2013. Improving hydrolysis of food waste in a leach bed reactor. *Waste Management*, **33**(11), 2470-2477.
- Capson-Tojo, G., Rouez, M., Crest, M., Steyer, J.-P., Delgenès, J.-P., Escudié, R. 2016. Food waste valorization via anaerobic processes: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, **15**(3), 499-547.
- Charles, W., Walker, L., Cord-Ruwisch, R. 2009. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresour Technol*, **100**(8), 2329-2335.
- Degueurce, A. 2016. La méthanisation par voie sèche agricole appliquée aux fumiers de bovins : optimisation de la recirculation des lixiviats, pp. 260.
- Degueurce, A., Tremier, A., Peu, P. 2016. Dynamic effect of leachate recirculation on batch mode solid state anaerobic digestion: Influence of recirculated volume, leachate to substrate ratio and recirculation periodicity. *Bioresour Technol*, **216**, 553-61.
- Díaz, I., Donoso-Bravo, A., Fdz-Polanco, M. 2011. Effect of microaerobic conditions on the degradation kinetics of cellulose. *Bioresour Technol*, **102**(21), 10139-10142.
- Dong, L., Zhenhong, Y., Yongming, S. 2010. Semi-dry mesophilic anaerobic digestion of water sorted organic fraction of municipal solid waste (WS-OFMSW). *Bioresour Technol*, **101**(8), 2722-2728.
- Ghanem, I.I.I., Gu, G.W., Zhu, J.F. 2001. Leachate production and disposal of kitchen food solid waste by dry fermentation for biogas generation. *Renewable Energy*, **23**(3-4), 673-684.
- Gujer, W., Zehnder, A.J.B. 1983. Conversion Processes in Anaerobic Digestion. *Water Science and Technology*, **15**(8-9), 127.
- Juanga, J.P., Visvanathan, C., Trankler, J. 2007. Optimization of anaerobic digestion of municipal solid waste in combined process and sequential staging. *Waste Manag Res*, **25**(1), 30-8.
- Sponza, D.T., Agdag, O.N. 2004. Impact of leachate recirculation and recirculation volume on stabilization of municipal solid wastes in simulated anaerobic bioreactors. *Process Biochemistry*, **39**(12), 2157-2165.
- Veeken, A.H., Hamelers, B.V. 2000. Effect of substrate-seed mixing and leachate recirculation on solid state digestion of biowaste. *Water Sci Technol*, **41**(3), 255-62.
- Xu, S.Y., Karthikeyan, O.P., Selvam, A., Wong, J.W.C. 2014. Microbial community distribution and extracellular enzyme activities in leach bed reactor treating food waste: Effect of different leachate recirculation practices. *Bioresour Technol*, **168**, 41-48.
- Xu, S.Y., Lam, H.P., Karthikeyan, O.P., Wong, J.W.C. 2011. Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: Effect of pH and bulking agent. *Bioresour Technol*, **102**(4), 3702-3708.
- Zhang, Y., Banks, C.J., Heaven, S. 2012. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. *Journal of Environmental Management*, **104**(0), 166-174.

Chapitre 6 : Effet du prétraitement aérobie sur la performance de la digestion anaérobie en voie sèche des déchets de cuisine

1. Introduction

Le chapitre 5 a permis d'étudier les performances de la digestion anaérobie des déchets de cuisine dans des réacteurs par voie sèche. Il a été montré que les conditions de mise en œuvre du procédé et de préparation du substrat influencent significativement la performance de la digestion. Une courte fréquence de recirculation et un fort ratio inoculum : substrat, sans papier, ont été identifiés comme conditions favorables à une forte production de méthane. Cependant, ces conditions nécessitent une grande quantité d'inoculum, ce qui pourrait poser des difficultés de transposition à plus grande échelle. De plus, la présence de papier pourrait être difficile à éviter complètement dans la collecte des déchets de cuisine. Les valoriser en digestion anaérobie en même temps que les déchets de cuisine et ainsi éviter leur tri pourrait donc rester intéressant malgré la baisse de performance engendrée : ralentissement de la vitesse de production et légère baisse du BMP. Compte-tenu des résultats obtenus lors de l'étude des processus et de l'effet du prétraitement aérobie, présentés au chapitre 4, il est possible de poser l'hypothèse que le prétraitement aérobie pourrait faciliter la méthanisation par voie sèche des déchets de cuisine en limitant l'accumulation des AGV dans le réacteur et en favorisant une meilleure hydrolyse des composants du papier pour accélérer et accroître sa dégradation.

L'objectif de ce dernier chapitre est donc d'analyser plus particulièrement l'effet du prétraitement sur le déroulement et les performances de la digestion anaérobie par voie sèche de déchets de cuisine : conserve-t-il la performance d'une digestion en conditions optimales et/ou compense-t-il la perte de productivité apportée par des conditions non optimales, en comparaison d'une digestion anaérobie sans prétraitement ? De plus, nous avons montré dans le chapitre 3 que les biodéchets ayant subi plusieurs jours de stockage à l'air ambiant (BIO) présentaient de meilleures valeurs de biodégradabilité anaérobie (rapportées à la matière organique), de même qu'observé par Lü *et al.* (2016). Aussi, cette forme de prétraitement par stockage à l'air ambiant (2 jours) a également été mise en œuvre et son effet sur la digestion anaérobie étudié afin d'évaluer si le fait de stocker les déchets a un effet similaire à l'utilisation d'un prétraitement aérobie.

2. Matériels et méthodes

2.1. Plan d'expérience

Un plan d'expérience a été mis en œuvre pour étudier l'impact du prétraitement aérobie (sans prétraitement, stockage 2 jours, 5% d'O₂ et 21% d'O₂) et ses éventuelles interactions avec les paramètres de mise en œuvre de la méthanisation (ratio 1/recirculation 4 jours, ratio 2,1/recirculation 1 jour) ainsi que la nature de substrat (avec ou sans papier), sur les performances de la digestion anaérobie. Les réponses étudiées pour caractériser la performance de la digestion ont été les suivantes : production maximale simulée du méthane et vitesse de production simulée. Le plan d'expérience est présenté dans le Tableau 25. Ce plan a été réalisé en trois séries expérimentales consécutives et reprend des essais sans prétraitement décrits dans le chapitre 5 (R5S1, R6S1, R7S1 et R8S1).

2.2. Description des essais expérimentaux

2.2.1. Préparation du substrat

Le substrat utilisé pour ces essais est issu des prélèvements décrits au chapitre 5 et conservés par congélation. Selon les essais, le substrat a pu être additionné de papier (5% MB).

2.2.2. Mise en œuvre des prétraitements aérobies.

Le dispositif expérimental utilisé est le même que dans le chapitre 4. Un schéma détaillé du pilote est présenté à la Figure 29. 3 kg de déchets sont introduits dans chaque cellule pour le prétraitement. Après deux jours, 2 kg sont utilisés pour la méthanisation, le reste est conservé pour les analyses physicochimiques.

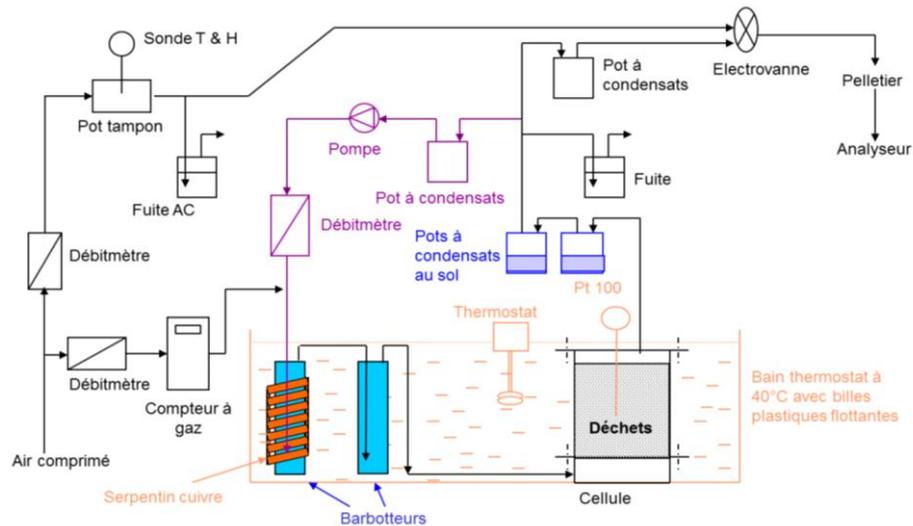


Figure 29. Schéma du pilote utilisé pour les prétraitements aérobiques (source interne)

Le prétraitement est limité à deux jours, afin d'observer des changements sans perte importante de matière en accord avec les résultats obtenus précédemment (chapitre 4). Les conditions de prétraitements sont donc les suivantes :

- 21% O₂ pendant deux jours.
- 5 % O₂ pendant deux jours.

Les prétraitements à 5 et 21% O₂ pendant 2 jours ont montré des valeurs similaires de BMP et de production des enzymes hydrolytiques, ces deux conditions d'aération ont donc été choisies pour confirmer les observations du chapitre 4 avec des conditions à forte et faible concentration d'oxygène dans le gaz injecté. Nous avons choisi de prioriser l'étude du ratio 1 avec tous les pourcentages d'oxygène possibles afin d'étudier son éventuelle amélioration par prétraitement aérobique. Pour ce qui est du ratio 2.1, l'aération à 5% O₂ n'a pas été étudiée.

Pour observer si les conditions de conservation des déchets avant méthanisation peuvent avoir un impact positif ou négatif sur la digestion, une condition de prétraitement supplémentaire a été ajoutée :

- Stockage à l'air ambiant (température et aération passive non contrôlée)

2.2.3. Mise en œuvre de la digestion anaérobique

Le pilote de digestion anaérobique est décrit dans le chapitre 5. L'inoculum est un digestat provenant d'une unité de méthanisation liquide mésophile (41°C) traitant majoritairement des déchets de grandes et moyennes surfaces et déchets céréaliers et est conditionné comme mentionné

dans le chapitre 5. Les deux mêmes conditions de recirculation ont été utilisées (ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours).

2.3. Analyse des paramètres de suivi de la méthanisation

Des prélèvements solides, liquides (inoculum et lixiviats) et gazeux ont été réalisés tout au long des expériences. Pour les lixiviats, les prélèvements ont été réalisés tous les jours la première semaine (environ 10 ml) et trois fois par semaine dans la suite des expériences. Pour les solides, trois échantillonnages ont été réalisés : sur le déchet initial, sur les déchets après prétraitement et sur les déchets en fin de digestion. Les prélèvements solides et liquides ont été conservés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ avant analyse. Les échantillons solides ont été préalablement broyés à l'azote liquide. Les MS, MV, DCO, NTK, AGV, NH_4^+ et pH ont été déterminés sur les échantillons liquides et solides tel que décrit au chapitre 5.

2.4. Modélisation des cinétiques de production de méthane

Dans la section précédente, les données expérimentales de production cumulée de méthane ont été ajustées par l'équation cinétique de Gompertz modifiée (Díaz *et al.*, 2011). Cependant, la simulation de la production de méthane dans les pilotes de méthanisation sèche avec les déchets de cuisine pourrait être mieux expliquée si l'on analyse directement la vitesse de production. A cet effet, la dérivée de l'équation de Gompertz modifiée a été utilisée.

$$\frac{\partial P(t)}{\partial t} = R_m \left(e^{-e^{\left(\frac{R_m e}{P_{\infty}}(\lambda-t)+1\right)}} \right) \left(e^{\left(\frac{R_m e}{P_{\infty}}(\lambda-t)+2\right)} \right)$$

où $P(t)$ est la production cumulée de méthane au temps t ($\text{NLCH}_4.\text{kgMV}^{-1}$), P_{∞} est la production potentielle de méthane totale ($\text{NLCH}_4.\text{kgMV}^{-1}$), R_m la vitesse maximale de production de méthane ($\text{NLCH}_4.\text{kgMV}^{-1}.\text{jour}^{-1}$), λ le temps de latence (jours) et t est le temps écoulé (jours).

Pour étudier l'apparition de deux pics de vitesse de production de méthane, la dérivée de l'équation a été additionnée à elle-même, en conservant différents paramètres pour chaque pic :

$$\frac{\partial P(t)}{\partial t} = R_{m1} \left(e^{-e^{\left(\frac{R_{m1} e}{P_{\infty 1}}(\lambda_1-t)+1\right)}} \right) \left(e^{\left(\frac{R_{m1} e}{P_{\infty 1}}(\lambda_1-t)+2\right)} \right) + R_{m2} \left(e^{-e^{\left(\frac{R_{m2} e}{P_{\infty 2}}(\lambda_2-t)+1\right)}} \right) \left(e^{\left(\frac{R_{m2} e}{P_{\infty 2}}(\lambda_2-t)+2\right)} \right)$$

Où les suffixes 1 et 2 dans les paramètres représentent le premier et deuxième pic.

Avec cette équation, le paramètre P_{∞} total peut être calculé comme la somme de paramètres $P_{\infty 1}$ et $P_{\infty 2}$.

Dans les cas des vitesses maximales de chaque pic, les valeurs R_{m1} et R_{m2} de la nouvelle équation ne représentent pas les vitesses réelles dues à l'interférence causée par la superposition des deux courbes. Le solveur d'Excel a été utilisé pour recalculer les valeurs de R_{m1} et R_{m2} . Enfin, les données de modélisation ont été utilisées pour calculer le temps de digestion pour atteindre une production théorique de méthane de 90% dans les réacteurs et la vitesse moyenne de production de méthane théorique pour atteindre ces mêmes 90% de production. Cette donnée permet de comparer les effets du prétraitement sur le temps de digestion.

3. Résultats

3.1. Evaluation globale de la mise en œuvre de la méthanisation

Comme expliqué précédemment, deux indicateurs du bon fonctionnement du procédé de méthanisation sont les bilans de DCO et de NTK réalisés en entrée et sortie de procédé. Ces bilans sont présentés dans le Tableau 25. Les résultats mettent en évidence que la limite de 80% du bilan DCO est respectée sur l'ensemble des réacteurs. Il est donc possible d'affirmer que les réacteurs n'ont pas présenté de fuites de gaz. Seuls les réacteurs dans les conditions avec stockage, sans papier et de ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours (réacteurs R5S3 et R2S2) montrent 79 et 78 % du bilan, qui peuvent être considérés comme des bilans acceptables en raison des difficultés expérimentales inhérentes à la taille et au type du pilote, comme par exemple la difficulté de séparer correctement le lixiviat du déchet solide à la fin de l'expérience.

Les défauts de bilan très peu nombreux sur le bilan NTK montrent qu'il n'y a pas eu de problèmes d'émission d'ammoniac durant la digestion, sauf éventuellement pour le réacteur R2S2 dont le bilan DCO est inférieur à 80% (74%). Etant donné que le pH n'est pas plus élevé dans ces réacteurs que dans les autres (Figure 33), les conditions pour l'émission de NH_3 n'ont pas été favorisées et donc le défaut de bilan NTK pourrait être lié aux incertitudes expérimentales dues au broyage, au prélèvement de solides et au bilan matière moins précis.

Etant donnée la qualité des bilans obtenus sur les cellules de digestion, l'ensemble des résultats a pu être pris en compte pour l'analyse du déroulement et de la performance de la digestion anaérobique dans la suite de ce chapitre.

Tableau 25. Récapitulatif des indicateurs de fonctionnement des différents expériences réalisées selon les conditions à considérer (déchet avec ou sans papier, type de prétraitement, ratio inoculum/déchet et fréquence de recirculation du lixiviat)

Conditions de méthanisation	Déchet	Prétraitement	Code cellule	Méthane cumulé (NLCH ₄ .kg MV ⁻¹)	Taux de BMP atteint (%)	Bilan DCO (%)	Bilan NTK (%)	Dégradation de la MV (%)	Réduction volumique (%)
Ratio L/S 2.1, recirculation chaque jour	Sans papier		R5S1	335,4	72,3	91,7	92,7	62,5	44,4
		Sans prétraitement	R6S1	370,6	79,9	107,4	98,2	62,0	42,5
			R7S1	399,7	86,1	102,8	95,7	61,6	29,4
		Stockage	R5S3	145,6	31,4	79,3	91,5	59,5	6,7
		21% O ₂	R1S2	355,8	76,7	103,2	86,3	56,1	28,6
	Avec papier	Sans prétraitement	R4S2	214,1	49,5	86,6	83,9	55,6	34,5
			R7S3	275,0	63,5	88,9	85,3	54,1	10,0
		Stockage	R4S3	207,0	47,8	89,9	96,6	36,8	13,0
			R2S3	281,4	65,0	81,0	90,0	52,4	28,0
		21% O ₂	R6S2	126,9	29,3	85,5	92,8	32,2	25,0
Ratio L/S 1, recirculation chaque 4 jours	Sans papier	Sans prétraitement	R6S3	142,5	30,7	97,5	87,9	45,5	33,3
			R8S1	215,8	46,5	97,3	93,2	58,2	17,6
		Stockage	R2S2	124,9	26,9	77,8	74,0	44,6	23,1
		5% O ₂	R1S3	161,2	34,7	82,6	92,5	60,9	10,0
	Avec papier	21% O ₂	R3S2	170,3	36,7	107,3	77,1	41,8	25,0
		Sans prétraitement	R5S2	90,2	20,8	105,3	91,1	37,1	23,1
		Stockage	R3S3	5,6	1,3	89,0	101,1	41,0	16,7
		5% O ₂	R7S2	95,8	22,1	103,3	87,8	16,2	18,2
	21% O ₂	R8S2	105,7	24,4	92,3	79,3	24,3	14,3	

3.2. Performances de la digestion anaérobie en fonction des prétraitements appliqués

3.2.1. Dégradation de la matière volatile et évolution physique du substrat

Un bon taux de dégradation de la matière volatile a été atteint, avec des valeurs en moyenne autour de 50%, supérieures à la dégradation observée à la fin d'une digestion de 29 jours de fumier avec des conditions similaires de ratio L/S et recirculation (37%) (Degueurce *et al.*, 2016). Seuls les réacteurs R7S2 et R8S2 (ratio 1, 4 jours avec papier, prétraitement à 5 %O₂ et 21%O₂ respectivement) montrent de faibles taux de dégradation de la matière volatile (16 et 24%), indiquant une performance de dégradation anaérobie inférieure dans ces conditions.

Dans la Figure 30 sont présentés des exemples de déchets avant et après prétraitements et après digestion anaérobie. Il est possible d'observer les variations physiques des déchets ayant suivi un stockage pendant 2 jours ou un prétraitement aérobie, spécialement par rapport à la présence de champignons qui colonisent les déchets comme observé dans le chapitre 4. En effet, le développement de champignons durant le prétraitement des déchets a été principalement localisé sur les pelures d'agrumes et sur les os avec des restes de viande. Après digestion, les déchets montrent des structures différentes selon les conditions de ratio/fréquence de recirculation et la présence de papier. De plus, il a été constaté que les pelures d'agrumes et les os étaient cette fois encore présents à la fin de la digestion, indiquant la difficulté de dégrader ces fractions.

Il est possible aussi d'observer que la réduction volumique du déchet après digestion est différente selon les conditions de méthanisation et les prétraitements (Tableau 25). En moyenne, les réacteurs réduisent 23% du volume des déchets après digestion, ce qui a l'avantage de réduire le volume de déchet à gérer après digestion. Deux des réacteurs avec ratio 2.1, 1 jour, sans papier et sans prétraitement montrent une réduction de plus de 40% du volume initial du déchet. Par contre, les conditions avec stockage, avec papier sans prétraitement et pour le ratio 1, 4 jours, sans papier, stockage montrent de faibles réductions (entre 6.7 et 10 %).

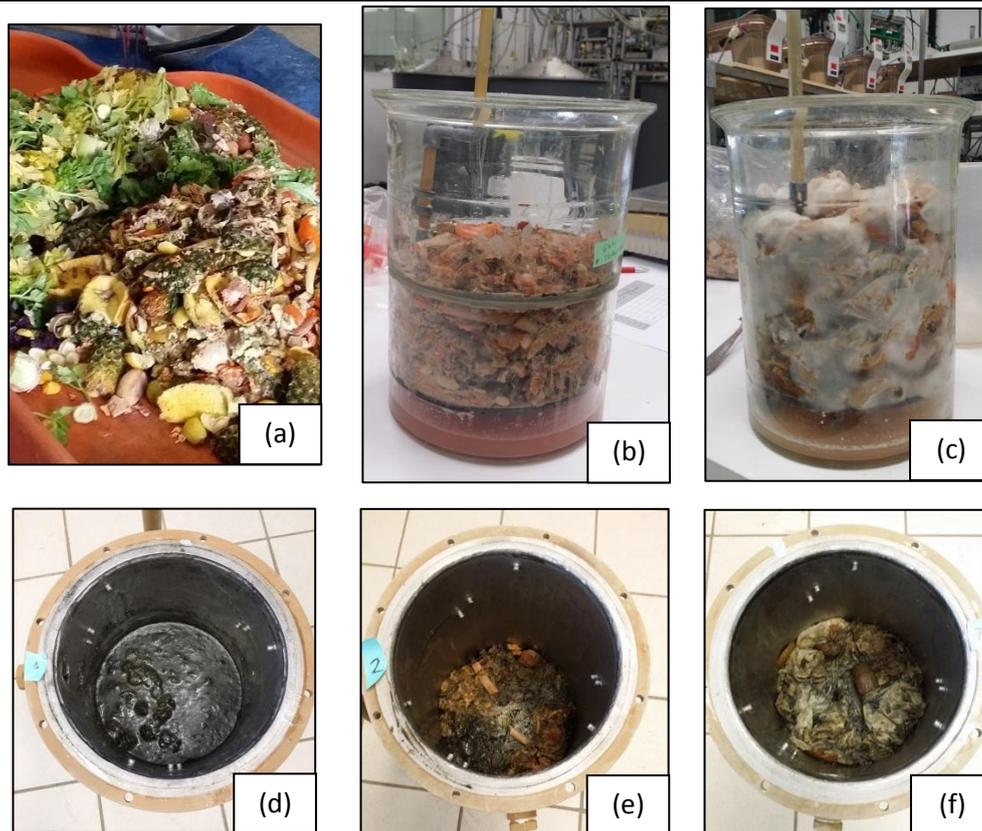


Figure 30. Exemple visuel des déchets de cuisine *Avant digestion* : (a) initial (sans papier), (b) après 2 jours de stockage (sans papier) (R2S2), (c) après prétraitement à 5% d'O₂ (avec papier) (R7S2) et *Après digestion* : (d) sans prétraitement, avec ratio 2.1, 1 jour (sans papier) (R1S2), (e) après stockage, avec ratio 1, 4 jours (sans papier) et (f) après prétraitement à 5% d'O₂ avec ratio 1, 4 jours (avec papier) (R7S2).

3.2.2. Production cumulée de méthane

Pour observer en détail l'impact des prétraitements sur la performance de la digestion anaérobie, la production cumulée de méthane a été étudiée. La Figure 31 présente les courbes de production cumulée de CH₄ avec les différents prétraitements (sans prétraitement, stockage, 5%O₂ et 21%O₂) dans les deux conditions de ratio/fréquence de recirculation (ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours) et les deux conditions de substrat étudiées (avec ou sans papier).

De manière générale, il est possible d'observer que la production de méthane est la plus élevée pour un ratio 2.1, 1 jour et en absence de papier comme précédemment commenté au chapitre 5. Des différences entre les prétraitements peuvent être observées principalement entre la condition d'aération non contrôlée (stockage) d'une part et les conditions d'aération avec différentes concentrations d'oxygène (5%O₂ et 21%O₂) d'autre part. Cependant, les impacts des prétraitements semblent être influencés par les conditions de méthanisation et du substrat.

En ce qui concerne les expériences ratio 2.1, 1 jour, les résultats des prétraitements, sur le substrat sans papier, montrent que la courbe de production de la condition prétraitement à 21% d'O₂ suit celle du réacteur R6S1 (sans prétraitement) confirmant à l'échelle pilote les résultats du chapitre 4 qui indiquaient que les tests avec prétraitement avec 21%O₂ pendant 2 jours ne montraient pas de différence significative avec la production maximale de méthane (BMP). En revanche, pour les expériences avec papier, les deux réacteurs à 21% d'O₂ ont eu un comportement différent : L'un diminue la production de CH₄ par rapport à la production des réacteurs sans prétraitement alors que l'autre l'augmente. En effet, si on prend en compte seulement le réacteur R2S3, il est possible d'observer une production de méthane moins tardive par rapport aux réacteurs sans prétraitement (R7S3) bien qu'à la fin des 25 jours de digestion une production similaire soit atteinte. En comparaison le réacteur R6S2 est plus performant que le réacteur sans prétraitement R4S2. Cependant, après 12 jours de digestion la production reste inférieure. Cela confirme que la présence de papier par lui-même est un facteur d'instabilité de la cinétique de production qui rend difficile l'observation de l'impact du prétraitement sur la méthanisation. Avec la condition de stockage, pour le substrat sans papier, un résultat inattendu a été observé : la production de méthane a été stoppée entre le jour 2 et le jour 20. Il est possible que le stockage ait induit une acidification qui a inhibé la production de méthane. Les autres paramètres de suivi de la performance pourraient aider à expliquer cette différence. Cette inhibition n'a pas été observée dans le substrat avec papier, ce qui pourrait indiquer que la présence de papier pendant le stockage a évité les modifications dans le substrat qui ont provoqué l'inhibition dans les conditions sans papier.

Concernant le ratio 1, 4 jours, les courbes de production de méthane des expériences avec ou sans papier montrent que, quel que soit le prétraitement testé, le plateau de production de méthane n'est toujours pas atteint à 27 jours. De plus, la production avec un prétraitement à 21%O₂ est équivalente aux conditions sans prétraitement, avec ou sans papier. Il faut constater que la production de méthane pour la condition 5 %O₂ est inférieure aux conditions à 21%O₂ mais il reste dans les variations observées pour les conditions sans prétraitement. L'impact apparent du stockage est moins important que pour le ratio 2.1, 1 jour sans papier (R5S3). Cependant, pour les conditions avec papier la production de méthane diminue fortement en condition d'aération et température non contrôlées (stockage). Cela indique que la combinaison de ces trois conditions (ratio 1, 4jours, avec papier et avec stockage) est la moins favorable pour la méthanisation de déchets de cuisine.

Il s'agit dès lors de comprendre comment les prétraitements influencent l'évolution du procédé. Pour cela, il faut analyser d'autres paramètres plus spécifiques à la méthanisation.

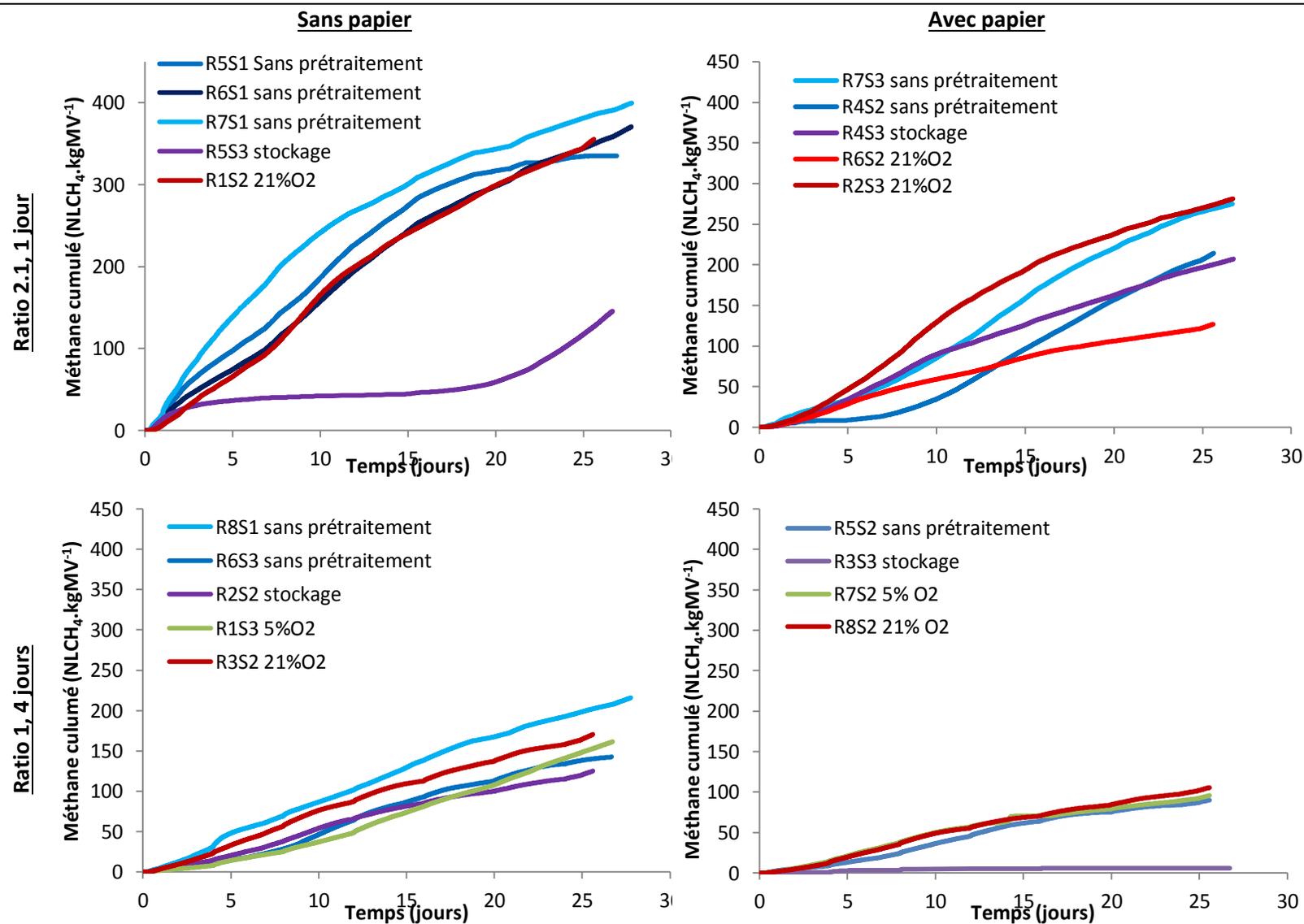


Figure 31. Production de méthane pendant la digestion anaérobie de déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O₂ (vert) et 21%O₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)

3.2.3. Cinétiques de production journalière de méthane

L'étude de la vitesse de production de méthane permet d'observer plus en détail le comportement de la digestion au long du procédé (Figure 32). De façon générale, il est possible d'observer l'impact de la recirculation sur la cinétique de production de méthane. Ainsi, chaque jour de recirculation des pics de production de méthane sont observés. Ces petits pics sont particulièrement visibles au ratio 1, 4 jour. Cela montre que dans le couple ratio/fréquence de recirculation, la fréquence est un facteur fortement impactant par rapport à la disponibilité des nutriments pour les méthanogènes. De plus, il est notable que les cinétiques sont d'autant plus élevées que le couple ratio/fréquence est fort et que le substrat ne comporte pas de papier, ce qui est cohérent avec les observations faites pour la production cumulée de méthane.

Pour le ratio 2.1, 1 jour, sans papier, les profils des trois réacteurs sans prétraitement suivent une évolution similaire : cinétique de production très rapide les premiers jours, diminution jusqu'au jour 5 et ré-augmentation vers un maximum aux alentours de 10 jours puis ralentissement progressif. Il faut noter que le réacteur R7S1 suit une dynamique légèrement différente la première semaine (vitesse de production plus élevée entre 3 et 8 jours). Cela met en évidence l'impact de l'hétérogénéité du déchet au sein d'une même série d'expérience. Avec le prétraitement à 21% d'O₂, le profil de production de biogaz est similaire à celui de l'expérience sans prétraitement, avec une disparition du premier pic cinétique de production de méthane (premiers 3 jours) en comparaison des cellules sans prétraitement. Pour ce qui est des conditions de stockage, la vitesse de production de méthane est élevée au démarrage mais diminue fortement entre 3 et 6 jours, jusqu'à devenir nulle. Elle n'augmente à nouveau qu'à partir du 15^{ème} jour de méthanisation, ce qui montre un changement de conditions dans les réacteurs. Le suivi des concentrations en AGV et du pH pourraient aider à éclaircir les instabilités dans cette condition.

Les réacteurs avec papier montrent des cinétiques plus lissées où le premier pic est quasi inexistant, contrairement aux conditions sans papier, et le deuxième est plus tardif (entre 15 et 20 contre 10 jours pour les conditions sans papier). Le prétraitement à 21%O₂ et le stockage apportent une accélération (pic entre 5 et 10 jours) et une meilleure stabilité de la vitesse de production de méthane. Les prétraitements semblent donc mettre à disposition des fractions de la matière organique, provenant possiblement du papier. On peut supposer que la mise en place de processus d'hydrolyse en aérobique permet de libérer plus rapidement des composés pour les étapes de méthanisation sans passer par la phase de ralentissement. Cependant, comme commenté pour la production de méthane, la cinétique de production après prétraitement à 21% pour la cellule R6S2 semble impactée négativement par la présence du papier, probablement en raison d'hétérogénéités

physiques non reproduites dans la cellule R2S3. Il faut néanmoins souligner que les deux cellules présentent une allure cinétique comparable. L'hypothèse est donc posée que l'impact du prétraitement est mieux représenté par la cellule R2S3.

Dans le cas du ratio 1, 4 jours, les vitesses sont nettement inférieures à celles du ratio 2.1, 1 jour. Pour les conditions sans papier, les profils des réacteurs suivent une évolution comparable : un maximum aux alentours de 10 jours puis une diminution jusqu'en fin d'expérience. Pour le prétraitement à 21%, l'évolution des vitesses de production de biogaz suit un profil similaire aux expériences sans prétraitement, avec une augmentation de vitesse les premiers jours, ce qui rend la vitesse globalement plus stable en début de procédé que sans prétraitement (pics moins intenses lors des recirculations du lixiviat). Le prétraitement à 5%O₂ semble améliorer la disponibilité de certains composants de la MV seulement à la fin de la digestion, ce pourquoi la cinétique de production ne ralentit pas après 27 jours de digestion.

Dans les cas des réacteurs avec papier, le profil du réacteur sans prétraitement montre un pic le premier jour puis, après un passage par un minimum, une augmentation jusqu'à un maximum aux alentours de 12 jours. La cinétique diminue alors jusqu'en fin d'expérience. Les prétraitements à 21%O₂ et à 5%O₂ suivent un profil similaire sans présence de minima entre les jours 2 et 8. Cette cinétique de production plus rapide est observée pour le prétraitement à 21%O₂ dans les deux ratios avec papier et dans le ratio 1, 4 jours, sans papier. Elle pourrait être due à un décalage du deuxième pic comme observé aussi pour le ratio 2.1, 1 jour. La condition avec stockage montre une inhibition complète, où la production de méthane intervient uniquement au moment de la recirculation.

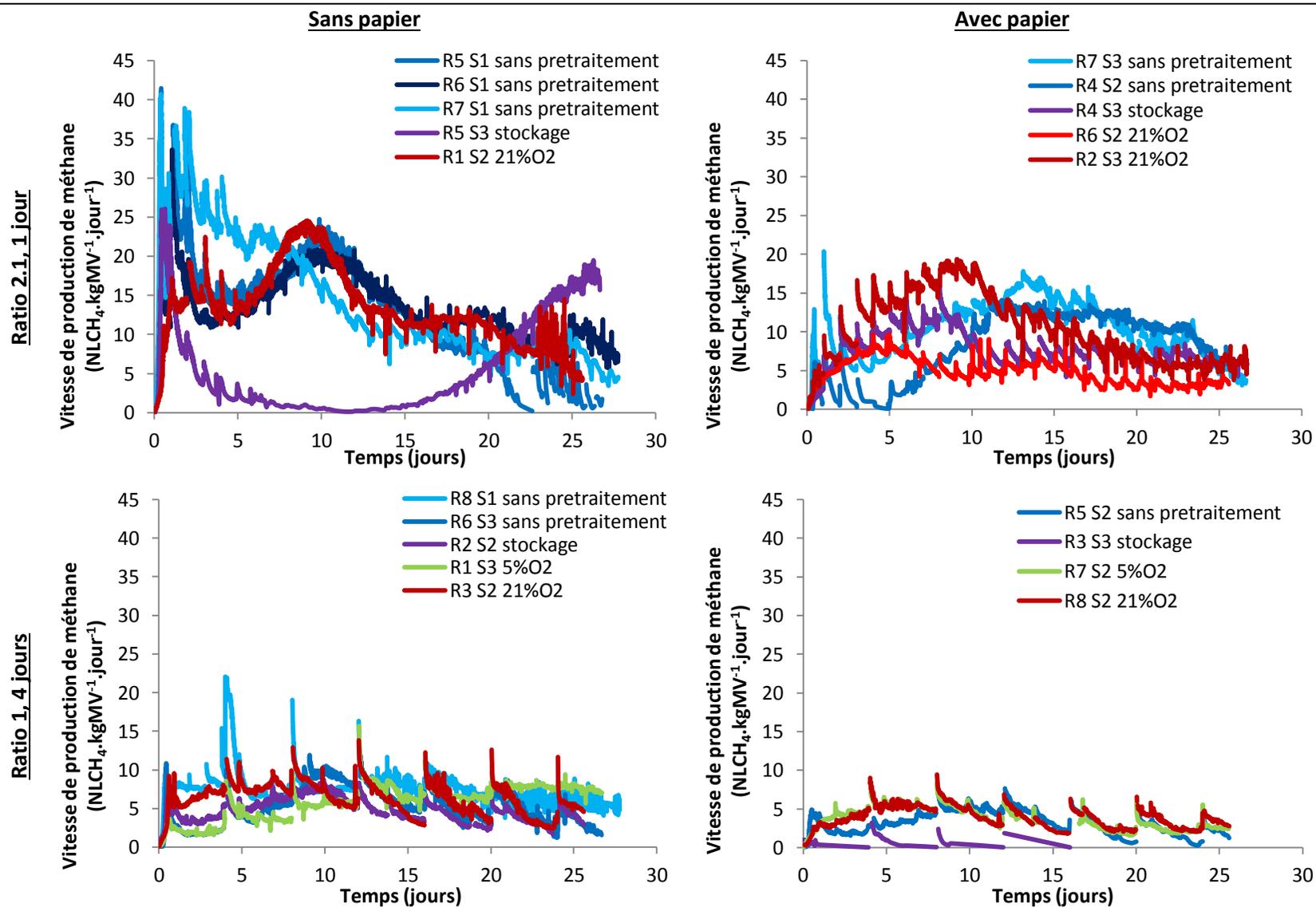


Figure 32. Vitesse de production de méthane avec des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O₂ (vert) et 21%O₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)

3.2.4. Suivi du pH

Le pH peut servir comme premier témoin des conditions d'acidification des réacteurs. La Figure 33 montre l'évolution du pH au cours de la digestion avec et sans prétraitement pour les différents ratios, avec ou sans papier. Le pH est moins variable que les courbes de production de méthane, cependant quelques différences sont observées. Le pH de l'inoculum initialement autour de 8.6 montre tout d'abord une diminution qui correspond à la mise en contact de l'inoculum avec le déchet. Cette diminution est observée jusqu'au jour 3 ou 4 pour remonter ensuite vers un pH autour de 8. Cette première baisse est observée dans les réacteurs sans prétraitement dans toutes les conditions. Si elle est également notable dans les réacteurs avec prétraitement, l'ampleur de la baisse de pH est moins importante. Encore une fois, le réacteur R5S3 (ratio 2.1, 1 jour, sans papier, stockage) montre des tendances très différentes des autres réacteurs. Le pH indique une forte acidification du réacteur qui correspond à l'arrêt de production de méthane et aux faibles valeurs de vitesse de production avant le jour 20 de digestion. Une des explications possibles est que le prétraitement stockage a permis une dégradation très rapide des composés du déchet dès le début de la méthanisation, et que cet effet a été accentué par une recirculation journalière, provoquant ainsi une accumulation des AGV très tôt dans le processus. Cela s'est traduit par une diminution importante du pH. Or, il est conseillé, pour un procédé de méthanisation, de conserver un pH compris entre 7,5 et 8 (ADEME, 2014) pour éviter tout risque d'acidose. Ici, c'est un début de phénomène d'acidose qui a été observé qui n'a pas pu être contrôlé par le pouvoir tampon du lixiviat.

Pour le ratio 2.1, 1 jour avec papier, il est intéressant d'observer que la baisse du pH est moins forte mais qu'elle dure plus longtemps que pour les conditions sans papier. Ici, la condition de 21%O₂ qui a produit peu de gaz (R6S2) ne montre pas la première chute de pH, indiquant que cette première baisse est peut-être importante pour le bon déroulement de la production de méthane. Cela est peut-être dû à une consommation des fractions facilement biodégradables pendant le prétraitement et par la suite pendant la digestion à une absorption des fractions restantes par le papier. Ce dernier, associé à la condition défavorable de la recirculation du lixiviat espacée, a limité possiblement le développement des AGV et aurait ainsi limité la disponibilité du substrat pour la transformation en méthane.

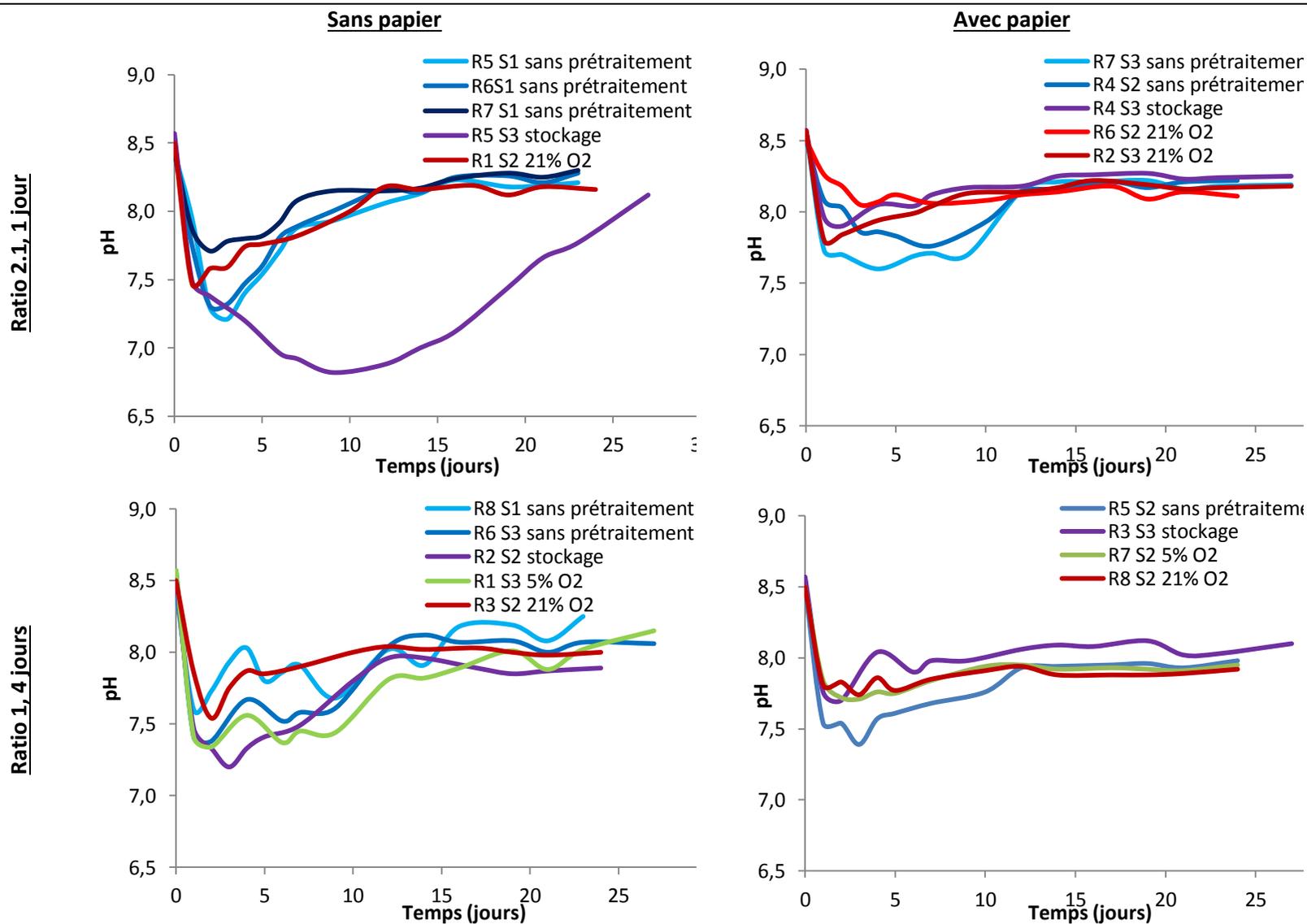


Figure 33. Evolution du pH pendant la digestion des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O₂ (vert) et 21%O₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)

Dans le cas du ratio 1, 4 jours, le prétraitement à 21%O₂ semble réguler les pics de pH, lissant ainsi la courbe de variation du pH. La condition avec stockage (R2S2) est plus acide comme observé aussi pour la condition avec stockage avec ratio 2.1, 1 jour. Par contre, en présence de papier pour les deux conditions de ratio/fréquence de recirculation, ces acidifications non pas été observées. Le papier pourrait donc montrer un effet d'absorption des acides ou de sucres simples comme observé aussi pour le ratio 2.1, 1 jour. Dans le cas du prétraitement avec 5% d'O₂, une acidification plus prolongée que pour les autres conditions a été observée pour les réacteurs sans papier, ce qui pourrait amener à plus d'instabilités. Cependant, dans les réacteurs avec papier, le profil du pH suit la courbe du prétraitement avec 21% d'O₂, indiquant que pour ces conditions, le prétraitement à 5% d'O₂ et à 21% d'O₂ sont équivalents, comme observé précédemment pour la production et la vitesse de production de méthane.

3.2.5. Suivi des concentrations en acides gras volatils

Un des principaux facteurs pour le bon déroulement de la digestion anaérobique est la concentration en AGV. La Figure 34 montre les concentrations en AGV pour les différentes conditions de méthanisation. Il faut remarquer que, pour le ratio 2.1, 1 jour, sans papier, sans prétraitement et avec prétraitement à 21%O₂, la concentration en AGV augmente jusqu'au jour 6, puis diminue, profil correspondant avec celui de la vitesse de production de biogaz. Cette augmentation de concentration, la première semaine, confirme une bonne étape d'hydrolyse/acidogénèse. Pour la condition avec stockage, la concentration initiale en AGV est 3 fois supérieure à celle des expériences sans prétraitement. Elle augmente encore par la suite quotidiennement et atteint son maximum vers 15-20 jours du procédé (40 gDCO.L⁻¹). À partir de 20 jours, elle diminue, mais reste toujours 3 fois supérieure aux autres concentrations. Outre le fait que cette évolution explique la courbe atypique du pH commentée précédemment, il faut noter que les concentrations en AGV pour ce réacteur ont largement dépassé les concentrations des autres réacteurs. Selon Zhang *et al.* (2012), les réacteurs deviennent sévèrement stressés avec des concentrations d'AGV supérieures à 20 gDCO.L⁻¹ et un pH inférieur à 7.1, confirmant que ce sont bien les AGV qui ont causé le blocage du procédé dans ce réacteur.

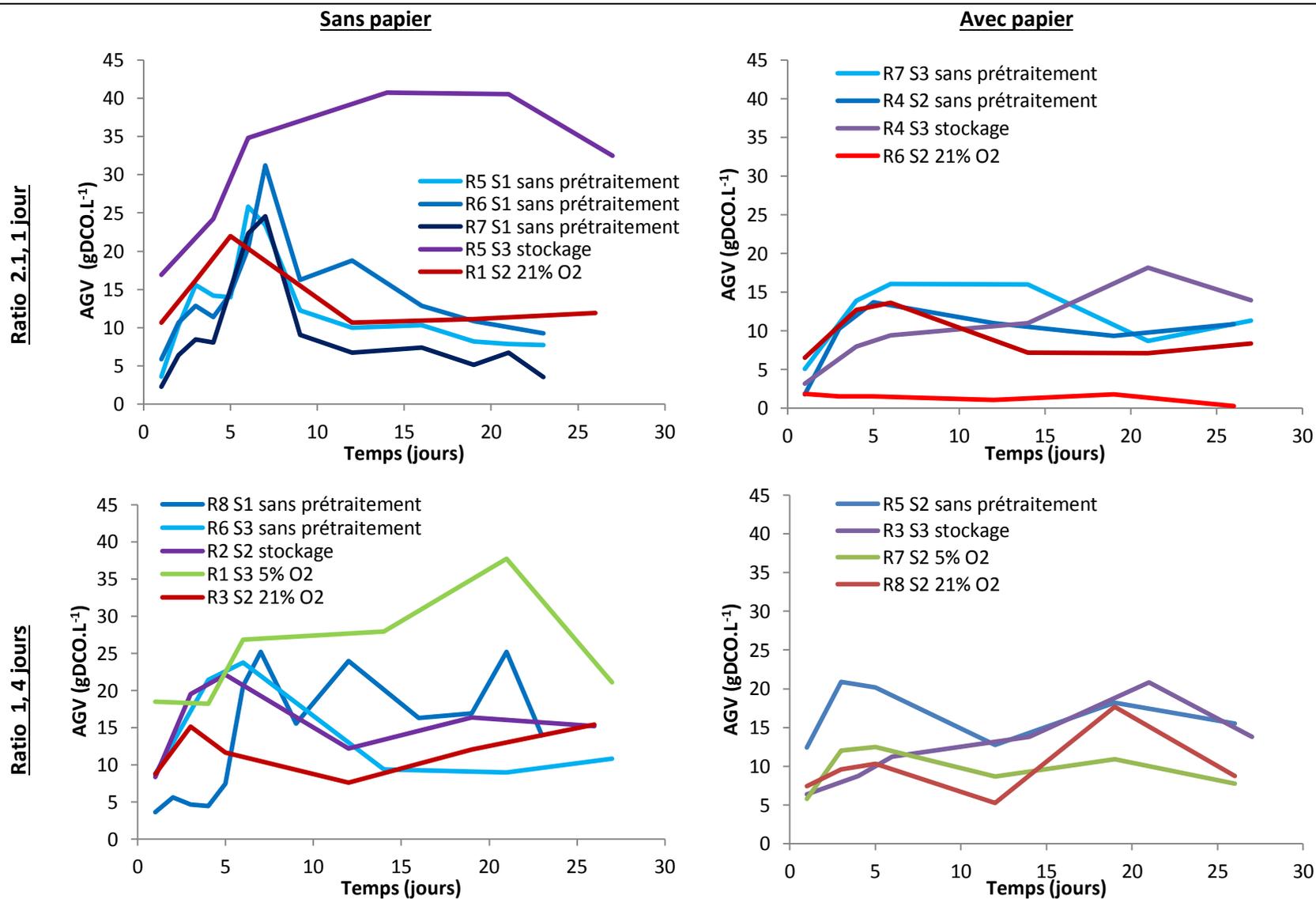


Figure 34. Evolution de la concentration en AGV pendant la digestion des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O₂ (vert) et 21%O₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)

Pour les conditions ratio 2.1, 1 jour avec papier, le comportement du réacteur avec 21%O₂ qui a présenté des mauvaises performances de production de méthane (R6S2), montre que la cause est le manque d'AGV dans le processus pour créer du méthane. Le comportement inattendu de ce réacteur pourrait être lié à un effet physique lié au chargement de la cellule empêchant un bon contact entre l'inoculum et le substrat. Ainsi, une seconde cellule réalisée avec les mêmes conditions expérimentales (R2S3), qui, elle, a donné lieu à une production de méthane cohérente, n'a pas du tout présenté le même profil de concentration en AGV. L'hypothèse de la limitation physique mériterait d'être vérifiée ultérieurement.

Pour le ratio 1, 4 jours, sans papier, la concentration en AGV pour le prétraitement à 5 %O₂ est plus importante que celle des expériences sans prétraitement, et ce tout au long du procédé. Elle est ainsi deux fois supérieure à celle du prétraitement à 21% d'O₂. Elle augmente lors de certaines recirculations (4 et 16 jours) et il est difficile de lier directement ses variations à la production de méthane. Cela donne au prétraitement à 5%O₂ un risque d'acidose plus important que sans prétraitement. Avec ce même ratio, pour la condition avec papier, les concentrations en AGV sont similaires entre tous les réacteurs, bien que la condition de stockage n'ait pas produit de méthane. L'hypothèse, selon laquelle le prétraitement aérobie pourrait limiter les risques d'acidose ultérieurs en digestion anaérobie est ici vérifiée, puisque tous les prétraitements aérobies à 21% conduisent à une évolution de la concentration en AGV à des niveaux globalement plus faibles et stables que sans prétraitement.

Si le pH n'a pas diminué dans tous les réacteurs malgré une augmentation de la concentration en AGV, c'est parce qu'à partir de 10 jours, des éléments (comme le NH₄⁺) ont pu se retrouver en concentration suffisante suite à la forte dégradation du déchet pour jouer leur rôle de tampon dans le lixiviat, permettant une stabilisation, puis une augmentation du pH. Une fois le pH de retour dans des gammes plus adaptées (> 7,1), la production de méthane, peut avoir lieu grâce à la reprise de la consommation d'acétate.

3.2.6. Suivi de la concentration en acétate et NH₄⁺

Pour se focaliser sur un des acides constituant les AGV, l'étude de la concentration en acétate a été réalisée. En général, nous pouvons observer que les tendances des courbes d'acétate sont similaires aux courbes des AGV totaux. A partir du jour 15, les deux courbes se découplent, avec une concentration en acétate quasiment nulle dans tous les réacteurs, à l'exception des réacteurs avec des fortes acidifications tels que les réacteurs R5S3 et R1S3. Ce changement de proportion peut correspondre à une consommation plus active de l'acétate par les méthanogènes, qui amène aussi à une production d'acide propionique (données non présentées). Pour les réacteurs avec de fortes

concentrations d'acétate après 15 jours (R5S3 et R1S3), les diminutions de performance de production de méthane pourraient donc être liées à une inhibition par fortes concentrations d'acide acétique.

Pour expliquer la diminution d'acétate mais sans la production de méthane comme pour le réacteur R3S3 (ratio 1, 4jours, avec papier, stockage), l'hypothèse que cet acétate a été consommé par d'autres microorganismes que des méthanogènes peut être posée. Il est connu, en effet, que les bactéries sulfato-réductrices (BSR) peuvent entrer en compétition avec les méthanogènes pour l'acétate, si la concentration en sulfate est non limitante à leur développement (Chen *et al.*, 2008; Moletta, 2008). Bien qu'aucun paramètre étudié ici ne donne de renseignement à ce sujet, il est possible que, dans ce cas particulier, la concentration en sulfate ait été différente des autres expériences, permettant le développement des BSR. En complément à l'activité des BSR, l'activité des méthanogènes présentes dans le lixiviat a pu, elle, être inhibée par d'autres composés présents dans le déchet suite au prétraitement. L'activité des méthanogènes peut être en effet inhibée par de trop fortes concentrations en ions ou encore en acides gras à longues chaînes, qui ont pu ne pas être suffisamment dégradés dans les premiers jours du fait de la faible activité de l'étape d'hydrolyse/acidogénèse dans le lixiviat. Ces inhibiteurs n'ayant pas d'impact sur l'étape d'acétogénèse, cela pourrait expliquer également pourquoi la production d'acétate a pu avoir lieu quand même dans le lixiviat, permettant de garder une concentration constante les premiers jours (Chen *et al.*, 2008).

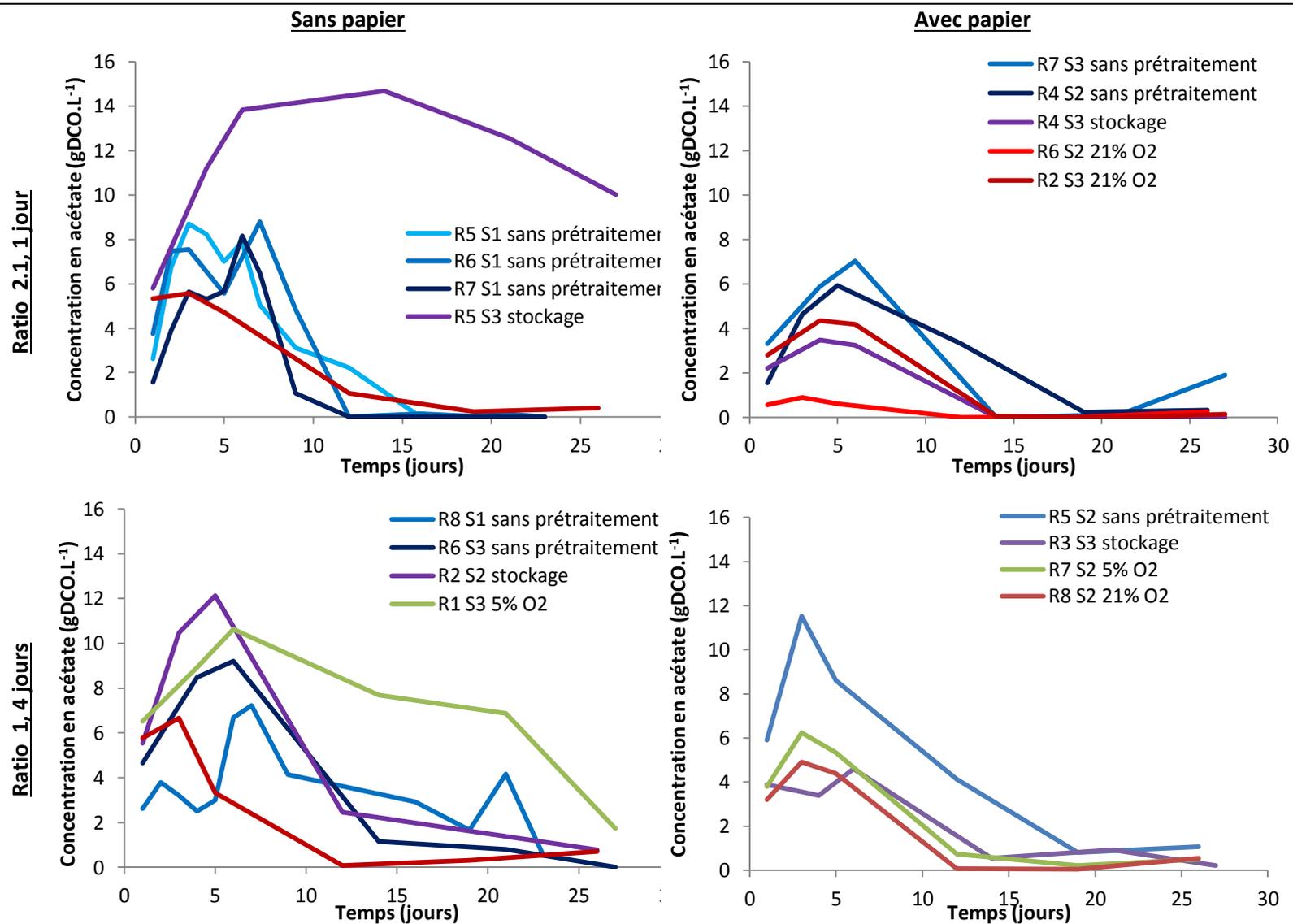


Figure 35. Evolution de la concentration en acétate pendant la digestion des déchets de cuisine avec différents prétraitements (sans prétraitement (bleu), stockage (violet), 5%O₂ (vert) et 21%O₂ (rouge)) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours)

En plus de l'acétate, il est intéressant aussi d'observer les variations des concentrations en NH_4^+ dans les réacteurs (Tableau 26). Il peut être observé que les variations dans la concentration de NH_4^+ sont faibles et sa valeur est principalement dominée par les concentrations dans l'inoculum initial (5.2). La variation la plus notable est pour la condition du ratio 1, 4 jours, sans papier, 5% O_2 , où la forte valeur de NH_4^+ dans la condition à 5% O_2 combinée à la forte concentration en AGV, donne beaucoup de facteurs d'instabilité à cette cellule. Selon Poggi-Varaldo *et al.* (1997), une concentration d'ammonium supérieure à 3.5 g.L^{-1} est inhibitrice pour la digestion anaérobique de déchets de cuisine. Or, la concentration en NH_4^+ est globalement très élevée dans les réacteurs, confirmant qu'une méthanisation par voie sèche reste robuste et peut supporter de dépasser les limites considérées comme inhibitrices sans présenter d'instabilités. De plus, ces fortes concentrations en NH_4^+ sembleraient faire effet tampon dans les réacteurs, évitant que les grandes quantités d'AGV amènent aux acidifications qui peuvent causer des instabilités, comme observé dans la section précédente.

Tableau 26. Concentration en NH_4^+ après 7 jours et à la fin de la digestion avec différents prétraitements (sans prétraitement, stockage, 5% O_2 et 21% O_2) pour les différentes conditions de méthanisation (déchets sans et avec papier ; ratio 2.1, 1 jour et ratio 1, 4 jours). Concentration initiale dans l'inoculum pour toutes les conditions : 5.2 g.L^{-1} .

Conditions de méthanisation	Déchet	Prétraitement	Code cellule	NH_4^+ , 7 jours (g.L^{-1})	NH_4^+ , fin d'expérience (g.L^{-1})		
Ratio L/S 2.1, recirculation chaque jour	Sans papier	Sans prétraitement	R5S1	5.4	6.0		
			R6S1	5.5	6.3		
		Stockage	R7S1	5.4	6.0		
			R5S3	5.9	6.7		
		21% O_2	R1S2	4.9	5.5		
			R4S2	4.9	5.7		
	Avec papier	Sans prétraitement	R7S3	4.9	5.6		
			R4S3	5.0	6.2		
		Stockage	R2S3	4.7	5.6		
			R6S2	4.8	5.1		
		Ratio L/S 1, recirculation chaque 4 jours	Sans papier	Sans prétraitement	R6S3	4.8	4.7
					R8S1	4.9	6.2
Stockage	R2S2			4.6	4.4		
5% O_2	R1S3		5.1	7.1			
	21% O_2		R3S2	4.7	4.9		
			R5S2	4.8	5.3		
Avec papier		Stockage	R3S3	4.8	5.4		
	R7S2		4.7	4.6			
	21% O_2	R8S2	4.6	4.8			

3.3. Modélisation des cinétiques de production

Comme il a pu être observé dans le chapitre 5, l'équation de Gompertz modifiée, se basant seulement sur la production cumulée de méthane, utilisée pour ajuster les données expérimentales, pourrait ne pas être adaptée pour décrire ce procédé. Il est plus intéressant d'observer les variations de la vitesse de production de méthane. Pour étudier plus en détail les cinétiques de production de méthane, la dérivée de l'équation de Gompertz modifiée a été utilisée. Cette dérivée a été à son tour modifiée pour mieux l'ajuster à deux pics de production de méthane comme observé dans le cas des essais avec les déchets de cuisine.

Les coefficients de détermination R^2 pour les courbes avec un et deux pics montrent que la simulation à deux pics est plus précise pour la plupart des réacteurs. Dans les cas où les coefficients sont similaires, la simulation à un seul pic pourrait modéliser correctement la vitesse de production de méthane. La plupart des cellules du ratio 1, 4 jours (6/9) peuvent être simulées par un seul pic de vitesse. Cela montre que ce couple ratio/fréquence de recirculation simplifie le comportement de la dégradation, probablement en masquant la dégradation rapide des fractions facilement biodégradables, peut-être en raison d'un contact moins régulier de l'inoculum avec le substrat. Dans les cas où la simulation à deux pics ne prédit pas non plus correctement les courbes ($R^2 < 0.5$ et production de méthane cumulée expérimentale supérieure à la valeur simulée), un troisième pic pourrait aider à mieux décrire les courbes. Dans ce cas, le premier pic pourrait représenter les fractions facilement biodégradables, le deuxième, les moyennes et le troisième, les plus difficiles à dégrader.

Selon la simulation, plusieurs cellules n'ont pas atteint 90% de leur dégradation théorique maximale pendant la durée des expérimentations (26-27 jours). Pour la plupart des réacteurs (à l'exception des réacteurs R5S3 et R1S3), un temps de séjour de 30-32 jours aurait permis des dégradations plus complètes et des plateaux de la courbe de production cumulée méthane auraient été observés plus facilement. Cependant, pour les réacteurs R5S3 et R1S3, il aurait probablement fallu entre 50 et 70 jours pour atteindre des productions suffisantes à l'étude de leurs plateaux. Ces deux conditions ont impacté fortement la dégradation des déchets de cuisine et il faudrait les éviter.

La vitesse moyenne journalière pour atteindre 90% de production de méthane est un indicateur du rendement de production de méthane qui peut permettre de comparer les réacteurs entre eux. Cet indicateur confirme que les conditions de méthanisation de ratio 2.1, 1 jour sans papier sont les plus adéquates pour produire plus de méthane plus rapidement ($17 \text{ NLCH}_4 \cdot \text{kgMV}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$ en moyenne). Le prétraitement à 21% O_2 sur ces conditions s'avère aussi très intéressant en comparaison avec la condition de prétraitement par stockage pour laquelle la vitesse de production est systématiquement plus lente.

Tableau 27. Réponses de la simulation des différentes expériences réalisées selon les conditions à considérer (déchet avec ou sans papier, type de prétraitement, ratio inoculum/déchet et fréquence de recirculation du lixiviat)

Conditions de méthanisation	Déchet	Prétraitement	Code cellule	Méthane cumulé expérimental (NLCH ₄ .kg MV ⁻¹)	Méthane cumulé simulé (P _∞) (NLCH ₄ .kg MV ⁻¹)	Temps pour atteindre 90% (jours)	Vitesse moyenne	R ²	R ²
							pour atteindre 90% de méthane (NLCH ₄ .kg MV ⁻¹ .jours ⁻¹)	Un pic	Deux pics
Ratio L/S 2.1 ; recirculation chaque jour	Sans papier	Sans prétraitement	R5S1	335,4	362,1	20,0	16,3	0,00	0,63
		Stockage	R6S1	370,6	343,9	21,7	14,3	0,03	0,53
		21% O ₂	R7S1	399,7	328,0	14,6	20,3	0,24	0,80
		Sans prétraitement	R5S3	145,6	373,9	69,4	4,8	0,05	0,87
		21% O ₂	R1S2	355,8	268,9	15,6	15,5	0,60	0,76
	Avec papier	Sans prétraitement	R4S2	214,1	277,3	31,5	7,9	0,84	0,89
		Stockage	R7S3	275,0	322,0	29,3	9,9	0,50	0,77
		21% O ₂	R4S3	207,0	254,9	31,1	7,4	0,11	0,81
		Sans prétraitement	R2S3	281,4	292,7	22,7	11,6	0,88	0,88
		21% O ₂	R6S2	126,9	137,1	24,8	5,0	0,08	0,84
Ratio L/S 1, recirculation chaque 4 jours	Sans papier	Sans prétraitement	R6S3	142,5	188,8	28,6	5,9	0,47	0,47
		Stockage	R8S1	215,8	267,0	32,5	7,4	0,02	0,34
		5% O ₂	R2S2	124,9	144,3	27,4	4,7	0,46	0,66
		21% O ₂	R1S3	161,2	303,3	50,8	5,4	0,70	0,71
	Avec papier	Sans prétraitement	R3S2	170,3	220,8	31,5	6,3	0,33	0,35
		Stockage	R5S2	90,2	96,0	25,3	3,4	0,37	0,76
		5% O ₂	R3S3	5,6	10,8	6,7	1,5	0,39	0,45
		21% O ₂	R7S2	95,8	110,0	24,0	4,1	0,69	0,69
		21% O ₂	R8S2	105,7	130,1	29,1	4,0	0,41	0,41

En présence de papier, le prétraitement aérobique préalable semble pouvoir accélérer la cinétique de production de méthane et atteindre une production cumulée plus importante que sans prétraitement, là où le stockage montre des faibles rendements. Les tendances sont les mêmes quelle que soit la condition de recirculation mise en œuvre, mais l'amélioration apportée par le prétraitement semble plus évidente dans les conditions de mise en œuvre les plus limitantes pour le procédé, c'est-à-dire ratio 1, 4 jours. Enfin le prétraitement à 5%O₂ est toujours moins efficace que celui à 21%O₂. Ces résultats, associés à la difficulté technique de mise en œuvre de ce pourcentage d'oxygène, en font des conditions de traitement non pertinentes.

Quant au ratio 1, 4 jours, il s'est montré moins efficace au long de toutes les expériences pour produire du méthane avec les déchets de cuisine, comme le confirme l'indicateur de vitesse. La présence de papier montre une diminution accrue de l'efficacité de traitement, et une inhibition totale est observée lors de la condition avec stockage des déchets.

3.4. Analyse statistique des résultats

L'analyse statistique (Tableau 28) des résultats obtenus avec les simulations de la dérivée de Gompertz modifiée a permis de déterminer si les prétraitements montrent des impacts significatifs sur la performance de la digestion et s'ils interagissent avec les conditions de méthanisation.

Tableau 28. Valeurs de probabilité de l'analyse de variance pour les différentes réponses du plan d'expérience. Entre parenthèse, condition impactant significativement et positivement la réponse pour : substrat (1) sans papier (2) avec papier et pour le ratio (1) ratio 2.1, 1jour (2) ratio 1, 4 jours

	Méthane cumulé simulé (P _∞)	Vitesse maximale 1	Vitesse maximale 2	Phase de latence 2 (λ ₂)	Vitesse moyenne pour 90% de méthane	Réduction volume de déchet
A:Substrat	0,0019(1)	0,0003 (1)	0,0011 (1)	0,9317	0,0133 (1)	0,3040
B:Ratio	0,0001(1)	0,0001 (1)	0 (1)	0,3199	0,001 (1)	0,4923
C:Pretraitement	0,2624	0,339	0,3778	0,5281	0,1226	0,1649
Interaction AB	0,2287	0,0045	0,0741	0,0764	0,2416	0,5683

L'analyse de variance montre que les conditions de composition du substrat (avec ou sans papier) et le ratio/fréquence de recirculation (ratio 2.1, 1 jour ou ratio 1, 4 jours) sont les facteurs les plus impactants sur la réponse (significativité supérieure à 95%). Cela confirme les résultats du chapitre 5. Seule la phase de latence n'est impactée significativement par aucune des conditions étudiées. Les conditions de mise en œuvre de la méthanisation restent la première cause de variations du comportement de la digestion anaérobique. Il peut être observé que toutes les réponses ont réagi positivement avec la condition ratio 2.1, 1 jour sans papier. Parmi les conditions testées dans ces travaux de thèse, cette condition est donc la condition à privilégier pour traiter les déchets

de cuisine de la manière la plus efficace. Les prétraitements ne montrent pas d'effets significatifs à un niveau de confiance de 95%. Cependant, la vitesse moyenne pour atteindre 90% de la production maximale de méthane et la réduction de volume de déchet sont sensibles aux prétraitements, avec des niveaux de confiance de 88% et 84% respectivement, qui du point de vue des variations à l'échelle pilote peuvent être considérés comme acceptables. La Figure 36 montre que les conditions sans prétraitement et avec un prétraitement à 21% d'O₂ ont des performances comparables en terme de vitesse moyenne de production de méthane et de réduction du volume initial de déchet, alors que le stockage impacte négativement ces performances.

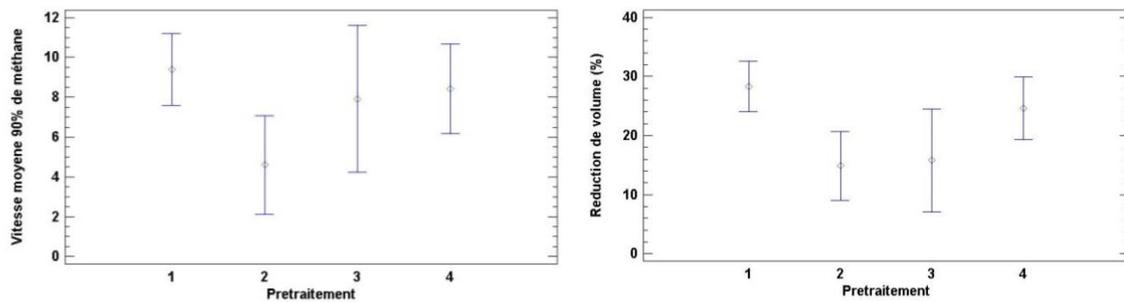


Figure 36. Résultats statistiques pour les réponses : (a) vitesse moyenne pour atteindre 90% de méthane (NLCH₄.kg MV⁻¹.jours⁻¹) et (b) réduction de volume de déchet pour le prétraitement 1 : sans prétraitement, 2 : stockage, 3 : 5%O₂ et 4 : 21%O₂. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 88 et 75% respectivement.

Il faut souligner que cette analyse ne porte que sur la performance de production de méthane. L'analyse statistique de l'effet du prétraitement sur la concentration en AGV ou la production d'acétate aurait pu mettre en lumière d'autres impacts significatifs des prétraitements.

De même, les conditions de recirculation étant le facteur le plus important de la performance de production de méthane, ce facteur devrait être étudié plus précisément pour trouver les gammes de fonctionnement les plus efficaces tout en recherchant un compromis d'économie (quantité recirculée et fréquence de recirculation).

4. Conclusion

Ce chapitre a permis d'étudier l'effet d'un prétraitement aérobique sur la performance de la digestion anaérobique des déchets de cuisine via un procédé de méthanisation sèche. L'étude de différents indicateurs de la performance de la digestion anaérobique (bilan DCO, NTK, taux de BMP atteint, production cumulée de méthane, AGV, pH, etc) s'est montrée utile pour observer les différences entre les différentes conditions de méthanisation et des prétraitements. Les principaux résultats de cette étude sont présentés dans le tableau récapitulatif suivant:

Conditions méthanisation/Type de déchet	Sans papier	Avec papier
Ratio 2,1/ recirculation journalière	<ul style="list-style-type: none"> - Stockage = danger (fortes concentrations AGV) ☹ - 21 % O₂ = stabilité des AGV sans perte de production + vitesse élevée au démarrage ☺ - 5% non testé 	<ul style="list-style-type: none"> - Stockage = diminution production de CH₄ ☹ - Attention au 21%O₂ : résultats contrastés (amélioration ou diminution de la production) ☹ - 5% non testé
Ratio 1/ recirculation tous les 4 jours	<ul style="list-style-type: none"> - Stockage = diminution de la production ☹ - 5% = pas de diminution de la production mais concentration AGV élevées ☹ - 21% = stabilité des AGV sans perte de production + vitesse élevée/stable au démarrage ☺ 	<ul style="list-style-type: none"> - Stockage = non production ☹ - 5% et 21 % = stabilité des AGV sans perte de production + vitesse de production élevée/stable au démarrage ☺ ➔ difficulté de mise en œuvre du 5%, préférer le 21%

Malgré le fait que les résultats soient bien répétables, les effets de la mise en œuvre de la digestion semblent pouvoir masquer les effets des prétraitements. Le couple ratio/fréquence de recirculation a impacté fortement les résultats. De plus, les résultats ont montré que la présence de papier dans les déchets ajoute de la variabilité au substrat, ce qui impacte sur le démarrage des étapes de la méthanisation (ratio 2.1, 1 jour, stockage en inhibition totale par acidification et ratio 1, 4 jours avec papier, stockage en inhibition totale par manque d'AGV). Cette variabilité pourrait peut-

être être réduite par l'action d'un prétraitement mais, avec les résultats actuels, il n'est pas possible de l'affirmer. Pour mieux observer les impacts du prétraitement, il serait donc nécessaire de fixer des conditions de méthanisation plus ciblées et de faire des triplicatas de chaque condition de prétraitement pour surpasser les effets du substrat.

Il faut noter que la production d'AGV a été très élevée en comparaison des limites généralement admises comme inhibitrices. Peu de réacteurs ont montré des inhibitions par acidification. Cela peut être attribué aux fortes concentrations en NH_4^+ , qui étaient aussi au-delà des seuils considérés comme inhibiteurs. Cela a vraisemblablement agi comme tampon à l'acidification, empêchant les fortes modifications du pH dans les réacteurs, et gardant l'équilibre pour la méthanisation. Cependant, dans des conditions opérationnelles de plus grande taille, cette grande quantité d'AGV et de NH_4^+ pourrait conduire à des instabilités qui sont parfois irréversibles, d'autant plus si les déchets ont subi un stockage. Dans ce contexte, le prétraitement aérobie prend tout son sens pour réguler les concentrations excessives en AGV et les variations de pH.

Les simulations ont été utiles pour décrire quantitativement les courbes de production de méthane et les vitesses de production. Les modifications pour caler la vitesse de production de méthane se montrent plus réalistes que pour le méthane cumulé. Cependant, les nouveaux paramètres de vitesse ne reflètent pas leurs véritables valeurs à cause de l'interpolation entre les deux courbes représentant les deux pics de la cinétique. Un calcul semi-manuel plus difficile est donc nécessaire. Des améliorations peuvent encore être proposées dans les équations modifiées pour une interprétation plus simple et pour inclure un troisième pic de vitesse de production de méthane, qui pourrait mieux expliquer la dégradation plus tardive de certaines fractions de la matière organique des déchets de cuisine.

L'étude statistique a confirmé les résultats du chapitre 5 et les observations au long de ce chapitre : les conditions de méthanisation restent la première cause de variation de la performance de la digestion anaérobie. Peu importe le prétraitement utilisé, la méthanisation avec ratio 2.1, 1 jour de déchets de cuisine sans papier est la condition significativement la plus favorable pour presque la totalité des réponses étudiées. Les prétraitements ont montré un impact sur les réponses choisies (vitesse moyenne de production de 90% du méthane et volume de réduction des déchets) et pourraient montrer un impact sur des réponses non prises en compte dans cette étude statistique (production AGV, concentration en acétate, etc.).

Finalement, d'autres caractérisations des déchets au cours du procédé pourraient apporter des réponses aux variations observées, comme par exemple les variations dans la population bactérienne, fongique et des *Archaea*. Elles permettraient de comprendre plus clairement les variations des concentrations d'acétate, les facteurs favorisant ou retardant leur consommation. Le

suivi de l'hydrogène pourrait aussi être intéressant pour vérifier si certains bilans DCO plus faibles sont dus à une production d'hydrogène qui aurait été favorisée dans certaines conditions de méthanisation ou par un prétraitement.

Références

ADEME. 2014. Guide méthodologique pour le suivi et l'établissement des bilans de performances d'une installation de méthanisation.

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, **99**(10), 4044-4064.

Degueurce, A., Tremier, A., Peu, P. 2016. Dynamic effect of leachate recirculation on batch mode solid state anaerobic digestion: Influence of recirculated volume, leachate to substrate ratio and recirculation periodicity. *Bioresour Technol*, **216**, 553-61.

Díaz, I., Donoso-Bravo, A., Fdz-Polanco, M. 2011. Effect of microaerobic conditions on the degradation kinetics of cellulose. *Bioresource Technology*, **102**(21), 10139-10142.

Lü, F., Xu, X., Shao, L., He, P. 2016. Importance of storage time in mesophilic anaerobic digestion of food waste. *Journal of Environmental Sciences*, **45**, 76-83.

Moletta, R. 2008. *La méthanisation*. Tec et Doc.

Poggi-Varaldo, H., Rodriguez-Vazquez, R., Fernandez-Villagomez, G., Esparza-Garcia, F. 1997. Inhibition of mesophilic solid-substrate anaerobic digestion by ammonia nitrogen. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **47**(3), 284-291.

Zhang, Y., Banks, C.J., Heaven, S. 2012. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. *Journal of Environmental Management*, **104**(0), 166-174.

Chapitre 7 : Conclusions et perspectives

La forte production de déchets de cuisine de par le monde amène les différents acteurs sociaux, politiques et économiques à prendre des mesures pour leur réduction et leur valorisation. Diverses campagnes de sensibilisation pour la réduction du gaspillage alimentaire sont d'actualité. Pourtant, une trop grande quantité de déchets organiques continue à aboutir à l'incinérateur ou à la décharge, où ils produisent des substances nocives pour l'environnement (lixiviats chargés en matière organique, méthane, ...) ou encore génèrent des surcoûts, par exemple en incinération en tant que déchet à faible pouvoir calorifique. Le traitement biologique des déchets par méthanisation présente dans ce cadre l'atout incontournable de valoriser le potentiel putrescible des déchets par la génération de biogaz et de digestat qui peut être utilisé comme fertilisant organique. Compte tenu de la forte incitation réglementaire à la collecte et valorisation des déchets de cuisine, le développement de procédés de méthanisation de proximité et à petite échelle montre un important potentiel d'essor. La stabilité et l'efficacité du procédé représentent alors des enjeux cruciaux pour valider cette échelle de fonctionnement. L'état de l'art a ainsi permis d'identifier que dans le procédé de méthanisation, l'étape d'hydrolyse est l'étape clé à maîtriser et qu'un prétraitement aérobie des déchets de cuisine pourrait être utile pour limiter les risques d'instabilité en méthanisation.

Ce travail de thèse avait donc un double enjeu. Le premier but était celui de répondre aux questions plus académiques liées à la manière dont un prétraitement aérobie peut affecter la composition des déchets de cuisine, et modifier le comportement de la digestion anaérobie lui succédant. D'autre part, les recherches effectuées devaient permettre de répondre à des questions plus opérationnelles concernant le type de procédé à utiliser et le mode de mise en œuvre à préconiser pour appliquer le prétraitement. Pour atteindre ces objectifs, trois étapes ont été nécessaires : (a) étudier en détail les caractéristiques des déchets dits de cuisine et connaître leurs plages de variation, (b) identifier les paramètres des déchets de cuisine qui se voient impactés par un prétraitement aérobie et observer les impacts sur la traitabilité anaérobie des déchets de cuisine et (c) étudier la mise en œuvre et les impacts du prétraitement aérobie en amont d'un digesteur anaérobie à l'échelle pilote.

1. Avancées des connaissances et perspectives sur les caractéristiques des déchets dits de cuisine

La première étape de connaissance des caractéristiques de déchets de cuisine a été indispensable étant donnée la sensibilité de la digestion anaérobie au substrat. Il a été observé que les déchets de cuisine utilisés pour différents types de valorisations (fermentation, compostage, production d'hydrogène, méthanisation, etc.) montrent de fortes variations dans leurs caractéristiques (physico-chimiques, biochimiques, élémentaires, etc.). Pour ces raisons, une compilation et une étude

statistique des données de la littérature décrivant les caractéristiques des déchets de cuisine ou assimilés a été réalisée.

Les résultats de cette large analyse bibliographique ont montré que les déchets de cuisine sont effectivement très variables, avec des CV pouvant passer de 9% à 250% pour certaines caractéristiques comme les nutriments, micronutriments et les métaux lourds. Seuls le pH et le BMP présentent des CV inférieurs à 20%. Dégager deux caractéristiques stables est important pour l'étude de la méthanisation. Leurs valeurs peuvent en effet être raisonnablement utilisées par exemple pour des analyses de cycle de vie ou pour des pré-dimensionnements de procédés. D'autres caractéristiques telles que la MS, la MV, la composition élémentaire, la teneur en cellulose ou l'azote ammoniacal total ont montré des variations qui peuvent être liées à leur origine (localisation géographique, source de production et saison). Des valeurs moyennes ont respectivement été proposées selon leurs origines (chapitre 2, table 3) qui peuvent être utilisées comme des valeurs plus exactes pour des besoins de pré-dimensionnement ou d'analyses environnementales. Il est intéressant de noter qu'aucune différence significative des caractéristiques n'a pu être trouvée entre des déchets de cuisine provenant de restaurants, de ménages (biodéchets collectés séparément) ou de grandes et moyennes surfaces (GMS). Les caractéristiques pour ces trois sources de déchets peuvent donc être considérées comme comparables. Cela pourrait signifier que les déchets de ces trois sources pourraient être traités de manière similaire et que tout nouveau développement d'équipement et de technologie serait valable pour l'ensemble de ces gisements. Aujourd'hui les GMS ont obligation de valoriser leurs déchets. L'expérience acquise pourrait donc être transposable à la valorisation des déchets de restauration et des déchets de collectivités. Cependant, les déchets de GMS sont en général valorisés en codigestion avec des déchets de cultures ou animaux. Les conditions de méthanisation ne sont donc pas équivalentes aux conditions de digestion du déchet de cuisine seul qui pourrait intéresser les ménages ou les restaurateurs et dont la connaissance doit être développée.

La détermination de valeurs moyennes des caractéristiques des déchets de cuisine a permis d'émettre des hypothèses simples quant au comportement des déchets de cuisine durant une digestion anaérobie. Déjà, les valeurs de MV, DCO et BMP ont confirmé que les déchets de cuisine présentent effectivement un fort potentiel de méthanisation, un tonnage de déchets de cuisine moins important qu'avec des déchets d'élevage par exemple étant nécessaire pour récupérer une quantité d'énergie équivalente. Le taux de MS des déchets amène à préférer une valorisation par voie dite « sèche », réduisant les besoins en eau qu'exigent les procédés par voie « humide ». De plus, de possibles facteurs d'instabilités ou de diminutions de rendement pourraient être observées

plus spécifiquement pour certaines sources de déchets : par exemple hautes teneurs en sucres simples, en NH_4^+ (déchets de cuisine avec déchets verts), en cellulose (fraction fermentescible des ordures ménagères) ou un faible ratio C/N (déchets collectés en été). Il est donc important de prendre en considération la source des déchets de cuisine et de savoir que dans leurs gammes de variation, certaines caractéristiques peuvent s'avérer inhibitrices pour le procédé de digestion.

Une caractérisation expérimentale de 3 nouveaux échantillons de déchets dits de cuisine dans les conditions analytiques de notre laboratoire, ont étoffé l'analyse bibliographique par l'étude de caractéristiques moins communément décrites dans la littérature. Les valeurs expérimentales mesurées sont, à quelques exceptions près, en accord avec celles trouvées dans la compilation bibliographique, montrant à nouveau des valeurs adaptées à la digestion anaérobie. La composition typologique des déchets a par ailleurs permis d'identifier des causes de variation de certaines caractéristiques. Par exemple, les taux de papier et de légumes ont montré être fortement liés à la densité des déchets (le papier négativement et les légumes positivement). La densité étant un paramètre d'importance pour le dimensionnement des réacteurs de méthanisation, cette partie de la thèse montre la possibilité de s'appuyer sur l'étude de la typologie pour l'estimation de la taille des réacteurs.

Pour ce qui est des variations entre les types de déchets collectés, un résultat contrasté avec les résultats bibliographiques a été remarqué : les biodéchets ménagers se distinguent nettement dans leurs caractéristiques des déchets de restaurants. Cela peut-être expliqué par la différence de collecte entre les déchets. En effet, les déchets de restauration ont été collectés le jour même de leur production, tandis que les déchets ménagers ont passé un séjour de quelques jours dans des bennes de collecte avant échantillonnage. Ce temps de stockage a conduit vraisemblablement à un état de décomposition beaucoup plus avancé qui a impacté plusieurs caractéristiques physicochimiques et biologiques. C'est aussi le cas des caractéristiques microbiologiques, qui ont montré une flore totale plus importante et la prédominance d'espèces productrices d'acides, pouvant favoriser des instabilités du procédé de méthanisation ultérieurement. La pré-dégradation avant prélèvement subie par les biodéchets ménagers semble aussi conduire à de meilleures valeurs de biodégradabilité anaérobie (exprimée par rapport à la matière volatile) et à des variations dans la taille des molécules organiques hydrosolubles. Tous ces résultats amènent à conclure qu'un fort impact potentiel des conditions de collecte des déchets de cuisine est aussi à prendre en compte pour éviter des modifications de caractéristiques qui pourraient amener à des instabilités ou à la perte du potentiel de dégradation.

Les travaux de la première étape de la thèse ont permis de connaître en profondeur les déchets de cuisine et ont aidé à identifier les types de déchets à choisir pour poursuivre les travaux et les caractéristiques à surveiller. C'est pourquoi pour la suite de la thèse, il a été choisi d'utiliser des déchets de restauration collectés à la source pour éviter des problèmes de dégradation excessive par le temps de stockage et permettre d'extrapoler les résultats aux déchets ménagers et de GMS.

Les perspectives directes de poursuite des travaux pour ce premier axe de la thèse sont les suivants :

- La création d'une base de données participative online pourrait aider à collecter les données de différents chercheurs et à les mettre à disposition pour une analyse statistique ultérieure, avec des données nombreuses, disponibles et à jour. Les modèles statistiques de traitements adaptées aux big data pourraient ainsi permettre de répondre à des questions de recherche variées telles que l'efficacité d'une nouvelle loi (comparaison des typologies dans le temps) ou l'évolution des habitudes de tri des ménages. De même, une base de données pourrait encourager l'harmonisation dans les méthodes d'analyse, des difficultés à comparer certaines caractéristiques (spécialement les métaux lourds et les micronutriments) ayant été rencontrées lors de cette étude bibliographique.
- Dans la continuité de cette étude, des équations de prédiction liant des caractéristiques, comme par exemple la densité à la typologie des déchets, pourraient être déterminées à condition de multiplier les essais pour apporter plus de représentativité aux résultats.

2. Avancées et perspectives sur la compréhension de l'effet d'un prétraitement aérobie et des processus inhérents

La deuxième étape de la thèse a permis d'aborder la compréhension de l'effet de l'aération contrôlée sur les caractéristiques des déchets de cuisine. Les travaux développés durant cette étape se sont caractérisés par une approche multidisciplinaire (génie de procédés, chimie analytique, enzymologie, microbiologie) pour chercher à connaître de manière plus holistique les impacts de l'aération sur les caractéristiques d'un déchet encore peu étudié.

Des essais de dégradation aérobie de 4 jours ont été réalisés simultanément dans 4 réacteurs recevant chacun un même débit de gaz à différentes concentrations d'oxygène. Le choix de différentes concentrations en oxygène avait vocation à témoigner de l'impact de la disponibilité de l'oxygène dans le gaz injecté. Parmi les conditions testées, les concentrations inférieures à la concentration en oxygène dans l'air ambiant (5%O₂ et 10%O₂) dans le gaz du prétraitement se sont

montrées limitantes en oxygène pour une dégradation aérobie. Des variations significatives directes pour les conditions ultérieures de la digestion anaérobie n'ont pas été observées entre les différentes concentrations d'oxygène après 2 jours de prétraitement. Néanmoins, un prétraitement avec une concentration en oxygène diminuée est techniquement plus complexe à mettre en œuvre (réglage d'équilibre N_2 - air conditionné) et est donc moins conseillée qu'un traitement avec air ambiant. De son côté, l'injection de gaz à 21% O_2 a permis aux microorganismes aérobies d'hydrolyser la matière en conditions non-limitantes. En effet, avec l'augmentation du taux d'oxygénation dans le gaz injecté, plusieurs caractéristiques des déchets ont été impactées. Du point de vue microbiologique, il a été constaté une augmentation de la quantité et de la diversité des enzymes hydrolytiques, une diversification des espèces microbiennes, une augmentation de la quantité de champignons et de la proportion des molécules organiques hydrosolubles moins facilement biodégradables. Dans le même temps, l'aération a provoqué une diminution des sucres simples (glucose, fructose, saccharose), des acides gras volatils et de la proportion des molécules organiques hydrosolubles facilement biodégradables d'autant plus fortement que la concentration en oxygène était élevée.

Dans toutes les conditions d'aération, le potentiel de production de méthane par rapport à la matière brute est resté similaire pour des temps de prétraitement allant jusqu'à 2 jours. Il diminue d'environ 7% après 4 jours de prétraitement pour toutes les conditions de prétraitement, diminution qui a été liée aux pertes de MV. La production de méthane par rapport à la matière volatile reste quant à elle similaire tout au long du prétraitement aérobie. Cette stabilité dans le BMP par rapport à la MV a été expliquée par l'évolution des caractéristiques biochimiques et biologiques qui rendrait plus accessible à la dégradation anaérobie certaines fractions de la matière organique des déchets de cuisine.

Les communautés bactériennes ont été impactées par le prétraitement aérobie, dès le premier jour d'exposition. Le changement d'une population bactérienne productrice d'acides gras volatils (*Firmicutes*) à une population bactérienne qui dégrade les acides gras volatils (comme *Acetobacter*) dépend du taux d'oxygène utilisé durant le prétraitement. Cette évolution arrive entre 1 et 2 jours d'aération pour les déchets prétraités à 21% O_2 . Le changement est renforcé lorsque le prétraitement est prolongé dans le temps (4 jours), parallèlement à la production d'exoenzymes, la consommation de sucres simples et la réduction de VFA. Cet impact du prétraitement pourrait être particulièrement adapté pour diminuer de forts risques d'instabilités par acidification durant la digestion anaérobie. Ce type de prétraitement long pourrait donc être utile dans le cas de forts risques d'instabilités par

acidose, mais au prix de la perte de potentiel de méthane. Son implémentation devrait donc être analysée soigneusement au cas par cas.

Sur la base des travaux déjà réalisés, les perspectives de poursuite de travaux pour cette deuxième étape de la thèse sont les suivantes :

- Les résultats de l'application d'autres stratégies d'aération pourraient être comparés aux résultats obtenus dans cette étape. La variation du débit d'aération, une aération séquencée, la pressurisation des déchets avec de l'air ou bien une micro aération durant la digestion anaérobie pourraient donner d'autres indications sur la façon dont la matière organique des déchets de cuisine évolue au contact de l'oxygène.
- L'augmentation des molécules hydrosolubles moins biodégradables ($SOL > 1.5kDa$) avec le prétraitement aérobie a été un résultat difficile à expliquer. En effet, cette variation pourrait provenir de la dégradation de la matière organique non soluble. Cependant, les résultats n'ont pas été concluants par rapport à la variation de ces fractions. Il faudrait suivre l'hydrolyse spécifique des carbohydrates structuraux tels que la cellulose, l'hémicellulose et de la lignine avec des techniques plus précises que les techniques utilisées dans la thèse pour pouvoir découvrir l'origine de l'augmentation des molécules $SOL > 1.5kDa$. De plus, la composition de la fraction SOL_{NDF} du fractionnement VanSoest, qui théoriquement est initialement la fraction la plus facilement biodégradable entre les fractions solides, n'a pas montré de variations pendant le prétraitement et mérite donc d'être étudiée plus précisément.
- Des recherches plus spécifiques par rapport aux enzymes développées dans les déchets après un prétraitement aérobie pourraient donner plus de réponses par rapport à la capacité de dégradation de la matière organique pendant le prétraitement. En effet, une production plus importante d'exoenzymes extracellulaires a été constatée dans des conditions d'aération à 21% O_2 et des enzymes hydrolytiques attachées à la paroi cellulaire dans des conditions d'aération avec une plus faible concentration d'oxygène. Cette production d'enzymes pourrait rendre plus disponibles certaines fractions de la matière organique pour la digestion anaérobie. Des études plus détaillées par rapport à l'impact de la production d'enzymes avec l'oxygène sont donc conseillées.
- Le développement de champignons durant le prétraitement des déchets a été principalement localisé sur les pelures d'agrumes et sur les os avec des restes de viande. Il serait donc intéressant d'étudier si la présence ou la variation de ces fractions pourrait aider

à accroître l'action des champignons développés pour rendre plus disponibles certaines fractions de la matière organique pour la digestion anaérobie.

3. Avancées et perspectives sur le couplage de procédés : prétraitement aérobie + digestion par voie sèche de type LBR

La dernière étape de la thèse avait pour objectif d'observer l'impact d'un prétraitement aérobie sur la digestion anaérobie des déchets de cuisine à l'échelle pilote. La méthanisation dite en voie « sèche » avait été identifiée dans la littérature comme un des procédés les plus intéressants pour la digestion anaérobie des déchets de cuisine et a donc été utilisée pour cette expérience. La méthanisation sèche étant peu étudiée pour les déchets de cuisine seuls, une première partie de cette étape s'est intéressée à l'étude des performances de ce procédé. Etant donné qu'une recirculation d'inoculum est nécessaire, deux conditions contrastées (montrant des résultats de production de biogaz comparables dans le cas de fumiers bovins) ont été choisies : un ratio substrat inoculum de 2.1 avec une fréquence de recirculation journalière et un ratio substrat inoculum de 1 avec une fréquence de recirculation d'une fois chaque quatre jours. De plus, pour observer l'impact du substrat, trois conditions ont été choisies : déchets de cuisine seuls, déchets avec structurant inerte et déchets avec ajout de papier. Les principaux résultats des prétraitements ont permis de conclure que :

- La digestion anaérobie des déchets de cuisine se déroule correctement avec des conditions de recirculation journalière, un ratio d'inoculum/substrat de 2.1 et sans ajout de papier. Il a été possible dans ces conditions d'obtenir une production d'environ 80% du BMP, une dégradation de plus de 60% de la MV après 27 jours de digestion et une réduction de 40% du volume des déchets.
- Une fréquence de recirculation moins régulière (1 fois chaque 4 jours) avec un faible ratio inoculum/substrat (1) a montré des effets négatifs pour la production de méthane, que ce soit dans les conditions sans ou avec papier. Un pic de la vitesse de production de méthane a été observé à chaque recirculation. Cela a permis de conclure que c'est bien la recirculation du lixiviat qui donne les conditions pour un bon déroulement de la production de méthane.
- Les déchets n'ont pas présenté de problèmes de tassement durant la digestion anaérobie, l'utilisation de structurant dans les déchets s'est donc avérée peu pratique. De plus, une réduction de la production de méthane ramenée à la masse organique a été constatée avec

l'ajout de structurant. Cela a été principalement attribué à un mauvais contact de l'inoculum avec les déchets, qui a donc réduit l'efficacité de la digestion.

- La présence de papier (5% du poids humide) a diminué de 20% la production de méthane à l'échelle pilote. Il est donc important lors de calculs de dimensionnement de prendre en compte le taux de papier dans les déchets de cuisine.
- Aucune acidification massive n'a été observée au long des expériences, même si les concentrations en AGV ont dépassé dans quelques réacteurs les 20 gDCO par litre de lixiviat, concentration considérée comme inhibitrice par de nombreux auteurs. Parallèlement, des concentrations très élevées en ammonium (supérieures à 5 g.L⁻¹) ont été constatées dans tous les réacteurs, sans provoquer d'instabilité. Cette concentration a sans doute provoqué un effet tampon et semble être la source des faibles variations de pH observées malgré de fortes concentrations en AGV.

Finalement dans la deuxième partie de cette étape, l'étude de l'effet des prétraitements en amont de la digestion a été réalisée. Les résultats des chapitres 3 et 4 ont permis de fixer les types de prétraitements testés : un prétraitement avec 21%O₂ pendant 2 jours pour étudier l'impact d'une aération similaire à l'air ambiant, un prétraitement à 5%O₂ pour étudier l'impact d'une aération limitée et un stockage pendant 2 jours pour étudier l'impact d'une exposition à l'air d'une manière non contrôlée qui a montré des variations dans les caractéristiques de biodégradabilité au chapitre 3. Les principaux résultats des prétraitements ont permis de conclure que :

- Le prétraitement avec 21%O₂ conduit à une production d'AGV stable et équilibrée par rapport à leur consommation, permettant donc d'éviter leur accumulation qui pourrait produire des inhibitions. Une augmentation de la vitesse de démarrage de production de méthane a été observée pour les conditions de méthanisation avec papier. Cela reste à confirmer par des essais complémentaires dû aux instabilités constatées pendant la digestion anaérobie attribuées à la présence de papier dans les déchets (possible effet d'absorption du lixiviat rendant plus difficile le contact entre les microorganismes et le substrat ?).
- Les prétraitements avec 5%O₂ ont favorisé l'accumulation d'AGV. Cela confirme que des conditions limitantes en oxygène favorisent les voies de dégradation fermentaires pendant le prétraitement, lesquelles persévèrent par la suite pendant la digestion anaérobie. Ce type de prétraitement n'est donc pas conseillé.
- La condition de stockage à l'air libre a montré les résultats les plus étonnants par rapport aux autres prétraitements. De fortes diminutions de la production de méthane ont été observées pour les conditions qui ont été identifiées comme les plus intéressantes pour la digestion des déchets de cuisine (déchets sans papier, ratio L/S 2.1 avec une fréquence de recirculation

journalière). Les hypothèses d'explication de ces résultats sont que, pendant le stockage (conditions anoxiques), les microorganismes des déchets étaient plus adaptés à produire et accumuler des AGV que dans les conditions avec aération. Cela a produit une acidification rapide dans les premiers jours de digestion dépassant le seuil d'inhibition (20 gDCO.L^{-1}). Les méthanogènes ont donc été possiblement inhibées et la production d'AGV s'est poursuivie.

Sur la base de ces résultats, les perspectives de poursuite de travaux pour cette troisième étape de la thèse sont les suivantes :

- Dans un souci d'optimisation du traitement, plusieurs pistes resteraient à étudier. Réduire le ratio inoculum/déchet serait plus pratique d'un point de vue opératoire (moins de quantité de liquide à gérer, dimension plus petite du réacteur dédié à l'inoculum). Cependant, nos résultats ont montré que le couple ratio inoculum/déchet de 1 – recirculation tous les 4 jours conduisait à une qualité de méthanisation insuffisante. Il serait intéressant de réaliser des expériences complémentaires pour observer plus en détail la part d'impact de la fréquence de recirculation du lixiviat. Cela pourrait permettre de savoir s'il est avantageux dans le cas des déchets de cuisine de combiner un ratio inoculum/déchet faible (de 1) et une fréquence de recirculation élevée (quotidienne).
- Au vu des résultats, une modification au système LBR pourrait être proposée : faire une immersion de déchet de cuisine, partielle ou totale, dans l'inoculum pour profiter au maximum des avantages du contact de l'inoculum avec les déchets pour la production de biogaz.
- Une étape de stockage qui, selon nos résultats pourrait être une cause de dysfonctionnement du procédé de méthanisation, est parfois inévitable lors de la collecte des déchets alimentaires. Ce résultat a un impact majeur sur la manière dont l'application de la méthanisation en conditions réelles doit être pensée, la contrainte de collecte apparaissant comme inévitable, notamment pour les déchets organiques des ménages. Dans ce cadre, l'expérience pourrait être approfondie par des essais de prétraitement à 21% d' O_2 après stockage, pour savoir s'il est possible de retrouver une bonne qualité de méthanisation.
- L'étude d'autres paramètres physico-chimiques, biochimiques et biologiques est importante pour mieux comprendre les modifications du comportement de la digestion anaérobie après prétraitement. L'analyse des variations des fibres, des sucres simples, des enzymes hydrolytiques ou des communautés bactériennes et fongiques pourrait donner des réponses aux variations de la digestion anaérobie. Le bilan DCO satisfaisant, proche de 80%, pourrait de plus indiquer que certaines conditions auraient pu favoriser la production d'hydrogène.

Il serait donc intéressant de le mesurer dans des expériences futures pour confirmer cette hypothèse.

- Ces résultats menés à l'échelle pilote de laboratoire pourraient être étudiés dans une transposition à plus grande échelle, l'échelle visée restant celle d'un traitement des déchets en milieu urbain. A cette échelle, les risques d'acidose sont plus probables. De plus, la stabilisation du procédé permettrait une prise en main plus facile directement par le producteur de déchets si l'on reste dans l'optique de multiplier les petites unités de méthanisation. Enfin, la question de la mise en regard du coût supplémentaire du prétraitement au vu des avantages gagnés ne pourra être évaluée précisément qu'à une échelle plus grande. Si la méthanisation à petite échelle se montre trop complexe à mettre en œuvre en routine pour l'utilisateur, l'investissement dans un prétraitement aérobie prendrait tout son sens afin de conduire à un procédé de méthanisation plus simple à maîtriser grâce au besoin moins important de suivi des instabilités causées par les accumulations des acides.

4. Questions d'ingénierie et de recherche au-delà des axes de la thèse

Les déchets de cuisine présentent un grand potentiel de valorisation encore peu exploité. Au-delà des axes travaillés dans la thèse, il est possible d'imaginer des systèmes de valorisation qui aident à mieux exprimer ce potentiel, avec ou sans l'aide de prétraitements.

En restant centré sur la méthanisation, les questions d'ingénierie à élucider sont l'échelle et l'organisation des filières de méthanisation, ainsi que les voies de valorisation du biogaz. Ainsi, le biogaz peut avoir des applications variées mais qui restent à ce jour relativement limitées.

Par exemple, le développement d'une production de méthane décentralisée à petite échelle (en bas d'immeuble, dans des restaurants ou cantines scolaires ou universitaires, etc.) pourrait permettre de lier la production de chaque digesteur au réseau de gaz de ville, ou bien de l'utiliser pour le chauffage collectif, pour apporter de la chaleur pour des besoins de petites industries, pour chauffer des plaques de cuisine, pour alimenter des réfrigérateurs à gaz, ou encore, pour les pays qui le permettent, pour cuisiner directement avec le biogaz produit.

Une autre voie de valorisation du biométhane est la compression en vue d'une utilisation par des voitures à gaz, qui pourraient être rechargées simplement sur des points de distribution répartis dans la ville. A une échelle plus grande, la production de biométhane pourrait être utilisée par les camions de collecte de déchets pour transporter plus simplement les déchets de cuisine des endroits encore

non desservis par des digesteurs. Pour aller encore plus loin, le reformage du méthane par catalyse métallique pour produire de l'hydrogène en vue d'une utilisation par des voitures à pile de combustible serait une voie de valorisation intéressante. Cette application est actuellement développée par la société N-GHY en association avec le syndicat mixte tarnais pour la valorisation des déchets ménagers et assimilés Trifyl. La production d'électricité est aussi un débouché incontournable pour le méthane produit. Cependant, les moteurs à cogénération actuels ne sont pas adaptés pour des petites échelles (besoin de flux de méthane très élevés). C'est donc l'opportunité d'explorer d'autres technologies comme des moteurs à combustion externe stirling, qui ont besoin de flux de méthane beaucoup plus faibles et qui pourraient correspondre aux besoins thermiques et électriques d'un digesteur à petite échelle.

Pour produire le méthane nécessaire à toutes ces possibilités, il faut que le système de production soit simple, stable et robuste. Le développement d'un réacteur efficace de digestion est donc encore à l'ordre du jour. Une des questions particulièrement délicates est le maintien de la température mésophile, voir thermophile, qui finit par être coûteux. Dans ce cas, l'étude de systèmes de méthanisation sans contrôle de température, spécialement pour des pays avec des températures moyennes stables, pourrait être intéressante. En outre, une récupération de la chaleur d'autres processus biologiques comme le compostage pourrait aussi être intéressante pour diminuer les coûts de chauffage des réacteurs. Étant donné qu'un prétraitement aérobique augmente aussi la température, le développement d'un réacteur isolé thermiquement couplant le prétraitement aérobique et la digestion anaérobie pourrait être intéressant pour conserver la chaleur dégagée pendant le prétraitement et ainsi atteindre des températures souhaitables pour démarrer la digestion anaérobie. Un autre développement à imaginer est un espace contrôlé de stockage pour mieux contrôler la dégradation des déchets avant méthanisation. En effet, l'injection d'air pourrait stabiliser les déchets pour éviter fermentations et mauvaises odeurs.

En dehors de la méthanisation, les déchets de cuisine pourraient aussi être valorisés par d'autres voies comme la récupération des enzymes hydrolytiques pour la production du bioéthanol, la récupération de molécules d'intérêt comme le phosphore ou la récupération des additifs alimentaires, ou encore pour la production de champignons. Cette perspective ouvre des questions de recherche quant à l'adéquation de ce déchet avec des procédés développés initialement sur des substrats « propres », tels que la fermentation sur substrats solides, et la compréhension des processus biologiques fondamentaux de ces procédés.

Synthèse des références

- Adam, G., Duncan, H. 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(7-8), 943-951.
- ADEME. 2014. Guide méthodologique pour le suivi et l'établissement des bilans de performances d'une installation de méthanisation.
- Adhikari, B.K., Barrington, S., Martinez, J., King, S. 2008. Characterization of food waste and bulking agents for composting. *Waste Management*, 28(5), 795-804.
- Adhikari, B.K., Trémier, A., Barrington, S., Martinez, J. 2013a. Biodegradability of municipal organic waste: A respirometric test. *Waste and Biomass Valorization*, 4(2), 331-340.
- Adhikari, B.K., Trémier, A., Barrington, S., Martinez, J., Daumoin, M. 2013b. Gas emissions as influenced by home composting system configuration. *Journal of Environmental Management*, 116(0), 163-171.
- Ağdağ, O.N., Sponza, D.T. 2007. Co-digestion of mixed industrial sludge with municipal solid wastes in anaerobic simulated landfilling bioreactors. *Journal of Hazardous Materials*, 140(1-2), 75-85.
- Amann, R.L., Ludwig, W., Schleifer, K.H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.*, 59(1), 143-69.
- Anderson, K., Sallis, P., Uyanik, S. 2003. 24 - Anaerobic treatment processes. in: Handbook of Water and Wastewater Microbiology, (Eds.) D. Mara, N. Horan, Academic Press. London, pp. 391-426.
- Andre, L., Durante, M., Paus, A., Lespinard, O., Ribeiro, T., Lamy, E. 2015. Quantifying physical structure changes and non-uniform water flow in cattle manure during dry anaerobic digestion process at lab scale: Implication for biogas production. *Bioresour. Technol.*, 192, 660-9.
- Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S., Srinath, E.G. 1976. Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid. *Journal Water Pollution Control Federation*, 48(5), 835-852.
- APHA. 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Bah, H., Zhang, W., Wu, S., Qi, D., Kizito, S., Dong, R. 2014. Evaluation of batch anaerobic co-digestion of palm pressed fiber and cattle manure under mesophilic conditions. *Waste Management*, 34(11), 1984-1991.
- Baillargeon, J. 2008. Application et interprétation des techniques statistiques avancées, Vol. 2014.
- Banks, Zhang. 2011. Optimising Processes for the Stable Operation of Food Waste Digestion University of Southampton.
- Banks, C.J., Chesshire, M., Heaven, S., Arnold, R. 2011. Anaerobic digestion of source-segregated domestic food waste: Performance assessment by mass and energy balance. *Bioresource Technology*, 102(2), 612-620.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W.T.M., Siegrist, H., Vavilin, V.A. 2002. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Science and Technology*, 45(10), 65-73.
- Bayard, R., Gonzalez-Ramirez, L., Guendouz, J., Benbelkacem, H., Buffière, P., Gourdon, R. 2015. Statistical Analysis to Correlate Bio-physical and Chemical Characteristics of Organic Wastes and Digestates to Their Anaerobic Biodegradability. *Waste and Biomass Valorization*, 6(5), 759-769.

- Benabdallah El Hadj, T., Astals, S., Gali, A., Mace, S., Mata-Alvarez, J. 2009. Ammonia influence in anaerobic digestion of OFMSW.
- Berthe, L. 2007. Etude et compréhension des processus de biodégradation: Estimation de la biodégradabilité de matrices organiques solides, Vol. PhD, Université de Provence Aix - Marseille I.
- Bon, E.P., Ferrara, M.A. 2007. Bioethanol production via enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. The Role of Agricultural Biotechnologies for Production of Bioenergy in Developing Countries. FAO. Available via: <http://www.fao.org/biotech/seminaroct2007.htm>, 12.
- Borneman, J., Hartin, R.J. 2000. PCR Primers That Amplify Fungal rRNA Genes from Environmental Samples. *Appl. Environ. Microb.*, 66(10), 4356-4360.
- Botheju, D., Lie, B., Bakke, R. 2010. Oxygen effects in anaerobic digestion - II. *Modeling, Identification and Control*, 31(2), 55-65.
- Bousquet, P., Ciais, P., Miller, J.B., Dlugokencky, E.J., Hauglustaine, D.A., Prigent, C., Van der Werf, G.R., Peylin, P., Brunke, E.G., Carouge, C., Langenfelds, R.L., Lathiere, J., Papa, F., Ramonet, M., Schmidt, M., Steele, L.P., Tyler, S.C., White, J. 2006. Contribution of anthropogenic and natural sources to atmospheric methane variability. *Nature*, 443(7110), 439-443.
- Boutrou, R., Gueguen, M. 2005. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. *Int. J. Food Microbiol.*, 102(1), 1-20.
- Breuer, U., Harms, H. 2006. *Debaryomyces hansenii*--an extremophilic yeast with biotechnological potential. *Yeast*, 23(6), 415-37.
- Brown, D., Li, Y. 2013. Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas production. *Bioresource Technology*, 127(0), 275-280.
- Browne, J.D., Allen, E., Murphy, J.D. 2013. Improving hydrolysis of food waste in a leach bed reactor. *Waste Management*, 33(11), 2470-2477.
- Brummeler, E.t., Koster, I.W. 1990. Enhancement of dry anaerobic batch digestion of the organic fraction of municipal solid waste by an aerobic pretreatment step. *Biological Wastes*, 31(3), 199-210.
- Bruun, S., Jensen, L.S., Khanh Vu, V.T., Sommer, S. 2014. Small-scale household biogas digesters: An option for global warming mitigation or a potential climate bomb? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 736-741.
- Buffiere, P., Frederic, S., Marty, B., Delgenes, J.P. 2008. A comprehensive method for organic matter characterization in solid wastes in view of assessing their anaerobic biodegradability. *Water Sci. Technol.* 58(9), 1783-8.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Pena, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunencko, T., Zaneveld, J., Knight, R. 2010a. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods*, 7(5), 335-6.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Pena, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunencko, T., Zaneveld, J., Knight, R. 2010b. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*, 7(5), 335-6.

- Capson-Tojo, G., Rouez, M., Crest, M., Steyer, J.-P., Delgenès, J.-P., Escudié, R. 2016. Food waste valorization via anaerobic processes: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(3), 499-547.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F. 2012. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: a review. *Waste Manag*, 32(9), 1634-50.
- Carrere, H., Antonopoulou, G., Affes, R., Passos, F., Battimelli, A., Lyberatos, G., Ferrer, I. 2016. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. *Bioresour Technol*, 199, 386-97.
- Castenholz, R., Rippka, R., Herdman, M. 2001. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Boone, DR.; Castenholz, RW., editors. Vol. 1, Springer New York:.
- Castillo, E.F., Cristancho, D.E., Victor Arellano, A. 2006. Study of the operational conditions for anaerobic digestion of urban solid wastes. *Waste Management*, 26(5), 546-556.
- Chang, J.I., Hsu, T.-E. 2008. Effects of compositions on food waste composting. *Bioresource Technology*, 99(17), 8068-8074.
- Charles, W., Walker, L., Cord-Ruwisch, R. 2009. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresour Technol*, 100(8), 2329-35.
- Chen, X., Yan, W., Sheng, K., Sanati, M. 2014. Comparison of high-solids to liquid anaerobic co-digestion of food waste and green waste. *Bioresource Technology*, 154(0), 215-221.
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044-4064.
- Cho, S.K., Im, W.T., Kim, D.H., Kim, M.H., Shin, H.S., Oh, S.E. 2013. Dry anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: Performance and methanogenic community analysis. *Bioresource Technology*, 131, 210-217.
- Chu, L.-B., Zhang, X.-W., Li, X., Yang, F.-L. 2005. Simultaneous removal of organic substances and nitrogen using a membrane bioreactor seeded with anaerobic granular sludge under oxygen-limited conditions. *Desalination*, 172(3), 271-280.
- Chynoweth, D., Wilkie, A., Owens, J. 1998. Anaerobic processing of piggery wastes: a review.
- Dai, X., Duan, N., Dong, B., Dai, L. 2013. High-solids anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste in comparison with mono digestions: Stability and performance. *Waste Management*, 33(2), 308-316.
- David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., Ling, A.V., Devlin, A.S., Varma, Y., Fischbach, M.A., Biddinger, S.B., Dutton, R.J., Turnbaugh, P.J. 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559-63.
- De Vrieze, J., De Lathouwer, L., Verstraete, W., Boon, N. 2013. High-rate iron-rich activated sludge as stabilizing agent for the anaerobic digestion of kitchen waste. *Water Research*, 47(11), 3732-3741.
- Degueurce, A. 2016. La méthanisation par voie sèche agricole appliquée aux fumiers de bovins : optimisation de la recirculation des lixiviats, pp. 260.
- Degueurce, A., Tremier, A., Peu, P. 2016. Dynamic effect of leachate recirculation on batch mode solid state anaerobic digestion: Influence of recirculated volume, leachate to substrate ratio and recirculation periodicity. *Bioresour Technol*, 216, 553-61.
- Deublein, D., Steinhauser, A. 2011. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*. John Wiley & Sons.

- Diaz, I., Donoso-Bravo, A., Fdz-Polanco, M. 2011. Effect of microaerobic conditions on the degradation kinetics of cellulose. *Bioresour. Technol.*, 102(21), 10139-42.
- Dintzis, F.R., Cavins, J.F., Graf, E., Stahly, T. 1988. Nitrogen-to-protein conversion factors in animal feed and fecal samples. *J. Anim. Sci.* 66(1), 5-11.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.-H. 1980. Compendium of soil fungi (2nd ed.). Academic Press, London, UK.
- Dong, L., Zhenhong, Y., Yongming, S. 2010. Semi-dry mesophilic anaerobic digestion of water sorted organic fraction of municipal solid waste (WS-OFMSW). *Bioresource Technology*, 101(8), 2722-2728.
- EC. 1999. Council Directive 1999/31/EC of 26 April 1999 on the landfill of waste, Off. J. Eur. Commun. L, 182 (1999), pp. 0001–0019 16/07/1999.
- EC. 2003. Directive 2003/30/EC of the European Parliament and of the Council of 8 May 2003 on the promotion of the use of biofuels or other renewable fuels for transport, Off. J. Eur. Union L, 123/42, pp. 0042–0046.
- EC. 2009. Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/EC and 2003/30/EC, Off. J. Eur. Union L, 140/16 (2009), pp. 0016–0062 5/6/2009.
- Edgar, R.C. 2013. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat Meth*, 10(10), 996-998.
- El-Mashad, H.M., Zhang, R. 2010. Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology*, 101(11), 4021-4028.
- EPA, U.S. 2012. Global Anthropogenic Non-CO2 Greenhouse Gas Emissions: 1990 - 2030.
- EPA, U.S. 2011. Municipal solid waste in the united states, 2011 facts and figures.
- Esteves, S., Devlin, D. 2010. Food Waste Chemical analysis. Chemical characterisation of food wastes collected from Welsh Local Authorities for supporting decisions related to anaerobic digestion process design and operation. WRAP.
- Fangeat, E., Militon, C. 2010. La composition des ordures ménagères et assimilées en France - Résultats de la campagne nationale de caractérisation 2007. ADEME.
- Ferris, M.J., Muyzer, G., Ward, D.M. 1996. Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community. *Appl. Environ. Microb.*, 62(2), 340-6.
- Fisgativa, H., Tremier, A., Dabert, P. 2016. Characterizing the variability of food waste quality: A need for efficient valorisation through anaerobic digestion. *Waste Manag*, 50, 264-74.
- Fisgativa, H., Tremier, A., Le Roux, S., Bureau, C., Dabert, P. 2017. Understanding the anaerobic biodegradability of food waste: relationship between the typological, biochemical and microbial characteristics. *J Environ Manage*, 188, 95-107.
- Forster-Carneiro, T., Perez, M., Romero, L.I. 2008. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresour Technol*, 99(15), 6994-7002.
- Fricke, K., Santen, H., Wallmann, R., Hüttner, A., Dichtl, N. 2007. Operating problems in anaerobic digestion plants resulting from nitrogen in MSW. *Waste Management*, 27(1), 30-43.
- Ghanem, I.I.I., Gu, G.W., Zhu, J.F. 2001. Leachate production and disposal of kitchen food solid waste by dry fermentation for biogas generation. *Renewable Energy*, 23(3-4), 673-684.

- Goel, R., Mino, T., Satoh, H., Matsuo, T. 1998. Comparison of hydrolytic enzyme systems in pure culture and activated sludge under different electron acceptor conditions. *Water Science and Technology*, 37(4), 335-343.
- González-González, A., Cuadros, F. 2015. Effect of aerobic pretreatment on anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMWW): An ecoefficient treatment. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 339-345.
- Gourdon, R. 2002. Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, méchanisables, compostables. RECORD.
- Gujer, W., Zehnder, A.J.B. 1983. Conversion Processes in Anaerobic Digestion. *Water Science and Technology*, 15(8-9), 127.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., Meybeck, A. 2011. Global food losses and food waste. FAO.
- Hartmann, H., Ahring, B. 2006. Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: an overview. *Water Science & Technology*, 53(8), 7-22.
- Hartmann, H., Ahring, B.K. 2005. A novel process configuration for anaerobic digestion of source-sorted household waste using hyper-thermophilic post-treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(7), 830-837.
- Haug, R.T. 1993. The practical handbook of compost engineering. CRC Press.
- Heaven, S., Zhang, Y., Arnold, R., Paavola, T., Vaz, F., Cavinato, C. 2013. Compositional analysis of food waste from study sites in geographically distinct regions of Europe. Valorgas.
- Hendriks, A.T., Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol*, 100(1), 10-8.
- Hengeveld, E.J., van Gemert, W.J.T., Bekkering, J., Broekhuis, A.A. 2014. When does decentralized production of biogas and centralized upgrading and injection into the natural gas grid make sense? *Biomass and Bioenergy*, 67, 363-371.
- INCOME Consulting - AK2C. 2016. Pertes et gaspillages alimentaires : l'état des lieux et leur gestion par étapes de la chaîne alimentaire.
- 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. Biodeter. Biodegr.*, 102, 149-153.
- Jan, O., Tostivint, C., Turbé, A., O'Connor, C., Lavelle, P. 2013. Food Wastage Footprint Impacts on natural resources Technical Report. FAO Natural Resources and Management Department.
- Jha, A.K., Li, J., Nies, L., Zhang, L. 2011. Research advances in dry anaerobic digestion process of solid organic wastes. *African Journal of Biotechnology*, 10(64), 14242-14253.
- Jiang, Y., Heaven, S., Banks, C.J. 2012. Strategies for stable anaerobic digestion of vegetable waste. *Renewable Energy*, 44, 206-214.
- Johansen, J.E., Bakke, R. 2006. Enhancing hydrolysis with microaeration. *Water Sci Technol*, 53(8), 43-50.
- Juanga, J.P., Visvanathan, C., Trankler, J. 2007. Optimization of anaerobic digestion of municipal solid waste in combined process and sequential staging. *Waste Manag Res*, 25(1), 30-8.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A. 2008. Dictionary of the Fungi. 10th ed. CABI, Wallingford, UK.

- Kondusamy, D., Kalamdhad, A.S. 2014. Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production – A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(3), 1821-1830.
- Kothari, R., Pandey, A.K., Kumar, S., Tyagi, V.V., Tyagi, S.K. 2014. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 174-195.
- Krishna, D., Kalamdhad, A.S. 2014. Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production – A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(3), 1821-1830.
- KÜLcÜ, R. 2015. Determination of the relationship between FAS values and energy consumption in the composting process. *Ecol. Eng.*, 81, 444-450.
- la Cour Jansen, J., Gruvberger, C., Hanner, N., Aspegren, H. 2004. Digestion of sludge and organic waste in the sustainability concept for Malmö, Sweden. *Water Science & Technology*, 49(10), 163-169.
- Lee, Z.-K., Li, S.-L., Lin, J.-S., Wang, Y.-H., Kuo, P.-C., Cheng, S.-S. 2008. Effect of pH in fermentation of vegetable kitchen wastes on hydrogen production under a thermophilic condition. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(19), 5234-5241.
- 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 Biochemistry*, 45(4), 431-440.
- Li, Y., Park, S.Y., Zhu, J. 2011. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1), 821-826.
- Lim, J.W., Chen, C.L., Ho, I.J., Wang, J.Y. 2013. Study of microbial community and biodegradation efficiency for single- and two-phase anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Bioresour. Technol.*, 147, 193-201.
- Lim, J.W., Chiam, J.A., Wang, J.Y. 2014. Microbial community structure reveals how microaeration improves fermentation during anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Bioresour Technol*, 171, 132-8.
- Lim, J.W., Wang, J.Y. 2013. Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Waste Manag*, 33(4), 813-9.
- Lin, C.-Y. 1992. Effect of heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion. *Water Research*, 26(2), 177-183.
- Lin, Y., Wu, S., Wang, D. 2013. Hydrogen-methane production from pulp & paper sludge and food waste by mesophilic–thermophilic anaerobic co-digestion. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(35), 15055-15062.
- Liu, T., Sung, S. 2002. Ammonia inhibition on thermophilic aceticlastic methanogens. *Water Science and Technology*, 45(10), 113-120.
- 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.
- Liu, X., Li, R., Ji, M., Han, L. 2013. Hydrogen and methane production by co-digestion of waste activated sludge and food waste in the two-stage fermentation process: Substrate conversion and energy yield. *Bioresource Technology*, 146(0), 317-323.

- López, M., Soliva, M., Martínez-Farré, F.X., Fernández, M., Huerta-Pujol, O. 2010. Evaluation of MSW organic fraction for composting: Separate collection or mechanical sorting. *Resources, Conservation and Recycling*, 54(4), 222-228.
- Lou, X.F., Nair, J., Ho, G. 2012. Field performance of small scale anaerobic digesters treating food waste. *Energy for Sustainable Development*, 16(4), 509-514.
- Lü, F., Xu, X., Shao, L., He, P. 2016. Importance of storage time in mesophilic anaerobic digestion of food waste. *Journal of Environmental Sciences*, 45, 76-83.
- Ma, J., Duong, T.H., Smits, M., Verstraete, W., Carballa, M. 2011. Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments. *Bioresour Technol*, 102(2), 592-9.
- Maidak, B.L., Cole, J.R., Lilburn, T.G., Parker, C.T., Jr., Saxman, P.R., Farris, R.J., Garrity, G.M., Olsen, G.J., Schmidt, T.M., Tiedje, J.M. 2001. The RDP-II (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res.*, 29(1), 173-4.
- Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., Pavlov, A., Pavlova, N., Karamychev, V., Polouchine, N., Shakhova, V., Grigoriev, I., Lou, Y., Rohksar, D., Lucas, S., Huang, K., Goodstein, D.M., Hawkins, T., Plengvidhya, V., Welker, D., Hughes, J., Goh, Y., Benson, A., Baldwin, K., Lee, J.H., Díaz-Muñiz, I., Dosti, B., Smeianov, V., Wechter, W., Barabote, R., Lorca, G., Altermann, E., Barrangou, R., Ganesan, B., Xie, Y., Rawsthorne, H., Tamir, D., Parker, C., Breidt, F., Broadbent, J., Hutkins, R., O'Sullivan, D., Steele, J., Unlu, G., Saier, M., Klaenhammer, T., Richardson, P., Kozyavkin, S., Weimer, B., Mills, D. 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(42), 15611-15616.
- Martin, L., Gendron, A. 2003. Méthodes statistiques appliquées à la psychologie: traitement de données avec Microsoft Excel 2000. Éditions SMG.
- Martín, M.Á., González, I., Serrano, A., Siles, J.Á. 2015. Evaluation of the improvement of sonication pre-treatment in the anaerobic digestion of sewage sludge. *Journal of Environmental Management*, 147(0), 330-337.
- Mata-Álvarez, J. 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA publishing.
- Mata-Alvarez, J., Llabrés, P., Cecchi, F., Pavan, P. 1992. Anaerobic digestion of the Barcelona central food market organic wastes: Experimental study. *Bioresource Technology*, 39(1), 39-48.
- Meng, Y., Jost, C., Mumme, J., Wang, K., Linke, B. 2016. Oxygen tolerance capacity of upflow anaerobic solid-state (UASS) with anaerobic filter (AF) system. *J Environ Sci (China)*, 45, 200-6.
- Ministere de l'écologie, d.d.d., des transports et du logement. 2011. Arrêté du 12 juillet 2011 fixant les seuils définis à l'article R. 543-225 du code de l'environnement
- Moletta, R. 2011. La méthanisation. Lavoisier.
- Moletta, R. 2008. La méthanisation. Tec et Doc.
- Monier, V., Escalon, V., O'Connor, C. 2010. Preparatoy study on food waste across EU 27. European Commission (DG ENV). 978-92-79-22138-5.
- Muller, T., Muller, M., Behrendt, U. 2004. Leucine arylamidase activity in the phyllosphere and the litter layer of a Scots pine forest. *FEMS Microbiol Ecol*, 47(2), 153-9.
- Myint, M.T., Nirmalakhandan, N. 2009. Enhancing anaerobic hydrolysis of cattle manure in leachbed reactors. *Bioresour. Technol.*, 100(4), 1695-9.

- Nie, Y.Q., Liu, H., Du, G.C., Chen, J. 2007. Acetate production by acidification-homoacetogenesis two-phase coupling process: effect of initial pH. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 23(4), 686-91.
- Olivier, J., Janssens-Maenhout, G., Muntean, M., Peters, J. 2015. Trends in global CO₂ emissions: 2015 Report. PBL Netherlands Environmental Assessment Agency, The Hague; European Commission, Joint Research Centre (JRC). Institute for Environment and Sustainability (IES).
- Parawira, W., Murto, M., Read, J.S., Mattiasson, B. 2005. Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste. *Process Biochemistry*, 40(9), 2945-2952.
- Peu, P., Béline, F., Martinez, J. 2004. Volatile fatty acids analysis from pig slurry using high-performance liquid chromatography. *Int. J. Environ. An. Ch.*, 84(13), 1017-1022.
- Peu, P., Picard, S., Diara, A., Girault, R., Beline, F., Bridoux, G., Dabert, P. 2012. Prediction of hydrogen sulphide production during anaerobic digestion of organic substrates. *Bioresour. Technol.*, 121, 419-24.
- Picard, S., Beline, F., Girault, R., Bridoux, G., Cambert, C., Davenel, A. 2014. Determination of lipid fraction from organic wastes using Nuclear Magnetic Resonance (NMR): Comparison to the soxhlet method. *13th World Congress on Anaerobic Digestion*, Santiago de Compostela, Spain.
- Poggi-Varaldo, H., Rodriguez-Vazquez, R., Fernandez-Villagomez, G., Esparza-Garcia, F. 1997. Inhibition of mesophilic solid-substrate anaerobic digestion by ammonia nitrogen. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47(3), 284-291.
- Poirier, S., Bize, A., Bureau, C., Bouchez, T., Chapleur, O. 2016a. Community shifts within anaerobic digestion microbiota facing phenol inhibition: Towards early warning microbial indicators? *Water Res*, 100, 296-305.
- Poirier, S., Desmond-Le Quemener, E., Madigou, C., Bouchez, T., Chapleur, O. 2016b. Anaerobic digestion of biowaste under extreme ammonia concentration: Identification of key microbial phylotypes. *Bioresour Technol*, 207, 92-101.
- Sanders, W.T., Geerink, M., Zeeman, G., Lettinga, G. 2000. Anaerobic hydrolysis kinetics of particulate substrates. *Water Sci Technol*, 41(3), 17-24.
- Scano, E.A., Asquer, C., Pistis, A., Ortu, L., Demontis, V., Cocco, D. 2014. Biogas from anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Experimental results on pilot-scale and preliminary performance evaluation of a full-scale power plant. *Energ. Convers. Manage.*, 77(0), 22-30.
- Seo, J.Y., Heo, J.S., Kim, T.H., Joo, W.H., Crohn, D.M. 2004. Effect of vermiculite addition on compost produced from Korean food wastes. *Waste Management*, 24(10), 981-987.
- Shin, H.-S., Youn, J.-H., Kim, S.-H. 2004. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29(13), 1355-1363.
- Sidaine, J.-M., Gass, M. 2013. État de l'art de la collecte séparée et de la gestion de proximité des biodéchets. AWIPLAN, ADEME.
- Siles, J.A., Margesin, R. 2016. Abundance and Diversity of Bacterial, Archaeal, and Fungal Communities Along an Altitudinal Gradient in Alpine Forest Soils: What Are the Driving Factors? *Microb. Ecol.*, 72(1), 207-20.
- Silva, C.A.d.A., Lacerda, M.P.F., Leite, R.S.R., Fonseca, G.G. 2013. Production of enzymes from *Lichtheimia ramosa* using Brazilian savannah fruit wastes as substrate on solid state bioprocesses. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16, 9-9.

- Sponza, D.T., Agdag, O.N. 2004. Impact of leachate recirculation and recirculation volume on stabilization of municipal solid wastes in simulated anaerobic bioreactors. *Process Biochemistry*, 39(12), 2157-2165.
- Stenmarck, A.s., Jensen, C., Quested, T., Moates, G., Buksti, M., Cseh, B.z., Juul, S., Parry, A., Politano, A., Redlingshofer, B. 2016. Estimates of European food waste levels. FUSIONS EU. 9188319016.
- Sundberg, C., Franke-Whittle, I.H., Kauppi, S., Yu, D., Romantschuk, M., Insam, H., Jönsson, H. 2011. Characterisation of source-separated household waste intended for composting. *Bioresource Technology*, 102(3), 2859-2867.
- Tampio, E., Ervasti, S., Paavola, T., Heaven, S., Banks, C., Rintala, J. 2014. Anaerobic digestion of autoclaved and untreated food waste. *Waste Management*, 34(2), 370-377.
- Teglia, C., Tremier, A., Martel, J.L. 2011. Characterization of solid digestates: Part 2, assessment of the quality and suitability for composting of six digested products. *Waste and Biomass Valorization*, 2(2), 113-126.
- The World Bank. 2016. World Development Indicators.
- Tiquia, S.M., Wan, J.H.C., Tam, N.F.Y. 2001. Extracellular enzyme profiles during co-composting of poultry manure and yard trimmings. *Process Biochemistry*, 36(8-9), 813-820.
- Tom, Q., Hannah, J. 2009. Household Food and Drink Waste in the UK. Wrap.
- Tong, X., Smith, L.H., McCarty, P.L. 1990. Methane fermentation of selected lignocellulosic materials. *Biomass*, 21(4), 239-255.
- Toussaint, C.A., Médale, F., Davenel, A., Fauconneau, B., Haffray, P., Akoka, S. 2002. Determination of the lipid content in fish muscle by a self-calibrated NMR relaxometry method: comparison with classical chemical extraction methods. *J. Sci. Food Agr.*, 82(2), 173-178.
- Tremier, A., De Guardia, A., Massiani, C., Paul, E., Martel, J.L. 2005. A respirometric method for characterising the organic composition and biodegradation kinetics and the temperature influence on the biodegradation kinetics, for a mixture of sludge and bulking agent to be co-composted. *Bioresour Technol*, 96(2), 169-80.
- Tremier, A., Denes, J., Gratteau, L., Menasseri-Aubry, S. 2014. Characterization of the biochemical composition of solid organic resources to predict their aerobic biodegradation kinetics. *Proceedings of 5th International Conference on Engineering for Waste and Biomass Valorisation – August 25–28, 2014 – Rio de Janeiro, Brazil*.
- Triolo, J.M., Sommer, S.G., Moller, H.B., Weisbjerg, M.R., Jiang, X.Y. 2011. A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: influence of lignin concentration on methane production potential. *Bioresour. Technol.*, 102(20), 9395-402.
- Vedrenne, F., Beline, F., Dabert, P., Bernet, N. 2008. The effect of incubation conditions on the laboratory measurement of the methane producing capacity of livestock wastes. *Bioresour. Technol.*, 99(1), 146-55.
- Veeken, A.H., Hamelers, B.V. 2000. Effect of substrate-seed mixing and leachate recirculation on solid state digestion of biowaste. *Water Sci Technol*, 41(3), 255-62.
- Ventour, L. 2008. The food we waste. WRAP Banbury/Oxon.
- Walker, L.R., Murdoch University. Faculty of Sustainability, E., Sciences, L. 2010. An Investigation Into the Bioprocesses of DiCOM®: A Technology Combining Composting and Thermophilic Anaerobic Digestion for the Treatment of Municipal Solid Waste. Murdoch University.

- Wang, X., Zhao, Y.-c. 2009. A bench scale study of fermentative hydrogen and methane production from food waste in integrated two-stage process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(1), 245-254.
- WEDODATA. 2015. Global Carbon Atlas. 2015/12/07 ed. <http://www.globalcarbonatlas.org>.
- Xiao, L., Deng, Z., Fung, K.Y., Ng, K.M. 2013. Biohydrogen generation from anaerobic digestion of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(32), 13907-13913.
- Xu, C., Shi, W., Hong, J., Zhang, F., Chen, W. 2015. Life cycle assessment of food waste-based biogas generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49, 169-177.
- Xu, S., Selvam, A., Wong, J.W.C. 2014a. Optimization of micro-aeration intensity in acidogenic reactor of a two-phase anaerobic digester treating food waste. *Waste Management*, 34(2), 363-369.
- Xu, S.Y., Karthikeyan, O.P., Selvam, A., Wong, J.W. 2014b. Microbial community distribution and extracellular enzyme activities in leach bed reactor treating food waste: effect of different leachate recirculation practices. *Bioresour Technol*, 168, 41-8.
- Xu, S.Y., Lam, H.P., Karthikeyan, O.P., Wong, J.W. 2011. Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: effect of pH and bulking agent. *Bioresour Technol*, 102(4), 3702-8.
- Zamanzadeh, M., Hagen, L.H., Svensson, K., Linjordet, R., Horn, S.J. 2016. Anaerobic digestion of food waste - Effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. *Water Res*, 96, 246-54.
- Zeng, Y., De Guardia, A., Ziebal, C., De Macedo, F.J., Dabert, P. 2012. Nitrification and microbiological evolution during aerobic treatment of municipal solid wastes. *Bioresour. Technol.*, 110, 144-52.
- Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., Tan, T. 2014b. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 38(0), 383-392.
- Zhang, C., Xiao, G., Peng, L., Su, H., Tan, T. 2013. The anaerobic co-digestion of food waste and cattle manure. *Bioresource Technology*, 129(0), 170-176.
- Zhang, D.X., Cheryan, M. 1991. Direct fermentation of starch to lactic acid by *Lactobacillus amylovorus*. *Biotechnol. Lett.*, 13(10), 733-738.
- Zhang, L., Sun, X. 2014. Changes in physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar. *Bioresource Technology*, 171(0), 274-284.
- Zhang, R., El-Mashad, H.M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., Gamble, P. 2007. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresour Technol*, 98(4), 929-35.
- Zhang, Y., Banks, C.J., Heaven, S. 2012. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. *J Environ Manage*, 104(0), 166-74.
- Zhu, M., Lu, F., Hao, L.P., He, P.J., Shao, L.M. 2009. Regulating the hydrolysis of organic wastes by micro-aeration and effluent recirculation. *Waste Manag*, 29(7), 2042-50.
- Žilić, S., Dodig, D., Milašinić-Šeremešić, M., Kandić, V., Kostadinović, M., Prodanović, S., Savić, Đ. 2011. Small grain cereals compared for dietary fibre and protein contents. *Genetika+*, 43(2).

Résumé

Compte tenu de la forte incitation réglementaire à la valorisation de déchets de cuisine, le développement de procédés de méthanisation à petite échelle (10 à 100 T de déchets par an) pourrait voir un essor potentiellement important. Cependant, la simplicité (préparation limitée des substrats, peu d'apport d'eau) et la robustesse (stabilité) du procédé représentent des enjeux cruciaux pour valider cette échelle de fonctionnement. Dans le procédé de méthanisation, l'étape d'hydrolyse reste la plus limitante due, d'une part, à une lente cinétique, qui provoque une dégradation non uniforme des carbohydrates structuraux (p.ex. la cellulose), et d'autre part, d'une transformation rapide des composants facilement biodégradables, ce qui peut générer une accumulation d'acides gras volatils, conduisant à une inhibition de l'activité méthanogène. Dans l'objectif de surmonter les problèmes liés à l'étape d'hydrolyse, de nombreux travaux ont été menés sur les prétraitements mécaniques, thermiques, ou chimiques de la matière organique. En comparaison, l'utilisation d'une pré-étape aérobie a été relativement peu étudiée. Un prétraitement aérobie pourrait aider à éliminer les fractions les plus biodégradables pour limiter les risques d'acidose du milieu et à mieux dégrader certaines fractions de la matière organique plus résistante. Toutefois l'utilisation d'un prétraitement aérobie peut provoquer une oxydation excessive des déchets, limitant leur potentiel méthanogène. Par conséquent, il est indispensable de bien maîtriser les conditions d'aération. Ce travail de thèse avait donc l'objectif de valider l'impact du prétraitement aérobie dans la digestion anaérobie de déchets de cuisine et de suggérer quel mode de mise en œuvre du prétraitement aérobie il faudrait préconiser.

Mot clés : déchets de cuisine, digestion anaérobie, prétraitement aérobie, acidification, population microbienne, exoenzymes

Abstract

Given the strong incentive to source separation of organic fractions of household waste, the development of anaerobic processes on a small scale (10 to 100 t of waste per year) could see significant growth. However, to validate this scale of operation, stability and efficiency of the treatment process will represent crucial issues. Concerning anaerobic processes, the hydrolysis step is the limiting step for two reasons. First, due to relatively slow kinetics, non-uniform degradation of structural carbohydrates (e.g. cellulose) may be produced. On the other hand, the rapid transformation of easy biodegradable compounds produces a rapid production of volatile fatty acids, which may lead to their accumulation, inhibiting the methanogenic activity. To overcome the problems associated with the hydrolysis step, many studies have been conducted on the mechanical, thermal or chemical pre-treatment of the organic matter introduced into the digesters. In comparison, the use of an aerobic biological pre-stage has been relatively less studied. Aerobic degradation can indeed eliminate more biodegradable fractions to reduce the risk of acidosis in the digester and enhance the degradation of some recalcitrant organic fraction. However the duration of the aerobic treatment should be well managed not to oxidize excessively the methanogenic potential of the pre-treated organic waste. The aim of the thesis was to validate the effectiveness of a pre-treatment to improve the anaerobic digestion of food waste and to suggest the best ways to implement this pre-treatment.

Keywords : food waste, anaerobic digestion, aerobic pre-treatment, acidification, microbial population, exoenzymes