HAL
open science

# Dynamique des micropolluants organiques au cours du traitement biologique de résidus solides : lien entre caractérisation du résidu, localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments du résidu et processus (sorption, biodégradation)

Quentin Aemig

## To cite this version:

Quentin Aemig. Dynamique des micropolluants organiques au cours du traitement biologique de résidus solides : lien entre caractérisation du résidu, localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments du résidu et processus (sorption, biodégradation). Génie chimique. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc, 2014. Français. NNT : 2014MON20118 . tel-01566537

**HAL Id: tel-01566537**

**https://theses.hal.science/tel-01566537**

Submitted on 21 Jul 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

## Pour obtenir le grade de Docteur

Délivré par **UNIVERSITE MONTPELLIER 2**

Préparée au sein de l'école doctorale Sciences des Procédés – Sciences des Aliments
Et de l'unité de recherche Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement

Spécialité : **Génie des procédés**

Présentée par **Quentin Aemig**

# Dynamique des micropolluants organiques au cours du traitement biologique de résidus solides. Lien entre caractérisation du résidu, localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments du résidu et processus (sorption, biodégradation)

**Soutenance le 15/12/2014 devant le jury composé de**

| | |
|---|---|
| Mme Magali CASELLAS-FRANÇAIS<br>Maître de conférences, ENSIL/GRESE | Rapporteur |
| M. Rémy GOURDON<br>Professeur, INSA Lyon | Rapporteur |
| M. Etienne PAUL<br>Professeur, INSA Toulouse | Président du jury |
| M. Marc HERAN<br>Professeur, IEM Université Montpellier II | Examinateur |
| M. Julien Thual<br>Ingénieur, ADEME | Excusé |
| Mme Sabine HOUOT<br>Directrice de recherche, INRA EGC | Directrice de thèse |
| Mme Dominique PATUREAU<br>Directrice de recherche, INRA LBE | Directrice de thèse |

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury d'avoir évalué mes travaux de thèse. Je remercie tout particulièrement Magali Casellas et Rémy Gourdon d'avoir accepté de rapporter mes travaux de thèse. Je remercie également les autres membres du jury, Etienne Paul et Marc Héran, pour l'attention qu'ils ont portée à la présentation de mes travaux de thèse et à l'échange qui a suivi.

Je remercie l'INRA, l'ADEME et l'ONEMA pour leur aide financière qui a permis la réalisation de mes travaux de thèse.

Je dois un très grand merci à ceux qui m'ont accueilli au sein de leur laboratoire : Jean-Philippe Steyer, directeur du Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, et Enrique Barriuso, directeur du laboratoire ECOSYS.

Je ne sais si je trouverai les mots exacts pour exprimer ma gratitude à l'égard de mes directrices de thèse, Dominique Patureau et Sabine Houot. J'utiliserai le mot le plus simple mais qui vient directement du cœur : MERCI !!! Merci à Domi pour ta sympathie et ton enthousiasme, ces longues discussions autour des résultats et pour ton soutien tout au long de cette thèse ! Merci à Sabine pour ta gentillesse et ton aide précieuse sur le compostage !

Un énorme merci à Nadine Delgenès, ma maman de Narbonne. J'ai été honoré de travailler à tes côtés, tu m'as appris tellement et tu m'as beaucoup aidé.

Je tiens également à remercie Valérie Bergheaud et Valérie Dumény pour leur aide et leurs conseils pour les manipulations avec le $^{14}C$. La mise en place des procédés de digestion anaérobie et de compostage nous a fait peur mais nous avons finalement réussi ! Merci aussi pour votre gentillesse et votre sympathie.

Un grand merci à Julie Jimenez. Merci pour ton aide précieuse pour le fractionnement de la matière organique et pour l'interprétation des résultats de fluorescence 3D. Pour moi tu es plus qu'une simple collègue de travail mais une vraie amie. Je suis vraiment heureux d'avoir pu travailler à tes côtés. Je te souhaite tout le bonheur et toute la réussite que tu mérites amplement.

Je remercie aussi tous les stagiaires, Claire, Ivan et Nicolas, que j'ai encadrés et qui ont travaillé à mes côtés et sans qui une partie des résultats présentés dans ce manuscrit n'auraient été possibles. Pour votre aide et votre travail de qualité, merci !

Je tiens à remercier également tous mes collègues et amis avec qui j'ai pu passer du temps au laboratoire mais aussi en dehors, car si la thèse est un travail fastidieux elle ne saurait être parfaite sans la joie et la chance de partager de bons moments avec des personnes aussi chaleureuses et sympathiques que vous : Lucille, Elisabeth, Elsa, Violette, Thibaut, Roman, Florian, Glenda, Jean-Charles, Fiona, Amira, Florian, Aurore, Muriel, … J'oublie certainement des noms et j'en suis désolé mais toutes mes pensées vont vers vous !

Je remercie également tout le personnel du LBE et de ECOSYS. J'ai été ravi de pouvoir travailler à vos côtés !

Je tiens à remercier ma famille, en particulier mes parents et mon frère, pour leur soutien durant ce travail de thèse. Merci d'avoir été à mes côtés et merci d'être ce que vous êtes, restez ainsi !

Un merci à mon Namour, pour ton soutien, ta patience lorsque je suis stressé et fatigué et pour tout le bonheur que tu m'apportes !

Je dédié ce travail de thèse à mon tonton Jean-Jacques qui nous a quitté alors que je rédigeais les dernières pages de ce mémoire de thèse.

# Sommaire

**I. INTRODUCTION ..... 1**

**II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ..... 7**

1. LES DECHETS ORGANIQUES ..... 9

*2. Typologie et ressources ..... 9*

*3. Structure des boues de station d'épuration et caractérisation ..... 10*

*4. Structure des déchets verts ..... 19*

*5. Traitements biologiques des PRO ..... 24*

B. MICROPOLLUANTS ORGANIQUES ..... 28

*1. Généralités ..... 28*

*2. Hydrocarbures aromatiques polycycliques ..... 30*

*3. Nonylphénols ..... 34*

*4. Composés pharmaceutiques ..... 38*

*5. Devenir des micropolluants organiques lors des procédés de traitement/valorisation des boues ..... 39*

*6. Précisions sur le devenir en digestion anaérobie de quelques familles de micropolluants ..... 41*

*7. Précisions sur le devenir des hydrocarbures aromatiques polycycliques lors du compostage ..... 45*

*8. Conclusion sur le devenir des micropolluants organiques en digestion anaérobie et compostage ..... 48*

C. BIODISPONIBILITE ET BIOACCESSIBILITE ..... 48

D. AFFINITE DES MICROPOLLUANTS POUR LA MATIERE ORGANIQUE ..... 51

**III. MATERIEL & METHODES ..... 61**

A. SYSTEMES ETUDIES ..... 63

*1. Digestion anaérobie en mode batch : Biochemical Methane Potential (BMP) ..... 63*

*2. Filière de traitement des boues de station d'épuration ..... 63*

*3. Digestion anaérobie en mode semi continu ..... 65*

*4. Composteurs ..... 68*

B. FRACTIONNEMENT DE LA MATIERE ORGANIQUE PARTICULAIRE ..... 71

C. FRACTIONNEMENT DE LA MATIERE ORGANIQUE SELON LE PROTOCOLE VAN SOEST (AFNOR XP U44-162) 73

D. ANALYSES BIOCHIMIQUES ET SPECTRALES ..... 74

*1. Analyse du biogaz ..... 74*

*2. Matières Sèches (MS) & Matières Volatiles (MV) ... 75*

*3. Matières En Suspension (MES) & Matières Volatiles en Suspension (MVS) ... 75*

*4. Demande Chimique en Oxygène (DCO) ... 75*

*5. Acides Gras Volatils (AGV) ... 76*

*6. Carbone Organique Total (COT) ... 76*

*7. Carbone organique et carbone minéral (CO et CI) ... 76*

*8. Lipides ... 77*

*9. Sucres totaux ... 77*

*10. Hydrolyse Acide & Lignine Klason ... 77*

*11. Azote Total Kjeldahl (NTK) ... 78*

*12. Protéines, méthode de Lowry ... 78*

*13. Fluorescence 3D ... 79*

E. EXTRACTION ET DOSAGE DES HAP ET NP ... 80

F. EXTRACTION ET DOSAGE DES COMPOSES PHARMACEUTIQUES ... 82

G. CALCUL DE LA REPARTITION DES HAP ET NP DANS LES FRACTIONS MATIERE ET DETERMINATION DU COEFFICIENT DE PARTAGE ... 83

*1. Boues et boues digérées ... 83*

*2. Compost ... 84*

H. TRAITEMENT DES ECHANTILLONS ... 85

I. SUIVI DE LA RADIOACTIVITE LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE ET DU COMPOSTAGE DES BOUES ... 85

J. STATISTIQUES ... 91

**IV. LOCALISATION DES HAP ET NP AU SEIN DES COMPARTIMENTS MATIERE DE BOUES LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE, LIEN ENTRE LOCALISATION ET ACCESSIBILITE DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES ... 93**

A. INTRODUCTION ... 95

B. DEMARCHE EXPERIMENTALE ... 96

C. PRODUCTION DE METHANE ... 97

D. EVOLUTION DE LA MATIERE ORGANIQUE LORS DES INCUBATIONS ANAEROBIES ... 99

*1. Evolution des caractéristiques globales des mélanges lors de la digestion anaérobie ... 99*

*2. Répartition des compartiments matière ... 99*

*3. Caractérisation de la matière organique extraite ... 102*

*4. Conclusions sur caractérisation et devenir de la matière organique lors des incubations anaérobies 107*

E. LOCALISATION DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES AU SEIN DES COMPARTIMENTS MATIERE ..... 108

*1. Répartition des HAP au sein des compartiments matière ..... 108*

*2. Répartition des NP, NP1EO et NP2EO au sein des compartiments matière ..... 122*

*3. Comparaison entre HAP et NP ..... 132*

*4. Matière organique et micropolluants organiques : évolutions conjointes et affinité ..... 133*

F. CONCLUSIONS ..... 142

**V. VERS UN PROTOCOLE UNIFIE POUR CARACTERISER LA MATIERE ORGANIQUE AU COURS DU TRAITEMENT DES BOUES ..... 145**

A. INTRODUCTION ..... 147

B. DEMARCHE EXPERIMENTALE ..... 149

C. MATIERE ORGANIQUE ET DCO DES MATRICES ETUDIEES ..... 151

D. MODIFICATION PRELIMINAIRE ..... 153

E. MODIFICATION DE L'EXTRACTION SPOM ..... 153

F. COMPARAISON DU PROTOCOLE MODIFIE AVEC LE PROTOCOLE INITIAL ..... 153

G. COMPARAISON DU PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT DES BOUES MODIFIE (PROTOCOLE N°2) ET DU PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT VAN SOEST ..... 156

*1. Fractionnement des matrices selon le protocole modifié (protocole n°2) ..... 156*

*2. Fractionnement des huit matrices selon le protocole Van Soest ..... 158*

*3. Comparaison fractionnement type boues et fractionnement type Van Soest ..... 159*

*4. Conclusions sur la comparaison des deux protocoles de fractionnement ..... 161*

H. VALIDATION DU PROTOCOLE SUR DES MATRICES MODELES ..... 165

I. CARACTERISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE LORS DU TRAITEMENT DES BOUES ET DE SOLS ..... 170

*1. Boues et boues digérées ..... 171*

*2. Boues digérées : impact du procédé de déshydratation ..... 175*

*3. Compostage des boues digérées déshydratées ..... 177*

*4. Fractionnement des sols ..... 179*

J. CONCLUSIONS ..... 181

**VI. DEVENIR DE LA MATIERE ORGANIQUE ET DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES AU COURS DE LA DIGESTION ANAEROBIE ET DU COMPOSTAGE DES BOUES ..... 185**

A. DEVENIR DE LA MATIERE ORGANIQUE ET DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES ..... 188

*1. Centrifugation en laboratoire et procédé de déshydratation de la filière ..... 188*

*2. Devenir de la matière organique lors du compostage de boues secondaires épaissies ..... 189*

*3. Devenir des HAP et NP lors du compostage des boues secondaires épaissies ..... 207*

B. DEVENIR DE LA MATIERE ORGANIQUE ET DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE SUIVIE DU COMPOSTAGE DES BOUES ..... 214

*1. Devenir de la matière organique lors de la digestion anaérobie ..... 214*

*2. Devenir de la matière organique lors du compostage des boues digérées ..... 220*

*3. Devenir des HAP et NP lors de la digestion anaérobie des boues ..... 233*

*4. Devenir des HAP et NP lors du compostage des boues digérées ..... 238*

C. LOCALISATION DES NP AU SEIN DES COMPARTIMENTS MATIERE LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE SUIVIE DU COMPOSTAGE DES BOUES ..... 241

D. CONCLUSIONS ..... 245

**VII. PRECISION DES MECANISMES DE DISSIPATION DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE SUIVIE DU COMPOSTAGE DE BOUES 247**

A. INTRODUCTION ..... 249

B. DEMARCHE EXPERIMENTALE ..... 249

C. FONCTIONNEMENT DES DIGESTEURS ET DES COMPOSTEURS ..... 250

*1. Digestion anaérobie en mode semi-continu des boues secondaires épaissies dopées avec des molécules marquées eu $^{14}C$ ..... 250*

*2. Compostage des boues digérées en laboratoire et dopée en $^{14}C$ ..... 252*

D. EVOLUTION DE LA RADIOACTIVITE AU COURS DE LA DIGESTION ANAEROBIE SUIVIE DU COMPOSTAGE DE BOUE257

*1. Test préliminaire ..... 257*

*2. Répartition DOM/particulaire, minéralisation, lixiviation, résidus non extractibles et pertes ..... 258*

*3. Fractionnement de la matière organique lors de la digestion anaérobie suivie du compostage de boues : localisation, formes et teneurs du FLT ..... 271*

E. CONCLUSIONS ..... 277

**VIII. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES ..... 279**

**IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ..... 287**

**X. ANNEXES ..... 299**

# Liste des figures

FIGURE 1 : PRODUCTION DE DECHETS ORGANIQUES BRUTS (NON TRAITES) EN 2007 HORS DECHETS DE L'AGRICULTURE ET DE LA SYLVICULTURE ..... 10

FIGURE 2 : REPRESENTATIONS SCHEMATIQUES DES FLOCS DE BOUES ..... 14

FIGURE 3 : REPRESENTATION DE LA LIGNOCELLULOSE (HTTP://BIOFUEL.WEBGARDEN.COM/SECTIONS/BLOG/PICTURES-FOR-LIGNOCELLULOSE CONSULTE LE 10/10/2014) ..... 20

FIGURE 4 : EQUIVALENCE ENERGETIQUE D'UN METRE CUBE DE METHANE (MOLETTA, 2008) ..... 24

FIGURE 5 : LES ETAPES DE LA DIGESTION ANAEROBIE ET LES FLUX DE CARBONE EN % DE DCO ("METHANISATION.INFO - ETAPES DE LA DIGESTION ANAEROBIE," N.D.) ..... 25

FIGURE 6 : EVOLUTION THEORIQUE DE LA TEMPERATURE ET DES DIFFERENTES CARACTERISTIQUES DE LA MICROFLORE ET DE SON ACTIVITE AU COURS DU COMPOSTAGE (LASHERMES, 2010) ..... 27

FIGURE 7 : SCHEMA DU FONCTIONNEMENT D'UN PERTURBATEUR ENDOCRINIEN (D'APRES SOARES ET AL., 2008) 35

FIGURE 8 : DEGRADATION DES NPXEO LORS DU TRAITEMENT DES EAUX USEES DANS UNE STATION D'EPURATION CLASSIQUE (YING ET AL., 2002) ..... 37

FIGURE 9 : TRIPLE INTERACTION MATIERE/MICROPOLLUANTS/MICROORGANISMES ..... 39

FIGURE 10 : TAUX DE DISSIPATION DES HAP LORS DE LA PHASE THERMOPHILE DU COMPOSTAGE ET LORS DU COMPOSTAGE COMPLET (TIRE DE LASHERMES, 2010) ..... 41

FIGURE 11 : MECANISMES D'ELIMINATION DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES LORS D'UN TRAITEMENT BIOLOGIQUE ..... 41

FIGURE 12 : TRIPTYQUE MATRICE/MICROPOLLUANTS ORGANIQUES/MICROORGANISMES LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE OU DU COMPOSTAGE DE PRO ..... 48

FIGURE 13 : SCHEMA DE LA DEMARCHE GENERALE ADOPTEE POUR CE TRAVAIL DE THESE ..... 59

FIGURE 14 : PRESENTATION DU DISPOSITIF EXPERIMENTAL DU SITE QUALIAGRO (LES PARCELLES DES PRELEVEMENTS SONT ENTOUREES EN ROSE) ..... 65

FIGURE 15 : REPRESENTATION DU DISPOSITIF DE DIGESTION ANAEROBIE ..... 67

FIGURE 16 : REPRESENTATION DU DISPOSITIF DE COMPOSTAGE ..... 70

FIGURE 17 : DEROULEMENT DE L'EXTRACTION VAN SOEST ($T_{EB}$ = TEMPERATURE D'EBULLITION, $T_{AMB}$ = TEMPERATURE AMBIANTE) ..... 74

FIGURE 18 : EVOLUTION DE L'INTENSITE DU SIGNAL EN FONCTION DES DILUTIONS ..... 79

FIGURE 19 : ZONAGE DU SPECTRE 3D (CHEN ET AL., 2003; HE ET AL., 2011; JIMENEZ ET AL., 2014; MULLER ET AL., 2014) ..... 80

FIGURE 20 : TRAITEMENT DES ECHANTILLONS (LABORATOIRE OU FILIERE) ..... 85

FIGURE 21 : MOLECULES UTILISEES LORS DES EXPERIENCES AVEC $^{14}C$ (LES CARBONES MARQUES SONT INDIQUES PAR UNE ETOILE) ..... 86

FIGURE 22 : TRAITEMENT DES BOUES SECONDAIRES EPAISSIES EN LABORATOIRE AVEC UTILISATION DE MOLECULES RADIOMARQUEES ..... 88

FIGURE 23 : TRAITEMENT DES ECHANTILLONS MARQUES ET MESURES DE LA RADIOACTIVITE ..... 90

FIGURE 24 : DEMARCHE EXPERIMENTALE MISE EN ŒUVRE POUR ETUDIER LA LOCALISATION DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES AU SEIN DES COMPARTIMENTS MATIERE AVANT ET APRES DIGESTION ANAEROBIE ..... 97

FIGURE 25 : PRODUCTION CUMULEE DE METHANE LORS DES INCUBATIONS ANAEROBIES ..... 98

FIGURE 26 : REPARTITION DE LA DCO DANS LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS MATIERE. DEGOM= MATIERE ORGANIQUE DEGRADEE (METHANE), DOM = DISSOLVED ORGANIC MATTER (PHASE AQUEUSE), SPOM = SOLUBLE PARTICULATE ORGANIC MATTER (MATIERE ORGANIQUE PARTICULAIRE SOLUBLE), REOM = READILY EXTRACTABLE ORGANIC MATTER (MATIERE ORGANIQUE FACILEMENT EXTRACTIBLE), SEOM = SLOWLY EXTRACTABLE ORGANIC MATTER (MATIERE ORGANIQUE PEU EXTRACTIBLE), NEOM = NON EXTRACTABLE ORGANIC MATTER (MATIERE ORGANIQUE NON EXTRACTIBLE) ..... 100

FIGURE 27 : INDICE DE COMPLEXITE DES DIFFERENTES FRACTIONS DE M1 ET M3 A T0 ET TF ..... 103

FIGURE 28 : INDICES DE COMPLEXITE DES DIFFERENTES FRACTIONS DE LA BOUE AVANT ET APRES DIGESTION SELON UNE EXPERIMENTATION DE JIMENEZ, 2012 ..... 104

FIGURE 29 : TENEURS EN PROTEINES ET SUCRES DES COMPARTIMENTS DE LA PHASE PARTICULAIRE DES MELANGES M1 ET M3 AVANT ET APRES DIGESTION ANAEROBIE ..... 106

FIGURE 30 : CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DES HAP DANS LE MELANGE M1 (LES VALEURS EN LEGENDE SONT LES ABATTEMENTS POUR CHAQUE HAP) ..... 109

FIGURE 31 : REPARTITION DES HAP DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DU MELANGE M1 INITIAL (T0) ..... 110

FIGURE 32 : REPARTITION DES HAP DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DU MELANGE M1 APRES INCUBATION (TF) PAR RAPPORT A LA TENEUR INITIALE ..... 111

FIGURE 33 : CONCENTRATION DE CHAQUE HAP DANS LA SOMME DES COMPARTIMENTS REOM, SEOM ET NEOM A T0 ET TF ..... 112

FIGURE 34 : FLUX DE HAP LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DU MELANGE M1 (MELANGE DOPE) ..... 113

FIGURE 35 : CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES TOTALES EN HAP DANS LE MELANGE M2 ..... 114

FIGURE 36 : REPARTITION DES HAP DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DU MELANGE M1 A T0 ET TF ..... 115

FIGURE 37 : FLUX DE HAP LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DU MELANGE M2 (MELANGE NON DOPE) ..... 116

FIGURE 38 : CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES TOTALES EN HAP DANS LE MELANGE M3 ..... 117

FIGURE 39 : REPARTITION DES HAP DANS LE MELANGE M3 INITIAL (T0) ..... 118

FIGURE 40 : REPARTITION DES HAP DANS LE MELANGE M3 APRES INCUBATION (TF) ..... 118

FIGURE 41 : FLUX DE HAP LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DU MELANGE M3 (MELANGE NON DOPE AVEC BOUES GRANULAIRES) ..... 119

FIGURE 42 : REPARTITION DE TROIS HAP (PHE, FLT ET PYR) DANS LES TROIS MELANGES AVANT INCUBATION (T0) ..... 119

FIGURE 43 : REPARTITION DE TROIS HAP (PHE, FLT ET PYR) DANS LES TROIS MELANGES APRES INCUBATIONS (TF) ..... 120

FIGURE 44 : REPARTITION DES NP ET NPNEO AU SEIN DES COMPARTIMENTS DU MELANGE M1 AVANT ET APRES INCUBATION ..... 123

FIGURE 45 : FLUX DE NP LORS DE L'INCUBATION ANAEROBIE DU MELANGE M1 (MELANGE DOPE) ..... 124

FIGURE 46 : FLUX DE NPNEO LORS DE L'INCUBATION ANAEROBIE DU MELANGE M1 (NPNEO NATIFS) ..... 125

FIGURE 47 : REPARTITION DES NP, NP1EO ET NP2EO AU SEIN DES COMPARTIMENTS MATIERE DU MELANGE M2 ..... 125

FIGURE 48 : FLUX DE NP LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DU MELANGE M2 (MELANGE NON DOPE) ..... 127

FIGURE 49 : FLUX DE NPNEO LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DU MELANGE M2 (MELANGE NON DOPE)..... 127

FIGURE 50 : REPARTITION DES NP, NP1EO ET NP2EO DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DU MELANGE M3. 128

FIGURE 51 : FLUX DE NP LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DU MELANGE M3 (MELANGE NON DOPE AVEC BOUES GRANULAIRES) ..... 129

FIGURE 52 : FLUX DE NPNEO LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DU MELANGE M3 (MELANGE NON DOPE AVEC BOUES GRANULAIRES) ..... 129

FIGURE 53 : REPARTITION DES NP1EO ET NP2EO DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DE CHACUN DES MELANGES AVANT ET APRES INCUBATION ..... 130

FIGURE 54 : REPARTITION DES NP DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DE CHACUN DES MELANGES AVANT ET APRES INCUBATION ..... 131

FIGURE 55 : COMPARAISON DE LA REPARTITION DU PHE ET DES NP DANS CHACUN DES MELANGES AVANT ET APRES INCUBATION ANAEROBIE ..... 133

FIGURE 56 : HYPOTHESES QUE LA QUANTITE DE POLLUANTS EXTRAITS EN FONCTION DU VOLUME D'EXTRACTANT CUMULE LORS DU FRACTIONNEMENT DE LA MATIERE ORGANIQUE ET COMPARAISON AVEC LA QUANTITE DE MATIERE ORGANIQUE EXTRAITE CUMULEE ..... 134

FIGURE 57 : COMPARAISON ENTRE L'ABATTEMENT DE LA DCO DANS CHAQUE FRACTION ET LES CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DE PHE, FLT ET PYR DANS CHAQUE FRACTION DU MELANGE M1 ..... 135

FIGURE 58 : COMPARAISON ENTRE L'ABATTEMENT DE LA DCO DANS CHAQUE FRACTION ET LES CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DE PHE, FLT ET PYR DANS CHAQUE FRACTION DU MELANGE M2 ..... 136

FIGURE 59 : COMPARAISON ENTRE L'ABATTEMENT DE LA DCO DANS CHAQUE FRACTION ET LES CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DE PHE, FLT ET PYR DANS CHAQUE FRACTION DU MELANGE M3 ..... 137

FIGURE 60 : COMPARAISON ENTRE L'ABATTEMENT DE LA DCO DANS CHAQUE FRACTION ET LES CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DE NP DANS CHAQUE FRACTION DU MELANGE M1 ..... 138

FIGURE 61 : COMPARAISON ENTRE L'ABATTEMENT DE LA DCO DANS CHAQUE FRACTION ET LES CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DE NP DANS CHAQUE FRACTION DU MELANGE M2 ..... 139

FIGURE 62 : COMPARAISON ENTRE L'ABATTEMENT DE LA DCO DANS CHAQUE FRACTION ET LES CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DE NP DANS CHAQUE FRACTION DU MELANGE M3 ..... 139

FIGURE 63 : RESULTATS DE L'ACP SUR L'INCUBATION DU MELANGE M1 ..... 140

FIGURE 64 : RESULTATS DE L'ACP SUR L'INCUBATION DU MELANGE M1 (LES ECHANTILLONS NP SONT ENTOURES AVEC DES TIRETS) ..... 141

FIGURE 65 : FRACTIONS DE MATIERE ORGANIQUE NON CARACTERISEES SUR LES MELANGES ISSUS DES INCUBATIONS ANAEROBIES ..... 147

FIGURE 66 : FRACTIONNEMENT VAN SOEST DE QUELQUES MATRICES (LASHERMES, 2010) ..... 148

FIGURE 67 : DEROULEMENT DES EXPERIENCES ..... 150

FIGURE 68 : RAPPEL DU PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT INITIAL ..... 151

FIGURE 69 : MV ET DCO DES ECHANTILLONS DE LA FILIERE DE TRAITEMENT DES BOUES (ECHANTILLONNAGE N°1) ET DES SOLS ..... 152

FIGURE 70 : MV ET DCO DES ECHANTILLONS DU COMPOSTAGE DES DECHETS VERTS, DES BOUES ET DES BOUES DIGEREES (ECHANTILLONNAGE N°2) ..... 153

FIGURE 71 : RESUME DU PROTOCOLE N°1 ET DU PROTOCOLE N°2 ..... 154

FIGURE 72 : REPARTITION DE LA DCO POUR LE PROTOCOLE N°1 ET LE PROTOCOLE N°2 SUR LA PHASE PARTICULAIRE DU MELANGE M1 A T0 ISSU DES EXPERIENCES BMP ..... 154

FIGURE 73 : AZOTE NTK, PROTEINES LOWRY ET SUCRES DUBOIS SUR LES EXTRAITS DES PROTOCOLES N°1 ET N°2 ..... 155

FIGURE 74 : EVOLUTION DE LA DCO AU COURS DE L'EXTRACTION SUR LES HUIT MATRICES SELON LE PROTOCOLE N°2 ..... 156

FIGURE 75 : REPARTITION DE LA DCO DANS LES DIFFERENTES MATRICES ..... 157

FIGURE 76 : REPARTITION DES MV DES HUIT MATRICES FRACTIONNEES SELON LE PROTOCOLE VAN SOEST ..... 158

FIGURE 77 : COMPARAISON DES FRACTIONNEMENTS DE LA MATIERE ORGANIQUE DES BOUES ET BOUES DIGEREES SELON LE PROTOCOLE N°2 ET LE PROTOCOLE VAN SOEST ..... 159

FIGURE 78 : COMPARAISON DES FRACTIONNEMENTS DE LA MATIERE ORGANIQUE DES MELANGES INITIAUX ET COMPOSTS SELON LE PROTOCOLE N°2 ET LE PROTOCOLE VAN SOEST ..... 160

FIGURE 79 : PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT TESTE (ETAPE 4 DE LA FIGURE 66) ..... 162

FIGURE 80 : TEST D'UN PROTOCOLE COUPLE SUR LES ECHANTILLONS ISSUS DE LA FILIERE DE TRAITEMENT DES BOUES PAR DIGESTION ANAEROBIE SUIVIE DE COMPOSTAGE SOIT TEST DU PROTOCOLE SUR LES BOUES DIGEREES BD, LE MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES DIGEREES (MIBD) ET LE COMPOST DE BOUES DIGEREES (CBD) ..... 163

FIGURE 81 : COMPARAISON DE LA QUANTITE DE DCO EXTRAITE ENTRE LE PROTOCOLE INITIAL ET LE PROTOCOLE MODIFIE POUR LES TROIS MATRICES TESTEES (BOUES DIGEREES, MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES DIGEREES ET COMPOST DE BOUES DIGEREES) ..... 163

FIGURE 82 : PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT ..... 164

FIGURE 83 : FRACTIONNEMENT DES MATRICES COMPOSANT LA MATRICE TEMOIN ..... 165

FIGURE 84 : SPECTRE DE FLUORESCENCE DE L'EXTRAIT DE VIANDE (SPOM), DILUTION 200 ..... 166

FIGURE 85 : CARACTERISATION DES COMPARTIMENTS EXTRAITS DU STEAK HACHE PAR FLUORESCENCE 3D (D, DILUTION) ..... 167

FIGURE 86 : CARACTERISATION DES COMPARTIMENTS EXTRAITS DES ACIDES HUMIQUES PAR FLUORESCENCE 3D (D, DILUTION) ..... 168

FIGURE 87 : CARACTERISATION DES COMPARTIMENTS EXTRAITS DU CARTON PAR FLUORESCENCE 3D ..... 169

FIGURE 88 : INDICES DE COMPLEXITE DES FRACTIONS MATIERE DE SH, AH ET C ..... 169

FIGURE 89 : REPARTITION DE LA DCO DE LA BOUE ET DE LA BOUE DIGEREE DE STEP ..... 172

FIGURE 90 : REPARTITION DE LA DCO DE LA BOUE ET DE LA BOUE DIGEREE DE STEP EN % DE LA DCO BOUE .. 173

FIGURE 91 : INDICES DE COMPLEXITE DES COMPARTIMENTS MATIERE DE LA BOUE ET DE LA BOUE DIGEREE ..... 174

FIGURE 92 : REPARTITION DE LA DCO DANS LA BOUE DIGEREE CENTRIFUGEE, PASSEE AU FILTRE-PRESSE ET SECHEE PAR CENTRIDRY ..... 175

FIGURE 93 : INDICES DE COMPLEXITE DES COMPARTIMENTS DES BOUES DIGEREES DESHYDRATEES/SECHEES OU NON ..... 176

FIGURE 94 : REPARTITION DE LA DCO DANS LES DIFFERENTES MATRICES DE LA PLATE-FORME DE COMPOSTAGE DES BOUES ..... 177

FIGURE 95 : EVOLUTION ESTIMEE DE LA MATIERE ORGANIQUE LORS DU COMPOSTAGE ..... 178

FIGURE 96 : COMPLEXITE DES COMPARTIMENTS EXTRAITS DU MELANGE INITIAL ET DU COMPOST ..... 179

FIGURE 97 : REPARTITION DE LA DCO DANS LES SOLS TEMOIN SANS ET AVEC FERTILISATION AZOTEE ..... 180

FIGURE 98 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU LIEN COMPLEXITE/ACCESSIBILITE/BIODEGRADABILITE (DANS LE CADRE DES BOUES ET DE LA DIGESTION ANAEROBIE D'APRES JIMENEZ ET AL., 2014) ..... 181

FIGURE 99 : FRACTIONNEMENT DE LA MATIERE ORGANIQUE, ACCESSIBILITE ET BIODEGRADABILITE ..... 182

FIGURE 100 : PRESENTATION DE LA DEMARCHE EXPERIMENTALE POUR DETERMINER LE DEVENIR CONJOINT DE LA MATIERE ORGANIQUE ET DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES AU COURS DE LA DIGESTION ANAEROBIE ET DU COMPOSTAGE DES BOUES ..... 187

FIGURE 101 : COMPOSITION DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES (LES % ENTRE PARENTHESE DONNENT LES % EN MATIERE BRUTE DU MELANGE INITIAL) ..... 190

FIGURE 102 : DEBIT D'AIR ET TEMPERATURE LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES (JUSQU'A LA FIN DE LA PHASE DE DESCENTE DE TEMPERATURE) ..... 191

FIGURE 103 : ABATTEMENT DE LA MATIERE SECHE ET DE LA MATIERE ORGANIQUE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE DES BOUES, RAPPORTE A LA MS OU LA MV INITIALE..... 192

FIGURE 104 : EVOLUTION DE L'HUMIDITE AU COURS DU COMPOSTAGE DES BOUES NON DIGEREES..... 193

FIGURE 105 : DISTRIBUTION DE LA DCO DANS LES CONSTITUANTS DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES SECONDAIRES..... 194

FIGURE 106 : SPECTRES DE FLUORESCENCE 3D DES EXTRAITS OBTENUS SUR LES DIFFERENTS CONSTITUANTS DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES SECONDAIRES NON DIGEREES..... 196

FIGURE 107 : INDICES DE COMPLEXITE MESURES ET THEORIQUES DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES SECONDAIRES NON DIGEREES ..... 197

FIGURE 108 : REPARTITION DE LA DCO DANS LES FRACTIONS MATIERE DES COMPOSTS MATURES C2 ET C3 ET DANS LE MELANGE INITIAL LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES ..... 198

FIGURE 109 : EVOLUTION DE LA MATIERE ORGANIQUE DE DEUX COMPOSTS DE DECHETS VERTS ET BOUES (DVB) SUR UNE PLATE-FORME DE COMPOSTAGE AU COURS DU TEMPS (FRANCOU, 2003) ..... 199

FIGURE 110 : EVOLUTION DES FRACTIONS MATIERE LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES EPAISSIES SECONDAIRES 200

FIGURE 111 : EVOLUTION DE LA MATIERE ORGANIQUE LORS DU COMPOSTAGE DE BOUE EN LABORATOIRE, LA MATIERE ORGANIQUE EST FRACTIONNEE SELON LE PROTOCOLE VAN SOEST, LES RESULTATS SONT DONNES EN POURCENTAGE DE LA MATIERE ORGANIQUE TOTALE, 0 = MELANGE INITIAL, 13 = FIN PHASE THERMOPHILE, 41 = FIN DESCENTE DE TEMPERATURE, 83 = FIN MATURATION (G LASHERMES ET AL., 2012) ..... 201

FIGURE 112 : COMPLEXITE DES COMPARTIMENTS EXTRAITS DU MELANGE INITIAL, DE LA FIN DE PHASE THERMOPHILE, DE LA FIN DE DESCENTE DE TEMPERATURE ET DE LA FIN DE MATURATION POUR LE COMPOST C2 ..... 202

FIGURE 113 : COMPLEXITE DES COMPARTIMENTS EXTRAITS DU MELANGE INITIAL, DE LA FIN DE PHASE THERMOPHILE, DE LA FIN DE DESCENTE DE TEMPERATURE ET DE LA FIN DE MATURATION POUR LE COMPOST C3 ..... 202

FIGURE 114 : SPECTRES DE FLUORESCENCE DES FRACTIONS DU MELANGE INITIAL, DU COMPOST FIN PHASE THERMOPHILE, DU COMPOST FIN DESCENTE TEMPERATURE ET DU COMPOST FIN MATURATION DU COMPOSTEUR C2 ..... 205

FIGURE 115 : SPECTRES DE FLUORESCENCE DES FRACTIONS DU MELANGE INITIAL, DU COMPOST FIN PHASE THERMOPHILE, DU COMPOST FIN DESCENTE TEMPERATURE ET DU COMPOST FIN MATURATION DU COMPOSTEUR C3 ..... 206

FIGURE 116 : CONCENTRATIONS EN HAP DANS LES CONSTITUANTS DU MELANGE INITIAL ET DANS LE MELANGE INITIAL AVANT DOPAGE ..... 207

FIGURE 117 : EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN HAP LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES SECONDAIRES NON DIGEREES ..... 208

FIGURE 117 : CONCENTRATIONS EN NP DANS LES CONSTITUANTS DU MELANGE INITIAL ET DANS LE MELANGE INITIAL AVANT DOPAGE ..... 210

FIGURE 118 : CONCENTRATIONS EN NP A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE ..... 211

FIGURE 119 : DISTRIBUTION DE LA RADIOACTIVITE LORS DU COMPOSTAGE D'UN MELANGE DE DECHETS VERTS ET DE BOUES EN LABORATOIRE DOPE AVEC DES NP MARQUES AU CARBONE 14 (LASHERMES, 2010) ..... 212

FIGURE 120 : EVOLUTIONS DES MS ET DE LA DCO DE L'ALIMENTATION ET DES DIGESTATS AU COURS DU TEMPS ..... 215

FIGURE 121 : EVOLUTION DES FRACTIONS « MATIERE » LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DES BOUES SECONDAIRES EN REACTEUR SEMI CONTINU ..... 216

FIGURE 122 : INDICES DE COMPLEXITE DE CHAQUE FRACTION DES BOUES ET DIGESTATS ..... 217

FIGURE 123 : SPECTRES DE FLUORESCENCE DES FRACTIONS DE LA BOUE D'ALIMENTATION ET DES DIGESTATS .. 219

FIGURE 124 : COMPOSITION DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES DIGEREES (LES % ENTRE PARENTHESE DONNENT LES % EN MASSE DE MATIERE BRUTE DU MELANGE INITIAL) ..... 220

FIGURE 125 : DEBIT D'AIR ET TEMPERATURE LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES EN LABORATOIRE .... 221

FIGURE 126 : EVOLUTION DE L'HUMIDITE AU COURS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES ..... 222

FIGURE 127 : PERTES EN MS ET MV A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES ..... 222

FIGURE 128 : REPARTITION DE LA DCO DANS LES CO-SUBSTRATS, LA BOUE DIGEREE ET LE MELANGE INITIAL (REEL ET THEORIQUE) ..... 223

FIGURE 129 : INDICES DE COMPLEXITE MESURES ET THEORIQUES DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES DIGEREES EN LABORATOIRE ..... 224

FIGURE 130 : REPARTITION DE LA DCO DANS LES FRACTIONS MATIERE DES COMPOSTS MATURES C1 ET C2 ET DANS LE MELANGE INITIAL LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES EN LABORATOIRE ..... 225

FIGURE 131 : EVOLUTION DES FRACTIONS MATIERE LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES ..... 226

FIGURE 132 : COMPARAISON DE L'EVOLUTION DE LA MATIERE ORGANIQUE LORS DU COMPOSTAGE DE BOUES ... 228

FIGURE 133 : INDICE DE COMPLEXITE DES FRACTIONS A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE POUR LES COMPOSTEURS C1 ET C2 ..... 229

FIGURE 134 : SPECTRES DE FLUORESCENCE DES FRACTIONS A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE C1 ..... 231

FIGURE 135 : SPECTRES DE FLUORESCENCE DES FRACTIONS A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE C2 ..... 232

FIGURE 136 : CONCENTRATIONS EN HAP TOTAUX DE LA BOUE D'ALIMENTATION ET DU DIGESTAT DU REACTEUR DE 2 L AU COURS DU TEMPS, LE TRAIT PLEIN REPRESENTE LA CONCENTRATION THEORIQUE DANS LE DIGESTAT EN TENANT COMPTE DU TAUX DE DEGRADATION DES HAP ET CONSIDERANT UN TEMPS DE SEJOUR DE 20 JOURS, UN VOLUME DE REACTEUR CONSTANT DE 2 L ET UNE ALIMENTATION CONSTANTE..... 234

FIGURE 137 : CONCENTRATIONS EN HAP TOTAUX DE LA BOUE D'ALIMENTATION ET DU DIGESTAT DU REACTEUR DE 6 L AU COURS DU TEMPS, LE TRAIT PLEIN REPRESENTE LA CONCENTRATION THEORIQUE DANS LE DIGESTAT EN TENANT COMPTE DU TAUX DE DEGRADATION DES HAP ET CONSIDERANT UN TEMPS DE SEJOUR DE 20 JOURS, UN VOLUME DE REACTEUR CONSTANT DE 6 L ET UNE ALIMENTATION CONSTANTE..... 235

FIGURE 138 : CONCENTRATIONS EN NP DE LA BOUE D'ALIMENTATION ET DU DIGESTAT DU REACTEUR DE 2 L AU COURS DU TEMPS, LE TRAIT PLEIN REPRESENTE LA CONCENTRATION THEORIQUE DANS LE DIGESTAT EN TENANT COMPTE DU TAUX DE DEGRADATION DES NP ET CONSIDERANT UN TEMPS DE SEJOUR DE 20 JOURS, UN VOLUME DE REACTEUR CONSTANT DE 2 L ET UNE ALIMENTATION CONSTANTE..... 236

FIGURE 139 : CONCENTRATIONS EN NP DE LA BOUE D'ALIMENTATION ET DU DIGESTAT DU REACTEUR DE 6 L AU COURS DU TEMPS, LE TRAIT PLEIN ROUGE REPRESENTE LA CONCENTRATION THEORIQUE DANS LE DIGESTAT EN TENANT COMPTE DU TAUX DE DEGRADATION DES NP ET CONSIDERANT UN TEMPS DE SEJOUR DE 20 JOURS, UN VOLUME DE REACTEUR CONSTANT DE 6 L ET UNE ALIMENTATION CONSTANTE, LE TRAIT PLEIN VERT REPRESENTE LA CONCENTRATION DANS LE DIGESTAT DANS LES MEMES CONDITIONS S'IL N'Y A PAS DE DEGRADATION..... 236

FIGURE 140 : EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN NP1EO ET NP2EO DANS LES DIGESTATS DES REACTEURS DE 2 L ET 6 L AU COURS DE LA DIGESTION ..... 237

FIGURE 141 : CONCENTRATIONS EN HAP DANS LES CONSTITUANTS DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE DIGESTAT ET COMPARAISON DE LA CONCENTRATION DU MELANGE INITIAL AVEC LA CONCENTRATION THEORIQUE DE CE MEME MELANGE ..... 239

FIGURE 142 : EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN HAP LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES SECONDAIRES NON DIGEREES (ABSCISSE = TEMPS EN JOURS, ORDONNEE = CONCENTRATION EN HAP EN $\mu G.KGMS_{INITIALE}^{-1}$)..... 239

FIGURE 143 : CONCENTRATIONS EN NP DANS LES CONSTITUANTS DU MELANGE INITIAL DU COMPOST DE DIGESTAT ET COMPARAISON DE LA CONCENTRATION DU MELANGE INITIAL AVEC LA CONCENTRATION THEORIQUE DE CE MEME MELANGE ..... 241

FIGURE 144 : EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN NP AU COURS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES (ABSCISSE = TEMPS EN JOURS, ORDONNEES = CONCENTRATION DES NP EN $MG.KGMS_{INIT}^{-1}$)..... 241

FIGURE 145 : REPARTITION DES NP DANS LA BOUE ET LES DIGESTATS ..... 242

FIGURE 146 : COMPARAISON DE LA REPARTITION DES NP DANS LES DIGESTATS ET DANS LE MELANGE INITIAL DU COMPOST DE BOUES DIGEREES ..... 243

FIGURE 147 : REPARTITION DES NP DANS LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS MATIERE AU COURS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES EN LABORATOIRE, COMPOST C1 (NEOM = NEOM + PEOM) ..... 244

FIGURE 148 : REPARTITION DES NP DANS LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS MATIERE AU COURS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES EN LABORATOIRE, COMPOST C2 ..... 245

FIGURE 149 : DEMARCHE EXPERIMENTALE DES MANIPULATIONS AVEC UTILISATION DE $^{14}C$ ..... 250

FIGURE 150 : CONCENTRATIONS MOYENNES DES BOUES D'ALIMENTATION ET DU DIGESTAT LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE SEMI-CONTINUE DES BOUES SECONDAIRES EPAISSIES DOPEES AVEC DES MOLECULES MARQUEES AU $^{14}C$ (LES BARRES D'ERREUR DONNENT LES CONCENTRATIONS MAXIMALES ET MINIMALES ATTEINTS, L'HISTOGRAMME REPRESENTE LES VALEURS MOYENNES SUR TOUTE LA DIGESTION)..... 250

FIGURE 151 : PRODUCTION DE BIOGAZ LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE EN MODE SEMI-CONTINU DES BOUES SECONDAIRES EPAISSIES AVEC UTILISATION DE $^{14}C$..... 251

FIGURE 152 : COMPOSITION EN MS DE CHAQUE MELANGE INITIAL DE COMPOST DE BOUES DIGEREES DOPEES AVEC DES MOLECULES MARQUEES AU $^{14}C$ ..... 252

FIGURE 153 : EVOLUTION DE L'HUMIDITE AU COURS DU COMPOSTAGE DES BOUES DIGEREES DOPEES AVEC DES MOLECULES MARQUEES AU $^{14}C$ ..... 253

FIGURE 154 : PROFILS DE TEMPERATURE LORS DE LA MONTEE EN TEMPERATURE, DE LA PHASE THERMOPHILE ET DE LA DESCENTE DE TEMPERATURE DU COMPOSTAGE DE BOUES AVEC MOLECULES MARQUEES AU $^{14}C$..... 254

FIGURE 155 : ABATTEMENT DE LA MATIERE SECHE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE EN POURCENTAGES DE LA MS INITIAL POUR CHAQUE REACTEUR..... 255

FIGURE 156 : RELATIONS ENTRE LA COMPOSITION DE CHAQUE MELANGE ET LE TAUX D'ABATTEMENT DE LA MATIERE SECHE LORS DU COMPOSTAGE DES BOUES AVEC $^{14}C$..... 256

FIGURE 157 : SYSTEMES DE MATURATION UTILISES SANS $^{14}C$ ET AVEC $^{14}C$ ..... 257

FIGURE 158 : TEST DE LA SOLUBILISATION DE LA BOUE DANS LE SOLVABLE™, COMPARAISON ENTRE L'ACTIVITE THEORIQUE ET L'ACTIVITE MESUREE SUR UNE BOUE DOPEE AVEC $^{14}C$-FLT ..... 258

FIGURE 159 : MOYENNE DE LA CONCENTRATION DE LA RADIOACTIVITE DANS LES BOUES D'ALIMENTATION ET MOYENNE DE LA RADIOACTIVITE DANS LES DIGESTATS POUR CHAQUE MOLECULE MARQUEE AU $^{14}C$ (LES HISTOGRAMMES REPRESENTENT LA CONCENTRATION MOYENNE ET LES BARRES D'ERREURS DONNENT LES MINIMA ET LES MAXIMA MESURES) ..... 259

FIGURE 160 : REPARTITION DE LA RADIOACTIVITE ENTRE LA FRACTION DOM ET LA PHASE PARTICULAIRE ..... 259

FIGURE 161 : ECART DE L'ACTIVITE DE LA PHASE PARTICULAIRE DETERMINEE APRES SOLUBILISATION AU SOLVABLE™ PAR RAPPORT A L'ACTIVITE DE LA PHASE PARTICULAIRE CALCULEE PAR DIFFERENCE ENTRE L'ACTIVITE TOTALE ET L'ACTIVITE DE LA PHASE AQUEUSE..... 260

FIGURE 162 : VOIES POSSIBLES DE DEGRADATION DE LA SULFAMETHOXAZOLE..... 262

FIGURE 163 : QUANTITE DE RADIOACTIVITE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE SMX 1, PE = PRELEVEMENT POUR ANALYSES ..... 263

FIGURE 164 : QUANTITE DE RADIOACTIVITE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE SMX 2, PE = PRELEVEMENT POUR ANALYSES ..... 263

FIGURE 165 : QUANTITE DE RADIOACTIVITE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE FLT 1, PE = PRELEVEMENT POUR ANALYSES ..... 264

FIGURE 166 : QUANTITE DE RADIOACTIVITE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE FLT 2, PE = PRELEVEMENT POUR ANALYSES ..... 264

FIGURE 167 : QUANTITE DE RADIOACTIVITE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE NP 1, PE = PRELEVEMENT POUR ANALYSES ..... 265

FIGURE 168 : QUANTITE DE RADIOACTIVITE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE NP 2, PE = PRELEVEMENT POUR ANALYSES ..... 265

FIGURE 169 : COURBES DE MINERALISATION DU $^{14}$C-NP LORS DE LA MATURATION ET MODELISATION DES COURBES PAR L'EQUATION DE GOMPERTZ MODIFIEE ..... 266

FIGURE 170 : COMPARAISON DE LA RADIOACTIVITE TOTALE MESUREE PAR COMBUSTION AVEC LA SOMME DE LA RADIOACTIVITE EXTRAITE PAR ASE ET DE LA RADIOACTIVITE RESTANTE DANS LA CELLULE MESUREE PAR COMBUSTION POUR LES ECHANTILLONS DE COMPOST FLT 1 ..... 267

FIGURE 171 : COMPARAISON DE LA RADIOACTIVITE TOTALE MESUREE PAR COMBUSTION AVEC LA SOMME DE LA RADIOACTIVITE EXTRAITE PAR ASE ET DE LA RADIOACTIVITE RESTANTE DANS LA CELLULE MESUREE PAR COMBUSTION POUR LES ECHANTILLONS DE COMPOST FLT 2 ..... 268

FIGURE 172 : COMPARAISON DE LA RADIOACTIVITE TOTALE MESUREE PAR COMBUSTION AVEC LA SOMME DE LA RADIOACTIVITE EXTRAITE PAR ASE ET DE LA RADIOACTIVITE RESTANTE DANS LA CELLULE MESUREE PAR COMBUSTION POUR LES ECHANTILLONS DE COMPOST NP 1 ..... 268

FIGURE 173 : COMPARAISON DE LA RADIOACTIVITE TOTALE MESUREE PAR COMBUSTION AVEC LA SOMME DE LA RADIOACTIVITE EXTRAITE PAR ASE ET DE LA RADIOACTIVITE RESTANTE DANS LA CELLULE MESUREE PAR COMBUSTION POUR LES ECHANTILLONS DE COMPOST NP 2 ..... 269

FIGURE 174 : REPARTITION EXTRACTIBLE/NON EXTRACTIBLE A CHAQUE ETAPE DU COMPOSTAGE POUR FLT ET NP EN POURCENTAGES DE L'ACTIVITE DE L'ECHANTILLON ..... 270

FIGURE 175 : REPARTITION DE LA RADIOACTIVITE DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DES BOUES ET DES DIGESTATS EN POURCENTAGE DE LA RADIOACTIVITE TOTALE ..... 272

FIGURE 176 : COMPARAISON DE LA REPARTITION DE L'ACTIVITE DE LA PHASE PARTICULAIRE DES BOUES DIGEREES AVEC LE MELANGE INITIAL DU COMPOST ..... 273

FIGURE 177 : REPARTITION DE LA RADIOACTIVITE DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE AU COURS DU COMPOSTAGE FLT 1 ..... 274

FIGURE 178 : REPARTITION DE LA RADIOACTIVITE DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE AU COURS DU COMPOSTAGE FLT 2 ..... 275

FIGURE 179 : POURCENTAGE DE RADIOACTIVITE RESTANTE APRES EVAPORATION DE L'EXTRAIT ASE ET REPRISE DANS LE METHANOL POUR LES ECHANTILLONS DE COMPOST FRACTIONNES FLT 1 ..... 276

FIGURE 180 : POURCENTAGE DE RADIOACTIVITE RESTANTE APRES EVAPORATION DE L'EXTRAIT ASE ET REPRISE DANS LE METHANOL POUR LES ECHANTILLONS DE COMPOST FRACTIONNES FLT 2 ..... 276

FIGURE 181 : COMPARAISON DU CHROMATOGRAMME DE LA SOLUTION DE DOPAGE EN $^{14}$C-FLT AVEC LE CHROMATOGRAMME D'UN EXTRAIT ASE REPRIS DANS LE METHANOL (UN SEUL CHROMATOGRAMME EST MONTRE, LES AUTRES SONT TOUS SEMBLABLES) ..... 277

# Liste des tableaux

TABLEAU I : DONNEES DE LA LITTERATURE SUR LA COMPOSITION ORGANIQUE DES BOUES (D'APRES JIMENEZ, 2012) (PR = PROTEINES, HA = ACIDES HUMIQUES, CH = CARBOHYDRATES, AGV = ACIDES GRAS VOLATILES, LI = LIPIDES) ..... 11

TABLEAU II : TECHNIQUES D'EXTRACTION DES EXOPOLYMERES DE BOUES ACTIVEES ..... 15

TABLEAU III : TYPES DE MATIERES EXTRAITES A CHAQUE ETAPE DU FRACTIONNEMENT VAN SOEST ..... 23

TABLEAU IV : METHODE D'EXTRACTION ET FIBRES EXTRAITES ..... 23

TABLEAU V : COMPOSITION DU BIOGAZ EN DIGESTION ANAEROBIE (BAYARD AND GOURDON, 2007) ..... 26

TABLEAU VI : PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES ET STRUCTURES DES SEIZE HAP VISES PAR L'US-EPA (INERIS, 2005) ..... 30

TABLEAU VII : TENEURS EN HAP DANS LES BOUES D'EPURATION ..... 33

TABLEAU VIII : PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES ET STRUCTURES DES NONYLPHENOLS ET NONYLPHENOLS POLYETHOXYLES (YING ET AL., 2002) ..... 35

TABLEAU IX : TENEURS EN NP ET NPNEO DANS LES BOUES D'EPURATION ..... 38

TABLEAU X : TECHNIQUES DE MESURES DE LA BIODISPONIBILITE DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES ..... 49

TABLEAU XI : VALEURS DE KD OU KDOC DANS QUELQUES MATRICES ..... 52

TABLEAU XII : PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA BOUE/SUBSTRAT ..... 66

TABLEAU XIII : CONCENTRATIONS DE DOPAGE ..... 66

TABLEAU XIV : PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DU DIGESTAT ..... 68

TABLEAU XV : CARACTERISTIQUES DES CO-SUBSTRATS ET DES MELANGES INITIAUX DES COMPOSTS DE BOUES ET DE BOUES DIGEREES ..... 69

TABLEAU XVI : LES COMPARTIMENTS DU FRACTIONNEMENT MATIERE (JIMENEZ ET AL., 2014; MULLER ET AL., 2014) ..... 72

TABLEAU XVII : LES COMPARTIMENTS DU FRACTIONNEMENT MATIERE DU PROTOCOLE MODIFIE ..... 73

TABLEAU XVIII : COMPOSITION DES SOLUTIONS D'EXTRACTION VAN SOEST ..... 74

TABLEAU XIX : TEMPS DE RETENTION ($T_R$ EN MIN) DES HAP PAR HPLC ET COUPLES DE LONGUEURS D'ONDE D'EXCITATION / EMISSION (NM) UTILISES POUR LEUR DETECTION PAR FLUORIMETRIE ..... 82

TABLEAU XX : PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES MELANGES AVANT ET APRES INCUBATION ..... 99

TABLEAU XXI : TESTS STATISTIQUES SUR LA REPARTITION EN POURCENTAGES DE LA DCO TOTALE INITIALE DES COMPARTIMENTS MATIERE LORS DES INCUBATIONS ANAEROBIES ..... 101

TABLEAU XXII : DEGRADATION DES COMPARTIMENTS MATIERE LORS DE L'INCUBATION ANAEROBIE ..... 101

TABLEAU XXIII : PART DE L'ABATTEMENT EN HAP DU COMPARTIMENT AQUEUX PAR RAPPORT A L'ABATTEMENT TOTAL EN HAP POUR LE MELANGE M1 ..... 109

TABLEAU XXIV : RESULTATS DU TEST ANOVA SUR LES CONCENTRATIONS INITIALES ET FINALES DES QUATRE HAP DOSES DANS LE MELANGE M2 ..... 114

TABLEAU XXV : BILAN MOLAIRE DES NP, NP1EO ET NP2EO DANS LE MELANGE M1 ..... 124

TABLEAU XXVI : BILAN MOLAIRE DES NP, NP1EO ET NP2EO DANS LE MELANGE M2 ..... 126

TABLEAU XXVII : BILAN MOLAIRE DES NP, NP1EO ET NP2EO DANS LE MELANGE M3 ..... 128

TABLEAU XXVIII : BILAN SUR LES DIGESTEURS DE LA STATION D'EPURATION ..... 171

TABLEAU XXIX : COMPARAISON DES CARACTERISTIQUES DU COMPOST AVEC LA NORME NFU 44-095 ..... 171

TABLEAU XXX : COMPARAISON ENTRE LE PROCEDE DE CENTRIFUGATION EN LABORATOIRE ET LE PROCEDE DE FILTRE-PRESSE ..... 188

TABLEAU XXXI : PERFORMANCES DE LA DIGESTION ANAEROBIE DES BOUES SECONDAIRES ..... 214

TABLEAU XXXII : TAUX D'ABATTEMENT DES HAP ET NP AU COURS DE LA DIGESTION ANAEROBIE DES BOUES EN POURCENTAGES ..... 238

TABLEAU XXXIII : COMPARAISONS DES MS ET MV DES CO-SUBSTRATS DES COMPOSTAGES AVEC ET SANS $^{14}C$ 256

# Liste des équations

ÉQUATION 1 : CALCUL DU RATIO S/X ..... 63

ÉQUATION 2 : CALCUL DES MS ..... 75

ÉQUATION 3 : CALCUL DES MV ..... 75

ÉQUATION 4 : CALCUL DES MES ..... 75

ÉQUATION 5 : CALCUL DES MVS ..... 75

ÉQUATION 6 : CALCUL DE LA DCO D'UN SOLIDE ..... 76

ÉQUATION 7 : CALCUL DU TAUX DE LIPIDES D'UN ECHANTILLON SOLIDE ..... 77

ÉQUATION 8 : CALCUL DU TAUX DE LIGNINE ..... 78

ÉQUATION 9 : CALCUL DE L'INDICE DE COMPLEXITE (PH/PP) ..... 80

ÉQUATION 10 : CALCULS DE LA CONCENTRATION EN MICROPOLLUANTS (EX : FLU) DE CHAQUE CULOT DE FRACTIONNEMENT EN $\mu G.L^{-1}$ ..... 83

ÉQUATION 11 : CALCULS DE LA CONCENTRATION DE CHAQUE FRACTION MATIERE EN MICROPOLLUANTS (EX :FLU) ..... 83

ÉQUATION 12 : CALCULS DES KD DE CHAQUE COMPARTIMENT MATIERE (EX : FLU) ..... 84

ÉQUATION 13 : CALCULS DE LA CONCENTRATION DES CULOTS RESIDUELS EN $\mu G.KGMS^{-1}_{TOTAL}$ (EX : FLU) ..... 84

ÉQUATION 14 : CALCULS DE LA CONCENTRATION EN MICROPOLLUANTS DANS LES COMPARTIMENTS MATIERE DES ECHANTILLONS DE COMPOST (EX : FLU) ..... 84

ÉQUATION 15 : CALCULS DES COEFFICIENTS DE PARTAGE DANS LE COMPOST (EX : FLU) ..... 84

ÉQUATION 16 : CALCUL DE LA CONCENTRATION THEORIQUE DU DIGESTAT AU COURS DU TEMPS ..... 234

ÉQUATION 17 : CALCUL DE L'ABATTEMENT EN MICROPOLLUANTS LORS DE LA DIGESTION ANAEROBIE ..... 234

ÉQUATION 18 : CALCUL DE L'ACTIVITE D'UNE BOUE DILUEE DANS LE SOLVABLE™ ..... 257

ÉQUATION 19 : EQUATION DE GOMPERTZ MODIFIEE POUR LA PRODUCTION DE BIOGAZ ..... 266

## Liste des sigles et abréviations

AGV = Acides Gras Volatiles

BMP = Biochemical Methane Potential

DCO = Demande Chimique en Oxygène

EH = Equivalents Habitants

Fractionnement de la matière organique :

- DOM = dissolved organic matter ;
- SPOM = soluble particulate organic matter ;
- REOM = readily extractable organic matter ;
- SEOM = slowly extractable organic matter ;
- PEOM = poorly extractable organic matter ;
- NEOM = non extractable organic matter.

HAP = Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

LAS = Alkylbenzène Sulfonate Linéaires

MS/MV, MES/MVS = Matière Sèche/Matière Volatile, Matière En Suspension/Matière Volatile en Suspension

NP, NPnEO = NonylPhénols, NonylPhénols polyéthoxylés

PCB = Polychlorobiphényles

PCDD, PCDF = PolyChloroDibenzoDioxines, PolyChloroDibenzoFuranes

PRO = Produits résiduaires organiques

STEP = Station d'épuration des eaux usées

TSH = Temps de Séjour Hydraulique

# I. Introduction

# I. Introduction

Les lisiers, les fumiers, les boues de station d'épuration, les déchets des industries agroalimentaires sont considérés comme des déchets organiques (Westerman and Bicudo, 2005) qui peuvent potentiellement être recyclés en agriculture (ils deviennent alors des produits résiduaires organiques-PRO ou des matières fertilisantes d'origine résiduaire-MAFOR) comme amendement ou fertilisant pour les sols après avoir subi ou non un traitement biologique (digestion anaérobie, compostage, digestion anaérobie suivie de compostage). En effet, le recyclage des nutriments (N, P) et de la matière organique est une voie potentielle pour réduire l'utilisation d'engrais minéraux et maintenir l'activité biologique des sols (Mougin et al., 2006).

Les boues d'épuration représentent une source importante de matière organique. En 2007, le tonnage de boues produites est de 9 millions de tonnes brutes ce qui représente 22 % du tonnage total des déchets organiques (hors déchets issus de l'agriculture et de la sylviculture) (ADEME, 2012). Dans l'Europe des 27, 41 % des boues produites sont utilisées en agriculture, 12 % étant préalablement compostés. En France, ce pourcentage monte à 73 % dont 28 % sont compostés (Legroux et Truchot, 2009). L'utilisation des boues en agriculture est encadré par l'arrêté du 08/01/1998 qui stipule les conditions de l'épandage des boues, en particulier pour les boues stabilisées (« la fermentation est achevée, soit bloquée entre la sortie du traitement et la réalisation de l'épandage »). De plus, une limitation est donnée pour certaines familles de contaminants inorganiques et composés traces organiques ou micropolluants organiques.

En effet, l'utilisation de produits chimiques (solvants, détergents, peinture, pesticides, etc.) et les activités humaines entraînent la contamination des boues d'épuration par de nombreux micropolluants organiques (Clarke and Smith, 2011; Rogers, 1996). Les micropolluants organiques incluent une famille de composés organiques qui peuvent être persistants et toxiques pour les humains ou les écosystèmes bien que les teneurs dans les milieux aquatiques, par exemple, soient faibles (de l'ordre du ng au $\mu g.L^{-1}$). De nombreuses molécules peuvent être retrouvées dans les boues : hydrocarbures aromatiques polycycliques, polychlorobiphényles, nonylphénols, etc. (Abad et al., 2005). Récemment, des micropolluants organiques émergents ont été quantifiés dans notre environnement, dont les boues : produits de soin personnel, médicaments et produits vétérinaires (Teijon et al., 2010). La plupart de ces micropolluants organiques ont un fort impact sur l'environnement, par exemple, la bioaccumulation dans la chaîne alimentaire (Rowsell et al., 2009).

Lors de l'épandage, des micropolluants organiques sont apportés au sol par les boues. Les micropolluants peuvent être transférés à l'eau ou à la faune et à la flore. Pour limiter le risque au sol, il faut donc assurer l'innocuité des boues en termes de micropolluants organiques. Les traitements de stabilisation des boues utilisés en amont de l'épandage doivent permettre de diminuer le risque lié à la

présence des micropolluants organiques dans les boues afin de limiter la contamination des sols et l'impact environnemental.

Des efforts importants sont actuellement réalisés pour décrire, comprendre et améliorer l'élimination de ces micropolluants au cours des différents procédés de traitement des boues (digestion anaérobie, compostage). Mais très peu de données existent sur le **devenir au cours du traitement/stockage** des autres PRO et le lien entre **devenir/traitement et devenir/sol** n'est que très rarement abordé. Pourtant, si les traitements biologiques des PRO conduisent à une réduction des volumes et à une stabilisation de la matière organique, ils peuvent également influer sur les teneurs, les formes chimiques et la distribution des micropolluants organiques dans les PRO ou les compartiments matière de ces PRO. Les études publiées permettent de dégager au cas par cas des tendances sans pouvoir juger définitivement de l'efficacité des traitements concernant l'abattement, la dissipation et/ou l'évolution des contaminants vers des espèces chimiquement plus stables (Barret, 2009; Lashermes, 2010; Patureau et al., 2008; Trably et al., 2003). Ces traitements revêtent donc un intérêt particulier puisqu'ils peuvent permettre de réduire les teneurs en polluants et d'en modifier leur forme chimique et leur distribution, ce qui pourrait influencer leur dynamique dans le sol. Ce sont aussi des systèmes d'étude modèles permettant de mieux comprendre la dynamique des polluants pour *in fine* mieux la maîtriser et l'optimiser.

Lors de la digestion anaérobie et du compostage, la biodégradation des micropolluants est régie par les propriétés physicochimiques de la matrice et des boues ainsi que par les microorganismes présents (Barret, 2009; Lashermes, 2010). L'interaction entre la matrice organique et les micropolluants organiques se fait à travers les phénomènes de sorption. Or, la sorption des micropolluants organiques sur la matrice peut limiter leur accessibilité et leur biodisponibilité et ainsi diminuer leur dégradation. La modification de la matière organique lors du traitement va donc influer sur le devenir des micropolluants organiques.

Pour mieux comprendre le lien entre le devenir de la matière organique et la dynamique des micropolluants organiques lors de la digestion anaérobie et du compostage des boues, l'étude couplée du devenir de la matière organique et des micropolluants organiques est donc proposée dans ces travaux. Pour atteindre cet objectif, une boue subit différents traitements biologiques. Au cours des traitements, des échantillons sont prélevés puis fractionner. Chaque fraction isolée est caractérisée et sa teneur en polluants est déterminée.

Le manuscrit se divise en 6 parties. La synthèse bibliographique présente les déchets organiques, les traitements biologiques (digestion anaérobie et compostage) pouvant être appliqués à ces déchets, les micropolluants organiques et les connaissances sur leur devenir durant le traitement biologique puis définit les notions de biodisponibilité et bioaccessibilité avant de montrer l'affinité des micropolluants pour certains types de matière organique.

Sont ensuite présentés les matériels et méthodes utilisés dans cette thèse avant de présenter les résultats en quatre parties.

Dans une première partie, une boue est digérée en anaérobiose dans un système batch. La caractérisation de la matière organique ainsi que la localisation des micropolluants organiques avant et après digestion permet de comprendre le lien entre la localisation des micropolluants organiques dans les différents compartiments matière et la nature biochimique de ces compartiments.

Dans une deuxième partie, le protocole de fractionnement de la matière organique est modifié pour améliorer la caractérisation de la matière organique et permettre d'étudier son évolution au cours d'une filière de traitement de boues, incluant digestion anaérobie et compostage.

Dans une troisième partie, une boue subit deux traitements : compostage ou digestion anaérobie et compostage. Le suivi de l'évolution de la matière organique et des micropolluants organiques permet de mieux comprendre le lien entre l'évolution matière lors du traitement et la dynamique des micropolluants.

Enfin, une quatrième partie présente les résultats de la digestion anaérobie suivie du compostage des boues avec l'utilisation de molécules marquées au $^{14}C$ afin de préciser les mécanismes d'élimination des micropolluants organiques lors des procédés biologiques.

Ces travaux de thèse ont été réalisés au sein du Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement à Narbonne et au sein du laboratoire ECOSYS à Grignon. Ils ont été effectués au sein de l'Ecole Doctorale Science des Procédés – Science des Aliments de l'Université de Montpellier II. Les travaux de thèse ont été financés par l'ONEMA (projet Risq-PRO), l'INRA et l'ADEME.

# II. Synthèse bibliographique

# II. Synthèse bibliographique

## 1. Les déchets organiques

### 2. Typologie et ressources

Un déchet organique est une matière organique d'origine variée et souvent résiduaire : effluents d'élevage (fumiers, lisiers, fientes, etc.), déchets de l'industrie et de l'industrie agro-alimentaire (boues de papèteries, sciures de bois, etc. ou déchets de transformation végétale ou animale) ou déchets d'origine urbaine (boues d'épuration des eaux usées, composts de déchets verts, d'ordures ménagères, etc.). Les déchets peuvent être bruts ou traités (procédés biologiques et/ou physico-chimiques).

Selon la loi du 15 juillet 1975, un déchet est « un résidu d'un processus de production ou de transformation ou d'utilisation, une substance, un matériau, un produit ou plus généralement un bien meuble abandonné que le détenteur destine à l'abandon ». Au regard de la loi, ne sont réglementés que les déchets qui sont par leurs conditions de production ou de détention « de nature à produire des effets nocifs sur le sol, la flore ou la faune, à dégrader les sites et les paysages, à polluer l'air ou les eaux, à engendrer des bruits et des odeurs et, d'une façon générale, à porter atteinte à la santé de l'homme et à l'environnement ». En ce sens, les boues, lisiers, fumieurs etc. sont des déchets. Toutefois, le terme de PRO ou MAFOR est parfois préféré à celui de déchets organiques à cause de la notion de déchets ultimes. La loi du 13 juillet 1992 considère comme déchet ultime « un déchet résultant ou non d'un traitement d'un déchet, qui n'est plus susceptible d'être traité dans des conditions techniques et économiques du moment, notamment par extraction de la part valorisable ou par réduction de son caractère polluant ou dangereux ». Cette notion est précisée par la circulaire d'avril 1998 : « les déchets ultimes sont les déchets dont on a extrait la part récupérable ainsi que les divers éléments polluants comme les piles ou les accumulateurs ». Les déchets organiques ne peuvent être considérés comme des déchets ultimes puisqu'ils contiennent des éléments fertilisants et sont riches en matière organiques, ainsi, ils peuvent être réutilisés, par exemple, en agriculture par épandage.

Le recyclage des déchets organiques en agriculture a plusieurs avantages :

- Augmentation des teneurs en matière organique des sols ;
- Amélioration de la fertilité chimique des sols (valeur fertilisante (N, P) et correction du pH) ;
- Amélioration des propriétés physiques des sols (porosité, stabilité de la structure, rétention d'eau) ;
- Stimulation de l'activité microbienne.

Toutefois, le recyclage des déchets organiques en agriculture impose des contraintes : odeurs, fertilisation, calendrier de travail (le fait d'apporter un déchet organique sur le sol n'interdit pas d'effectuer un épandage d'engrais minéral type sulfate d'ammonium) et nécessite une exigence en

termes de qualité des déchets organiques (présence d'inertes, d'éléments traces métalliques, de micropolluants organiques et de pathogènes).

Les quantités de déchets bruts produits représentent une ressource non négligeable de matière organique recyclable en agriculture. Les quantités de déchets organiques de la Figure 1 sont celles de 2007 issues de l'étude ADEME : Chiffres-Clés, Déchets, édition 2012 (ADEME, 2012).

## La production de déchets organiques en France en 2007

**Figure 9 - Production des déchets organiques hors déchets de l'agriculture et de la sylviculture**

| En millions de tonnes | | |
|---|---|---|
| **Déchets organiques municipaux** (1) | | **34,7** |
| Déchets d'assainissement collectif | | 9,0 |
| Déchets de cuisine (DC) (1) | | 7,4 |
| • DC en gestion domestique | 0,6 | |
| • DC en gestion collective (1) | 6,8 | |
| Papiers cartons textiles sanitaires (1) | | 7,5 |
| Déchets verts des collectivités | | 0,9 |
| Déchets verts des ménages (DV) | | 10,0 |
| • DV dans les ordures ménagères | 1,2 | |
| • DV en déchèterie | 3,1 | |
| • DV collectés au porte à porte | 1,1 | |
| • DV en gestion domestique | 4,5 | |
| **Autres déchets organiques** (2) | | **6,5** |
| Déchets verts des entreprises | | 0,9 |
| IAA | | 3,0 |
| Papetiers | | 1,8 |
| Autres industries | | 0,8 |
| **TOTAL DÉCHETS ORGANIQUES (hors agriculture)** | | **41,2** |

(1) Y compris déchets des activités économiques collectés séparément ou avec les ordures ménagères
(2) Hors papiers et cartons en recyclage matière

Source : ADEME

**Figure 1 : production de déchets organiques bruts (non traités) en 2007 hors déchets de l'agriculture et de la sylviculture**

Les boues de station d'épuration et les déchets verts représentent une part très importante de la totalité des déchets organiques bruts (22 % et 29 % des tonnages annuels respectivement). Dans le cadre de cette thèse, sont étudiées les boues et leurs traitements biologiques (digestion anaérobie et compostage). Le compostage des boues s'effectue avec des co-substrats, le plus souvent des déchets verts. Par la suite, sont présentées les boues et les déchets verts ainsi que les traitements biologiques de digestion anaérobie et compostage.

### 3. Structure des boues de station d'épuration et caractérisation

Les boues se présentent sous la forme de flocs formés par un processus d'organisation complexe de matières hétérogènes telles que des bactéries ou des macromolécules organiques (Andreadakis, 1993). La taille moyenne des flocs est comprise entre 10 et 70 µm, la densité est proche de 1 et la porosité est

élevée (85 à 97 % du volume) (Andreadakis, 1993). Les flocs sont composés de microorganismes, de matières organiques et de matières minérales. La concentration en bactéries est d'environ $10^{12}$ bactéries/g et environ 80 % de ces bactéries sont actives (Nielsen et al., 2004). Cette biomasse (contenant aussi des protozoaires et des champignons) ne représente que 5 à 20 % de la matière totale, le reste correspond à des matières organiques et minérales extracellulaires (Nielsen et al., 2004).

Les boues sont majoritairement constituées de protéines, carbohydrates, lipides, substances humiques (Tableau I).

**Tableau I : données de la littérature sur la composition organique des boues (d'après Jimenez, 2012) (Pr = protéines, HA = acides humiques, Ch = carbohydrates, AGV = acides gras volatiles, Li = lipides)**

| Type de boue (nombre d'échantillons) | Composés | Méthodes | Valeur moyenne g composé/g MV ou g eq DCO/gDCO* | RSD (%) | Références |
|---|---|---|---|---|---|
| Eaux usées * (12) | Pr | GC/MS/ Lowry | 0,188 | 47% | (Raunkjær et al., 1994), (4 références) (Sophonsiri and Morgenroth, 2004), (7 références) (Huang et al., 2010), (1 référence) |
| | HA | GC/MS | 0,057 | - | |
| | Ch | GC/MS/ Anthrone | 0,196 | 51% | |
| | AGV | GC/MS | 0,051 | - | |
| | Fibres | GC/MS | 0,155 | - | |
| | Li | GC/MS/IR | 0,213 | 85% | |
| Boues primaires (13) | Pr | Lowry/ N-content | 0,234 | 44% | (Elefsiniotis and Oldham, 1994) (Wilson and Novak, 2009) (Barret et al., 2010a) (Ji et al., 2010) |
| | Ch | Anthrone/ Dubois/ ASTM | 0,246 | 51% | |
| | Li | Soxlet ether | 0,123 | 43% | |
| | VFA | GC | 0,069 | 47% | |
| Boues secondaires (10) | Pr | Lowry/ N-content | 0,496 | 23% | (Frølund et al., 1996) (Wilson and Novak, 2009) (Mottet et al., 2010) (Barret et al., 2010a) (Ji et al., 2010) |
| | Ch | Anthrone/ Dubois | 0,245 | 59% | |
| | Li | Soxlet ether | 0,048 | 73% | |
| | AH | Lowry modifié | 0,203 | 19% | |
| | VFA | GC | 0,024 | 88% | |
| Boues digérées en anaérobiose (9) | Pr | Lowry | 0,643 | 11% | (Mottet et al., 2010) (Barret et al., 2010a) |
| | Ch | Anthrone | 0,138 | 8% | |
| | Li | Soxlet ether | 0,038 | 56% | |
| | VFA | GC | 0,009 | 6% | |

Les eaux usées sont principalement composées de carbohydrates (19,6 % carbohydrates et 15,5 % fibres). Elles sont semblables aux boues primaires où les carbohydrates représentent 24,6 % des MV et les protéines 23,4 % des MV. Les boues secondaires et les boues digérées contiennent majoritairement des protéines (49,6 % et 64,3 % des MV respectivement), des carbohydrates (24,5 % et 13,8 % des

MV respectivement) et des lipides (4,8 % et 3,8 % respectivement). De grandes variations peuvent être notées concernant les concentrations en lipides avec un écart-type de 85 % pour les eaux usées.

Les matières organiques constituant le floc proviennent de l'effluent ou sont issues de la biomasse (excrétion ou décès de la biomasse). Ces matières organiques sont appelées exopolymères. Ces exopolymères sont constituées de protéines, carbohydrates, acides uroniques, ADN (acides nucléiques) et lipides (Bura et al., 1998; Chen et al., 2007). Les exopolymères peuvent se trouver sous deux formes : solubles ou liées dépendant de leur localisation et/ou rôle dans le métabolisme microbien (Comte et al., 2006). Les exopolymères liés sont ceux qui participent à la formation et au maintien du floc.

La taille des pores du floc est de l'ordre de 10 µm. Les flocs peuvent se subdiviser en des microflocs, beaucoup plus denses que les flocs, avec une taille de pore inférieure à 4 µm (Barret, 2009).

Certaines bactéries filamenteuses peuvent participer à la structure du floc bien que les interactions électrostatiques soient prépondérantes dans la constitution du floc (les cations divalents $Ca^{2+}$ et $Mg^{2+}$, *e.g.*, forment des ponts entre la surface microbienne et les exopolymères chargés négativement) (Barret, 2009).

La nature chimique des exopolymères des boues influence fortement leurs propriétés physicochimiques (Morgan et al., 1990). Ces exopolymères se retrouvent souvent à la surface des bactéries et par conséquent influent fortement les propriétés physiques de la boue et la bioflocculation (Morgan et al., 1990).

Morgan et al., 1990 montrent la présence majoritaire de P et de Ca dans les cendres des exopolymères de deux boues activées. Le résultat sur le Ca est cohérent avec les résultats de Urbain et al., 1993 qui montrent la forte présence de $Ca^{2+}$ mais aussi de $Mg^{2+}$ dans les exopolymères de seize boues activées. Toutefois, ces auteurs ne déterminent pas la concentration en P. La présence de cations divalents réduits les charges négatives à la surface du floc et permet de créer des liaisons entre les exopolymères (cohésion du floc) (Morgan et al., 1990; Urbain et al., 1993). D'autres types d'interactions peuvent avoir lieu et participer à la formation des flocs. Des études de flocs de boues par microscopie ont permis de mettre en évidence que les pores sont composés de matrices complexes de fibrilles polymériques de 4 à 6 nm de diamètre (Liss et al., 1996). Ces fibrilles jouent un rôle majoritaire dans les mécanismes physiques de pontage entre la matière organique et la matière minérale et contribuent à l'importante surface active par unité de volume des flocs. Ainsi, les flocs microbiens ressemblent à des biofilms. L'hydrophobicité des matières organiques est un autre facteur important pour la cohésion des flocs.Jorand et al., 1998 reprennent six résultats qui mettent en évidence les interactions hydrophobes et leur rôle dans l'organisation et la cohésion des agrégats bactériens rencontrés dans les boues activées :

1. La présence de cellules hydrophobes dans les boues activées et la dépendance de la variation des surfaces des cellules hydrophobes vis-à-vis de l'état physiologique de la cellule et de la concentration en dioxygène dissous ;
2. L'adhésion préférentielle des bactéries hydrophobes sur les flocs ;
3. La mise en évidence par spectroscopie de la présence de zones hautement hydrophobes dans les flocs de boues activées ;
4. Le piégeage des composés organiques peu solubles sur les flocs de boues activées ;
5. L'existence d'un lien entre la décantation des boues et l'hydrophobicité des flocs ;
6. L'augmentation significative de la flocculation lorsque de courtes chaînes alkyls sont greffées sur des polymères synthétiques.

Les matières organiques hydrophobes exercent entre elles une interaction électrostatique ou établissent des liaisons hydrogène avec l'eau et sont ensuite capables de se regrouper en milieu aqueux. Dignac et al., 1998 confirment l'hypothèse des liaisons hydrophobes. En effet, 25 % des acides aminés des exopolymères extraits de boues présentent une charge négative et 24 % présentent des propriétés hydrophobes ; soulignant au passage le rôle spécifique des protéines dans la structure des flocs. De plus, la meilleure extraction des protéines par rapport aux sucres par extraction sur résine échangeuse d'ions couplée à la sonication suppose que les protéines sont plus impliquées dans les liaisons électrostatiques avec les cations multivalents que les carbohydrates. Ces liaisons électrostatiques sont uniformément réparties dans le floc et fortement liées aux liaisons hydrophobes.

Les flocs sont donc des matrices composées d'agglomérats de matières organique et inorganique mais aussi de bactéries. Plusieurs auteurs ont représentées schématiquement la structure des flocs (Figure 2).

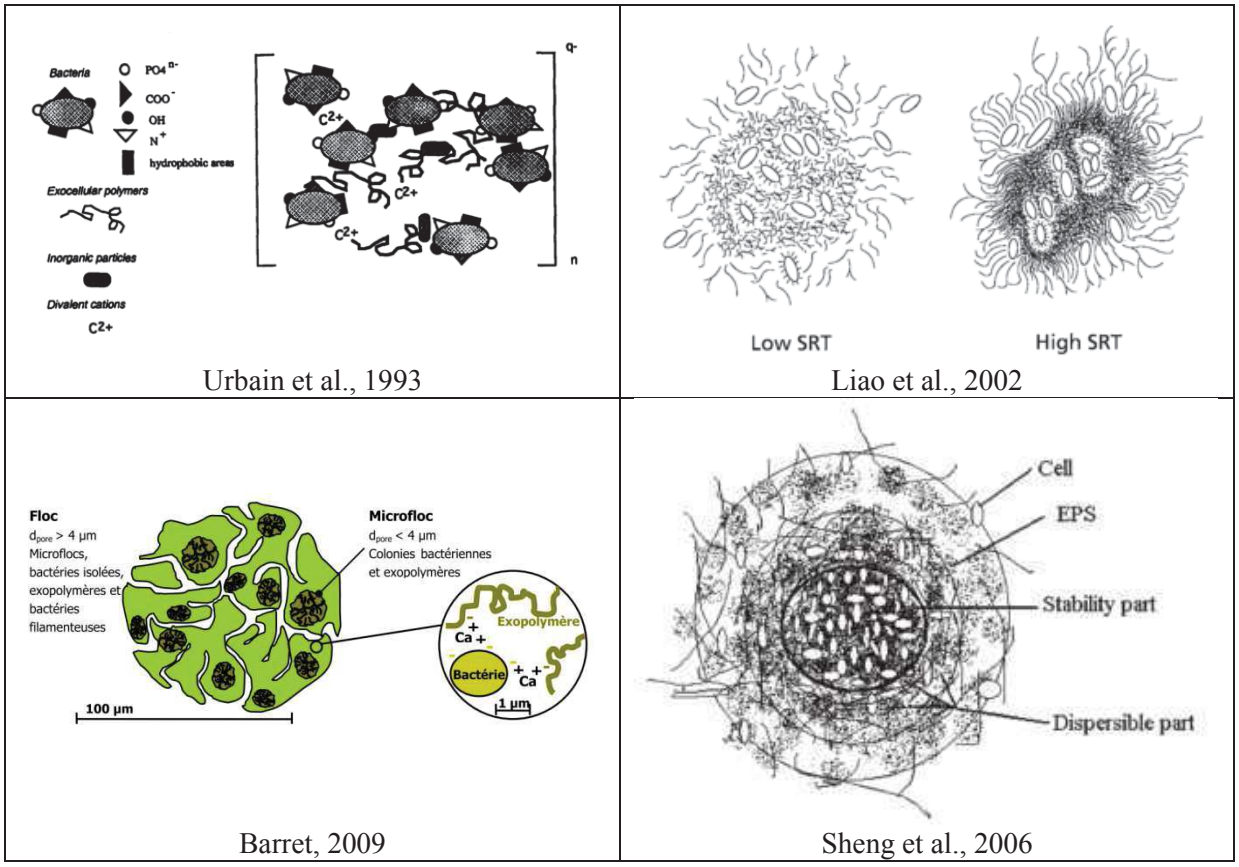



**Figure 2 : représentations schématiques des flocs de boues**

Urbain et al., 1993 représentent la structure d'un floc comme un ensemble de plusieurs structures répétées contenant des bactéries et des exopolymères reliés entre eux par des interactions avec les groupements organiques de la paroi cellulaire, de la matière inorganique et des ions divalents. Cette représentation est simple et ne donne pas la structure globale du floc. Liao et al., 2002 donnent une représentation plus complexe du floc où les bactéries sont à la fois en surface et en profondeur dans le floc entourées par les exopolymères. La représentation permet aussi de voir l'impact de l'âge des boues ; plus il est élevé, plus les flocs sont denses en termes de bactéries et d'exopolymères. Cette même représentation est reprise et affinée par Sheng et al., 2006. Le floc est toujours composé d'un agglomérat de cellules et d'exopolymères mais peut être subdivisé en plusieurs fractions : de la couche la plus externe à la couche la plus interne, la dispersibilité de la matrice diminue fortement jusqu'à une partie stable au centre du floc. Ces trois représentations donnent une idée de la structure du floc mais ne donnent aucune indication quant à l'échelle des structures et à la porosité des flocs. La représentation proposée par Barret, 2009 permet de donner les ordres de grandeur des structures étudiées et met en évidence la structure à deux échelles des flocs de boues.

La présence des exopolymères est indispensable à la flocculation. Leur nature donne les différentes propriétés physicochimiques de ces flocs. La caractérisation des boues se fait donc par analyse des propriétés des flocs mais le plus souvent par extractions et caractérisations des exopolymères qui composent les flocs de boues (Tableau II).

**Tableau II : techniques d'extraction des exopolymères de boues activées**

| Références | Techniques d'extraction | Rendement d'extraction[1] | Analyses biochimiques | Analyses complémentaires |
|---|---|---|---|---|
| **(Morgan et al., 1990)** | Concentration par centrifugation<br>Extraction thermique (80°C)<br>Précipitation par solvant (acétone/éthanol) | Boue 1 : 69,9 mg.gMES$^{-1}$<br>Boue 2 : 90,2 mg.gMES$^{-1}$ | Protéines, carbohydrates | |
| **(Urbain et al., 1993)** | Concentration par centrifugation<br>Sonication | | Protéines, carbohydrates, ADN | |
| **(Frolund et al., 1995)** | Concentration par centrifugation<br>Résine échangeuse d'ion (cation) | | | |
| **(Frølund et al., 1996)** | Concentration par centrifugation<br>Résine échangeuse de cation | 20 – 25 % des MS totales | Protéines, carbohydrates, substances humiques, acides uroniques, ADN | Chromatographie d'exclusion stérique |
| **(Bura et al., 1998)** | Résine échangeuse d'ion ou extraction vapeur (« steam extraction ») | | Protéines, carbohydrates, ADN, acides uroniques | FTIR |
| **(Jorand et al., 1998)** | Concentration par centrifugation<br>Sonication puis résine échangeuse d'ion (cation) | | Protéines, carbohydrates | UV à 270 nm |
| **(Dignac et al., 1998)** | Concentration par centrifugation<br>Sonication<br>Eventuellement deuxième étape avec résine échangeuse d'ion | Sonication seule : 14 % MVS<br>Sonication + résine : 25 % MVS | Protéines, carbohydrates, lipides | « Flash pyrolysis » (Pyrolyse GC/MS) |
| (Liao et al., 2001) | Résine échangeuse d'ion | | Protéines, carbohydrates, ADN | |

[1] Ne sont donnés que les rendements d'extraction obtenus par pesée des quantités extraites. Certains rendements sont donnés à partir des analyses des composés biochimiques. Ces rendements sont sujets à caution car ils sont estimées à partir de masse d'équivalents et donc sont faussés. De plus, les rendements calculés tiennent seulement compte des molécules dosées or il est possible d'extraire d'autres composés faisant partie des exopolymères et non mesurés.

| Références | Techniques d'extraction | Rendement d'extraction[1] | Analyses biochimiques | Analyses complémentaires |
|---|---|---|---|---|
| **(Liu and Fang, 2002)** | Formaldéhyde-NaOH<br>EDTA<br>Formaldéhyde-ultrasons<br>Résine échangeuse de cation<br>Formaldéhyde<br>centrifugation | 165 $mg.gMV^{-1}$<br>147 $mg.gMV^{-1}$<br>78 $mg.gMV^{-1}$<br>58 $mg.gMV^{-1}$<br>50 $mg.gMV^{-1}$<br>26 $mg.gMV^{-1}$ | Protéines, carbohydrates, substances humiques, acides uroniques, ADN | |
| **(Sponza, 2002)** | Concentration par centrifugation<br>Extraction au glutaraldéhyde et purification par dialyse | | Protéines, carbohydrates, ADN | UV à 270 nm |
| **(Conrad et al., 2003)** | Lavage<br>Sonication<br>Résine échangeuse d'ion | 0,184 $g.gMVS^{-1}$ (n=2) | Protéines, carbohydrates, acides nucléiques, lipides (acides gras), substances humiques | |
| **(Wilén et al., 2003)** | Résine échangeuse de cation | | Protéines, carbohydrates, substances humiques, ADN | |
| **(Hoa et al., 2004)** | Extraction au glutaraldéhyde et extraction thermique | 7 à 90 $mg.gMES^{-1}$ (12 boues de STEP et 26 boues laboratoire) | Protéines, carbohydrates | |
| **(Jin et al., 2004)** | Résine échangeuse d'ion | 52 à 119 $mg.gMES^{-1}$ (n=7) | Protéines, carbohydrates, substances humiques | |
| **(Garnier et al., 2005)** | Résine échangeuse d'ion | | Protéines, carbohydrates | Chromatographie d'exclusion stérique couplée avec FTIR |
| **(McSwain et al., 2005)** | Résine échangeuse d'ion ou extraction NaOH à 80°C | | Protéines, carbohydrates | Microscopie |
| **(S Comte et al., 2006)** | Concentration par centrifugation<br>Resuspension dans eau ultrapure<br>Extraction des solubles par centrifugation<br>Extraction des liés par sonication et résine échangeuse d'ion | 2,5 à 3,5 % (MV/MVS) pour les liés<br>1 % (MV/MVS) pour les solubles | Protéines, carbohydrates, acides uroniques, acides humiques, lipides, acides nucléiques | Infra-rouge<br>Mesure du pKa |

| Références | Techniques d'extraction | Rendement d'extraction[1] | Analyses biochimiques | Analyses complémentaires |
|---|---|---|---|---|
| **(S. Comte et al., 2006a, 2006b) (Comte et al., 2007)** | Huit techniques :<br>• Centrifugation<br>• EDTA<br>• Formaldéhyde + NaOH<br>• Glutaraldéhyde<br>• Sonication<br>• Résine échangeuse d'ion<br>• Sonication et résine<br>• Chauffage (80°C)<br>Dans tous les cas, purification des extraits par dialyse | Huit rendements (g/gMS) (n=2) :<br>• 0,9 %<br>• 19,3 %<br>• 43,0 %<br>• 21,2 %<br>• 2,1 %<br>• 2,8 %<br>• 3,2 %<br>• 3,9 % | Protéines, carbohydrates, acides uroniques, acides humiques, lipides, acides nucléiques | Infra-rouge<br>Mesure du pKa |
| **(Li and Yang, 2007)** | Extraction thermique (Morgan et al., 1990) modifiée | | | |
| **(Park and Novak, 2007)** | • Eau ultrapure<br>• Résine échangeuse d'ion<br>• Sulfate de sodium<br>• NaOH + $Mg(OH)_2$ | | Protéines, carbohydrates, acides aminés | |
| **(Bugge et al., 2013)** | Séparation des exopolymères solubles par centrifugation<br>Résine échangeuse de cation | | Protéines, carbohydrates, acides humiques | |

Les techniques d'extraction des exopolymères des boues sont variables. Le plus souvent, les extractions sont physiques (centrifugation, résine échangeuse d'ion) mais certaines extractions sont chimiques. Certains auteurs couplent des techniques d'extraction pour augmenter le rendement. Les rendements d'extraction varient grandement selon les techniques d'extraction. Les extractions chimiques permettent d'extraire plus d'exopolymères que les extractions physiques (Comte et al., 2007; Comte et al., 2006a, 2006b). Cela pose la question de savoir si l'extraction est complète ou non. Les extractions sont en général « douces » afin de ne pas lyser les cellules bactériennes et ainsi polluer les extraits avec des molécules issues du contenu cellulaire.

D'Abzac, 2010 présente l'effet des différents types d'extraction sur les exopolymères (son étude porte à la fois sur des extractions d'exopolymères de biofilms, flocs et granules mais toutes ces structures sont semblables) :

- Extractions physiques :
    - Centrifugation et ultracentrifugation : la méthode la plus simple et la moins dégradative pour séparer les exopolymères. Toutefois, cette technique permet le plus souvent de n'isoler que les exopolymères solubles ou très faiblement liés ;
    - Chauffage : il provoque l'hydrolyse de certaines liaisons entre la matrice et les exopolymères, libérant ainsi les composés polymériques ; le chauffage peut provoquer une lyse cellulaire qui conduit au relargage de composés intracellulaires non désirés ;
    - Sonication ou ultrasonication : elle permet de rompre les liaisons de faibles énergies au sein de la biomasse ; elle est toutefois peu efficace sur des granules qui ont une structure compacte ;
    - Homogénéisation : cela permet une désagglomération des biomasses de façon mécanique par exemple par agitation ;
    - Résine échangeuse d'ion (cation) : elle agit par action chimique et physique ; elle absorbe les cations plurivalents pontant les exopolymères et libèrent des ions monovalents ($Na^+$) ce qui fragilise la structure de la biomasse, de plus la technique se fait sous agitation ce qui provoque une homogénéisation de l'échantillon ainsi qu'un cisaillement de ce dernier.
- Extractions chimiques :
    - Les acides précipitent les exopolymères par neutralisation des charges portées par les molécules ;
    - Les bases permettent l'ionisation d'un grand nombre de groupements fonctionnels induisant des répulsions des molécules de même charge et une solubilisation des exopolymères ce qui facilite l'extraction ;
    - Les alcools sont souvent utilisés pour extraire des polysaccharides solubles dans ces solvants (précipitation des molécules) ;

- Les agents chélatants fixent les cations divalents fragilisant la structure et facilitant l'extraction des exopolymères ; toutefois, ils peuvent fixer les cations de la membrane cellulaire et provoquer la lyse des cellules ;
- Les éthers couronnes se fixent aux ions $Ca^{2+}$ et déstabilisent la structure ;
- Les solutions de sels et de tampons remplacent les cations divalents par des cations monovalents et fragilisent la structure ;
- Les aldéhydes se fixent aux parois cellulaires et réagissent avec les groupements carbonyles, amines ou hydroxyles et suppriment la liaison entre les cellules et les exopolymères.

- Extractions biologiques : utilisation d'enzymes ; toutefois l'extraction est spécifique et rarement utilisée avec l'avantage de ne pas produire de lyse cellulaire.

Les auteurs étudient tous la composition en protéines et sucres, composés majoritaires des exopolymères. Toutefois, certains auteurs mesurent aussi d'autres composés tels que l'ADN ou les acides nucléiques, les acides uroniques, les lipides et les substances humiques. Ces composés peuvent provenir de cellules mortes lysées. D'autres auteurs ajoutent des analyses spectrales (UV, IR) afin de mieux caractériser les extraits (groupes fonctionnels). La mesure du pKa de ces exopolymères peut aussi apporter des informations sur la réactivité des exopolymères des flocs.

Toutes les publications étudient les exopolymères pour expliquer la décantabilité et les propriétés physicochimiques des flocs de boues. Aucune des publications étudiées ici ne met en évidence un lien entre les exopolymères et la dégradation des boues en digestion anaérobie par exemple.

### 4. Structure des déchets verts

Les tissus végétaux sont formés de polysaccharides structuraux (cellulose et hémicelluloses) liés à la lignine pour former la lignocellulose (Bayané and Guiot, 2010).

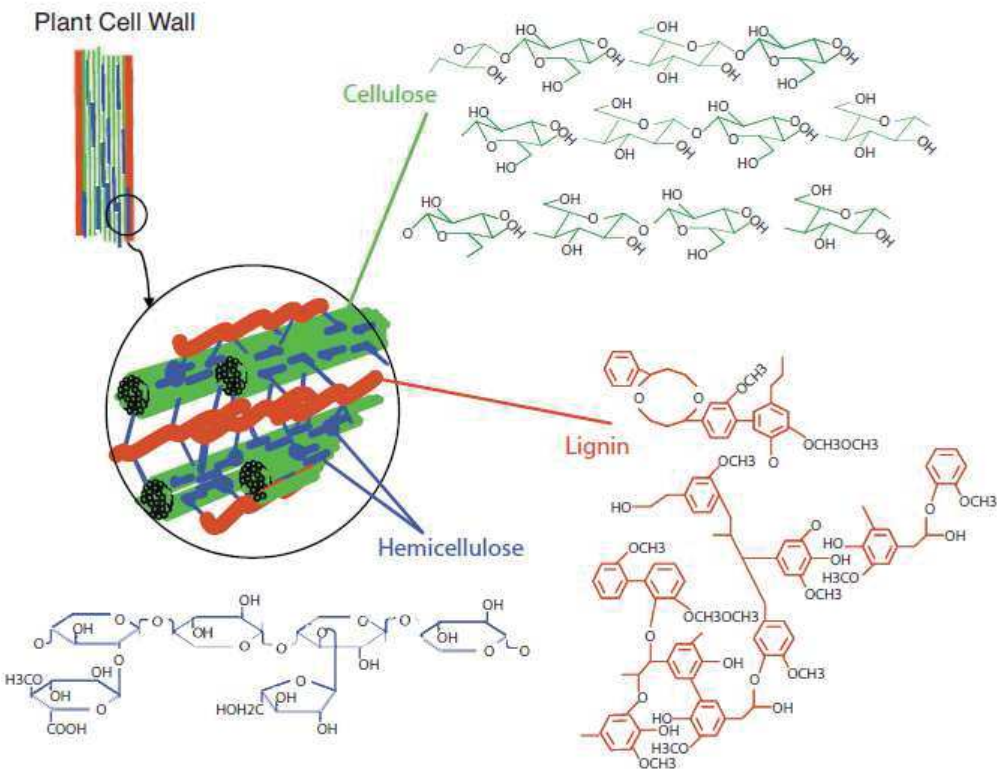



**Figure 3 : représentation de la lignocellulose (http://biofuel.webgarden.com/sections/blog/pictures-for-lignocellulose consulté le 10/10/2014)**

### *a) Cellulose*

La cellulose est un polymère de molécules de cellobiose (dimère de glucose). Elle peut posséder de 200 à 14 000 molécules de glucose. Dans un végétal, la cellulose est composée d'une partie cristalline (organisée) et d'une partie amorphe (non organisée). Les régions amorphes sont les points potentiels pour une attaque chimique ou enzymatique. La cellulose cristalline est très résistante aux attaques chimiques et hydrolyses enzymatiques par sa structure dans laquelle les chaînes sont arrangées de manière précise. Cependant, des enzymes (cellulases) ou des acides peuvent dégrader la cellulose en monomères de glucose (Adsul et al., 2011). Les chaînes de cellulose sont groupées ensemble et forment des fibrilles de cellulose. Celles-ci sont en majorité indépendantes et faiblement liées par des liaisons hydrogène (Laureano-Perez et al., 2005).

La cellulose est insoluble dans l'eau. Toutefois, la présence des fonctions hydroxylées lui donne un caractère hydrophile ce qui lui permet de fixer un grand nombre de molécules d'eau et entraîne sont gonflement (hydrocolloïde).

### *b) Hémicelluloses*

De poids moléculaire plus faible que la cellulose, l'hémicellulose est un hétéropolymère formé par des branches comprenant des chaînes latérales courtes facilement hydrolysables (*Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*, 1983). Il est principalement composé de xylose mais aussi de glucose, de

mannose, de galactose, d'arabinose et parfois d'acides uroniques. Trois types de chaînes se distinguent :

- Le mannane composé uniquement de mannose ;
- Le xylane composé uniquement de xylose ;
- Le galactane composé uniquement de galactose (Adsul et al., 2011).

Les hémicelluloses servent de connexion entre la cellulose et la lignine donnant ainsi au réseau {cellulose + hémicellulose + lignine} plus de rigidité (Laureano-Perez et al., 2005). La solubilité des composés de l'hémicellulose dépend de la température et aussi d'autres paramètres tels que l'humidité ou le pH par exemple (*Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*, 1983). La solubilisation des composés en milieu neutre commence vers une température de 180°C. Le xylane est extrait facilement par une attaque acide ou alcaline alors que le galactane et le mannane ont besoin d'un milieu très alcalin (Balaban and Ucar, 1999; Lawther et al., 1996; *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*, 1983). Le xylane apparaît comme la fraction la plus facilement extractible.

#### *c) Lignine*

Après la cellulose et l'hémicellulose, la lignine est l'un des polymères les plus abondants dans la nature et est présente dans la paroi cellulaire des végétaux. C'est un hétéropolymère amorphe composé de trois unités différentes :

- L'unité H ou hydroxyphényle (alcool p – coumarylique sans groupe méthoxyle) ;
- L'unité G ou guaïacyle (alcool coniférylique sans groupe méthoxyle) ;
- L'unité S ou syringyle (alcool sinapylique sans groupe méthoxyle).

Présente dans le milieu intercellulaire, elle agit comme un ciment entre les cellules végétales. Elle se trouve aussi dans les différentes couches de la paroi cellulaire et forme avec les hémicelluloses une matrice amorphe dans laquelle les fibrilles de cellulose sont emprisonnées et protégées contre la biodégradation. L'association entre cellulose, hémicelluloses et lignine rend la cellule végétale résistante aux dégradations mécaniques et biologiques (Adsul et al., 2011).

Son principal rôle est de donner à la plante un support structural, une imperméabilité et une résistance contre les attaques microbiennes. Molécule hydrophobe, elle n'est pas soluble dans l'eau et optiquement inactive (*Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*, 1983). Toutes ces propriétés rendent sa dégradation très difficile. Tout comme l'hémicellulose, la lignine commence à se dissoudre dans l'eau à 180°C dans un milieu neutre. Sa solubilité dans un milieu acide, neutre ou alcalin dépend toutefois du précurseur de la lignine (H, G, S ou combinaison).

L'hydrolyse enzymatique de la lignocellulose est limitée par différents facteurs. Des recherches ont démontré que la cristallinité de la cellulose est l'un d'entre eux. S'ajoutent le degré de polymérisation

de la cellulose, l'humidité, l'aire de la surface accessible, le diamètre des pores et la teneur en lignine (Chang and Holtzapple, 2000; Koullas et al., 1992; Laureano-Perez et al., 2005; Puri, 1984).

#### *d) Caractérisation des matrices lignocellulosiques*

L'étude des matrices lignocellulosiques est basée sur des techniques de fractionnement pour isoler et quantifier les différents polymères formant la matrice (cellulose, hémicelluloses et lignine).

La méthode de Van Soest (Van Soest and Wine, 1967; Van Soest, 1963) permet la quantification des différents types de fibres végétales présentes dans un substrat. La méthode est normée (XP U44-162).

La méthode de Van Soest est divisée en plusieurs étapes :

- Une fraction soluble est obtenue par une attaque à l'eau chaude puis avec un détergent neutre ;
- Les hémicelluloses sont ensuite extraits par attaque au détergent acide ;
- La cellulose est extraite par acide sulfurique ;
- Le résidu final contient la lignine.

Le fractionnement Van Soest permet d'obtenir la répartition des fibres en solubles, hémicelluloses, cellulose et lignine. Le PRO étudié selon le fractionnement Van Soest peut être incubé en présence de sol afin de déterminer la minéralisation du carbone. Le couplage du fractionnement Van Soest et de l'incubation du PRO permettent de déterminer l'indice de stabilité de la matière organique (ISMO) qui estime le pourcentage de matière organique résiduelle environ un an après apport au sol. Le fractionnement Van Soest permet aussi de suivre l'évolution des fibres lors du compostage de déchets verts ou d'autres PRO (Francou, 2003; Lashermes, 2010)

Des études récentes ont permis de déterminer la nature des molécules extraites à chaque étape de la méthode Van Soest (Tableau III).

**Tableau III : types de matières extraites à chaque étape du fractionnement Van Soest**

| | (Cherney, 2000) | (Godin et al., 2010) |
|---|---|---|
| **Extrait soluble** | Minéraux solubles | Fructanes |
| | Monosaccharides | Monosaccharides |
| | Oligosaccharides | Oligosaccharides |
| | Protéines | Protéines sensibles |
| | N non protéique | Tannins solubles à pH neutre |
| | Pigments | Gommes, mucilages |
| | Acides organiques | Lipides |
| | Pectines | Amidons RS1, RS2, RS3 |
| | Lipides | Amidon non résistant |
| | Amidon | Cendres |
| **Extrait détergent acide** | Hémicellulose | Hémicellulose |
| | | Tanins solubles à pH acide |
| | | Protéines sensibles |
| | | Lignines solubles à pH acide |
| | | Cendres |
| **Extrait acide concentré** | N lié aux fibres | Cellulose |
| | Cellulose | Protéines résistantes |
| **Résidu solide (matière organique)** | Lignines | Tanins résistants |
| | | Lignines résistantes |
| **Résidu solide (cendres)** | Minéraux insolubles | Minéraux insolubles |

D'autres méthodes existent pour mesurer les taux de fibres de matières lignocellulosiques. Jung, 1997 a réalisé une liste des techniques d'extraction des fibres avec leurs limites et la fraction de fibres extraite (Tableau IV).

**Tableau IV : méthode d'extraction et fibres extraites**

| Method of analysis | Forage fraction measured | Limitations of method |
|---|---|---|
| Crude fiber | Portion of plant cell wall, complete cellulose recovery | Most noncellulosic polysaccharides and lignin removed |
| Neutral detergent fiber (NDF) | Incompletely digestible feed fraction, almost complete recovery of grass cell walls | Pectin almost completely removed, protein and starch removal can be a problem |
| Acid detergent fiber (ADF) | Portion of plant cell wall, complete cellulose recovery | A significant portion of the lignin is solubilized |
| Dietary fiber | Complete recovery of cell wall polymers | Protein and starch removal can be difficult |
| Uppsala dietary fiber | Total cell wall recovery and composition of the cell wall | Complexity of method |
| Crampton-Maynard | Cellulose | Small amount of xylan contamination |
| ADF minus ADL | Cellulose | Suffers from limitations of ADF and ADL methods |
| NDF minus ADF | Hemicellulose | Suffers from limitations of NDF and ADF methods |
| Acid detergent lignin (ADL) | Lignin | Lignin solubilization at ADF step, especially in grasses |
| Klason lignin | Lignin | Possible protein and carbohydrate contamination |

La digestion anaérobie des boues est souvent mise en place pour stabiliser la matière organique et concentrer les éléments fertilisants. En 2007, 1,1 Mt MS de boues ont été produites en station d'épuration dont 69 % sont retournées au sol via épandage. 24 % des boues produites sont compostées soit environ 263 000 $tMS.an^{-1}$. En 2006, l'ADEME donnait la répartition suivante de composts produits en MB : 500 000 t compost OMR (Ordures Ménagères Résiduelles), 170 000 t compost de biodéchets, 920 000 t compost de déchets verts et 450 000 t de compost de boues (ADEME, 2007).

Les traitements biologiques des boues peuvent donc être la digestion anaérobie ou le compostage.

## 5. Traitements biologiques des PRO

Sont décrits ici les deux principaux traitements biologiques des PRO, à savoir la digestion anaérobie (méthanisation) qui conduit à la valorisation des PRO sous forme d'énergie (issue du méthane produit) et sous forme d'un digestat dans lequel sont concentrés les éléments fertilisants et le compostage qui conduit à une matière organique relativement stable, riche en éléments fertilisants.

### *a) Digestion anaérobie*

La digestion anaérobie ou méthanisation est la transformation de la matière organique en biogaz essentiellement composé de méthane et de dioxyde de carbone par un système microbien complexe. Elle se produit naturellement dans les marais, les lacs, les intestins des animaux et, de manière générale, dans tous les écosystèmes où la matière organique se trouve en condition anaérobie.

C'est un outil de dépollution intéressant car elle permet la réduction des déchets organiques (déchets verts et lisiers par exemple) et le traitement de certains effluents (effluents agroalimentaires par exemple) tout en produisant une énergie renouvelable : le méthane (Figure 4).

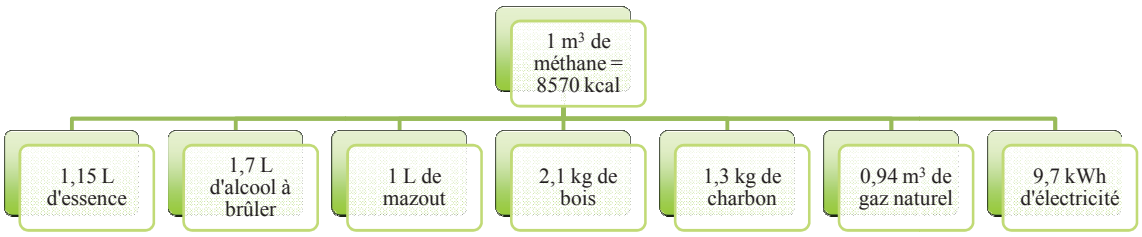



**Figure 4 : équivalence énergétique d'un mètre cube de méthane** (Moletta, 2008)

La digestion anaérobie est divisée en quatre étapes (Figure 5).

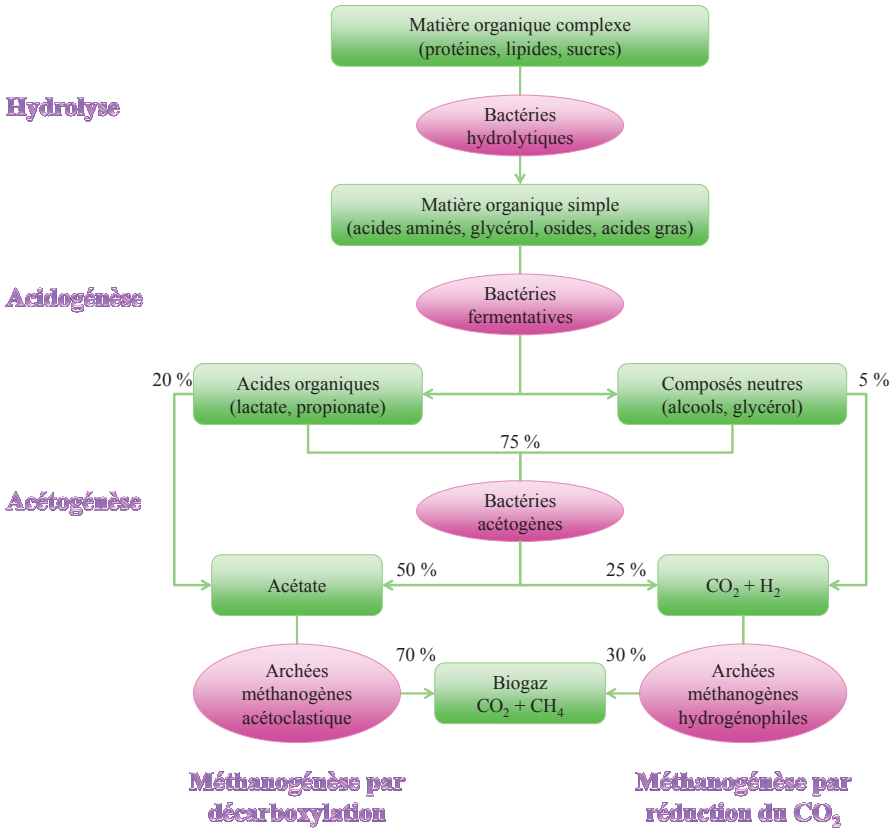



**Figure 5 : les étapes de la digestion anaérobie et les flux de carbone en % de DCO** ("Méthanisation.info - Etapes de la digestion anaérobie," n.d.)

Les deux premières étapes sont l'hydrolyse et l'acidogénèse. La matière organique solide est transformée en molécules intermédiaires : acides gras volatiles, alcools, acide acétique, hydrogène et dioxyde de carbone. Les microorganismes impliqués sont des bactéries hydrolytiques et fermentaires. Elles sont nombreuses et variées, capables de dégrader de la cellulose (*Clostridium*), des hémicelluloses (*Bacteroides*), de l'amidon (*Bacillus*), etc. L'étape d'hydrolyse est généralement lente et l'étape d'acidogénèse à partir des monomères possède une vitesse parfois très élevée. L'étape de dégradation de la matière organique solide est souvent limitante. Par exemple, la présence de lignine dans le substrat peut diminuer l'accès des enzymes aux sucres.

L'étape d'acétogénèse correspond à la production d'acétate, de dioxyde de carbone et d'hydrogène à partir des intermédiaires métaboliques. Elle est couplée à l'homoacétogénèse qui produit de l'acétate à partir d'hydrogène et de dioxyde de carbone. Les transformations sont réalisées par trois groupes de bactéries :

- Les acétogènes productrices d'hydrogène (bactéries syntrophiques) ;
- Les bactéries homoacétogènes ;
- Les bactéries sulfatoréductrices.

Ces bactéries sont regroupées en deux classes : celles qui transforment le substrat en acétate et celles qui forment de l'acétate à partir du dioxyde de carbone et de l'hydrogène. Les vitesses d'acétogénèse

sont généralement faibles et soumises à des effets d'inhibition par la présence d'hydrogène. Ce gaz est une molécule clef du bon fonctionnement d'un digesteur : sa production et sa consommation maintiennent une faible pression partielle qui permet la réalisation des réactions d'acétogénèse.

La dernière étape est la méthanogénèse : soit l'acétate est transformé en méthane (méthanogénèse acétoclaste), soit le dioxyde de carbone est réduit par l'hydrogène (méthanogénèse hydrogénophile). Cette étape est réalisée par des Archées méthanogènes. Elles consomment l'acétate, le dioxyde de carbone et l'hydrogène et sont capables, pour certaines, de dégrader d'autres substrats tels que le méthanol, l'acide formique, etc.

Le biogaz produit lors de la digestion anaérobie contient généralement entre 50 et 70 % de méthane et 25 à 30 % de dioxyde de carbone (Tableau V).

**Tableau V : composition du biogaz en digestion anaérobie** (Bayard and Gourdon, 2007)

| Gaz | $CH_4$ | $CO_2$ | $H_2S$ | $N_2$ | $H_2$ | CO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Teneur (en % v:v du gaz sec)** | 50 à 70 | 25 à 30 | 0,01 à 0,5 | 0,5 à 3 | 0,1 à 1 | < 0,1 |

### *b) Compostage*

Le compostage est un processus contrôlé par l'homme de dégradation des constituants organiques d'origine végétale et animale par une succession de communautés microbiennes évoluant en condition aérobies, entraînant une montée en température, et conduisant à l'élaboration d'une matière organique humifiée et stabilisée. Le produit ainsi obtenu est appelé compost (Francou, 2003).

La température évolue tout au long du procédé de compostage en quatre étapes distinctes (Figure 6).

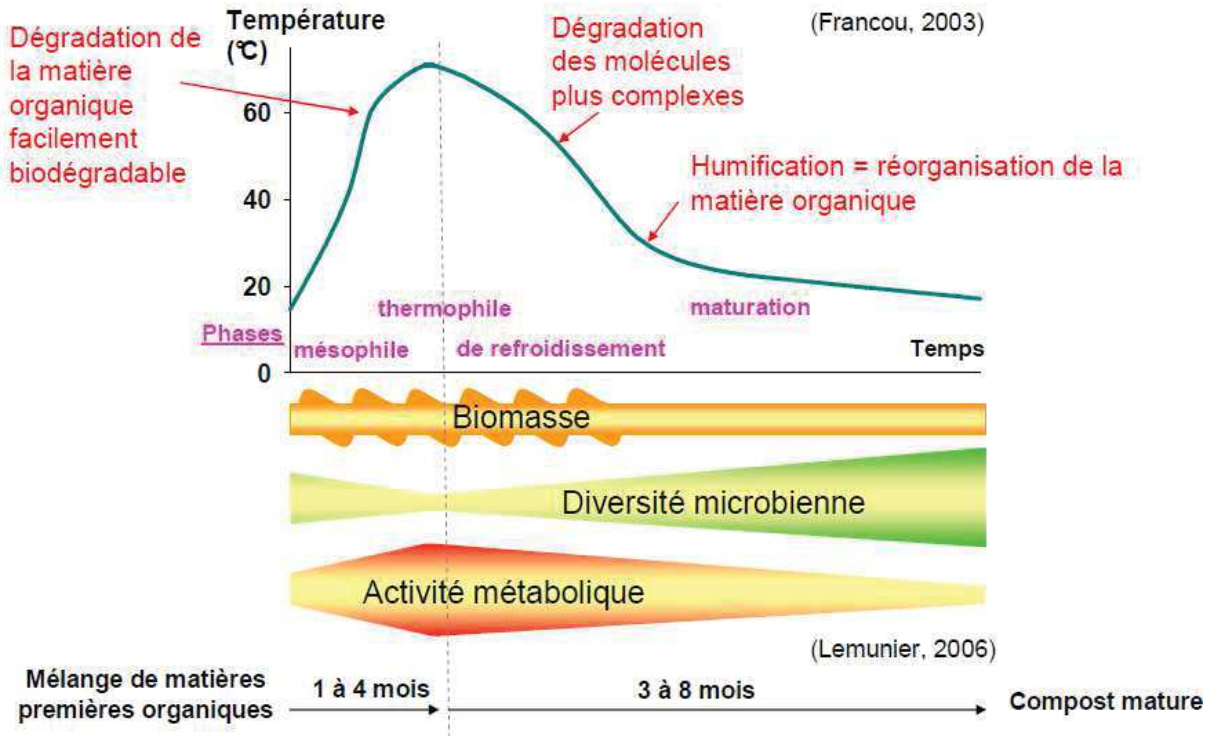



**Figure 6 : évolution théorique de la température et des différentes caractéristiques de la microflore et de son activité au cours du compostage (Lashermes, 2010)**

La première phase ou phase mésophile marque le commencement du procédé. Durant les premiers jours, les matières organiques facilement biodégradables sont dégradées par une importante activité microbiologique (bactéries et champignons) qui génère une forte chaleur par la consommation d'oxygène d'où la montée en température (70°C) au cœur de l'andain (Francou, 2003).

La deuxième phase est la phase thermophile. La température atteint des valeurs comprises entre 60 et 75°C. Seuls les microorganismes thermophiles survivent durant cette étape. Une part importante de la matière organique est perdue sous forme de dioxyde de carbone et un assèchement du compost peut être constaté (Francou, 2003).

Dans un contexte industriel, les phases mésophile et thermophile répondent aux objectifs de stabilisation du déchet et de réduction de sa masse. Le compost est beaucoup moins bioévolutif puisque sa fraction la plus biodégradable a été éliminée et les cellules indésirables (microorganismes pathogènes par exemple) ont pu être détruites par effet thermique (température au-dessus de 60°C pendant au moins cinq à vingt-quatre heures) (Bayard and Gourdon, 2007). Les deux phases (mésophile et thermophile) peuvent être regroupées sous le terme de « fermentation chaude ».

La diminution de la quantité de matière organique facilement biodégradable provoque une diminution de l'activité microbienne. La chaleur produite par les microorganismes est alors inférieure à la perte de chaleur de l'andain. Cette troisième phase (descente de la température) peut être rapide ou lente, dépendant des conditions climatiques, des dimensions de l'andain, etc. Les microorganismes mésophiles colonisent de nouveau le milieu (Francou, 2003).

La dernière phase ou phase de maturation voit une prédominance des phénomènes d'humification et une dégradation des matières lentement dégradables. Elle dure jusqu'à l'utilisation du compost (Francou, 2003).

Selon la nature et/ou l'origine du déchet, des post ou prétraitements peuvent être nécessaires. Dans la plupart des cas, il s'agit de tris granulométrique ou densimétrique pour éliminer des fractions grossières ou les indésirables (cailloux, verres, métaux, etc.) du compost (Bayard and Gourdon, 2007).

## B. Micropolluants organiques

### 1. Généralités

Les micropolluants forment une famille de composés minéraux ou organiques qui peuvent être toxiques pour l'homme et/ou les écosystèmes bien que retrouvés à de faibles concentrations de l'ordre du µg ou $ng.L^{-1}$ (Ministère de l'Environnement, du Développement Durable et de l'Energie, 2012). Plus particulièrement, les micropolluants organiques proviennent des activités humaines (industrie, utilisation de médicaments, etc.) mais peuvent aussi avoir une origine naturelle (incendie de forêt, éruption volcanique, matières fécales animales – hormones naturelles, etc.). Ces molécules sont variées : hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), nonylphénols (NP), nonylphénols polyéthoxylés (NPnEO, $n \in [1 ;50]$), polychlorobiphényles (PCB), etc. (Clarke and Smith, 2011). Bien que rencontrés à de faibles concentrations, les micropolluants peuvent se bioaccumuler dans les organismes vivants et causer ainsi des dommages irréversibles, comme par exemple perturber les systèmes endocriniens ou être à l'origine de l'initiation de tumeur. En général, les composés types détergents et plastifiants sont présents à de hauts niveaux de contamination dans les boues (du mg au $g.kgMS^{-1}$) alors que les hydrocarbures, les pesticides, les retardateurs de flamme et les pharmaceutiques présentent des taux de contamination faibles (100 – 1 000 $\mu g.kgMS^{-1}$) voire très faibles (< 100 $\mu g.kgMS^{-1}$) (Barret et al., 2012).

En raison de leur toxicité et de leur niveau de concentration, les composés étudiés depuis plusieurs années sont le plus souvent les alkylbenzènes sulfonates linéaires (LAS), le di-2-(ethyl-hexyl)-phtalate (DEHP), les nonylphénols et nonylphénols polyéthoxylés (NP et NPnEO), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les polychlorodibenzodioxines (PCDD) et les polychlorodibenzofuranes (PCDF) (Abad et al., 2005) ainsi que les pesticides organochlorés, les chlorobenzènes, les amines, les nitrosamines et les phénols (Aparicio et al., 2009).

Le point majeur de dissémination de ces composés dans l'environnement est le traitement des eaux par station d'épuration. Celles-ci sont en effet des points de convergence de nombreux composés via les eaux usées urbaines, industrielles et pluviales mais aussi des points de dissémination de ces composés via les eaux épurées ou les boues (Rogers, 1996; Rowsell et al., 2009).

Lors du traitement des eaux usées, si la minéralisation des micropolluants organiques n'est pas complète (*i.e.* pas de production de dioxyde de carbone), il est alors possible qu'une partie des micropolluants soit rejetée dans l'environnement par les eaux traités, les boues produites ou par volatilisation directe dans l'atmosphère (Byrns, 2001). Les principaux mécanismes d'élimination de la fraction eau des micropolluants organiques dans les stations d'épuration sont la dégradation biologique ou chimique, la sorption sur les boues ou la volatilisation (Marttinen et al., 2003). Pour les composés hydrophobes dont l'élimination moyenne des eaux est supérieure à 30 % dans les systèmes classiques de traitement par boues activées, environ 65 % sont transférés de la phase aqueuse à la phase solide des boues (Barret et al., 2012). La répartition des micropolluants organiques dans les boues est gouvernée non seulement par les propriétés physicochimiques de la matrice boue et des micropolluants organiques mais aussi par le type de procédé utilisé et par les conditions opératoires du système (Byrns, 2001). En effet, les traitements physicochimiques impliqués dans le traitement des eaux concentrent les micropolluants organiques peu solubles dans l'eau avec une capacité de sorption élevée dans les boues (Aparicio et al., 2009).

La minéralisation complète des micropolluants organiques est très rare dans les systèmes de traitement et le terme de biotransformation correspond plus aux changements potentiels de composition et de structure moléculaire des composés (Byrns, 2001). Certains composés sont biotransformés en produits inoffensifs qui peuvent entrer dans le métabolisme des microorganismes et être dégradés. D'autres forment des molécules filles (métabolites) pouvant être plus toxiques que leurs parents et qui sont en général plus récalcitrantes dans les conditions de traitement et elles peuvent donc persister dans une ou plusieurs phase(s) (eau, air, boues) au sein de la station d'épuration (Byrns, 2001). Si les composés ne sont pas éliminés dans les eaux usées, ils peuvent avoir un effet toxique et dangereux sur les organismes aquatiques des milieux récepteurs des eaux épurées (Marttinen et al., 2003).

La modélisation du devenir de certains micropolluants organiques lors du traitement des eaux usées montre que l'élimination de ces composés dépend de leurs propriétés physicochimiques mais aussi des conditions opératoires du traitement (Byrns, 2001). Pour les composés les plus hydrophobes, l'élimination par biodégradation est en général très faible et le principal mécanisme d'élimination est la sorption sur les boue (Byrns, 2001). Les boues et autres sous-produits du traitement des eaux usées peuvent alors contenir de fortes concentrations en micropolluants organiques et doivent alors être traités avant utilisation en agriculture par exemple (Marttinen et al., 2003). La taille des particules joue un rôle sur l'élimination des micropolluants organiques hydrophobes : influence du taux de sédimentation, du transfert de masse, de l'adsorption, de la diffusion et des réactions biochimiques (Marttinen et al., 2003). La biodégradation des sites de sorption peut rendre les polluants sorbés mobiles et bioaccessibles ; en même temps, la synthèse de cellules et la floculation peuvent fournir de nouveaux sites de sorption.

Les procédés de bioremédiation dépendent du potentiel métabolique des microorganismes à détoxifier ou transformer les molécules polluantes ce qui est dépendant à la fois de la bioaccessibilité et de la biodisponibilité des composés.

## 2. Hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP, Tableau VI) sont des composés ubiquitaires organiques neutres apolaires, constitués d'au moins deux cycles aromatiques fusionnés par des arrangements linéaires ou en coin (INERIS, 2005). Les HAP sont composés de carbone et d'hydrogène mais certains composés contenant du soufre, de l'azote ou de l'oxygène leur sont parfois associés (INERIS, 2005). Le nombre de HAP identifiés à ce jour est de l'ordre de 130. Toutefois, une liste restreinte à seize molécules prioritaires (US-EPA) est souvent considérée pour les études environnementales à cause de leurs propriétés toxiques, mutagènes, ostrogéniques et cancérigènes (Haynes et al., 2009; INERIS, 2005). Ces composés sont très peu volatils (exceptés pour les composés de faible poids moléculaire), très peu solubles dans l'eau et stables.

**Tableau VI : propriétés physicochimiques et structures des seize HAP visés par l'US-EPA** (INERIS, 2005)

| | **Masse moléculaire ($g.mol^{-1}$)** | **Solubilité dans l'eau à 25°C ($mg.L^{-1}$)** | **Coefficient de partage octanol/eau – logKow** | **Constante de Henry ($Pa.m^3.mol^{-1}$)** | **Structure** |
|---|---|---|---|---|---|
| Naphthalène (Nap) | 128,2 | 32 | 3,3 | 48,9 | |
| Acénaphtylène (Acny) | 152,2 | 3,93 | 4,07 | | |
| Acénaphthène (Acn) | 154,2 | 3,42 | 3,98 | 14,7 | |
| Fluorène (Flu) | 166,2 | 1,9 | 6,58 | 9,2 | |
| Phénanthrène (Phe) | 178,2 | 1 | 4,45 | 2,9 (à 20°C) | |
| Anthracène (Ant) | 178,2 | 0,07 | 4,45 | 5,04 | |
| Fluoranthène (Flt) | 202,3 | 0,27 | 4,9 | 1,5 (à 25°C) | |
| Pyrène (Pyr) | 202,3 | 0,16 | 4,88 | $1,1.10^{-3}$ (à 25°C) | |
| Benzo(a)anthracène (BaA) | 228,3 | 0,0057 | 5,61 | | |
| Chrysène (Chry) | 228,3 | 0,06 | 5,16 | 0,1 (à 25°C) | |
| Benzo(b)fluoranthène (BbF) | 252,3 | 0,001 | 6,04 | 0,05 (à 25°C) | |
| Benzo(k)fluoranthène (BkF) | 252,3 | 0,0008 | 6,06 | 0,069 (à 25°C) | |
| Benzo(a)pyrène (BaP) | 252,3 | 0,0038 | 6,06 | $4,0.10^{-12}$ | |

| | Masse moléculaire ($g.mol^{-1}$) | Solubilité dans l'eau à 25°C ($mg.L^{-1}$) | Coefficient de partage octanol/eau – logKow | Constante de Henry ($Pa.m^3.mol^{-1}$) | Structure |
|---|---|---|---|---|---|
| Dibenzo(ah)anthracène (DBahA) | 278,3 | 0,0005 | 6,84 | $4,8.10^{-3}$ (à 25°C) | |
| Benzo(ghi)pérylène (BghiP) | 276,3 | Insoluble | 6,5 | $2,7.10^{-2}$ (à 20 °C) | |
| Indéno(1,2,3,cd)pyrène (Ind) | 276,3 | 0,0008 | 6,58 | $2,9.10^{-2}$ | |

Les HAP ne sont pas intentionnellement produits par les activités humaines excepté le naphtalène utilisé auparavant comme antimite, dans la production d'esters de phthalate et dans la fabrication de teinture (Rogers, 1996). Les HAP proviennent de la pyrosynthèse lors de la pyrolyse à haute température de matériaux (Rogers, 1996). Ils sont aussi générés comme sous-produits lors de combustions incomplètes (pots d'échappement, préparation de nourriture, etc.).

Les effets toxiques des HAP sont connus bien que partiellement. Les données obtenues chez l'homme ou l'animal montrent que certains de ces composés peuvent induire des effets systémiques (hépatiques, hématologiques, immunologiques et développement d'athérosclérose), et/ou des effets sur la reproduction ainsi que des effets génotoxiques et cancérigènes (INERIS, 2005). Les HAP de hauts poids moléculaires (et d'autres composés comme les dioxines ou certains phthalates) sont liés aux perturbations des systèmes endocriniens des organismes aquatiques et terrestres (Byrns, 2001). En général, les HAP les plus dangereux pour les humains (même à de très faibles concentrations) sont les composés contenant 4 à 6 noyaux aromatiques condensés (Rey-Salgueiro et al., 2008).

La contamination des animaux d'élevage peut se faire de manière directe par l'air respiré ou par la présence des composés sur les plantes consommées : les composés présents dans l'air pollué sont transférés aux plantes par dépôt de particules sur les feuilles ou par prise de la phase gazeuse par les stomates (Rey-Salgueiro et al., 2008). Les composés toxiques sont métabolisés avant ou après absorption à travers le tractus intestinal : par exemple le 3-hydroxybenzo(a)pyrène, métabolite du benzo(a)pyrène, est retrouvé sous sa forme naturelle ou conjuguée (glucuronide et/ou sulfate) dans différents types de fumiers et lisiers (Rey-Salgueiro et al., 2008). L'absorption par les intestins et le passage à travers l'épithélium des mamelles se produisent chez plusieurs espèces de mammifères (Rey-Salgueiro et al., 2008). Les HAP subissent une activation métabolique dans les cellules des mammifères et sont transformés en diol-époxydes qui se lient par une liaison covalente aux macromolécules des cellules, *e.g.* l'ADN, causant ainsi des erreurs dans la réplication de l'ADN et donc des mutations à l'origine des processus cancérigènes. D'autres composés intermédiaires peuvent aussi être générés par oxydation (perte d'un seul électron). Ces composés produisent une alkylation de

l'ADN chimiquement instable qui conduit à la dépurination pouvant ainsi générer des mutations (Phillips, 1999).

Les HAP sont ubiquistes, soit présents dans tous les compartiments de notre environnement, y compris les stations d'épuration de par la diffusion facile dès leur production : transport par l'atmosphère, dépôt par les précipitations et lessivage vers les égouts (Rogers, 1996). Les HAP ayant une faible solubilité et un coefficient de partage octanol-eau élevé (en général > 4) sont des composés hydrophobes qui se sorbent sur les matières en suspension (MES) lors du traitement des eaux usées (Rogers, 1996). Par exemple, une étude a montré qu'environ 64 % des HAP sont sorbés sur les boues lors de la décantation primaire des eaux usées (Petrasek et al., 1983). De plus, les taux d'abattement des HAP dans les eaux usées lors du traitement peucent atteindre 98 % cependant, ils se retrouvent concentrés dans les boues en raison de leur haute hydrophobicité (Aparicio et al., 2009; Blanchard et al., 2004) (Tableau VII).

**Tableau VII : teneurs en HAP dans les boues d'épuration**

| Composé(s) | Matrices | concentration | Référence |
|---|---|---|---|
| 16 HAP | Boues | nd - 0,22 mg.kgMS$^{-1}$ (naphtalène)<br>nd - 0,31 mg.kgMS$^{-1}$ (phénathrène) | (Marttinen et al., 2003) |
| Somme : acénaphtène, phénanthrène, fluorène, fluoranthène, pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(ghi)pérylène, indéno(1,2,3,cd)pyrène | Boues | nd – 7,35 mg.kgMS$^{-1}$ | (Abad et al., 2005) |
| 16 HAP | Boues<br>Boues en excès | 400 – 2 600 µg.kgMS$^{-1}$<br>1 200 – 4 500 µg.kgMS$^{-1}$ | (Wiśniowska and Janosz-Rajczyk, 2007) |
| Naphtalène<br>Acénaphtylène<br>Acénaphtène<br>Phénanthrène<br>Anthracène<br>Fluoranthène<br>Pyrène<br>Benzo(a)pyrène<br>Chrysène<br>Benzo(b)fluoranthène<br>Benzo(k)fluoranthène<br>Benzo(a)pyrène<br>Dibenzo(ah)anthracène<br>Benzo(ghi)pérylène<br>Indéno(1,2,3,cd)pyrène | Boues primaires | <LD – 1,147 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD<br><LD – 0,093 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD – 0,228 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD – 0,054 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD – 0,081 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD<br><LD – 0,170 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD<br><LD<br><LD – 0,032 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD<br><LD<br><LD<br><LD | (Aparicio et al., 2009) |
| Naphtalène<br>Acénaphtylène<br>Acénaphtène<br>Phénanthrène<br>Anthracène<br>Fluoranthène | Boues secondaires | <LD – 0,322 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD<br><LD – 0,035 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD – 0,332 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD – 0,130 mg.kgMS$^{-1}$<br><LD – 0,196 mg.kgMS$^{-1}$ | (Aparicio et al., 2009) |

| Composé(s) | Matrices | concentration | Référence |
|---|---|---|---|
| Pyrène | | <LD – 0,367 mg.kgMS$^{-1}$ | |
| Benzo(a)pyrène | | <LD – 0,618 mg.kgMS$^{-1}$ | |
| Chrysène | | <LD – 0,478 mg.kgMS$^{-1}$ | |
| Benzo(b)fluoranthène | | <LD | |
| Benzo(k)fluoranthène | | <LD | |
| Benzo(a)pyrène | | <LD | |
| Dibenzo(ah)anthracène | | <LD | |
| Benzo(ghi)pérylène | | <LD | |
| Indéno(1,2,3,cd)pyrène | | <LD | |
| 16 HAP° | Boues | 14,6 à 30,9 mg.kgMS$^{-1}$ | (Blanchard et al., 2004) |

Les concentrations en HAP dans les boues d'épuration sont variables mais souvent de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de microgrammes par kilogrammes de matière sèche pour chaque molécule. La concentration totale en HAP est aux alentours du milligramme par kilogramme de matière sèche. Toutefois, des taux beaucoup plus élevés montrant alors une forte contamination peuvent être rencontrés dans certaines boues (Abad et al., 2005).

Les HAP les plus lourds sont essentiellement éliminés par sorption sur les boues ; la volatilisation et la biodégradation peuvent aussi permettre d'éliminer certains HAP : la volatilisation est potentiellement importante pour les HAP présentant une constante de Henry supérieure à $1.10^{-4}$ atm.m$^{3}$.mol$^{-1}$ et la biodégradation concerne surtout les HAP de moins de quatre cycles (Blanchard et al., 2004).

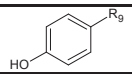
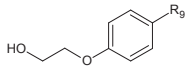
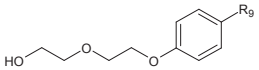
De façon très générale, la dégradation des HAP dépend des conditions environnementales, du nombre et type de microorganismes, de la nature et la structure chimique du composé à dégrader. Ils sont biologiquement transformés en des métabolites moins complexes et après minéralisation en composés inorganiques tels que l'eau, le dioxyde de carbone (en aérobiose) ou le méthane (en anaérobiose). La vitesse de dégradation dépend du pH, de la température, de l'oxygène, des populations microbiennes, du degré d'acclimatation, de l'accessibilité des nutriments, de la structure chimique du composé, des propriétés de transport cellulaire et de la partition chimique dans le milieu de croissance (Haritash and Kaushik, 2009).

### 3. Nonylphénols

Le terme nonylphénols (Tableau VIII) recouvre un grand nombre d'isomères différents appartenant à la famille des alkylphénols. La plupart des NP ne présente pas une chaîne carbonée linéaire et présente un carbone en α quaternaire : cette structure stable explique que les NP sont globalement très persistants à l'opposé du NP linéaire (Barret, 2009). Les NPnEO sont utilisés dans les détergents,

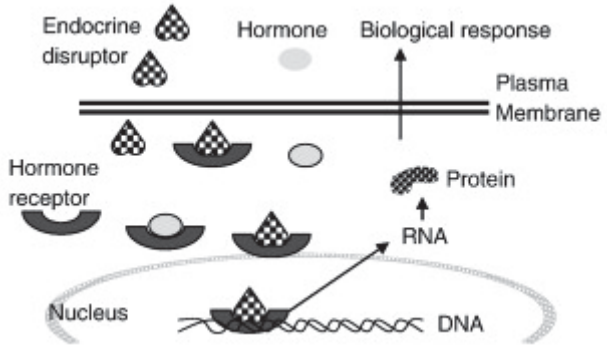
agents mouillant, dispersants, émulsifiants et agents moussants (Ying et al., 2002) bien que leur utilisation soit maintenant régulée.

**Tableau VIII : propriétés physicochimiques et structures des nonylphénols et nonylphénols polyéthoxylés** (Ying et al., 2002)

| | Masse moléculaire ($g.mol^{-1}$) | Solubilité dans l'eau à 20°C ($mg.L^{-1}$) | Coefficient de partage octanol/eau – logKow | pKa | Structure |
|---|---|---|---|---|---|
| **Nonylphénols (NP)** | 220,0 | 5,43 | 4,48 | 10,28 |  |
| **Nonylphénols monoéthoxylates (NP1EO)** | 264,0 | 3,02 | 4,17 | / |  |
| **Nonylphénols diéthoxylates (NP2EO)** | 308,0 | 3,38 | 4,21 | / |  |

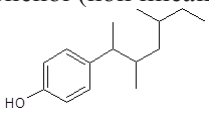
Les nonylphénols se présentent sous la forme d'un liquide visqueux jaune pâle dégageant une légère odeur phénolique. La plupart des NP sont utilisés pour fabriquer des nonylphénols polyéthoxylés (NPnEO, le nombre de groupement éthoxy n variant de 1 à 50 dans les formulations industrielles (John et al., 2000)). Ces derniers ne sont pas stables dans l'environnement et sont rapidement dégradés pour former des NP (Brignon, 2005; John et al., 2000).

Les NP, NP1EO et NP2EO produits par dégradation des NPnEO sont plus toxiques que les composés parents. D'autres composés tels que l'acide nonylphénoxyacétique et l'acide nonylphénoxyéthoxyacétique peuvent être produits par dégradation des NPnEO (Giger et al., 1984). Le nonylphénol est un composé toxique classé en tant que perturbateur endocrinien capable d'interférer avec le système hormonal de nombreux organismes (Soares et al., 2008). La toxicité du nonylphénol a été démontrée pour la première fois par Soto et al., 1991 : le NP présent dans les tubes plastiques de culture de cellules cancéreuses lève l'inhibition du CD (charcoal-dextran) sur les cellules cancéreuses or cette levée d'inhibition est due au 17β estradiol.




Exemple :

- Perturbateur endocrinien = nonylphénol (non linéaire)



- Perturbations = se lie aux récepteurs du 17β estradiol

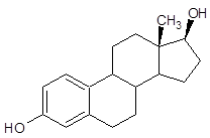


**Figure 7 : schéma du fonctionnement d'un perturbateur endocrinien (d'après Soares et al., 2008)**

Les NP et NPnEO sont des composés créés par l'homme et la contamination environnementale provient donc des rejets humains dans les stations d'épuration ou directs dans les milieux aquatiques (application de pesticides) (Soares et al., 2008; Ying et al., 2002). Environ 60 % des NPnEO produits

arrivent dans l'environnement, la production annuelle mondiale étant de 500 000 tonnes, 300 000 tonnes sont rejetées annuellement dans l'environnement aquatique ; l'exposition aux NPnEO est majoritairement via l'eau (Ying et al., 2002). Le lien entre les rejets des STEP et la contamination en NP a été mis en évidence par le dosage simultanée de NP et de coprostanol (molécule issue du traitement des eaux) sur des sédiments marins à différentes distances d'un rejet de STEP (Choi et al., 2011) : la distribution du coprostanol est semblable à celle des NP, indiquant que les contaminations des sédiments par ces deux composés ont probablement la même origine.

Les NP sont des composés amphiphiles (à la fois hydrophobe – groupement nonyl – et hydrophile – groupement hydroxyle (et éthoxy pour les composés éthoxylés)) avec un caractère hydrophobe marqué (logKow = 4,48) : la partition entre phase aqueuse des sols et sédiments se fait en faveur de la matière organique limitant ainsi sa capacité à se déplacer dans les matrices eau. Toutefois, les NP sont des composés semi-volatils qui peuvent se transférer dans l'air : les composés présents dans l'atmosphère sont déposés sur les sols et les surfaces des eaux par les pluies ; les concentrations à la surface des eaux sont généralement plus faibles qu'en profondeur à cause de la photolyse des NP grâce à la lumière du soleil (Soares et al., 2008).

Les essais en laboratoire effectués pour étudier le devenir des NP lors du traitement biologique montrent la forte influence de l'origine biologique de l'inoculum ainsi que l'importance de la température et de l'aération car l'élimination des NP dépend fortement de la température et de la présence de zones d'anoxie (Soares et al., 2008). Il a été prouvé que l'application d'un âge de boues plus élevé et la présence de procédés de nitrification/dénitrification peuvent améliorer les taux de dissipation des perturbateurs endocriniens (NP entre autres) et des produits pharmaceutiques (Soares et al., 2008).

Les études sur des stations d'épuration montrent que les NP sont des intermédiaires stables dans les effluents (Figure 8) ; même si les systèmes sont capables d'éliminer les NP, il apparaît que jusqu'à 90 % de la quantité entrante dans la station d'épuration sont sorbés sur les boues (Soares et al., 2008). Samaras et al., 2013 ont étudié le devenir de NP sur deux stations d'épuration. Les conditions opératoires utilisées sont différentes sur les deux stations et les taux d'élimination sont différents sur les deux stations : le temps de séjour hydraulique, l'âge des boues, la température et le pH influent sur l'élimination des NP. La présence d'un décanteur primaire permet de mieux éliminer les NP par sorption sur les boues : les NP ont une affinité plus forte pour les boues primaires que pour les boues secondaires. La saisonnalité impacte aussi la concentration des eaux usées en NPnEO et donc ainsi la concentration finale des effluents en sortie de station d'épuration (Nie et al., 2012). Cette même étude a montré que la dissipation des NPnEO est plus élevée en été qu'en hiver, probablement due à une activité microbienne plus intense en été grâce à la chaleur.

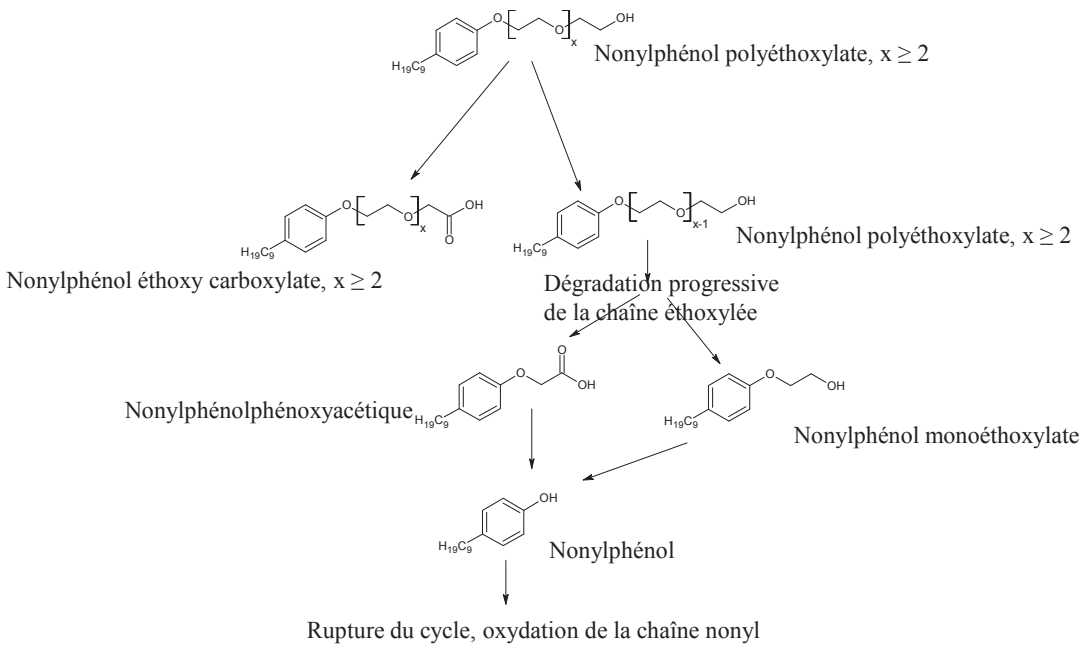



**Figure 8 : dégradation des NPxEO lors du traitement des eaux usées dans une station d'épuration classique** (Ying et al., 2002)

Le Tableau IX donne les teneurs en NP et NPnEO de boues d'épuration.

**Tableau IX : teneurs en NP et NPnEO dans les boues d'épuration**

| Références | Teneurs dans les boues d'épuration en mg.kgMS$^{-1}$ |
|---|---|
| **(Bruno et al., 2002)** | NP : 242<br>NP2EO : 100 |
| **(Abad et al., 2005)** | NP + NP1EO + NP2EO : min = 49 ; max = 2 668 ; moy = 659 |
| (Fountoulakis et al., 2005) | NP : min = 3,6 ; max = 93 ; moy = 45,8<br>NPnEO : min = 12,8 ; max = 233,5 ; moy = 95,5 |
| **(Ghanem et al., 2007)** | NP boues 1 : min = 16,5 ; max = 124,9 ; moy = 61,7<br>NP boues 2 : min = 75,6 ; max = 173,2 ; moy = 132,8<br>NP boues 3 : min = 49,6 ; max = 135,5 ; moy = 90,9<br>NP boues 4 : min = 89,8 ; max = 216,5 ; moy = 161,4 |
| **(Soares et al., 2008)** | NP : 128,2 à 1 000 |
| **(Aparicio et al., 2009)** | NP : boues primaires = 4,3 à 49, boues secondaires = 4,5 à 18<br>NP1EO : boues primaires = <LQ à 72, boues secondaires = <LQ à 26<br>NP2EO : boues primaires = <LQ à 47, boues secondaires = <LQ |
| **(Fernández-Sanjuan et al., 2009)** | NP : min = 4,8 ; max = 199 ; moy = 66 |
| **(Langdon et al., 2011)** | NP : 0,48 à 464 ; moy = 58,7 |

Les teneurs en NP et NPnEO sont variables. Toutefois, il est noté que les teneurs sont plus élevées que celles des HAP et sont de l'ordre de plusieurs dizaines à centaines de milligrammes par kilogrammes de matière sèche (les concentrations peuvent atteindre 1 000 mg.kgMS$^{-1}$), il est donc nécessaire de déterminer le devenir des NP et NPnEO lors du traitement des boues.

### 4. Composés pharmaceutiques

Après absorption, les médicaments sont sujets à des réactions métaboliques telles que l'hydroxylation, le clivage ou la glucuronation. Toutefois, une quantité non négligeable des substances mères ou métabolisées est évacuée par l'urine et les excréments et alors rejetée dans l'environnement (Beausse, 2004). Les composés pharmaceutiques sont éliminés par des mécanismes de sorption ou de biodégradation lors du traitement des eaux usées ou des effluents d'élevage mais peu d'études permettent d'évaluer le devenir de ces substances dans le sol, les boues, les biodéchets, etc. (Beausse, 2004). Les produits pharmaceutiques humains et vétérinaires représentent plus de 4 000 molécules et 10 000 produits, conçus pour être naturellement solubles dans l'eau. Les composés pharmaceutiques métabolisés ou non de nature hydrophile ne sont pas complètement éliminés dans les stations de traitement et entrent dans l'environnement et les eaux de surface via les effluents d'élevage, les effluents industriels, hospitaliers et domestiques. Les composés pharmaceutiques lipophiles,

persistants présentent un risque environnemental par lessivage par les eaux de pluie ou percolation sur les champs sur lesquels ont été épandues des boues de STEP, des effluents d'élevage ou via les excrétions des animaux (Beausse, 2004).

### 5. Devenir des micropolluants organiques lors des procédés de traitement/valorisation des boues

Le devenir des micropolluants organiques au cours du traitement des PRO est régi par des interactions entre la matrice, les microorganismes et les molécules, telles que représentées par Barret, 2009 pour la digestion anaérobie (Figure 9).

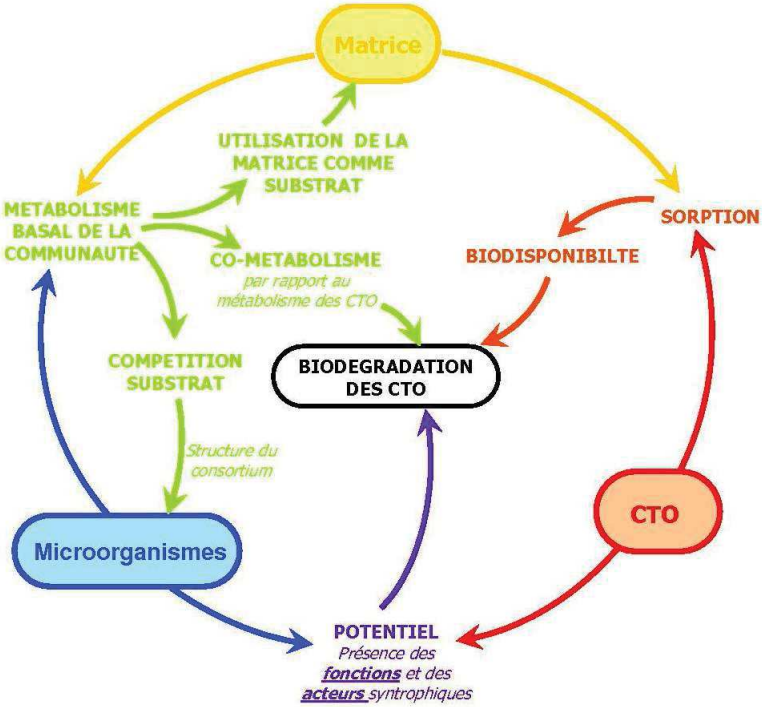



**Figure 9 : triple interaction matière/micropolluants/microorganismes**

L'interaction entre les molécules et la matrice est régie par le phénomène de sorption. Ce phénomène dépend des propriétés physicochimiques des composés mais aussi de celles de la matrice. Ce phénomène de sorption peut être considéré comme facteur limitant l'accessibilité et la disponibilité des micropolluants organiques aux microorganismes. En effet, ces derniers peuvent former des résidus non extractibles ou résidus liés qui ne sont plus alors détectables par les méthodes de dosage classiques. La sorption joue un rôle prépondérant sur la biodisponibilité ou la bioaccessibilité des micropolluants organiques. Un micropolluant est dit biodisponible s'il peut traverser la membrane cellulaire d'un microorganisme à l'instant t. Il est bioaccessible s'il peut devenir biodisponible dans le temps (Semple et al., 2004). A ce jour, peu d'études ont été réalisées pour déterminer si les polluants sorbés à la matière particulaire sont bioaccessibles ou biodisponibles ou comment ils peuvent jouer un rôle sur la recharge du compartiment aqueux puisque la digestion anaérobie modifie les caractéristiques de la boue et libère des composés issus de la phase particulaire. Lors de la digestion anaérobie, une

augmentation de l'affinité pour le compartiment particulaire est constatée (Barret, 2009) : la matière organique devient plus stable et le nombre de cycles aromatiques augmente.

L'interaction entre la matrice et les microorganismes définit le métabolisme basal de la communauté (voies métaboliques, flux de carbone, etc.). Les microorganismes modifient de plus la matrice lors du procédé, ce qui peut modifier les équilibres de sorption/désorption.

Les microorganismes peuvent utiliser les micropolluants comme seule source de carbone (Bouju et al., 2012; Lu et al., 2008; Vitte et al., 2012) dans ce cas, le métabolisme est particulier et il est possible d'isoler des souches dégradantes et de caractériser les voies métaboliques (Gabriel et al., 2005). D'autres microorganismes ne peuvent utiliser les micropolluants comme source de carbone et la dégradation des micropolluants organiques se fait par co-métabolisme (les microorganismes dégradent la matière, source de carbone, et indirectement dégradent les micropolluants organiques). Il est toutefois impossible de distinguer les deux hypothèses.

Pour les HAP en digestion anaérobie, il y a une similitude entre la dissipation des HAP et la dégradation de la MS (Trably et al., 2003). Selon Braun, 2012, trois communautés capables de fermenter ou de méthaniser dissipent pareillement les HAP lors de la digestion anaérobie.

Lors du compostage, les micropolluants organiques sont éliminés par dégradation (minéralisation, formation de métabolites), volatilisation, lixiviation ou sorption (Lashermes, 2010).

La Figure 10 montre les taux d'abattement des différents HAP lors du compostage. Les taux sont très variables car les déchets compostés ne sont pas les mêmes et les procédés de compostage sont différents. Les taux de dissipation sont variables mais montrent la capacité du compost à éliminer une partie des HAP. Toutefois certains taux sont négatifs ce qui signifient que le procédé peut aussi permettre une accumulation des micropolluants organiques.

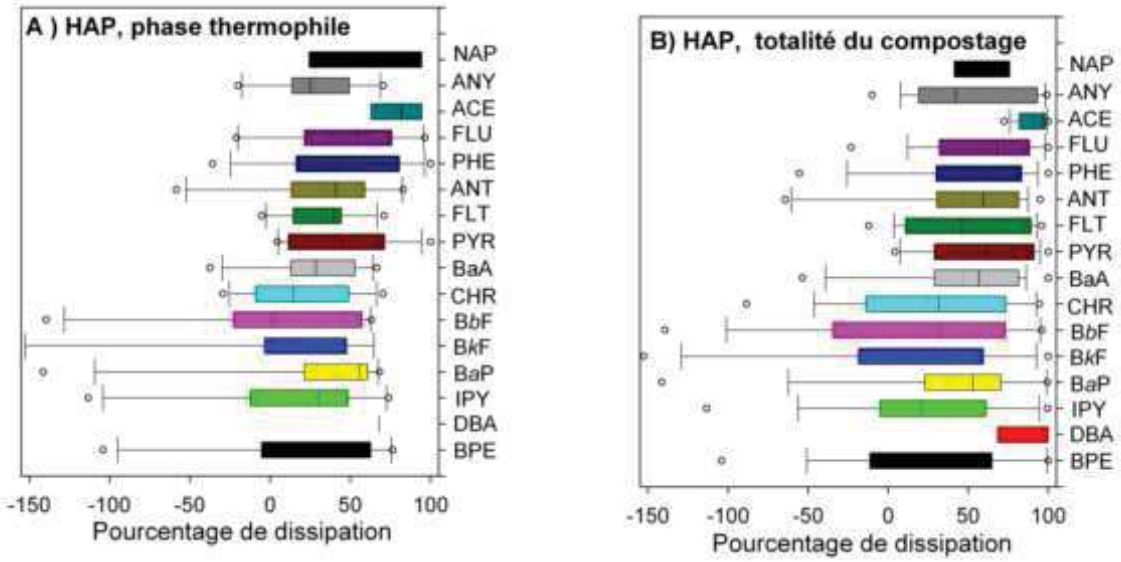



**Figure 10 : taux de dissipation des HAP lors de la phase thermophile du compostage et lors du compostage complet (tiré de** Lashermes, 2010**)**

La Figure 11 représente les différents mécanismes de dissipation des micropolluants lors d'un procédé biologique.

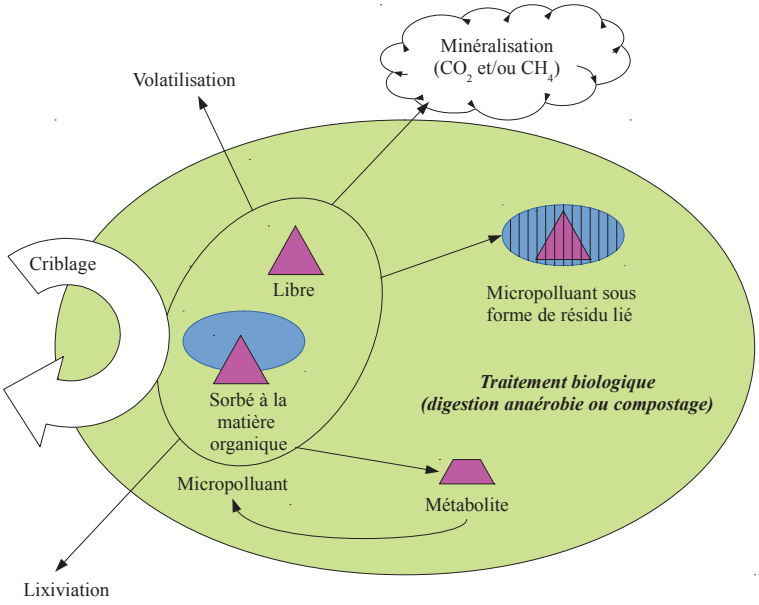



**Figure 11 : mécanismes d'élimination des micropolluants organiques lors d'un traitement biologique**

## 6. Précisions sur le devenir en digestion anaérobie de quelques familles de micropolluants

### *a) Hydrocarbures aromatiques polycycliques*

La dégradation des HAP lors de la digestion anaérobie des boues est généralement lente, ainsi ce procédé est peu efficace pour les éliminer (Haynes et al., 2009). Il est constaté que le taux d'abattement des HAP (somme de 13 HAP, soit les 16 présentés exceptés le naphtalène,

l'acénaphtylène et l'acénaphtène) est directement lié au taux d'abattement des matières sèches lors de la digestion anaérobie de boues dopées en HAP (Trably et al., 2003). Cela signifie que la dissipation des HAP est limitée par leur biodisponibilité car ils sont fortement adsorbés sur la matière organique des boues. L'hypothèse communément admise est que les HAP dégradés sont ceux présents dans la phase aqueuse des boues (phase contenant la matière organique colloïdale ou dissoute des boues) (Barret et al., 2012).

Les conditions opératoires de la digestion anaérobie changent le taux d'élimination des micropolluants organiques : la comparaison ente la digestion de boues dopées en naphtalène et pyrène montre de meilleurs abattements pour les conditions thermophiles que les conditions mésophiles par exemple (Benabdallah El-Hadj et al., 2007). Là aussi cela pourrait s'expliquer par une meilleure disponibilité des molécules : modification des propriétés de sorption par modification de la nature de la matière organique via la température, hydrolyse plus importante et la température favorisant aussi peut être la désorption des micropolluants organiques.

Lors de la digestion anaérobie de boues, les caractéristiques des boues alimentant le réacteur ont un impact sur l'élimination des HAP (Barret et al., 2010a). Cinq boues dopées en HAP sont digérées en réacteur anaérobie continu : boues primaires, boues secondaires (les deux issues de la même station d'épuration), boues primaires traitées thermiquement, boues secondaires enrichies en cellulose et boues secondaires enrichies avec leur propre matière organique colloïdale ou dissoute. La dissipation des HAP est plus élevée pour la boue secondaire que pour la boue primaire (cette dernière contient plus de lipides et de protéines). La fraction lipidique plus élevée peut expliquer la moindre dissipation des HAP par rétention des molécules sur ces composés hydrophobes. Le traitement thermique diminue la dissipation des HAP : il diminue la biodisponibilité des HAP par modification de la matière organique. L'ajout de cellulose diminue légèrement la quantité de HAP dissipée. En effet, la cellulose est très dégradable et est donc attaquée en premier. Comme la dégradation de la matière organique des boues sur laquelle sont sorbés les HAP est moindre, et que la dissipation des HAP est liée à la dégradation de la matière organique (selon l'hypothèse du co-métabolisme), la dissipation des HAP est donc diminuée. L'enrichissement avec la matière organique colloïdale ou dissoute diminue la dissipation des HAP : la DCO de la boue est diluée lors de l'enrichissement et une inhibition par la production d'AGV (plus de matière organique facilement dégradable) se produit (la DCO de la matière organique colloïdale et dissoute étant très dégradable). Le métabolisme de la matière organique particulaire de la boue est donc diminué et par conséquent le cométabolisme aussi. La composition de la boue influe donc sur la digestion anaérobie de celle-ci et par conséquent sur la dissipation des HAP. Dans ce cas, l'impact négatif sur la dissipation est soit lié à la biodisponibilité des HAP modifiée par le changement de structure de la boue soit par une sorte d'effet de compétition entre les substrats très dégradables et les HAP peu dégradables.

Le devenir des HAP lors de la digestion anaérobie ne dépend pas seulement des interactions avec le substrat et les types de microorganismes présents mais aussi du pH et des conditions rédox du milieu (Wiśniowska and Janosz-Rajczyk, 2007). Une comparaison de la co-digestion en batch de boues et de fraction organique de déchets municipaux a montré l'influence des conditions rédox sur la dégradation des HAP (Wiśniowska and Janosz-Rajczyk, 2007). Sans ajout d'accepteurs d'électrons, seul le fluorène (sur huit HAP étudiés) est dégradé de manière significative (pas de dégradation abiotique). L'ajout de nitrates donne le même résultat sauf que le système abiotique présente un abattement significatif de l'anthracène, du phénanthrène, du fluoranthène et du pyrène en plus du fluorène. Les auteurs concluent à la dissipation de HAP par des mécanismes d'élimination non biologiques (sorption, dégradation chimique). Toutefois, ce résultat semble devoir être nuancé car les tests sur la digestion anaérobie avec témoin abiotique ne montrent pas de dissipation des HAP (Barret, 2009). L'ajout de sulfates permet de réduire en plus de la concentration du fluorène, la concentration de l'acénaphtène, l'acénaphtylène et du phénanthrène. Ainsi, les conditions redox du milieu semblent avoir un impact sur la dissipation des HAP lors de la digestion anaérobie. Cependant, il apparaît que l'élimination dépend de nombreux paramètres, les mécanismes sont donc complexes. En général, les HAP présentant deux ou trois noyaux aromatiques sont dégradés sous conditions sulfato-réductrices ou dénitrifiantes avec pour accepteurs d'électrons les $SO_4^{2-}$ et $NO_3^-$ respectivement (Haynes et al., 2009).

Comme vu précédemment, la composition des boues influe sur la dissipation des HAP notamment par la limitation de la biodisponibilité des HAP. L'étape d'hydrolyse lors de la digestion anaérobie est généralement une étape limitante et des prétraitements peuvent être envisagés pour améliorer la digestion (libération de particules de plus petites tailles dans la phase aqueuse des boues). Ces traitements peuvent avoir un impact sur l'élimination des polluants. L'étude d'un prétraitement par ultrasons sur des boues dopées en naphtalène et pyrène montre des améliorations de l'élimination du naphtalène lors de la digestion sans montrer toutefois d'effet sur le pyrène (Benabdallah El-Hadj et al., 2007). Les propriétés physicochimiques de la molécule semblent donc ici jouer un rôle pouvant expliquer la différence d'impact. L'application des ultrasons permet de libérer des particules dans la phase aqueuse, qui sont souvent très dégradables et qui conduisent à une augmentation de la production de méthane. La déstructuration des boues conduit aussi au relargage des HAP dans la phase aqueuse (sorption sur la matière colloïdale ou dissoute). De plus, le traitement par ultrasons permet aussi une réduction des concentrations en naphtalène et pyrène de l'échantillon de boues : un prétraitement peut donc améliorer la dégradation des HAP et aussi permettre d'éliminer une partie de la pollution en amont de la digestion. Une autre stratégie pour l'élimination des HAP lors de la digestion anaérobie des boues est de coupler ce procédé avec l'ozonation comme observé par Bernal-Martínez et al., 2005 ; l'ozone pouvant être un prétraitement améliorant la conversion de la matière

organique en biogaz lors de la digestion anaérobie ou comme post-traitement par recirculation des boues ozonées dans le digesteur.

### *b) Nonylphénols*

Il est admis qu'en conditions anaérobies, la biotransformation des NPnEO commence au niveau de la partie hydrophile : la chaîne éthoxy est raccourcie formant ainsi des NP2EO, NP1EO et NP ; les deux premiers sont dégradés en NP qui s'accumule dans les boues (Patureau et al., 2008; Stasinakis et al., 2012). Les résultats concernant la dégradation des NP en digestion anaérobie sont contradictoires, certaines études ne montrent aucun abattement des NP lors de la digestion anaérobie alors que d'autres montrent clairement une diminution, même si faible, de ces composés. Toutefois, des souches microbiennes anaérobies capables de dégrader les NP ont été mises en évidence et sont capables de dégrader les NP en les utilisant comme unique source de carbone (Stasinakis, 2012). La dégradation des NP semble très lente en digestion anaérobie et suit probablement une cinétique d'ordre 1 même si aucune étude n'a pu prouver cette cinétique ; la dégradation étant peu rapide, l'effet d'accumulation dans les boues peut s'expliquer.

Lu et al., 2008 ont étudié la dégradation d'un mélange de NPnEO (n moyen = 9) lors de l'incubation d'un mélange composé d'un milieu de culture et d'un échantillon de boues anaérobies issues d'une station d'épuration (inoculum). L'impact de diverses conditions de culture est étudié sur la dégradation des NPnEO comme seule source de carbone (100 $mg.L^{-1}$). Pour tous les traitements effectués, une diminution de la quantité de NPnEO est constatée au cours de la digestion. En parallèle, un enrichissement en NP2EO, NP1EO et NP puis une diminution de ces concentrations est constatée signifiant ainsi que la dégradation des NPnEO conduit à la production et à l'accumulation de ces trois métabolites qui sont lentement dégradés (la dégradation des NPnEO, $n > 2$, est plus rapide que la dégradation des composés produits). La courbe de l'effet ostrogénique suit la même tendance que les NP, NP1EO et NP2EO montrant ainsi le lien entre l'effet ostrogénique et la présence de ces composés. Pour tous les traitements, la distribution des NPnEO finaux est la même, ainsi les conditions étudiées ici influent sur le taux d'élimination et/ou la vitesse de dégradation mais pas sur les mécanismes de dégradation mis en jeu. L'ajout de nitrate et sulfate permet d'améliorer l'élimination des NPnEO lors de la digestion anaérobie. Ce résultat est semblable à celui des HAP : l'élimination des HAP est améliorée par la présence d'accepteurs d'électrons. L'ajout d'acétate, lactate et glucose diminue la vitesse et le taux de dégradation des NPnEO : un probable effet de compétition apparaît entre les molécules organiques ajoutées et facilement dégradables et les NPnEO pour les accepteurs d'électrons. Cette compétition pourrait avoir lieu en conditions réelles et donc la présence par exemple d'acides gras volatiles en digestion pourrait limiter la dégradation des NPnEO. Une relation linéaire est constatée entre la concentration initiale en NPnEO lors de l'incubation et la vitesse initiale de dégradation : plus la concentration est élevée, plus la vitesse de dégradation initiale est rapide. Toutefois, une concentration trop élevée pourrait avoir un effet toxique peu probable dans

l'environnement car les concentrations sont faibles. Comme lors de la dégradation des NPnEO lors des traitements des eaux usées, la température influe sur la dégradation en digestion anaérobie : la vitesse de dégradation augmente avec la température, toutefois, les concentrations finales atteintes à différentes températures sont identiques. La diminution de la température réduit donc le métabolisme de dégradation des NPnEO. La présence de NP n'influe pas la vitesse maximale de dégradation des NPnEO sauf si la concentration dépasse 1000 µM. Ainsi, dans un milieu fortement contaminé, la dégradation des NPnEO en digestion anaérobie pourrait être limitée par l'effet toxique des NP. La concentration des NP diminuent bien que très faiblement lors de l'incubation, il existe donc un potentiel d'élimination des NP lors de la digestion anaérobie.

### 7. Précisions sur le devenir des hydrocarbures aromatiques polycycliques lors du compostage

Dans une review, Haynes et al., 2009 donnent des abattements en HAP compris entre 64 et 94 % après 56 jours de compostage, les taux étant semblables quel que soit le nombre de cycles aromatiques. Toutefois, l'auteur ne précise pas si les abattements sont constatés sur des composts à l'échelle laboratoire ou l'échelle industrielle.

Cependant, il apparaît que le procédé de compostage et le type déchets compostés jouent un rôle sur la dissipation des HAP. En effet, lors d'une étude d'un compostage à ciel ouvert de différents déchets organiques, une dissipation est constatée pour certains HAP ou une accumulation dans le compost, ces taux variant suivant la molécule et le déchet composté (Brändli et al., 2007). Pour les trois déchets (déchets verts, déchets de cuisine et mélange des deux), le facteur d'accumulation est inférieur à 1 (dissipation) pour les composés de faible poids moléculaire (dissipation des composés). La dissipation est aussi constatée pour les HAP de haut poids moléculaire lors du compostage des déchets de cuisine et du mélange des deux déchets alors qu'une concentration de ces HAP est constatée lors du compostage des déchets verts seuls. Le compostage étant effectué à ciel ouvert avec un retournement régulier dans andains, il est possible qu'un des mécanismes majeurs de dissipation des HAP de faible poids moléculaires soit la volatilisation (augmentation de la température lors du compostage jusqu'à 70°C).

Les procédés physiques utilisés lors du compostage, notamment le criblage, peuvent permettre d'éliminer une partie des HAP. Un bilan effectué sur une plate-forme de compostage des boues (avec des déchets verts) montre un abattement de la quantité de HAP après criblage du compost alors qu'aucune dissipation n'est constatée durant les autres phases du compostage (Patureau et al., 2012). Toutefois, cette dissipation par procédé physique n'élimine pas complètement la pollution mais la recircule dans le procédé puisque les refus de crible sont en général utilisés lors du mélange des boues avec le déchet vert pour apporter une structure au substrat.

Lors du compostage, les micropolluants organiques peuvent former des résidus non extractibles qui ne sont plus détectés lors des analyses. Il faut donc appliquer des techniques d'extraction des micropolluants organiques fortes (extraction par Accelerated Solvent Extraction par exemple qui utilise des solvants et l'application de pression et de température) qui permettent d'extraire et donc de quantifier le plus possible les micropolluants. Ces résidus non extractibles formés sont alors considérés comme éliminés. La quantification de ces résidus non extractibles est possible par utilisation de molécules radiomarquées mais nécessite de travailler sur des systèmes clos en laboratoire et n'est donc pas possible sur une plate-forme de compostage. L'utilisation de molécules marquées permet aussi de déterminer la part de micropolluants organiques minéralisée lors du procédé de compostage (détection de dioxyde de carbone marqué). Toutefois, les résidus non extractibles sont seulement quantifiés (par brûlage de l'échantillon par exemple et dosage du dioxyde de carbone marqué produit) et il n'est pas possible de déterminer si les résidus sont formés à partir de la molécule mère ou à partir de métabolites (produits de dégradation de la molécule mère). Gwenaëlle Lashermes et al., 2012 ont étudié le devenir d'un HAP (fluoranthène) marqué au carbone 14 lors du compostage en laboratoire d'un mélange de déchets verts et de boues. La minéralisation du fluoranthène est faible lors du compostage (0,3 ± 0,2 % de la quantité totale de fluoranthène marqué appliquée). Cependant, des extractions successives ($CaCl_2$ puis méthanol) permettent de déterminer l'évolution de la radioactivité lors du procédé. Globalement, la quantité de fluoranthène extractible à l'eau $CaCl_2$ reste constante lors du compostage alors que la quantité de résidus non extractibles (quantités non extraites par le méthanol) augmente : la dissipation du fluoranthène lors du compostage semble donc liée à la séquestration dans la matrice organique. Toutefois, le bilan est réalisé sur la radioactivité présente dans le mélange à composter, il n'est donc pas possible de savoir si les molécules détectées dans les fractions sont des molécules mères ou des métabolites produits lors du compostage.

Combinant les différents résultats observés dans les études, il apparaît que le procédé de compostage influence fortement la dissipation des HAP. Cette dernière peut être due à de la volatilisation, à de la minéralisation (même si celle-ci est très faible) ou à de la séquestration des composés par formation de résidus non extractibles. Bien que considérée comme moyen d'élimination des HAP lors du compostage, la formation de résidus non extractibles pose la question du devenir lors de l'utilisation en agriculture du compost. En effet, le mélange du compost avec le sol peut modifier la matière organique et celle-ci va évoluer au cours du temps, les articles étudiés ici ne donnent pas de piste pour savoir si la modification de la matière organique peut permettre la libération de ces résidus et ainsi augmenter la contamination des sols.

Malgré le peu de dégradation du fluoranthène lors du compostage, il apparaît un potentiel de dégradation de composé lors du compostage. Lors du compostage en laboratoire d'un mélange de déchets verts mélangés avec des boues sans ajout de fluoranthène marqué (Lashermes et al., 2010), des prélèvements sont réalisés à chaque étape du compostage (mélange initial, fin de phase thermophile,

fin de descente de température et fin de maturation). Le coefficient de partage matière organique – eau ($K_d$) est mesuré à chaque étape du compostage : le coefficient de sorption reste globalement constant au cours du compostage. L'effet de la sorption est donc constant au cours du procédé. Chaque échantillon est incubé dans le noir (à 50°C pour l'échantillon prélevé en fin de phase thermophile et à 28°C en fin de descente de température et fin de maturation) après dopage avec une solution de fluoranthène marqué. Un vial contenant de la soude permet de piéger le dioxyde de carbone produit. Très peu de fluoranthène est minéralisé lors des incubations sauf pour l'échantillon prélevé après la fin de maturation. Cela montre donc qu'une flore microbienne capable de dégrader le fluoranthène apparaît lors de la maturation du compost même si les taux de minéralisation sont faibles.

Ce résultat est confirmé sur la même molécule (fluoranthène) ainsi que deux autres HAP (phénanthrène et benzo(a)pyrène) (Houot et al., 2012). Trois composts non matures (biodéchets, ordures ménagères et mélange déchets verts et boues) dopés avec une des trois molécules marquées sont incubés à 60°C pendant 12 jours puis un ajout d'inoculum (microflore issue du compost mature) est réalisé et l'incubation se poursuit à 28°C (un témoin est réalisé sans ajout d'inoculum). Les mêmes composts cette fois matures sont incubés à 28°C. Le taux de minéralisation (production de dioxyde de carbone marqué sur la quantité de marquage initial) est mesuré au cours du temps. Lors de l'incubation à 60°C, le phénanthrène est minéralisé dans l'échantillon issu du compost {déchets verts + boues}. Il est très peu minéralisé dans l'échantillon de biodéchets et dans l'échantillon d'ordures ménagères. Dans les mêmes conditions, le fluoranthène et le benzo(a)pyrène ne sont pas dégradés. L'ajout de l'inoculum permet d'augmenter la minéralisation du phénanthrène et de dégrader le fluoranthène mais n'a aucun effet sur le benzo(a)pyrène. Lors de l'incubation des trois composts matures, les trois molécules sont fortement minéralisées sauf le benzo(a)pyrène qui est faiblement minéralisé. La biodégradation des HAP étudiés diminuent avec la complexité de la molécule. Ainsi, il existe bien une flore microbienne capable de dégrader les HAP qui apparaît lors de la maturation du compost (validation de ce qui est constaté en laboratoire sur une plate-forme « réelle »). Il apparaît aussi que la matière organique compostée joue un rôle sur la dégradation des molécules au cours du compostage : sélection de microorganismes capables de dégrader la matrice et par extension les HAP par métabolisme ou plus probablement cométabolisme. Les différences de biodégradation entre les molécules pour la même matrice montrent que les propriétés intrinsèques de la molécule jouent aussi un rôle sur sa dégradation.

Lors du compostage, une partie des HAP peut être éliminée (sorption, dégradation, volatilisation). Une accumulation des molécules peut avoir lieu si la biodégradation des composés est faible ou plus lente que la dégradation de la matière organique. Une microflore adaptée à la dégradation de certains HAP apparaît lors de la phase de maturation du compost.

### 8. Conclusion sur le devenir des micropolluants organiques en digestion anaérobie et compostage

Lors d'un traitement biologique (digestion anaérobie ou compostage), le même triptyque est retrouvé (Figure 12).

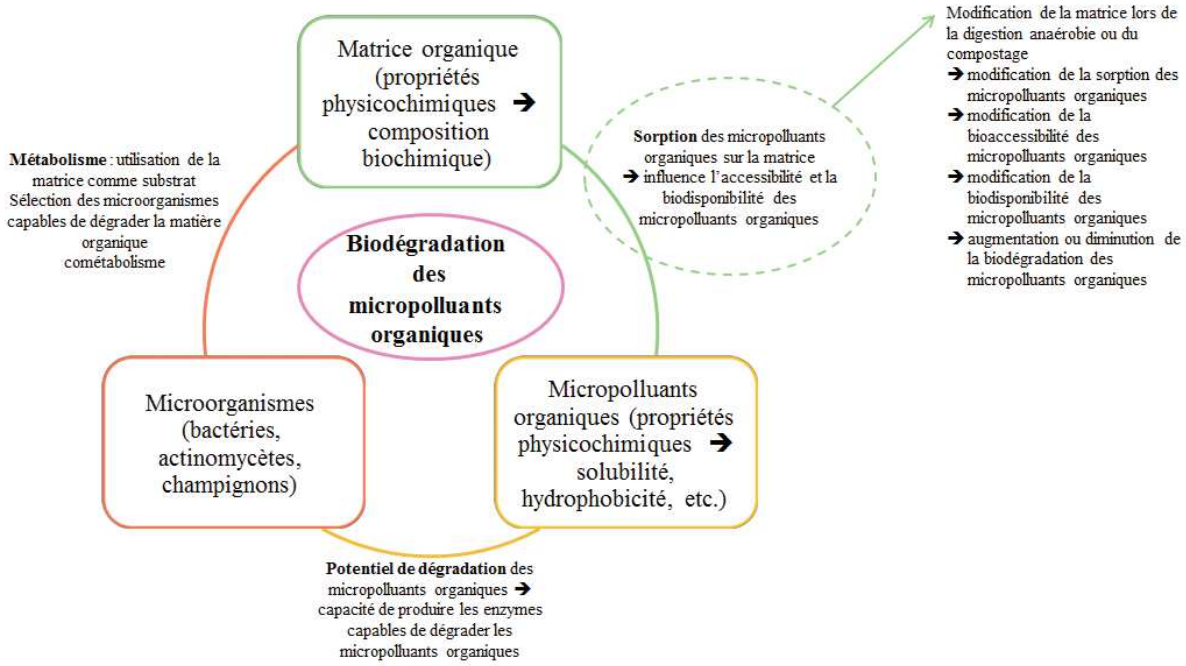



**Figure 12 : triptyque matrice/micropolluants organiques/microorganismes lors de la digestion anaérobie ou du compostage de PRO**

L'interaction matrice/micropolluant organique est très importante puisque c'est cette interaction qui va régir l'accessibilité et la disponibilité des micropolluants organiques lors du procédé et donc qui va jouer sur la biodégradation des composés.

## C. Biodisponibilité et bioaccessibilité

La biodisponibilité réfère à l'exposition des humains ou d'autres organismes aux micropolluants organiques des sols ou sédiments (Ehlers and Luthy, 2003). Cette définition peut être étendue à d'autres matrices : per exemple, les boues dans lesquelles une partie des micropolluants organiques sont biodisponibles et donc dégradés par les microorganismes lors du traitement biologique de la boue. Les mêmes auteurs proposent pour définition de la biodisponibilité « l'ensemble des interactions physiques, chimiques ou biologiques qui déterminent l'exposition des organismes à des contaminants ». Semple et al., 2004 ont ensuite proposé une définition de la biodisponibilité et de la bioaccessibilité. Un composé est dit biodisponible s'il peut traverser la membrane cellulaire d'un organisme à partir de l'habitat de l'organisme à un instant t. Lorsque le transfert à travers la membrane a eu lieu, des phénomènes de stockage, transformation, assimilation et dégradation peuvent avoir lieu dans l'organisme. Un composé est bioaccessible s'il est disponible pour traverser la membrane cellulaire d'un organisme à partir d'un environnement si l'organisme accède à cet environnement.

Cela signifie que tout micropolluant organique biodisponible est alors bioaccessible alors qu'un micropolluant accessible n'est pas forcément biodisponible.

La biodisponibilité des contaminants du sol est un facteur important dans l'estimation des risques et dépend des caractéristiques du sol et des micropolluants organiques ainsi que des organismes et leur habitat et position dans la chaîne trophique ; cette biodisponibilité pouvant changer au cours du temps à cause de l'effet de vieillissement (van der Wal et al., 2004). Cette constatation est aussi valable pour d'autres matrices environnementales. La littérature donne de nombreuses techniques pour estimer cette biodisponibilité chez différents organismes allant de la bactérie aux organismes complexes tels que les daphnies (Tableau X).

**Tableau X : techniques de mesures de la biodisponibilité des micropolluants organiques**

| Technique | Matrice | Micropolluant | Organisme | Référence |
|---|---|---|---|---|
| Extraction cyclodextrine | Humines et acides humiques de sols et sédiments | Phénanthrène | *Pseudomonos pseudoalcaligenes* | (Gao et al., 2014) |
| Extraction cyclodextrine | Sol | Phénanthrène, fluoranthène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(ghi)pérylène | Microorganismes endogènes du sol | (Crampon et al., 2014) |
| Negligible-depletion solid-phase micro extraction (SPME) | Sol | PCB | Vers de terre | (van der Wal et al., 2004) |
| Comparaison dégradation molécule dopée et molécule native | Sol | Benzo(a)pyrène | *Pleurotus ostreatus* | (Eggen and Majcherczyk, 1998) |
| Comparaison bioconcentration molécule dopée et molécule native | Sédiment | Phénanthrène, fluoranthène, anthracène, pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène | *Corophium volutator* | (Kraaij et al., 2001) |
| Test de toxicité (perte de 50 % de la bioluminescence) | Eau de surface (fleuve) | Insecticides (Guthion, Dursban, Pydrin, méthyl parathion) | *Photobacterium phosphoreum* | (Kadlec and Benson, 1995) |
| Sac de dialyse | Eau synthétique (acides humiques) | Pyrène et PCB | *Daphnia Magna* | (Granier et al., 1999) |
| Sac de dialyse | Eau synthétique (acides humiques) | PCB | *Daphnia Magna* | (Gallé et al., 2005) |
| Culture | Eau synthétique (acides humiques) | Pyrène, anthracène et fluoranthène | *Daphnia Magna* | (Perminova et al., 2001) |

| Technique | Matrice | Micropolluant | Organisme | Référence |
|---|---|---|---|---|
| Culture | Fractions hydrophiles et hydrophobes de carbone organique dissous d'eau de surface | Naphtalène, benzo(a)pyrène, PCB | *Daphnia Magna* | (De Paolis and Kukkonen, 1997) |
| Culture | Acides humiques | phénanthrène | *Sphingomonas* LH162 | (Smith et al., 2009) |

La biodisponibilité des micropolluants organiques est toujours comparée avec le type de matière organique présente dans la matrice étudiée puisque cette matière peut sorber une partie des micropolluants organiques et ainsi diminuer la bioaccessibilité et la biodisponibilité des micropolluants organiques. Kukkonen et al., 1990 montrent que la sorption du BaP sur différentes matières organiques dissoutes peut diminuer l'assimilation et l'accumulation de ce polluant chez *Daphnia magna* : plus la concentration de BaP libre est faible dans le milieu plus l'assimilation est faible. Dans une synthèse bibliographique, Haitzer et al., 1998 ont étudié l'effet de la matière organique dissoute sur la bioconcentration de composés organiques chez des organismes aquatiques. Les articles étudiés dans cette review montrent que pour la plupart des composés organiques, la bioconcentration (donc la biodisponibilité) diminue avec l'apport de matière organique dissoute dans le milieu. Le changement de la bioconcentration des micropolluants organiques est plus marqué à de faibles teneurs en matière organique. Pour des niveaux comparables de matière organique dissoute et pour les mêmes micropolluants organiques, les facteurs de bioconcentration varient fortement et dépendent probablement des types de matière organique utilisés lors des études. Les résultats regroupés dans cet article sur les tests de biodisponibilité du BaP chez *Daphnia magna* avec la même matière organique et la même concentration de matière organique montrent des valeurs de bioconcentration différentes ce qui met en évidence les différences de résultats suivant les techniques utilisées et met en exergue la difficulté de mesurer la biodisponibilité de micropolluants organiques. Si la matière organique change, toujours pour la même molécule (BaP), le même organisme (*Daphnia magna*) et les mêmes concentrations en carbone, les facteurs de bioconcentrations n'ont pas la même diminution avec augmentation de la concentration en matière organique : le type de matière organique influe donc bien sur la disponibilité de micropolluants organiques.

La plupart des auteurs travaillent sur des milieux dopés avec la molécule : cela permet de contrôler la contamination, apporter suffisamment de micropolluants pour les dosages, apporter des molécules marquées pour être facilement détectées, etc. Toutefois, il est probable que le dopage implique un comportement différent des micropolluants organiques ajoutés par rapport aux micropolluants natifs. Kraaij et al., 2001 ont montré que la biodisponibilité de six HAP (phénanthrène, fluoranthène, anthracène, pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène) chez *Corophium volutator* est plus élevée lorsque les HAP sont ajoutés au milieu que lorsqu'ils sont natifs.

Pour les microorganismes aquatiques tels que les daphnies, la biodisponibilité décroît avec l'augmentation de la concentration en matière organique et notamment avec l'augmentation de la concentration en substances humiques capables de sorber une multitude micropolluants organiques hydrophobes. Toutefois, la biodisponibilité chez les bactéries est totalement différente : en effet, l'augmentation de la concentration de la matière organique permet d'augmenter la dégradation de certains micropolluants organiques.

La différence de la biodisponibilité des micropolluants organiques dans un milieu donné chez les bactéries et les organismes supérieurs doit être considérée lors des études selon le but recherché. En effet, pour des systèmes épuratoires tels que la digestion anaérobie, il faut regarder la biodisponibilité des micropolluants organiques chez les microorganismes capables de dégrader ces molécules. Inversement, si le digestat est destiné à une valorisation en agriculture, il faut étudier la biodisponibilité chez les organismes du sol et les plantes et éventuellement chez les microorganismes si l'on souhaite que le sol effectue une épuration du milieu.

La biodisponibilité des micropolluants organiques dépend donc fortement de la nature et des concentrations de la matière organique présente dans le milieu. Le paragraphe suivant permet d'étudier l'affinité des micropolluants organiques pour certains types de matière organique. Les publications étudiées sont parfois celles utilisées dans ce paragraphe car les études sur la biodisponibilité complètent souvent les résultats de biodisponibilité par une caractérisation de l'interaction matière organique et micropolluants organiques.

## D. Affinité des micropolluants pour la matière organique

La plupart des publications étudiées dans cette synthèse bibliographique étudient des composés hydrophobes ubiquitaires (HAP, NP, PCB, etc.) dans des matrices types eaux naturelles, sols et sédiments où la sorption sur la matière organique limite l'accessibilité et la disponibilité des micropolluants organiques donc l'éventuelle biodégradation de ces composés dans les milieux naturels, mais peut à rebours faciliter leur migration (par sorption sur les matières organiques dissoutes et colloïdales). Les micropolluants organiques interagissent aussi avec la matière dissoute t colloïdale de type humique ou fulvique (Chiou et al., 1998; Perminova et al., 2001; Yamamoto et al., 2003) mais aussi de boues (Holbrook et al., 2004). L'interaction entre la matière organique et les micropolluants organiques est le plus souvent estimée par le coefficient de partage Kd (concentration dans la phase solide sur concentration dans la phase aqueuse, en $L.kg^{-1}$). Souvent, pour comparer les tests de sorption de la même molécule sur différentes matières organiques le coefficient de partage est ramené à concentration en carbone organique (Kdoc en $L.kgC_{organique}^{-1}$) (Tableau XI).

**Tableau XI : valeurs de Kd ou Kdoc dans quelques matrices**

| Molécule | Matrice | Kd ($L.kg^{-1}$) | Kdoc ($L.kg^{-1}$) | Référence |
|---|---|---|---|---|
| **BaP** | Substances humiques | | 28 000 – 780 000 | (De Paolis and Kukkonen, 1997) |
| Pyr | Acides humiques | | 52 000 – 92 000 | (Granier et al., 1999) |
| Pyr et NP<br>BaP et DBahA | Acides humiques | | 5 (logKdoc)<br>7 (logKdoc) | (Neale et al., 2011) |
| Pyr et NP<br>BaP et DBahA | Matière organique issu d'une station d'épuration | | 3 (logKdoc)<br>4 (logKdoc) | (Neale et al., 2011) |
| Phe | Sol (n=4)<br>Humines (n=7)<br>Acides humiques (n=7)<br>Sédiments (n=3) | 363 – 886<br>113 – 392<br>1 190 – 6 069<br>144 – 543 | 10 000 – 15 000<br>14 000 – 24 000<br>9 000 – 20 000<br>13 000 – 14 000 | (Gao et al., 2014) |

Dans cette partie, le coefficient de partage sera nommé Kd et désignera à la fois le coefficient normalisé ou non par la teneur en carbone organique de l'échantillon. L'important étant de comparer les coefficients de partage dans une même publication. La comparaison des coefficients de partage entre plusieurs publications est assez ardue : en effet, les conditions d'analyses peuvent différer d'une publication à l'autre, de plus, les matières organiques utilisées pour les essais de sorption sont souvent très différentes et des coefficients de partage proche peuvent être différents pour des concentrations en carbone identique (en quantité de carbone mais pas en termes de composition la matière organique, différences de structure, etc.). Le but ici est de mettre en évidence les affinités et les hypothèses proposées sur cette affinité matière organique/micropolluants organiques.

L'hydrophobicité et la charge de la matière organique impactent l'affinité de composés hydrophobes pour celle-ci. En effet, Kukkonen et al., 1990 ont étudié la sorption de HAP (BaP et Nap) et de PCB (47, 52, 77 et 153) sur différentes fractions de la matière organique d'une eau de surface issue d'un ruisseau drainant une tourbière. Le coefficient de partage normalisé par la concentration en carbone de l'échantillon est mesurée pour chaque molécule sur les fractions obtenues par l'utilisation d'une colonne XAD-8 (H1 = composés hydrophiles, HbA = acides hydrophobes et HbN = composés neutres hydrophobes). Le taux de carbone organique est mesuré dans chaque fraction et celles-ci sont caractérisées par spectroscopie UV (rapport $E_4/E_6$, $ABS_{270}$ et rapport $E_2/E_3$). Le coefficient de partage du naphtalène dans chaque fraction varie peu et est très inférieur aux coefficients de partages du BaP et des PCB (probablement dû à la forte solubilité et la faible hydrophobicité de ce composé). Les PCB et le BaP montrent une faible sorption sur la fraction H1 (fraction hydrophile) suggérant ainsi que ces composés hydrophobes ont une affinité pour la matière organique hydrophobe. Le BaP est fortement sorbé sur les fractions HbN et HbA alors que les PCB sont tous fortement sorbés uniquement sur la fraction HbN. La caractérisation par spectroscopie permet d'estimer que la fraction HbA contient majoritairement des acides fulviques et qu'elle contient plus de composés aromatiques que la fraction HbN. Les auteurs supposent que le BaP, grâce à sa structure aromatique riche en électron, a tendance à

donner des électrons via un transfert de charge à la matière organique moins riche en électron de la fraction HbA alors que les PCB, composés électrophiles, préfèrent se sorber sur la fraction HbN dont la densité en électrons est plus forte.

L'influence de la charge a aussi démontrée par De Paolis and Kukkonen, 1997. Ils ont étudié l'influence du pH sur la sorption du BaP sur des acides humiques et des acides fulviques extraits d'eaux de surface et de sédiments. Le coefficient de partage est mesuré sur ces différentes matières organiques à différents pH (le pH influe sur la charge des acides humiques et fulviques en changeant l'ionisation de certains groupements fonctionnels). De plus, la détermination de la composition élémentaire, la $^{13}$C-RMN et la FT-IR sont utilisées pour déterminer la structure des composés humiques étudiés. Si le changement de pH impacte peu la sorption du BaP, une augmentation du pH conduit à une forte diminution du coefficient de partage obtenu pour les acides humiques (les coefficients de partage avec les acides fulviques sont faibles voire non mesurables). La diminution du coefficient de sorption sur les acides fulviques est constatée.

Ces mêmes auteurs montrent aussi que l'origine des composés humiques influence la sorption (plus de sorption sur les composés issus des sédiments que ceux issus des échantillons d'eau). Les caractérisations par RMN et FT-IR montrent des différences significatives de composition entre les acides humiques et les acides fulviques présents dans les sédiments et les eaux (aromaticité, chaîne aliphatique, groupement hydroxyl et carboxyl, etc.). La réactivité des composés est donc différente suivant leur origine. Dans le cas du BaP, à pH fixe (6,5), deux corrélations sont déterminées. Le log du coefficient de partage est inversement proportionnel au ratio (O+N)/C (polaire/non polaire) donné par l'analyse élémentaire des substances humiques. Ce ratio semble donner l'influence de la polarité des substances humiques sur la sorption du BaP. Le log du coefficient de partage est corrélé avec le ratio H/O qui donne l'oxydation de la matière organique. Ainsi, le BaP semble avoir une affinité pour les substances humiques peu polaires et peu oxydées. Ces résultats mettent en évidence que l'affinité d'un micropolluant organique pour une matière organique est une combinaison des propriétés physicochimiques du micropolluant mais aussi de la nature de la matière organique.

Neale et al., 2011 confirment l'influence de l'origine (donc de la nature) de la matière organique dissoute sur la sorption des micropolluants organiques. Ils estiment que la sorption de certains composés est plus faible sur la matière organique d'une eau de station d'épuration que sur une eau de surface car la matière organique de la station d'épuration est moins aromatique et de poids moléculaire plus faible de par son origine biologique. Les composés étudiés sont la carbamazépine, le métolachlor, l'irgarol, le terbutryn, le méthoxychlor, le chlorpyrifos, le pyrène, le nonylphénol, le benzo(a)pyrène et le dibenzo(ah)anthracène. Une forte corrélation entre le coefficient de partage et le coefficient de partage octanol-eau est déterminé pour les essais de sorption sur les acides humiques commerciaux (Sigma Aldrich). D'après cette corrélation, il semble que l'octanol est un bon substitut pour ces acides humiques. Le QSAR (quantitative structure – activity relationship) indique que la partition est

déterminé par des interactions non spécifiques telles que les forces de Van der Waals. Toutefois, cette corrélation n'est pas retrouvée entre le coefficient de partage octanol-eau et le coefficient de partage avec de la matière organique d'un concentrat d'osmose inverse issue d'une station d'épuration. Cela peut être dû à un carbone plus hydrophile. Pour les molécules ayant un coefficient de partage octanol-eau inférieur à 4, la différence de sorption sur la matière organique originaire de la station d'épuration et sur les acides humiques est faible. En effet, les composés sont solubles et la présence de matière organique dissoute a moins d'influence sur ces composés. En outre, les composés hautement hydrophobes (*e.g.* BaP) ont un coefficient de partage 1 000 fois supérieur lors des tests sur les acides humiques : ces composés sont non polaires et présentent une conformation plane ce qui promeut la sorption sur les acides humiques hydrophobes. Les mêmes auteurs montrent que la sorption du NP sur deux types de carbone organique dissout issu d'une même rivière est différente (acides humiques et acides fulviques) : la sorption moindre sur les acides fulviques peut être due à la présence élevée de groupements carboxyliques. En effet, le pH d'étude permet de déprotoner les groupements carboxyls ce qui rend les acides fulviques plus polaires que les acides humiques avec pour conséquence de réduire la capacité de sorption. Cela confirme le résultat sur le BaP, molécule hydrophobe, dont le coefficient de partage diminue avec l'augmentation de la polarité de la matière organique (Kukkonen et al., 1990). Neale et al., 2011 ont essayé de comprendre pourquoi la sorption sur le carbone organique dissous issu d'une station d'épuration est plus faible que celle sur les composés de référence (acides humiques et fulviques d'eau de rivière, acides humiques commerciaux) pour les NP. La caractérisation montre que les matières organiques de référence ont une plus haute fraction d'acides humiques que la matière organique de station d'épuration qui contient plus de carbone organique issue d'organisme vivant (biopolymères, composés de faibles poids moléculaires, etc.). Par conséquent la matière organique dissoute de station d'épuration a un poids moléculaire moyen inférieur à celui des matières organiques de référence. De plus, l'indice SUVA suggère que la matière organique de STEP est moins aromatique. Les biopolymères de cette matière organique sont riches en protéines, indicateurs d'activité microbienne (carbone issu du vivant). Ainsi, il semble que les NP ont une affinité pour les composés de haut poids moléculaire et très aromatiques (notamment les acides humiques). Pour faire le lien entre la caractérisation de la matière organique et la sorption des micropolluants, le focus est réalisé sur le NP : en effet, bien qu'hydrophobe comme les HAP, cette molécule est aussi polaire contrairement aux HAP. Le groupement fonctionnel bipolaire peut permettre au NP d'interagir avec le carbone organique dissous grâce à des liaisons hydrogène en plus des forces de Van der Waals. Alors que certains HAP montrent une forte corrélation entre le coefficient de partage et le log du poids moyen des substances humiques, celle-ci n'est pas vérifiée pour les NP (les HAP possèdent plus de cycles aromatiques ce qui peut améliorer la sorption). Une corrélation moyenne est trouvée entre la sorption et l'indice SUVA suggérant que l'aromaticité de la matière organique améliore la sorption des NP.

Oleszczuk et al., 2014 ont montré l'influence de la polarité de la matière organique sur la sorption des HAP : les essais de sorption sur des biochars montrent que ceux présentant un caractère polaire sorbent moins les HAP. De même, lors de la stérilisation d'un sol, les acides humiques deviennent plus polaires : les tests de dégradation du pyrène sur ce sol avec *P. chrysosporium* révèlent une dégradation plus élevée que dans le sol non stérilisé (sorption moindre liée à la fois à la polarité des acides humiques mais aussi à la diminution de la quantité de matière organique après stérilisation) (Wang et al., 2014).

La sorption des polluants organiques sur les substances humiques a aussi été montrée pour des composés non hydrophobes. Oesterreich et al., 1999 ont étudié le devenir de l'amitrole (insecticide, logKow = -0,86) dans des incubations de sols. Une partie de la molécule est dégradée (minéralisation de l'amitrole) ; bien qu'une fraction libre d'amitrole est retrouvée, des résidus liés aux substances humiques ont été mis en évidence. L'hypothèse est que l'amitrole est fortement lié à la matière organique par des liaisons hydrogène et/ou des liaisons covalentes. Les mêmes auteurs ont alors étudiés le transport de l'amitrole dans une colonne de sol avec ou sans ajout de matière organique dissoute (issue d'un lixiviat de compost). Ils ont mis en évidence que le transport de l'amitrole vers les couches inférieures de sol est fortement augmenté par la présence de matière organique dissoute ajoutée (contenant principalement des substances humiques) : la matière organique dissoute permet de faciliter le transport de la molécule sorbée sur la matière organique. L'amitrole montre dans cette étude une affinité pour les substances humiques alors qu'il n'est pas hydrophobe contrairement aux HAP et PCB. Ainsi, cela montre que la sorption des micropolluants organiques ne dépend pas seulement de l'hydrophobicité des composés.

Les substances humiques sont capables de sorber de nombreux micropolluants organiques souvent très hydrophobes (les plus solubles tendent à rester dans les phases aqueuses). Il apparaît souvent dans les publications l'influence des acides humiques qui montrent une capacité de sorption plus élevée que les acides fulviques de par leur poids moléculaire plus élevé, leur aromaticité plus forte et la présence moindre de groupements carboxyles (qui peuvent être déprotonés et donc changer la polarité des substances humiques).

Etablir le lien entre l'affinité d'un micropolluant avec les caractéristiques de la matière organique est une tâche difficile. En effet, plusieurs résultats, pas forcément contradictoires mais complémentaires, apparaissent dans la littérature. Chiou et al., 1998 ont déterminé que la matière organique contenant une aromaticité importante a plus d'affinité avec les HAP. D'autres ont montré la corrélation linéaire directe entre le coefficient de partage du Phe avec la quantité de carbone aliphatique (Salloum et al., 2002). Singh et al., 2010 ont montré que le carbone sous forme alkyl ou carbonyl a une corrélation positive avec la sorption de composés nitro-aromatiques. L'importance à la fois des chaînes aliphatiques et de l'aromaticité a aussi été suggérée pour les composés aromatiques polycycliques (Gunasekara et al., 2003). L'étude de polyacrylates hydrophobes modifiés montre que les chaînes

alkyl latérales peuvent mimer les propriétés de sorption du Pyr sur de la matière organique naturelle plus complexe ; la flexibilité de la chaîne aliphatique favorise la mise en place de micro-domaines hydrophobes où la sorption des micropolluants hydrophobes est augmentée (Baßmann-Schnitzler and Séquaris, 2005). Ces résultats confirment l'importance de l'aromaticité mais mettent aussi en avant l'importance de la présence de chaînes aliphatiques sur la sorption des composés hydrophobes. Partant de l'hypothèse que la structure de la matière organique joue un rôle sur la sorption des micropolluants organiques hydrophobes et que ceux-ci ont une forte affinité pour les substances humiques, Li et al., 2011 ont étudié l'impact du changement de structure des acides humiques sur la sorption du NP111 (4-(1-ethyl-1,3-dimethylpentyl)-phenol). Des essais de sorption sont effectués sur les différents acides humiques qui sont au préalable caractérisés par RMN. Les différents acides humiques ne montrent pas les mêmes capacités de sorption. Une corrélation ($R^2$=0,96) entre le pourcentage de groupement alkyl et le coefficient de partage ainsi qu'une corrélation ($R^2$=0,92) entre ce même coefficient de partage et l'aliphaticité des acides humiques (d'où une anti-corrélation avec l'aromaticité). Cette dernière corrélation rappelle le résultat présenté par Neale et al., 2011 où la corrélation entre l'indice SUVA (aromaticité) et le coefficient de partage du NP est moyenne. Ces observations confirment l'hypothèse que la sorption de composés organiques non ioniques a lieu principalement dans la structure polyméthylénique des substances humiques qui sont composés majoritairement de chaînes aliphatiques (observation identique que celle de Chefetz et al., 2000; Kang and Xing, 2005; Salloum et al., 2002 sur des HAP dont la sorption est corrélée à la présence de chaînes aliphatiques). La corrélation entre le log du coefficient de partage et le pourcentage de groupement alkyl permet d'estimer un coefficient de partage proche de celui calculé par Giger et al. (coefficient de partage octanol/eau sur mélange d'isomères de NP) confirmant l'efficacité des micro-domaines alkyl pour l'absorption du NP111 par analogie avec la partition du NP111 dans la phase organique (octanol).

La sorption des micropolluants organiques dépend de la quantité de carbone mais les publications montrent que la taille des substances humiques (liée au poids moléculaire) impacte la sorption. La taille des particules présentes dans le milieu peut donc impacter la sorption. Dong et al., 2013 ont montré l'influence de la quantité de carbone organique et de la taille de particules en suspension dans un système eau/sédiment sur la sorption des HAP. Lorsque la concentration en particules solides en suspension augmente, de plus en plus de carbone organique dissous et de colloïdes (< 0,45 µm) sont disponibles dans la phase aqueuse et le pyrène se sorbe alors sur ces particules. Lorsque l'expérience est reconduite avec d'autres HAP ajoutés en même temps que le pyrène, le coefficient de sorption ne change pas. En augmentant les concentrations en particules en suspension, le coefficient de partage du pyrène sans ajout d'autres HAP est plus élevé qu'en présence des autres molécules et le ratio des coefficients de sorption sans ajout/ajout diminue avec l'augmentation de la concentration des particules. Ce résultat peut s'expliquer par le fait qu'à des taux de particules faibles, les interactions particule/particule ou particule/carbone organique dissous sont négligeables à cause de la faible

quantité de particules. En augmentant la concentration en particules, la probabilité des collisions de particules et les interactions particule/carbone organique dissous augmentent diminuant ainsi les sites de sorption ce qui rend l'effet de compétition plus important. La sorption sur des échantillons issus de rivières différentes montre des écarts entre les échantillons pour le pyrène : là où le coefficient de sorption est le plus élevé, la taille des particules est plus élevée (pour l'autre rivière, les particules en suspension sont de taille plus petite et la quantité de carbone organique dans les sédiments est plus élevée, d'où une sorption préférentielle sur les sédiments).

De même, Cea-Barcia, 2012 a montré la corrélation entre le coefficient de sorption des HAP sur les colloïdes de la boue (phase aqueuse) avec le coefficient de partage octanol/eau : les HAP ont une affinité pour les colloïdes de haut poids moléculaire.

La plupart des auteurs étudient l'affinité des micropolluants pour la matière organique dans des milieux aqueux : eaux naturelles, eaux de STEP, boues, etc. Toutefois, la sorption des micropolluants organiques peut aussi avoir lieu dans des milieux pauvres en eau, *e.g.* les sols. La partition hydrophobe des HAP à la lignine est supposée être un des mécanismes de sorption dans les sols contenant des résidus végétaux (Han et al., 2012). La diffraction par rayon X de la lignine montre que celle-ci possède une structure amorphe importante qui apporte d'importants sites de sorption pour les composés non ioniques tels que les HAP (Zhang et al., 2014). Ces mêmes auteurs ont montré que la sorption des HAP sur la lignine est fortement corrélée à leur hydrophobicité. Une analyse de la lignine par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier montre une part importante de structures aromatiques. Ces structures peuvent agir comme des accepteurs π d'électrons et les cycles aromatiques des HAP comme des donneurs d'électrons π. Ainsi, une interaction π-π donneur/accepteur d'électrons est supposée être une forte force de sorption entre l'adsorbant et l'adsorbé. Par conséquent, les HAP les plus hydrophobes avec le plus de cycles aromatiques ont une plus forte affinité ce qui conduit à des coefficients de sorption plus élevés. Zhang et al., 2014 montrent aussi que la sorption des HAP sur la lignine suit l'équation de Van't Hoff : le coefficient de la réaction de sorption (coefficient de partage), spontanée et exothermique, diminue avec la température.

Les publications montrent une forte affinité des HAP et NP pour les composés hydrophobes et notamment les substances humiques. L'affinité des micropolluants organiques dépend à la fois des propriétés physicochimiques des composés mais aussi de celles de la matière organique. De plus, la biodisponibilité et la bioaccessibilité des micropolluants organiques dépendent de cette matière organique. Dans le cadre de cette thèse, on se propose d'utiliser un fractionnement chimique de la matière organique couplée à une caractérisation par fluorescence 3D des extraits pour déterminer la complexité de la matière organique ainsi que son accessibilité biologique lors des procédés de digestion anaérobie et compostage et de déterminer la répartition des micropolluants organiques au

sein de chacune des fractions afin de mettre en lien l'accessibilité de la matière organique avec celle des micropolluants organiques et essayer de définir l'affinité des micropolluants organiques pour certaines familles de composés organiques de chaque fraction (Figure 13).

**Etude couplée de l'évolution conjointe de la matière organique et des micropolluants organiques pendant le traitement d'une boue d'épuration par digestion anaérobie puis compostage**

Hypothèses :

- Le devenir des micropolluants organiques lors du traitement des PRO (digestion anaérobie, compostage) conditionne leur évolution dans l'environnement après apport des PRO.
- Le devenir des micropolluants organiques est lié au devenir de la matière organique lors des procédés (digestion anaérobie, compostage).

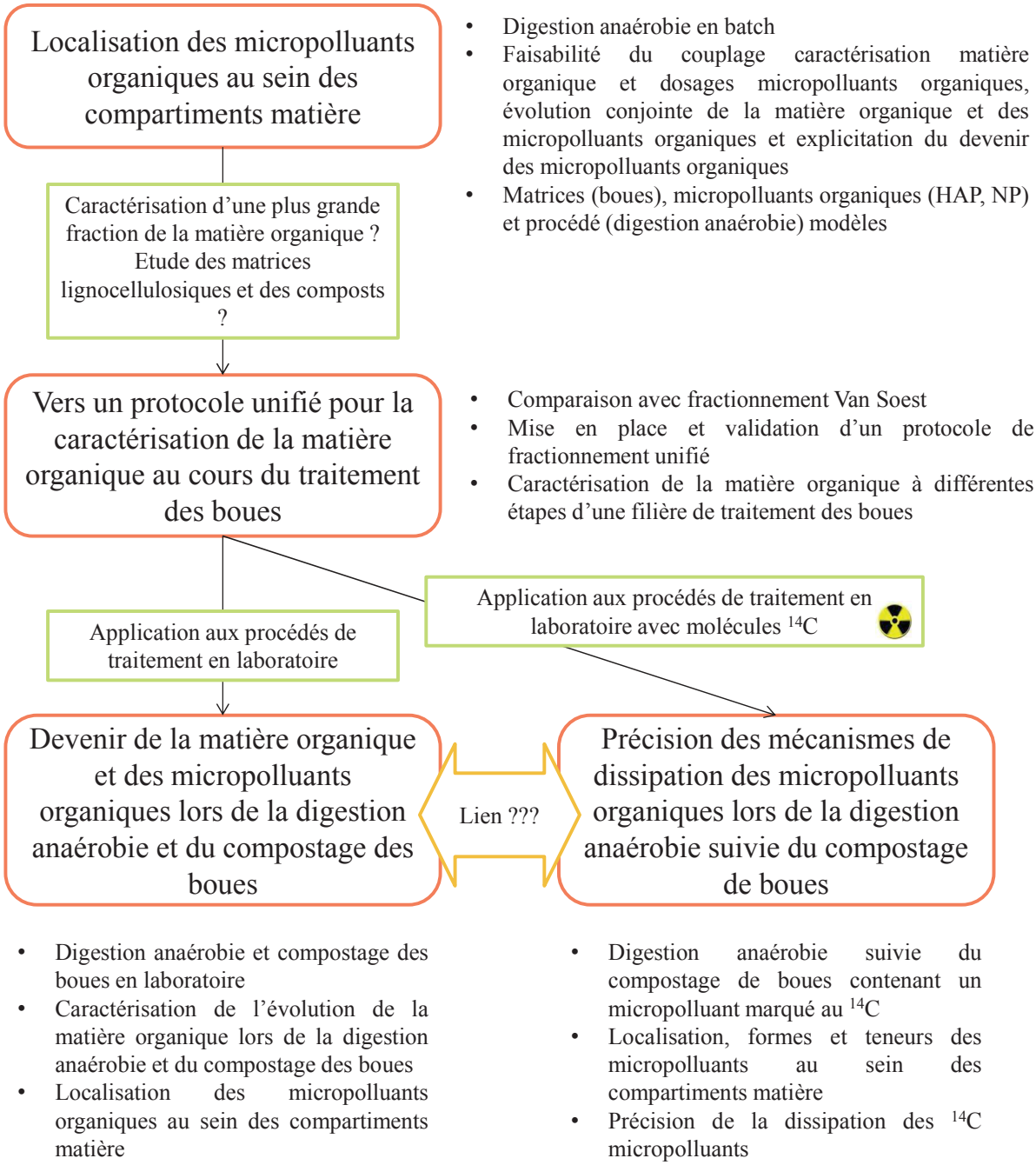



**Figure 13 : schéma de la démarche générale adoptée pour ce travail de thèse**

# III. Matériel & méthodes

# III. Matériel & Méthodes

## A. Systèmes étudiés

### 1. Digestion anaérobie en mode batch : Biochemical Methane Potential (BMP)

La mesure du BMP (Angelidaki et al., 2009) permet de déterminer la quantité de méthane maximale produite à partir d'un substrat donné en réacteur batch. Dans le cadre de ce projet, l'objectif est de modifier une matrice par un procédé batch pour étudier l'évolution de la compartimentation chimique de la matière parallèlement à celle des micropolluants. Ce procédé sera appelé incubation anaérobie dans la suite.

Un mélange de boues secondaires épaissies de station d'épuration (substrat) et de digestat (inoculum) est réalisé dans les proportions respectives 20 % et 80 % (% de matières sèches). Des fioles en verre sont remplies avec 400 mL de mélange. Elles sont ensuite dégazées à l'azote pour que le système soit en conditions anaérobies puis scellées et placées dans une chambre à 35°C. Le volume de biogaz produit est mesuré régulièrement par éprouvette renversée et sa composition est déterminée par chromatographie gazeuse (cf. § suivants). Douze réplicats du même mélange ont été suivis pour obtenir suffisamment de matière à la fin de l'expérience pour faire des analyses. La production cumulée moyenne de méthane normalisée par la DCO du substrat ($NmLCH_4.gDCO^{-1}$) est tracée en fonction du temps.

Le volume d'inoculum introduit dans la fiole est calculé à partir du rapport S/X, soit le rapport entre la DCO du substrat sur la teneur en matière volatiles (MV) de l'inoculum dans la fiole (Équation 1). Ici, le rapport S/X est fixé à 0,5 $gDCO_{substrat}.gMV_{inoculum}^{-1}$.

**Équation 1 : calcul du ratio S/X**

$$S/_X\,(gDCO.gMV^{-1}) = \frac{DCO_{substrat}(gDCO.L^{-1}).V_{substrat}(L)}{MV_{inoculum}(gMV.L^{-1}).V_{inoculum}(L)}$$

Un témoin chaud où le substrat est remplacé par 0,61 mL d'éthanol pur (1 gDCO) permet de vérifier le fonctionnement de l'inoculum : la production théorique est de 350 $NmLCH_4.gDCO^{-1}$. Un témoin froid (inoculum sans substrat) donne la production endogène de méthane à soustraire à la production totale de méthane.

### 2. Filière de traitement des boues de station d'épuration

Des prélèvements de boues, digestat et compost ont été réalisés sur une station d'épuration de 285 000 EH. La boue issue du bassin biologique est épaissie puis stockée dans une bâche avant d'entrer dans les digesteurs. La station comprend deux digesteurs mésophiles (37°C) : le premier de 4 000 $m^3$ est alimenté par un débit de 100 à 200 $m^3.j^{-1}$ et le deuxième de 2 200 $m^3$ par un débit de 50 à 100 $m^3.j^{-1}$.

Le temps de séjour dans les digesteurs est compris entre 20 et 30 jours. Le digestat est ensuite stocké dans une bâche pour être séché ou déshydraté. Les boues séchées et déshydratées sont ensuite transportées jusqu'à une plate-forme de compostage. Elles sont alors mélangées avec du déchet vert issu de coupe de haies, taille d'arbres, etc. ainsi qu'avec du structurant (refus de crible du compost). Des andains à l'air libre sont formés avec le mélange (largeur de 5 m, hauteur de 2 m et longueur de 100 m). Des retournements sont effectués deux fois par semaine pendant trois à quatre semaines. Le compost est ensuite criblé puis l'étape de maturation commence (environ un mois selon les conditions météorologiques). Les échantillons prélevés sont des boues secondaires épaissies, le digestat issu de ces boues, le digestat séché par centrifugation à 275°C (centridry) ainsi que le digestat déshydraté par filtre-presse. Sur la plate-forme de compostage, le déchet vert, le structurant, le mélange initial ainsi que le compost mature ont été prélevés. Les échantillons prélevés font partie de l'échantillonnage n°1.

La première campagne de prélèvement a été effectuée en février 2012. Une deuxième campagne (échantillonnage n°2) de prélèvement a été effectuée en avril 2013 (filtre-presse, mélange initial du compost de digestat et compost de digestat). Lors de la campagne de 2013, des prélèvements ont été effectués sur une autre filière de traitement des boues (Est de la France) pour obtenir de la boue non digérée déshydratée, le mélange initial du compost de ces boues et le compost de ces boues. Un mélange de déchets verts et un compost de déchets verts ont aussi été prélevés (centre de la France). Nous avons aussi récupéré des échantillons de sol sur les parcelles expérimentales du programme de recherche QualiAgro mené en collaboration avec l'INRA de Grignon et Veolia Environnement Recherche (échantillonnage n°3) (Figure 14). Les sols ont été prélevés sur les parcelles témoins 208 (sans ajout d'engrais azoté) et 205 (avec ajout d'engrais azoté). Les prélèvements ont été effectués début mars 2014. Les parcelles étaient labourées mais pas semées. Le labour a eu lieu le 06/12/2013 et a permis d'enfouir une moutarde, culture piège à nitrates, semée après les épandages de composts de septembre 2013. Une dizaine de prélèvements élémentaires ont été effectués à la bêche au milieu de l'horizon de labour (0 – 28 cm de profondeur soit des prélèvements entre 10 – 20 cm de profondeur). Les dix prélèvements sont homogénéisés et aliquotés pour obtenir un échantillon de 3 à 4 kg de sol.

Le dispositif de 6 ha comprend 4 blocs de 10 parcelles correspondant aux différents traitements. Les 5 traitements organiques sont croisés avec 2 niveaux de fertilisation azotée.

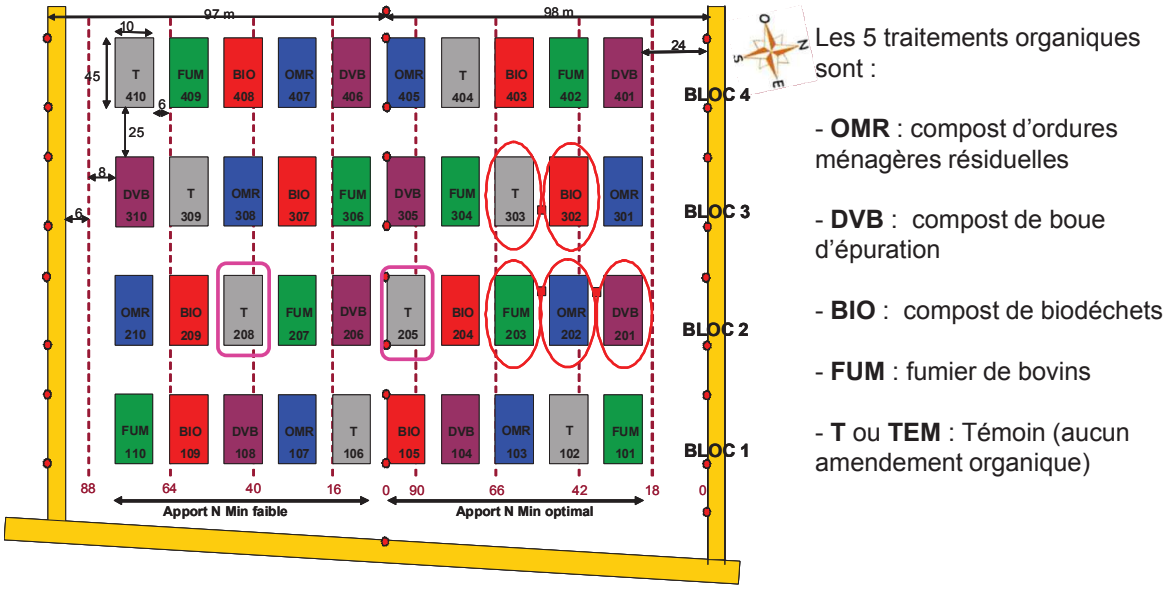



**Figure 14 : présentation du dispositif expérimental du site QualiAgro (les parcelles des prélèvements sont entourées en rose)**

## 3. Digestion anaérobie en mode semi continu

### *a) Substrat*

Le substrat utilisé est la boue secondaire épaissie issue de la station d'épuration traitant 285 000 équivalents habitants (cf. Chapitre III, § A.2.). Les principales caractéristiques de la boue sont rappelées dans le Tableau XII. Les caractéristiques de la phase particulaire sont obtenues par différence entre la mesure sur le total et la mesure sur la phase aqueuse. La séparation entre phase particulaire et phase aqueuse s'obtient par centrifugation à 18 600 g à 4°C pendant 30 minutes. Le substrat est conservé à 4°C jusqu'à utilisation pour les expériences (juste avant utilisation, les principales caractéristiques sont mesurées afin d'évaluer l'évolution de la boue).

**Tableau XII : principales caractéristiques de la boue/substrat**

| | Total | Phase aqueuse | Phase particulaire |
|---|---|---|---|
| Acides Gras Volatiles ($gAGV.L^{-1}$) | / | 1,40 ± 0,02 | / |
| Demande Chimique en Oxygène ($mgO_2.L^{-1}$) | 58 100 ± 2 687 | 5 113 ± 336 | 52 988 ± 2 211 |
| Matières Sèches ($gMS.L^{-1}$) | 51,6 ± 0,4 | 2,58 ± 0,02 | 49,0 ± 0,4 |

### *b) Dopage du substrat*

Un volume de 50 L de boues secondaires épaissies est dopé en micropolluants. Les molécules choisies sont : 13 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les nonylphénols (NP), le β –œstradiol (E2), l'ibuprofène (IBU), la ciprofloxacine (CIP) et la sulfaméthoxazole (SMX).

Pour le dopage, une solution d'acétonitrile d'une concentration de 100 $mgHAP.L^{-1}$ (sauf pour l'indéno(1,2,3,c,d)pyrène à 25 $mg.L^{-1}$) et 2 000 $mgNP.L^{-1}$ est mélangée à une solution de méthanol contenant les quatre molécules pharmaceutiques. Cette dernière est préparée à partir de quatre solutions mères contenant chacune une molécule pharmaceutique (pour la préparation de la solution contenant de la CIP, un ajout de soude 1 N permet la dissolution de la molécule). Les solutions mères sont préparées à partir des molécules pures diluées dans le méthanol. Les concentrations de la solution de dopage ainsi que les concentrations de dopage obtenues sont présentées dans le Tableau XIII. Le volume de dopage ajouté est très faible par rapport à la quantité de boues : 65 mL de la solution contenant les micropolluants dans 50 L de boues.

**Tableau XIII : concentrations de dopage**

| Molécule | Concentration de la solution de dopage ($mg.L^{-1}$) | Concentration dans la boue dopée ($mg.kgMS^{-1}$) |
|---|---|---|
| Chaque HAP | 63,5 | 1,600 |
| Indéno(1,2,3,c,d)pyrène | 15,9 | 0,401 |
| NP | 1 270,8 | 32,016 |
| CIP | 72,9 | 1,837 |
| IBU | 6,9 | 0,174 |
| SMX | 6,9 | 0,174 |
| E2 | 0,5 | 0,013 |

Les boues dopées sont ensuite aliquotées dans des bidons de 5 L puis congelées à – 20°C pour alimenter au fur et à mesure les digesteurs. Les analyses de ce substrat sont réalisées après décongélation.

### c) *Fonctionnement des digesteurs*

Deux digesteurs sont mis en place : un premier de 2 L et un second de 6 L. La mise en place d'un réacteur de 6 L permet de produire suffisamment de matière pour alimenter les réacteurs de compostage et la mise en place d'un réacteur de 2 L permet de vérifier l'influence du volume et de préparer les expérimentations avec molécules radiomarquées. Les deux réacteurs permettent aussi de voir la répétabilité du procédé en laboratoire.

Le digesteur se présente sous la forme d'un cylindre en verre comprenant une double enveloppe (Figure 15). A l'intérieur de celle-ci, un flux d'eau à 37°C permet de maintenir la température du réacteur. La température choisie est de 37°C car c'est celle utilisée sur la station d'épuration d'où proviennent les boues et le digestat.

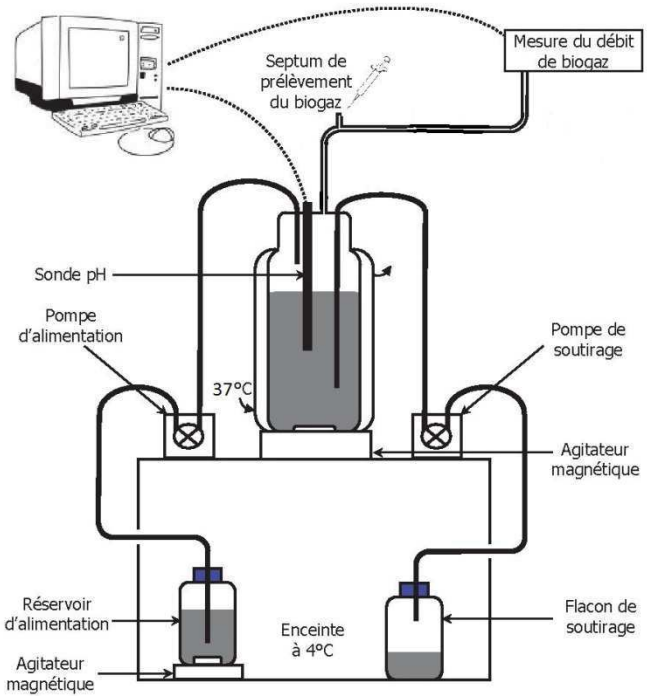



**Figure 15 : représentation du dispositif de digestion anaérobie**

Une sonde pH permet de suivre l'évolution de celui-ci au cours du temps. Une diminution du pH peut montrer une accumulation d'AGV et ainsi un dysfonctionnement du système.

Une canne plongeante permet de soutirer le digestat. Une deuxième canne (non plongeante) permet l'alimentation du réacteur. La sortie de gaz est reliée à un débitmètre (Ritter) puis se termine sous hotte aspirante. Un septum placé avant le débitmètre permet de réaliser des prélèvements de gaz pour analyses. Le volume de biogaz produit ainsi que le pH du réacteur sont enregistrés sur ordinateur.

Le réacteur est agité par barreau aimanté. Le réacteur de 6 L possède en plus une agitation par le haut à l'aide de pales (la siccité du digestat ne permet pas une simple agitation par barreau aimanté).

Le digestat provenant de la même station que le substrat/boues (inoculum, Tableau XIV) est placé dans le réacteur. Ce dernier est fermé puis un flux d'azote est appliqué pour éliminer l'oxygène et réaliser ainsi les conditions anaérobies. Un aliquot de boues dopées décongelées doucement à 4°C est placé dans une enceinte à 4°C. Un système de pompes permet de soutirer le digestat puis d'alimenter en boues. Les flacons de boues et de digestat sont régulièrement pesés pour vérifier que les pompes prélèvent le bon volume et déterminer le débit réel apporté. Les pompes sont reliées à des timers qui permettent d'alimenter quatre fois par jours le réacteur : le fonctionnement est semi continu.

**Tableau XIV : principales caractéristiques du digestat**

| | Total | Phase aqueuse | Phase particulaire |
|---|---|---|---|
| Acides Gras Volatiles ($gAGV.L^{-1}$) | / | 0 ± 0 | / |
| Demande Chimique en Oxygène ($mgO_2.L^{-1}$) | 34 050 ± 495 | 1 288 ± 230 | 32 763 ± 446 |
| Matières Sèches ($gMS.L^{-1}$) | 34,27 ± 0,06 | 1,714 ± 0,003 | 32,56 ± 0,06 |

Régulièrement (lors du changement d'alimentation), un prélèvement est fait sur la nouvelle alimentation et le digestat est récupéré. 100 mL sont congelés à -20°C puis lyophilisés. 120 mL sont centrifugés à 18 600g à 4°C pendant 30 minutes. Le culot est congelé à -20°c puis lyophilisé. Une mesure de la DCO du surnageant est réalisée ainsi qu'un dosage des AGV avant congélation à -20°C. Une mesure des MS est réalisée sur le prélèvement (prise d'essai de 20 mL, en duplicat) ainsi qu'une mesure de la DCO (triplicat). Les matrices lyophilisées servent au dosage des micropolluants et au fractionnement de la matière organique.

Le temps de séjour hydraulique (TSH) est fixé à 20 jours et la charge est d'environ 3 $gDCO.L^{-1}.j^{-1}$.

### 4. Composteurs

#### *a) Substrat*

Deux séries de compostage ont été mises en place : une première sur la boue secondaire épaissie et une deuxième sur le digestat issu des réacteurs anaérobies (cf. Chapitre III, A.3.c)). Les boues ou le digestat sont tout d'abord centrifugés à 18 600 g à 4°C pendant 30 minutes pour séparer la phase aqueuse et la phase particulaire. Cette dernière (culot de centrifugation) est utilisée comme substrat pour le compostage en mélange avec des déchets verts. Le mélange avec les boues secondaires épaissies est dopé par vaporisation de 15 mL de la solution de dopage (cf. Chapitre III, A.3.b)). Les déchets verts utilisés sont de l'herbe et des branches de cyprès (Tableau XV).

**Tableau XV : caractéristiques des co-substrats et des mélanges initiaux des composts de boues et de boues digérées**

| | MS ($gMS.kgMB^{-1}$) | MV ($gMV.kgMB^{-1}$) |
|---|---|---|
| Herbes | 209 ± 4 | 162 ± 3 |
| Cyprès | 675 ± 7 | 642 ± 8 |
| Particulaire boues | 140 ± 24 | 103 ± 17 |
| Mélange initial compost boues secondaires épaissies | 278 ± 29 | 103 ± 17 |
| Particulaire boues digérées | 174 ± 9 | 104 ± 3 |
| Mélange initial compost boues digérées | 235 ± 30 | 182 ± 31 |

Le mélange initial du compost de boues contient 24 %, 32 % et 44 % de MS boues, herbes et cyprès respectivement. Le mélange initial du compost de boues digérées contient 25 %, 29 % et 45 % de MS boues digérées, herbes et cyprès respectivement.

La teneur en eau de chaque mélange est suffisante (> 70 % (Lashermes, 2010)) : il n'y a eu aucun ajout d'eau avant compostage.

### *b) Fonctionnement du composteur*

Le mélange à composter (masse équivalente à environ 200 gMS) est placé dans un panier métallique. Ce dernier est placé dans un cylindre en verre doté (Figure 16) d'une grille (au fond du cylindre). Le réacteur est entouré d'un tuyau parcouru par un flux d'eau permettant la régulation de la température de l'enceinte. Le réacteur est scellé par un chapeau comprenant une sortie de gaz avec un septum et une entrée pour deux thermocouples. Le premier thermocouple est placé le long de la paroi du réacteur, le deuxième au milieu du mélange à composter ; la température est enregistrée en continu. Des prélèvements de gaz réguliers permettent de vérifier le fonctionnement du réacteur par la présence de dioxyde de carbone (visible notamment lors de la montée en température). La sortie de gaz bulle dans une solution de javel pour éliminer les odeurs et les éventuels organismes pathogènes. Le réacteur est isolé thermiquement par une mousse de 3 cm d'épaisseur et du papier bulle.

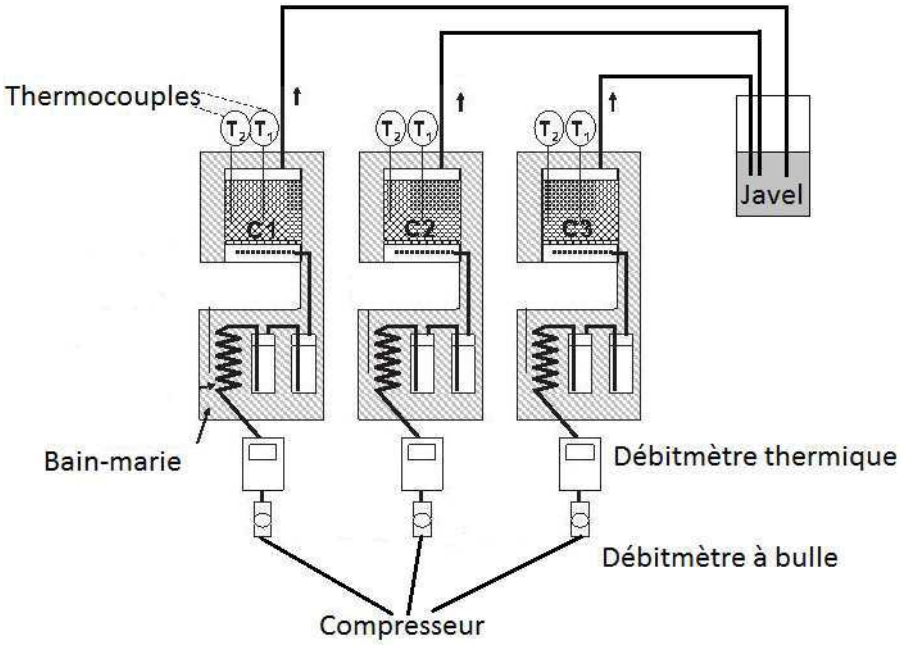



**Figure 16 : représentation du dispositif de compostage**

Un débit d'air de 190 mL.min$^{-1}$ est appliqué en dessous de la masse de mélange. L'air passe tout d'abord par un débitmètre à bulle permettant de régler le débit. Puis il passe par un débitmètre thermique qui enregistre en continu la valeur du débit d'air. Le tuyau d'air est ensuite plongé dans le bain-marie alimentant le flux d'eau. L'air circule ensuite dans 2 fioles de 250 mL d'eau distillée permettant ainsi d'humidifier l'air et de ne pas assécher le mélange.

Les 6 premiers jours, la température du bain-marie est régulièrement augmentée : la température de la paroi est fixée à 1°C en dessous de la température du mélange. Ainsi, le mélange augmente seul en température et celle-ci ne peut descendre (la masse à composter n'est pas assez importante pour avoir une inertie thermique suffisante). Cette étape est la phase de montée en température.

Les jours 7 et 8, la température est augmentée pour atteindre 60 °C. C'est le début de la phase thermophile. Les besoins des microorganismes en oxygène sont diminués, le débit d'air est alors fixé à 90 mL.min$^{-1}$.

Les jours 9 et 11 la température est maintenue entre 60 et 65°C.

Les jours 12 à 41, la température est progressivement descendue à 28°C. C'est la phase de descente en température.

Les jours 42 à 83, le mélange est placé dans une enceinte en verre pour la phase de maturation. Un vial contenant 100 mL de NaOH 1 M permet de piéger le dioxyde de carbone produit. Tous les trois jours, le piège est changé, le compost retourné et aéré. La quantité de carbone piégée est déterminée par un dosage colorimétrique (triplicat sur chaque piège, prise d'essai de 5 mL, solution titrante HCl 1 M).

## B. Fractionnement de la matière organique particulaire

Le fractionnement de la matière organique particulaire consiste à diviser la matière en plusieurs fractions (ou compartiments) de moins en moins accessibles par l'utilisation de solutions de plus en plus « agressives ». Le compartiment particulaire correspond à environ 95 % de la matière sèche totale des boues.

Le fractionnement est réalisé par plusieurs extractions successives : l'échantillon à fractionner est mis en présence d'une solution d'extraction puis agité et centrifugé. Une mesure de DCO est réalisée sur le surnageant (partie du compartiment) puis le culot est repris pour l'extraction suivante. Cette dernière peut correspondre à la même solution : il faut plusieurs extractions avec la même solution pour obtenir le compartiment complet ; ou à une solution différente : l'extraction du compartiment suivant commence.

La courbe de DCO cumulée en fonction du volume cumulé permet d'estimer le nombre d'extractions nécessaires pour obtenir un compartiment complet : un palier est atteint sur la courbe. Des études menées au LBE ont montré qu'une douzaine d'extractions permettent d'atteindre un compartiment complet (Muller et al., 2014). Cependant, la méthode est lourde et longue. Dans le cadre de ce projet, nous travaillons sur quatre extractions par compartiment ce qui permet d'extraire 80 à 90 % de celui-ci.

L'échantillon de boues est centrifugé à 18 600 g pendant 30 minutes à 4°C (séparation phase aqueuse (DOM) et phase particulaire). Les culots de centrifugation sont récupérés puis congelés et lyophilisés. 0,5 gMS de culot lyophilisé (culot sec) sont introduits dans un tube de centrifugation. Sont ensuite ajoutés 30 mL de solution extractante. Le mélange est ensuite agité à 30°C pendant 30 minutes (compartiments SPOM et REOM) ou 4 heures (SEOM) puis centrifugé à 18 600 g pendant 20 minutes à 4°C. Le surnageant est récupéré puis filtré à 0,45 µm grâce à un filtre seringue en acétate de cellulose. Le culot est récupéré pour être soit lyophilisé pour des analyses soit utilisé pour l'extraction suivante. Le Tableau XVI présente les différentes étapes du fractionnement. La lyophilisation permet aussi de mesurer la quantité de MS restantes après extraction (les MS ne sont pas effectuées à 105°C pour éviter de volatiliser les micropolluants).

Pour chaque échantillon, l'extraction est répétée 8 fois. Deux tubes sont sacrifiés à chaque étape afin de pouvoir doser les polluants restant dans la matière. Quatre tubes sont gardés pour la dernière extraction du fait de la perte de matière au fur et à mesure.

**Tableau XVI : les compartiments du fractionnement matière** (Jimenez et al., 2014; Muller et al., 2014)

| | Compartiment | Nombre d'extractions | Solution d'extraction | Temps d'extraction |
|---|---|---|---|---|
| SPOM | Matière organique particulaire soluble | 4 | NaCL 10 mM<br>$NaHCO_3$ 4 mM | 30 min |
| REOM | Matière organique facilement extractible | 4 | NaCl 10 mM<br>NaOH 10 mM | 30 min |
| SEOM-RA | Rinçage acide après lyophilisation (élimination des carbonates, sulfates et hydroxydes) | 1 | HCl 0,1 M | 1 h |
| SEOM-RN | Rinçage neutre (neutralisation du pH) | 1 | Eau milliQ<br>NaOH 1 M | 0 |
| SEOM | Matière organique lentement extractible | 4 | NaOH 0,1 M<br>Sous atmosphère $N_2$ | 4 h |
| NEOM | Matière organique non extractible | / | Solide restant | / |

Le protocole a ensuite été modifié (cf. Chapitre V). Le nouveau protocole s'effectue de la même manière. Certaines solutions d'extractions ont été modifiées, des étapes enlevées et certaines ajoutées (Tableau XVII).

**Tableau XVII : les compartiments du fractionnement matière du protocole modifié**

| | Compartiment | Nombre d'extractions | Solution d'extraction | Temps d'extraction |
|---|---|---|---|---|
| SPOM | Matière organique particulaire soluble | 4 | $CaCl_2$ 10 mM | 15 min |
| REOM | Matière organique facilement extractible | 4 | NaCl 10 mM<br>NaOH 10 mM | 15 min |
| SEOM | Matière organique lentement extractible | 4 | NaOH 0,1 M<br>Sous atmosphère $N_2$ | 4 h |
| PEOM | Matière organique difficilement extractible | 2 | $H_2SO_4$ 72 % m:m | 3 h |
| NEOM | Matière organique non extractible | / | Solide restant | / |

Lors du fractionnement, la répartition de la DCO dans la matrice est calculée par soustraction de la quantité extraite à la quantité de DCO totale de l'échantillon. Dans le cadre du Chapitre V, un bilan a été fait en MV. Dans ce cas, la répartition des MV est calculée par différence entre les MV totales et les MV du culot sacrifié à chaque étape du fractionnement.

### C. Fractionnement de la matière organique selon le protocole Van Soest (AFNOR XP U44-162)

Le protocole de dosage des fibres selon Van Soest (Van Soest and Wine, 1967; Van Soest, 1963) est adapté pour l'utilisation de l'appareil d'extraction des fibres FIWE (VELP, Scientifica) employé pour fractionner la matière organique.

L'extraction Van Soest est une méthode de détermination de la teneur en fibres des composés lignocellulosiques, en particulier les fourrages. L'échantillon solide (1 g + 1 g de sable de Fontainebleau) est soumis à plusieurs extractions successives par des solutions de sévérité croissante (Tableau XVIII et Figure 17) :

- Eau à ébullition ;
- Détergent neutre (NDS) à ébullition ;
- Détergent acide (ADS) à ébullition, solubilisant l'hémicellulose ;
- Acide sulfurique (ADL) à température ambiante, solubilisant la cellulose ;
- Calcination à 550°C, consumant les lignines.

L'extraction est effectuée au minimum en cinq réplicats, un réplicat étant sacrifié à chaque étape pour mesurer les MS et MV afin de déterminer la teneur en fibre de chaque fraction en pourcentages de MV initiale.

**Tableau XVIII : composition des solutions d'extraction Van Soest**

| Solution d'extraction | Composition |
|---|---|
| NDS | Dodécylhydrogénosulfate de sodium – 30 $g.L^{-1}$ |
| | Borax (tétraborate de sodium) – 6,81 $g.L^{-1}$ |
| | EDTA – 18,61 $g.L^{-1}$ |
| | $Na_2HPO_4$, $5H_2O$ – 4,56 $g.L^{-1}$ |
| ADS | Bromure d'hexadécyltriméthylamonium (CATB) – 20 $g.L^{-1}$ |
| | $H_2SO_4$ à 96% - 28,8 $mL.L^{-1}$ |
| ADL | Acide sulfurique 72 % m:m |

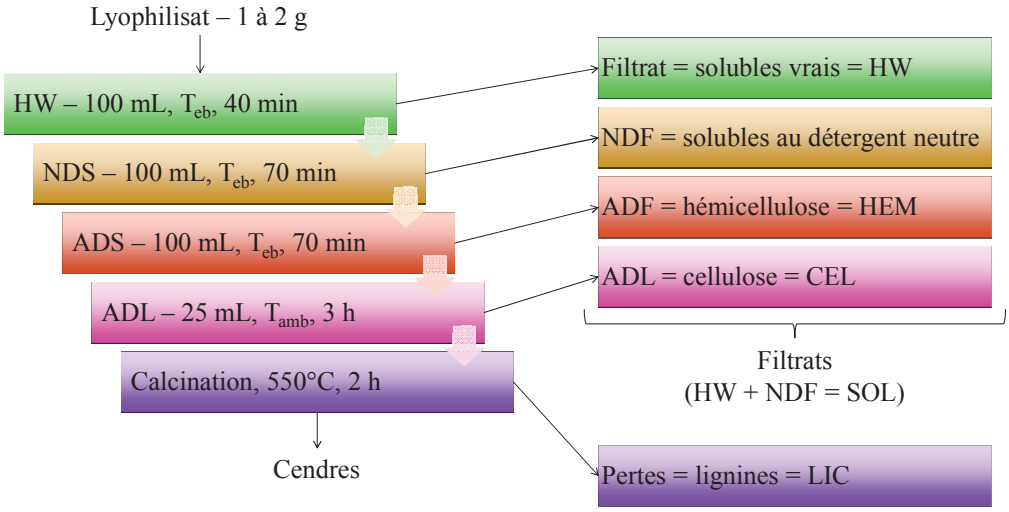



**Figure 17 : déroulement de l'extraction Van Soest ($T_{eb}$ = température d'ébullition, $T_{amb}$ = température ambiante)**

Afin de permettre l'échantillonnage d'une partie de la phase liquide, une période de décantation d'une heure est ajoutée après chaque attaque chimique.

## D. Analyses biochimiques et spectrales

### 1. Analyse du biogaz

Le biogaz est analysé par chromatographie en phase gazeuse sur Clarus 480 Gas Chromatography (PerkinElmer). 200 µL d'échantillon gazeux sont injectés dans l'appareil. Trois colonnes permettent la séparation des gaz. Une première colonne capillaire (RtUBond, 30 m * 0,32 mm * 10 µm) permet de séparer l'air et le $CO_2$. Une deuxième colonne capillaire (RtMolsieve 5 A, 30 m * 0,32 mm * 30 µm) sépare $H_2S$, $O_2$, $N_2$ et $CH_4$. Une troisième colonne en silice désactivée permet de créer une perte de

charge équivalente à la colonne RtMolsieve. Le gaz vecteur est l'hélium. La température est de 65°C dans le four et de 200°C dans l'injecteur splitless et dans le détecteur de conductivité thermique. La composition du biogaz est déterminée par étalonnage externe. L'appareil est régulièrement étalonné grâce à un gaz étalon composé de 25 % de $CO_2$, 0,1 % $H_2S$, 0,5 % d'$O_2$, 10 % de $N_2$ et 64 % $CH_4$.

### 2. Matières Sèches (MS) & Matières Volatiles (MV)

Les MS et MV s'obtiennent par différence de poids après séchage à 105°C (24h) et calcination à 550°C (2h) de la matière dans un creuset en porcelaine. La masse à vide de ce dernier préalablement nettoyé et séché à 550°C pendant deux heures est notée $m_0$. La masse du creuset plus du substrat est notée $m_1$, celle après séchage $m_2$ et celle après calcination $m_3$. La prise d'essai est d'environ 20 mL de boues. Les masses sont données en grammes (Équation 2 et Équation 3).

**Équation 2 : calcul des MS**

$$MS\ (gMS.kgMB^{-1}) = 1000.\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

**Équation 3 : calcul des MV**

$$MV(gMV.kgMS^{-1}) = 1000.\frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_0}$$

### 3. Matières En Suspension (MES) & Matières Volatiles en Suspension (MVS)

Les MES et MVS s'évaluent par la différence entre les MS et MV de l'échantillon total et les MS et MV de la phase aqueuse après centrifugation à 18 600 g et 4°C pendant 30 min (prise d'essai 20 mL) (Équation 4 et Équation 5)[2].

**Équation 4 : calcul des MES**

$$MES(gMES.L^{-1}) = MS_{boues}(gMS.L^{-1}) - MS_{phase\ aqueuse}(gMS.L^{-1})$$

**Équation 5 : calcul des MVS**

$$MVS(gMVS.L^{-1}) = MV_{boues}(gMS.L^{-1}) - MV_{phase\ aqueuse}(gMS.L^{-1})$$

### 4. Demande Chimique en Oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène est mesurée dans les boues totales ou dans la phase aqueuse à l'aide de kits Spectroquant (Merk). 2 mL d'échantillon (phase aqueuse) sont introduits dans le tube contenant un excès de dichromate de potassium qui permet l'oxydation totale de la matière en milieu acide par chauffage pendant deux heures à 150°C. La DCO est ensuite déterminée par spectrophotométrie dans la gamme 0 – 1 500 $mgO_2.L^{-1}$.

---

[2] Classiquement, la mesure des MES/MVS s'effectue par centrifugation d'un volume connu de boues et ensuite par la mesure de la masse de MS/MV dans le culot résiduel rapportées ensuite au volume de boues centrifugées. Or, la centrifugation permet de récupérer ici environ 95 % des MS totales dans la phase particulaire ainsi, lors de la mesure classique de par les erreurs des différentes pesées, les MES/MVS sont parfois supérieures aux MS/MV totales de la boue. Ainsi, il est décidé de travailler sur la boue totale et la phase aqueuse pour estimer les MES/MVS.

Pour une matrice solide (lyophilisat broyé), une suspension est réalisée dans de l'eau ultra pure (milliQ). Cette suspension est ensuite traitée comme un échantillon liquide (prélèvement des 2 mL sous agitation pour prélèvement homogène de la suspension). La DCO est alors ramenée à la masse de solide en connaissant la teneur en MS de la suspension (Équation 6).

**Équation 6 : calcul de la DCO d'un solide**

$$DCO(mgO_2.gMS^{-1}) = \frac{DCO_{suspension}(mgO_2.L^{-1})}{MS_{suspension}(gMS.L^{-1})}$$

### 5. Acides Gras Volatils (AGV)

Les acides gras volatiles (AGV) sont dosés par chromatographie en phase gazeuse (GC Clarus ParkinElmer). 0,5 µL d'un mélange composé à 50 % d'échantillon (phase aqueuse) et 50 % d'étalon interne (acide éthyl 2 butyrique) est injecté dans une colonne semi capillaire de 15 m et 0,53 mm de diamètre intérieur. L'injecteur de type splitless est maintenu à une température de 210°C, le détecteur à 280°C. Un gradient de température est mis en place dans le four pour augmenter de 80°C à 120°C en trois minutes. Le détecteur est un détecteur à ionisation de flammes alimenté en hydrogène (40 $mL.min^{-1}$) et en air (40 $mL.min^{-1}$). Le gaz vecteur est l'azote.

La colonne permet de séparer les acides acétique (C2, temps de rétention : 3,8 min), propionique (C3, 4,8 min), iso-butyrique (IC4, 5,2 min), butyrique (C4, 6,3 min), iso-valérique (IC5, 7,3 min) et valérique (C5, 9,2 min). Une solution de contrôle est injectée à chaque série d'analyses pour vérifier l'étalonnage de l'appareil (solution contenant les 5 AGV et l'étalon interne). La gamme de mesure par défaut est de 100 à 1 000 $mg.L^{-1}$ (± 2 %) pour chaque AGV.

### 6. Carbone Organique Total (COT)

Le COT est mesuré par combustion catalytique à 900°C de l'échantillon solide (prise d'essai de 40 mg environ). Le dioxyde de carbone formé est détecté par infrarouge (doubles liaisons carbone/oxygène de la molécule de gaz). L'appareil de mesure (TOC-V – SSM-5000 A, Shimadzu) donne le résultat en pourcentage de la masse introduite par utilisation d'une courbe d'étalonnage sur glucose anhydre (calibration à 40 % de carbone organique).

### 7. Carbone organique et carbone minéral (CO et CI)

La mesure du carbone dans les échantillons liquides s'effectue avec un COTmètre TOC-V CHS/CSN, Shimadzu corporation. La mesure du carbone organique s'effectue par combustion catalytique à 680°C et celle du carbone inorganique par déplacement de l'équilibre acido-basique. Le dioxyde de carbone produit est détecté par infrarouge. Les concentrations sont données en $mgC.L^{-1}$. La prise d'essai est de 7 mL pour quatre mesures (carbone organique ou carbone inorganique).

### 8. Lipides

Les lipides sont extraits grâce à l'ASE 200 (Accelerated Solvant Extraction Dionex) avec de l'heptane à hautes température et pression. 1 g d'échantillon lyophilisé et broyé est introduit dans une cellule. Cette dernière est remplie de solvant puis chauffée à 105°C et portée à 100 bars. Les conditions sont maintenues pendant dix minutes puis le solvant est purgé et récupéré dans un vial. La cellule subit ainsi cinq cycles. Le vial contenant le solvant est récupéré puis placé dans un évaporateur (Multivapor Büchi) : le vial est chauffé à 80°C, agité et mis sous vide à 300 – 350 mbars. L'heptane évaporé est condensé à 5°C. Les traces de solvant restant sont éliminées par passage des tubes à l'étuve à 105°C pendant deux heures. La différence de masse par rapport à la tare permet de déterminer le taux de lipides de l'échantillon (Équation 7).

**Équation 7 : calcul du taux de lipides d'un échantillon solide**

$$Lipides\ (glipides.gMS^{-1}) = \frac{m_{tube\ après\ extraction}(g) - tare(g)}{m_{échantillon}(gMS)}$$

### 9. Sucres totaux

Les sucres totaux sont estimés par la méthode spectrophotométrique de Dubois (DuBois et al., 1956). 1 mL d'échantillon est mis en présence de 1 mL de solution de phénol à 5 %. 5 mL d'acide sulfurique 95 – 97 % sont ajoutés lentement. Les deux phases doivent être visibles. Le tube repose 10 minutes avant d'être vortexé. Le mélange est laissé à refroidir pendant 30 minutes. L'absorbance du mélange est mesuré à 490 nm. Les résultats sont comparés à une gamme étalon de glucose (0, 20, 40, 60, 80, 100 mgglucose.$L^{-1}$) et exprimés en mgeqglucose.$L^{-1}$.

### 10. Hydrolyse Acide & Lignine Klason

L'hydrolyse Acide & Lignine Klason est un protocole normalement utilisé pour déterminer les teneurs en hémicellulose, cellulose et lignine d'une matrice lignocellulosique ("Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass : Laboratory Analytical Procedure (LAP)," n.d.). Ici, il est utilisé pour déterminer la composition en quelques sucres simples de la boue et de matrices type compost. La fraction lignine ne correspond pas forcément à ce type de composés, elle est donc nommée « lignine like » (composés type lignine).

200 mg d'échantillon sont mis dans un tube à essai avec un barreau aimanté. Sont ajoutés 1,25 mL d'acide sulfurique concentré (72 %). Le tube est fermé puis mis sur agitateur magnétique à température ambiante pendant 2 heures. Cette première étape a pour but de gonfler les fibres pour permettre la deuxième étape d'hydrolyse.

10 mL d'eau milliQ sont ajoutés au mélange. Le tube bouché est mis à agiter et chauffer dans un bain d'huile à 100°C pendant 3 heures.

Le mélange refroidi est filtré à 1,6 µm sur filtre en fibre de verre (Whatman GF-A). Le filtre est ensuite séché à 105°C pendant 24 h puis mis à pyrolyser pendant 2 h à 550°C. Par différence de pesées, la teneur en lignine est obtenue (Équation 8).

**Équation 8 : calcul du taux de lignine**

$$Lignine - like(g.gMS^{-1}) = \frac{filtre_{105°C}(g) - filtre_{550°C}(g)}{masse_{échantillon}(gMS)}$$

Le filtrat est filtré de nouveau sur un filtre en nylon à 0,20 µm. Le nouveau filtrat est analysé par HPLC (colonne Aminex HPX-87H, Biorad, éluant 0,005 M $H_2SO_4$ à 0,3 mL.min$^{-1}$, 50°C) couplée à un réfractomètre (Waters R410) pour déterminer les teneurs en sucres (acide glucuronique, acide galacturonique, arabinose, glucose, xylose).

### 11. Azote Total Kjeldahl (NTK)

La mesure du NTK (L'analyse de l'eau, Rodier, Dunod 1975, vol. 1, p : 123-126) permet de déterminer le pourcentage d'azote total (organique et ammoniacal) contenu dans un échantillon solide (prise d'essai de 30 mg). L'azote organique est minéralisé à chaud en milieu acide (acide sulfurique + catalyseur) en sulfate d'ammonium (BUCHI digestion unit K 438). Après alcalinisation par ajout de soude, l'ammonium est distillé puis recueilli dans une solution d'acide borique (passeur d'échantillon K-371, unité de distillation K-370). Il est ensuite dosé par une solution d'acide chlorhydrique 0,02 N (distillateur/titrateur BUCHI 370-K).

### 12. Protéines, méthode de Lowry

Les protéines contenues dans la phase aqueuse des boues sont dosées par la méthode spectrophotométrique de Lowry (Lowry et al., 1951). L'échantillon réagit avec un mélange de solution basique (4 gNaOH.L$^{-1}$) de $Na_2CO_3$ (20 g.L$^{-1}$), de solution de $CuSO_4,5H_2O$ (10 g.L$^{-1}$) et de solution de tartrate double de potassium et sodium (20 g.L$^{-1}$) en proportions volumiques 100/1/1.

Une courbe d'étalonnage est réalisée avec des solutions de sérum d'albumine bovine (SAB) à 20, 40, 60, 80 et 100 mg.L$^{-1}$.

Un millilitre d'échantillon ou de standard est mis en présence de 3 mL de la solution de réactifs ainsi que 0,3 mL de réactif de Folin dans un tube à essai. Les tubes sont ensuite placés à l'obscurité pendant deux heures. En milieu alcalin, les ions cuivre II réagissent avec les atomes d'azote des liaisons peptidiques et sont réduits en ions cuivre I. Ces derniers réduisent ensuite le complexe acide phosphotungstique – acide phosphomolybdique contenu dans le réactif de Folin conférant une coloration bleue au mélange réactionnel. L'absorbance à 750 nm est mesurée pour obtenir la concentration des échantillons en mgeqSAB.L$^{-1}$.

## 13. Fluorescence 3D

Le spectrofluorimètre utilisé est un spectrofluorimètre Perkin Elmer LS55. Une lampe au xénon émet un rayonnement pulsé entre 200 et 600 nm. Une partie du rayonnement d'excitation est récupéré comme référence pour corriger la réponse enregistrée par le détecteur en cas de variation énergétique de la source. La présence de monochromateurs en excitation et émission permet l'acquisition de spectres d'excitation, d'émission et 3D. 3 mL d'échantillon sont ajoutés dans une cuve en quartz placée ensuite dans l'appareil pour acquisition du spectre. Les spectres sont acquis via le logiciel Perkin Elmer FL WinLab 4.00.02.

Un premier spectre 3D « grossier » permet de déterminer les zones de fluorescence. Une longueur d'onde d'excitation correspondant à un des massifs est choisie puis des spectres 2D sont réalisés sur des dilutions de l'échantillon. Cette étape permet de déterminer la dilution à utiliser pour réaliser le spectre 3D. En effet, il faut utiliser une dilution qui soit dans la zone linéaire de fluorescence (diminution du signal par quenching à partir d'une concentration trop élevée, Figure 18).

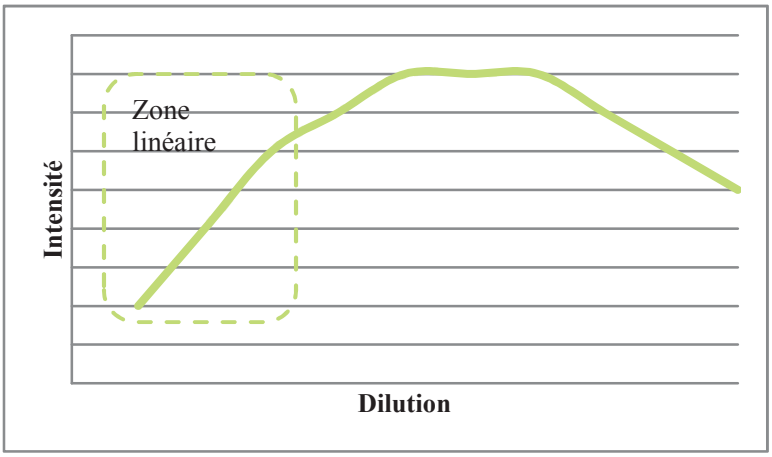



**Figure 18 : évolution de l'intensité du signal en fonction des dilutions**

Un traitement d'image du spectre permet de déterminer les volumes de fluorescence ainsi que leur barycentre. Cette analyse d'image permet de quantifier les molécules visibles en fluorimétrie 3D (Figure 19).

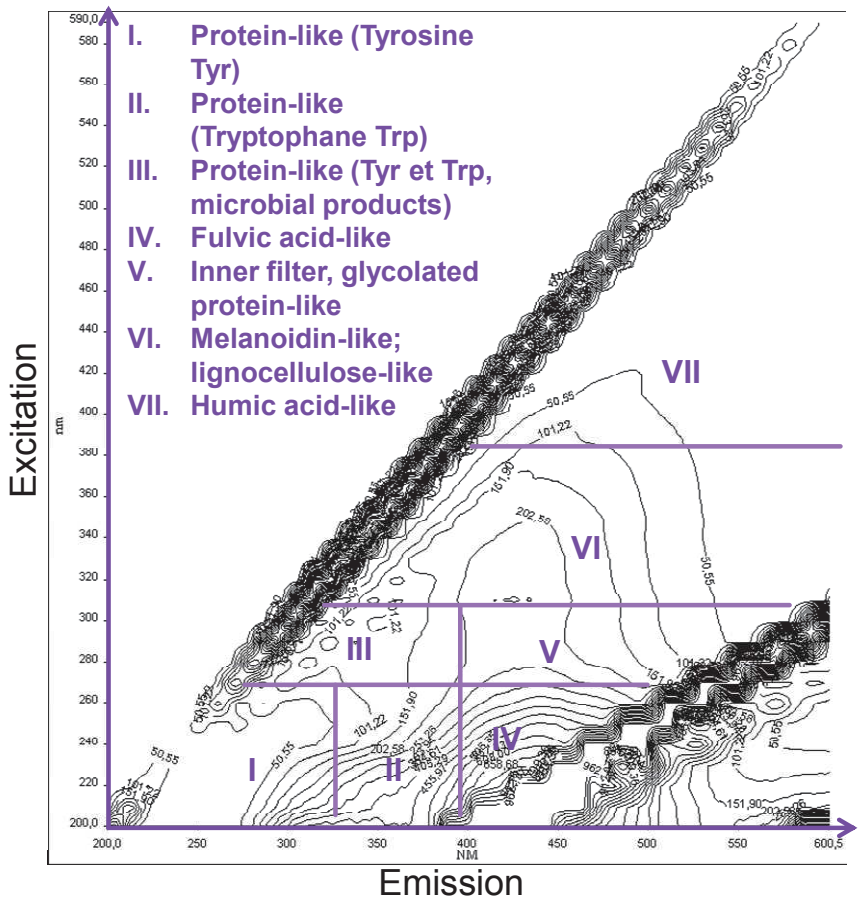



**Figure 19 : zonage du spectre 3D** (Chen et al., 2003; He et al., 2011; Jimenez et al., 2014; Muller et al., 2014)

A partir du traitement d'image, le pourcentage de fluorescence de chaque zone ($Z_i$, i ∈ {I, II, III, IV, V, VI, VII}) est obtenu. Ces pourcentages permettent de calculer l'indice de complexité Ph/Pp (zones complexes/zones simples) de l'échantillon étudié (Équation 9) :

**Équation 9 : calcul de l'indice de complexité (Ph/Pp)**

$$Ph/_{Pp} = \frac{\sum_{i=IV}^{Vii} \%Z_i}{\sum_{j=I}^{III} \%Z_j}$$

## E. Extraction et dosage des HAP et NP

L'analyse des micropolluants se fait sur l'échantillon total (250 ml) et sur le compartiment particulaire issu de la centrifugation effectuée pour le fractionnement de la matière organique (250 ml) ainsi que les culots obtenus après chaque étape de fractionnement. Un échantillon est extrait deux fois (n = 2). Tous ces échantillons sont tout d'abord congelés à -20°C. Grâce au module HetoPowerDry PL 3000 (ThermoElectron Corporation), ces échantillons sont lyophilisés. Les parois du piège à glace sont maintenues à -55°C, le vide est poussé à 1 mbar. La lyophilisation dure environ 24 h. De manière à garantir des échantillons homogènes et obtenir une poudre fine, les échantillons lyophilisés sont broyés. Pour cela, un microbroyeur (Culatti) équipé d'un tamis de 1 mm est utilisé. La vitesse de

rotation de la tête de broyage est fixée entre 4 000 et 4 500 rpm. L'échantillon broyé est récupéré dans un flacon ambré pyrolysé et conservé à température ambiante.

L'extraction des HAP/NP contenus dans des échantillons (de boue totale ou du particulaire de la boue), après lyophilisation et broyage, se fait de manière conjointe. Elle est réalisée par extraction accélérée par solvant avec l'« Accelerated Solvent Extractor » (ASE 200, Dionex). Cet appareil accélère l'extraction des composés organiques en utilisant des solvants à des températures élevées. Une pression est appliquée à la cellule (contenant l'échantillon) pour maintenir le solvant chauffé à l'état liquide pendant l'extraction. Après chauffage, l'extrait est rincé de la cellule d'échantillon vers un flacon de récupération.

Dans des cellules comportant un filtre en fibre de verre (Whatman), surmonté de 1 g d'alumine (rétention des composés polaires, Sigma Aldrich) et de 1 g d'hydromatrix (dispersant et asséchant, Varian), 0,15 à 0,5 g d'échantillon sont introduits puis mélangés à l'hydromatrix présent. Enfin, le volume restant est comblé d'hydromatrix.

Le solvant utilisé pour l'extraction est un mélange d'hexane et d'acétone à 50/50 volumique. Une extraction consiste à chauffer la cellule remplie de ce mélange jusqu'à atteindre la température de 120°C (au bout de 6 min), à maintenir cette température et une pression de 100 bars pendant 5 min, puis à purger 60 % du volume de solvant pour le remplacer par du solvant neuf. L'opération est réitérée une seconde fois. Une cellule est extraite deux fois générant deux flacons de récupération. L'évaporation du solvant est réalisée à l'aide du Multivapor Buchi P12 couplé à un vacuum controller V-855. Dans ce Multivapor, les échantillons sont agités, chauffés à 45°C, mis sous vide (350 mbar), et les solvants sont condensés à 4°C. Le séchage complet des extraits est obtenu sous flux d'azote. 1 mL d'acétonitrile sont introduits dans chaque flacon de récupération. Après agitation et repos, les 2 mL d'acétonitrile utilisés pour le rinçage sont rassemblés dans un flacon de reprise préalablement taré. Le volume exact de reprise est déterminé par pesée. Les extraits sont conservés à -20°C.

Les HAP sont quantifiés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Cette chaîne analytique est composée d'un passeur d'échantillons (Waters 717 plus Autosampler), d'un système de pompes péristaltiques (Waters 600 Controller) et d'un détecteur fluorimétrique (Waters 2475).

La colonne greffée en C18 (EC 4/3 Nucleodur C18 PAH, 3µm, Macherey Nagel) est maintenue à température constante de 30°C, à l'aide d'un four à effet Pelletier (CIL Cluzeau). Après l'injection de 20 µL d'échantillon, le système de pompes permet de générer une première phase isocratique à 0,6 $mL.min^{-1}$ de mélange acétonitrile/eau (60/40 v/v) pendant 2 min, puis un gradient jusqu'à atteindre une élution d'acétonitrile à 100 % au bout de 15 min, cette phase 100 % acétonitrile est maintenue 5 min, et la phase de rinçage sous acétonitrile/eau (60/40 v/v) à 0,6 $mL.min^{-1}$ est effectuée durant 15 min. Le système de détection optimisé au laboratoire est programmé de façon à quantifier chaque HAP à son couple longueur d'excitation ($\lambda_{ex}$) / longueur d'onde d'émission ($\lambda_{em}$) optimal (Tableau XIX).

**Tableau XIX : temps de rétention ($t_R$ en min) des HAP par HPLC et couples de longueurs d'onde d'excitation / émission (nm) utilisés pour leur détection par fluorimétrie**

| HAP | Flu | Phe | Ant | Flt | Pyr | BaA | Chr | BbF | BkF | BaP | DBahA | BghiP | Ind |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $t_R$ | 5,87 | 6,84 | 8,22 | 9,84 | 11,24 | 16,49 | 17,45 | 21,15 | 22,88 | 24,22 | 27,04 | 27,71 | 28,87 |
| $\lambda_{ex}$ | 266 | 250 | 250 | 280 | 260 | 280 | 268 | 234 | 270 | 270 | 300 | 300 | 300 |
| $\lambda_{em}$ | 312 | 370 | 400 | 430 | 410 | 430 | 384 | 420 | 400 | 400 | 407 | 407 | 500 |

L'étalonnage est réalisé par six niveaux de standard (1 à 750 µg/L) obtenus à partir de la dilution d'une solution mère PAH Mix 9 (CIL Cluzeau) à 10 mg/L. Après chaque série d'environ 10 échantillons, un standard est injecté de façon à vérifier la stabilité du signal au fil des injections et à corriger les données. Chaque extrait est analysé au minimum 2 fois, ce qui donne 4 valeurs au minimum par échantillon.

Le NP est analysé selon la méthode mise au point par Ahel et al. (2000). Le dispositif de dosage du NP par HPLC est composé d'un passeur d'échantillon ASI 100 (Dionex), d'un système de pompe P580 (Dionex) et d'un détecteur fluorimétrique RF2000 (Dionex).

La colonne LiChroCART® Purospher® STAR NH2 est maintenue à 30°C à l'aide d'un four (CIL Cluzeau). L'éluant utilisé est un mélange hexane/isopropanol (98,5/1,5 v/v), ce qui nécessite un transfert des extraits (obtenus dans de l'acétonitrile) dans de l'hexane, par une étape d'évaporation de 1 mL d'extrait et reprise dans 1 mL d'hexane. L'élution s'effectue en mode isocratique à 2 $mL.min^{-1}$, et le nonylphénol ($t_R$ : 13 min) est détecté au couple $\lambda_{ex}$/ $\lambda_{em}$ de 228/305 nm.

A partir d'une solution standard commerciale à 10 mg/L (CIL Cluzeau), quatre niveaux de concentrations sont préparés (0,5, 1, 2 et 4 mg/L). Le volume injecté est de 20 µL. Une série d'injection de ces quatre niveaux est intercalée entre chaque série de 10 échantillons.

## F. Extraction et dosage des composés pharmaceutiques

1 gMS de l'échantillon est introduit dans un tube Falcon de 50 mL. L'échantillon est humidifié dans le tube 24 h à l'avance par ajout de 2 mL d'eau et les molécules deutérées sont ajoutées (correction des rendements et des effets matrices). Sont ensuite introduits 1,3 mL de tampon Mc Ilvaine pH 9 (tampon acide citrique, phosphate). L'échantillon est vortexé puis sont ajoutés 7,7 mL d'acétonitrile. L'échantillon est vortexé pendant 10 s puis passé au bain à ultrasons pendant 10 min. L'échantillon est de nouveau vortexé pendant 10 s puis remis au bain à ultrasons 10 min supplémentaires. Le tube est centrifugé pendant 10 min à 10 000 g et 20°C. Le surnageant est récupéré puis la deuxième étape d'extraction est effectuée. 3,3 mL de tampon Mc Ilvaine pH 2 dans lequel est ajouté du $Na_2$-EDTA (60,61 $g.L^{-1}$, pH ajusté à 2 avec de l'acide chlorhydrique concentré) sont introduits dans le tube contenant l'échantillon ayant subi la première étape d'extraction. Le tube est vortexé puis sont

introduits 7,7 mL d'acétonitrile. L'échantillon est vortexé pendant 10 s puis passé au bain à ultrasons pendant 10 min. L'échantillon est de nouveau vortexé pendant 10 s puis remis au bain à ultrasons 10 min supplémentaires. Le tube est centrifugé pendant 10 min à 10 000 g et 20°C. Le surnageant est récupéré et mélangé avec le premier extrait. Sont ajoutés aux deux extraits mélangés 4,4 g $Na_2SO_4$, 1 100 mg de $CH_3COONa$ et 1 573 mg $Na_2$-EDTA. Le tube est vortexé pendant 10 s puis centrifugé dans les mêmes conditions. Après centrifugation, la phase aqueuse et la phase acétonitrile sont séparées. A l'aide d'une pipette, la phase supérieure (acétonitrile) est récupérée puis analysée par LC-MS (UPLC MS Acquity Waters USA) (Bourdat-Deschamps et al., 2014).

## G. Calcul de la répartition des HAP et NP dans les fractions matière et détermination du coefficient de partage

### 1. Boues et boues digérées

Les concentrations obtenues sont en µg.kgMS$^{-1}$ pour les HAP et mg.kgMS$^{-1}$ pour les NP.

Dans le cas des boues et boues digérées, la concentration pour chaque HAP de chaque échantillon est multipliée par la teneur en matière sèche de la boue ou de la boue digérée puis par le pourcentage de matière sèche restant à chaque étape du fractionnement pour ramener la teneur au volume de la boue (Équation 10) :

**Équation 10 : calculs de la concentration en micropolluants (ex : Flu) de chaque culot de fractionnement en µg.L$^{-1}$**

$$[Flu]_{total}(\mu g.L^{-1}) = [Flu]_{total}(\mu g.kgMS^{-1}).[MS](kgMS.L^{-1}).$$
$$[Flu]_{particulaire}(\mu g.L^{-1}) = [Flu]_{particulaire}(\mu g.kgMS^{-1}).[MS](kgMS.L^{-1}).\ \%MS_{particulaire}$$
$$[Flu]_{culotSPOM}(\mu g.L^{-1}) = [Flu]_{culotSPOM}(\mu g.kgMS^{-1}).[MS](kgMS.L^{-1}).\ \%MS_{culotSPOM}$$
$$[Flu]_{culotREOM}(\mu g.L^{-1}) = [Flu]_{culotREOM}(\mu g.kgMS^{-1}).[MS](kgMS.L^{-1}).\ \%MS_{culotREOM}$$
$$[Flu]_{culotSEOM}(\mu g.L^{-1}) = [Flu]_{culotSEOM}(\mu g.kgMS^{-1}).[MS](kgMS.L^{-1}).\ \%MS_{culotSEOM}$$
$$[Flu]_{culotPEOM}(\mu g.L^{-1}) = [Flu]_{culotPEOM}(\mu g.kgMS^{-1}).[MS](kgMS.L^{-1}).\ \%MS_{culotPEOM}$$

La concentration dans chaque fraction extraite est obtenue par différence entre les concentrations en µg.L$^{-1}$ (exemple du fluorène) (Équation 11) :

**Équation 11 : calculs de la concentration de chaque fraction matière en micropolluants (ex :Flu)**

$$[Flu]_{DOM} = [Flu]_{total} - [Flu]_{particulaire}$$
$$[Flu]_{SPOM} = [Flu]_{particulaire} - [Flu]_{culotSPOM}$$
$$[Flu]_{REOM} = [Flu]_{culotSPOM} - [Flu]_{culotREOM}$$
$$[Flu]_{SEOM} = [Flu]_{culotREOM} - [Flu]_{culotSEOM}$$
$$[Flu]_{PEOM} = [Flu]_{culotSEOM} - [Flu]_{culotPEOM}$$
$$[Flu]_{NEOM} = [Flu]_{culotPEOM}$$

L'erreur de la fraction NEOM est l'écart-type issu du dosage sur le culot PEOM. Pour les autres fractions, les écart-types des valeurs sur culot sont considérées comme des erreurs et additionnés pour

calculer l'erreur sur chaque fraction. A partir de la concentration totale et des concentrations dans chaque fraction, la répartition de chaque molécule est calculée. Pour les autres HAP le calcul est le même. Ces calculs sont appliqués aux NP mais les concentrations sont en $mg.L^{-1}$.

Pour chaque fraction est calculé un coefficient de partage normalisé par la quantité de matière organique (DCO) (Équation 12) :

**Équation 12 : calculs des Kd de chaque compartiment matière (ex : Flu)**

$$K_{d_{part}}(L.kgO_2{}^{-1}) = \frac{[Flu]_{particulaire}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{DOM}(\mu g.L^{-1}).DCO_{particulaire}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

$$K_{d_{culotSPOM}}(L.kgO_2{}^{-1}) = \frac{[Flu]_{culotSPOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{SPOM}(\mu g.L^{-1}).DCO_{culotSPOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

$$K_{d_{culotREOM}}(L.kgO_2{}^{-1}) = \frac{[Flu]_{culotREOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{REOM}(\mu g.L^{-1}).DCO_{culotREOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

$$K_{d_{culotSEOM}}(L.kgO_2{}^{-1}) = \frac{[Flu]_{culotSEOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{SPOM}(\mu g.L^{-1}).DCO_{culotSEOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

$$K_{d_{culotPEOM}}(L.kgO_2{}^{-1}) = \frac{[Flu]_{culotPEOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{PEOM}(\mu g.L^{-1}).DCO_{culotPEOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

## 2. Compost

Dans le cas des composts, le calcul est légèrement différent puisque la matrice est solide, les valeurs sont donc ramenées à la matière sèche totale de l'échantillon solide (Équation 13) :

**Équation 13 : calculs de la concentration des culots résiduels en $\mu g.kgMS^{-1}_{total}$ (ex : Flu)**

$$[Flu]_{culotSPOM}(\mu g.kgMS^{-1}_{total}) = [Flu]_{culotSPOM}(\mu g.kgMS^{-1}).\%MS_{culotSPOM}$$

$$[Flu]_{culotREOM}(\mu g.kgMS^{-1}_{total}) = [Flu]_{culotREOM}(\mu g.kgMS^{-1}).\%MS_{culotREOM}$$

$$[Flu]_{culotSEOM}(\mu g.kgMS^{-1}_{total}) = [Flu]_{culotSEOM}(\mu g.kgMS^{-1}).\%MS_{culotSEOM}$$

$$[Flu]_{culotPEOM}(\mu g.kgMS^{-1}_{total}) = [Flu]_{culotPEOM}(\mu g.kgMS^{-1}).\%MS_{culotPEOM}$$

La concentration dans chaque fraction est exprimée en µg ou $mg.kgMS_{total}^{-1}$ de l'échantillon total (Équation 14) :

**Équation 14 : calculs de la concentration en micropolluants dans les compartiments matière des échantillons de compost (ex : Flu)**

$$[Flu]_{SPOM} = [Flu]_{total} - [Flu]_{culotSPOM}$$

$$[Flu]_{REOM} = [Flu]_{culotSPOM} - [Flu]_{culotREOM}$$

$$[Flu]_{SEOM} = [Flu]_{culotREOM} - [Flu]_{culotSEOM}$$

$$[Flu]_{PEOM} = [Flu]_{culotSEOM} - [Flu]_{culotPEOM}$$

$$[Flu]_{NEOM} = [Flu]_{culotPEOM}$$

Pour chaque fraction est calculé un coefficient de partage normalisé par la quantité de matière organique (DCO) (Équation 15) :

**Équation 15 : calculs des coefficients de partage dans le compost (ex : Flu)**

$$K_{d_{culotSPOM}}(kgMS_{total}^{-1}.kgO_2) = \frac{[Flu]_{culotSPOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{SPOM}(\mu g.kgMS_{total}^{-1}).DCO_{culotSPOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

$$K_{d_{REOM}}(kgMS_{total}^{-1}.kgO_2) = \frac{[Flu]_{culotREOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{REOM}(\mu g.kgMS_{total}^{-1}).DCO_{culotREOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

$$K_{d_{SEOM}}(kgMS_{total}^{-1}.kgO_2) = \frac{[Flu]_{culotSEOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{SPOM}(\mu g.kgMS_{total}^{-1}).DCO_{culotSEOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

$$K_{d_{PEOM}}(kgMS_{total}^{-1}.kgO_2) = \frac{[Flu]_{culotPEOM}(\mu g.kgMS^{-1})}{[Flu]_{PEOM}(\mu g.kgMS_{total}^{-1}).DCO_{culotPEOM}(kgO_2.kgMS^{-1})}$$

## H. Traitement des échantillons

La Figure 20 représente les analyses effectuées sur chaque échantillon.

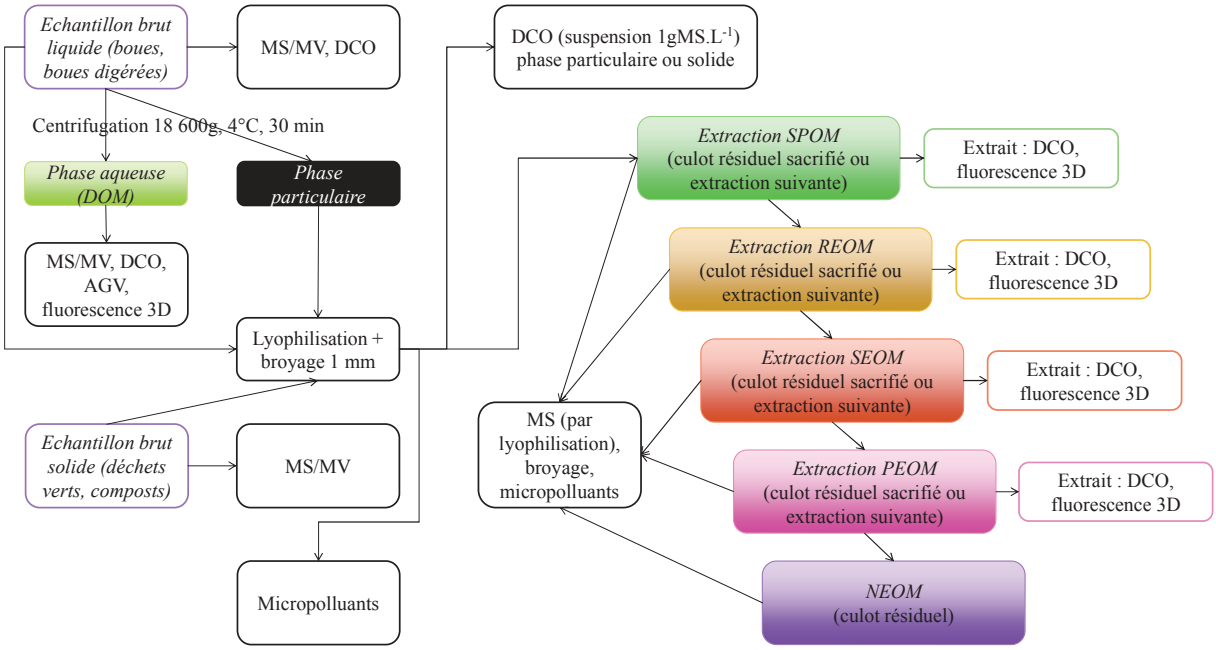



**Figure 20 : traitement des échantillons (laboratoire ou filière)**

## I. Suivi de la radioactivité lors de la digestion anaérobie et du compostage des boues

6 réacteurs de 2 L sont mis en place comme expliqué au paragraphe III.A.3. L'inoculum (digestat de boues) est dopé à l'aide d'une solution contenant la molécule d'intérêt marquée (fluoranthène, sulfaméthoxazole ou nonylphénol (Figure 21)). La solution de dopage en fluoranthène est une solution d'acétonitrile à une concentration de 76 mg.L$^{-1}$ (concentration totale molécule marquée et molécule non marquée), l'activité de la solution est de 10 692 399 DPM.mL$^{-1}$ (concentration molécule marquée = 11 mg.L$^{-1}$). La solution de dopage de sulfaméthoxazole (SMX) est une solution d'acétonitrile de concentration 21 mg.L$^{-1}$ (pas d'ajout de molécule non marquée) d'activité 16 493 807 DPM.mL$^{-1}$. La solution de dopage de NP est une solution d'acétonitrile de concentration 1 767 mg.L$^{-1}$. L'activité de la solution est de 8 120 885 DPM.mL$^{-1}$ (concentration molécule marquée = 11 mg.L$^{-1}$). L'ajout de

molécule non marquée permet de doper à la même concentration que les expérimentations sans $^{14}C$. Dans le cas du SMX, aucun ajout de molécule non marquée n'est effectué car la concentration de la molécule pour obtenir suffisamment de radioactivité (détection) implique un dopage à une concentration supérieure à celle des expérimentations sans molécule radiomarquée. En effet, les concentrations en molécules marquées sont déterminées par rapport aux abattements théoriques de chaque molécule lors de chaque procédé et en tenant compte de l'abattement théorique lors de la centrifugation des boues digérées pour le compostage.

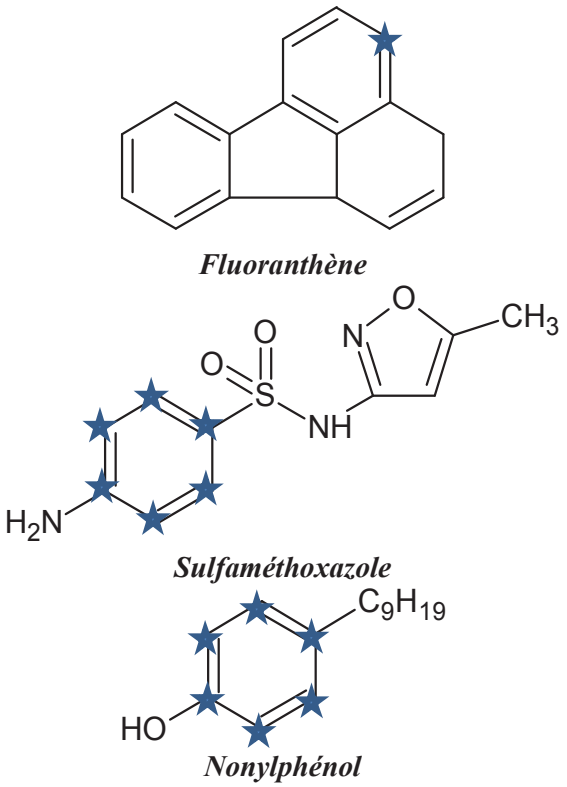



**Figure 21 : molécules utilisées lors des expériences avec $^{14}C$ (les carbones marqués sont indiqués par une étoile)**

Pour chaque molécule, 18 aliquots de 800 mL de boues sont préparés dans des fioles schott en verre de 1 L. Chaque aliquot est dopé avec 0,8 mL (ratio 1 mL de solution de dopage dans 1 L de boues) de solution contenant la molécule radiomarquée (soit FLT, soit SMX, soit NP). Les boues ont alors une activité de 10 350, 7 800, 15 800 DPM.mL$^{-1}$ pour FLT, NP et SMX respectivement soit une concentration de 76, 21 et 1 767 µg.L$^{-1}$ de boues respectivement (ces concentrations sont proches des concentrations de dopage sans marquage (cf. paragraphe III.A.3.b)) pour le FLT et le NP (80 et 1 600 µg.L$^{-1}$ respectivement) et double pour la SMX (10 µg.L$^{-1}$). Les boues sont ensuite congelées puis décongelées à 4°C avant chaque alimentation. Après décongélation, l'activité de la fraction DOM et de la boue totale est mesurée. L'inoculum présent initialement dans le digesteur est aussi dopé avec les molécules aux mêmes teneurs que les boues secondaires épaissies.

Deux répétitions (digestions) sont effectuées pour chaque molécule. Les réacteurs sont alimentés par des boues dopées avec la molécule marquée congelées et décongelées avant usage. L'évolution des MS/MES est suivie au cours de la digestion par séchage à 30°C pendant 48 h (la lyophilisation et le

séchage à 105°C sont évités pour empêcher la volatilisation des composés radiomarqués). La sortie du biogaz est reliée à un compteur Ritter pour mesurer le débit de biogaz produit. Un piège à méthane ainsi qu'un piège à dioxyde de carbone sont mis en place après le compteur pour piéger les gaz puis une poche permet de récupérer les gaz non captés par les pièges. Les pièges sont changés une à deux fois par semaine. Le piège à méthane est préparé selon Fan et al., 2007 : 60 g de naphthalène, 4g de 2,5-diphenyloxazole, 0,2 g de 1,4-bis(5-phenyloxazo-2-ly)benzene, 100 mL de méthanol, 20 mL d'éthylène glycol et 880 mL de *p*-dioxane. La solution est préparée le jour même du changement des pièges à méthane. Le piège à dioxyde de carbone consiste en une solution de soude 3 M. Chaque piège contient 400 mL de solution.

Après trois temps de séjour, les boues digérées restante dans le réacteur ainsi que les boues digérées du troisième temps de séjour sont mélangées puis centrifugées à 18 600 g, 4°C pendant 30 min. La phase particulaire obtenue est alors mélangée avec de l'herbe et du thuya. Ce mélange est ensuite mis dans un composteur (III.A.4). Le débit d'air sortant du composteur est relié à un piège à composés organiques volatiles (200 mL méthanol) et deux pièges à $CO_2$ (soude 3 M). Les pièges sont régulièrement changés pour éviter la saturation. Lors de la phase de maturation un flacon contenant 100 mL de soude 3 M est placé dans l'enceinte de maturation et régulièrement changé. La maturation s'effectue dans une chambre thermostatée à 28°C dans l'obscurité. La température est enregistrée sur ordinateur au cours de la montée en température, la phase thermophile et la descente de température. Un prélèvement est effectué sur le mélange initial, la fin de phase thermophile, la fin de descente de température et la fin de maturation. Les MS sont mesurées sur chaque prélèvement. Le reste du prélèvement est congelé, séché à 30°C pendant 48 h puis broyé avant analyses.

Le traitement de la boue effectuée avec les molécules marquées au carbone 14 est représenté par la Figure 22. Les étoiles indiquent où est mesurée la radioactivité.

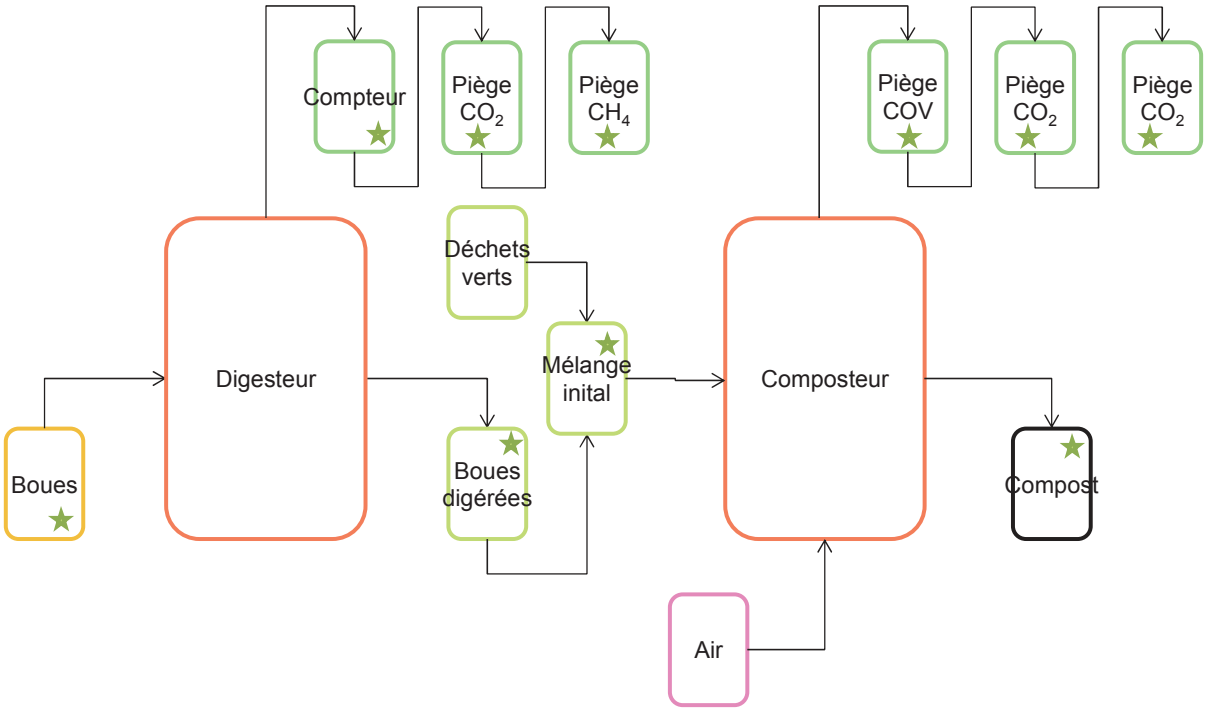



**Figure 22 : traitement des boues secondaires épaissies en laboratoire avec utilisation de molécules radiomarquées**

La radioactivité est mesurée dans la boue secondaire épaissie à chaque nouvelle alimentation et dans les boues digérées à la fin de chaque temps de séjour (environ 20 jours).

La radioactivité total de la boue ou de la boue digérée est mesurée après dilution au 10$^{ème}$ de l'échantillon dans du Solvable$^{TM}$ (Perkin Elmer). Le mélange est mis à agiter à 30°C pendant 24 h. 1 mL est prélevé après repos du mélange pour éliminer la mousse produite et introduit dans un vial de 20 mL avec ajout de 10 mL de liquide scintillant (Ultima Gold). La radioactivité est ensuite mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation (Tri-carb Perkin Elmer USA).

La boue ou la boue digérée est centrifugée à 18 600 g et 4°C pendant 30 min : 1 mL de surnageant est prélevé et mis dans un vial de 20 mL avec 10 mL de liquide scintillant. La radioactivité est ensuite mesurée à l'aide du compteur à scintillation.

La différence entre la radioactivité totale de la boue et la radioactivité de la phase aqueuse (DOM) donne la radioactivité de la phase particulaire.

Lorsque les pièges à gaz sont changés, 1 mL est prélevé puis complété avec 10 mL de liquide scintillant avant mesure de la radioactivité par le compteur à scintillation.

Les échantillons prélevés lors du compostage sont séchés à 30°C pendant 24 à 48 h puis broyés. La radioactivité est mesurée sur l'échantillon après combustion de 200 à 300 mg de ce dernier à l'aide d'un oxydizer (Zinsser Germany), le dioxyde carbone produit est capté dans un liquide scintillant basique (Ultima Gold Perkin Elmer USA). L'échantillon est directement passé au compteur. Un facteur de correction issu du rendement de brûlage d'un compost dopé avec une solution d'activité connue permet de corriger les valeurs de radioactivité obtenue.

Lorsque les pièges à dioxyde de carbone et composés organiques volatiles sont changés, 1 mL est prélevé puis complété avec 10 mL de liquide scintillant avant mesure de la radioactivité par le compteur à scintillation.

Lors du compostage, le volume de lixiviat produit est mesuré. La radioactivité du lixiviat est mesurée par prélèvement de 1 mL et ajout de 10 mL de liquide scintillant à l'aide du compteur.

A chaque temps de séjour du digesteur et à chaque étape du compostage (mélange initial, fin de phase thermophile, fin de descente de température et fin de maturation), le fractionnement de la matière est appliqué sur la phase particulaire de la boue et de la boue digérée et sur les échantillons de compost.

La radioactivité est mesurée sur l'extrait (1 mL + 10 mL liquide scintillant passés au compteur). Les polluants hydrophobes pouvant se sorber sur les parois du tube, après chaque étape d'extraction et après avoir récupéré le culot, les tubes sont remplis d'acétone puis passés au bain à ultrason pendant 30 min. La radioactivité est alors mesurée sur 1 mL d'acétone. Une partie du culot est diluée dans 10 mL de Solvable puis mis à agiter pendant 24 h. Sont ensuite ajoutés 10 mL d'eau puis la radioactivité du mélange est mesurée à l'aide du compteur à scintillation (1 mL + 10 mL liquide scintillant).

Chaque culot d'extraction, préalablement séché à 30°C pendant 24 h est ensuite extrait à l'ASE par la même méthode que présentée précédemment (III.E). Les deux extraits ASE sont mélangés puis pesés. 1 mL est prélevé pour mesurer la radioactivité. Le reste est évaporé grâce à un évaporateur rotatif puis sous flux d'azote. L'extrait est ensuite repris dans 2 mL de méthanol puis sa radioactivité est mesurée. L'échantillon est analysé par HPLC avec détecteur de radioactivité (HPLC Flexar Perkin Elmer USA, liquide scintillant Ultima Flow Perkin Elmer, colonne Brownlee SPP C18 2,7 µm 4,6*150 mm, précolonne Brownlee analytical C18 10*4.0 mm) pour détecter la molécule mère et les métabolites éventuellement produits. Le reste de la cellule est séchée pendant 24 h à 30°C puis homogénéiser à l'aide d'un pilon avant d'être brûlé à l'oxydizer pour déterminer la radioactivité non extraite (résidus non extractibles au solvant hexane/acétone).

Les différentes mesures permettent de faire un bilan complet de la radioactivité. En digestion anaérobie, il est possible de savoir si la radioactivité est minéralisée (présence de radioactivité dans le pièges à méthane et dioxyde de carbone), si elle est présente dans la phase aqueuse ou la phase particulaire de la boue ou du digestat et dans quels compartiments matière elle se situe. Lors du compostage, il est possible de connaître la part de radioactivité sous forme de lixiviat, dioxyde de carbone ou de composés organiques volatiles et de savoir dans quels compartiments matière du compost elle se situe. De plus, l'extraction ASE permet d'estimer la quantité de résidus non extractibles à chaque étape.

La Figure 23 reprend le traitement des échantillons et les étapes où est mesurée la radioactivité. Elle souligne aussi les étapes qui nécessitent de quantifier les pertes éventuelles de radioactivité dues aux manipulations.

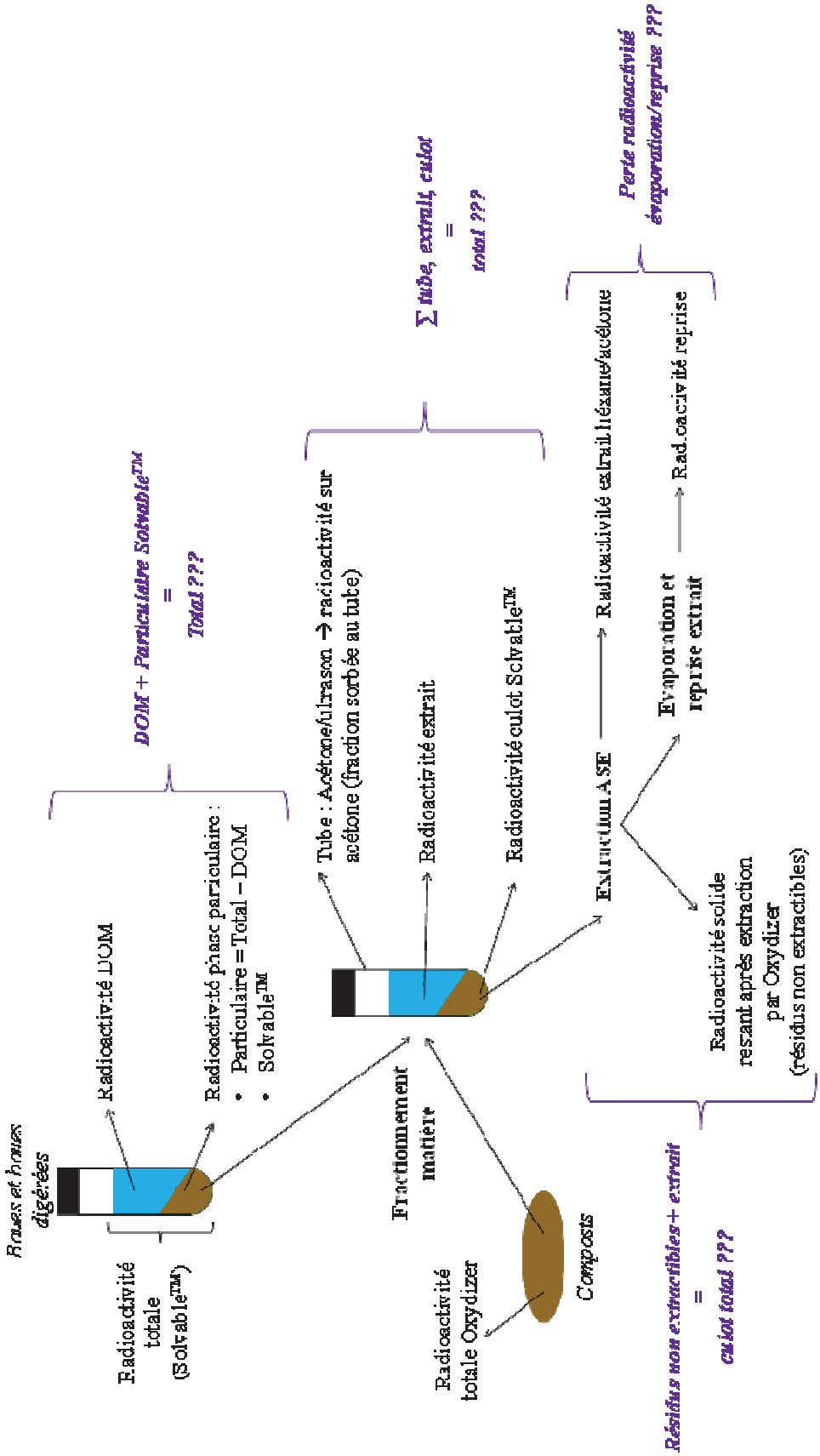



**Figure 23 : traitement des échantillons marqués et mesures de la radioactivité**

## J. Statistiques

Les tests ANOVA (analyse de la variance) sont effectués grâce à Excel 2007 sur les répétitions de deux échantillons pour déterminer si les deux échantillons sont statistiquement identiques ou différents (probabilité de 95 %).

Les analyses par composante principale (ACP) ou partial least square regression (PLSR) sont réalisées avec le logiciel SIMCA-P. Les données sont présentées sous formes d'un tableau csv puis utilisées par le logiciel. Ce dernier calcule automatiquement le nombre de composantes adéquates (il est possible de changer le nombre de composantes selon les résultats obtenus). Les cercles de corrélation sont tracés par le logiciel. Le logiciel effectue une validation croisée pour la PLS. Lors d'une PLS les échantillons sont traités légèrement différemment que lors de l'ACP. En effet, les données de la variable à prédire sont classées par ordre croissant puis en lisant les valeurs de quatre en quatre, de la plus petite à la plus grande, trois valeurs sont gardées pour construire la PLS et une pour valider le modèle. Cela permet d'obtenir des valeurs aléatoirement sur toute la gamme des valeurs pour construire le modèle PLS et le valider.

# IV. Localisation des HAP et NP au sein des compartiments matière de boues lors de la digestion anaérobie, lien entre localisation et accessibilité des micropolluants organiques

# IV. Localisation des HAP et NP au sein des compartiments matière de boues lors de la digestion anaérobie, lien entre localisation et accessibilité des micropolluants organiques

## A. Introduction

La littérature montre que la bioaccessibilité/biodisponibilité des micropolluants organiques et donc leur biodégradation sont limitées par les phénomènes de sorption des molécules sur la matière organique (Barret, 2009; Haritash and Kaushik, 2009; Smith et al., 2009; Wu et al., 2014). L'affinité des micropolluants pour la matière organique dépend de sa quantité et de sa composition : en effet, pour les polluants hydrophobes tels que les HAP et les NP, l'affinité est forte pour les composés humiques présentant une aromaticité forte, des chaînes aliphatiques et une polarité faible (De Paolis and Kukkonen, 1997; Kukkonen et al., 1990; Neale et al., 2011; Oleszczuk et al., 2014) ; ajoutons que plus la concentration en matière organique augmente, plus la quantité sorbée augmente (Haitzer et al., 1998). Ces résultats sont en général démontrés pour la matière organique des eaux ou des sols et sédiments. Toutefois, le même type d'interactions doit se produire dans les boues, matrices majoritairement composées de matière organique. L'hypothèse communément admise est que la biodisponibilité des micropolluants est liée à leur présence dans la phase aqueuse des boues (DOM : Dissolved Organic Matter). Malgré tout, la seule dissipation des micropolluants organiques dans le compartiment DOM ne peut expliquer la dissipation totale des micropolluants organiques observée lors d'un traitement anaérobie de boues (Barret, 2009). Il semble alors intéressant de travailler sur la phase particulaire des boues. Pour cela, il est proposé dans ce chapitre de coupler un protocole de fractionnement de la matière organique de boues avec une analyse de micropolluants organiques (HAP et NP). Le premier objectif est de vérifier si le couplage du protocole de fractionnement de la matière organique et de l'analyses des HAP et NP permet de déterminer une répartition des micropolluants organiques au sein des compartiments matière. Le deuxième objectif est d'étudier l'éventuel lien entre l'évolution de la matière organique et l'évolution de micropolluants organiques au cours de la digestion puis de déterminer s'il existe un lien entre la caractérisation de la matière organique de chaque compartiment et la présence des micropolluants au sein de ces compartiments. Cette étude est faite en batch au cours d'incubations anaérobies comme représentation modèle de la digestion anaérobie. L'évolution des compartiments organiques de la matrice modèle « boues » et celle de la localisation des molécules modèles étudiées (HAP et NP) sont suivies au cours des incubations.

## B. Démarche expérimentale

Pour ce faire, trois incubations anaérobies (substrat + inoculum) ont été réalisées à 35°C pendant 32 jours au laboratoire (cf. Chapitre III, § III.A.1) :

- Mélange M1 : boues secondaires de station d'épuration + boues digérées + dopage en micropolluants organiques ;
- Mélange M2 : boues secondaires de station d'épuration + boues digérées ;
- Mélange M3 : boues secondaires de station d'épuration + boues granulaires.

L'étude du mélange M1 permet de déterminer le devenir de polluants fraîchement ajoutés lors de la digestion anaérobie ; l'étude des mélanges M2 et M3 permet de déterminer le devenir des polluants natifs lors de la digestion anaérobie.

La comparaison entre M1 et M2 permet d'estimer l'impact du dopage sur l'accessibilité et le devenir des micropolluants organiques lors de la digestion anaérobie. La comparaison entre M2 et M3 permet de voir l'impact du changement d'inoculum soit l'impact de la matière organique puisque l'inoculum représente 85 % du volume du mélange sur l'accessibilité et le devenir des micropolluants organiques lors de la digestion anaérobie de boues.

Durant l'incubation, la production de méthane est suivie. Les mélanges initiaux et finaux sont tout d'abord caractérisés globalement : MS, MES, DCO, AGV et pH. Puis ces mélanges sont fractionnés afin de caractériser la matière organique avant et après digestion anaérobie. Enfin, les HAP et NP sont dosés à chaque étape du fractionnement afin de calculer la répartition de ces molécules au sein des compartiments matière. Cette répartition est mise en relation avec les caractéristiques des compartiments matière pour déterminer le lien entre la localisation des molécules et la composition des compartiments (Figure 24).

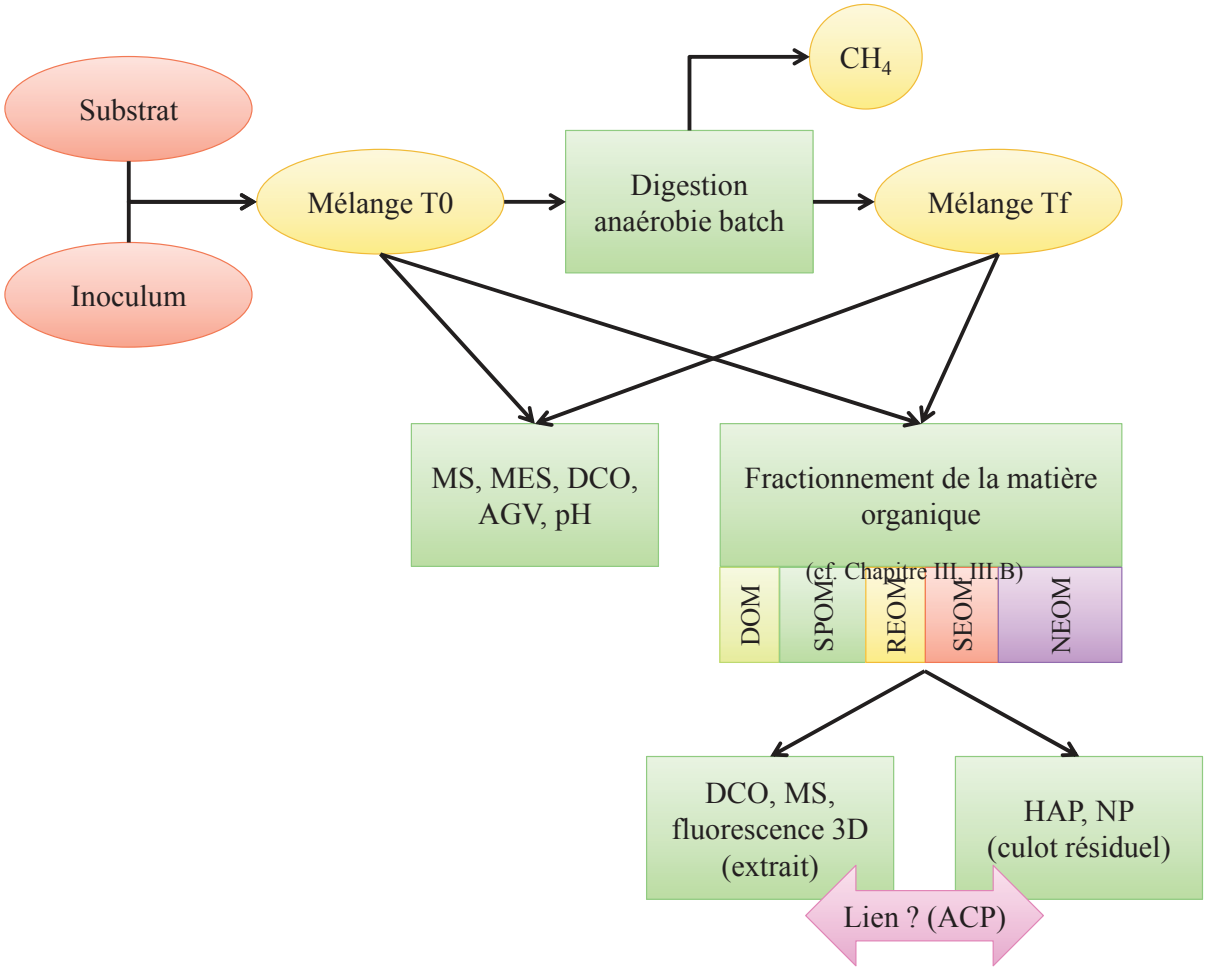



**Figure 24 : démarche expérimentale mise en œuvre pour étudier la localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments matière avant et après digestion anaérobie**

## C. Production de méthane

La production de méthane est de 164 ± 19, 183 ± 9 et 145 ± 23 $NmLCH_4.gDCO_{boues}^{-1}$ pour M1, M2 et M3 respectivement (Figure 25).

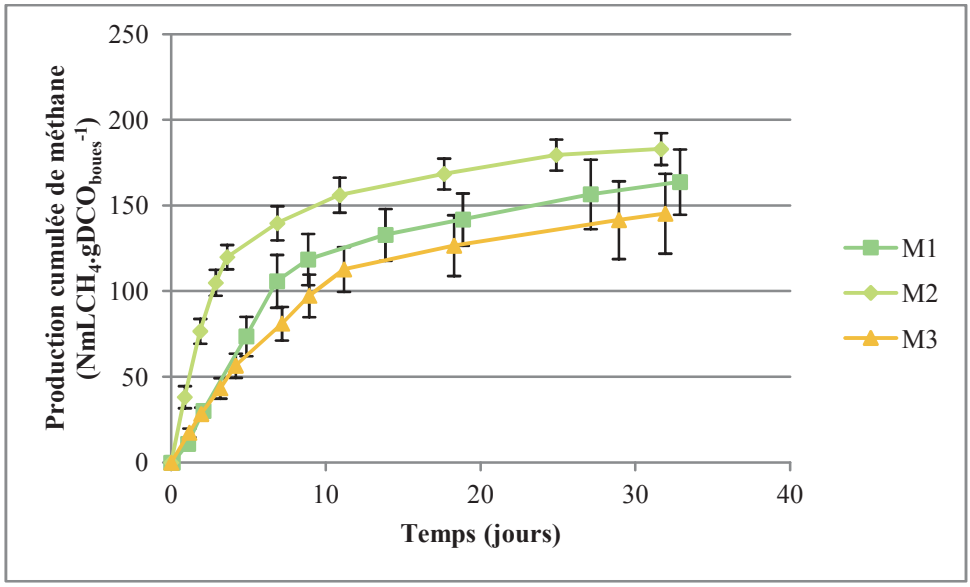



**Figure 25 : production cumulée de méthane lors des incubations anaérobies**

Un test ANOVA (Excel 2007, p value 0,05) montre que la production de méthane du mélange M2 (mélange avec boues digérées non dopé) est différente de celles des mélanges M1 et M3 qui sont équivalentes (M1/M2 : p = 0,00285, M1/M3 : p = 0,05150 et M2/M3 : p = 0,00001). La biodégradation de la boue secondaire (calculée à partir du ratio méthane produit mesuré sur production théorique de méthane soit 350 $NmLCH_4.gDCO^{-1}$) est de 47 ± 5 %, 52 ± 3 % et 42 ± 7 % pour M1, M2 et M3 respectivement. Les différences statistiques obtenues sur les productions de biogaz sont les mêmes pour les pourcentages de dégradation puisque ceux-ci sont calculés à partir des valeurs de production de méthane. Le mélange M2 a une biodégradation plus forte : il présente une cinétique initiale plus rapide que les deux autres mélanges. Le mélange M1 est composé des mêmes boues et du même inoculum que le mélange M2. Toutefois, la dégradation est moindre car la vitesse initiale est plus faible. Un temps plus long aurait pu permettre de « rattraper » la production de M2 mais pour pouvoir comparer les incubations il a été choisi de travailler sur le même temps d'incubation. La diminution de la vitesse initiale et donc de la dégradation de la boue peut s'expliquer par le vieillissement de l'inoculum : entre les incubations M2 et M1, l'inoculum est stocké pendant 3 semaines à 35°C ; ainsi, la microflore anaérobie est en quelque sorte épuisée et la vitesse initiale s'en trouve diminuée. La biodégradation de la boue restant élevée (plus de 40 %), il semble que le dopage en micropolluants organiques n'a aucun impact ou très peu sur la digestion anaérobie. La dégradation de la boue lors de l'incubation M3 est moindre en raison de l'inoculum peu adapté au substrat introduit (les boues proviennent d'une station d'épuration traitant des effluents de sucrerie).

Un bilan DCO est réalisé pour chaque incubation. La teneur en DCO à T0 et Tf est multipliée par le volume du mélange pour obtenir les quantités initiales et finales de DCO dans la fiole en gDCO. La quantité de méthane produite (sans soustraire la production endogène) est convertie en gDCO.

$$Bilan\ DCO(\%) = \frac{DCO_{finale}(gDCO) + DCO_{CH_4}(gDCO)}{DCO_{initiale}(gDCO)}$$

Les valeurs de 99, 103 et 99 % sont retrouvées pour M1, M2 et M3 respectivement. Aucune perte de DCO n'est donc constatée lors de chaque incubation. La DCO dégradée correspond donc à la production de méthane lors de l'incubation.

Durant l'incubation anaérobie, une partie de la matière organique est dégradée et transformée en biogaz. Comment évolue cette matière organique durant le traitement ?

## D. Evolution de la matière organique lors des incubations anaérobies

### 1. Evolution des caractéristiques globales des mélanges lors de la digestion anaérobie

Le Tableau XX donne les principales caractéristiques des mélanges avant et après incubation.

**Tableau XX : principales caractéristiques des mélanges avant et après incubation**

| | MS ($g.L^{-1}$) | | AGV ($g.L^{-1}$) | | DCO ($mgO_2.L^{-1}$) | | pH | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | T0 | Tf | T0 | Tf | T0 | Tf | T0 | Tf |
| M1 | 32,42 | 28,35 | 0,430 | 0,028 | 33 115 | 27 697 | 7,57 | 7,78 |
| M2 | 34,03 | 29,66 | 0,412 | 0,000 | 33 800 | 28 249 | 7,39 | 7,25 |
| M3 | 28,95 | 24,89 | 0,228 | 0,000 | 35 319 | 30 490 | 6,87 | 7,28 |

La perte en MS est de 13 %, 13 % et 14 % pour M1, M2 et M3. La dégradation de la matière sèche est donc équivalente dans les trois incubations. Les AGV sont entièrement dégradés lors des incubations des mélanges M2 et M3. Cependant, il reste quelques AGV dans le mélange M1 (93 % dégradés) ce qui montre que la dégradation anaérobie n'est pas complète (ce qui est cohérent avec le potentiel méthane moindre pour cette incubation comparé à M2). La dégradation de la DCO est de 16 %, 16 % et 14 % pour M1, M2 et M3. La capacité de dégradation de la matière organique est semblable lors des trois incubations. Enfin pour les mélanges M1 et M2, le pH évolue peu. Le pH augmente lors de l'incubation du mélange M3. Le pH neutre ou légèrement basique est dans la gamme de pH optimale pour la digestion anaérobie. Etant donné le peu d'AGV dans les mélanges, cela montre que la digestion anaérobie s'est bien déroulée et qu'il n'y a pas eu d'accumulation d'AGV entraînant la chute du pH et l'arrêt de la digestion anaérobie.

### 2. Répartition des compartiments matière

La Figure 26 représente la répartition de la DCO dans les différents compartiments matière de la boue en pourcentages de la DCO totale initiale (T0) de chaque incubation.

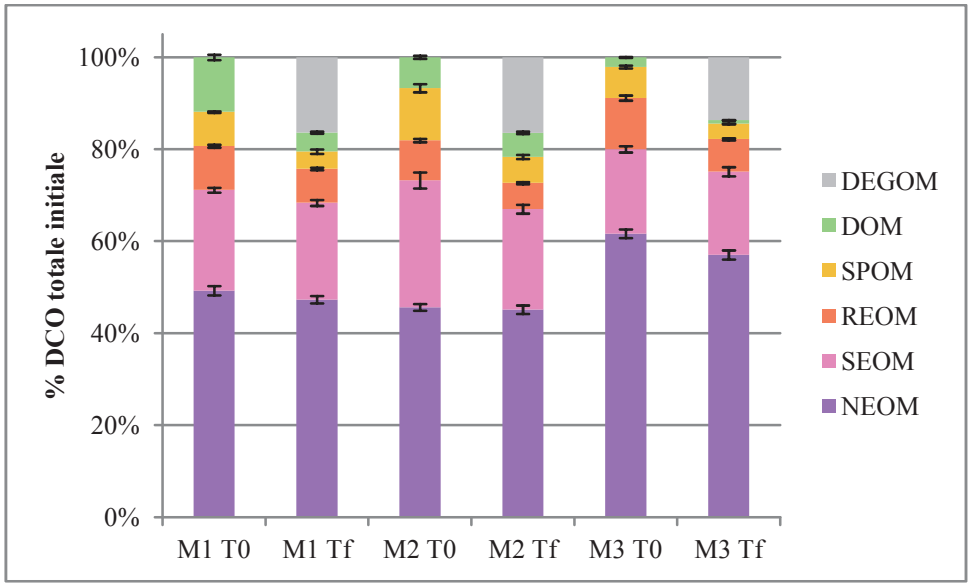



**Figure 26 : répartition de la DCO dans les différents compartiments matière. DEGOM= matière organique dégradée (méthane), DOM = dissolved organic matter (phase aqueuse), SPOM = soluble particulate organic matter (matière organique particulaire soluble), REOM = readily extractable organic matter (matière organique facilement extractible), SEOM = slowly extractable organic matter (matière organique peu extractible), NEOM = non extractable organic matter (matière organique non extractible)**

La méthode de fractionnement permet d'extraire et de caractériser entre 40 et 55% de la matière organique des mélanges. Elle permet aussi de distinguer les mélanges constitués de digestat de ceux constitués de boue granulaire. En effet, la répartition à T0 est identique (très proche) pour M1 et M2 mais différente de celle de M3. Comme les mélanges sont majoritairement constitués d'inoculum (85% du volume), les boues granulaires, de structure différente, influent fortement sur la répartition de la DCO dans les compartiments. Le compartiment non extractible (moins accessible) NEOM domine en effet dans ce mélange à T0 alors qu'il est plus faible dans M1 et M2. A l'inverse les compartiments les plus accessibles DOM et SPOM sont deux fois moins importants dans M3 comparés à M1 et M2.

Le taux de dégradation de la matière organique (DEGOM) est d'environ 15 % pour chaque mélange, montrant ainsi que les microorganismes, adaptés ou non au substrat, sont capables de digérer la boue secondaire de station d'épuration.

Un test ANOVA est réalisé sur les pourcentages de chaque compartiment particulaire entre T0 et Tf. Le Tableau XXI présente les résultats du test statistique. Les valeurs sont statistiquement différentes si la valeur de la probabilité p est inférieure à $5.10^{-2}$.

**Tableau XXI : tests statistiques sur la répartition en pourcentages de la DCO totale initiale des compartiments matière lors des incubations anaérobies**

| Probabilité p | M1 | M2 | M3 |
|---|---|---|---|
| DOM | 2,87.10-5, ≠ | 3,94.10-3, ≠ | 3,43.10-5, ≠ |
| **SPOM** | $5,33.10^{-4}$, ≠ | $2,64.10^{-5}$, ≠ | $6,81.10^{-7}$, ≠ |
| REOM | $9,95.10^{-4}$, ≠ | $8,59.10^{-6}$, ≠ | $1,00.10^{-5}$, ≠ |
| SEOM | $1,97.10^{-1}$, = | $1,20.10^{-3}$, ≠ | $6,68.10^{-1}$, = |
| NEOM | $6,02.10^{-2}$, = | $4,19.10^{-1}$, = | $4,00.10^{-4}$, ≠ |

Les compartiments les plus accessibles DOM, SPOM et REOM diminuent au cours de la digestion anaérobie pour les trois mélanges.

Le compartiment SEOM diminue dans le mélange M2 mais reste constant dans les mélanges M1 et M3.

Enfin, pour les mélanges M1 et M2, le compartiment NEOM n'évolue que très peu alors qu'il diminue dans le mélange M3. Ceci pourrait être lié à la dégranulation/déstructuration des granules anaérobies au cours de l'incubation.

La comparaison entre les mélanges M1 et M2 montre que le dopage en HAP et NP n'a d'effet ni sur le devenir de la matière organique des boues lors de la digestion anaérobie, ni sur la répartition dans les compartiments. En effet, même s'il existe une petite différence au niveau du mélange initial, les mélanges finaux de M1 et M2 ont la même répartition de la DCO dans les compartiments.

A partir de la répartition de la DCO dans chaque mélange, il est possible de calculer les abattements de DCO dans chaque compartiment (Tableau XXII).

**Tableau XXII : dégradation des compartiments matière lors de l'incubation anaérobie**

| % de dégradation | M1 | M2 | M3 |
|---|---|---|---|
| DOM | 65 % | 22 % | 63 % |
| SPOM | 49 % | 50 % | 50 % |
| REOM | 23 % | 35 % | 37 % |
| SEOM | 4 % | 21 % | 1 % |
| NEOM | 4 % | 1 % | 7 % |

Une diminution de la dégradation de chaque compartiment en fonction de l'accessibilité chimique est remarquée pour chaque mélange (excepté M2 où le compartiment DOM est moins dégradé que SPOM). L'accessibilité chimique de la matière organique mesurée par la méthode de fractionnement

semble donc correspondre à une accessibilité biologique des fractions de la matière organique et donc potentiellement à leur biodégradabilité.

La différence entre M1 et M2 provient de la boue digérée utilisée comme inoculum. En effet, les mélanges M1 et M2 contiennent la même quantité de boue (substrat) dont trois lots ont été congelés en même temps et décongelés avant leur utilisation pour les incubations à 4°C. Toutefois, comme précisé précédemment (cf. Chapitre IV, § C.) le digestat a vieilli : il semble y avoir eu une hydrolyse lente de SEOM qui conduit à la libération de composés dégradables dans la fraction DOM.

### 3. Caractérisation de la matière organique extraite

Les mélange M1 et M2 sont très proches en termes de DCO extraites et les évolutions des compartiments sont similaires, ainsi, la caractérisation de la matière organique est focalisée sur les mélanges M1 et M3 qui permettent de comparer deux types de mélange différents (mélange boues secondaires + boues digérées et mélange boues secondaires + boues granulaires). De plus, la biodégradabilité de la boue (substrat) est identique lors des incubations des mélanges M1 et M3.

#### *a) Caractérisation par spectroscopie de fluorescence 3D*

Pour les deux mélanges, une importante dégradation de la fraction DOM est observée : 65 % pour M1 et 63 % pour M3. En même temps, une complexification de cette fraction est notée qui se traduit par une augmentation de l'indice de complexité Ph/Pp (cf. Chapitre III, § D.13.) (Figure 27). En effet, sur les spectres de fluorescence (Annexes A, figures 1 et 2), un déplacement des massifs de fluorescence vers la droite et vers le haut est constaté (apparition de massifs correspondant à des composés complexes). Cette complexification peut s'expliquer par la dégradation des composés solubles facilement dégradables. Ainsi, la proportion de composés complexes, beaucoup moins dégradables, augmente. Des composés plus complexes issus de la lyse de la matière organique particulaire ou produits par les microorganismes peuvent aussi recharger la fraction DOM.

Les spectres de fluorescence montrent aussi que la nature de la fraction DOM finale est semblable pour les deux mélanges bien que la nature de la fraction DOM initiale soit différente. Ici, le substrat est le même pour tous les mélanges seul l'inoculum change. Ce dernier impact sur la répartition initiale de la DCO. Toutefois, les tendances d'évolution de la matière organique sont semblables et la nature finale de la matière organique est semblable pour les deux mélanges.

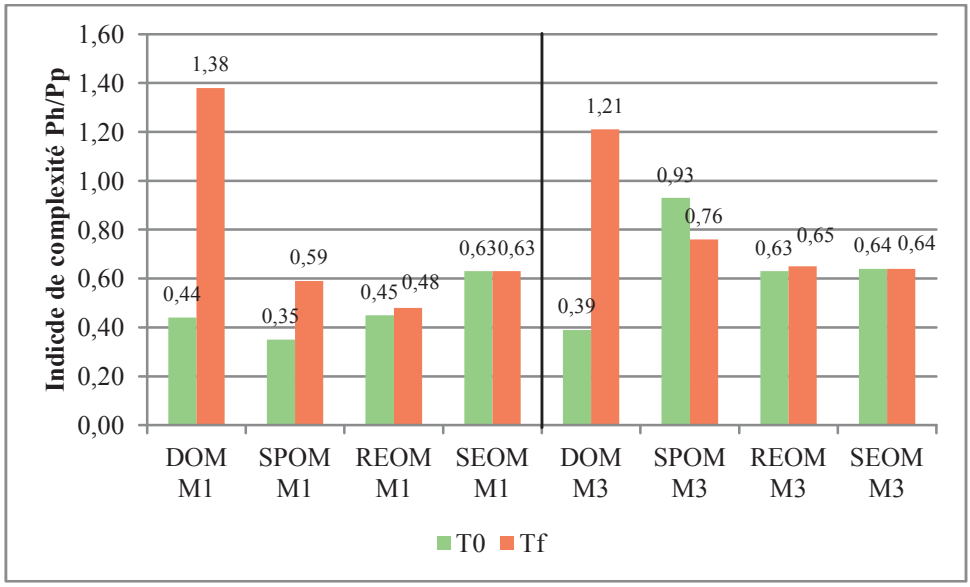



**Figure 27 : indice de complexité des différentes fractions de M1 et M3 à T0 et Tf**

Dans la thèse de Jimenez, 2012, une boue secondaire a été digérée en anaérobiose en mode batch sans inoculum dans un réacteur de 4 L à 37°C. La boue avant et après digestion a été fractionnée selon le même protocole appliqué sur la boue non lyophilisée. L'indice de complexité était légèrement plus élevé pour la fraction DOM que la fraction SPOM avant et après digestion (Figure 28). Un gradient apparaît au niveau de la phase particulaire : la complexité de la matière organique extraite augmente pour les fractions les plus difficilement accessibles chimiquement. Enfin, l'indice de complexité augmente au cours de la digestion : dégradation des composés protéiques et non dégradation des composés complexes type humiques ce qui conduit à l'augmentation de leur part au niveau du spectre de fluorescence.

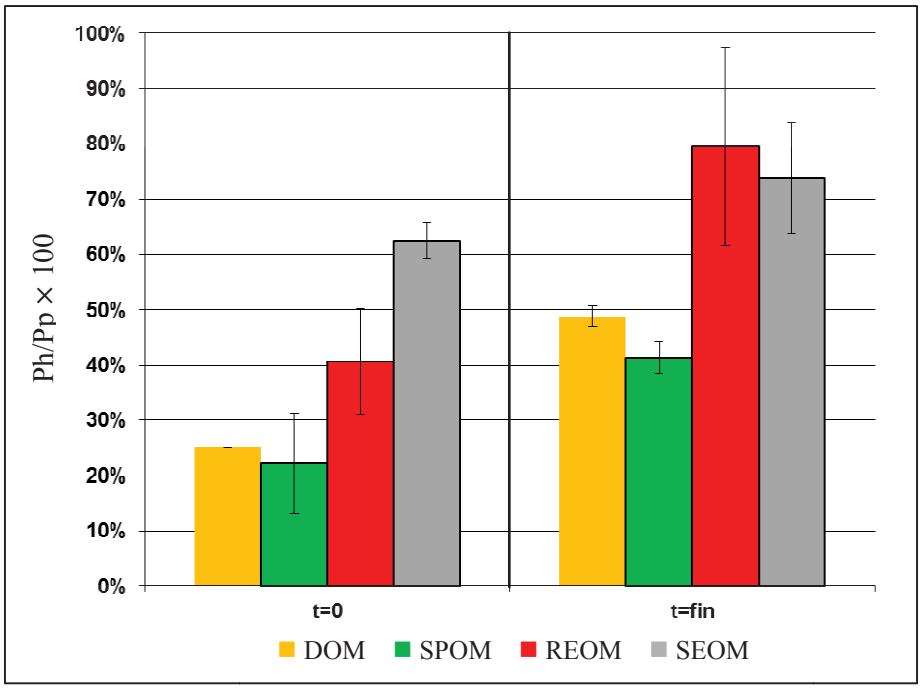



**Figure 28 : indices de complexité des différentes fractions de la boue avant et après digestion selon une expérimentation de Jimenez, 2012**

Dans notre cas, on retrouve quelques similarités. Lors des deux incubations, l'indice de complexité de chaque fraction augmente lors de la digestion anaérobie sauf pour la fraction SPOM du mélange M3. Le gradient « phase particulaire » n'est retrouvé que sur le mélange M1 à T0. Les différences avec les résultats obtenus par Jimenez, 2012 peuvent s'expliquer par la présence importante de l'inoculum dans nos incubations. Celui-ci apporte une matière organique déjà complexe, et lors de la dégradation de la matière organique simple (type protéique), la part de ces matières complexes (qui peuvent aussi être produites par les microorganismes anaérobies) augmente fortement d'où une forte augmentation des indices de complexité.

Les fractions qui évoluent le plus sont les fractions les plus dégradées à savoir DOM et SPOM. Les fractions REOM et SEOM, peu ou pas dégradées n'évoluent pas (on aurait pu s'attendre tout de même à une évolution de la signature de fluorescence ; même si la DCO ne change pas il est possible que la nature de la matière organique change par des transformations biologiques ou physico-chimiques). Il semble donc que la matière organique du compartiment SEOM soit très stable.

Le mélange M3 se distingue du mélange M1. En effet, l'indice de complexité de la matière organique de l'extrait SPOM diminue au cours de la digestion anaérobie. Cela est probablement dû à la structure granulaire de l'inoculum : à T0, des composés complexes sont solubilisés lors de l'extraction SPOM. Ces composés peuvent se solubiliser lors de la digestion anaérobie et donc se retrouver dans la fraction DOM. Ils ne sont alors plus extractibles dans la fraction SPOM donc l'indice de complexité diminue. La deuxième hypothèse, qui semble confirmée par les spectres de fluorescence, est la présence de protéines agglomérées avec d'autres composés qui sont dissociées lors de la digestion anaérobie. En effet, sur le spectre à T0 de la fraction SPOM du mélange M3, un massif est remarqué en zone IV. Or,

ce massif disparaît à Tf et des massifs dans les zones I et II apparaissent. De plus, lors de l'incubation une dégranulation est visible : les grains après incubations sont plus petits en taille ce qui signifie qu'une partie des grains a été solubilisée lors de la digestion anaérobie. Il eut été intéressant de faire une étude sur la granulométrie des particules avant et après digestion pour vérifier ce phénomène. La solubilisation des granules peut amener à la solubilisation de composés complexes ce qui augmente fortement la complexité de la fraction DOM.

Sauf pour le compartiment SEOM, les indices de complexité sont plus élevés pour le mélange M3 qui contient les boues granulaires que le mélange M1 qui contient de la boue digérée comme inoculum. Ce résultat confirme ceux obtenus par d'Abzac dans sa thèse (D'Abzac, 2010). En effet, il a montré que les exopolymères issus de boues granulaires contiennent plus de composés humiques ce qui est lié à l'âge des boues plus important dans les réacteurs UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) que dans les réacteurs continus classiques. Cela tendrait à être confirmé par l'apparition d'un massif dans la zone VI du spectre de fluorescence.

Pour les deux mélanges, le compartiment REOM évolue peu en termes de fluorescence malgré une dégradation de la DCO dans ce compartiment. Il est probable que la dégradation de cette fraction soit liée à la dégradation de composés non détectables par fluorescence (sucres) alors que les composés qui fluorescent ne sont pas atteints. Le compartiment SEOM n'évolue pas. Là encore, ceci est lié à la présence majoritaire de l'inoculum, matière organique stable. Le mélange M3 montre aussi une autre particularité : la signature de fluorescence des fractions REOM et SEOM sont proches. Ainsi, des fractions de natures similaires peuvent avoir une accessibilité différente.

#### *b) Caractérisation biochimique de la DCO*

La caractérisation de chaque extrait de la phase particulaire est complétée par un dosage des protéines et des sucres (Figure 29).

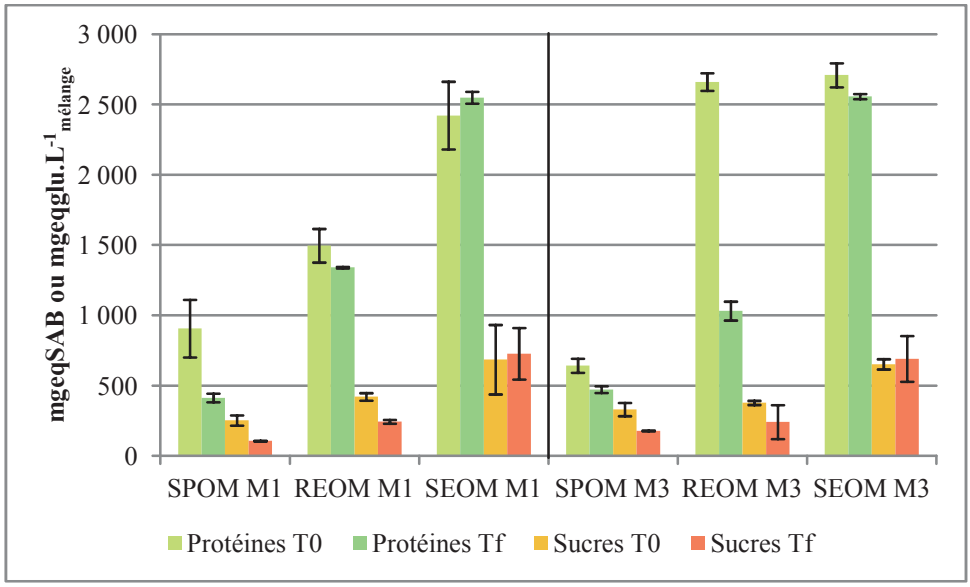



**Figure 29 : teneurs en protéines et sucres des compartiments de la phase particulaire des mélanges M1 et M3 avant et après digestion anaérobie**

La dégradation de la DCO de la fraction SPOM est de 50 % pour M1 et 49 % pour M3. Une dégradation de 54 % des protéines est constatée lors de la digestion anaérobie dans le compartiment SPOM de M1 ainsi qu'une dégradation de 58 % des sucres. La dégradation de ces composés facilement hydrolysables conforte les résultats de dégradation de la DCO. De plus, l'intensité des massifs de fluorescence 3D au niveau des zones protéiques diminue au cours de la digestion anaérobie dans le compartiment SPOM du mélange M1 ce qui est cohérent avec le dosage des protéines.

La dégradation des protéines est de 26 % dans le compartiment SPOM du mélange M3 et la dégradation des sucres de 46 %. La dégradation des protéines est inférieure à celle constatée pour le mélange M1. Mais cela conforte l'hypothèse des protéines agglomérées dans le compartiment SPOM du mélange M3 initial : décalage du massif de fluorescence vers la gauche (passage zones II et IV à zones I et II). La dégradation de la DCO est donc majoritairement liée à la dégradation de sucres.

23 % de la DCO du compartiment REOM du mélange M1 est dégradé lors de la digestion anaérobie : les analyses de protéines et de sucres montrent que cette dégradation est due à la fois aux protéines (pour une petite part car la dégradation des protéines est de 10 %) et aux sucres (dégradation de 42 % des sucres) (il est possible que d'autres composés soient dégradés et participent au taux de dégradation de la DCO). Cela confirme la mesure spectrale en fluorescence 3D qui évolue peu durant la digestion anaérobie : l'indice de complexité change peu, les zones protéiques sont peu attaquées. 37 % de la DCO du compartiment REOM du mélange M3 est dégradé durant la digestion anaérobie. Cette dégradation est due aux sucres et aux protéines : abattement de 61 % des protéines et 36 % des sucres. Toutefois, le spectre de fluorescence ne change pas, les protéines dégradées sont donc principalement des molécules ne contenant pas d'acides aminés à cycle aromatique ou il y a lyse des protéines mais pas dégradation complète des acides aminés (la fluorescence ne change pas car les cycles aromatiques sont toujours présents mais comme il n'y a plus de liaison peptidique le dosage de Lowry donne un

résultat final plus faible). Ici, la différence de structure entre les boues digérées et les boues granulaires est encore visible.

L'analyse statistique a montré que la DCO du compartiment SEOM n'évolue pas dans les deux mélanges. De même, les spectres de fluorescence 3D sont identiques à T0 et Tf. Cette non-évolution est confirmée par les dosages des protéines et sucres. En effet, les teneurs en protéines et sucres sont équivalentes entre T0 et Tf pour les deux mélanges.

### 4. Conclusions sur caractérisation et devenir de la matière organique lors des incubations anaérobies

Le protocole de fractionnement appliqué aux différents mélanges permet d'extraire 40 à 50 % de la DCO de chaque mélange. La répartition de la DCO selon le fractionnement matière proposé permet de distinguer les mélanges avant et après digestion anaérobie (composition initiale et mélange final obtenu). En effet, que ce soit à T0 ou Tf, la répartition de la DCO différencie les mélanges dont l'inoculum est une boue digérée et celui dont l'inoculum est une boue granulaire.

La comparaison de la répartition de la DCO avant et après digestion anaérobie montre que la méthode utilisée mime correctement le devenir de la matière organique au cours de la digestion : dégradation des compartiments les plus accessibles (DOM, SPOM, REOM) et peu ou pas d'évolution des compartiments les moins accessibles (SEOM, NEOM). Cependant, il est constaté aussi l'évolution de la qualité chimique des fractions extraites dans les différents compartiments et surtout pour les plus accessibles (DOM, SPOM, REOM).

La méthode appliquée ici permet d'obtenir la quantité de matière organique dans chaque compartiment mais aussi la qualité de la matière organique extraite à travers l'analyse spectrale (fluorescence 3D) et le dosage des sucres et des protéines. Cela permet de mettre en lien l'évolution de la DCO avec l'évolution des caractéristiques biochimiques des compartiments. La relation entre la quantité et la qualité de la DCO de chaque compartiment permet d'estimer la biodégradation de chaque compartiment. En effet, la méthode permet de mimer l'évolution de la matière organique au cours de la digestion anaérobie. L'accessibilité chimique correspond bien à la bioaccessibilité mais les taux de dégradation de chaque fraction au cours de la digestion sont différents car la nature de ces fractions diffère entre chaque mélange.

La fluorescence 3D apporte de nombreuses informations sur la matière organique extraite : complexité et évolution par comparaison entre T0 et Tf. Elle montre bien les effets de la dégradation des molécules simples et la production/concentration dans l'extrait de molécules complexes : l'intensité des zones de fluorescence des composés type protéines diminue alors que celle des composés complexes augmente. Toutefois, elle ne permet pas de détecter et de voir l'évolution de composés non aromatiques tels que les sucres qui peuvent grandement impacter la dégradation d'un compartiment.

Les dosages de sucres et de protéines permettent donc de compléter les informations données par la fluorescence.

La méthode mise en place ici permet donc d'obtenir une répartition de la DCO et une caractérisation de la matière organique en lien avec les processus de dégradation de la matière organique lors de la digestion anaérobie. La méthode permet aussi de définir l'accessibilité de la matière organique ainsi que sa biodégradabilité par caractérisation de celle-ci. Ainsi, la méthode répond à l'objectif de caractériser la matière organique et son évolution au cours de la digestion anaérobie en lien avec l'accessibilité des fractions organiques. Il est ensuite possible de regarder l'impact de cette matière organique sur la localisation et le devenir des micropolluants organiques (HAP, NP).

## E. Localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments matière

### 1. Répartition des HAP au sein des compartiments matière

Dans un premier temps, sont décrites les répartitions des HAP au sein de chaque mélange avant et après digestion anaérobie. Dans un deuxième temps, les mélanges sont comparés entre eux : M1/M2 pour la différence entre HAP dopés et HAP natifs et M2/M3 pour la différence entre deux types de matière organique.

#### *a) Mélange M1*

Le mélange « boues de station d'épuration et boues digérées » est dopé avec une solution de HAP et NP (cf. Chapitre III, § A.3.b)). Les concentrations de chaque HAP diminuent au cours de l'incubation (Figure 30). Il y a donc bien un abattement des HAP. Cet abattement de la concentration en HAP au cours de la digestion anaérobie est majoritairement lié à des processus de dégradation biologique (Barret et al., 2012). L'abattement moyen sur les 13 HAP est de 14 % ce qui est en lien avec l'abattement en MS qui est de 13 %, ce qui a déjà été observé en bioréacteur continu (Trably et al., 2003).

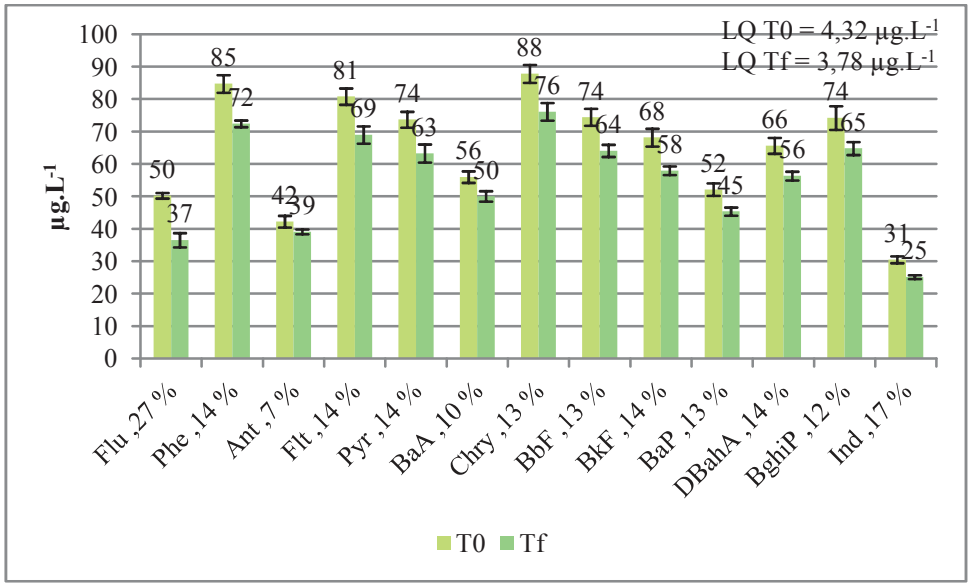



**Figure 30 : concentrations initiales et finales des HAP dans le mélange M1 (les valeurs en légende sont les abattements pour chaque HAP)**

L'hypothèse admise est que c'est le compartiment aqueux qui est disponible et dégradé (Barret, 2009). Or, la dégradation seule du compartiment aqueux ne peut expliquer l'abattement total de chaque HAP, comme observé dans le Tableau XXIII.

**Tableau XXIII : part de l'abattement en HAP du compartiment aqueux par rapport à l'abattement total en HAP pour le mélange M1**

$$\%_{\frac{abattement_{aqueux}}{abattement_{total}}} = \frac{[HAP]_{aqueux_initial} - [HAP]_{aqueux_final}}{[HAP]_{total_initial} - [HAP]_{total_final}}$$

| | |
|---|---|
| Flu | -14% |
| Phe | -4% |
| Ant | -102% |
| Flt | 0% |
| Pyr | 23% |
| BaA | 26% |
| Chry | 34% |
| BbF | 26% |
| BkF | 39% |
| BaP | 53% |
| DBahA | 41% |
| BghiP | 21% |
| Ind | 48% |

Pour Flu, Phe et Ant, la part de l'abattement aqueux est négative. En effet, ces trois molécules absentes ou très peu présentes à T0 dans la phase aqueuse, apparaissent à Tf dans ce compartiment. Pour le Flt, le compartiment aqueux est inchangé entre T0 et Tf. Par contre pour tous les autres HAP,

le compartiment aqueux diminue mais il n'explique que partiellement (entre 23 et 45%) la disparition totale des HAP. Ceci souligne l'importance de considérer le compartiment particulaire et son fractionnement.

La Figure 30 représente la distribution des HAP dans les différents compartiments matière du mélange initial. La méthode d'extraction des HAP de matrices complexes telles que les boues implique d'utiliser des solvants forts (hexane/acétone 50:50 v:v) et des conditions de pression (100 bars) et de température (120°C) élevées. L'obtention d'une fraction unique (compartiment NEOM) aurait pu être attendue car les attaques effectuées ici sont réalisés à 30°C sans pression et avec des solvants aqueux dans lesquels les HAP sont très peu solubles. En fait, sont extraits des fractions de matière organique sur lesquelles les HAP sont sorbés et sur lesquelles les HAP vont rester sorbés. Les HAP étant peu solubles et peu sensibles aux variations de pH, il est alors possible de dire que les HAP extraits à chaque étape du fractionnement sont bien les HAP sorbés sur la matière organique extraite. Toutefois, ce résultat pourrait être faussé dans le cas de molécules sensibles au pH (pKa) ou polaires (solubles dans l'eau).

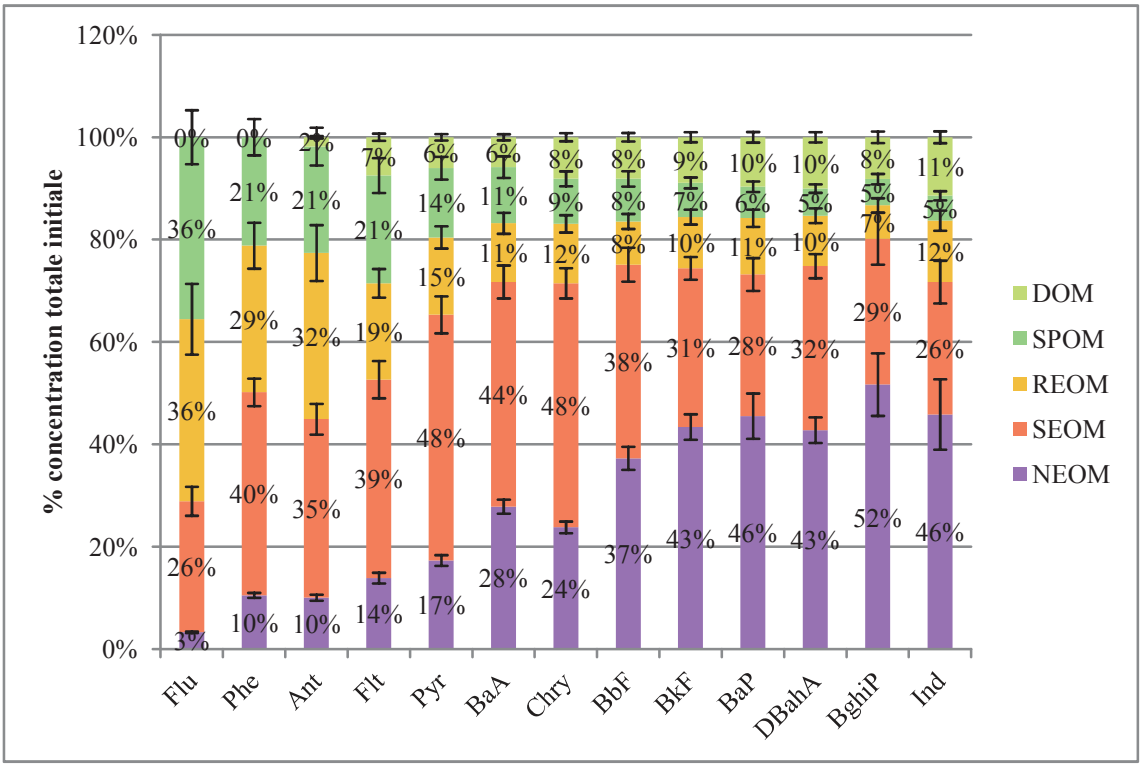



**Figure 31 : répartition des HAP dans les compartiments matière du mélange M1 initial (T0)**

Les HAP ajoutés par le dopage se répartissent dans les différents compartiments du mélange. Cela signifie que la sorption rapide des HAP s'effectue en fonction de l'affinité des polluants pour la matière organique.

La répartition des HAP dans les compartiments matière à T0 montre une légère augmentation de la teneur dans la phase aqueuse avec l'augmentation du poids moléculaire. Ceci confirme les résultats de Barret et al., 2010b qui montrent une relation entre l'hydrophobicité des molécules et l'affinité pour le compartiment dissout/colloïdal ou aqueux (DOM) exprimé par le coefficient de partition $K_{DCM}$ (coefficient de partage avec la matière organique colloïdale et dissoute). Les HAP de haut poids moléculaire ont une fraction sorbée sur le compartiment NEOM plus élevée que ceux de faible poids moléculaire (la fraction sorbée sur le compartiment NEOM augmente avec le poids moléculaire). Parallèlement, une diminution de la fraction sorbée sur les compartiments SPOM et REOM est constatée avec l'augmentation du poids moléculaire. Enfin, la fraction sorbée sur le compartiment SEOM augmente avec le poids moléculaire jusqu'à des composés à 5 cycles ; au-delà cette fraction tend à légèrement diminuer.

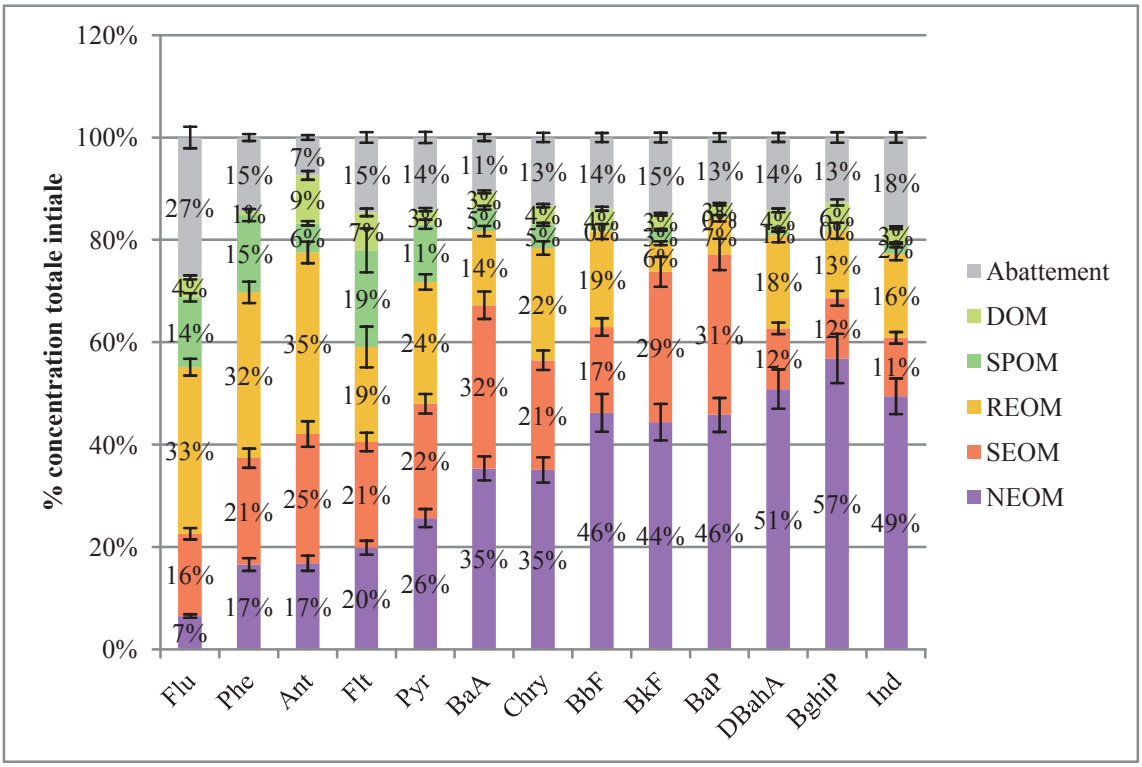



**Figure 32 : répartition des HAP dans les compartiments matière du mélange M1 après incubation (Tf) par rapport à la teneur initiale**

Après incubation, la part de HAP dans le compartiment DOM diminue pour chaque molécule sauf pour ceux de faible poids moléculaire, non présents à T0 et pour lesquels une recharge de ce compartiment est observée (probablement un relargage des composés présents dans la phase particulaire par lyse de la matière organique sur laquelle les composés sont sorbés). Le compartiment SPOM diminue fortement lors de la digestion anaérobie. En fonction des composés, la quantité de HAP dans la fraction REOM augmente ou diminue. Il semble que ce compartiment soit une sorte de compartiment intermédiaire pour les phénomènes de relocalisation des HAP. La quantité de HAP diminue pour tous les composés dans la fraction SEOM au cours de la digestion anaérobie. Enfin, un

enrichissement de la fraction NEOM est constaté au cours de la digestion anaérobie pour tous les composés, cet effet étant d'autant plus marqué que le poids moléculaire est faible. Il semble donc qu'il y ait à la fois une relocalisation des HAP lors de la digestion anaérobie mais aussi une dissipation de ces polluants (résidus non extractibles, formation de métabolites ou minéralisation). Au vu des évolutions des compartiments, il semble que la relocalisation des HAP se fasse vers le compartiment NEOM (adsorption des composés hydrophobes sur une matière organique plus réfractaire, probablement plus hydrophobe) ainsi que vers le compartiment aqueux (dégradation de la matière organique permettant la recharge du compartiment aqueux) où la molécule est probablement dégradée. La quantité de HAP présente dans les compartiments REOM, SEOM et NEOM évolue peu voire pas du tout contrairement aux compartiments SPOM et DOM (Figure 33). Il semble donc que la majeure partie des HAP dissipés proviennent de ces deux derniers compartiments. Ceux-ci étant plus accessibles, il est possible que le mécanisme majeur d'élimination des HAP lors de la digestion anaérobie soit lié à des phénomènes de biodégradation (formation de métabolites ou de dioxyde de carbone/méthane) plus qu'à des processus de sorption par formation de résidus non extractibles.

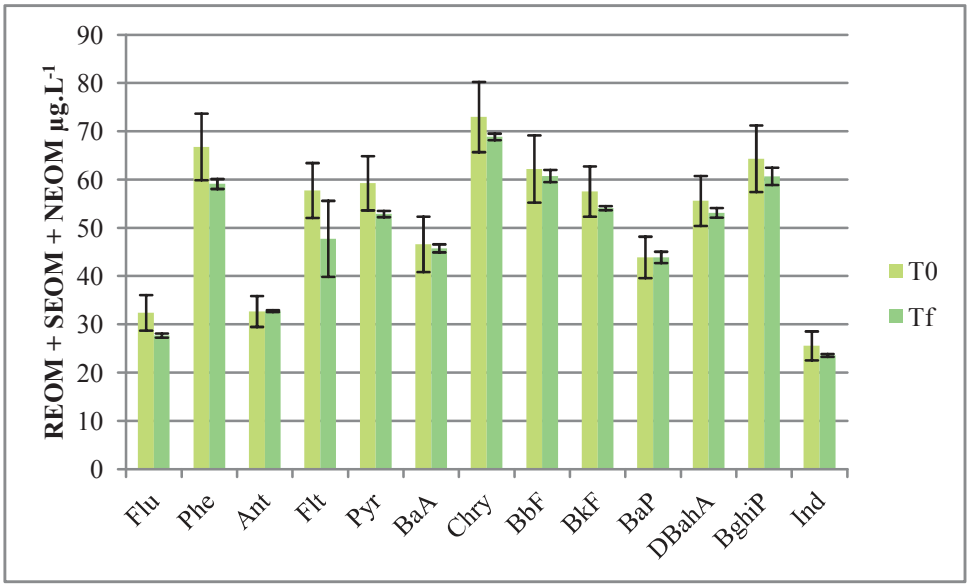



**Figure 33 : concentration de chaque HAP dans la somme des compartiments REOM, SEOM et NEOM à T0 et Tf**

Globalement, il est possible d'estimer le flux des HAP lors de la digestion anaérobie en batch du mélange dopé en HAP (Figure 34).

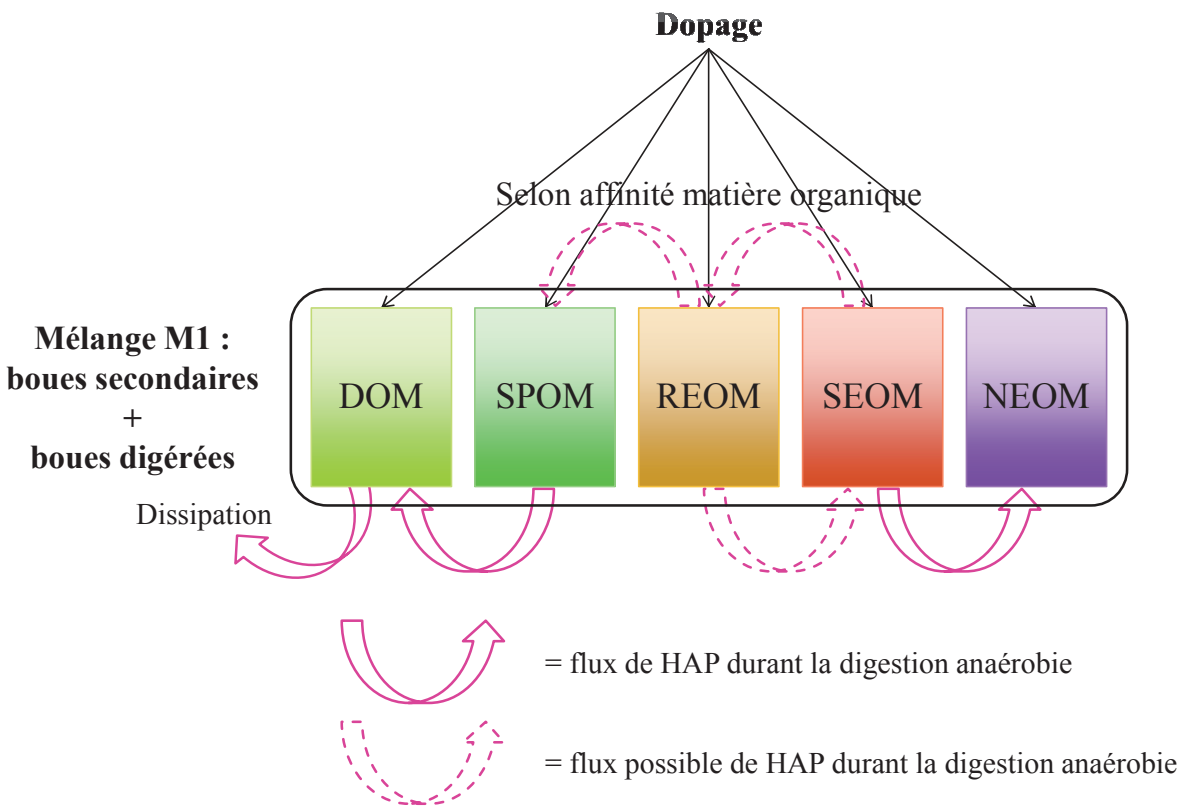



**Figure 34 : flux de HAP lors de la digestion anaérobie du mélange M1 (mélange dopé)**

L'étude de la répartition du mélange M1 avant et après digestion anaérobie permet d'émettre les hypothèses suivantes :

- Les HAP présents dans les compartiments DOM et SPOM sont les HAP dissipés : les HAP présents dans DOM sont dégradés et les HAP présents dans SPOM sont libérés par lyse de la matière organique dans le compartiment DOM où ils sont dégradés ;
- Les composés présents dans REOM et SEOM sont relocalisés vers NEOM, toutefois, il n'est pas possible d'affirmer si la relocalisation a lieu vers NEOM directement ou s'il y a relocalisation pas à pas (les HAP de REOM se relocalisent dans SEOM puis dans NEOM) ;
- Selon les HAP, le compartiment REOM peut se recharger : possible transfert de SEOM vers REOM ;
- Il semble ne pas y avoir d'interactions entre DOM + SPOM et REOM + SEOM + NEOM soit pas d'interactions entre les compartiments les plus accessibles et les compartiments les moins accessibles.

Ici, le mélange permet de déterminer la distribution des HAP avant et après digestion anaérobie pour des polluants dopés. Le mélange M2 permet quant à lui de déterminer la distribution des HAP natifs.

### b) *Mélange M2*

La Figure 35 représente les concentrations initiales et finales des quatre HAP étudiés dans le mélange M2. Les autres ne sont pas présentés car même si détectés, les concentrations sont inférieures aux limites de quantification.

Un test ANOVA (Excel 2007, p value 0,05, Tableau XXIV) montre que les concentrations initiales et finales pour Phe sont statistiquement différentes et pour Flt, Pyr et BbF statistiquement identiques.

**Tableau XXIV : résultats du test ANOVA sur les concentrations initiales et finales des quatre HAP dosés dans le mélange M2**

| Molécule | P value | Statistiquement différent ? |
|---|---|---|
| Phe | $7{,}61.10^{-5}$ | Oui |
| Flt | 0,06 | Non |
| Pyr | 0,86 | Non |
| BbF | 0,60 | Non |

La seule molécule présentant un abattement est le Phe. Ceci est probablement dû au fait qu'il présente moins de cycles que les autres molécules (3 cycles alors que Flt et Pyr 4 cycles et BbF 5 cycles) : il est donc moins hydrophobe et moins complexe, donc potentiellement plus dégradable. L'absence de dissipation pour Flt, Pyr et BbF peut s'expliquer par le fait que la majeure partie du mélange correspond à de la boue digérée : le potentiel de dégradation des molécules est donc probablement arrivé à son maximum et le système n'est plus capable de dégrader les molécules en présence lors de l'incubation (HAP stabilisés lors de la digestion anaérobie des boues).

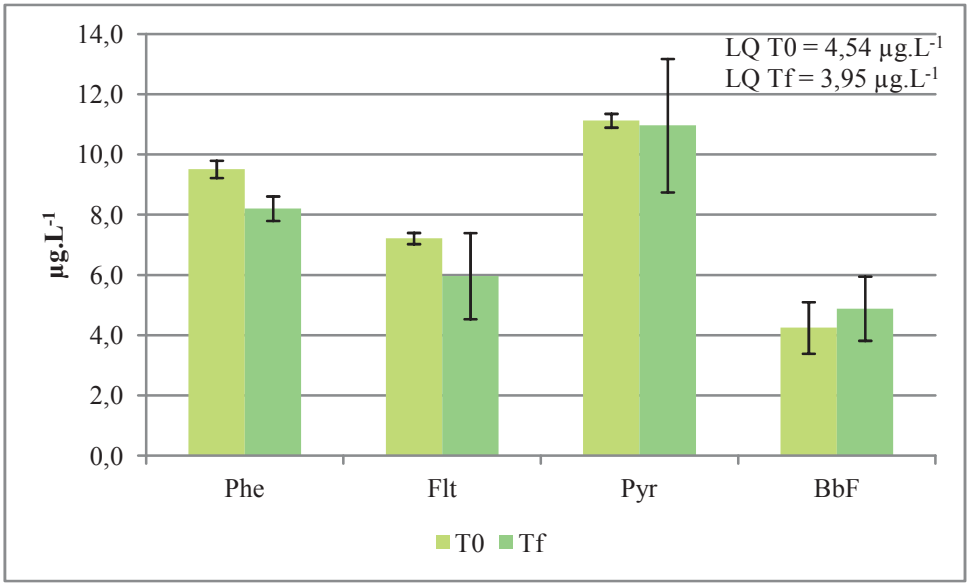



**Figure 35 : concentrations initiales et finales totales en HAP dans le mélange M2**

La Figure 36 représente la répartition des quatre HAP dans les compartiments matière du mélange M2 en pourcentages de la concentration totale initiale de la molécule étudiée.

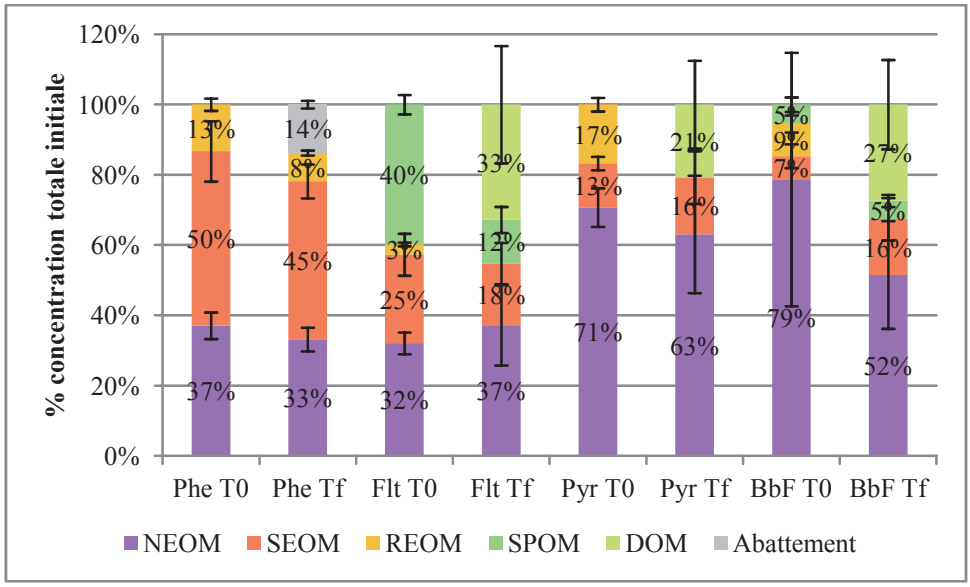



**Figure 36 : répartition des HAP dans les compartiments matière du mélange M1 à T0 et Tf**

Malgré des concentrations proches des limites de quantification (LQ), une différence de répartition des HAP est constatée dans les compartiments matière. Phe, Pyr et BbF ont une répartition semblable à T0 avec une forte présence dans les compartiments REOM, SEOM et NEOM qui sont peu à difficilement accessibles. Le Flt présente une fraction élevée dans SPOM contrairement aux trois autres. De plus, pour tous les HAP, la présence dans le compartiment NEOM est d'autant plus élevée que le poids moléculaire du HAP est élevé.

A Tf, Flt, Pyr et BbF apparaissent dans le compartiment DOM alors que le Phe y est absent. Phe est dégradé, une hypothèse serait que le Phe libéré dans la phase aqueuse (DOM) est dégradé au cours de la digestion anaérobie. Il faut toutefois faire attention aux résultats car l'erreur est élevée pour la plupart des molécules : en effet, les concentrations sont proches des limites de quantification ce qui augmente les erreurs. Il est possible que la quantité de HAP dans la fraction DOM soit ici surestimée : dans la thèse de Barret, 2009, les HAP (dopés) présents dans la fraction DOM ne représentent que 5 à 10 % de la concentration totale.

La digestion anaérobie a un effet sur la répartition des HAP au sein de la matrice boue même s'il n'y a pas d'effet sur la dissipation (sauf pour Phe) avec le passage des molécules vers des compartiments plus accessibles.

Il est constaté que le compartiment NEOM n'évolue pas (sauf éventuellement pour BbF mais l'erreur est trop grande pour pouvoir conclure). Ainsi, il semble que les HAP vieillis au contact de la boue soient fortement sorbés sur la matière organique réfractaire et ne soient dès lors pas accessibles, ni dégradables. La sorption de ces composés sur la matière organique du compartiment NEOM semble très forte puisqu'une modification de la localisation des HAP est constatée dans les autres compartiments alors que le pourcentage dans le compartiment NEOM ne varie pas. De plus, il semble que le poids moléculaire intervient dans la sorption sur le compartiment NEOM (en lien avec

l'hydrophobicité du HAP) puisque les HAP les plus lourds présentent une fraction sur le NEOM plus importante que les HAP les plus légers. Ce résultat confirme l'observation faite sur le mélange dopé.

La modification de la localisation des HAP lors de la digestion anaérobie semble correspondre à un passage des composés vers des compartiments plus facilement extractibles : pour Phe, une partie du compartiment REOM est éliminée, pour Flt, Pyr et BbF une fraction apparaît dans la phase aqueuse. Cette modification de la localisation des HAP vers des compartiments plus accessibles pose donc une question : est-ce qu'un temps d'incubation plus long permettrait de dégrader les HAP qui migrent vers les compartiments plus accessibles ? Dans l'optique d'améliorer l'élimination des HAP lors du traitement biologique des boues, un temps de séjour plus long lors de la digestion anaérobie permettrait d'augmenter l'abattement de ces composés. Pour les HAP natifs, une relocalisation des HAP vers des compartiments plus accessibles est constatée, une sorption forte sur le compartiment NEOM est aussi notée et la dissipation des composés est quasi nulle.

Lors de la digestion anaérobie, les HAP natifs évoluent de la façon suivante (Figure 37) :

- La quantité contenue dans les fractions les moins accessibles et les moins dégradables n'évoluent pas (SEOM + NEOM) ;
- L'hydrolyse de la matière organique permet de transférer les HAP vers des compartiments plus accessibles, étant donné que les HAP sont majoritairement localisés dans les compartiments peu accessibles, la libération vers les compartiments les plus accessibles est lente et donc la dissipation est faible.

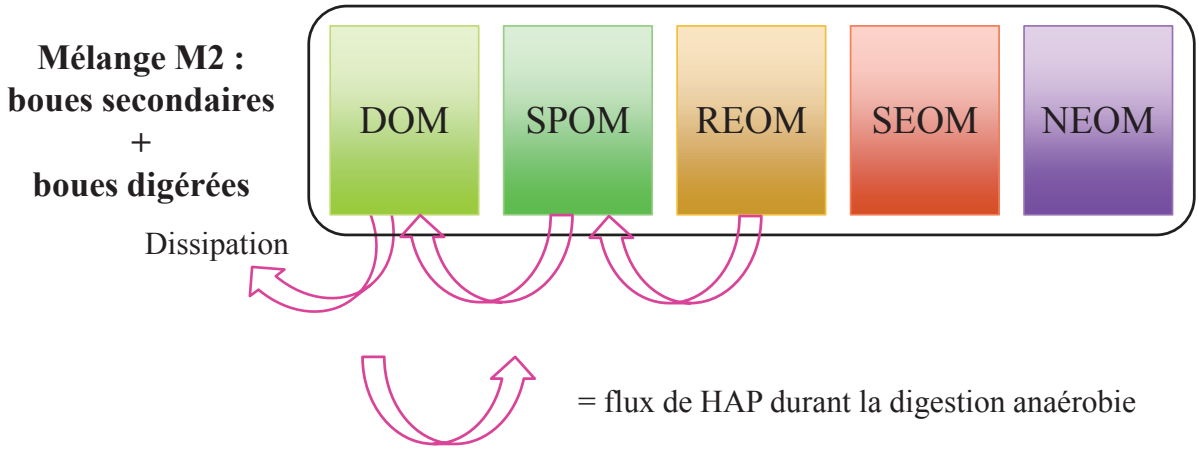



**Figure 37 : flux de HAP lors de la digestion anaérobie du mélange M2 (mélange non dopé)**

La répartition des HAP est ensuite étudiée dans un mélange (M3) où l'inoculum est différent.

### *c) Mélange M3*

Les 13 HAP sont dosés dans le mélange M3 avant et après incubation (Figure 38). Ant est éliminé de l'analyse car sa concentration est inférieure à la LQ. Le BbF n'est pas détecté dans le mélange.

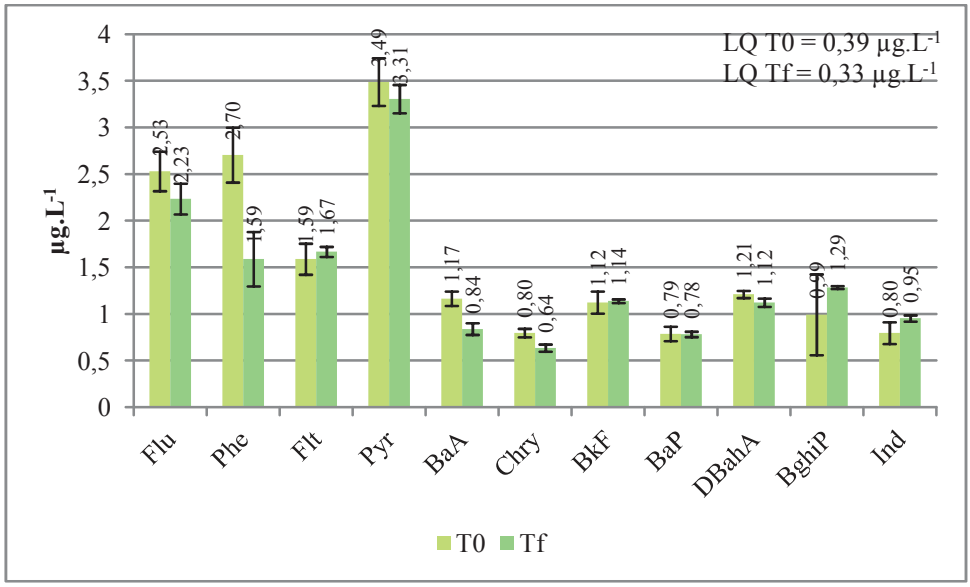



**Figure 38 : concentrations initiales et finales totales en HAP dans le mélange M3**

La contamination en HAP est très faible dans ce mélange. De plus, peu de dissipation est constatée excepté pour les composés présentant des concentrations plus élevées que leurs congénères : Flu, Phe, Pyr ainsi que BaA et Chry.

Comme pour les deux autres mélanges, la répartition des HAP dans les compartiments est représentée Figure 39 et Figure 40, respectivement au début et en fin d'incubation anaérobie.

La sorption sur le compartiment NEOM est très élevée pour ce mélange, la structure en grain de l'inoculum permet probablement de capter et maintenir les polluants. Selon le HAP étudié, la répartition dans les compartiments est variable, ici aucun groupe ne se distingue. Il faut bien noter que les concentrations mesurées sont faibles et que les erreurs faites sont élevées d'où une précision moindre sur la répartition des HAP dans les compartiments matière que pour le mélange dopé en HAP. Ici encore, une relocalisation des HAP dans les compartiments matière est notée. Le déplacement s'effectue vers des compartiments plus accessibles lors de la digestion anaérobie. La dégradation des grains de l'inoculum peut expliquer ce phénomène : les HAP piégés à l'intérieur des grains sont libérés dans des compartiments plus accessibles lorsque le grain se « dissocie » dans le mélange lors de l'incubation.

Les taux de dissipation sont parfois élevés (*e.g.* Phe). Ceci peut s'expliquer par les faibles teneurs en HAP : une légère diminution de la concentration peut entraîner un grand abattement.

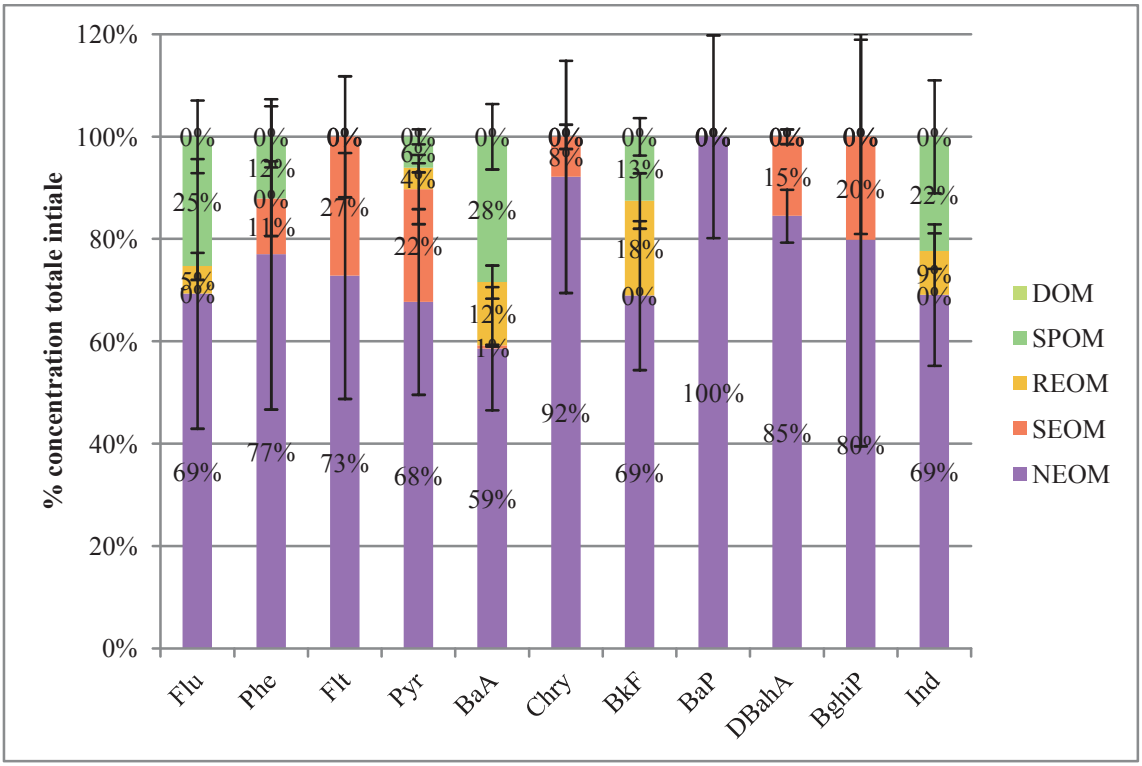



**Figure 39 : répartition des HAP dans le mélange M3 initial (T0)**

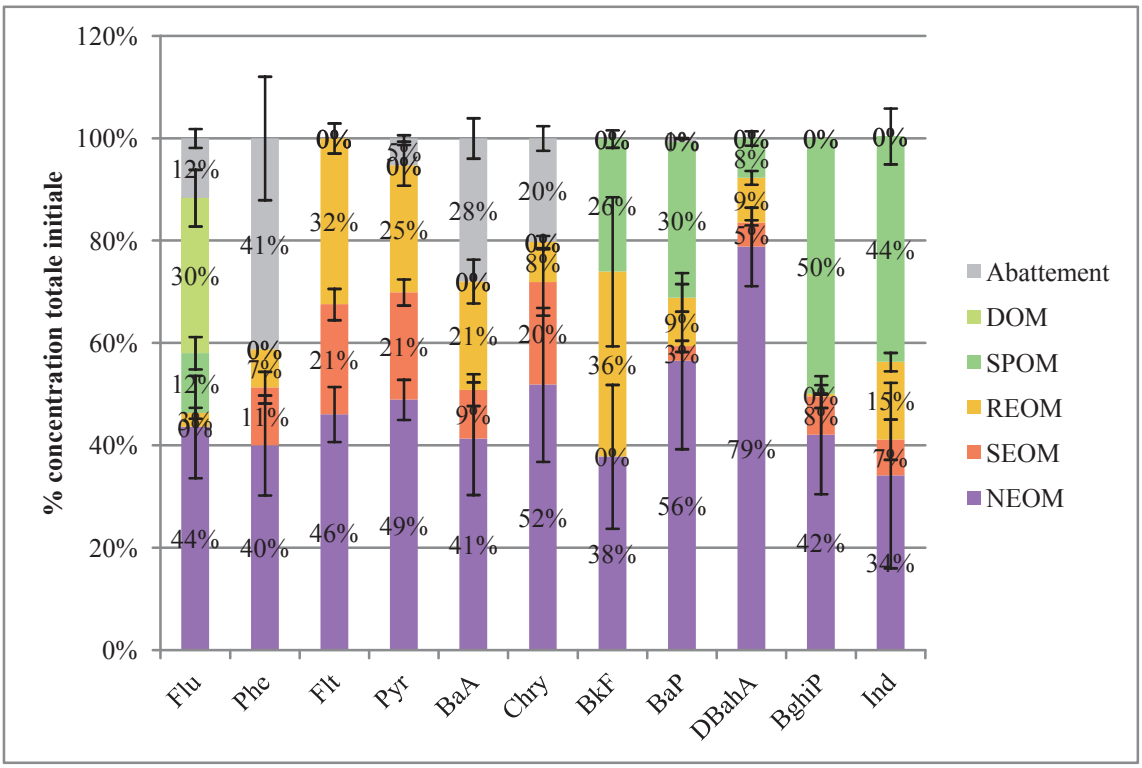



**Figure 40 : répartition des HAP dans le mélange M3 après incubation (Tf)**

Lors de la digestion anaérobie du mélange M3, les HAP se relocalisent vers des compartiments plus accessibles (Figure 41).

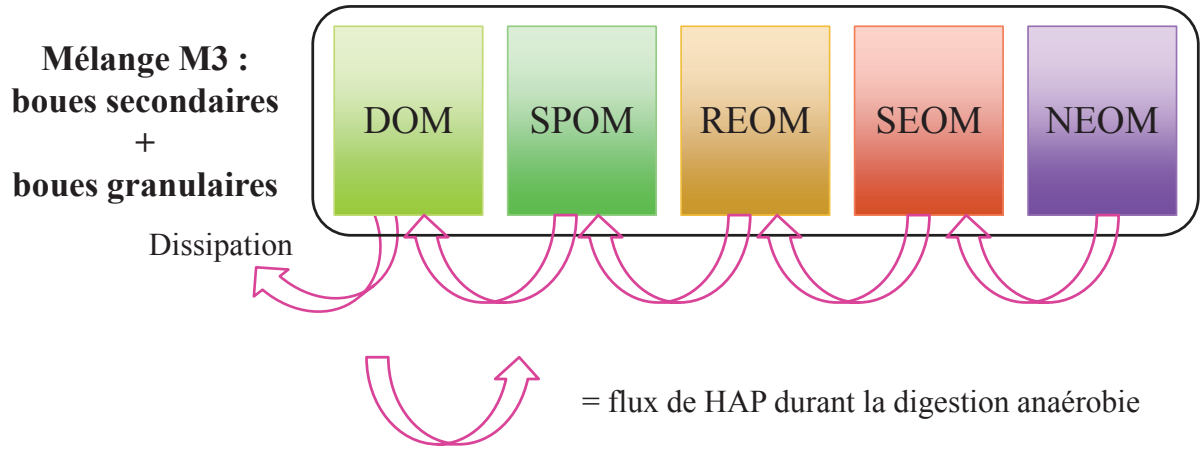



**Figure 41 : flux de HAP lors de la digestion anaérobie du mélange M3 (mélange non dopé avec boues granulaires)**

### *d) Comparaisons du comportement des HAP entre incubations*

Sont comparés ici seulement trois composés, ceux communs aux trois matrices : Phe, Flt et Pyr (Figure 42 et Figure 43).

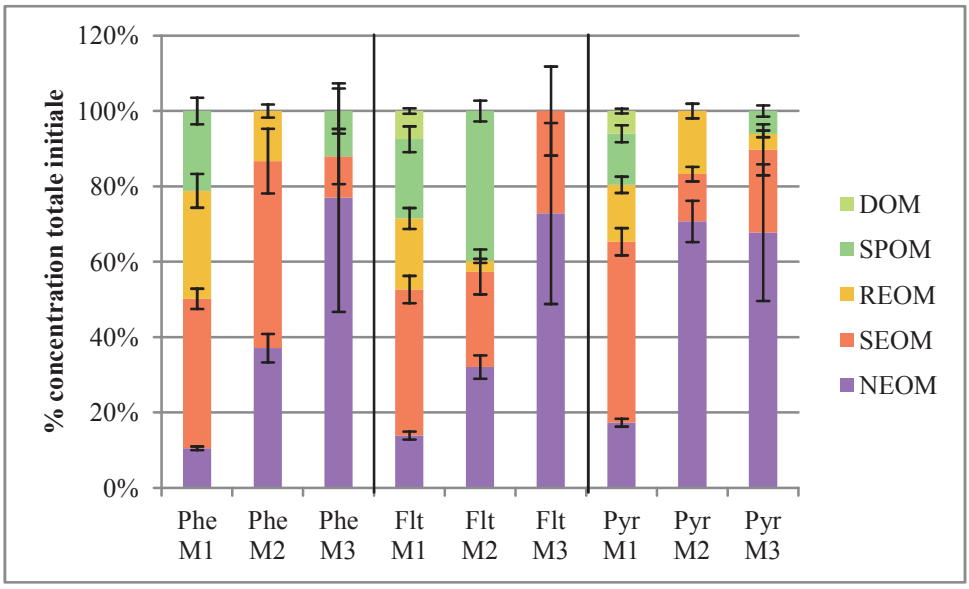



**Figure 42 : répartition de trois HAP (Phe, Flt et Pyr) dans les trois mélanges avant incubation (T0)**

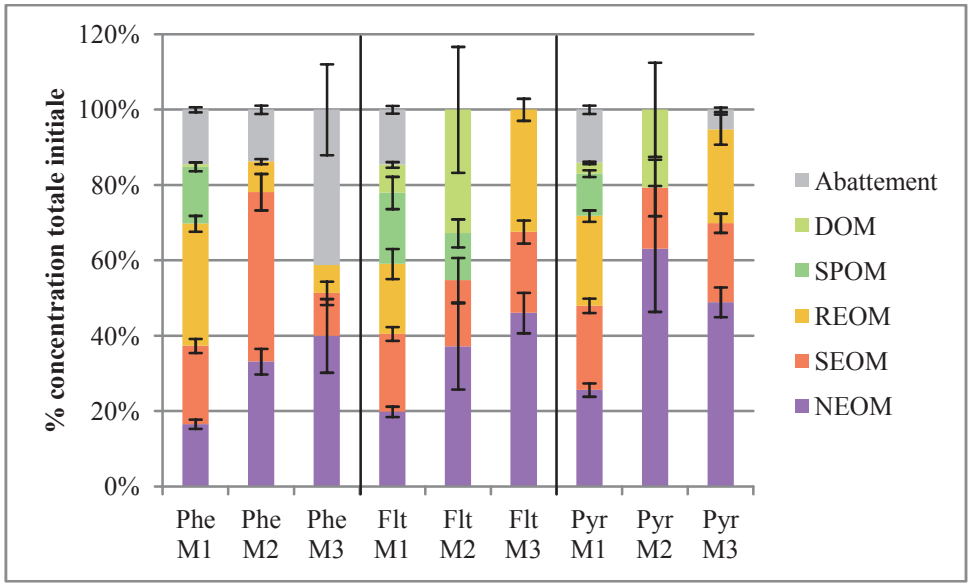



**Figure 43 : répartition de trois HAP (Phe, Flt et Pyr) dans les trois mélanges après incubations (Tf)**

Avant incubation, la fraction dans la phase aqueuse (DOM) est faible voire nulle dans tous les mélanges quel que soit le HAP étudié. En effet, de par leurs propriétés hydrophobes, les HAP se sorbent sur la phase particulaire des boues. De plus, les HAP qui se sorbent sur les colloïdes présents dans les boues se lient à ceux de grandes tailles (Cea-Barcia, 2012). Or, les conditions de centrifugation utilisées sont relativement fortes (18 600g, 30 min, 4°C). Ainsi, les « gros » colloïdes peuvent être associés à la phase particulaire des boues.

La répartition initiale entre les HAP dopés et les HAP natifs est différente. Les HAP natifs sont plus présents dans les compartiments les moins accessibles (SEOM et NEOM) alors que les HAP dopés se localisent dans les compartiments plus accessibles (DOM, SPOM, REOM). Cette différence de localisation entre les HAP natifs et dopés pourraient expliquer les différences d'abattement entre les mélanges M1 et M2. En effet, les HAP dopés sont plus accessibles à T0 donc sont plus facilement dissipés. La différence entre les mélanges M2 et M3 montre l'influence de la matière organique. En effet, la sorption sur le compartiment NEOM est plus forte pour le mélange M3 (boues granulaires). Cela pourrait être dû à l'âge des boues plus important dans le cas des boues granulaires et à leur nature (constituée de molécules plus stables et complexes).

La différence de répartition entre les HAP dopés et natifs s'explique par le fait que les HAP dopés n'ont pas « vieilli » avec la matrice, c'est-à-dire que les molécules polluantes n'ont pas subi les différents traitements appliqués aux boues contrairement aux polluants natifs du mélange M2 qui eux ont co-évolué dans la matrice au cours du traitement et donc de la modification de la matière organique des boues. Le mélange M1 est intéressant car le dopage maximise les processus impliqués dans la dissipation des HAP lors de la digestion anaérobie permettant ainsi de comparer les molécules entre elles, de déterminer s'il y a un potentiel de dissipation (non constatable avec les polluants natifs) et de voir les différences de comportements des différents HAP au moment de leur ajout : comment se

répartissent-ils dans la matrice ? Est-ce que cette répartition initiale peut avoir un impact sur le devenir des HAP lors de la digestion anaérobie ? Le dopage permet donc de voir le « vieillissement » des HAP lors du traitement par digestion anaérobie des boues. La comparaison entre les mélanges M1 et M2 montre que le dopage change l'accessibilité des HAP. Cette accessibilité variable montrée par la technique de fractionnement permet d'expliquer les biais ou différences de comportements observés dans la littérature entre des polluants natifs et dopés (Eggen and Majcherczyk, 1998) : souvent l'hypothèse formulée pour expliquer ces différences est la différence de disponibilité, qui sous-entend une accessibilité différente mise en évidence par les extractions séquentielles. De la même façon, en chimie analytique, les composés deutérés ajoutés en début d'extraction sont utilisés pour compenser les effets matrices, mais les résultats présentés ici montrent bien qu'une molécule ajoutée fraîchement ne va pas se distribuer de la même façon et ne sera donc pas extraite de façon similaire aux polluants vieillis.

L'effet du changement d'inoculum est visible sur la répartition des HAP à T0. En effet, le changement de structure du mélange conduit à un changement dans la répartition des HAP dans les différents compartiments matière du mélange. Ceci souligne la pertinence de la méthode de fractionnement couplée à l'analyse des polluants qui permet de discriminer des types de boues très différents.

Il apparaît donc que les composés natifs sont en général sorbés sur les fractions les moins accessibles de la matière organique contrairement aux HAP dopés. Le vieillissement de la matrice ne semble pas être la seule raison des différences de localisation : la structure et la composition du mélange ainsi que les propriétés physicochimiques de la molécule doivent aussi avoir un impact sur cette répartition.

Un abattement du Phe est constaté dans les trois mélanges. Un abattement élevé semble correspondre à une fraction SPOM élevée. Toutefois, le mélange M2 à T0 ne présente pas de Phe dans son compartiment SPOM et un abattement est malgré tout constaté. Il est possible qu'au cours de la digestion anaérobie, le compartiment SPOM soit rechargé puis que le Phe présent soit libéré vers la fraction DOM pour être ensuite dégradé. Pour le Phe natif, les fractions des compartiments SEOM et NEOM évoluent peu voire pas du tout. Ainsi, la dégradation de cette molécule semble liée à sa présence dans les compartiments SPOM et REOM. Pour le Phe apporté par dopage, la fraction NEOM augmente légèrement et la fraction SEOM diminue. La fraction dans REOM reste constante alors que la fraction SPOM diminue légèrement. Il semble que deux mécanismes entrent en compétition lors de l'incubation de ce mélange : relocalisation des polluants dans les différents compartiments de la matrice et dissipation des polluants probablement par dégradation. Ces phénomènes sont peu marqués dans les autres mélanges car les HAP natifs ont déjà « trouvé leur place » au sein de la matrice.

Un abattement en Flt est constaté seulement pour le mélange M1. Cependant, dans les trois mélanges, un déplacement du Flt vers des compartiments plus accessibles est remarqué (apparition de la

molécule dans le compartiment aqueux pour M2, diminution de la teneur dans le compartiment SEOM pour M1 et déplacement vers SPOM pour M3).

Les mêmes remarques peuvent être faites pour Pyr. De plus, il est constaté la présence de Pyr dans le compartiment SPOM du mélange M3 et un abattement de la molécule après incubation alors que Flt n'est pas présent dans SPOM et n'est pas éliminé lors de l'incubation du mélange M3.

La comparaison des trois mélanges en termes de flux de HAP montre trois schémas différents. Toutefois, les différences peuvent s'expliquer : pour les mélanges contenant des boues digérées, la quantité dans les compartiments peu accessibles change peu ce qui n'est pas le cas pour le mélange M3 (boues granulaires). Cela peut s'expliquer par le phénomène de dégranulation (diminution de la DCO du compartiment NEOM du mélange M3). Pour M2 le compartiment REOM recharge probablement le compartiment SPOM alors qu'aucune interaction n'apparaît pour le mélange M1. Toutefois, le mélange M1 est dopé donc les mécanismes sont maximisés, il n'y a probablement pas de mise en place de l'interaction SPOM / REOM pour ce mélange. Dans tous les cas, il apparaît un mécanisme commun aux trois mélanges durant la digestion anaérobie : relocalisation des HAP présents dans des compartiments peu accessibles vers des compartiments plus accessibles. La question étant de savoir si ces mécanismes sont liés à l'évolution de la matière organique de chaque fraction (quantité et qualité).

Etant donné qu'ici deux phénomènes antagonistes apparaissent : localisation dans des compartiments peu accessibles puis relocalisation vers des compartiments plus accessibles, une question se pose. Est-ce que la répartition initiale est imposée par l'inoculum qui représente 80 % de la matière sèche du mélange d'où une forte sorption sur les compartiments peu accessibles ? Est-ce que la présence d'un substrat (boues) est responsable du déplacement lors de l'incubation vers des compartiments plus accessibles ?

Il faudrait éventuellement pour répondre à ces questions étudier une incubation d'un inoculum seul (incubation sans ajout de boues ou autre substrat) et essayer de travailler sur une matrice biologique « à l'équilibre » (réacteur continu). Il pourrait être aussi intéressant de compléter ces résultats avec une étude « dynamique », c'est-à-dire mettre en place une incubation avec plusieurs fioles et de sacrifier des fioles à intervalle régulier et de regarder l'évolution des compartiments matières et des HAP à chaque sacrifice.

### 2. Répartition des NP, NP1EO et NP2EO au sein des compartiments matière

Comme pour les HAP, les mélanges seront d'abord décrits un par un puis ils seront comparés.

### a) *Mélange M1*

Ce mélange a été uniquement dopé en NP avec une concentration de 30 mg.kg $MS^{-1}$. Les NP1EO et NP2EO quantifiés sont ceux présents naturellement. Les analyses de NPnEO n'ont été d'ailleurs possibles que sur le mélange total et la phase particulaire du mélange (interférences lors de la quantification des NP1EO et NP2EO par HPLC). Les analyses de NP ont quant à elles été effectuées sur les différents compartiments du mélange.

La Figure 44 représente la répartition des NP (dopés) et NPnEO (natifs) en pourcentage de la concentration totale initiale. Tout comme pour les HAP, une répartition des molécules au sein des compartiments matière est constatée.

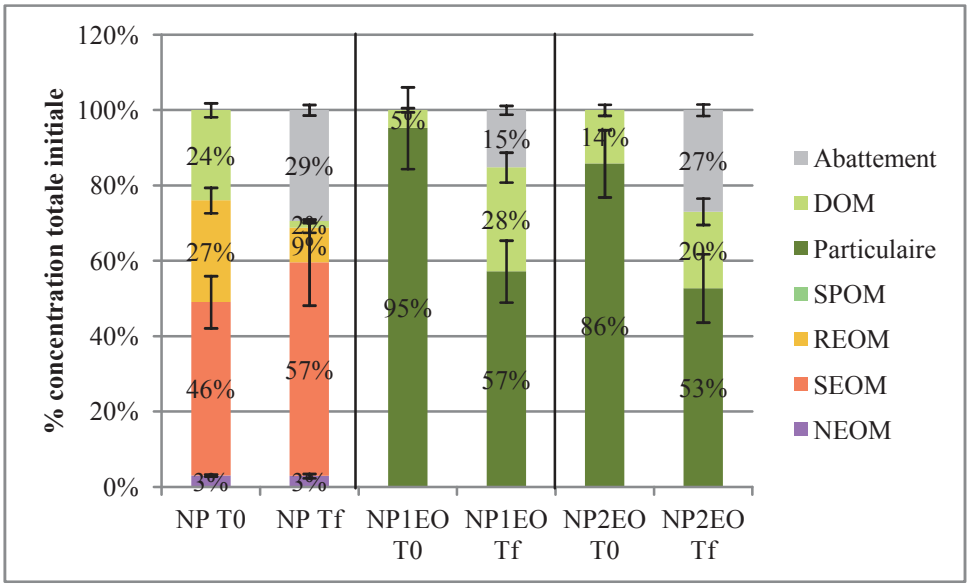



**Figure 44 : répartition des NP et NPnEO au sein des compartiments du mélange M1 avant et après incubation**

A T0, les NP sont présents dans la fraction DOM à hauteur de 24 %. Les NP restant sont présents dans la phase particulaire et particulièrement dans les fractions REOM et SEOM. La fraction présente dans le compartiment NEOM est très faible (3 % de la concentration totale). Un abattement de 29 % est constaté lors de l'incubation. Cet abattement semble correspondre aux NP présents dans la phase aqueuse et dans la fraction REOM puisque le pourcentage de NP dans ces deux fractions diminue. Il semble y avoir un enrichissement de la fraction SEOM mais l'erreur est trop grande pour pouvoir affirmer cela. La fraction NEOM reste inchangée.

La fraction des NPnEO dans la fraction DOM augmente au cours de l'incubation ; en même temps la fraction particulaire des NPnEO diminue au cours de l'incubation : il semble que lors de l'hydrolyse de la phase particulaire, les composés sont relargués vers la fraction DOM. Etant donné qu'un abattement est constaté, il est probable que les composés dégradés sont ceux présents dans la fraction DOM. La dégradation des composés étant probablement plus lente que la dégradation de la matière organique, un enrichissement de la fraction DOM est constaté.

La dégradation des composés éthoxylés conduit à la formation de composés à chaînes éthoxylées plus courtes ou à la formation de NP. Un bilan molaire est réalisé sur les composés afin d'estimer l'abattement réel des NP et NPnEO en tenant compte des composés formés au cours de la digestion anaérobie (Tableau XXV). Ce bilan peut être faussé par la présence de NPnEO, n > 2, qui ne sont pas dosés dans le mélange.

**Tableau XXV : bilan molaire des NP, NP1EO et NP2EO dans le mélange M1**

| | T0 µmol.L$^{-1}$ | Tf µmol.L$^{-1}$ | µmol.L$^{-1}$ éliminées | Abattement réel |
|---|---|---|---|---|
| NP2EO | 0,070 | 0,051 | 0,019 | 27 % |
| NP1EO | 0,296 + 0,019 = 0,315 | 0,251 | 0,064 | 20 % |
| NP | 2,305 + 0,064 = 2,369 | 1,627 | 0,742 | 31 % |

L'abattement réel en NP n'est pas beaucoup plus élevé que l'abattement observé. Ainsi, il apparaît que la plus grande partie des NP dissipés proviennent du dopage. Ce résultat est cohérent avec ceux sur les HAP où la dissipation des HAP dopés est plus élevée pour les composés les plus accessibles.

Il semble donc que le devenir des NP soit le suivant lors de l'incubation anaérobie (Figure 45) :

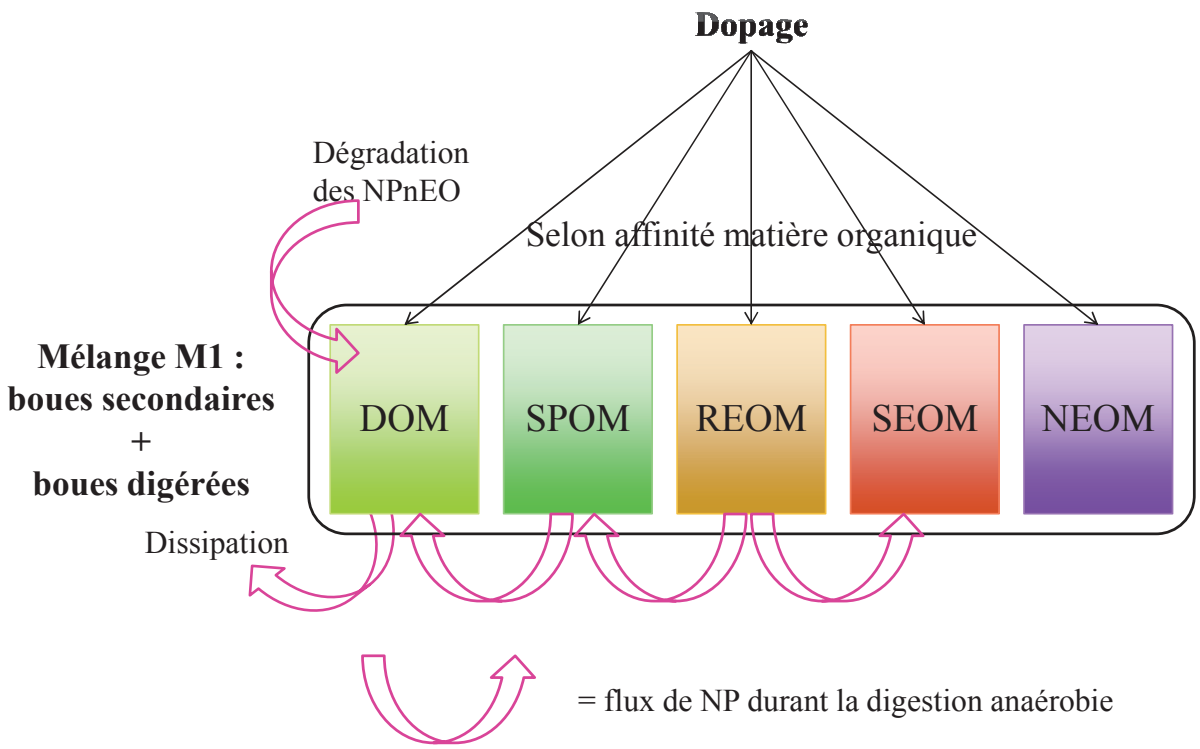



**Figure 45 : flux de NP lors de l'incubation anaérobie du mélange M1 (mélange dopé)**

Les NP les plus disponibles (ceux présents dans la fraction DOM) sont dégradés. Il est probable que la fraction REOM soit une fraction « pivot » : les NP présents dans cette fraction sont soit relocalisés vers la fraction SEOM soit libérés vers les fractions plus accessibles pour être dégradés.

De la même manière, est représenté le devenir des NPnEO lors de la digestion anaérobie (Figure 46).

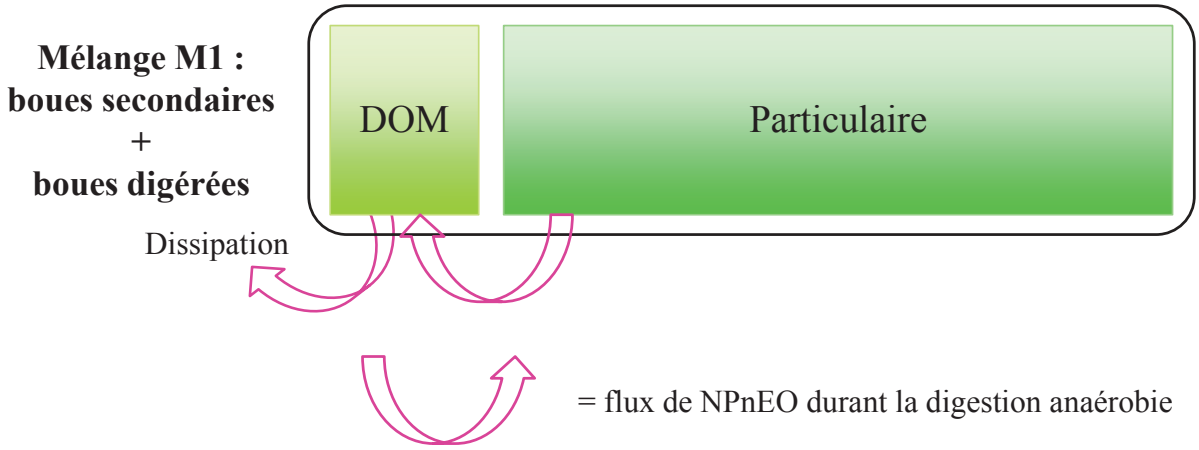



**Figure 46 : flux de NPnEO lors de l'incubation anaérobie du mélange M1 (NPnEO natifs)**

Les HAP dopés ont un comportement légèrement différent des HAP natifs puisque le dopage maximise les mécanismes impliqués dans le devenir de ces molécules : une différence entre les NP natifs et dopés existe-t-elle ?

### *b) Mélange M2*

La Figure 47 représente la répartition des NP, NP1EO et NP2EO dans les compartiments matière du mélange M2 à T0 et Tf :

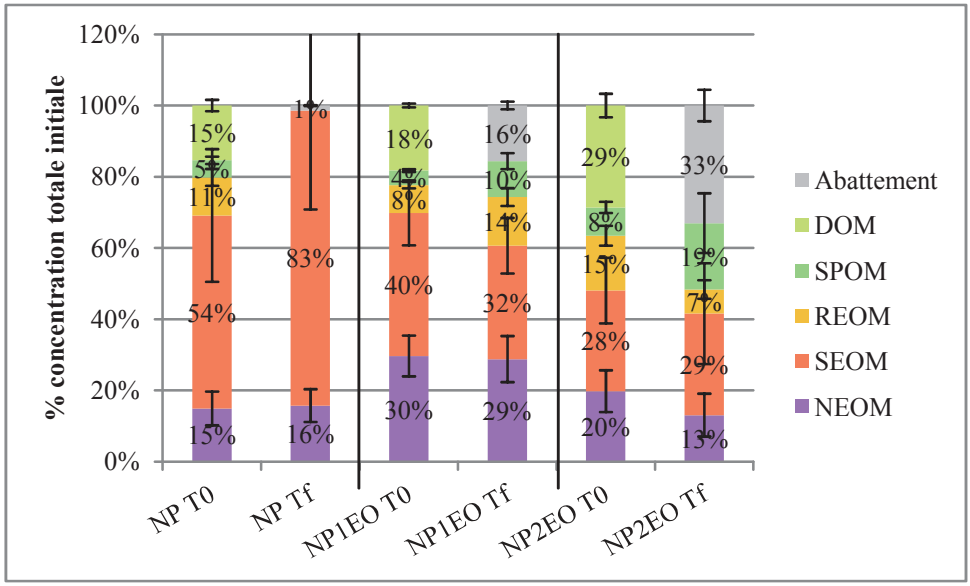



**Figure 47 : répartition des NP, NP1EO et NP2EO au sein des compartiments matière du mélange M2**

A T0, la répartition des NP et NP1EO est proche dans les compartiments DOM, SPOM et REOM. Toutefois, les NP sont plus présents dans le compartiment SEOM que les NP1EO et inversement pour

la fraction NEOM. Malgré des solubilités différentes, les pourcentages de NP et NP1EO dans la fraction DOM sont très proches : il est probable que pour les NP et NP1EO natifs il y ait aussi l'effet de vieillissement au contact de la boue à prendre en compte. Le NP2EO a une répartition différente à T0. Le pourcentage dans la fraction DOM est le double de celui des NP et NP1EO. Les fractions SPOM et REOM sont légèrement plus présentes pour le NP2EO que pour les NP et NP1EO. La fraction SEOM est moindre et la fraction NEOM est très proche de celle des NP.

L'abattement des composés est dans l'ordre de « facilité » de dégradation communément admis (Soares et al., 2008) : NP2EO > NP1EO > NP. La répartition dans les compartiments matière peut expliquer ces différences puisque les NP2EO sont plus présents dans les compartiments accessibles que les NP1EO et les NP. Tout comme pour le NP2EO, le pourcentage d'abattement des NP1EO semble correspondre au pourcentage initialement présent dans la fraction DOM ce qui tend à prouver que la dégradation de ces composés a lieu dans cette fraction. Ceci est cohérent avec les résultats du paragraphe précédent. En effet, l'inoculum utilisé pour l'incubation du mélange M1 est le même que celui utilisé pour le mélange M2 mais vieilli pendant 3 semaines à 35°C. Or, la présence des NP1EO et NP2EO, qui sont aussi natifs dans le mélange M1, est plus faible dans la fraction DOM du mélange M1 que pour le mélange M2 (dégradation des NPnEO lors du stockage de l'inoculum, entraînant une répartition initiale et donc un devenir différents des composés lors de l'incubation). Pour le NP, le taux d'abattement est très faible et, alors que la fraction NEOM n'évolue pas, un fort enrichissement de la fraction SEOM est constaté. Les NP en fin d'incubation sont uniquement présents dans SEOM et NEOM. Pour les NP1EO et NP2EO, la fraction dans le compartiment NEOM n'évolue pas, la fraction SEOM diminue peu ou pas du tout, la fraction DOM disparaît. Les fractions SPOM et REOM s'enrichissent au détriment de la fraction SEOM pour les NP1EO et la fraction SPOM s'enrichie pour les NP2EO alors que la fraction REOM diminue.

Comme pour le mélange M1, un bilan molaire est réalisé pour les différents composés (Tableau XXVI).

**Tableau XXVI : bilan molaire des NP, NP1EO et NP2EO dans le mélange M2**

| | **T0 µmol.L$^{-1}$** | **Tf µmol.L$^{-1}$** | **µmol.L$^{-1}$ éliminées** | **Abattement réel** |
|---|---|---|---|---|
| NP2EO | 0,116 | 0,078 | 0,038 | 33 % |
| NP1EO | 0,373 + 0,038 = 0,412 | 0,315 | 0,097 | 23 % |
| NP | 0,152 + 0,097 = 0,249 | 0,150 | 0,099 | 40 % |

Il apparaît que l'abattement réel en NP1EO est supérieur à l'abattement constaté précédemment. De plus, un abattement très faible voire nul est constaté pour les NP (calculé sans tenir compte de

NPnEO) alors qu'en réalité, le procédé de digestion anaérobie est capable de fortement dissiper ces composés (Patureau et al., 2008).

Il semble donc que lors de la digestion anaérobie, les NP se concentrent dans la phase particulaire (SEOM) et que les composés produits par dégradation des NPnEO dans la fraction DOM sont dégradés dans cette fraction ou contribuent à l'enrichissement de la phase particulaire (Figure 48).

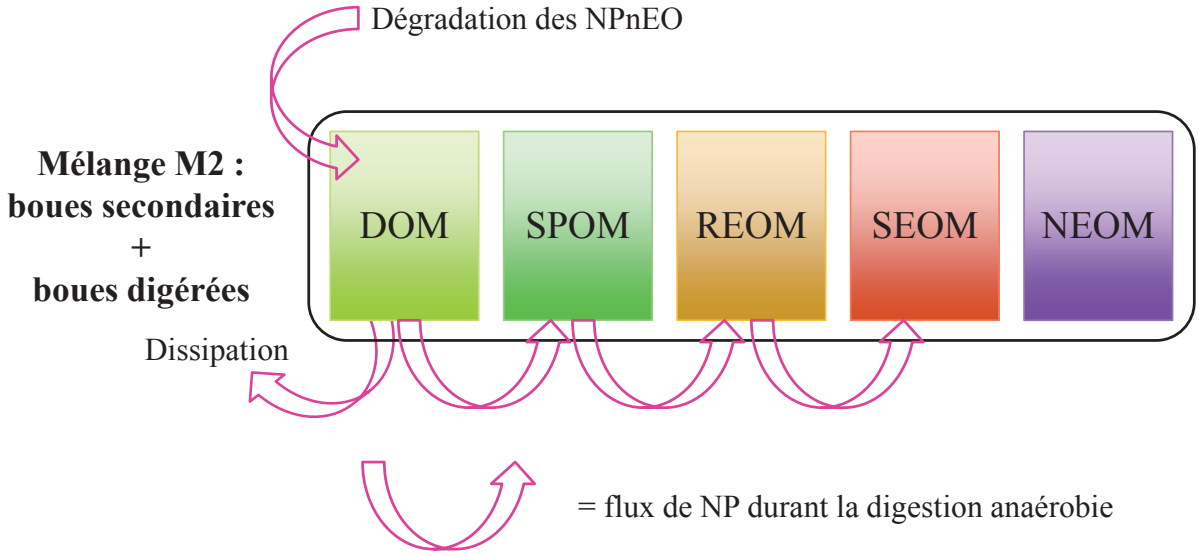



**Figure 48 : flux de NP lors de la digestion anaérobie du mélange M2 (mélange non dopé)**

Pour les NPnEO, le devenir semble être le suivant (Figure 49).

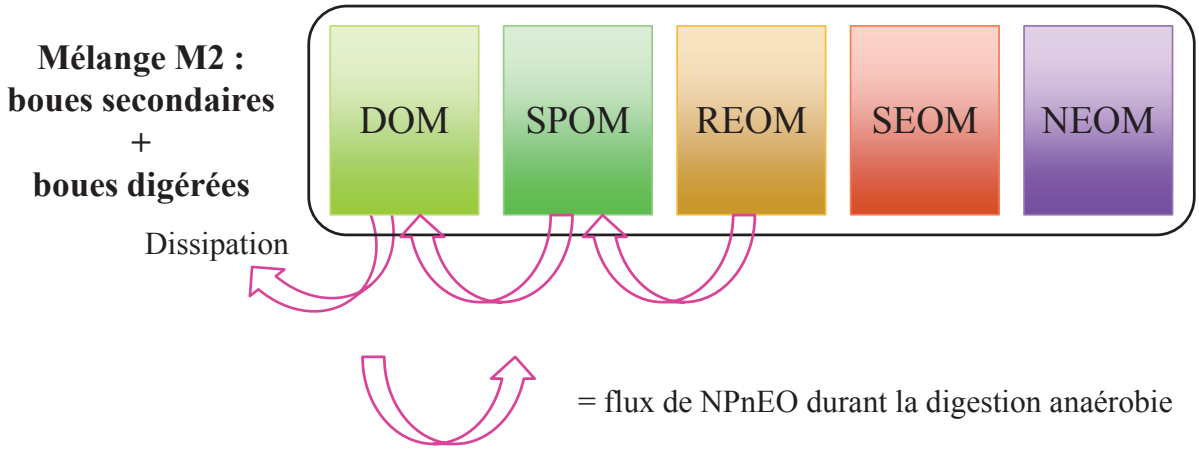



**Figure 49 : flux de NPnEO lors de la digestion anaérobie du mélange M2 (mélange non dopé)**

### *c) Mélange M3*

La Figure 50 représente la répartition des NP, NP1EO et NP2EO au sein des compartiments matière du mélange M3 avant et après incubation.

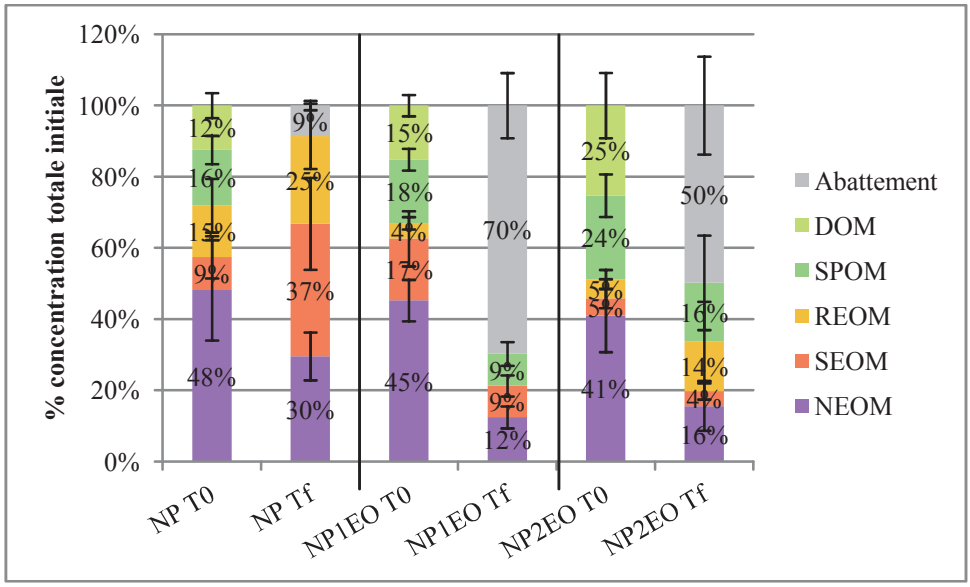



**Figure 50 : répartition des NP, NP1EO et NP2EO dans les compartiments matière du mélange M3**

La présence du compartiment NEOM est très importante à T0 (41 à 48 %) pour les trois composés. Les compartiments accessibles (DOM et SPOM) sont aussi importants. Un fort abattement des NPnEO est constaté. Les NP sont aussi dégradés lors de l'incubation. Après incubation, les NP sont relocalisés vers les fractions REOM et SEOM. La fraction NEOM diminue au profit de ces deux dernières. Ici, il semble que l'abattement des NP soit lié à leur présence dans la fraction DOM. Pour les NPnEO, la fraction DOM disparaît et presque tous les compartiments matière de la phase particulaire diminuent montrant ainsi la contribution des composés présents dans la phase particulaire à l'abattement total des composés.

Le mélange M3 montre donc une bonne capacité de dégradation/dissipation des NPnEO (Tableau XXVII). Ici aussi, une relocalisation des NP vers des compartiments moins accessibles est observée.

**Tableau XXVII : bilan molaire des NP, NP1EO et NP2EO dans le mélange M3**

| | T0 µmol.L$^{-1}$ | Tf µmol.L$^{-1}$ | µmol.L$^{-1}$ éliminées | Abattement réel |
|---|---|---|---|---|
| NP2EO | 0,037 | 0,019 | 0,018 | 50 % |
| NP1EO | 0,063 + 0,018 = 0,081 | 0,019 | 0,062 | 77 % |
| NP | 0,087 + 0,062 = 0,150 | 0,080 | 0,070 | 47 % |

Les flux de NP et NPnEO semblent donc être les suivants (Figure 51 et Figure 52) :

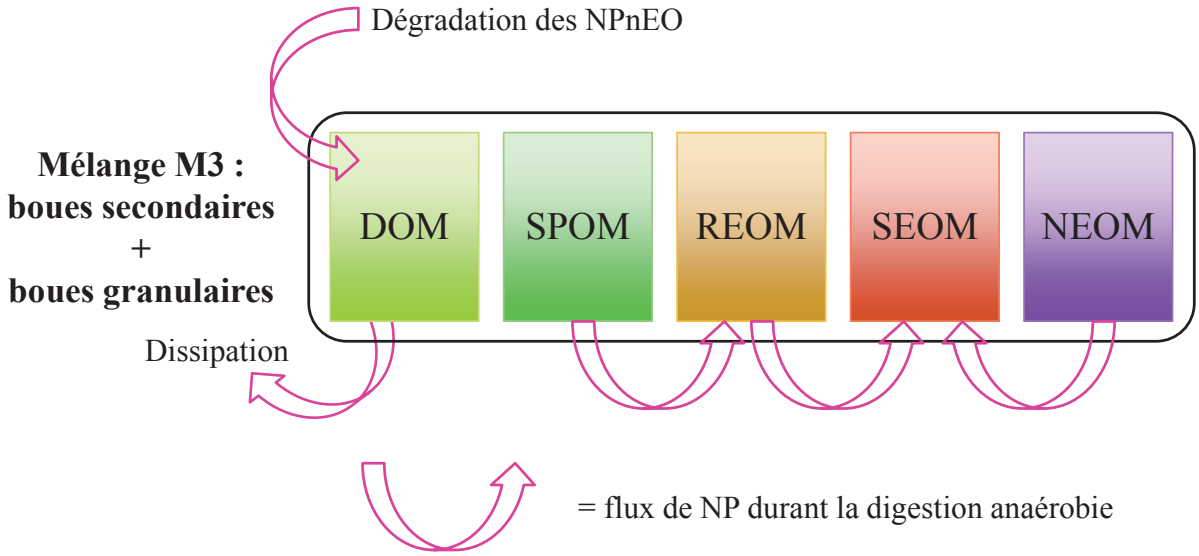



**Figure 51 : flux de NP lors de la digestion anaérobie du mélange M3 (mélange non dopé avec boues granulaires)**

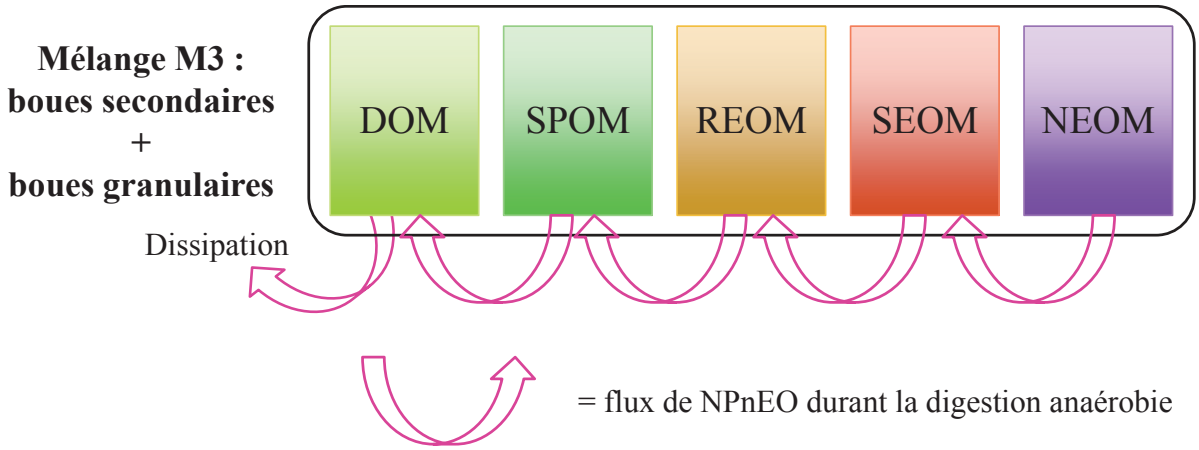



**Figure 52 : flux de NPnEO lors de la digestion anaérobie du mélange M3 (mélange non dopé avec boues granulaires)**

### *d) Comparaisons des mélanges M1, M2 et M3*

Les répartitions initiales et finales des NPnEO sont comparées dans chaque mélange (natifs dans tous les mélanges) (Figure 53).

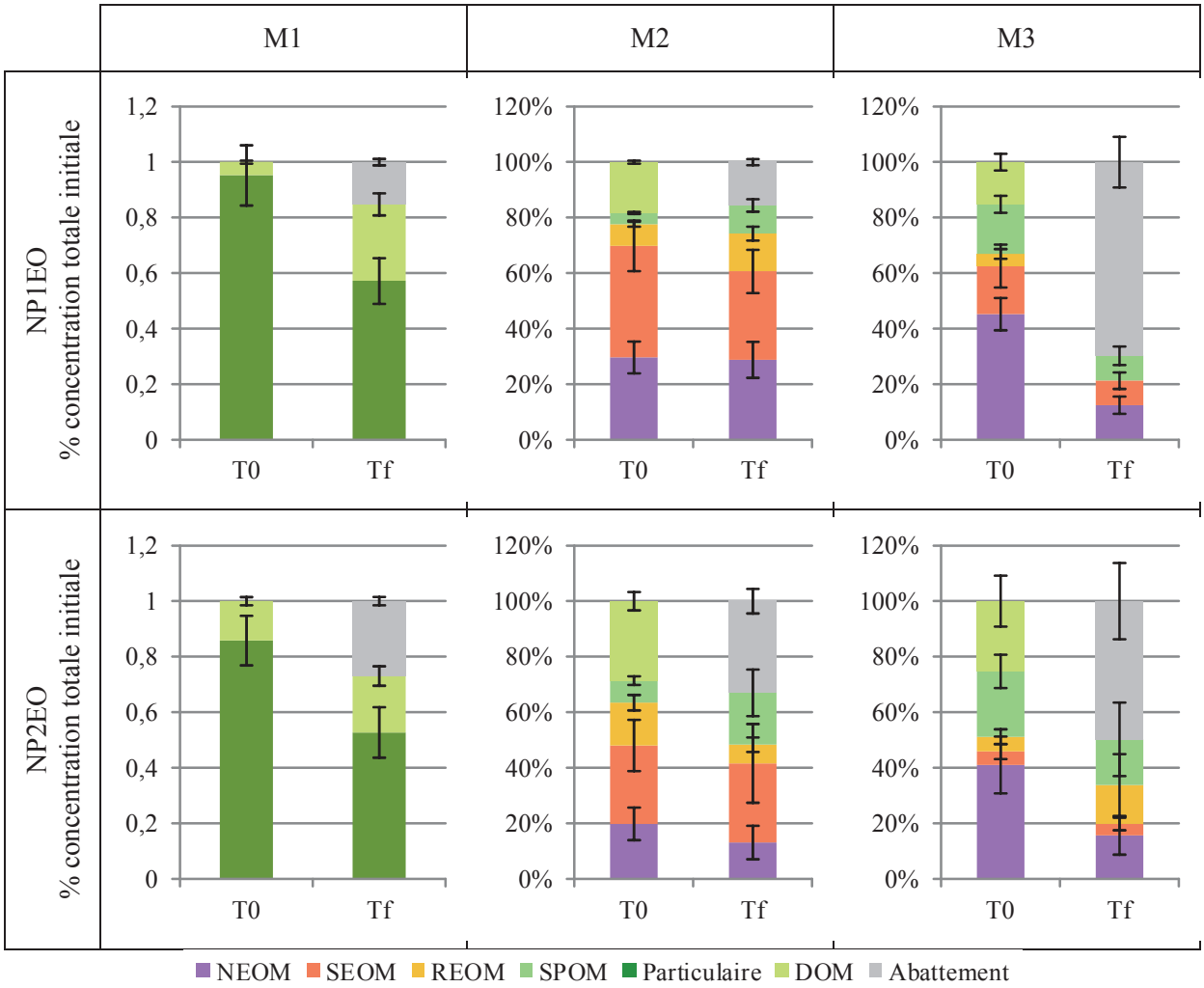



**Figure 53 : répartition des NP1EO et NP2EO dans les compartiments matière de chacun des mélanges avant et après incubation**

Tout comme pour les HAP, le mélange M3 a une fraction de NPnEO dans le compartiment NEOM plus élevée que pour le mélange M2, ce qui est lié à la structure de la boue. Lors de la digestion anaérobie, les fractions de NPnEO dans la phase particulaire ne changent pas pour le mélange M2 et diminuent pour le mélange M3.

Les NPnEO natifs des mélanges M1 et M2 ont une répartition DOM/particulaire initiale différente, ce qui peut être lié à l'hydrolyse d'une partie de la matière organique lors de la conservation du digestat. Malgré une matière organique finale similaire, la répartition DOM/particulaire est différente pour les deux mélanges. En effet, pour le mélange M2 la fraction DOM des NPnEO est totalement dissipée lors de l'incubation alors que cette fraction augmente pour M1. Cela est probablement dû à un effet de compétition par le substrat : en effet, lors de l'incubation du mélange M1, la quantité de NP présente dans la fraction DOM est très élevée, or il apparaît que c'est la fraction DOM qui est dissipée ainsi les microorganismes doivent favoriser la dégradation des micropolluants les plus présents à savoir les NP d'où une accumulation des NPnEO. Au contraire, dans le mélange M2, les concentrations sont faibles

pour les trois molécules ainsi, les trois sont dégradées « uniformément » sans favoriser la dégradation de l'une par rapport à l'autre.

Sont comparées les répartitions initiales et finales des NP dans chaque mélange (Figure 54).

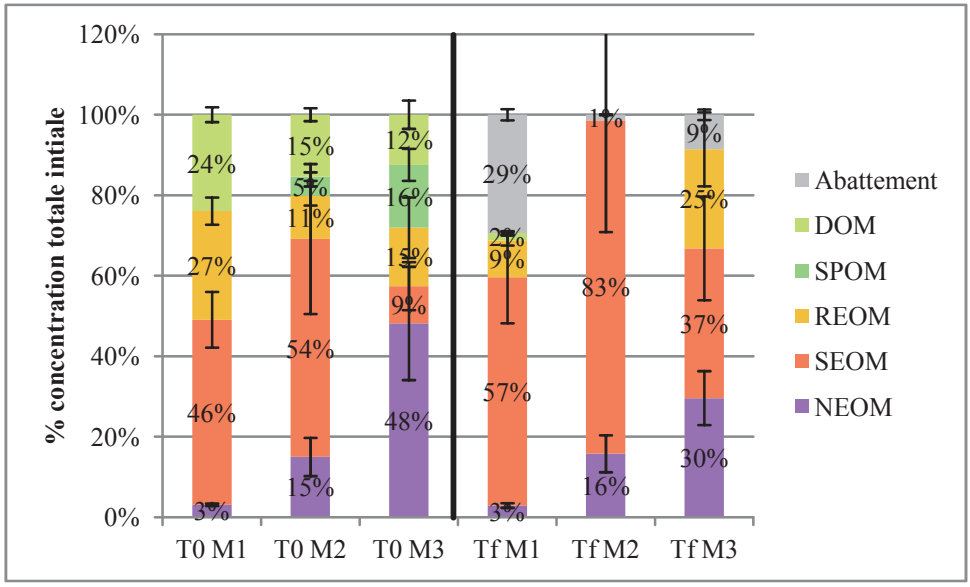



**Figure 54 : répartition des NP dans les compartiments matière de chacun des mélanges avant et après incubation**

Les trois mélanges avant incubation (T0) montrent une fraction de NP dans la phase aqueuse. La fraction du mélange M1 est plus importante ce qui peut s'expliquer par le dopage. Seuls les NP natifs sont présents dans le compartiment SPOM. Pour les mélanges M1 et M2, la majeure partie des NP sont dans les fractions REOM et SEOM (avec une grande majorité dans SEOM) alors que le mélange M3 présente une fraction peu importante dans REOM et SEOM. La structure et la composition de la matière organique influe donc sur la sorption des NP.

La différence entre les NP natifs et les NP dopés n'est pas visible ici (sauf pour la répartition initiale). Pour les mélanges M1 et M2, une relocalisation des NP vers le compartiment SEOM a lieu et la quantité présente dans le compartiment NEOM n'évolue pas. La quantité dans la phase aqueuse diminue pour les trois mélanges. Il semble que la quantité de NP contenue dans la phase aqueuse corresponde à la quantité dissipée sauf pour le mélange M2. Les NP natifs sont probablement moins accessibles que les NP dopés. L'accessibilité dans le mélange M3 semble différente. Ainsi, le changement de structure de la matière organique a un impact sur le devenir des NP.

Les HAP sont des molécules hydrophobes, peu solubles et peu sensibles aux changements de pH ainsi, il est possible de dire que les HAP présents dans chaque fraction sont bien les HAP présents sur la matière organique extraite. Ici, l'étude porte sur les NP et NPnEO qui possède un pKa. Par exemple, les NP ont un pKa de l'ordre de 10,28. Ils sont donc susceptibles de réagir avec le changement de pH des solutions d'extraction (SPOM = pH 8, REOM = pH 11 et SEOM = pH 12). Les molécules

présentes dans chaque fraction sont-elles donc issues de la matière organique sur laquelle elles sont sorbées ou sont-elles désorbées par ionisation du groupement hydroxyl ? La répartition des NP déterminée pour chaque mélange avant et après incubation tend à prouver que les NP extraits sont bien ceux sorbés à la matière organique extraite. En effet, si l'extraction des NP dépend du pH un gradient d'extraction devrait apparaître sur la répartition de la molécule : % SPOM < % REOM < % SEOM. Or, ce n'est pas le cas pour la plupart des matrices. De plus, les NP sont sorbés sur la matière organique par leur groupement alkyl (Brignon, 2005) or c'est le groupement hydroxyl qui peut se déprotoner en fonction du pH. La déprotonation du groupement hydroxyl ne pourrait expliquer la désorption des NP.

Les culots sacrifiés à chaque étape du fractionnement pourraient présenter des formes de NP protonées ou non en lien avec le pH d'extraction de la matière organique. Il est peu probable que le changement de forme influe ensuite sur les performances d'extraction hexane/acétone des NP et sur la détection par fluorescence (longueur d'onde spécifique pour un cycle benzénique).

Ainsi, il est possible de dire que le fractionnement n'interfère pas avec l'extraction et l'analyse des NP et que la distribution des NP présentées dans ce chapitre correspond bien à la distribution réelle des NP au sein des compartiments matière du mélange.

### 3. Comparaison entre HAP et NP

La répartition des HAP et NP avant et après incubation dans chaque mélange met en exergue l'influence du dopage et du changement d'inoculum. Toutefois, l'étude se focalise à chaque étape sur une famille de composés ; il est alors intéressant de comparer deux molécules de familles différentes ayant une hydrophobicité proche, supposant que l'hydrophobicité est l'un des moteurs de la sorption des polluants sur la matière organique. Le log(Kow) des NP est de 4,48 (Ying et al., 2002) ce qui est proche du log(Kow) du Phe qui est de 4,45 (INERIS, 2005) mais dont la solubilité est de 1 $mg.L^{-1}$ à 25°C alors que celle des NP est de 5,43 $mg.L^{-1}$ à 20°C. La répartition de ces deux molécules avant et après digestion anaérobie est comparée dans chacun des mélanges (Figure 55).

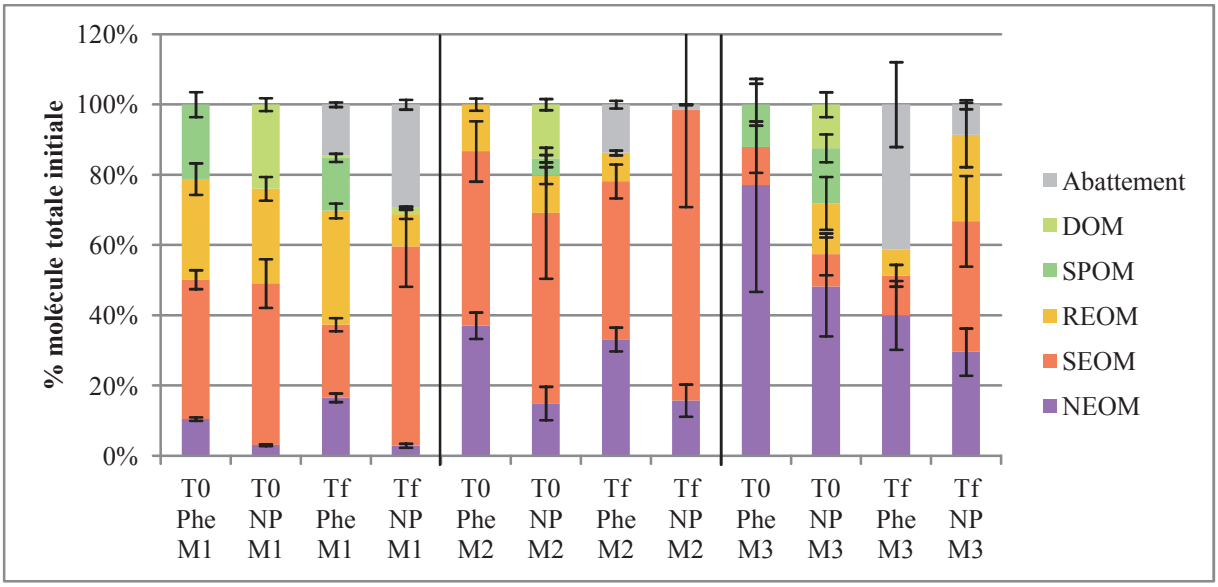



**Figure 55 : comparaison de la répartition du Phe et des NP dans chacun des mélanges avant et après incubation anaérobie**

Si on regarde la somme des fractions des compartiments peu accessibles et non extraits (REOM, SEOM et NEOM), les répartitions à T0 sont assez similaires entre les deux molécules : 50% pour M1, 70-80% pour M2, Pour M3 la répartition est différente entre NP et Phe mais une grosse part dans ces compartiments peu accessibles est quand même notée (surtout NEOM). Si des différences sont remarquées à Tf ce résultat semble cohérent car ce ne sont pas les mêmes processus de dissipation et probablement pas les mêmes flores impliquées dans la dégradation de ces molécules.

### 4. Matière organique et micropolluants organiques : évolutions conjointes et affinité

Si la DCO cumulée extraite en fonction du volume cumulé d'extractant est tracée, la courbe atteint un palier au bout de plusieurs extractions : la DCO n'est plus extraite par la solution utilisée. Ici, sont étudiées conjointement l'évolution de la matière organique et la localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments matière. La question est alors de savoir si comme pour la DCO, la quantité de micropolluants extraite cumulée en fonction du volume d'extractant atteint un palier en même temps que la DCO (Figure 56). Dans ce cas, cela signifie que le compartiment est bien « vidé » des micropolluants organiques et que ceux-ci sont bien sorbés à la matière organique extraite ; dans le cas contraire, cela signifie que la solution d'extraction est capable d'extraire encore des micropolluants organiques.

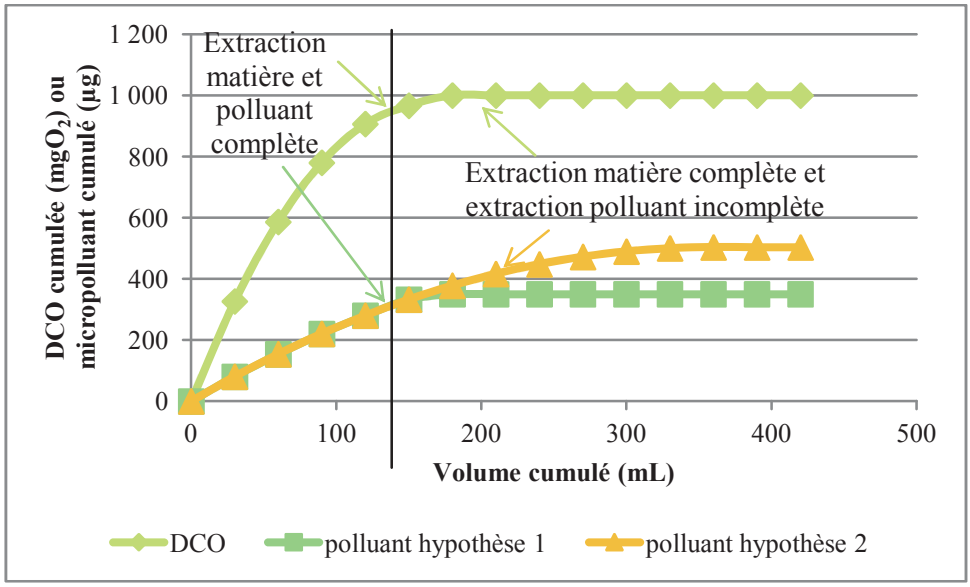



**Figure 56 : hypothèses que la quantité de polluants extraits en fonction du volume d'extractant cumulé lors du fractionnement de la matière organique et comparaison avec la quantité de matière organique extraite cumulée**

Pour répondre à cette question, il faudrait doper une matrice modèle, puis réaliser le fractionnement et sacrifier un culot à chaque extraction puis doser la quantité de micropolluants résiduelle dans chaque culot pour ensuite calculer et tracer la quantité extraite cumulée en fonction du volume d'extraction cumulé.

Toutefois, les micropolluants organiques extraits semblent être les micropolluants organiques sorbés sur la matière extraite. Ainsi, il est probable que l'épuisement du compartiment en matière organique corresponde aussi à un épuisement du compartiment matière en termes de micropolluants organiques.

### *a) Evolution conjointe de la matière organique et des micropolluants organiques*

#### (1) Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

L'abattement en DCO et les concentrations intiales et finales en micropolluants sont représentés pour chaque mélange. L'étude est basé sur les HAP communs aux trois mélanges (HAP détectés et dont la répartition précise peut être calculée) (Figure 57, Figure 58 et Figure 59).

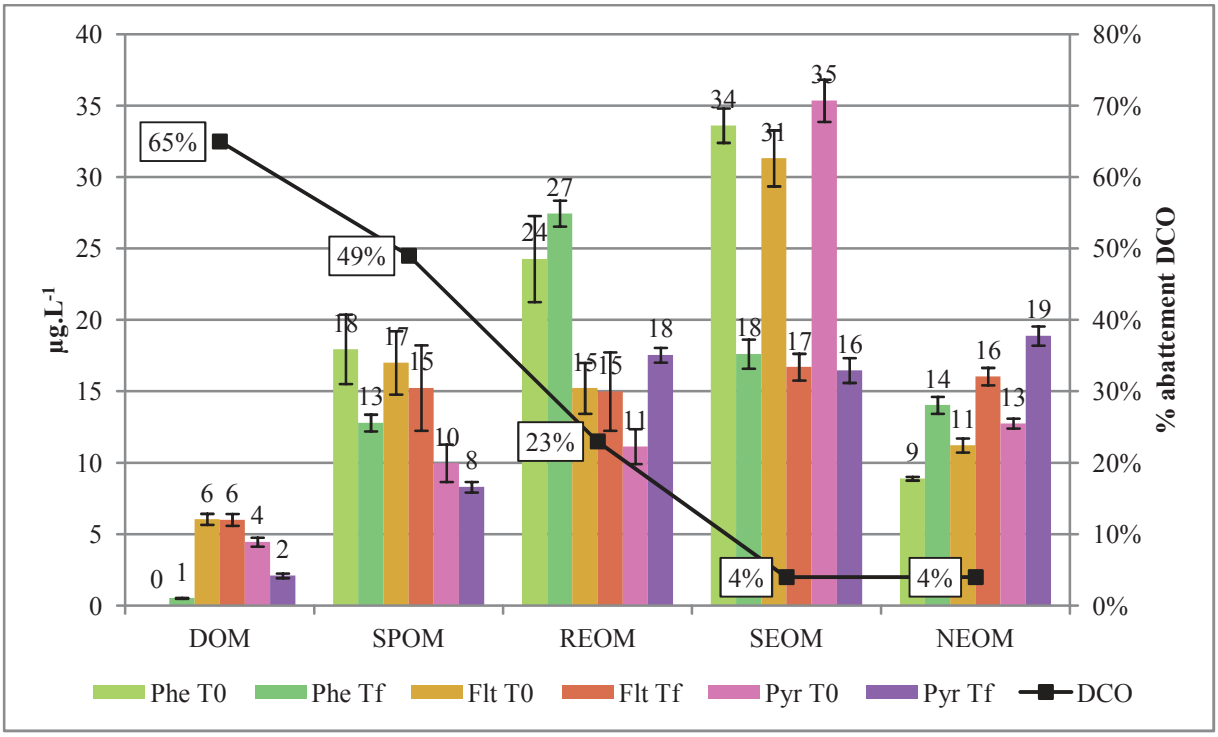



**Figure 57 : comparaison entre l'abattement de la DCO dans chaque fraction et les concentrations initiales et finales de Phe, Flt et Pyr dans chaque fraction du mélange M1**

La DCO des fractions SEOM et NEOM évolue peu voire pas du tout (Figure 57). En effet, même si un abattement de 4 % peut être calculé, les analyses statistiques montrent que les DCO initiales et finales de ces deux fractions sont statistiquement identiques. De plus, l'indice de complexité de la fraction SEOM ne change pas au cours de l'incubation. Il est donc probable que la complexité de la fraction NEOM ne change pas et que la fraction NEOM soit plus complexe que la fraction SEOM (Muller et al., 2014). L'enrichissement en Phe, Flt et Pyr de la fraction NEOM est probablement dû à l'appauvrissement de la fraction SEOM. Ce qui signifierait que les HAP sont capables de se désorber d'une fraction vers une autre plus complexe. Toutefois, la quantité perdue de SEOM ne correspond pas au gain de NEOM. En effet, 31 %, 36 % et 32 % de la quantité perdue de SEOM en Phe, Flt et Pyr respectivement se retrouve dans NEOM. Le reste est probablement transféré vers les compartiments REOM, SPOM et DOM. La complexité des fractions DOM, SPOM et REOM augmente au cours de la digestion ce qui signifie que les HAP ont une affinité pour ces matières complexes. La question est de savoir si la quantité transférée vers ces compartiments est transférée directement vers la fraction DOM ou si le transfert s'effectue par étape de SEOM à REOM puis de REOM à SPOM puis de SPOM à DOM et enfin la dissipation (dégradation) a lieu dans DOM. Il n'est pas possible ici de répondre à cette question puisque sont uniquement étudiés les mélanges initiaux et finaux (les données en dynamique ne sont pas connues). Toutefois, étant donné que les HAP semblent attirés par les matières organiques complexes, les polluants désorbés de la fraction SEOM vont se sorber vers des matières organiques plus complexes, à savoir la fraction DOM. La fraction REOM est capable de capter une partie du Phe et du Pyr mais ne capte pas Flt. La concentration de la fraction SPOM diminue pour les

trois HAP et son indice de complexité augmente (0,59 en fin d'incubation) : si la fraction capte des HAP lors de la digestion anaérobie, ils sont probablement relargués vers la fraction DOM (désorption ou hydrolyse de la matière organique). Il semble donc que les flux de HAP soient liés aux flux de matière organique complexe.

Ces hypothèses sont-elles généralisables à des matrices différentes, à d'autres molécules ou à des HAP natifs ?

Pour répondre à la question sur les HAP natifs, est étudié le mélange M2 composé des mêmes boues et boues digérées et non dopé en HAP.

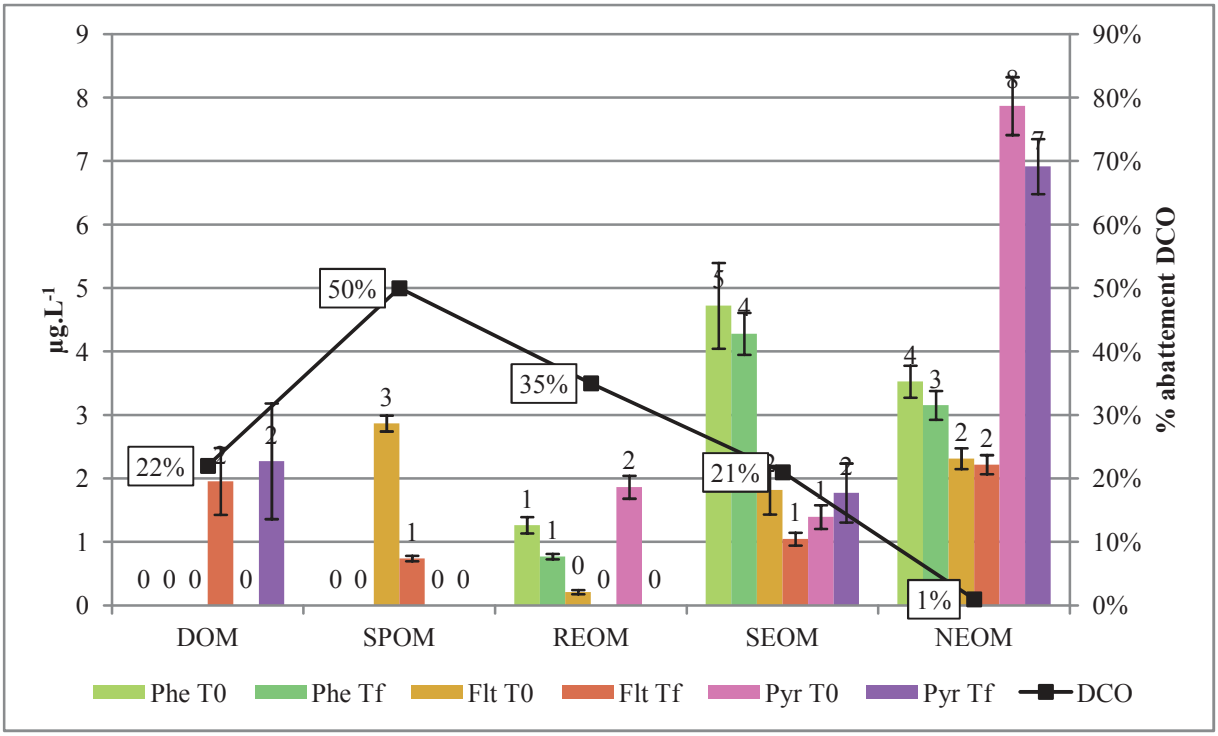



**Figure 58 : comparaison entre l'abattement de la DCO dans chaque fraction et les concentrations initiales et finales de Phe, Flt et Pyr dans chaque fraction du mélange M2**

22 % de la DCO de la fraction DOM est dégradée (Figure 58). Un fort enrichissement en Flt et Pyr dans la fraction DOM est constaté. Une dégradation de 50 % de la DCO du compartiment SPOM est constatée. En même temps, la teneur en Flt diminue fortement dans ce compartiment et aucun enrichissement en Phe et Pyr n'est remarqué. La DCO du compartiment REOM diminue aussi et une diminution des teneurs en Phe, Flt et Pyr est notée. La DCO du compartiment SEOM diminue mais aucune diminution des teneurs en Phe, Flt et Pyr n'est constatée. La DCO de NEOM évolue peu et la teneur en Phe, Flt et Pyr évolue aussi très peu dans ce compartiment. Il semble que la dissipation des HAP ou l'enrichissement de la fraction DOM soient liés à la dégradation de la matière organique des compartiments SPOM et REOM. Comme pour les HAP dopés, il apparaît que la dégradation du compartiment SPOM semble liée à une élimination des HAP dans ce compartiment.

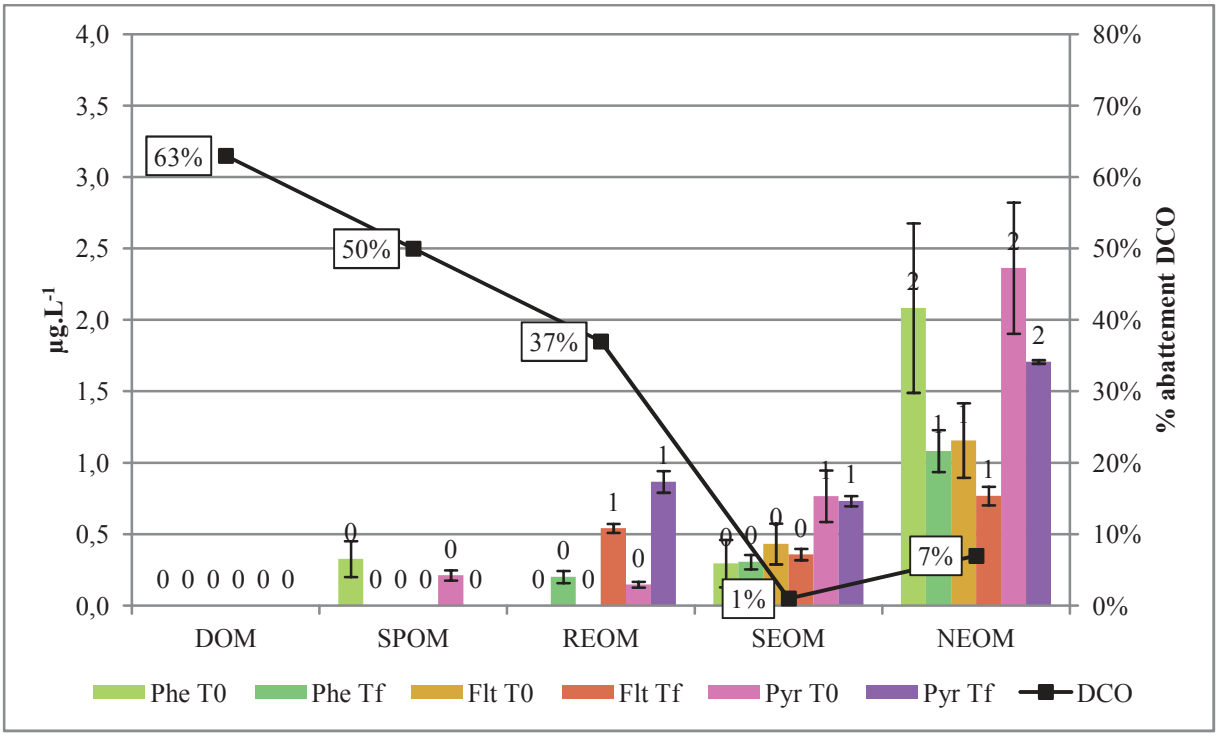



**Figure 59 : comparaison entre l'abattement de la DCO dans chaque fraction et les concentrations initiales et finales de Phe, Flt et Pyr dans chaque fraction du mélange M3**

La DCO du compartiment NEOM est dégradée (Figure 59) et une diminution des concentrations en Phe, Flt et Pyr est constatée : cela confirme que la dégradation de la DCO conduit à la désorption des HAP. Les concentrations dans le compartiment SEOM n'évoluent pas et la DCO ne change pas : si comme pour le mélange M1 il y a transfert des polluants vers d'autres compartiments ce transfert peut être compensé par les HAP libérés de NEOM. Le compartiment REOM s'enrichie en polluants et est dégradé. Son indice de complexité à T0 et Tf est de respectivement 0,63 et 0,65, ce qui est proche de l'indice de complexité du compartiment de SEOM (0,65). Ceci peut indiquer que le transfert de Phe, Flt et Pyr de NEOM peut avoir lieu vers REOM. La fraction DOM est dégradée et aucun enrichissement en HAP n'est constaté. Il en est de même pour SPOM. Là encore, les résultats tendent à montrer que les HAP ont une affinité pour les matières organiques complexes et que les flux de HAP dépendent des flux de matière organique complexe ainsi que de l'hydrolyse des compartiments particulaires. On pourrait s'attendre à un enrichissement de la fraction DOM en HAP comme pour les mélanges précédents car la complexité finale de cette fraction est supérieure à 1 (matière organique très complexe). Toutefois, il faut noter que la fraction DOM du mélange M3 représente une très faible fraction de la matière organique comparée aux mélanges M1 et M2. Or la quantité de matière organique influe sur les quantités de HAP sorbés (Haitzer et al., 1998) : il y a certes une affinité probable pour cette matière organique mais elle n'est pas en quantité suffisante pour « attirer » les HAP.

### (2) Les nonylphénols

Pour le mélange M1, un abattement en NP est constaté dans les compartiments dont la DCO est fortement dégradée (Figure 60). Ainsi, il semble y avoir un lien entre la dégradation de la DCO et la dissipation des NP.

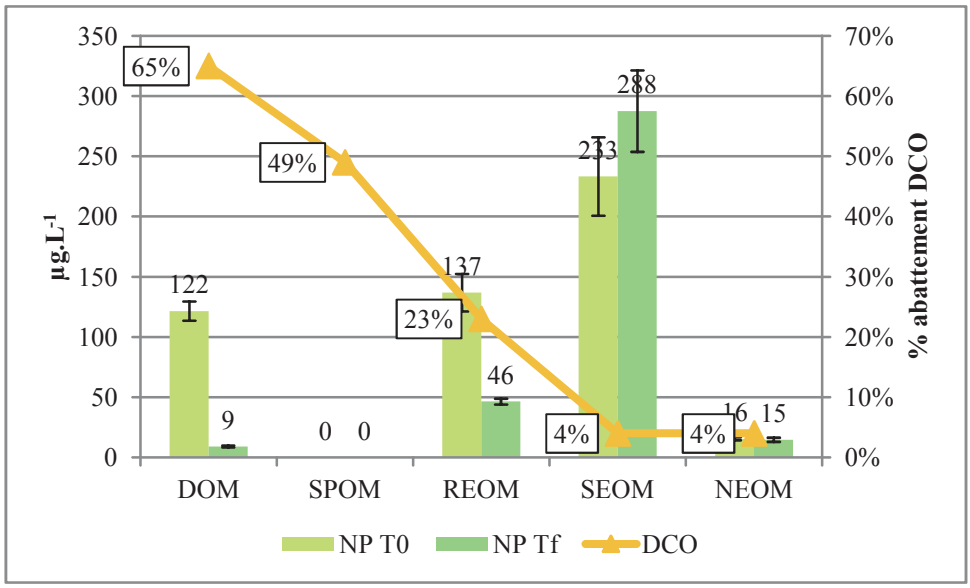



**Figure 60 : comparaison entre l'abattement de la DCO dans chaque fraction et les concentrations initiales et finales de NP dans chaque fraction du mélange M1**

Pour le mélange M2, la constatation est la même que pour le mélange M1 : il y a un lien entre la dégradation de la DCO et la dissipation des NP (Figure 61). Toutefois, il y a concentration des NP dans le compartiment SEOM ce qui signifie que ces composés ont une forte affinité pour les composés type humique. Cette différence par rapport au mélange M1 provient sûrement du fait que le mélange M2 n'est pas dopé. Ainsi, les polluants sont moins accessibles dans le mélange M2 et donc peuvent se sorber sur la matière organique avec laquelle ils ont une affinité plus forte.

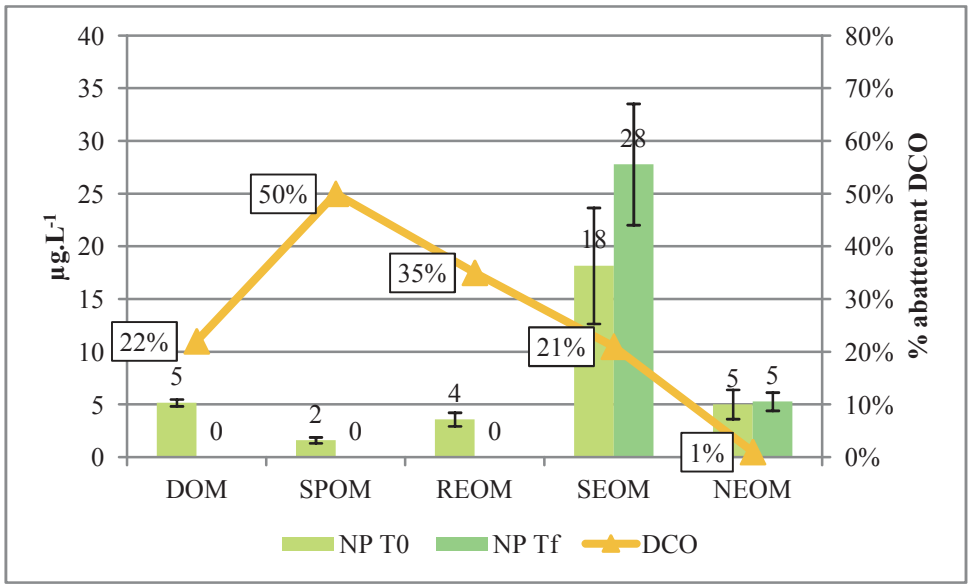


**Figure 61 : comparaison entre l'abattement de la DCO dans chaque fraction et les concentrations initiales et finales de NP dans chaque fraction du mélange M2**

Pour les fractions du mélange M3 où il y a dégradation de la DCO, il y abattement en NP sauf pour les fractions REOM et SEOM de complexité similaires, ce qui montre encore une fois l'affinité des NP pour les composés type humique (Figure 62).

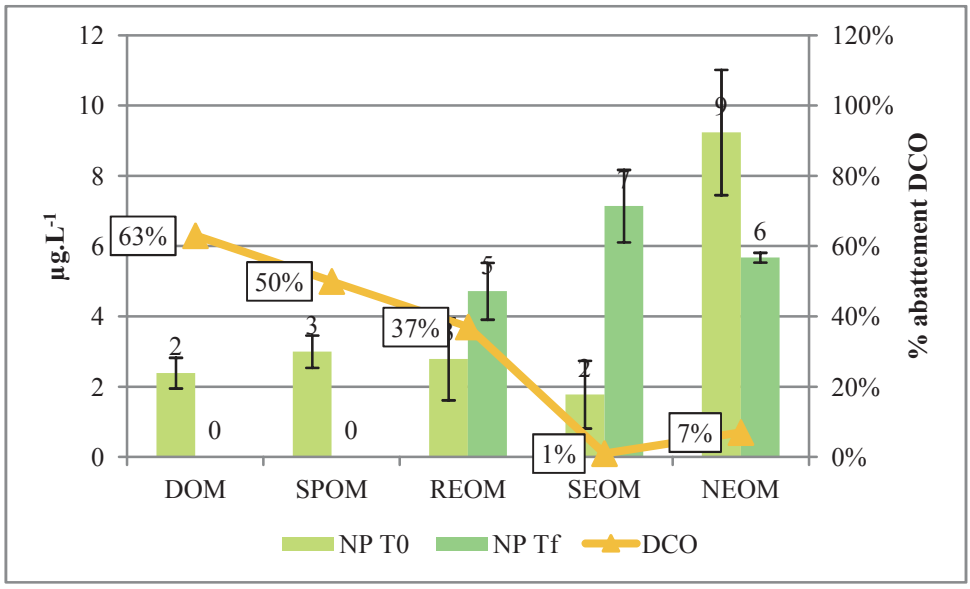



**Figure 62 : comparaison entre l'abattement de la DCO dans chaque fraction et les concentrations initiales et finales de NP dans chaque fraction du mélange M3**

En ce qui concerne les HAP, le devenir des molécules est intimement lié à la dégradation de la matière organique et à la complexité de celle-ci. Les HAP de fractions qui n'évoluent pas peuvent se désorber et se sorber sur des matières organiques plus complexes. De plus l'hydrolyse de la matière organique conduit à l'enrichissement des fractions plus complexes or comme la fraction DOM se complexifie, les composés sont transférés vers cette fraction pour y être probablement dégradés. La dissipation des NP semblent aussi liés à la dégradation des fractions DOM et SPOM mais les NP ont une affinité forte pour les composés type humique présents dans la phase particulaire des mélanges. Les NP sont plus solubles que les HAP mais aucun enrichissement de la fraction DOM n'est constatée : le type d'interaction matière organique/micropolluants est différent entre les HAP et les NP et/ou les vitesses de dissipation des deux types de molécules sont différentes (probablement une vitesse plus élevée pour les NP qui peut être en lien avec une solubilité plus forte).

### *b) Affinité des micropolluants pour la matière organique*

Afin d'aller plus loin sur le lien entre la localisation des micropolluants organiques et la matière organique de chaque fraction, une analyse statistique par ACP est effectuée. Etant donné que les concentrations sont proches des limites de quantification pour les mélanges M2 et M3, l'analyse statistique est uniquement réalisée sur le mélange M1 (le fait de doper permet d'augmenter les

concentrations et d'être plus précis sur les résultats). Une ACP est réalisée (SIMCA-P) sur les données issues du mélange M1. Cette ACP comprend :

- Le coefficient de partage pour chaque compartiment et pour chaque HAP (cf. Chapitre III, § G.1.) ;
- La masse molaire M en $g.mol^{-1}$ ;
- La solubilité à 25°C en $mg.L^{-1}$ ;
- Le coefficient de partage octanol-eau log(Kow) ;
- Le pourcentage de fluorescence de chaque zone.

La Figure 63 présente le résultat de l'ACP effectuée sur les HAP du mélange M1 à T0 et Tf.

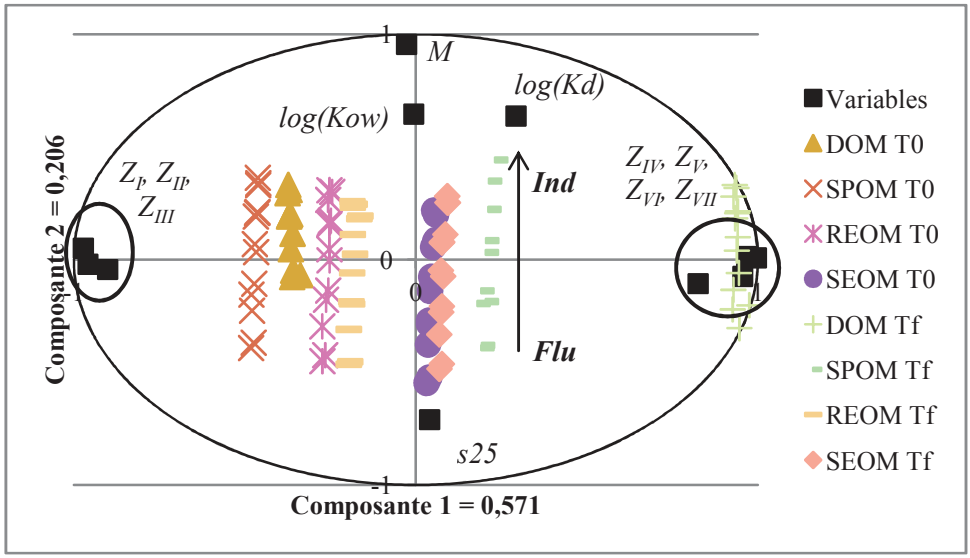



**Figure 63 : résultats de l'ACP sur l'incubation du mélange M1**

La composante n°1 est expliquée par les zones de fluorescence, ainsi, cet axe correspond à la complexité de la matière organique. La composante n°2 est expliquée par les propriétés physicochimiques des HAP, ainsi, cet axe est expliqué par le caractère plus ou moins hydrophobe de chaque HAP. La composante n°1 a un impact plus important que la composante n°2 ce qui signifie que la fluorescence a plus de poids pour l'explication des résultats que les propriétés physicochimiques.

Le $log(K_d)$ est corrélé à la fois aux propriétés hydrophobes des HAP (M, log(Kow)) et aux zones complexes de fluorescence. Ainsi, la localisation des HAP au sein des compartiments de la matière organique dépend fortement des propriétés physicochimiques des HAP ainsi que de la présence de composés complexes.

Pour chaque fraction, les HAP sont tous regroupés du moins hydrophobe (Flu, en bas) au plus hydrophobe (Ind, en haut). La fluorescence étant la même pour chaque HAP sur le même extrait, il est logique que les résultats soient classés en ligne.

Les fractions sont classées selon la complexité de la matière organique extraite. Les fractions REOM à T0 et Tf comme les fractions SEOM sont regroupées ensemble. En effet, la fluorescence de ces fractions n'évolue pas durant le procédé.

Les fractions DOM et SPOM à T0 sont reliées aux zones de fluorescence des composés type protéiques alors que celles à Tf plus proches des zones de fluorescence des composés complexes (spécialement la fraction DOM Tf). A T0, les HAP dopés sont présents dans les compartiments plus accessibles ce qui peut expliquer le fait qu'ils soient plus dégradés que les HAP natifs. Le procédé de digestion anaérobie impacte la localisation des HAP : en effet, après digestion les HAP non dégradés ont tendance à se localiser dans les fractions contenant des composés organiques complexes type acides humiques. Etant donné que les HAP ont tendance à s'accumuler dans la phase aqueuse et être attirés par les composés complexes compris dans cette fraction, il semble que les HAP suivent le flux de matière organique : la lyse de la phase particulaire qui « recharge » la fraction DOM en DCO doit aussi la « recharger » en HAP.

La question se pose de savoir si ces conclusions peuvent s'appliquer à d'autres composés hydrophobes. Les NP sont rajoutés à l'ACP précédente.

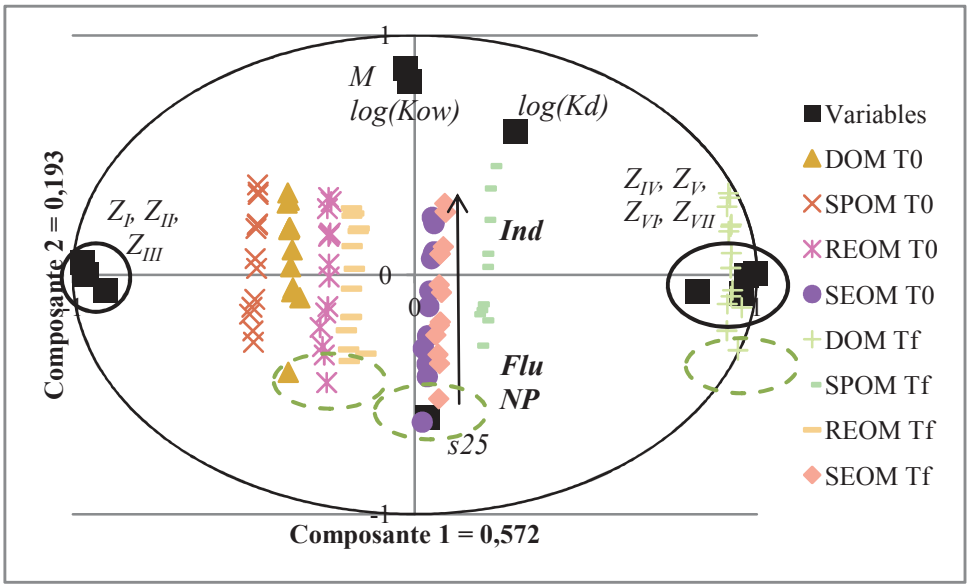



**Figure 64 : résultats de l'ACP sur l'incubation du mélange M1 (les échantillons NP sont entourés avec des tirets)**

Les résultats de l'ACP incluant les NP sont les mêmes que précédemment. L'axe 1 est expliqué par la fluorescence et donc la complexité de la matière organique. L'axe 2 est expliqué par les propriétés physicochimiques des micropolluants organiques. La répartition des échantillons HAP est la même que précédemment. Les échantillons NP se retrouvent tout en bas, en effet, les NP sont beaucoup plus solubles que les HAP (s25 = 5,5 mg.L$^{-1}$ à 25°C pour les NP et s25 = 1,9 mg.L$^{-1}$ pour Flu).

Les deux ACP mettent bien en évidence qu'il existe un lien entre le coefficient de partage des micropolluants organiques (soit leur localisation) et les propriétés physicochimiques des micropolluants ainsi que la composition de la matière organique.

## F. Conclusions

Lors des incubations anaérobies, le substrat boue est dégradé et transformé en méthane. La dégradation dépend de l'inoculum (âge, type d'inoculum). Toutefois, le taux de dégradation de la DCO totale (substrat + inoculum) lors des trois incubations (la DCO apportée par l'inoculum est dégradée) est semblable pour les trois mélanges. Le fractionnement de la matière organique permet de distinguer les deux types de mélange par analyse de la répartition de la DCO initiale et/ou finale. L'évolution de la DCO dans chaque compartiment permet de mimer le devenir de la matière organique au cours de la digestion anaérobie. Le devenir de la matière organique couplée à la caractérisation par fluorescence 3D et aux dosages de sucres et protéines permet d'obtenir la biodégradabilité des compartiments matière et d'expliquer cette biodégradation.

Les HAP sont répartis dans les différents compartiments matière des mélanges. La répartition est différente initialement entre les molécules natives ou dopées et entre les HAP natifs de deux mélanges différents. La répartition des HAP évolue au cours de la digestion, ainsi la répartition finale est différente de la répartition initiale. Les répartitions initiales et finales permettent d'expliquer la dissipation des HAP : la présence dans les compartiments matière accessibles et la dégradation de ces derniers sont liées à la dissipation des HAP. Le protocole de fractionnement permet en plus d'expliquer la meilleure dissipation des HAP dopés par une accessibilité plus forte.

Les NP sont aussi répartis dans les différents compartiments matière. Comme pour les HAP, des différences de répartition sont notées entre les différents mélanges dépendant du type de matière organique et du dopage. La répartition évolue au cours de la digestion anaérobie et montre que les NP ont tendance à s'accumuler dans le compartiment SEOM (substances type humique) des mélanges. La présence dans les compartiments accessibles et notamment DOM permet d'expliquer la dissipation de cette famille de polluants.

Les HAP et NP présents dans les fractions accessibles sont dissipés lors de la digestion anaérobie. Toutefois, un effet de vieillissement peut avoir lieu et stabilise les molécules dans des compartiments peu dégradables où ils n'évoluent plus. Ainsi, pour améliorer le procédé de digestion anaérobie il faudrait rendre les molécules plus accessibles (DOM et SPOM) mais sur une matière simple pour éviter de les rendre non biodisponibles.

Les résultats permettent aussi de mettre en place des hypothèses utiles pour la modélisation. Ainsi, les compartiments réfractaires de la matière organique peuvent être couplés en un seul compartiment (SEOM + NEOM). La dégradation des HAP et NP est liée à celle des compartiments accessibles. La

localisation des HAP et NP et les changements de localisation sont influencés à la fois par l'hydrolyse de la matière organique et donc par les flux de matière organique mais aussi par des affinités à certains composés organiques particulièrement les substances humique-like (données extraites de la fluorescence 3D).

# V. Vers un protocole unifié pour caractériser la matière organique au cours du traitement des boues

# V. Vers un protocole unifié pour caractériser la matière organique au cours du traitement des boues

## A. Introduction

Le fractionnement de la matière organique appliquée aux phases particulaires des boues et boues digérées montre qu'une partie de cette matière organique n'est pas extraite et donc caractérisée. L'exemple des incubations anaérobies (Chapitre VI) peut être repris. Les mélanges étudiés (phases particulaires) avant et après digestion anaérobie présentent un taux de matière organique non extrait donc non caractérisé (Figure 65).

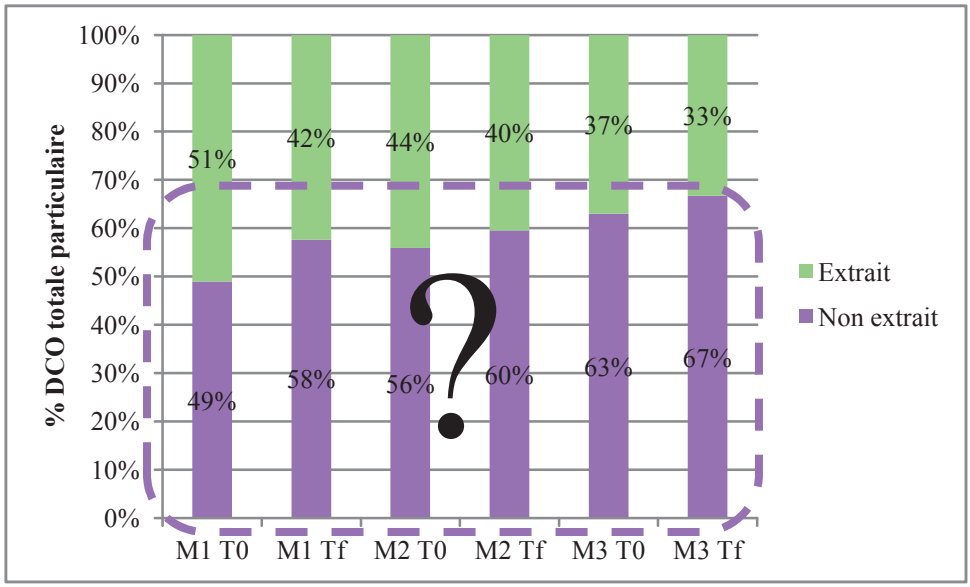



**Figure 65 : fractions de matière organique non caractérisées sur les mélanges issus des incubations anaérobies**

Le non extrait représente entre 50 à 70 % de la DCO totale de chaque matrice ; la matière organique non caractérisée correspond donc majoritairement à ce pourcentage de DCO non extrait (en réalité le taux est plus élevé car les 100 % de DCO extraite de chaque compartiment ne sont pas entièrement caractérisés).

De plus, cette méthode de fractionnement n'est applicable que sur des matrices boues. Or, dans le cadre de cette thèse, des matrices types lignocellulosiques (déchets verts, mélanges initiaux de compost, composts) sont aussi étudiées. Les matrices lignocellulosiques sont classiquement fractionnées selon le protocole Van Soest (Figure 66).

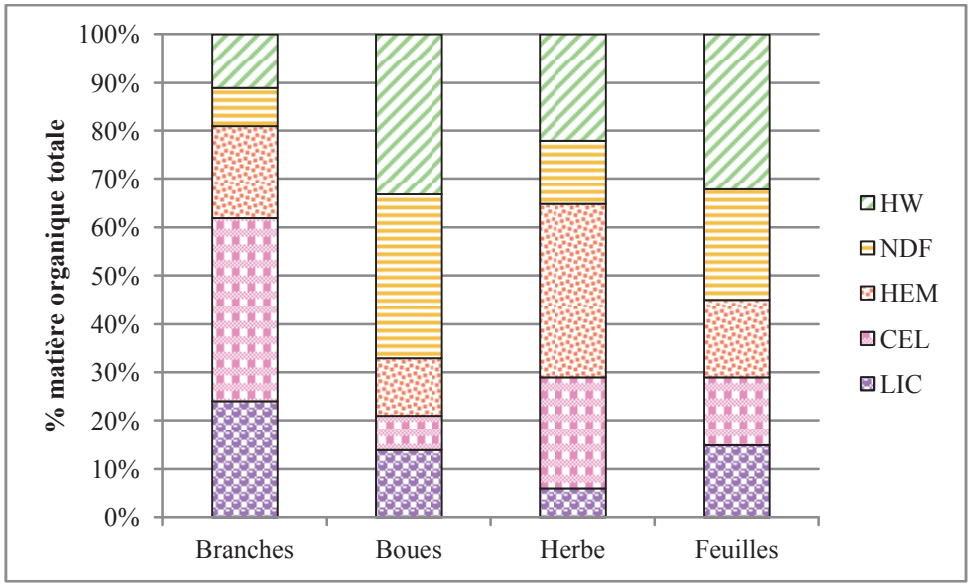



**Figure 66 : fractionnement Van Soest de quelques matrices** (Lashermes, 2010)

Le fractionnement Van Soest n'est pas adapté à des matrices type boues : en effet, sont extraits environ 70 % de la matière organique dès les deux premières étapes (composés solubles). Le fractionnement Van Soest donne bien une composition des déchets verts. Le but du protocole Van Soest est différent de celui du protocole d'extraction utilisé sur les boues. En effet, le protocole Van Soest permet d'avoir la composition en fibre des matrices lignocellulosiques.

La modification du protocole de fractionnement vise à caractériser une plus grande partie de la matière organique (en extrayant plus de matière organique) et de définir des fractions boues plus finement que le protocole Van Soest mais aussi de permettre d'étudier différentes matrices de structures complètement différentes par la même méthode : le nouveau protocole permet de caractériser des matrices de digestion anaérobie (boues et boues digérées liquides) et de compostage (matrices lignocellulosiques solides).

Un nouveau protocole permettant d'étudier des matrices différentes peut être aussi utilisé dans un objectif de modélisation. En effet, les procédés de traitement biologique des boues peuvent être modélisés afin de mieux comprendre les mécanismes de dégradation et de transformation de la matière organique au cours du procédé modélisé. Les matrices étudiées sont donc fractionnées pour voir l'évolution des différents compartiments matière au cours du traitement. Toutefois, le fractionnement appliqué à une boue dont le devenir en digestion anaérobie veut être étudié sera différent de celui appliqué à un mélange de déchets verts partant en compostage. Or, sur une station d'épuration, par exemple, il est fréquent qu'un double procédé de traitement soit appliqué aux boues : digestion anaérobie suivie de compostage. Si on désire utiliser un modèle unique, il est souhaitable d'utiliser un fractionnement unique afin d'éviter l'interfaçage de modèles.

Un protocole utilisable sur des matrices différentes permet aussi de pouvoir comparer des procédés et d'étudier l'impact de ceux-ci sur la même matière organique en comparant les effets sur les différents compartiments de cette matière organique.

## B. Démarche expérimentale

La Figure 67 présente la démarche expérimentale. Les échantillons n°1 correspondent à un premier prélèvement sur la filière de traitement des boues (Chapitre III, § A.2.) : boues, boues digérées, boues digérées filtre-presse, boues digérées centridry, déchets verts de la plate-forme de compostage des boues, structurants, mélange initial du compost de boues digérées et compost de boues digérées. Les échantillons n°2 correspondent à un deuxième prélèvement effectué sur différentes filières de traitement (Chapitre III, § A.2.) :

- Filière de traitement des déchets verts :
  - Déchets verts (DV) ;
  - Compost de déchets verts (CDV) ;
- Filière de traitement de boue non digérée :
  - Boues non digérées déshydratées (B) ;
  - Mélange initial du compost de boues (MIB) ;
  - Compost de boues (CB) ;
- Filière de traitement des boues digérées :
  - Boues digérées (BD) ;
  - Mélange initial de compost de boues digérées (MIBD) ;
  - Compost de boues digérées (CBD).

L'échantillonnage n°3 correspond à des échantillons de sols (Chapitre III, § A.2.).

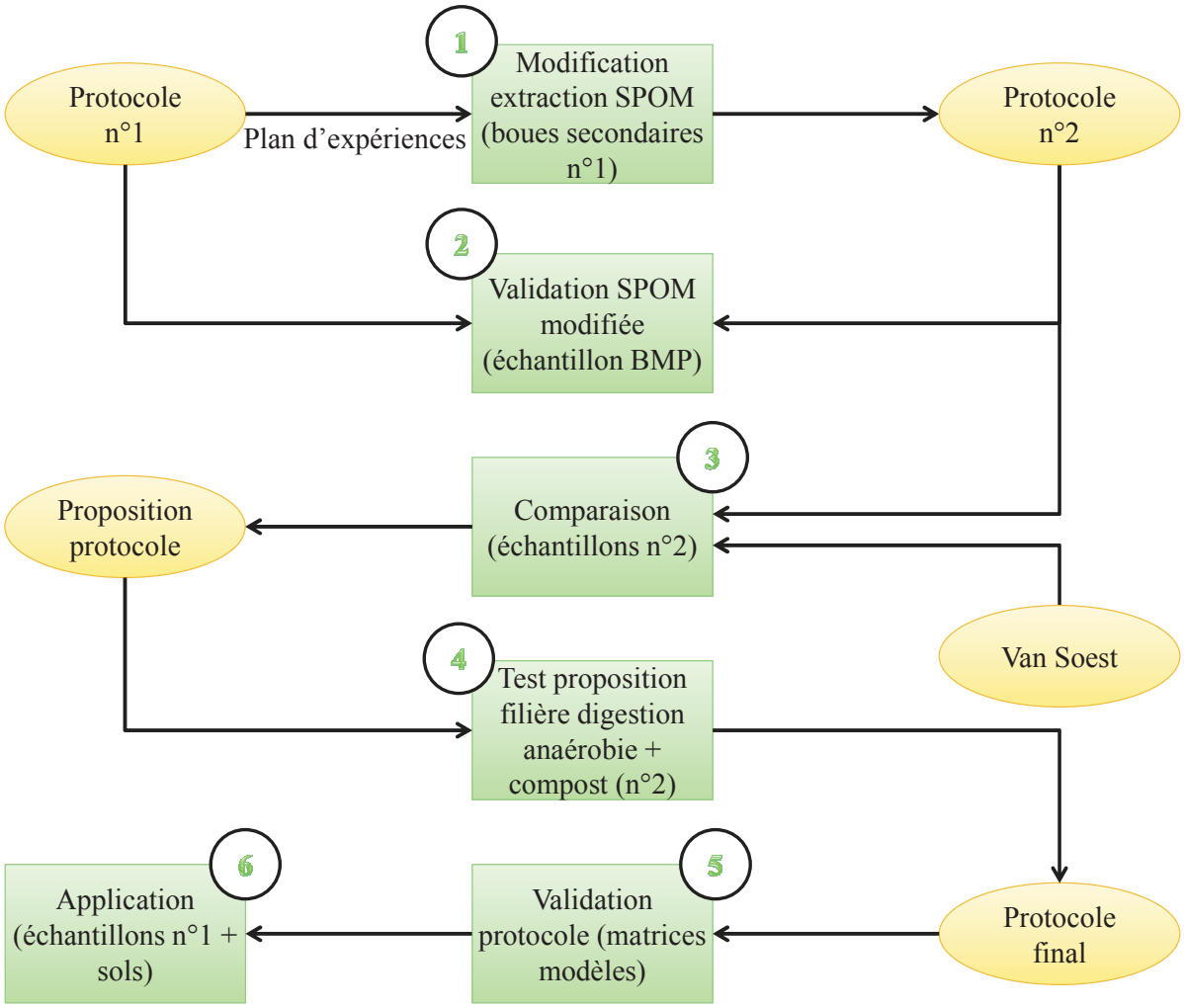



**Figure 67 : déroulement des expériences**

Le protocole initial (protocole n°1) (Figure 68) comprend une première extraction de la matière organique particulaire contenant du bicarbonate de soude ($NaHCO_3$). Or, ce composé contient du carbone, ainsi, les bilans « carbone » effectués sur le fractionnement doivent tenir compte de la quantité de carbone apportée par le bicarbonate. Pour s'affranchir de cette teneur et limiter les erreurs sur les bilans, il a été choisi de modifier la solution d'extraction SPOM en remplaçant le bicarbonate par du tétraborate (Annexe B). Le choix du sel de remplacement a été fait en prévision de l'adaptation du protocole à des matrices lignocellulosiques fractionnées par la méthode de Van Soest (la première attaque au détergent neutre contient du tétraborate) (Chapitre III, § F.).

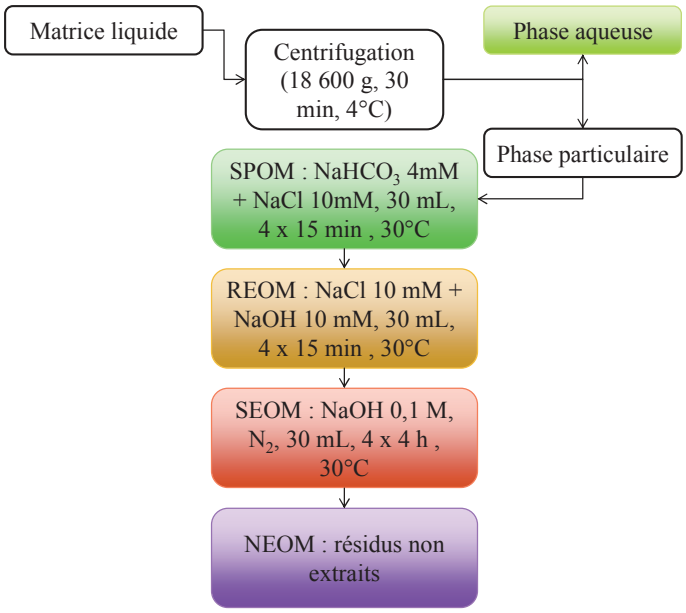



**Figure 68 : rappel du protocole de fractionnement initial**

La deuxième étape consiste à valider le protocole avec l'extraction SPOM modifiée (protocole n°2) sur un échantillon issu des BMP (Chapitre IV) en comparant le protocole n°1 et le protocole n°2 sur cet échantillon. Cela permet de valider la cohérence entre la quantité et la qualité de la matière organique extraite.

Le protocole n°2 est ensuite appliqué sur les huit matrices de l'échantillonnage n°2. De même, le protocole Van Soest est appliqué sur ces matrices pour comparer les deux fractionnements. A partir des résultats obtenus, un nouveau protocole de fractionnement est proposé. Ce protocole est appliqué sur la filière digestion anaérobie et compostage de l'échantillonnage n°2. Les résultats permettent alors de définir le protocole final.

Le protocole final est testé sur des matrices modèles (composition biochimique connue) pour valider les différentes étapes d'extraction.

Le protocole final est ensuite appliqué sur la filière de traitement des boues (échantillonnage n°1) afin de regarder l'impact des différents traitements appliqués à la boue sur le devenir de la matière organique. Enfin, le fractionnement est réalisé sur des sols pour tester sa validité sur des matrices contenant peu de matière organique.

## C. Matière organique et DCO des matrices étudiées

Les MV et la DCO sont mesurées pour chaque matrice à chaque échantillonnage (Figure 69 et Figure 70). Ces deux mesures permettent de quantifier la matière organique d'un échantillon (par respectivement perte au four et oxydation chimique) mais l'expriment de deux manières différentes.

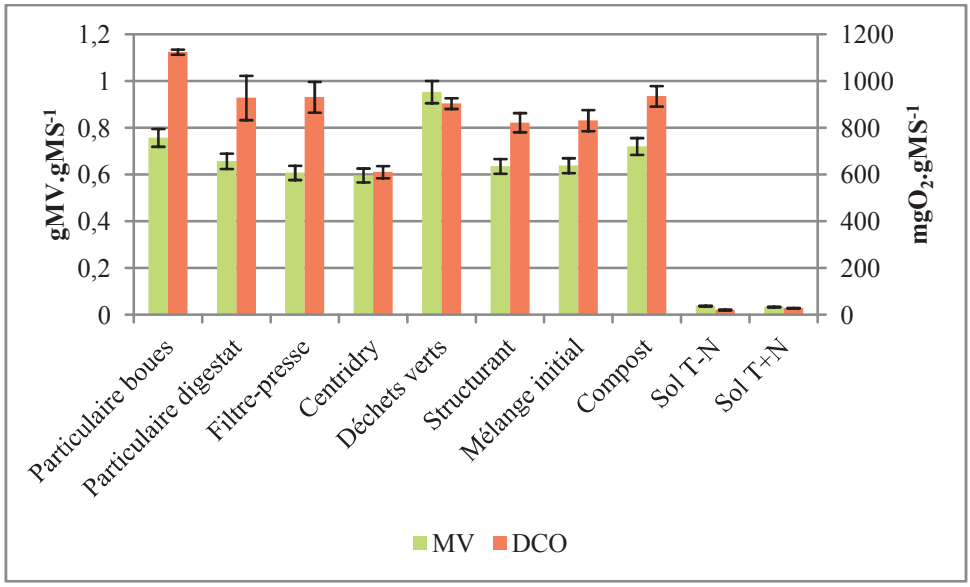



**Figure 69 : MV et DCO des échantillons de la filière de traitement des boues (échantillonnage n°1) et des sols**

La teneur en MV et DCO des sols est très faible : en effet, les sols sont pauvres en matière organique mais très riches en matière minérale.

Les teneurs en MV et DCO diminuent dans la phase particulaire des boues après digestion anaérobie : durant le procédé, la matière organique est dégradée. Les teneurs de la phase particulaire du digestat et du filtre-presse sont équivalentes : la centrifugation semble mimer le filtre-presse.

La teneur en MV du centridry est semblable à celle de la phase particulaire du digestat, toutefois, la DCO est plus faible pour le centridry. Selon la mesure des MV, la perte en matière organique lors du procédé de centridry semble donc nulle ou très faible, mais l'impact du procédé est non négligeable car la DCO diminue ce qui montre un changement de la composition de la matière organique.

Les teneurs en MV et DCO du compost sont plus élevées que celles du mélange initial : cela est probablement dû au fait que le compost final n'est pas le compost issu du mélange initial étudié ici.

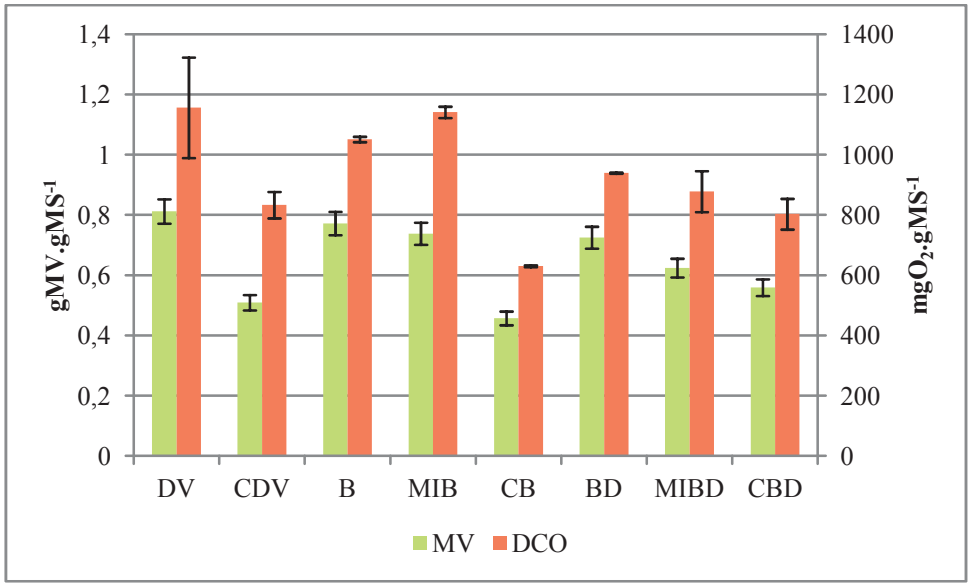



**Figure 70 : MV et DCO des échantillons du compostage des déchets verts, des boues et des boues digérées (échantillonnage n°2)**

Les teneurs en MV et DCO diminuent au cours de chaque compostage (déchets verts, boues et boues digérées) ce qui est cohérent avec la dégradation de la matière organique lors du compostage.

Si les valeurs intrinsèques de chaque paramètre ne sont pas les mêmes (valeur DCO> valeur MV), les tendances pour chacun représentent bien les processus de chaque procédé. Nous avons décidé de travailler sur le paramètre DCO en raison de sa facilité de mise en œuvre sur les extraits obtenus.

## D. Modification préliminaire

La première modification a été de supprimer les étapes de lyophilisation et rinçages entre REOM et SEOM (Chapitre III, § E). Cette petite modification impacte légèrement l'extraction : la qualité de la matière organique extraite est la même mais il semble qu'une légère diminution de la quantité extraite soit constatée.

## E. Modification de l'extraction SPOM

Le plan d'expérience (annexe B) nous permet de déterminer la concentration en tétraborate ainsi que le pH de la solution SPOM modifiée : pH fixé à 7,25 et concentration en tétraborate fixée à 1 $g.L^{-1}$.

## F. Comparaison du protocole modifié avec le protocole initial

Pour valider la modification de l'extraction SPOM, le fractionnement initial (protocole n°1) et le fractionnement modifié (protocole n°2) sont réalisés en parallèle sur un échantillon issu des incubations anaérobies (Chapitre III), à savoir la phase particulaire lyophilisée du mélange M1 à T0 (Figure 71).

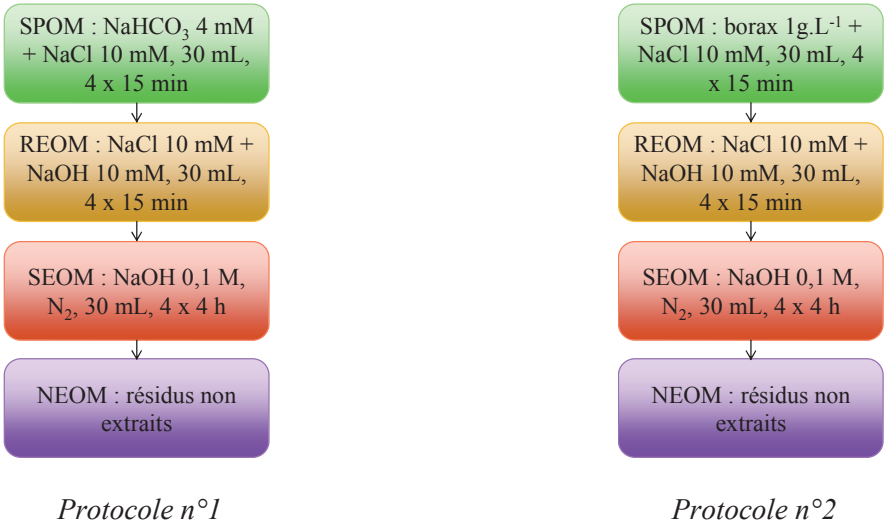



**Figure 71 : résumé du protocole n°1 et du protocole n°2**

Les quantités de DCO extraites dans chaque compartiment sont comparées pour les deux protocoles (Figure 72).

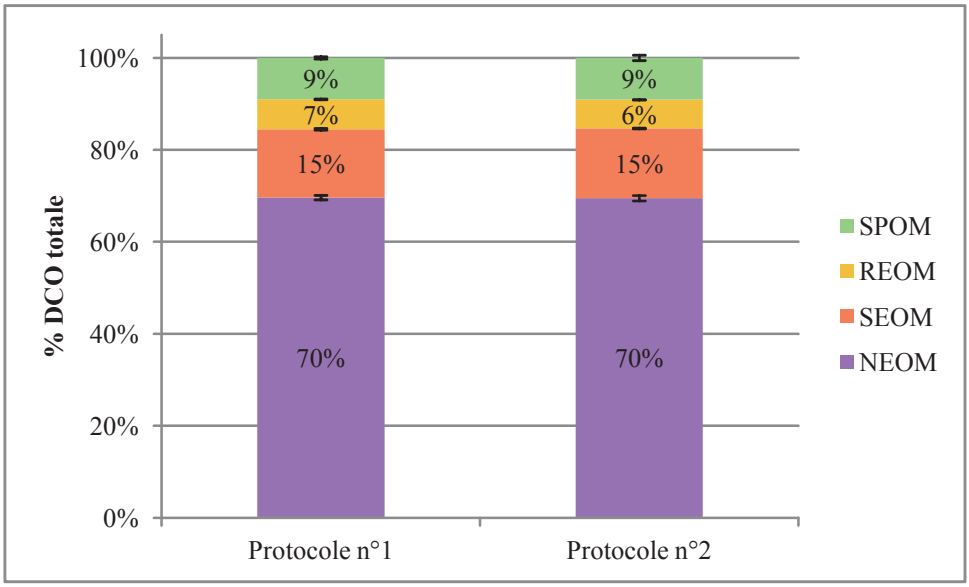



**Figure 72 : répartition de la DCO pour le protocole n°1 et le protocole n°2 sur la phase particulaire du mélange M1 à T0 issu des expériences BMP**

La quantité extraite est plus faible que dans le chapitre III précédent. En effet, il semble y avoir eu un vieillissement de l'échantillon (un an entre l'étude des incubations anaérobies et la modification du protocole de fractionnement) qui conduit à une extractabilité moindre. L'échantillon n'était probablement pas assez sec et a donc évolué. En effet, les matrices lyophilisées présentent en général un taux de MS de 90 – 95 % alors que l'échantillon présente ici un taux de MS de 80 % environ.

Les quantités extraites sont équivalentes pour les deux protocoles. Le remplacement du bicarbonate par le tétraborate ne change donc pas la quantité de matière organique extraite dans SPOM et n'a aucun impact sur les quantités de DCO extraites dans les compartiments suivants. Il faut de plus noter

que le plan d'expériences montre que la quantité de carbone organique extrait est similaire entre la solution modifiée et la solution initiale. Ici, le travail est effectué sur une matrice différente et la quantité de matière organique extraite est similaire pour les deux protocoles. Cela confirme la validité de la modification de la solution puisque les quantités de matière organique extraite sur deux matrices différentes sont similaires avant et après modification de la solution. De plus, la cohérence de la mesure de la matière organique par deux techniques différentes est validée : d'un point de vue pragmatique il est donc possible de travailler avec une mesure de la matière organique selon la technique la plus facilement mise en œuvre. Cependant, la matière organique extraite est-elle la même ? Pour vérifier cela (la modification du sel ne doit pas modifier l'extraction), des mesures de NTK, protéines de Lowry et sucres Dubois sont réalisées sur les extraits SPOM, REOM et SEOM (Figure 73).

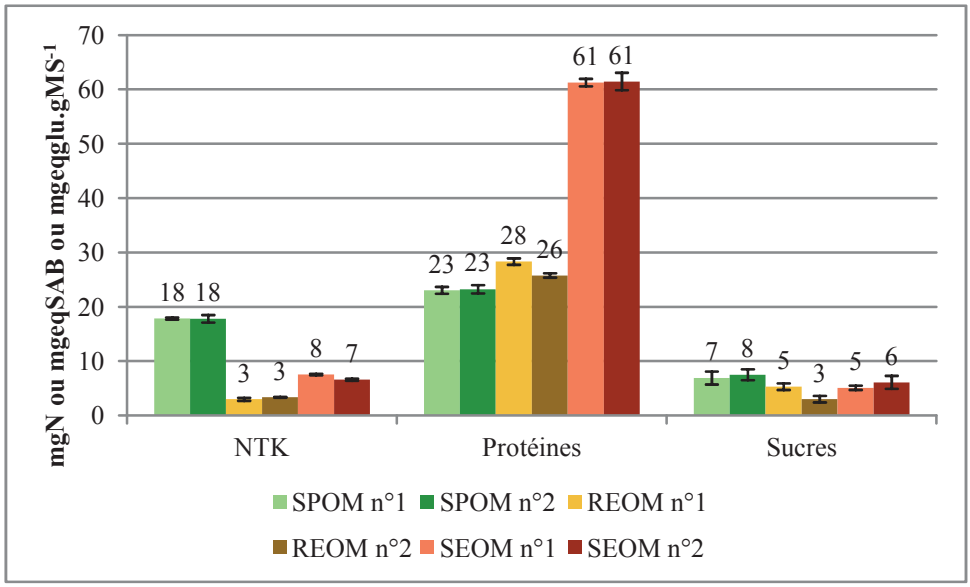



**Figure 73 : azote NTK, protéines Lowry et sucres Dubois sur les extraits des protocoles n°1 et n°2**

Un test ANOVA (Excel 2010) est réalisé sur les valeurs de chaque extrait pour le NTK, les protéines et les sucres.

En ce qui concerne l'azote, les valeurs pour SPOM et REOM sont statistiquement identiques. Les valeurs pour SEOM sont statistiquement différentes. Ainsi, il semble que le changement de réactif sur SPOM engendre une perte de l'extraction des composés azotés de SEOM. Malgré tout, la différence est faible (- 13 %) et l'impact est donc négligeable.

Le changement de réactif impacte l'extraction des protéines et des sucres dans REOM (– 9 % et – 43 % respectivement). Tout comme pour l'azote NTK, l'écart est faible en ce qui concerne les protéines et donc l'impact négligeable. Les teneurs en sucres sont faibles, ainsi une petite erreur lors du dosage peut avoir un impact important sur les pertes.

Globalement, le protocole modifié (protocole n°2 avec tétraborate) ne change ni la quantité ni la qualité de la matière organique extraite. Ce protocole est retenu pour la suite du développement d'un protocole de fractionnement adapté à des matrices variées.

## G. Comparaison du protocole de fractionnement des boues modifié (protocole n°2) et du protocole de fractionnement Van Soest

### 1. Fractionnement des matrices selon le protocole modifié (protocole n°2)

La cinétique d'extraction est tracée en mgDCO cumulée normalisée par les MS en fonction du volume cumulé d'extractant utilisé (Figure 74).

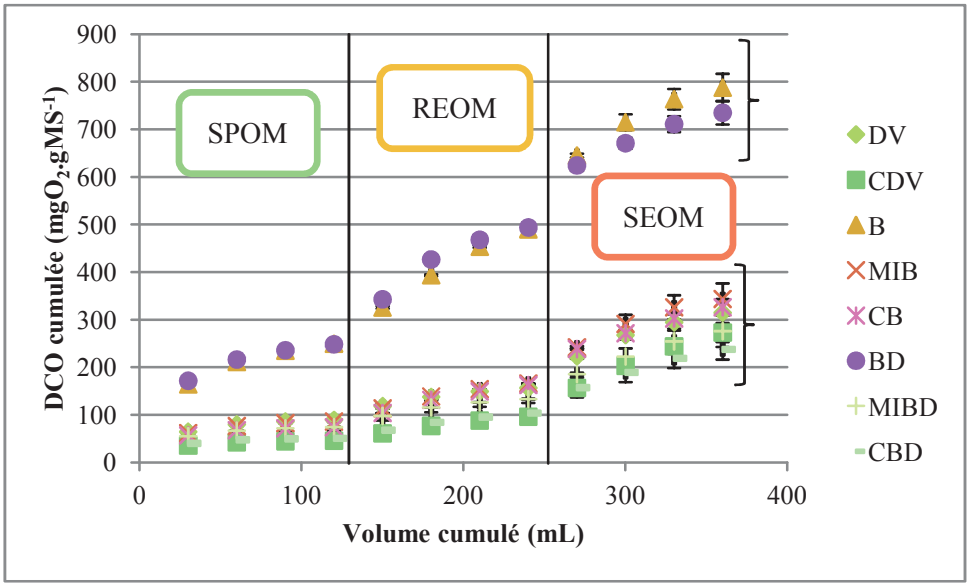



**Figure 74 : évolution de la DCO au cours de l'extraction sur les huit matrices selon le protocole n°2**

Le protocole permet de discriminer deux types de matrices : les matrices type boues et les matrices lignocellulosiques (mélanges initiaux de compost, déchets verts et composts). Les cinétiques sur les boues montrent que l'extraction d'un compartiment n'est pas complète après deux répétitions alors que pour les mélanges initiaux et les composts l'extraction atteint un palier dès la troisième répétition. La matière organique des boues est plus extractible que celle issu des déchets verts et composts. Ce résultat est logique puisque les extractions réalisées sont basiques et que les boues contiennent majoritairement des composés protéiques solubles dans un milieu basique. Toutefois, le protocole ne permet pas de discriminer les intrants et les sortants des différents procédés puisque les boues digérées ou non ont une courbe de DCO semblable et que les déchets verts, mélanges initiaux et composts ont des courbes de DCO cumulées proches.

Les valeurs de DCO extraites permettent de calculer la répartition de la DCO dans chaque matrice (Figure 75).

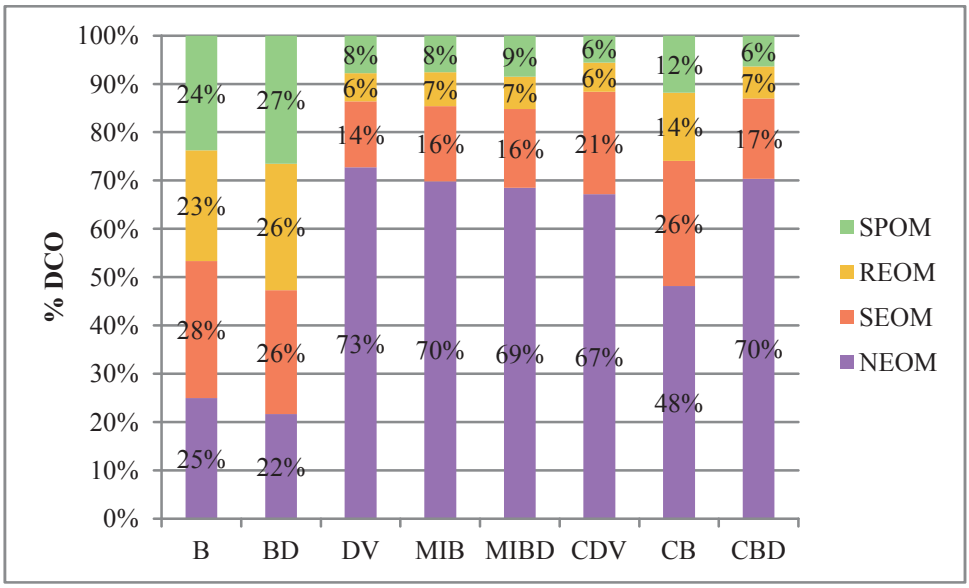



**Figure 75 : répartition de la DCO dans les différentes matrices**

Les échantillons sont regroupés selon les deux groupes distingués précédemment. Les boues digérées ou non présentent des compartiments SPOM, REOM et SEOM très importants (aux alentours de 25 % de la DCO extraites). Le non extractible (NEOM) ne représente qu'un quart de la DCO totale de l'échantillon. Ici, il semble que cette matière non extractible soit composée majoritairement de composés non solubles dans des solutions basiques. Les matrices lignocellulosiques présentent des taux de matière non extractible élevés (de l'ordre de 70 %). En effet, les attaques chimiques ici réalisées sont relativement douces et ne permettent pas d'attaquer certaines structures complexes (structure hémicelluloses/celluloses/lignines).L'extraction SPOM (solution à pH neutre avec présence de sel) permet probablement d'extraire des composés très solubles mais pas d'attaquer réellement la matière. Ainsi, lors de l'extraction SPOM des composés très solubles et des composés très faiblement liés à la matière organique sont extraits. Les extractions REOM et SEOM peuvent être comparées aux résultats de prétraitements thermochimiques sur des matrices lignocellulosiques (ces prétraitements sont mis en place pour améliorer le potentiel méthane et/ou hydrogène de substrats lignocellulosiques souvent peu dégradables). Les prétraitements alcalins sont majoritairement utilisés pour rompre les liaisons esters dans les complexes lignine/carbohydrates-phénoliques. Ils conduisent à la saponification des liaisons uroniques entre les hémicelluloses et la lignine, gonflent les fibres et augmentent la taille des pores facilitant la diffusion des enzymes hydrolytiques (thèse Monlau, 2012). Il est donc possible de s'attendre à une solubilisation de quelques sucres et de composés ligneux dans les extraits REOM et SEOM.

Le protocole est donc adapté pour les boues mais il semble manquer une étape pour extraire plus de matière organique (et donc caractériser plus) sur les matrices lignocellulosiques. Pour cela, les mêmes

matrices sont fractionnées selon le protocole de Van Soest. Ensuite, les résultats des deux fractionnements sont comparés pour déterminer les étapes de fractionnement de chaque protocole à garder ou à éliminer pour obtenir un fractionnement qui permette à la fois de caractériser des boues et des matrices lignocellulosiques.

## 2. Fractionnement des huit matrices selon le protocole Van Soest

Les huit matrices sont fractionnées selon le protocole Van Soest (Figure 76). La répartition de la matière organique est donnée en pourcentage de MV de l'échantillon. Les échantillons sont classés selon les mêmes groupes que lors du fractionnement précédent.

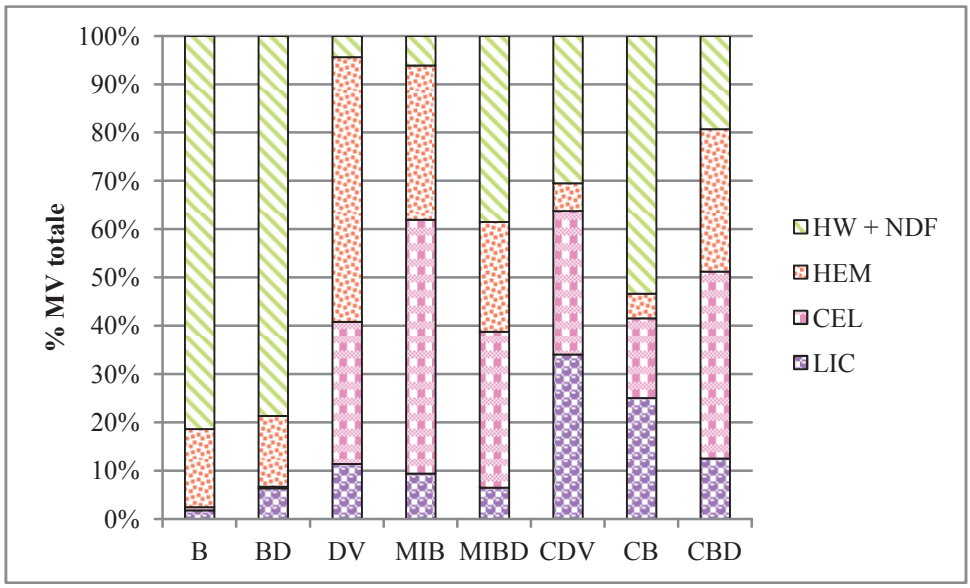



**Figure 76 : répartition des MV des huit matrices fractionnées selon le protocole Van Soest**

Comme le protocole n°2, le fractionnement Van Soest est discriminant pour les deux types de matrices : matrices type boues donc 80 % de la MV est solubilisée dans HW et NDF et les matrices lignocellulosiques présentant des compositions différents.

Les mélanges initiaux sont similaires en termes de taux de lignine. La répartition des fractions solubles, hémicelluloses et celluloses varient suivant le type de matière organique compostée. Les déchets verts présentent une fraction soluble faible et montrent des taux élevées de cellulose et hémicelluloses ce qui est cohérent avec le type de matrice. Le mélange initial du compost de boues a une composition proche des déchets verts. La fraction soluble est faible. La différence provient de la répartition hémicelluloses et cellulose. Le mélange initial étant composé de boues et de déchets verts il est possible que la majeure partie du mélange initial soit composée de déchets verts. Le mélange initial du compost de boues digérées présente une fraction soluble très élevée qui provient probablement d'une part de boues digérées importante dans ce mélange.

Pour les trois composts, le taux de lignine augmente et les taux de cellulose et hémicelluloses sont plus faibles (sauf pour le compost de boues digérées). La fraction soluble augmente pour tous les composts

sauf pour le compost de boues digérées où elle diminue. La différence entre les composts de DV et de boues et le compost de boues digérées provient probablement du fait que la fraction soluble du mélange initial du compost de boues digérées est dégradée d'où une augmentation des teneurs en cellulose et hémicelluloses (on ne tient pas compte de l'abattement de matière lors du compostage) alors que les deux autres mélanges initiaux présentent un taux faible de soluble donc les autres compartiments sont dégradés conduisant à la formation de composés solubles.

Se pose alors une question : est-ce que le protocole de fractionnement adapté aux boues a une correspondance avec le protocole de fractionnement Van Soest ? Les fractions SPOM, REOM et SEOM correspondent-elles à la fraction soluble (HW + NDF) du Van Soest ?

### 3. Comparaison fractionnement type boues et fractionnement type Van Soest

Les répartitions des compartiments matière selon le protocole n°2 et le protocole Van Soest sont comparées (Figure 77 et Figure 78). Les composés chimiques présents dans les extraits Van Soest interfèrent avec la mesure de la DCO. Il a donc été décidé de déterminer la perte en MV à chaque étape du protocole n°2 afin de pouvoir déterminer la répartition de la matière organique en pourcentages de MV.

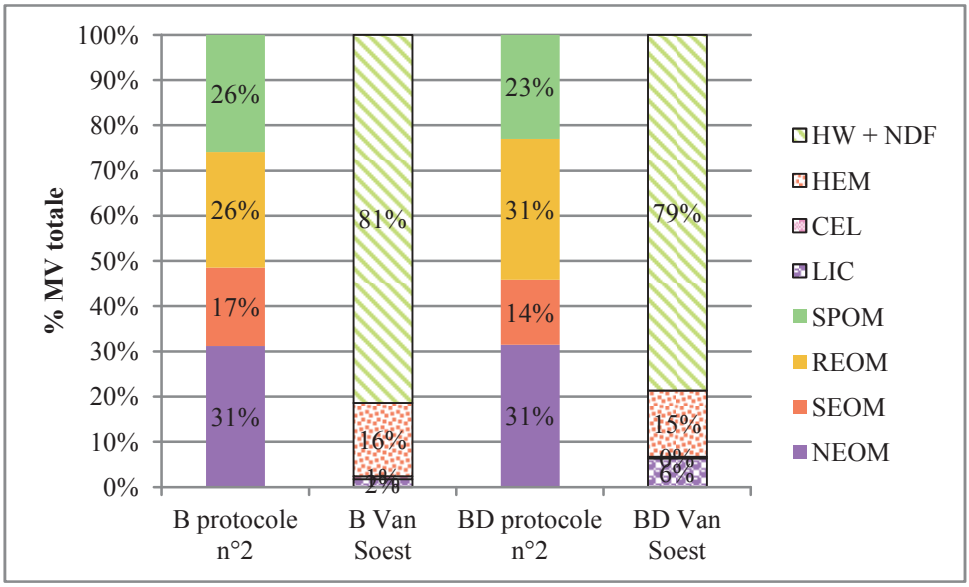



**Figure 77 : comparaison des fractionnements de la matière organique des boues et boues digérées selon le protocole n°2 et le protocole Van Soest**

La fraction soluble du Van Soest extrait en termes de taille de compartiments les fractions SPOM, REOM, SEOM et une partie de la fraction NEOM (Figure 77). Ainsi, les deux fractionnements sont différents sur les boues et aucune correspondance entre les deux protocoles n'est mise en évidence.

**Figure 78 : comparaison des fractionnements de la matière organique des mélanges initiaux et composts selon le protocole n°2 et le protocole Van Soest**

Tout comme pour les boues et boues digérées, il ne semble pas y avoir de lien entre les fractionnements Van Soest et protocole n°2. Toutefois, pour la plupart des matrices, il semble que le pourcentage de NEOM englobe les fractions LIC, CEL et une partie de HEM. Il est donc probable que les attaques basiques du protocole n°2 ne permettent pas d'extraire les holocelluloses.

### 4. Conclusions sur la comparaison des deux protocoles de fractionnement

Les deux protocoles de fractionnement extraient différemment et sont adaptés à des matrices particulières.

Le protocole de fractionnement type boues extrait des composés protéiques ainsi que des sucres. Toutefois, les rendements d'extraction sont faibles pour des matrices lignocellulosiques. En effet, l'absence d'extraction avec des acides concentrés ne permet pas de casser suffisamment la structure pour extraire la matière organique. Ce fractionnement ne possède pas d'étape d'extraction à l'eau, ainsi SPOM, contenant des sels, ne va pas extraire des solubles vrais mais des composés solubles ainsi que des composés extraits de la matière organique.

Le protocole de fractionnement Van Soest est très bien adapté pour les matrices lignocellulosiques, mais peu pour les matrices type boues puisque l'intégralité des échantillons de boues sont solubilisés dès les premières attaques. De plus, la présence de chauffage lors des attaques peut provoquer une dénaturation des composés extraits, faussant ainsi la caractérisation des matières organiques extraites. Enfin, les composés constituant les solutions d'extractions interfèrent avec les techniques de dosage par colorimétrie notamment en ce qui concerne le dosage des protéines par la méthode de Lowry.

Le nouveau protocole devra donc :

- Utiliser des extractions de sévérité croissante représentant l'accessibilité biologique des compartiments matières, il faut garder des extractions basiques pour caractériser les composés protéiques et les matrices boues mais aussi une attaque acide forte pour pouvoir extraire et caractériser les composés issus de matières lignocellulosiques ;
- Limiter les étapes de chauffage pour éviter l'extraction massive de composés solubles à peu solubles ainsi que la dénaturation des composés extraits ; de plus le fractionnement sera appliqué à la localisation des micropolluants organiques or certains de ces composés sont volatiles dès 40°C.

Un protocole couplé est donc testé en tenant compte des points faibles et des points forts de chaque protocole de fractionnement ainsi que des remarques précédemment décrites :

- Extraction à l'eau pour extraire les composés solubles vrais ;
- Extraction SPOM (tétraborate) (composés facilement extractibles) ;
- Extraction REOM (composés protéiques et humiques facilement extractibles) ;
- Extraction SEOM (composés protéiques et humiques moins accessibles) ;
- Extraction PEOM (acide sulfurique 72%) pour extraire les hémicelluloses et celluloses dans le cas des matrices lignocellulosiques ou des composés type sucres pour des matrices type boues.

Les extractions sont toutes réalisées à 30°C pour éviter de chauffer les échantillons. De plus, les extractions peuvent être menées directement dans les tubes de centrifugation ce qui évite la perte de matière par transfert et facilite la séparation échantillon/extrait par simple centrifugation (18 600 g, 20 min, 4°C). Les hémicelluloses et celluloses ne sont pas distinguées car cela n'apporte pas d'intérêt particulier dans le cadre de cette thèse.

Ce nouveau protocole (Figure 79) est testé sur la filière digestion anaérobie suivie de compostage car cette filière est étudiée au niveau laboratoire (devenir de la matière organique et des micropolluants organiques) : boues digérées déshydratées, mélange initial du compost de boues digérées, compost de boues digérées.

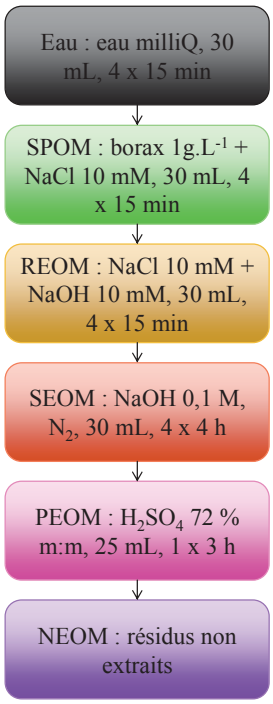



**Figure 79 : protocole de fractionnement testé (étape 4 de la Figure 67)**

Le pourcentage de DCO extraite cumulé est représenté en fonction du volume cumulé d'extractant (Figure 80).

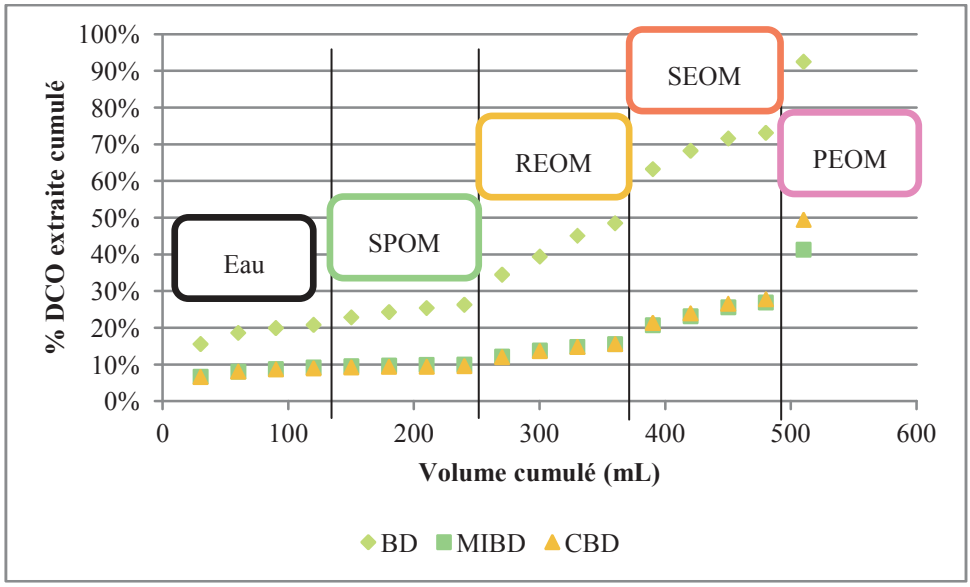



**Figure 80 : test d'un protocole couplé sur les échantillons issus de la filière de traitement des boues par digestion anaérobie suivie de compostage soit test du protocole sur les boues digérées BD, le mélange initial du compost de boues digérées (MIBD) et le compost de boues digérées (CBD)**

Le protocole proposé ici permet d'extraire plus de matière organique que le protocole de fractionnement type boue que ce soit pour les matrices boues ou les matrices lignocellulosiques (Figure 81).

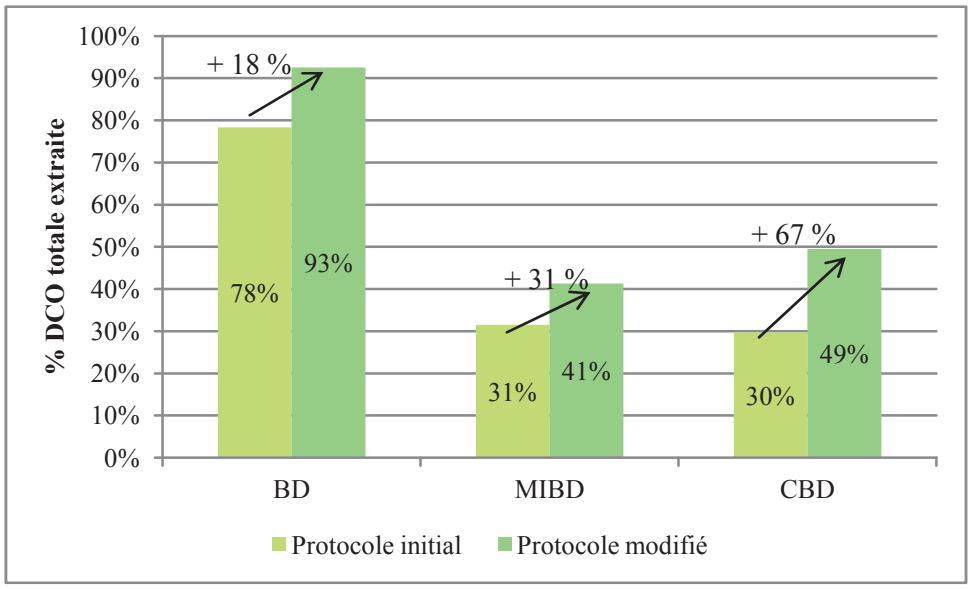



**Figure 81 : comparaison de la quantité de DCO extraite entre le protocole initial et le protocole modifié pour les trois matrices testées (boues digérées, mélange initial du compost de boues digérées et compost de boues digérées)**

Les extractions ne posent pas de problèmes d'interférences avec les dosages de DCO, carbone, protéines et sucres (excepté ADL qu'il est nécessaire de neutraliser avant de doser les protéines).

Pour le mélange initial et le compost, le passage de l'eau à SPOM n'a aucun effet puisque le pourcentage de DCO extraite n'évolue pas. Pour la boue digérée, SPOM continue d'extraire de la matière organique mais très faiblement. Ainsi, le sel d'extraction ne semble pas avoir d'impact sur l'extraction des composés solubles facilement accessibles. De plus, il ne semble pas nécessaire de faire

deux extractions. La première extraction du nouveau protocole sera donc une extraction avec du $CaCl_2$ (sel permettant d'éviter la lyse cellulaire lors de l'extraction). Le choix du sel a été guidé par la simplicité de préparation de la solution, par la toxicité moindre du chlorure de calcium (le tétraborate est toxique alors que le chlorure de calcium est irritant) et pour l'analogie avec les tests de lixiviation ou de disponibilité de polluants dans les sols ou composts (Lashermes, 2010).

Les extractions REOM et SEOM extraient des composés sur toutes les matrices même si la quantité extraite est plus élevée pour les boues (ce qui est cohérent car elles contiennent beaucoup de protéines). Ces deux extractions sont donc conservées.

Enfin, l'extraction PEOM permet d'extraire des composés auparavant inaccessibles. Toutefois, il semble qu'une seule attaque ne soit pas suffisante. Deux attaques seront donc retenues. Elles permettent de plus d'extraire des composés humiques présents dans des matrices type compost.

Le protocole retenu et utilisé par la suite est représenté par la Figure 82.

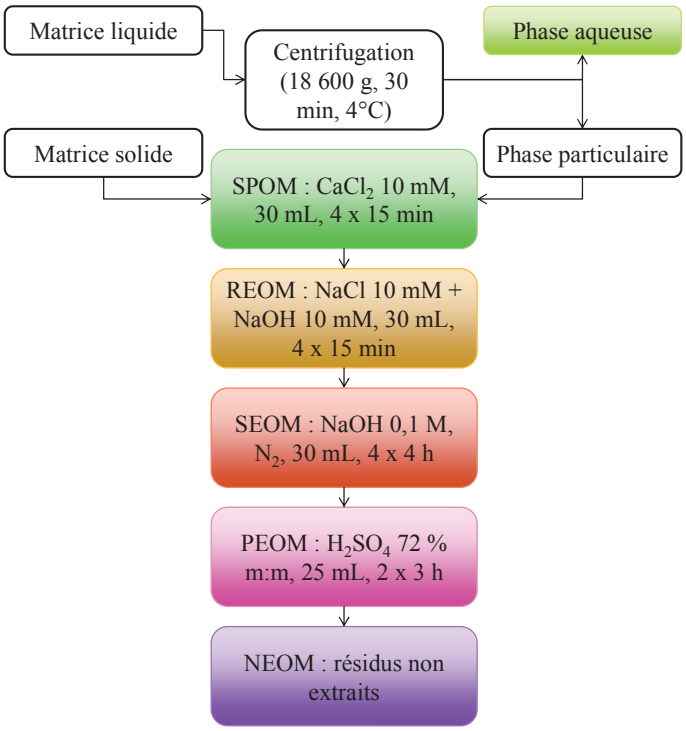



**Figure 82 : protocole de fractionnement**

Un bilan DCO est réalisé sur deux matrices de natures différentes ; en quelque sorte les extrêmes en termes de nature : la phase particulaire d'une boue et un déchet vert. Pour réaliser le bilan, la DCO de l'échantillon total est comparée à la somme des DCO de chaque extrait et de chaque culot.

Pour le déchet vert, 65 % de la DCO est recouvrée contre 85 % pour la boue. Ainsi, le bilan en DCO pour la boue est meilleur que pour le déchet vert. Lors du fractionnement, une partie de la matière est perdue lors de la vidange des extraits avant l'étape suivante. Ces pertes peuvent expliquer que le bilan de DCO n'est pas à 100 %. La fraction NEOM est calculée par différence entre la DCO totale et la

DCO extraite, ainsi le bilan tient compte des pertes dans la fraction NEOM. La fraction NEOM est donc surestimée pour chacune des matrices.

## H. Validation du protocole sur des matrices modèles

Dans ce paragraphe et les suivants, les graphiques de répartition de la DCO ne présentent pas de barres d'erreurs. En effet, lors des précédentes expérimentations, il est constaté que les erreurs sont faibles et de l'ordre de quelques pourcents (l'extraction est répétable). Pour un gain de temps et de coût (DCO), il est décidé de faire le bilan DCO sur une seule répétition.

Le fractionnement est réalisé sur quatre matrices dont les compositions biochimiques sont globalement bien connues :

- Extrait de viande (EV) : protéines majoritairement ;
- Steak haché (SH) : protéines, sucres et lipides ;
- Acides humiques (AH) ;
- Carton (C) : cellulose majoritairement et lignine résiduelle.

Les matrice sont lyophilisées et broyées à 1 mm.

Le fractionnement est effectué sur chaque matrice (Figure 83).

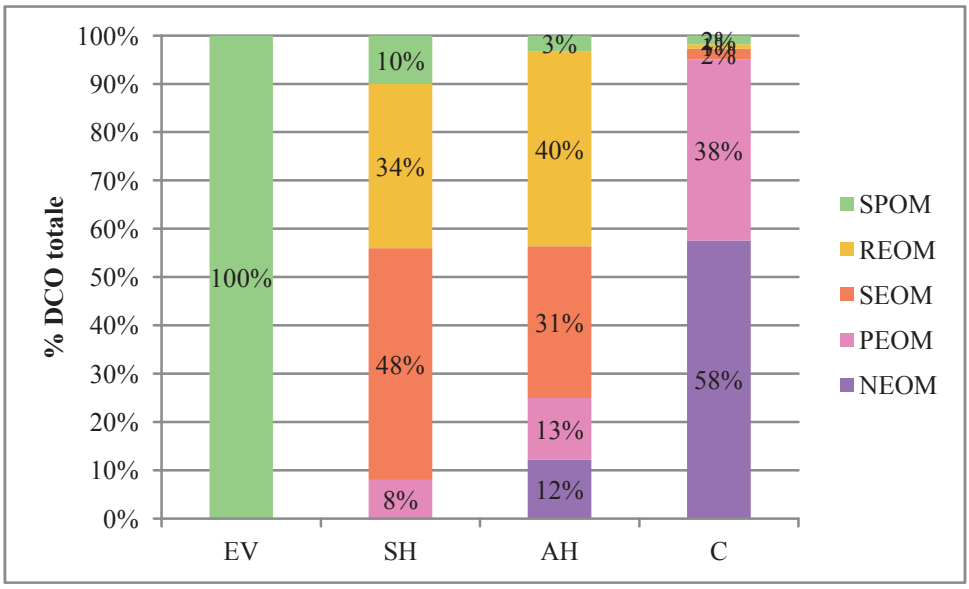



**Figure 83 : fractionnement des matrices composant la matrice témoin**

Toute la matière organique de l'extrait de viande est extraite dans le compartiment SPOM. Ce résultat est logique puisque l'extrait de viande se présente sous forme d'une solution avant lyophilisation et est donc probablement composée à 100 % de composés organiques solubles. La caractérisation par fluorescence 3D montre uniquement des composés de type protéique (Figure 84). Ce résultat est cohérent puisque la viande est composée principalement de protéines. De plus, il est en accord avec le spectre de fluorescence 3D d'un échantillon de tryptophane (protéine, fluorescence sur solide) (Muller

et al., 2011). Toutefois, les protéines isolées ici ne sont pas uniquement des protéines type tryptophane puisqu'un massif de fluorescence est détecté en plus ici.

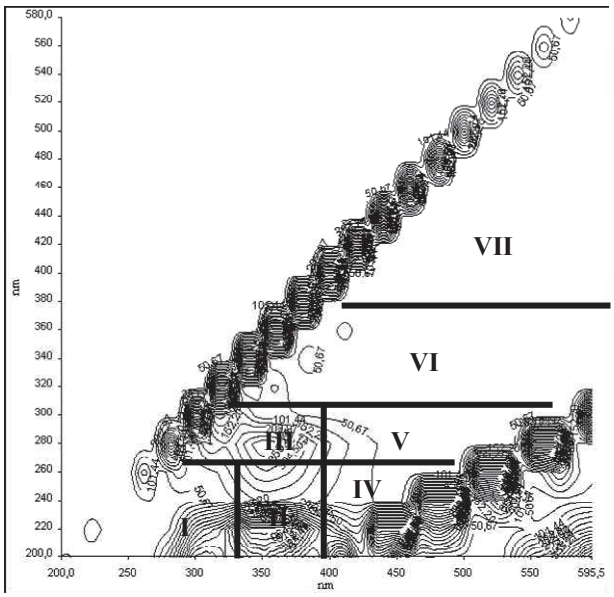



**Figure 84 : spectre de fluorescence de l'extrait de viande (SPOM), dilution 200**

Le steak haché présente une petite fraction SPOM. Cette fraction correspond à de petites molécules facilement solubles ou à des composés libérés lors de la lyophilisation. Les deux fractions les plus importantes sont REOM et SEOM : les fibres animales qui constituent la viande contiennent principalement des protéines. La viande peut contenir aussi quelques sucres qui sont extraits au niveau de PEOM. Les composés extraits dans les premiers compartiments (SPOM, REOM et SEOM) sont majoritairement des composés protéiques d'accessibilités chimiques différentes (Figure 85). Le compartiment PEOM contient des composés protéiques mais aussi des substances de type humique (composés complexes très aromatiques apparaissant sur la droite du spectre). Or, la viande ne contient pas d'acides humiques, il s'agit plutôt de protéines agglomérées ou de glycoprotéines (« grosses » molécules avec de nombreux cycles aromatiques d'où une fluorescence présente sur la droite du spectre). Les spectres de SPOM, REOM et SEOM présentent des similitudes avec des spectres de protéines (tryptophane) ; le spectre PEOM montre des similitudes avec un spectre effectué sur de la SAB (notamment au niveau de la zone VI et de la zone VII) (Muller et al., 2011). Ainsi, les résultats de fluorescence 3D sont cohérents avec la composition de la matrice considérée.

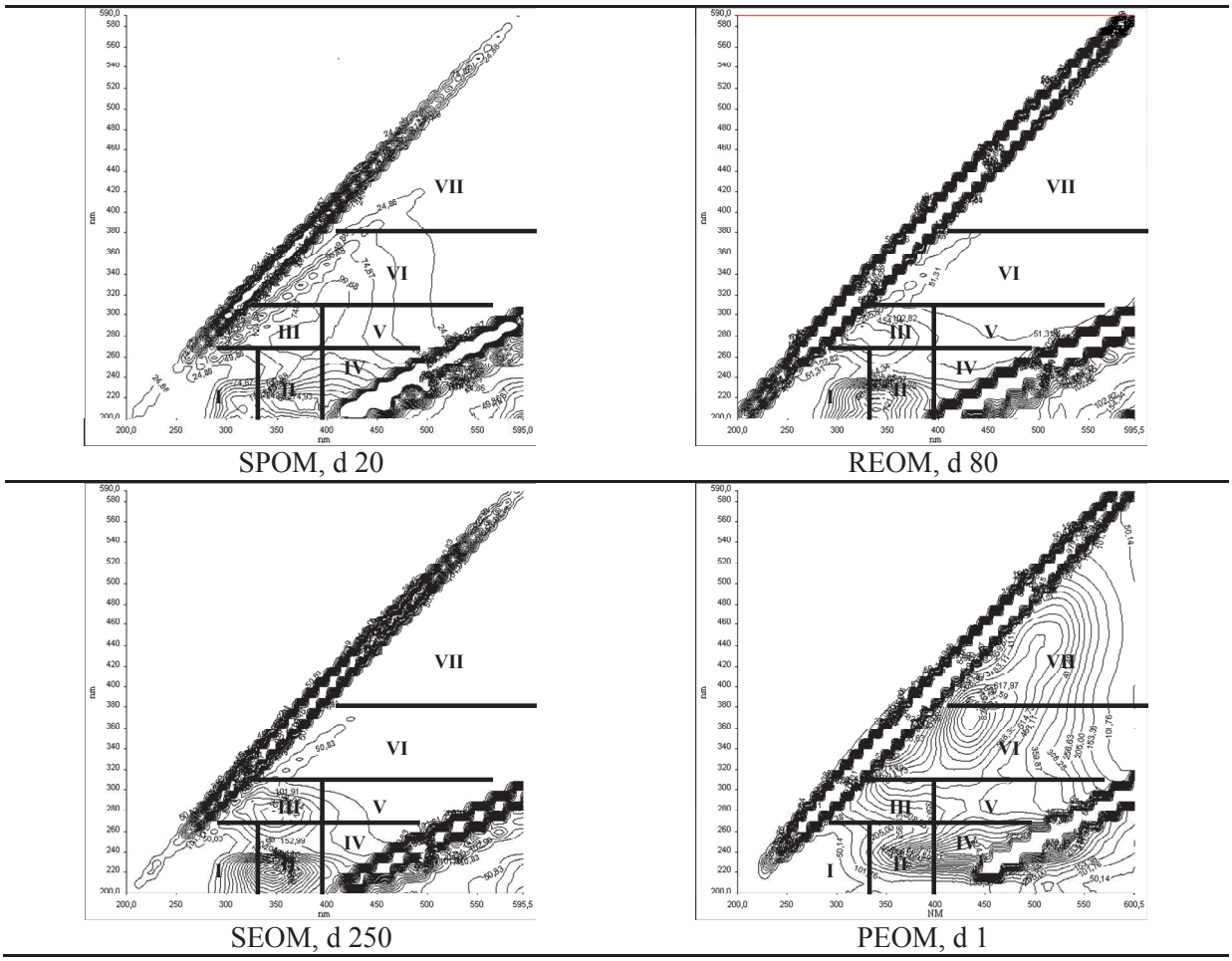



**Figure 85 : caractérisation des compartiments extraits du steak haché par fluorescence 3D (d, dilution)**

Les acides humiques sont principalement extraits lors des premières extractions SPOM, REOM et SEOM. Ce résultat est cohérent puisque les acides humiques sont solubles dans les milieux basiques. Quel que soit le compartiment, la signature de fluorescence correspond à celle des substances de type humique (Figure 86). Le mélange est un mélange commercial d'acides humiques, les acides humiques présents ici ont donc des accessibilités chimiques différentes. Les acides humiques ne sont pas solubles dans les acides, or on détecte la présence de matière organique avec une signature de fluorescence dans le compartiment PEOM extrait avec de l'acide sulfurique. Soit la préparation commerciale contient des impuretés (acides fulviques) qui sont extraits dans l'acide soit il s'agit d'un artefact lié au protocole d'extraction (une partie des acides humiques restant est légèrement solubilisée dans l'acide sulfurique 72 % m:m)

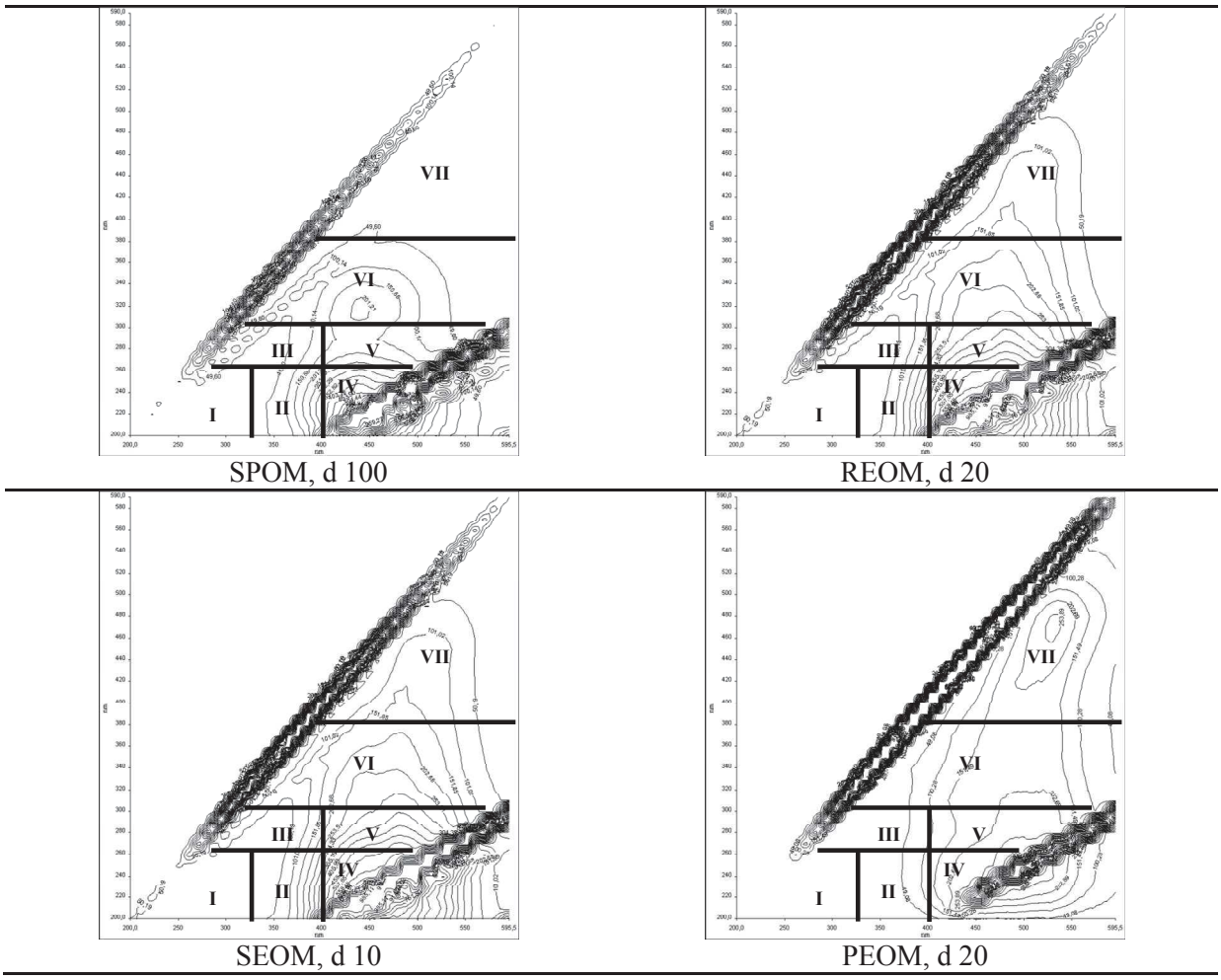



**Figure 86 : caractérisation des compartiments extraits des acides humiques par fluorescence 3D (d, dilution)**

Le carton est principalement extrait au niveau de PEOM. Cependant, quelques composés solubles (impuretés) peuvent ressortir au niveau de SPOM, REOM et SEOM. Le carton étant principalement constitué de lignocellulose, les compartiments majoritaires sont PEOM et NEOM (PEOM correspondrait aux celluloses extraites et NEOM aux lignines). Le compartiment NEOM est relativement important puisque le cartons utilisé est du carton « marron » qui est moins pur qu'un carton blanc, il contient donc plus de lignine. Les composés extraits dans SPOM, REOM et SEOM sont principalement de type protéiques (Figure 87) mais contiennent aussi des composés type lignocellulose (ce qui est logique puisque le carton est préparé à partir de résidus végétaux composés de lignocellulose). Le compartiment contenant de la cellulose (PEOM) montre aussi une signature de fluorescence au niveau des composés type lignocellulose. En effet, la lignocellulose peut se solubiliser en partie dans les bases ou les acides.

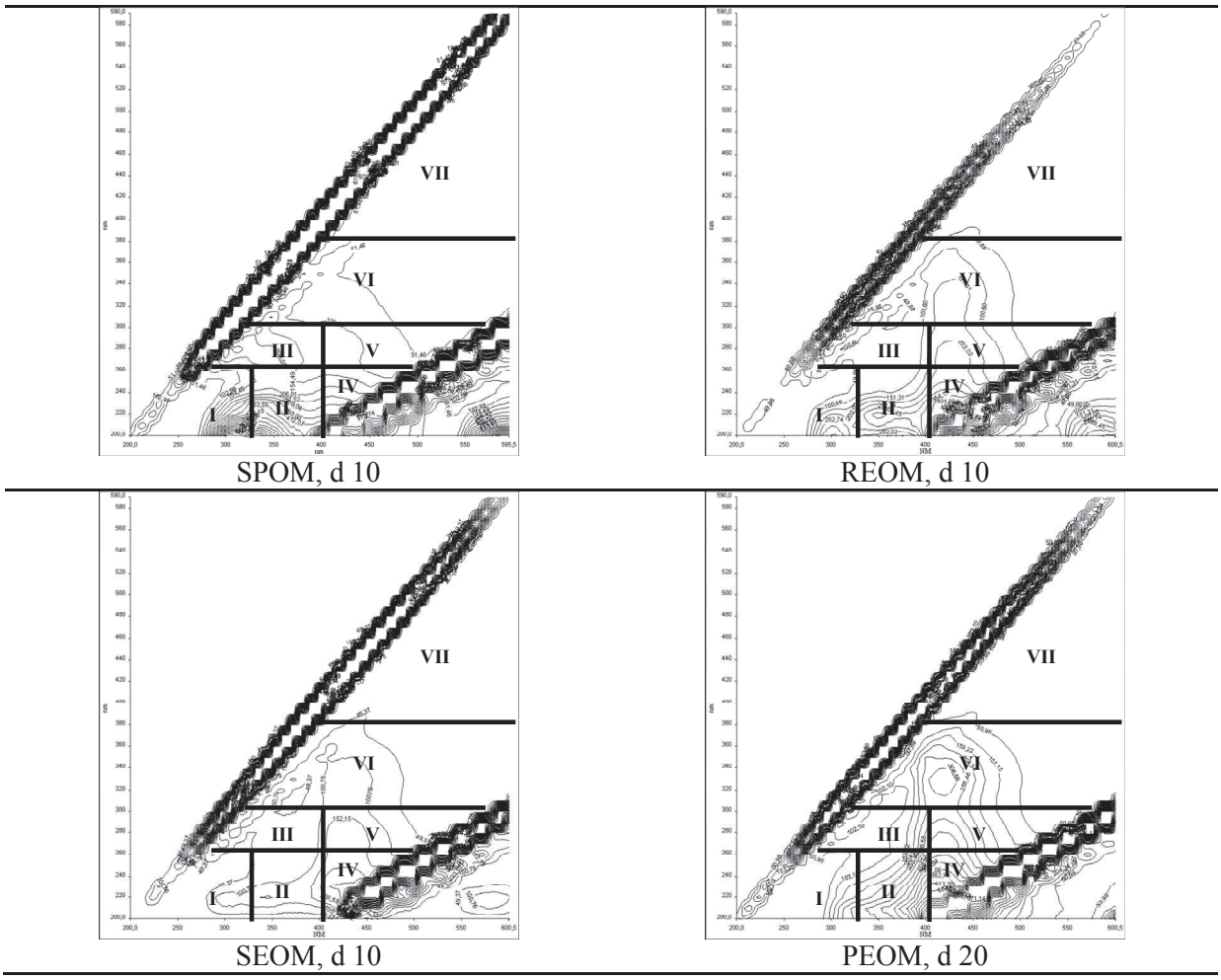



**Figure 87 : caractérisation des compartiments extraits du carton par fluorescence 3D**

Les indices de complexité Ph/Pp sont calculés pour chaque compartiment de chaque matrice (excepté l'extrait de viande qui est totalement extrait dans le compartiment SPOM et qui semble relativement simple car composé principalement de composés protéiques) (Figure 88).

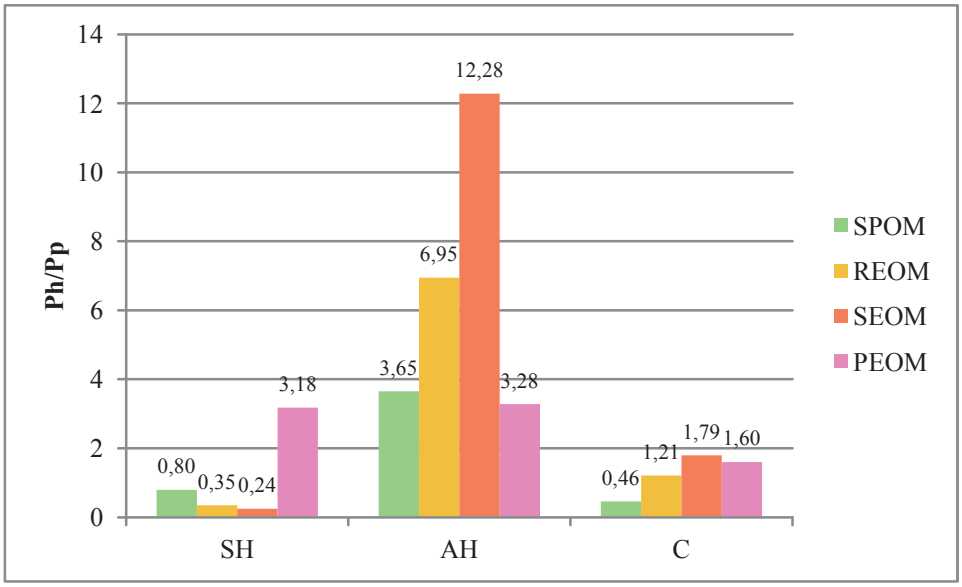



**Figure 88 : indices de complexité des fractions matière de SH, AH et C**

La matrice la plus complexe est celle composés d'acides humiques. En effet, les composés humiques sont de grosses molécules composés de nombreux cycles aromatiques. Le SH présente des indices globalement faibles ce qui est lié à la constitution de la matrice (beaucoup de protéines, composés simples). La fraction la moins accessible chimiquement (PEOM) est aussi la plus complexe. Le carton montre une complexité croissante en parallèle d'une accessibilité décroissante. Les fractions de lignocellulose (impureté) extraites dans les compartiments sont de plus en plus complexes.

Si on compare les mêmes extraits pour des matrices différentes, des composés de même nature semblent extraits. Toutefois, deux matrices aux spectres proches sont pourtant différentes car la fluorescence 3D ne permet de caractériser que les molécules aromatiques extraites. Pour certaines matrices (carton), l'accessibilité chimique décroissante est traduite par une augmentation de la complexité. Or, pour les autres matrices, la complexité évolue de manière non croissante ou décroissante pour chaque extrait. Ainsi, si l'accessibilité chimique correspond à l'accessibilité biologique, la complexité de la matière organique peut avoir un impact sur la dégradation de la fraction. En effet, une fraction accessible mais plus complexe peut être moins dégradée qu'une fraction moins accessible mais aussi moins complexe. L'extraction semble donc aspécifique (*i.e.* elle n'extrait pas toujours les mêmes composés pour les mêmes compartiments pour des matrices différentes) mais permet d'estimer l'accessibilité de la matière organique. L'étude ne donne aucune idée sur l'accessibilité biologique des fractions extraites. Le test du protocole sur des matrices issues de procédés industriels (suivi du traitement des boues de STEP) permet de déterminer s'il existe un lien entre l'accessibilité chimique et l'accessibilité biologique des compartiments matière. Les résultats présentés précédemment sur les incubations anaérobies et la construction du protocole laissent présager ce lien entre les accessibilités biologique et chimique de la matière organique.

Le protocole est validé sur les différentes matrices « standard » étudiées. En effet, la répartition de la DCO semble logique comparée aux connaissances sur la composition de ces matrices. De plus, la caractérisation par fluorescence 3D permet de bien retrouver les molécules types présentes dans chacune des matrices étudiées. En effet, pour le carton, les fractions PEOM et NEOM sont majoritaires ce qui correspond bien à une matrice composée de fibres végétales (lignocellulose) et l'extraction du SH montre bien des compartiments hautement protéiques correspondant à la composition de cette matrice.

## I. Caractérisation de la matière organique lors du traitement des boues et de sols

Après validation du protocole sur les matrices témoins, il a été testé sur une filière de traitement des boues de STEP (échantillonnage n°1) ainsi que sur des échantillons de sol.

Malgré un fonctionnent avec une charge élevée (3 $gDCO.L^{-1}.j^{-1}$), les digesteurs ont un bon fonctionnement (Tableau XXVIII). En effet, nous remarquons des abattements importants en termes de DCO et de matière organique. De plus, il n'y a pas d'acides gras volatiles en sortie de digesteurs.

**Tableau XXVIII : bilan sur les digesteurs de la station d'épuration**

| $g.L^{-1}$ | Boues | Boues digérées | Abattement |
|---|---|---|---|
| MS | 51,6 | 34,3 | 34% |
| MV | 38,9 | 22,5 | 42% |
| DCO totale | 63,2 | 30,6 | 52% |
| AGV totaux | 1,4 | 0,0 | 100% |
| COT | 20,7 | 11,9 | 43% |
| NTK | 3,6 | 2,1 | 40% |
| Protéines (surnageant) | 0,4 | 0,3 | 40% |
| Lipides | 2,0 | 0,7 | 64% |

Un abattement de 40 % du NTK est constaté pendant la digestion anaérobie. Or, la digestion anaérobie ne produit pas d'azote moléculaire gazeux. Ainsi, l'abattement en NTK devrait être nul. La mesure du NTK est réalisée sur les boues et boues digérées lyophilisées et broyées. Durant la lyophilisation les composés ammoniacaux sont éliminés par volatilisation. Ainsi, l'abattement en azote correspond probablement à la quantité d'azote organique transformée en ammoniac/ammonium.

Le compost répond à la norme NFU 44-095 sauf pour les teneurs en MS et MV (Tableau XXIX). Ces faibles teneurs peuvent s'expliquer par les intempéries (neige et gel) qui ont empêché le bon fonctionnement de la plate-forme de compostage lors de la période de prélèvement (plate-forme à ciel ouvert).

**Tableau XXIX : comparaison des caractéristiques du compost avec la norme NFU 44-095**

| | Compost | NFU 44 095 |
|---|---|---|
| MS (%MB) | 42 | ≥ 50 |
| MV (%MB) | 27 | ≥ 30 |
| NTK (%MB) | 1,5 | < 3 |
| $MV/N_{organique}$[3] | 18 | < 40 |

Les différents spectres des fractions de matière organique extraites pour chacune des matrices sont donnés en annexe C.

### 1. Boues et boues digérées

La Figure 89 présente la répartition de la DCO dans la boue et la boue digérée avec le protocole optimisé, les matrices étudiées ici n'ont pas été prélevées à la même date que les matrices étudiées lors de la modification du protocole, ainsi, des différences peuvent être constatées entre les fractionnements présentés ici et ceux présentés précédemment (Figure 80).

[3] Le rapport est calculé ici avec le NTK. On suppose que la mesure représente en majorité de l'azote organique, ce qui est logique car la mesure est réalisée sur la matrice lyophilisée, la fraction ammoniacale est donc probablement volatilisée.

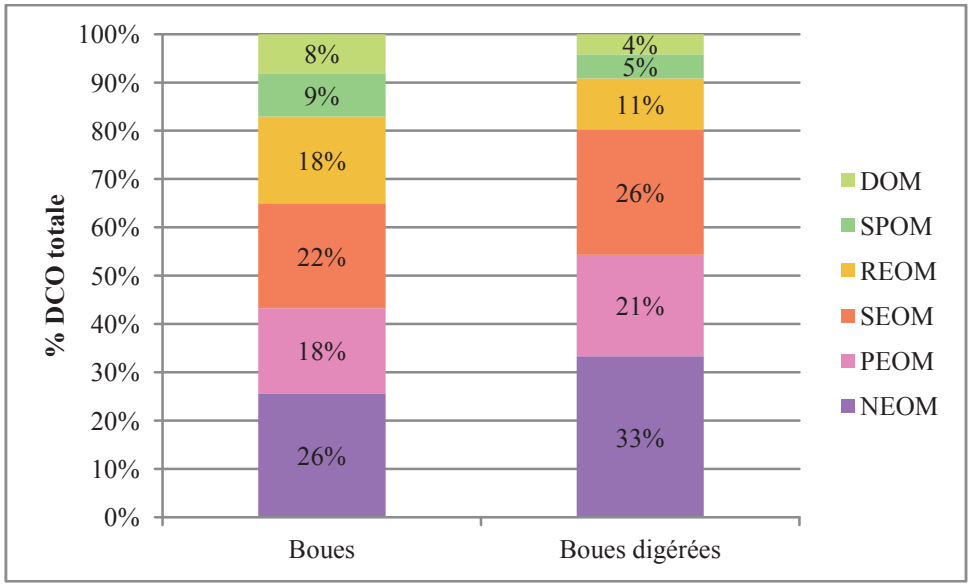



**Figure 89 : répartition de la DCO de la boue et de la boue digérée de STEP**

La répartition de la DCO est différente : la boue digérée présente des fractions de SEOM, PEOM et NEOM plus élevées. En effet, le procédé de digestion anaérobie conduit à une forte dégradation des compartiments les plus accessibles et à la production de composés réfractaires plus hydrophobes et complexes moins accessibles. Le protocole permet donc ici de discriminer les intrants et les sortants d'un procédé de digestion anaérobie (tout du moins en termes de répartition de la DCO). Dans sa thèse, Jimenez (2012) montre que la répartition de la DCO n'est pas toujours suffisante pour discriminer une boue et une boue digérée.

La répartition de la DCO de la boue et de la boue digérée est présentée en Figure 90 en ramenant la DCO de la boue digérée en équivalent DCO boue non digérée. Les propriétés physicochimiques de la boue peuvent varier au cours du temps au niveau de la station. Malgré tout, la dégradation de la DCO est ici prise en compte puisqu'il est estimé que la qualité des boues digérées varie peu voire pas du tout au cours du temps (confirmation par l'exploitant).

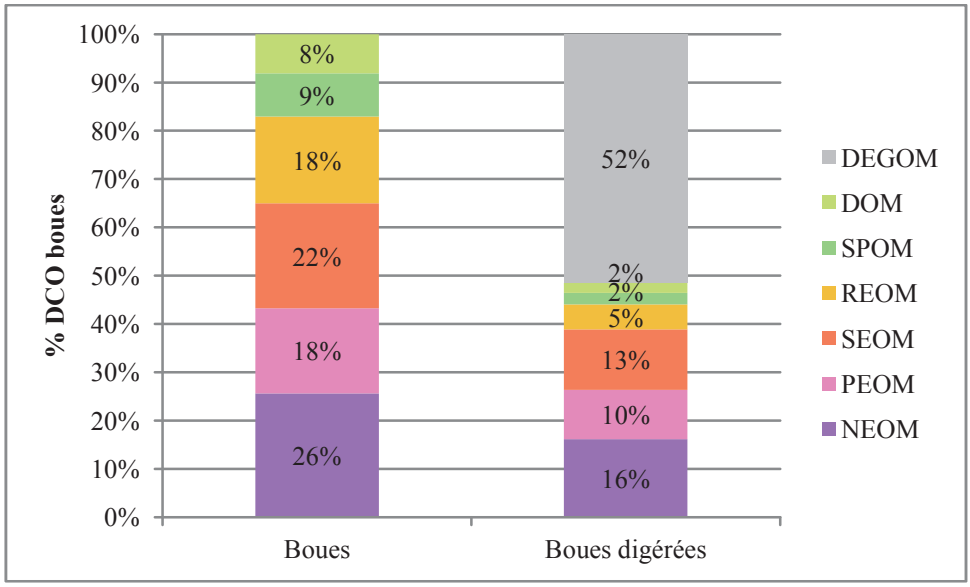



**Figure 90 : répartition de la DCO de la boue et de la boue digérée de STEP en % de la DCO boue**

L'expression de la DCO en pourcentage de la DCO boue (DCO initiale) permet de calculer les taux de dégradation de chaque compartiment : DOM 75 %, SPOM 73 %, REOM 71 %, SEOM 42 %, PEOM 42 % et NEOM 37 %. Les compartiments matière sont bien extraits en termes d'accessibilité et de dégradabilité décroissantes ; en effet, plus le compartiment est extrait « tard » moins il est dégradé. Cependant, il faut ici constater que la matière organique non extraite est en partie biodégradable. Son accessibilité est donc faible puisque la série d'attaques basiques et l'attaque à l'acide concentré ne l'extraient pas mais sa proportion diminue donc elle est bien dégradée au cours de la digestion anaérobie des boues de STEP. Ainsi, dans le cas des boues, il semble que l'accessibilité chimique soit en lien avec l'accessibilité biologique, ce résultat étant cohérent avec les travaux de Jimenez, 2012 (même si le protocole est légèrement modifié). Ceci montre aussi la cohérence de la nouvelle extraction mise en place (acide sulfurique) avec la détermination de l'accessibilité.

L'analyse de la répartition de la DCO n'est que quantitative et ne donne aucune indication sur la nature des boues digérées ou non. Pour compléter cette analyse quantitative, une caractérisation des compartiments par spectroscopie de fluorescence 3D est réalisée (Figure 91).

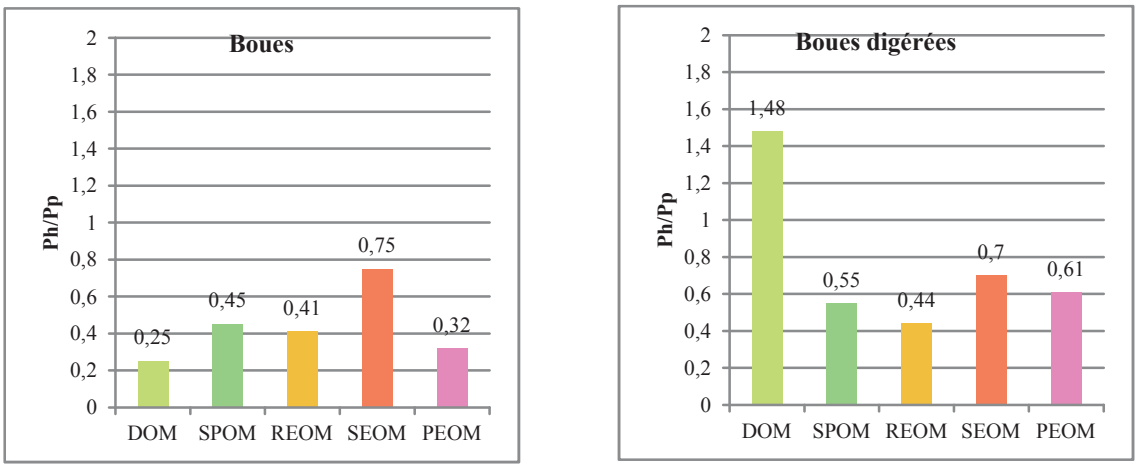



**Figure 91 : indices de complexité des compartiments matière de la boue et de la boue digérée**

La matière organique de la phase aqueuse (DOM) est énormément dégradée durant la digestion anaérobie. La spectrométrie de fluorescence 3D montre l'apparition de composés complexes type composés humiques et une intensité liée aux protéines moindre (en effet, le signal est plus faible pour une dilution 10 fois plus faible). Cette complexification est traduite par l'indice Ph/Pp qui augmente fortement pour le compartiment DOM entre la boue et la boue digérée.

L'indice Ph/Pp de SPOM évolue peu au cours de la digestion anaérobie. Cependant, un massif apparaît au niveau des zones complexes.

L'indice Ph/Pp n'évolue presque pas pour REOM. Ce compartiment est toutefois dégradé lors de la digestion anaérobie des boues : dégradation « uniforme » de la matière organique des boues ? La remarque est la même pour SEOM. Il semble donc que ces compartiments soient dégradés en termes de matière organique mais que leur qualité évolue peu. Ce résultat confirme les évolutions des compartiments constatées lors des incubations anaérobies (Chapitre VI) (même si le protocole a été modifié).

L'extraction PEOM montre des massifs protéiques prépondérants. Toutefois, ce résultat est étrange puisque les protéines sont supposées solubles dans les milieux basiques. Il pourrait s'agir d'un composé extrait à cette étape qui ne serait pas protéique mais aurait une fluorescence proche des protéines. La seconde hypothèse, serait l'apparition d'un filtre interne, qui récupère la fluorescence de molécules pour fluorescer à une nouvelle longueur d'onde. Ce phénomène est rare mais plausible (les spectres des compartiments PEOM ont été comparés avec des spectres d'extractions acides sur d'autre échantillons). Malgré tout, le composé protéique ou filtre interne semble dégradé lors de la digestion anaérobie des boues : en effet, la dilution pour obtenir le spectre de PEOM boue est beaucoup plus forte que pour obtenir le spectre de PEOM boue digérée.

Le protocole de fractionnement couplé à la spectrométrie de la matière organique des boues et boues digérées permet ici de mettre en évidence les évolutions de la matière organique en termes de qualité et quantité. Les évolutions des compartiments extraits en termes de quantités montrent bien la capacité

de dégradation des microorganismes en fonction de l'accessibilité du substrat. L'évolution de la composition de chaque compartiment met en évidence les processus de stabilisation de la matière organique lors de la digestion anaérobie des boues. En effet, pour les compartiments très dégradés, les massifs correspondant à des composés complexes apparaissent alors que les massifs plutôt protéiques s'atténuent.

Le protocole permet donc de mettre en évidence l'impact du procédé de digestion anaérobie sur les boues de STEP. De plus, il met en évidence un lien entre l'accessibilité chimique et l'accessibilité biologique de la matière organique.

## 2. Boues digérées : impact du procédé de déshydratation

Trois procédés de déshydratation des boues digérées sont comparés ici : déshydratation au laboratoire par centrifugation des boues digérées (noté BD), déshydratation par filtre-presse (noté BDfp) ainsi que déshydratation par centridry (noté BDcent). La répartition de la DCO est représentée en Figure 92.

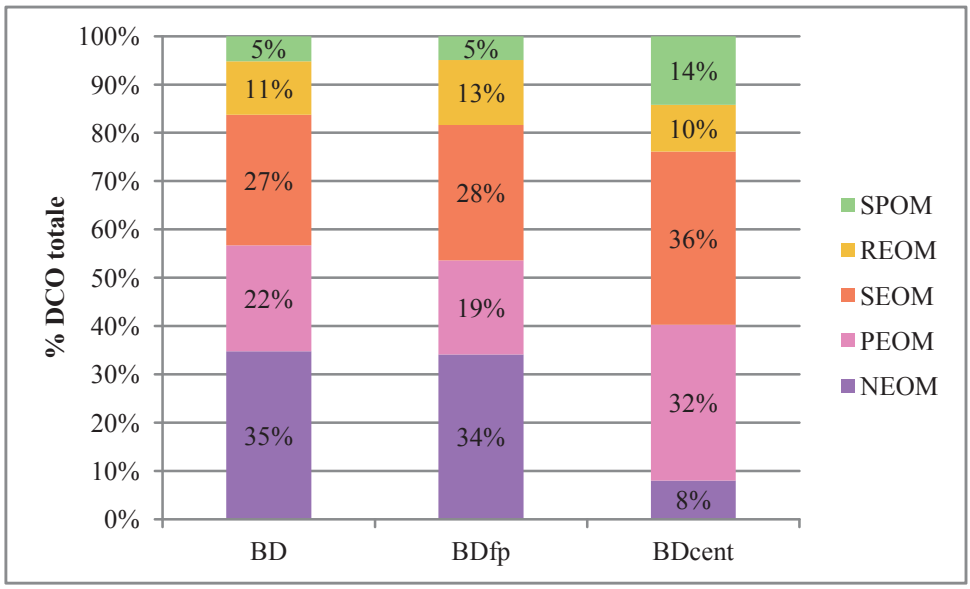



**Figure 92 : répartition de la DCO dans la boue digérée centrifugée, passée au filtre-presse et séchée par centridry**

La répartition de la DCO est exactement la même pour la boue digérée et la boue filtre-presse. Ainsi, l'étape de filtre-presse semble correspondre à l'étape de centrifugation laboratoire (même si le taux d'élimination d'eau est plus important pour le filtre-presse que lors de la centrifugation). Le procédé de déshydratation par filtre-presse ne semble donc pas avoir d'impact sur la matière organique des boues digérées. *A contrario*, le passage au centridry a un fort impact sur la répartition de la DCO des boues digérées. Ainsi, tous les compartiments sont augmentés au détriment de la fraction non extractible qui diminue fortement (elle perd 76 % de sa DCO). Le traitement n'a l'air d'avoir aucun impact sur la quantité de DCO présente dans REOM. Toutefois, cette DCO peut être composée de composés organiques tout à fait différents de ceux de la boue digérée.

Le traitement thermique du centridry permet de rendre plus accessible une fraction de la matière organique. Des résultats similaires ont été obtenus lors de la thèse de Jimenez (2012) qui a comparé le fractionnement d'une boue avant et après thermolyse ainsi que la complexité des fractions avant et après traitement. La thermolyse complexifie une partie de la matière et permet de diminuer les fractions peu accessibles (REOM et SEOM) au profit des fractions plus accessibles (DOM et SPOM). De plus, le fait de rendre plus accessible la matière organique pourrait aussi permettre de rendre plus accessible les micropolluants présents dans la boue digérée (augmentant ainsi leur dégradation lors du compostage). Toutefois, même si la matière organique est plus accessible, il reste à voir si la matière organique modifiée par le traitement thermique est plus ou moins complexe que la matière organique initiale ce qui peut influencer la dégradation des fractions.

Le protocole de fractionnement permet ainsi de discriminer des matrices ayant subi des procédés de déshydratation différents (l'impact du traitement thermique est visible).

Cette étude est couplée avec une caractérisation par fluorimétrie 3D afin d'estimer les composés qui sont présents dans les fractions extraites sur chaque boue (Figure 93).

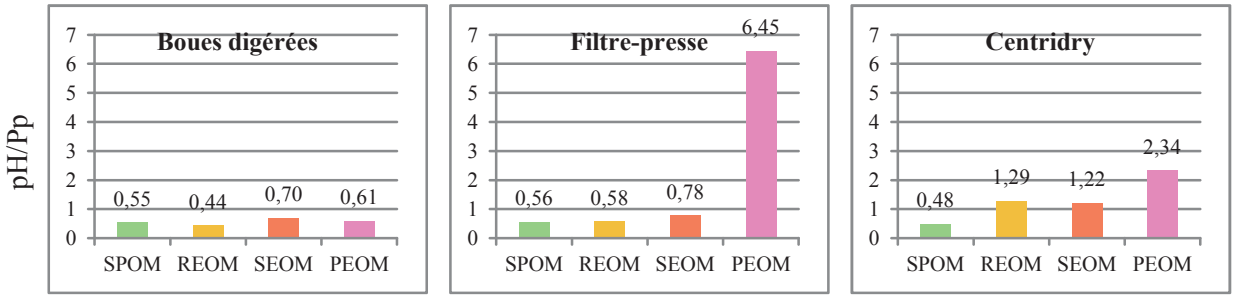



**Figure 93 : indices de complexité des compartiments des boues digérées déshydratées/séchées ou non**

Les boues digérées centrifugées et les boues digérées passées au filtre-presse sont identiques en termes de fluorescence. La différence notable au niveau de l'indice Ph/Pp de la fraction PEOM provient probablement de la difficulté à acquérir le spectre du compartiment PEOM de la boue digérée passée au filtre-presse (dilution optimale difficile à obtenir).

L'effet du traitement thermique (centridry) est surtout visible sur les compartiments REOM, SEOM et PEOM. En effet, la complexité du compartiment SPOM (bien que celui-ci augmente en taille) ne change pas alors que la complexité des compartiments REOM, SEOM et PEOM augmente. Le traitement conduit donc à la formation de composés certes plus accessibles mais aussi plus complexes. Ainsi, même si le traitement thermique permet d'augmenter l'accessibilité des fractions de la matière organique, la complexité de la matière organique augmente (ce qui peut diminuer *a priori* sa dégradabilité).

### 3. Compostage des boues digérées déshydratées

Les différentes matrices issues de la plate-forme de compostage et celles entrant sur la plate-forme ont été « fractionnées » (Figure 94).

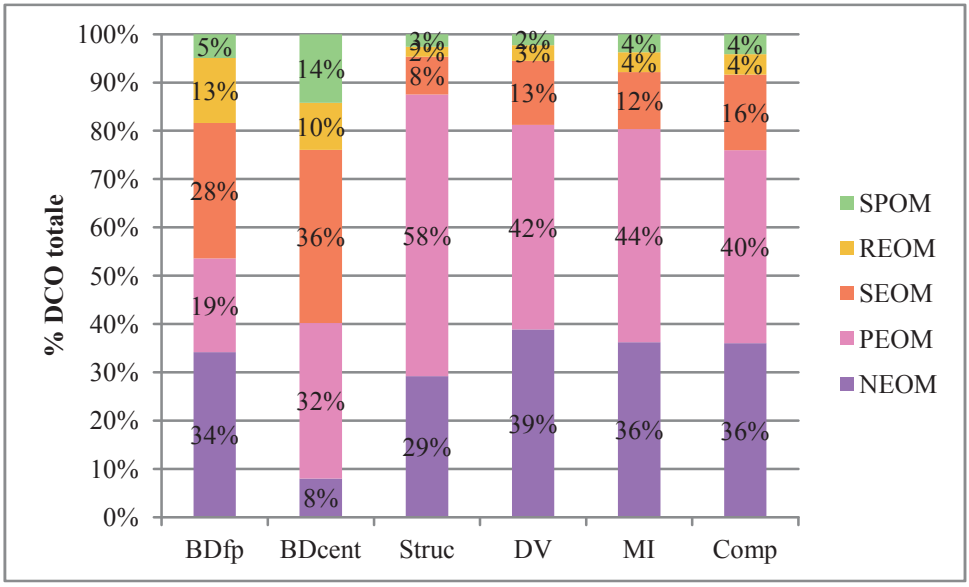



**Figure 94 : répartition de la DCO dans les différentes matrices de la plate-forme de compostage des boues**

Les matrices boues sont très différentes des matrices lignocellulosiques. En effet, ces dernières possèdent un compartiment non extractible un peu plus important (lié à la présence de lignines) et le compartiment PEOM (sucres) est majoritaire alors que les composés solubles (SPOM et REOM) sont minoritaires. Le structurant (majoritairement composé de bouts de bois) se distingue des DV, mélange initial et compost par une fraction PEOM de plus de 50 % (beaucoup d'hémicelluloses et celluloses dans le bois). Les déchets verts et le mélange initial sont proches ; en effet, l'élément majoritaire qui constitue le mélange initial est le déchet vert. Le fractionnement du compost est aussi proche du mélange initial. Ceci peut s'expliquer par le stockage des déchets verts sur la plate-forme avant utilisation. Les DV peuvent alors commencer une fermentation aérobie et donc ils sont déjà « compostés ». L'autre explication vient aussi du fait que les deux échantillons ont été prélevés le même jour sur la plate-forme, le compost ne correspond donc pas au mélange initial, qui d'un lot à l'autre varie énormément.

Si nous considérons que le fractionnement est additif, alors la moyenne pondérée des intrants correspond au fractionnement du mélange initial. Il est ainsi possible d'estimer la composition du mélange initial en pourcentage de DCO qui serait composé de 8 % de BDfp, 0 % de BDcent, 23 % de Struc et 69 % de DV. Cette grande part de DV explique bien la composition proche entre le DV et le mélange initial.

Posons l'hypothèse que le mélange initial et le compost mature correspondent afin d'observer les évolutions des compartiments « matière » au cours du procédé. Comme la quantité de matière

minérale n'est pas altérée durant le compostage, il est alors possible de calculer l'abattement en DCO lors du compostage et d'estimer l'évolution des différentes fractions organiques lors du compostage (Figure 95).

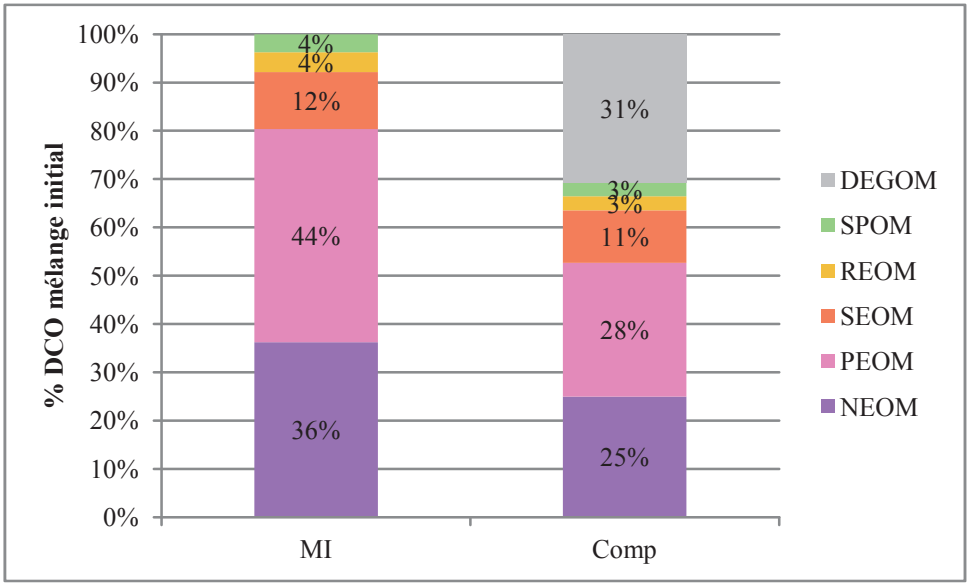



**Figure 95 : évolution estimée de la matière organique lors du compostage**

La perte de DCO correspond à 31 % de la DCO initiale. Les pertes pour SPOM, REOM, SEOM, PEOM et NEOM sont respectivement de : 24 %, 28 %, 8 %, 37 % et 31 %. Les compartiments les plus accessibles sont dégradés à 25 % environ, le compartiment le plus dégradé est PEOM (dégradation des holocelluloses lors du compostage). Le compartiment NEOM diminue au cours du compostage. Même si l'hypothèse de départ est erronée, le résultat obtenu est tout à fait logique : les fractions très accessibles probablement simples sont dégradées. La fraction SEOM contenant des composés humiques n'est pas dégradée puisque le compostage conduit à la formation de ces composés. Les sucres sont très dégradés durant le compostage ce qui est traduit ici par une baisse significative de PEOM. Enfin, la macrofaune et la microflore (champignon) présentes dans le compost sont capables de dégrader les lignines d'où une diminution de la fraction NEOM.

La caractérisation par fluorescence 3D est réalisée sur les échantillons de la plate-forme de compostage (Figure 96). Ne sont présentés ici que les résultats pour le mélange initial (MI) et le compost mature (Comp).

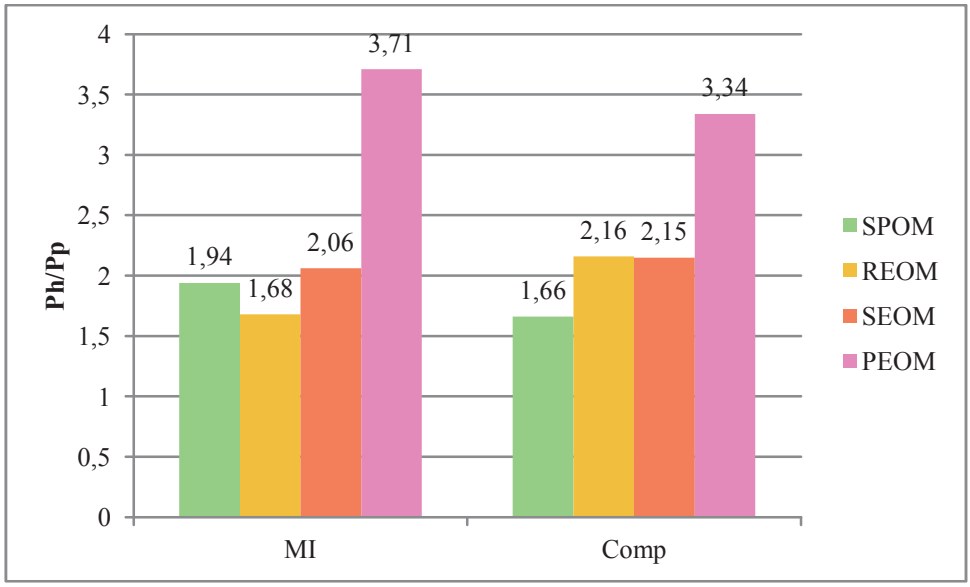



**Figure 96 : complexité des compartiments extraits du mélange initial et du compost**

La complexité de SPOM diminue légèrement. La complexité de REOM augmente. La complexité de SEOM n'évolue pas ainsi que la complexité de PEOM. Une simplification de la fraction SPOM est étrange puisque le procédé de compostage tend à former de la matière organique stable, plus complexe (plus aromatique). Ceci est probablement dû au fait que le compost n'est pas celui issu directement du mélange initial prélevé. L'augmentation de la complexité de REOM est logique puisque la matière organique de ce compartiment est dégradée : augmentation de la proportion de substances complexes peu dégradables lors de la dégradation des composés simples et production de composés complexes lors du compostage. SEOM reste un compartiment majoritairement composé de substances humiques et n'est pas dégradé, sa complexité ne change pas. Enfin, la complexité de PEOM n'évolue pas : en effet, les sucres ne sont pas visibles en fluorescence 3D.

Le protocole est donc validé sur différentes matrices organiques provenant de sites industriels, il permet de bien caractériser ces matrices et permet d'expliquer l'évolution de la matière organique lors du procédé (digestion anaérobie ou compostage). Le protocole est ensuite testé sur des sols, matrices très faiblement chargées en matière organique. Le but est de tester les limites de ce protocole.

### 4. Fractionnement des sols

Le fractionnement est réalisé sur deux sols : le premier est un sol sur lequel aucun traitement n'est effectué. Le second est le même sol sur lequel des apports d'engrais azoté minéral ont été effectués. Pour pouvoir mesurer les quantités de matière organique extraites et pouvoir réaliser une caractérisation par fluorescence 3D, la prise d'essai a été augmentée à 10 gMS de sol en gardant le même volume d'extractant que précédemment. La répartition de la DCO est donnée en Figure 97.

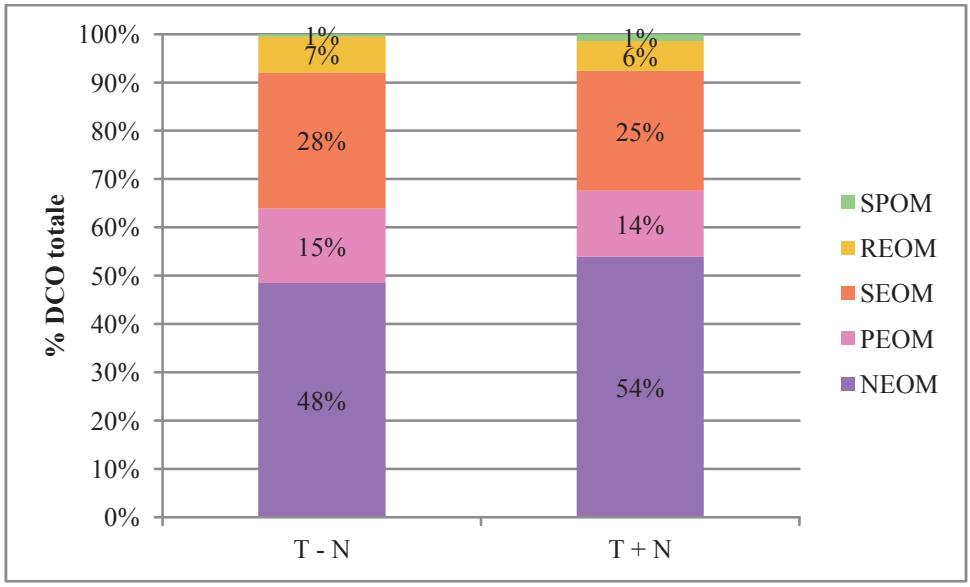



**Figure 97 : répartition de la DCO dans les sols témoin sans et avec fertilisation azotée**

Le protocole ne permet d'extraire que 50 % de la DCO des sols. Il est possible que la matière organique non extraite provienne du complexe argilo-humique (matière organique fortement liée à des composés minéraux).

Le compartiment SPOM est très faible, la matière organique du sol semble donc peu accessible. Le constat est le même pour REOM. La fraction SEOM représente 25 % de la DCO des sols, ce résultat est logique puisque les sols contiennent beaucoup de substances humiques. PEOM représente une fraction non négligeable de DCO.

La répartition de la DCO est la même pour les deux sols. L'apport d'engrais n'a donc aucun impact sur la matière organique du sol. Ce résultat est confirmé par la caractérisation par fluorescence 3D (les spectres sont identiques pour les deux sols) (cf. spectres de fluorescence des fractions des sols en annexe C).

Le compartiment SPOM est constitué majoritairement de composés type acides humiques et acides fulviques. Le compartiment REOM est composé majoritairement de substances type acides humiques. SEOM contient des substances type acides fulviques et acides humiques. Enfin, le compartiment PEOM contient des substances type humique mais aussi quelques composés protéiques.

La fluorescence 3D permet donc de voir ici les différents constituants organiques du sol. Le fractionnement permet de mettre en relation la présence de ces composés dans les sols avec leur accessibilité. Ainsi, les acides humiques et fulviques n'ont pas la même accessibilité dans les sols. Les composés type protéiques extraits dans PEOM peuvent provenir de matière organique végétale (végétaux cultivés sur le sol).

## J. Conclusions

Le protocole mis en place ici permet de déterminer l'accessibilité chimique des fractions de la matière organique. Cette accessibilité chimique est fortement corrélée avec l'accessibilité biologique de la matière organique. Ce protocole est couplé avec une caractérisation par fluorescence 3D des extraits et permet de déterminer la complexité de la matière organique extraite. Le couplage de la répartition de la matière organique (accessibilité) et de la fluorescence 3D (complexité) permet d'estimer la biodégradation de la matière organique au cours d'un procédé biologique (Figure 98)

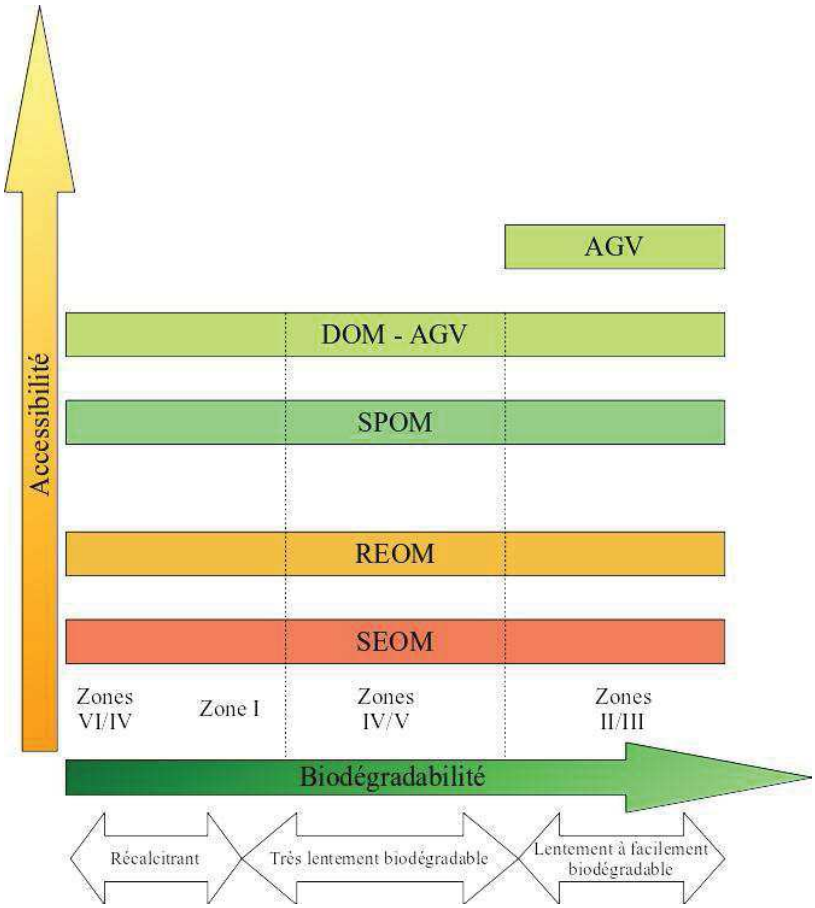



**Figure 98 : représentation schématique du lien complexité/accessibilité/biodégradabilité (dans le cadre des boues et de la digestion anaérobie d'après Jimenez et al., 2014)**

Le protocole de Van Soest permet de déterminer la composition en fibres de la matière organique. Le but est légèrement différent de celui du protocole modifié. Malgré tout le protocole Van Soest permet aussi d'estimer la dégradation de la matière organique. En effet, couplé à une étude de dégradation du carbone dans un sol, le fractionnement de Van Soest permet de déterminer la quantité de carbone résiduelle environ un an après apport au sol (indice de stabilité de la matière organique ISMO) (AFNOR XP U44-162).

Les deux protocoles se rejoignent dans le fait que l'étude, par exemple, de l'évolution de matière organique lors du compostage peut être aussi bien déterminée par le protocole mis en place ici que par le protocole Van Soest.

La différence notable des deux fractionnements provient du fait que l'un est basé sur une caractérisation par accessibilité et l'autre par caractérisation complète des fibres. De plus, le protocole modifié étudie à la fois l'entrée et la sortie d'un procédé et permet aussi de déterminer la dégradation de chaque fraction. Le protocole Van Soest s'intéresse principalement au produit à épandre et l'indice ISMO donne la fraction dégradable mais ne donne pas la répartition des compartiments matière de la matière après dégradation.

Les deux protocoles présentent tous les deux un fort intérêt mais leur application dépend fortement de l'objectif fixé dans l'étude.

Le protocole unique pour l'étude des matrices organiques mis en place ici permet de caractériser la matière organique de différentes matrices en tenant compte de l'accessibilité chimique des différentes fractions de la matière organique ainsi que de leur complexité (Figure 98). Il permet aussi d'étudier le devenir de la matière organique lors de la digestion anaérobie et lors du compostage de boues. Ainsi, il permet de mieux comprendre et de décrire finement le devenir de la matière organique lors des traitements biologiques.

En revanche, le protocole est moins adapté à des matrices beaucoup moins organiques telles que les sols puisqu'il ne permet de caractériser que 50 % de la matière organique.

La fluorescence 3D est un outil puissant mais dans certains cas limité. En effet, par exemple lors du compostage, la fluorescence ne permet pas de voir l'évolution des holocelluloses (PEOM). Toutefois, ce manque peut être facilement pallié par l'utilisation d'un dosage des sucres par exemple.

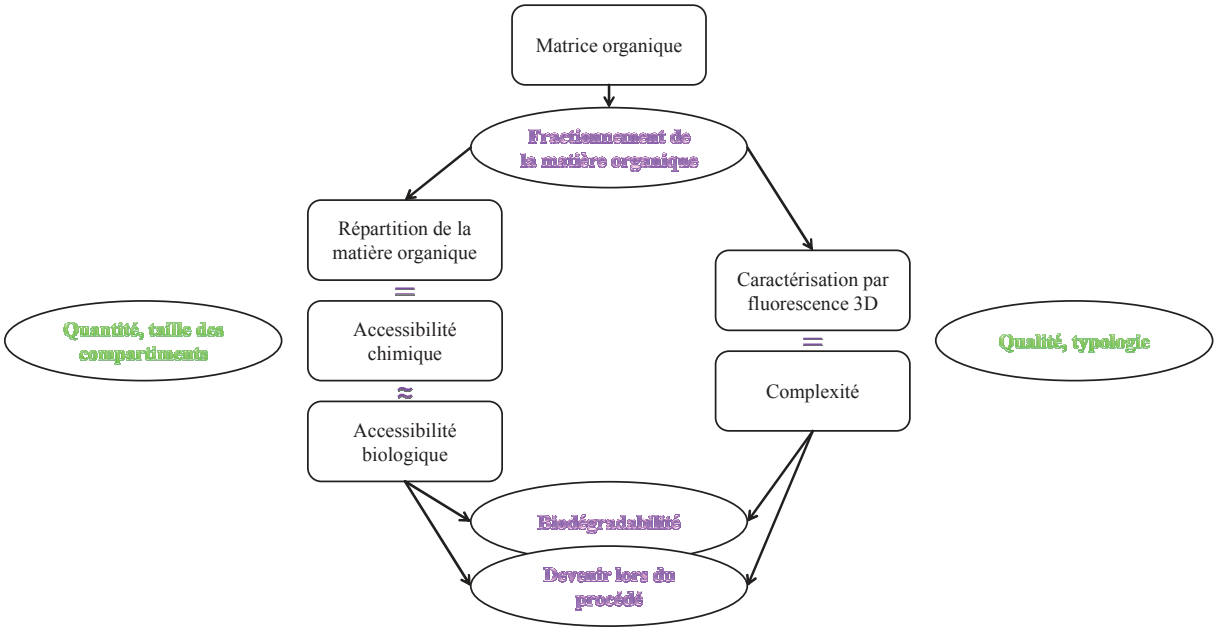



**Figure 99 : fractionnement de la matière organique, accessibilité et biodégradabilité**

Le protocole modifié répond bien à l'objectif fixé de pouvoir étudier l'évolution de la matière organique au cours de la digestion anaérobie suivie du compostage des boues de STEP. Ce protocole unifié est adapté à différents types de matrices. De plus, l'ajout d'une fraction moins accessible va permettre de mieux comprendre l'évolution des micropolluants organiques au sein de la matière organique peu accessible. Ce protocole est donc appliqué et couplé avec les analyses de micropolluants sur les filières de traitement des boues en conditions contrôlées mises en place au laboratoire.

# VI. Devenir de la matière organique et des micropolluants organiques au cours de la digestion anaérobie et du compostage des boues

# VI. Devenir de la matière organique et des micropolluants organiques au cours de la digestion anaérobie et du compostage des boues

La Figure 100 présente la démarche expérimentale pour déterminer le devenir conjoint de la matière organique et des micropolluants organiques au cours de la digestion anaérobie et du compostage des boues. La boue d'épuration est dans un premier temps centrifugée. La boue concentrée est récupérée puis mélangée avec deux déchets verts (herbe et cyprès). Le mélange est dopé avec une solution de micropolluants organiques puis composté en laboratoire. Dans un deuxième temps, la boue est dopée avec une solution de micropolluants organiques puis digérées en laboratoire. Les digestats produits sont concentrés par centrifugation puis mélangés avec des déchets verts pour être compostés. Les différents traitements appliqués permettent de déterminer l'impact du compost, de la digestion anaérobie et du couplage digestion anaérobie/compostage sur le devenir de la matière organique et des micropolluants lors des procédés biologiques de traitement des boues.

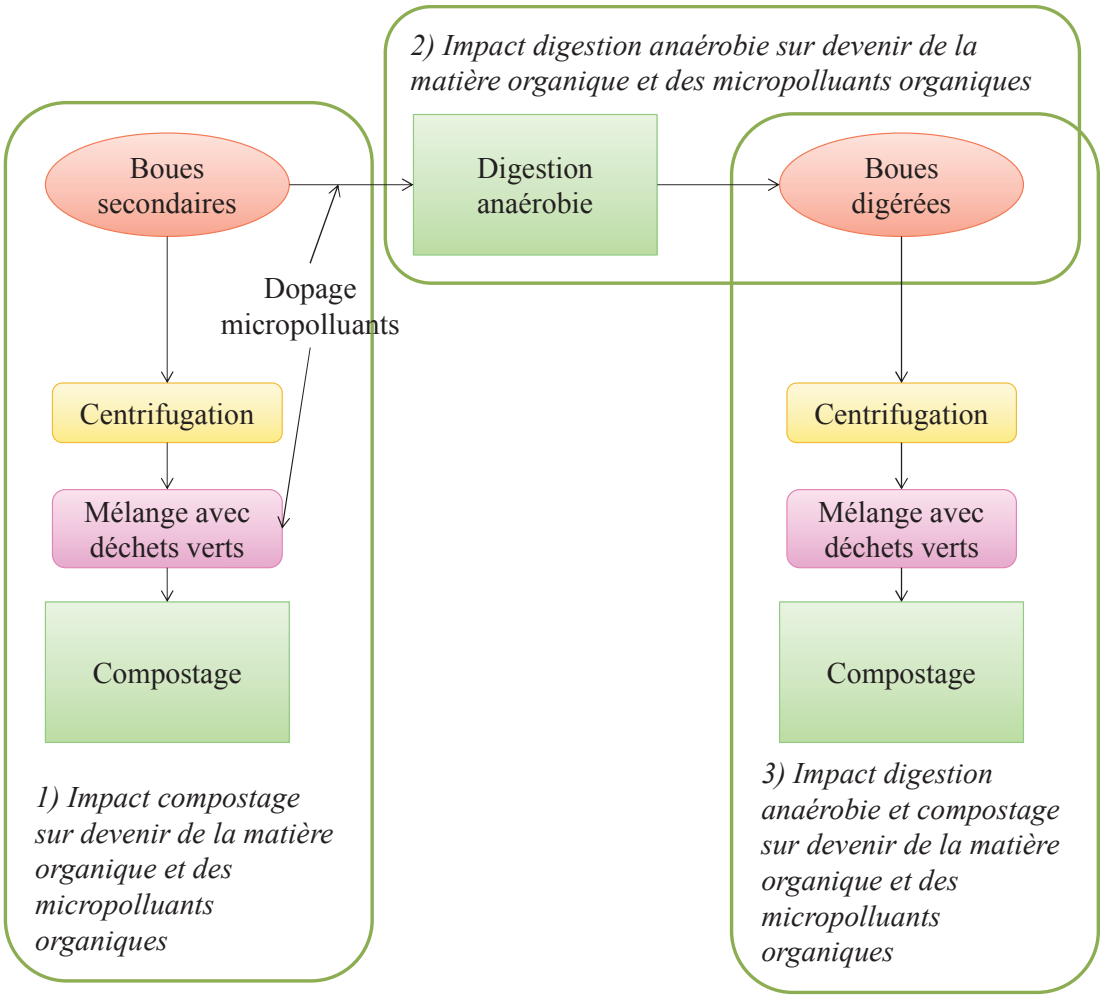



**Figure 100 : présentation de la démarche expérimentale pour déterminer le devenir conjoint de la matière organique et des micropolluants organiques au cours de la digestion anaérobie et du compostage des boues**

## A. Devenir de la matière organique et des micropolluants organiques lors du compostage des boues

### 1. Centrifugation en laboratoire et procédé de déshydratation de la filière

L'utilisation de procédés en conditions contrôlées en laboratoire permet de mieux comprendre l'influence des différents paramètres des procédés sur le devenir de la matière organique et des micropolluants au cours de la digestion et du compostage. Les résultats obtenus peuvent être dans un deuxième temps comparés avec les résultats de caractérisation sur les échantillons issus de la filière industrielle de traitement des boues pour, par exemple, vérifier la qualité des produits obtenus après traitement. Dans ce cas, il faut essayer de reproduire au plus juste certaines conditions de la filière de traitement des boues, notamment le procédé de déshydratation.

Le procédé de centrifugation doit représenter au mieux le procédé de déshydratation effectué sur la station d'épuration à savoir le filtre-presse. Pour vérifier cela, les caractéristiques de la matière organique de la boue digérée traitée par centrifugation ou filtre-presse sont comparées. Reprenons les résultats issus du fractionnement de ces deux matrices (chapitre V). Le fractionnement est le même et les caractérisations par fluorescence 3D sont identiques. Ainsi, il semble que la centrifugation et le procédé de filtre-presse séparent de la même manière la fraction particulaire des boues. Pour compléter, des analyses de MS, DCO, carbone organique, lipides ainsi qu'une hydrolyse acide sont effectuées sur le culot de centrifugation et sur le digestat filtre-presse (Tableau XXX).

**Tableau XXX : comparaison entre le procédé de centrifugation en laboratoire et le procédé de filtre-presse**

| | | Culot de centrifugation des boues digérées | Boues digérées passées au filtre-presse |
|---|---|---|---|
| Matières sèches (% MB) | | 10,2 ± 0,3 | 19,6 ± 0,2 |
| Matières volatiles (% MS) | | 66,0 ± 1,4 | 60,7 ± 0,2 |
| Demande chimique en oxygène ($mgO_2.gMS^{-1}$) | | 928 ± 95 | 931 ± 66 |
| Carbone organique (% MS) | | 33,9 ± 0,3 | 30,8 ± 0,3 |
| Lipides (% MS) | | 2,5 ± 0,1 | 2,7 ± 0,1 |
| Hydrolyse acide et lignine Klason (% MV) | Ac gluc | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | Ac galac | 41,1 ± 1,5 | 40,3 ± 0,2 |
| | Glucose | 3,1 ± 0,0 | 3,1 ± 0,0 |
| | Xylose | 4,3 ± 0,0 | 4,0 ± 0,0 |
| | Arabinose | 0,4 ± 0,0 | 0,4 ± 0,0 |
| | Lignine | 37,5 ± 2,0 | 33,1 ± 1,7 |
| | Solubles | 13,7 ± 3,4 | 19,2 ± 1,6 |

Il semble ne pas y avoir de grandes différences entre le procédé de centrifugation et le procédé de filtre-presse excepté pour la teneur en MS (le filtre-presse élimine plus d'eau). Etant donné qu'un peu plus d'eau est éliminée, il est logique que les matières volatiles, le carbone organique et les composés type lignines soient légèrement plus faibles pour les boues passées au filtre-presse qu'à la centrifugeuse, ces composés pouvant être éliminés avec l'eau. Cela peut aussi expliquer la légère

différence en termes de polluants sur les deux matrices. En conclusion, comme les différences sont faibles, les procédés sont quasiment équivalents. Ce résultat ne peut être étendu au centridry qui modifie complètement la matrice (Chapitre V). Toutefois, ce procédé est peu utilisé par rapport au filtre-presse sur la filière industrielle.

Il est possible de déterminer la taille des particules séparées lors de la centrifugation théoriquement par utilisation de la loi de Stockes dans un champ de centrifugation en considérant la densité de l'eau des boues égale à 1 (hypothèse validée par la mesure de la masse volumique des boues de 0,999 $g.mL^{-1}$) :

$$v = \frac{dx}{dt} = 4\pi\omega^2 x r^2 \left(\frac{d - d_0}{9\eta}\right) \Rightarrow ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = 4\pi\omega^2 r^2 \left(\frac{d - d_0}{9\eta}\right) t$$

où :

- v = vitesse de décantation de la particule dans le champ de centrifugation ;
- ω = vitesse de rotation en révolutions par seconde ;
- x = distance à l'axe de rotation en centimètres ;
- $x_0$ = distance à l'axe de rotation à $t_0$ en centimètres ;
- r = rayon de la particule en centimètres ;
- d = densité de la particule en grammes par centimètre cube ;
- $d_0$ = densité du fluide en grammes par centimètre cube ;
- η = viscosité du fluide en grammes par centimètre et par seconde.

La résolution du calcul permet de dire que la centrifugation dans les conditions considérées sépare toutes les particules de diamètre supérieur à 0,2 µm environ et de densité supérieure à 1. En termes de taille, il est communément admis que le diamètre des colloïdes est compris entre le nm et le µm. Ainsi, la technique de centrifugation utilisée ici entraîne une partie des colloïdes dans la phase particulaire.

### 2. Devenir de la matière organique lors du compostage de boues secondaires épaissies

Le mélange initial est composé de boues secondaires centrifugées à 18 600 g, 4°C pendant 30 min, d'herbe (tonte de pelouse conservée à – 20°C puis décongelée avant utilisation) et de branches de cyprès fraîchement prélevées et découpées en tronçons de quelques centimètres. L'herbe apporte un substrat facilement fermentescible et le cyprès permet de donner une structure au mélange pour permettre à l'air de passer dans le mélange lors du compostage. Le choix des co-substrats a été effectué après plusieurs tests (boues + co-substrats) et en tenant compte des co-substrats utilisés par Lashermes (2010) lors de sa thèse : tests avec un mélange de déchets verts et de structurant issus de la plate-forme de compostage, tests avec les mêmes co-substrats mais en ajoutant un peu de compost (compost issu d'un composteur « maison » de déchets de cuisine) puis tests avec des matrices végétales fraîches (herbe et cyprès). La montée en température n'a pas lieu avec les co-substrats de la plate-forme de compostage : en effet, ceux-ci ont déjà évolués sur la plate-forme et ils ne sont plus assez fermentescibles pour pouvoir permettre une augmentation de la température dans un procédé de compostage miniaturisé en laboratoire. L'ajout de compost permet d'apporter une biomasse active ;

malgré tout, la montée en température reste faible. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'utilisation de l'herbe et du cyprès : augmentation rapide de la température en début de compostage.

La composition du mélange initial est donnée à la Figure 101.

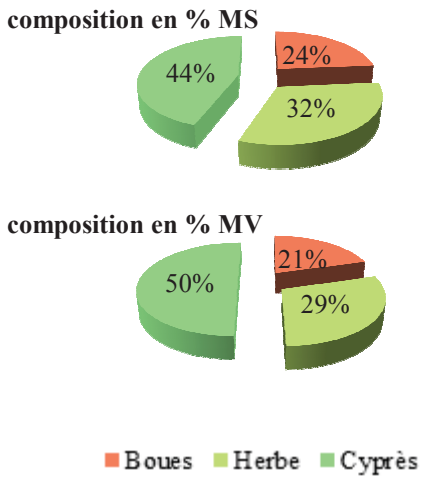
| | |
|---|---|
| *Herbes (43 %) = 209 ± 4 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 162 ± 3 gMV.kgMB$^{-1}$* |   |
| *Cyprès (17 %) = 675 ± 7 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 642 ± 8 gMV.kgMB$^{-1}$* | |
| *Boues (40 %) = 140 ± 24 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 103 ± 17 gMV.kgMB$^{-1}$* | |
| *Mélange initial = 278 ± 29 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 238 ± 21 gMV.kgMB$^{-1}$* | |

**Figure 101 : composition du mélange initial du compost de boues (les % entre parenthèse donnent les % en matière brute du mélange initial)**

Le mélange correspond à un mélange classique de plate-forme de compostage (environ 25 % de la matière sèche correspond aux boues et 75 % de la matière sèche est issue des déchets verts). La moitié de la matière organique du mélange initial provient du cyprès qui en effet contient peu de matière minérale (5 %). La matière minérale représente 15 % du mélange initial.

Le débit d'air ainsi que la température du compost (jusqu'à la fin de la descente de température) est représentée en fonction du temps (Figure 102). Pour des raisons « matérielles », les données de débit sur le troisième composteur n'ont pu être obtenues. Toutefois, le débit initial est de 190 ± 3 mL.min$^{-1}$ pour le composteur 1 (C1) et de 188 ± 6 mL.min$^{-1}$ pour le composteur 2 (C2) et le débit final de 110 ± 3 mL.min$^{-1}$ et 106 ± 3 mL.min$^{-1}$ pour C1 et C2 respectivement. Ainsi comme les débits sont similaires, il est probable que le débit d'air entrant dans C3 soit du même ordre de grandeur.

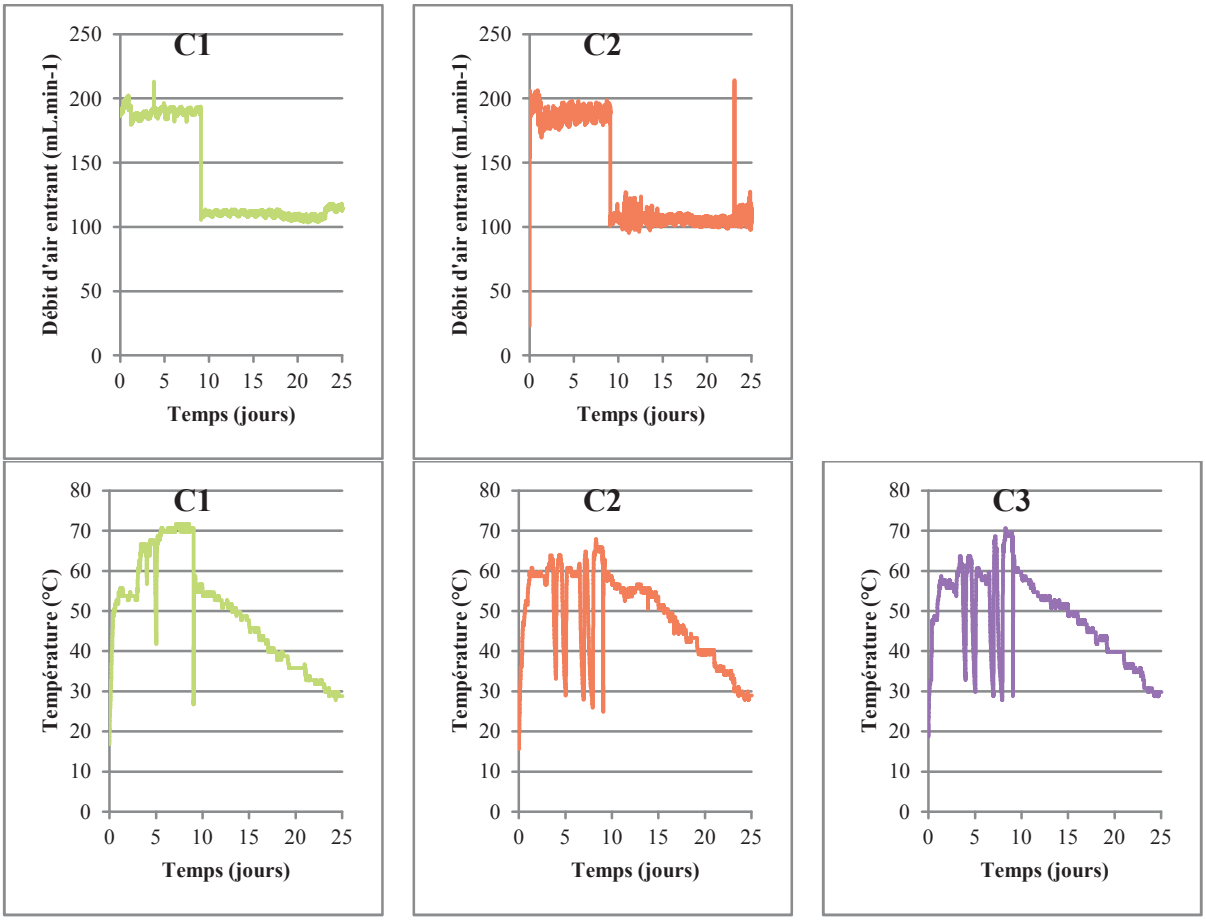



**Figure 102 : débit d'air et température lors du compostage des boues (jusqu'à la fin de la phase de descente de température)**

La montée en température est rapide. La température atteint 60°C en moins de quatre jours. La température est maintenue au-dessus de 60°C pendant six jours. Cependant, des pannes au niveau des thermostats expliquent les chutes de température constatables durant la phase thermophile. Au 9$^{ème}$ jour, le réacteur est ouvert pour prélever un échantillon, le mélange est homogénéisé et de l'eau est ajoutée pour réajuster l'humidité du mélange. Ensuite la température est progressivement diminuée pour atteindre la température ambiante (jusqu'au 25$^{ème}$ jour). Ensuite, après prélèvement et ajustement de l'humidité (Figure 104), le compost est placé dans une enceinte fermée (en verre ambrée pour limiter l'impact de la lumière) pour la phase de maturation à température ambiante. Régulièrement, le mélange est homogénéisé et aéré pour apporter de l'oxygène nécessaire au métabolisme des microorganismes de la phase de maturation. Toutefois, lors de la maturation, l'odeur lors de l'ouverture des enceintes laisse penser que des zones anaérobies sont présentes dans le mélange (probablement dû à l'agglomération de la matière à cause de l'humidité du mélange). L'homogénéisation du mélange permet d'éliminer ces zones.

Les taux de matière sèche atteint pour chaque compost sont équivalents à chaque étape sauf le composteur C3 qui présente un taux de matière sèche plus faible en fin de phase thermophile : le mélange a moins séché durant la phase thermophile (aération différente que sur les deux autres ?

différences de circulation de l'air dans le compost ?). Les humidités ajustées sont équivalentes pour chaque composteur et ce à chaque étape du compostage.

Les taux d'abattement en matière sèche et en matière volatile sont calculés à chaque étape du compostage (Figure 103).

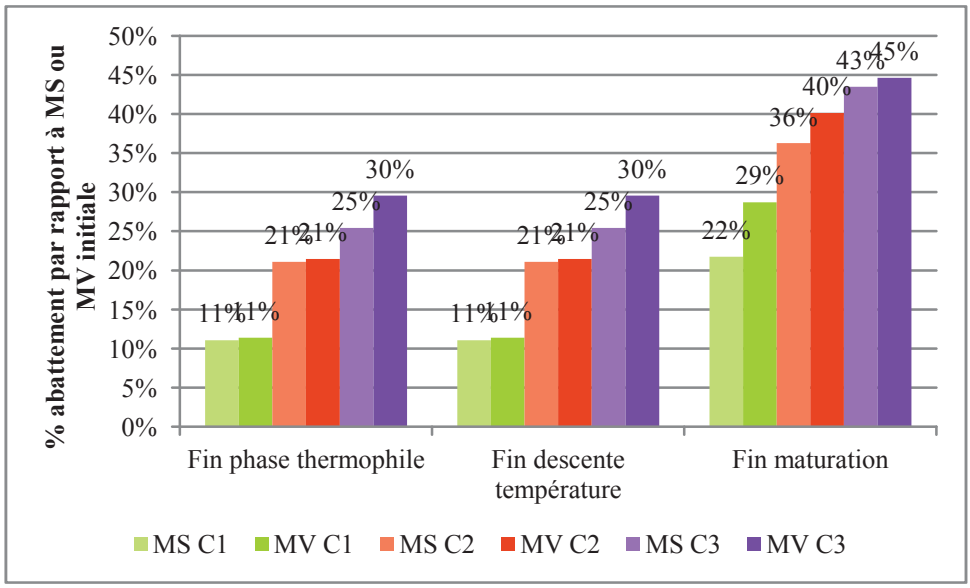



**Figure 103 : abattement de la matière sèche et de la matière organique à chaque étape du compostage des boues, rapporté à la MS ou la MV initiale**

Le compost C1 dégrade peu de matière sèche pendant la phase thermophile : seulement 11 % de la matière sèche est dégradée. Le pourcentage de dégradation de la matière sèche est de 21 % pour le composteur C2 durant la phase thermophile, la capacité de dégradation de ce composteur est plus élevée que pour le composteur C1. Le pourcentage de dégradation de la matière sèche est de 25 % pour le composteur C3. Lors de la descente de température, la dégradation de la matière est nulle dans les trois composteurs. Lors de la maturation, le pourcentage de dégradation de la matière sèche atteint 43 % pour le compost C3. Le compost C1 a un abattement de la matière sèche relativement faible par rapport aux deux autres ; le composteur C2 abat 36 % de la matière sèche, il semble que la maturation permette aux microorganismes de dégrader la matière et de « rattraper » le composteur C3 alors que le composteur C1 peine à dégrader la matière. La majeure partie de la dégradation de la matière a lieu pendant la phase de maturation. Lors du compostage, les composés les plus biodégradables sont attaqués pendant la phase de montée en température et la phase thermophile : ici, il semble que la dégradation des composés biodégradables se fasse pendant la phase de maturation ce qui signifie que les phases de montée en température et thermophile n'ont pas été optimales. Soit les températures ont changé trop rapidement, soit les phases n'ont pas été suffisamment longues, soit il y a eu des problèmes liés à l'aération (l'air n'est pas bien passé dans le mélange qui, en anaérobiose, est bien moins dégradé), soit une combinaison de ces facteurs. Le compost C3 dégrade mieux la matière que les deux autres : il y a bien une forte dégradation de la matière lors de la phase de montée en température et la phase thermophile. En comparant le taux d'humidité en fin de phase thermophile

(Figure 104), il est noté que le compost C3 perd le moins d'eau. Ainsi, il semble que le facteur limitant la dégradation de la matière lors du compostage soit l'eau. L'eau est utilisée par le métabolisme bactérien et sa présence conditionne l'espace lacunaire du mélange. L'humidité optimale du compostage se situe entre 50 % et 70 % du poids humide avec des limitations potentielles de l'activité microbienne en dessous de 40 %. Si les teneurs en eau sont trop faibles, seuls les champignons peuvent rester en activité (Lashermes, 2010).

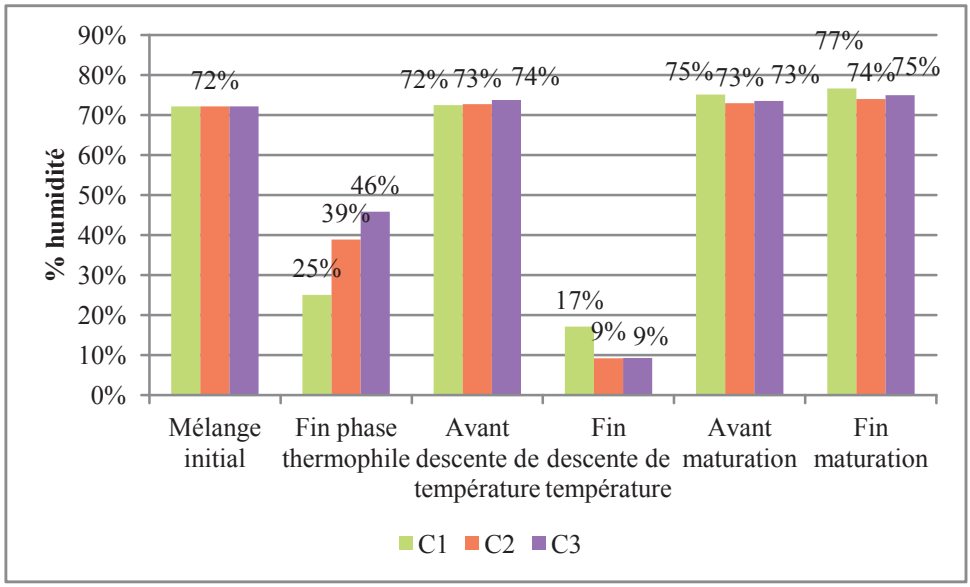



**Figure 104 : évolution de l'humidité au cours du compostage des boues non digérées**

Les évolutions de la matière organique présentées dans le paragraphe précédent restent ici globale, le fractionnement a été réalisé sur les constituants du mélange initial, le mélange initial et les échantillons prélevés à chaque étape du compostage pour les composteurs C2 et C3. La répartition en pourcentage de DCO de chacun des constituants est de 22 % DCO boues, 25 % DCO herbe et 53 % DCO cyprès ce qui est concordant avec la répartition des matières volatiles déterminée précédemment (Figure 101).

Les substrats composant le mélange initial sont l'herbe, le cyprès et la boue secondaire centrifugée. La répartition de la DCO dans chacun des constituants ainsi que dans le mélange initial est présenté dans la Figure 105.

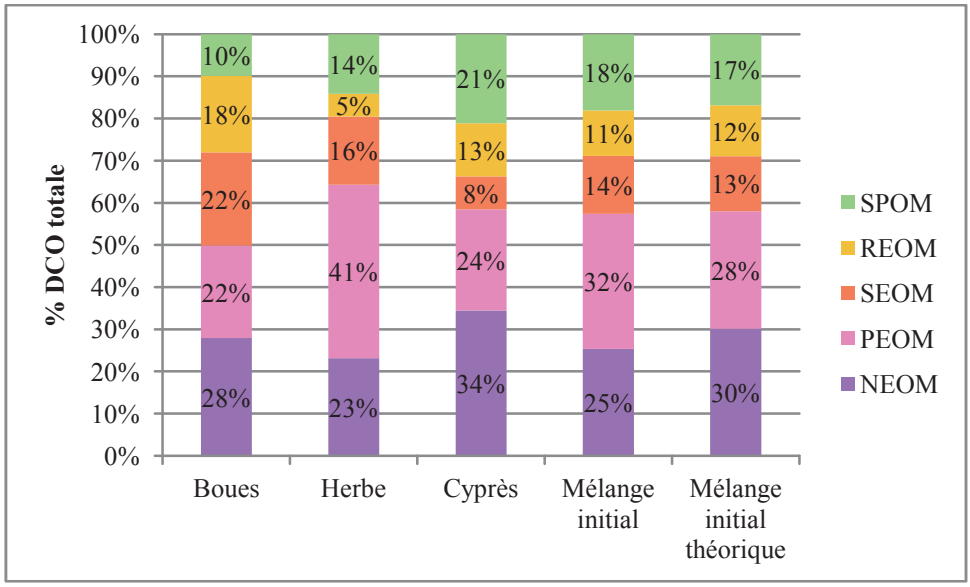



**Figure 105 : distribution de la DCO dans les constituants du mélange initial du compost de boues secondaires**

Le protocole de fractionnement permet d'extraire environ 70 – 75 % de la DCO de chaque matrice.

La répartition de la DCO dans la boue est semblable à celle de la boue analysée dans le chapitre 5. Il s'agit de la même boue excepté que la boue analysée dans le Chapitre V a été lyophilisée juste après le prélèvement alors que la boue utilisée ici a été conservé à 4°C pendant plusieurs mois. Ainsi, l'étape de conservation à 4°C ne semble pas beaucoup impacter la répartition de la DCO de la boue. Le compartiment SPOM est de 10 %, les compartiments REOM, SEOM et PEOM sont de tailles similaires (20 % de la DCO totale). Le compartiment NEOM est d'environ 30 %.

L'herbe possède un compartiment PEOM majoritaire, il semble donc que cette matrice contienne beaucoup de composés type holocelluloses peu accessibles chimiquement. Le fractionnement de l'herbe est comparé au fractionnement Van Soest d'une autre herbe (tonte de pelouse) (G Lashermes et al., 2012). La fraction PEOM (holocelluloses) correspond à 41 % de la DCO et la fraction NEOM (lignines) à 23 % de la DCO soit au total 64 % de la DCO pour la matière lignocellulosique. Pour le fractionnement Van Soest, les holocelluloses correspondent à 59 % de la matière organique et la lignine à 6 % de la matière organique. Il semblerait donc que le protocole de fractionnement ici sous-estime la concentration des holocelluloses et qu'une partie de ceux-ci se retrouvent dans la fraction NEOM avec la lignine. Bien sûr le but du protocole de fractionnement utilisé ici n'est pas d'estimer la quantité réelle des holocelluloses et de la lignine mais de donner des renseignements sur l'accessibilité et la biodégradabilité de la matière. Les holocelluloses présents dans les déchets verts ont donc une accessibilité variable (certains sont peu accessibles comme la lignine, donc probablement des polymères de sucres fortement liés à la lignine non extraits ici car aucune forte température n'est appliquée).

Le cyprès se différencie de l'herbe par des fractions SPOM et REOM plus importantes que celles de l'herbe alors que les fractions SEOM et PEOM sont moindres. La fraction NEOM est plus importante

pour le cyprès ce qui peut s'expliquer par une structure plus ligneuse que l'herbe (présence de morceau de branche, or le bois contient beaucoup de lignine).

Le mélange initial correspond bien à la moyenne pondérée des trois constituants. En effet, le calcul de la répartition théorique de la DCO calculée à partir des constituants du mélange est proche de la répartition réelle de la DCO. Cela signifie que lorsque le protocole est appliqué sur un mélange, il n'y a pas d'extraction spécifique de la matière mais que sont extraits les composés extractibles issus de chacune des matrices du mélange. Ainsi, il est possible d'étudier un mélange et ses constituants sans forcément réaliser le fractionnement sur le mélange.

La Figure 106 présente les spectres de fluorescence 3D des différents constituants du mélange initial. L'indice de complexité de chaque compartiment de la boue augmente avec la diminution de l'accessibilité confirmant le lien observé dans le chapitre précédent entre l'accessibilité chimique et la complexité. La fraction SPOM des boues a un indice de complexité de 0,37 : les zones majoritaires sont les zones I à III qui correspondent aux composés protéiques. L'indice de la fraction REOM est légèrement supérieur, en effet, des massifs de fluorescence apparaissent dans la zone VI (melanoidin-like et lignocellulose-like). La fraction SEOM est plus complexe avec un indice de complexité de 1,08 : deux massifs majoritaires sont présents en zone II et en zone VI. La zone II correspond à des composés protéiques et la zone VI à des composés complexes. La fraction PEOM est très complexe, les zones majoritaires sont les zones IV à VII avec tout de même un massif de fluorescence peu marqué en zone I. La fraction PEOM est donc majoritairement composée de molécules complexes mais contient aussi quelques composés type protéines.

La fraction SPOM de l'herbe contient majoritairement des composés type protéines (zones I et II) mais aussi des composés complexes de la zone VI. Ce sont des composés solubles dans l'eau non identifiés (peut-être des composés chlorophylliens, des composés organiques volatiles responsables de l'odeur, etc.). Les fractions REOM et SEOM sont semblables avec une complexité élevée : la zone VI est majoritaire avec quand même présence de composés protéiques (zones I et II). Enfin la fraction PEOM, la plus complexe, présente un massif majoritaire en zone VI. Le fractionnement de l'herbe montre donc que sont extraites des fractions de type lignocelluloses de moins en moins accessibles. Toutefois, la lignocellulose est peu soluble, les composés identifiés dans ces zones s'apparentent probablement plus à des composés organiques non identifiés solubles dans l'eau ou des solutions basiques probablement des pigments ou des fragrances. Le résultat est similaire pour le cyprès : dans chaque fraction sont extraits des composés type lignocellulose (zone VI). Toutefois, les types de composés protéiques extraits sont différents car pour l'herbe les zones I et II sont majoritaires alors que pour le cyprès, la zone III est majoritaire. De plus, un massif protéique marqué (zone II) apparaît dans la fraction PEOM du cyprès contrairement à l'herbe. La fluorescence 3D couplée à la répartition de la DCO permet donc aussi de différencier deux types de végétaux aux structures différentes. Pour la fraction SPOM du cyprès la dilution est de 200. La forte dilution est appliquée pour ne pas avoir de

saturation au niveau des composés protéiques. Dans le cas de l'herbe, le même lien entre l'augmentation de l'indice de complexité et la diminution de l'accessibilité que pour les boues apparaît. Toutefois, ce lien n'est pas remarqué pour le cyprès.

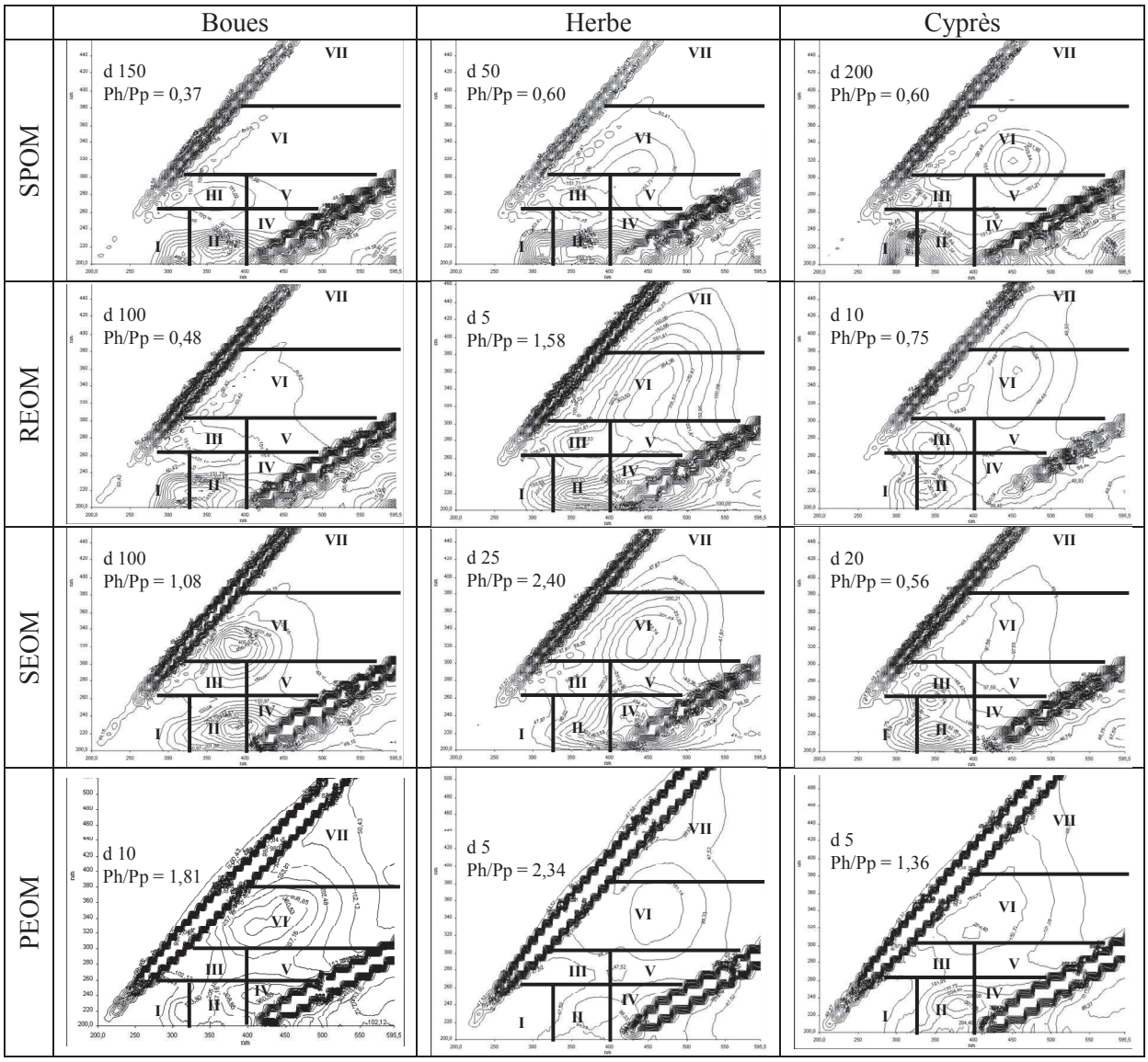



**Figure 106 : spectres de fluorescence 3D des extraits obtenus sur les différents constituants du mélange initial du compost de boues secondaires non digérées**

Pour le cyprès, la relation entre la complexité et l'accessibilité chimique n'est pas retrouvée. Si l'accessibilité chimique correspond bien à l'accessibilité biologique, comme pour les boues, la dégradation des fractions, liée à l'accessibilité et à la complexité, sera différente pour les différents substrats.

La caractérisation des extraits issus du fractionnement du mélange initial par fluorescence 3D permet de calculer l'indice de complexité de chaque fraction, ces indices sont comparés à l'indice de complexité estimé théoriquement avec les constituants du mélange et le pourcentage de DCO de chaque matrice dans le mélange initial (Figure 107).

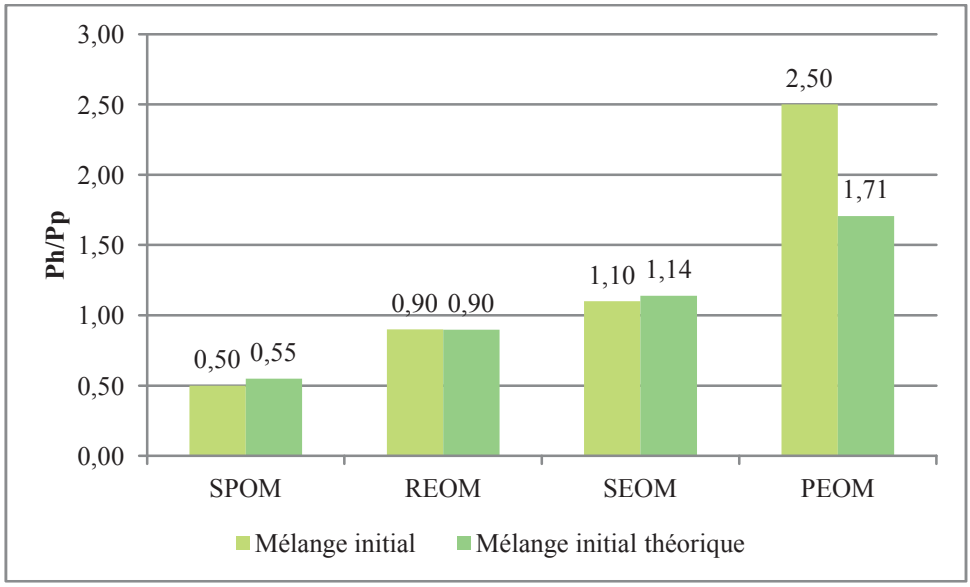



**Figure 107 : indices de complexité mesurés et théoriques du mélange initial du compost de boues secondaires non digérées**

La connaissance des constituants du mélange initial permet de bien estimer l'indice de complexité des compartiments du mélange initial tout comme la répartition de la DCO du mélange initial. L'indice de complexité de la fraction PEOM théorique est plus faible que celle mesurée. Toutefois, en regardant les spectres des fractions PEOM, il est noté que les zones complexes sont largement majoritaire et les zones simples très minoritaires, lorsque la somme des zones complexes est divisée par la somme des zones simples, le calcul amène à diviser un nombre élevé par un nombre faible, ainsi, une petite variation peut produire un grand écart sur le résultat final. Le mélange ne modifie pas la qualité ni la quantité de matière organique extraite à chaque étape : ainsi, il est possible d'estimer la complexité et la répartition d'un mélange en étudiant seulement ses constituants. Cela montre aussi que le fractionnement appliqué n'extrait pas sélectivement les constituants du mélange en fonction des matrices qui le constituent. Par exemple, pour la fraction SPOM, on aurait pu s'attendre à extraire principalement la matière organique des boues, facilement extractible et simple, mais sont extraites les fractions SPOM de la boue, de l'herbe et du cyprès.

Les répartitions de la DCO dans les compartiments matière du mélange initial et des composts en fin de maturation C2 et C3 sont comparées (Figure 108).

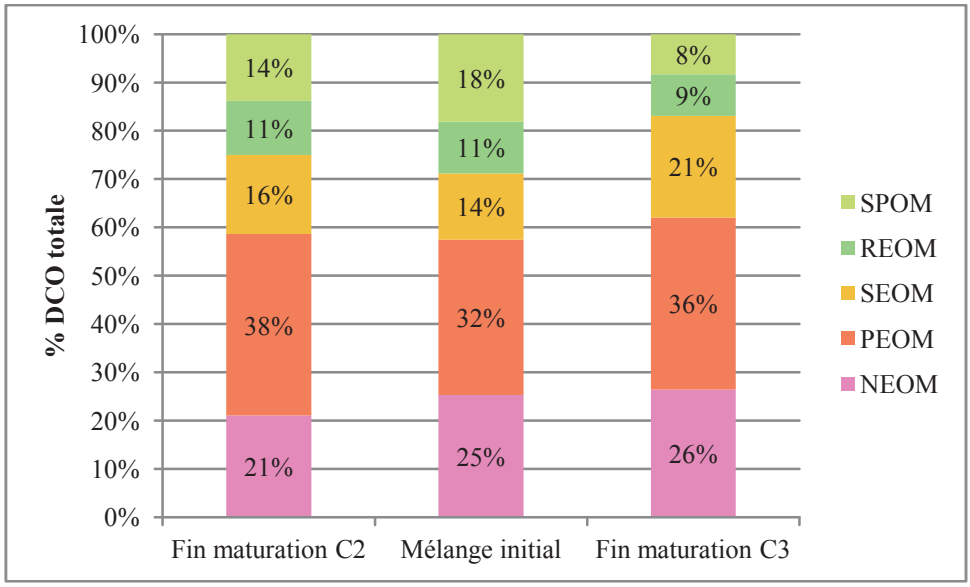



**Figure 108 : répartition de la DCO dans les fractions matière des composts matures C2 et C3 et dans le mélange initial lors du compostage des boues**

Le constat est similaire à celui du chapitre précédent (Chapitre V) : les répartitions de la matière organique dans le mélange initial et dans le mélange final (fin de maturation) sont semblables. De plus, les répartitions finales sont proches ; or les compostages C2 et C3 n'ont pas été tout à fait similaires puisque le compost C3 présente des abattements en matière plus important que le compost C2 ce qui signifie que l'activité microbienne a été plus intense lors du compostage C3 que lors du compostage C2. La seule différence qui apparaît entre les deux composts matures provient de SPOM, REOM et SEOM. En effet, les fractions SPOM et REOM sont légèrement plus faibles pour le compost C3 que pour le compost C2 ; et inversement, la fraction SEOM est plus importante pour C3 que pour C2. Il est possible, de par l'activité microbienne plus intense de C3, qu'une humification plus importante ait lieu lors du compostage.

Le résultat est cohérent avec des données sur des composts à l'échelle plate-forme. En effet, Francou, 2003 montre que durant le compostage d'un mélange déchets verts et boues (87 % MS et 13 % MS respectivement) la répartition de la matière organique selon le fractionnement Van Soest exprimée en pourcentage de la matière organique totale (MOT) évolue très peu.

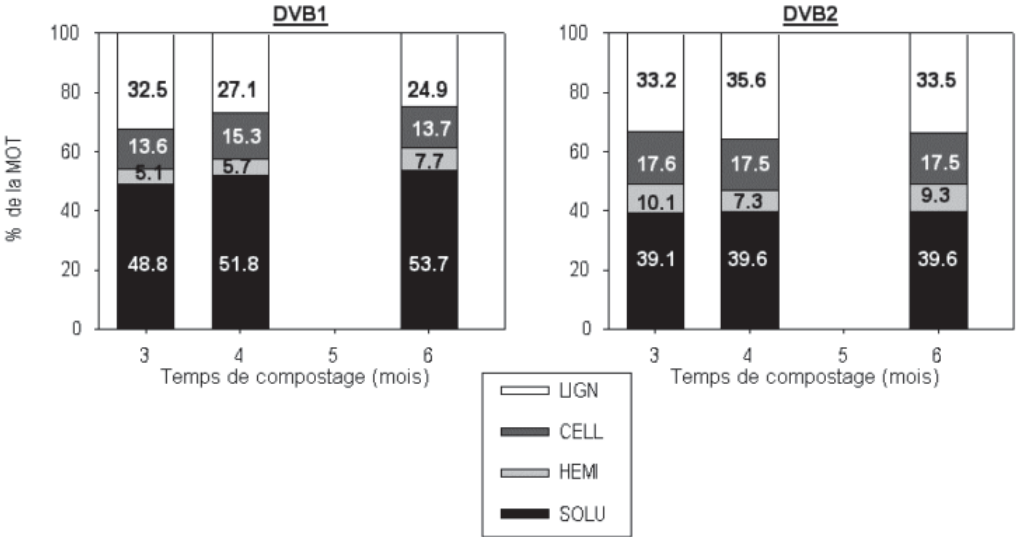



**Figure 109 : évolution de la matière organique de deux composts de déchets verts et boues (DVB) sur une plate-forme de compostage au cours du temps (Francou, 2003)**

La répartition de la DCO dans les fractions matière est ensuite déterminée en tenant compte de la dégradation de la DCO au cours du compostage (Figure 110).

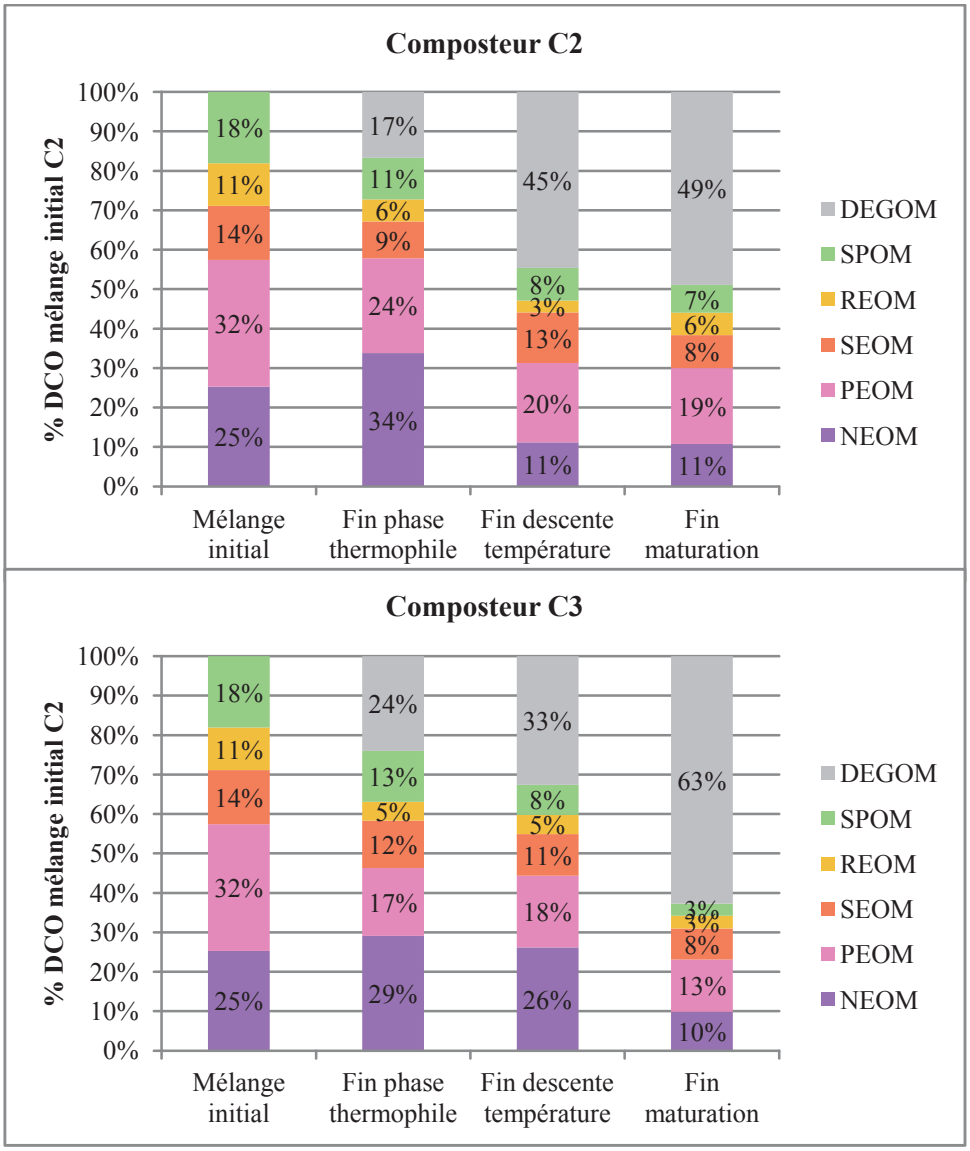



**Figure 110 : évolution des fractions matière lors du compostage des boues épaissies secondaires**

Les évolutions sont identiques pour les deux composts. Lors de la phase thermophile, un abattement de la DCO est constaté pour SPOM, REOM, SEOM et PEOM. La dégradation de la DCO pour le compost C3 est plus élevée que celle du compost C2 ce qui cohérent avec la dégradation en matière organique plus élevée pour C3 que pour C2. Pour les deux composts, la DCO de la fraction NEOM augmente lors de la phase thermophile. Lors de la descente de température, les fractions SPOM, REOM, SEOM et PEOM évoluent peu par rapport à la fin de phase thermophile, toutefois, une diminution de la fraction NEOM est constatée contribuant à un abattement de la DCO plus important. Même si la quantité de matière organique (MV) n'évolue pas durant la phase de descente de température, une diminution de la DCO est constatée ce qui signifie que la matière n'est pas dégradée mais tout de même transformée lors de la descente de température. Les évolutions de la matière sont différentes entre les deux composts lors de la phase de maturation. Pour le compost C2, les pourcentages de DCO évoluent peu lors de la maturation, et la quantité de DCO abattue augmente peu.

Pour le compost C3, les fractions SPOM, REOM et SEOM évoluent peu, la fraction PEOM diminue ainsi que la fraction NEOM. L'abattement final de DCO est plus élevé pour le compost C3 que pour le compost C2 ce qui est en accord avec la dégradation plus importante de la matière organique du compost C3 (45 %) que celle du compost C2 (40 %).

Les évolutions de la matière organique sont similaires entre les deux composts que cette évolution soit déterminée en abattement de la matière organique (MV) ou par la répartition de la DCO. La différence entre les deux composts réside dans les quantités de matière éliminées à chaque étape du compostage. Ainsi, il semble que les microorganismes en présence soient les mêmes effectuant les mêmes types de dégradation/transformation lors du compostage mais que certains paramètres (notamment l'humidité) influent sur le fonctionnement de ces microorganismes et ainsi sur les quantités de matières dégradées ou transformées.

Dans le chapitre précédent, il avait été noté une correspondance en taille de compartiments sur le mélange initial du compost de boue et le compost de boue d'une part sur SPOM + REOM + SEOM et solubles Van Soest et hémicelluloses et d'autre part une correspondance en taille entre NEOM protocole n°2 (équivalent alors à PEOM + NEOM du protocole appliqué ici) et cellulose + lignines.

Le système de compostage en laboratoire utilisé est le même que celui de la thèse de Lashermes (Lashermes, 2010). Le compostage est effectué par Lashermes, 2010 sur un mélange de boue et de déchets verts. La matière organique prélevée à chaque étape du compostage est fractionnée selon le protocole Van Soest (Figure 111).

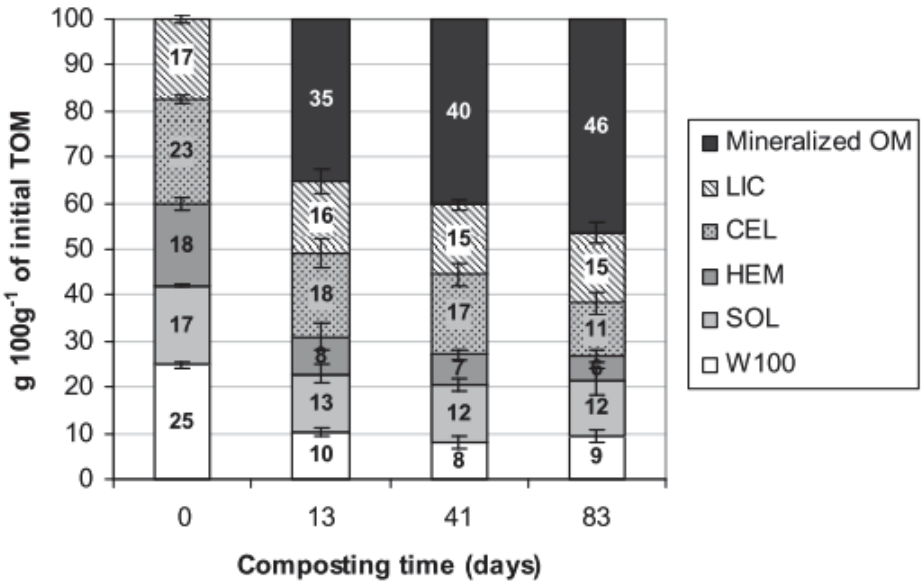



**Figure 111 : évolution de la matière organique lors du compostage de boue en laboratoire, la matière organique est fractionnée selon le protocole Van Soest, les résultats sont donnés en pourcentage de la matière organique totale, 0 = mélange initial, 13 = fin phase thermophile, 41 = fin descente de température, 83 = fin maturation** (G Lashermes et al., 2012)

Des similitudes sont notés entre les résultats présentés Figure 110 et ceux présentés Figure 111. Les composés solubles sont dégradés au cours du compostage ce qui correspond à un abattement de la DCO des compartiments SPOM, REOM et SEOM. La lignine n'est pas dégradée et les fractions cellulose et hémicellulose sont dégradées ce qui semble correspondre aux évolutions de PEOM + NEOM. Cela tend à montrer que si la fraction lignine n'évolue pas mais que la fraction NEOM évolue, cette fraction ne contient pas uniquement des composés ligneux mais aussi des holocelluloses peu accessibles (par exemple, cellulose cristalline).

Sur chaque fraction extraite, une caractérisation par fluorescence 3D est effectuée : l'indice de complexité est calculé pour chaque fraction (Figure 112 et Figure 113).

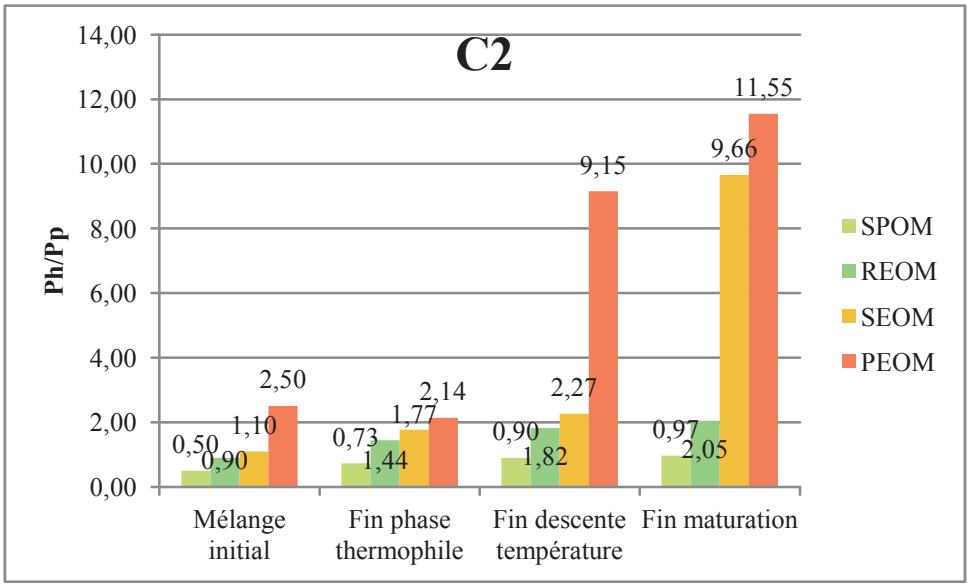



**Figure 112 : complexité des compartiments extraits du mélange initial, de la fin de phase thermophile, de la fin de descente de température et de la fin de maturation pour le compost C2**

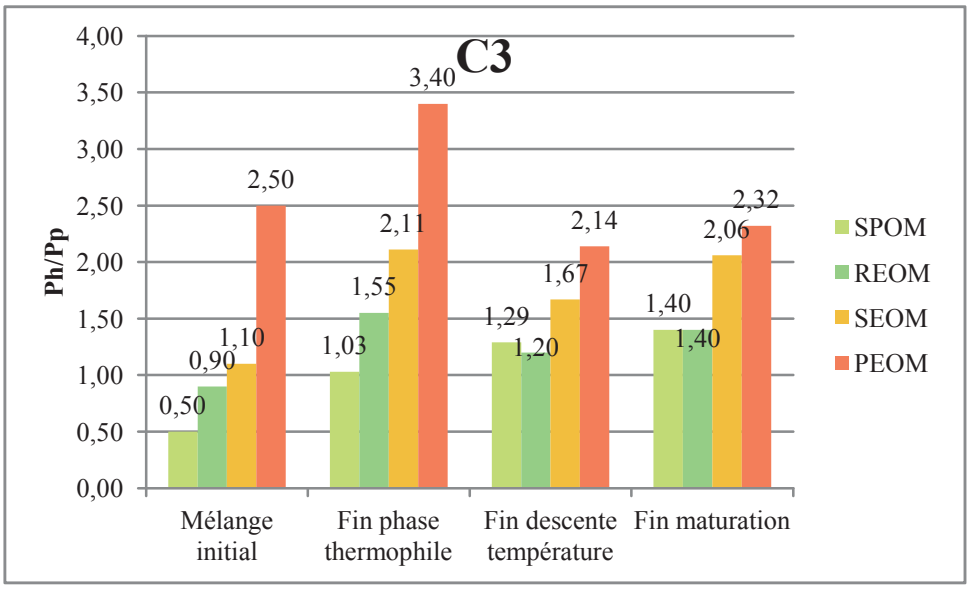



**Figure 113 : complexité des compartiments extraits du mélange initial, de la fin de phase thermophile, de la fin de descente de température et de la fin de maturation pour le compost C3**

La complexité des fractions matière du mélange initial augmente avec la diminution de l'accessibilité chimique. Lors du compostage, la complexité de chaque fraction augmente à chaque étape du compostage. A chaque étape, la complexité augmente toujours lorsque l'accessibilité chimique de la matière organique diminue. L'augmentation de l'indice de complexité traduit une complexification de la matière organique au cours du compostage ce qui cohérent avec la dégradation des composés biodégradables et les processus d'humification qui ont lieu lors du compostage (Francou, 2003).

La Figure 114 et la Figure 115 présentent les spectres de fluorescence. Les spectres des fractions SPOM et REOM du mélange initial sont proches des spectres de fluorescence des fractions SPOM et REOM du cyprès ce qui montre la présence prépondérante des composés issus du cyprès dans ces deux fractions. Pour les fractions SEOM et PEOM, les spectres du mélange initial sont proches de ceux de SEOM et NEOM de la boue. Ainsi, les aromatiques majoritaires dans ces deux fractions sont ceux issus de la boue. Lors du compostage, pour la fraction SPOM, il est noté une diminution des zones de fluorescence des composés de type protéique et les zones des composés complexes sont toujours présentes ce qui confirment l'augmentation de l'indice de complexité au cours du compostage. Toutefois, le massif de fluorescence de la zone VI se décale vers la gauche au cours du compostage ce qui correspond à une simplification de la matière organique. Les composés aromatiques qui fluorescent dans la zone VI proviennent du cyprès ; ces composés semblent donc dégradés durant le compostage. Ces composés sont probablement des composés responsables de l'odeur et de la couleur du cyprès or il est noté lors du compostage la perte de la couleur verte des déchets verts ce qui pourrait se traduire par la simplification des composés aromatiques responsables de cette couleur. Lors du compostage il apparaît un massif dans la zone IV ce qui traduit une agglomération de composés aromatiques ou la formation de composés plus complexes issus de la biomasse microbienne. Les mêmes phénomènes sont notés pour la fraction REOM. Toutefois, la fraction REOM présente un massif dans la zone III, composés type protéique, qui disparaît au fur et à mesure du compostage. Lors du compostage, la fraction SEOM se complexifie. Cela est dû à la dégradation des composés simples : les massifs de fluorescence des zones simples I et II se décalent vers la droite faisant apparaître un massif dans la zone IV. Cela pourrait traduire le phénomène d'humification (condensation des composés organiques pour former des composés humiques (Francou, 2003)). Les spectres de fluorescence révèlent une différence entre les composts C2 et C3. Lors du compostage C2 (phase de maturation), le massif de la zone VI de SEOM se décale vers la droite et tend même à se déplacer vers la zone VII alors que ce même massif s'intensifie pour le compost C3 mais ne se décale pas. Ainsi, lors du compostage C2, la matière organique de la fraction SEOM évolue pour former des composés plus aromatiques ; et lors du compostage C3, il y a un enrichissement de SEOM mais avec toujours la même nature de composés. L'activité microbienne étant moins intense pour le compost C2 que pour le compost C3, il semble que l'augmentation de l'aromaticité soit due à des processus physicochimiques alors que l'enrichissement de la fraction par

des composés de même nature soit lié à une activité microbienne. La même constatation est notée pour la fraction PEOM.

Ces résultats mettent en exergue le fait que malgré des répartitions de DCO semblables, c'est-à-dire des tailles de compartiments identiques, la nature de la matière organique peut être différente.

Les abattements de MS et MV, la répartition de la DCO couplée à l'évolution de la qualité de la matière organique extraite lors du compostage tendent à montrer l'importance de la phase thermophile. En effet, la modification de la matière lors de cette première étape de compostage semble impacter l'évolution de la matière organique lors des autres phases du compostage.

Les résultats montrent aussi que même si les répartitions initiales et finales de la DCO dans les composts sont semblables, la nature de la matière organique extraite est différente. Ainsi, cela confirme que le fractionnement de la matière organique permet de donner des informations sur l'accessibilité de la matière organique mais que pour estimer une éventuelle biodisponibilité ou biodégradation il faut tenir compte d'autres indicateurs (fluorescence 3D ici).

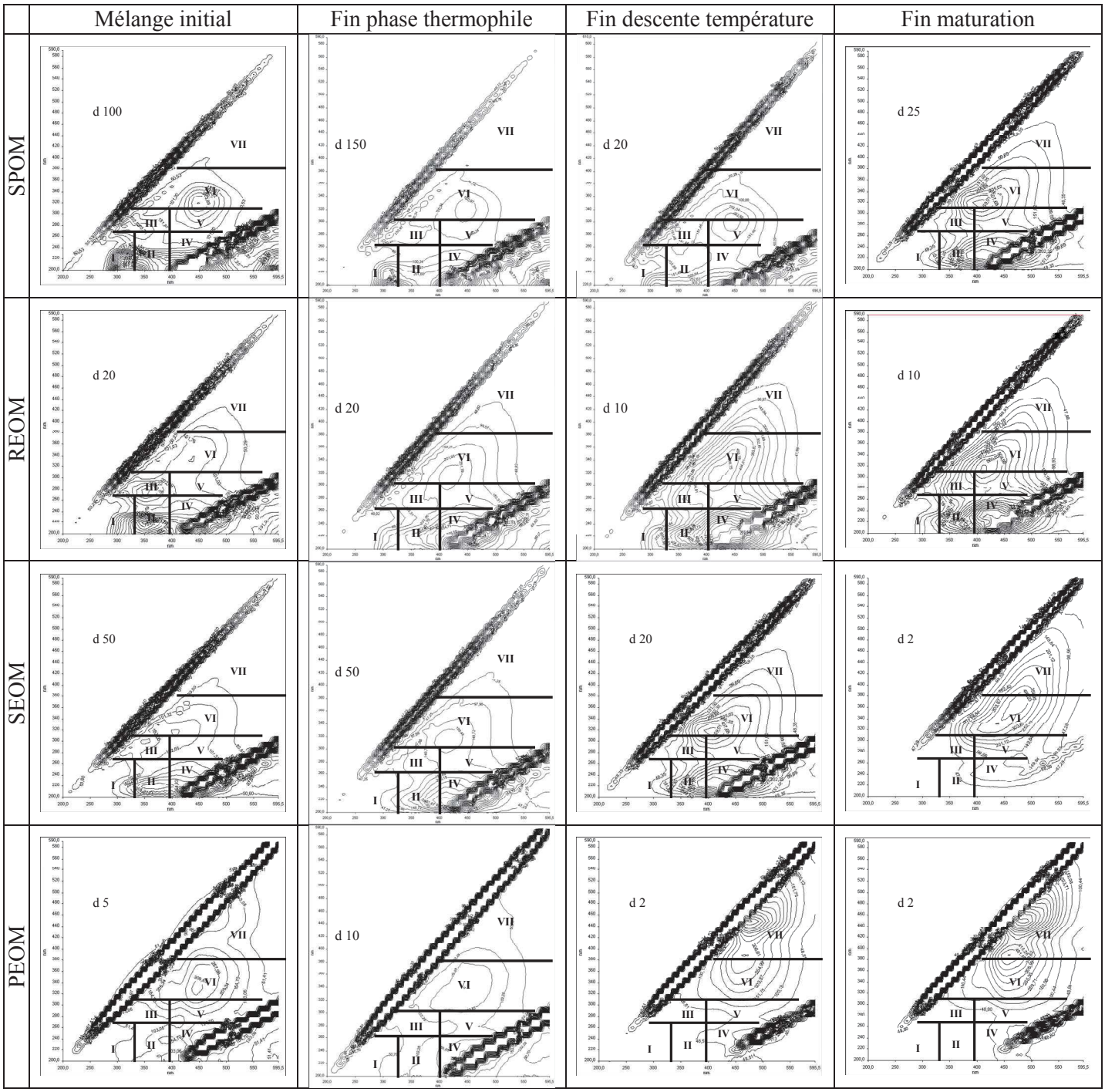



**Figure 114 : spectres de fluorescence des fractions du mélange initial, du compost fin phase thermophile, du compost fin descente température et du compost fin maturation du composteur C2**

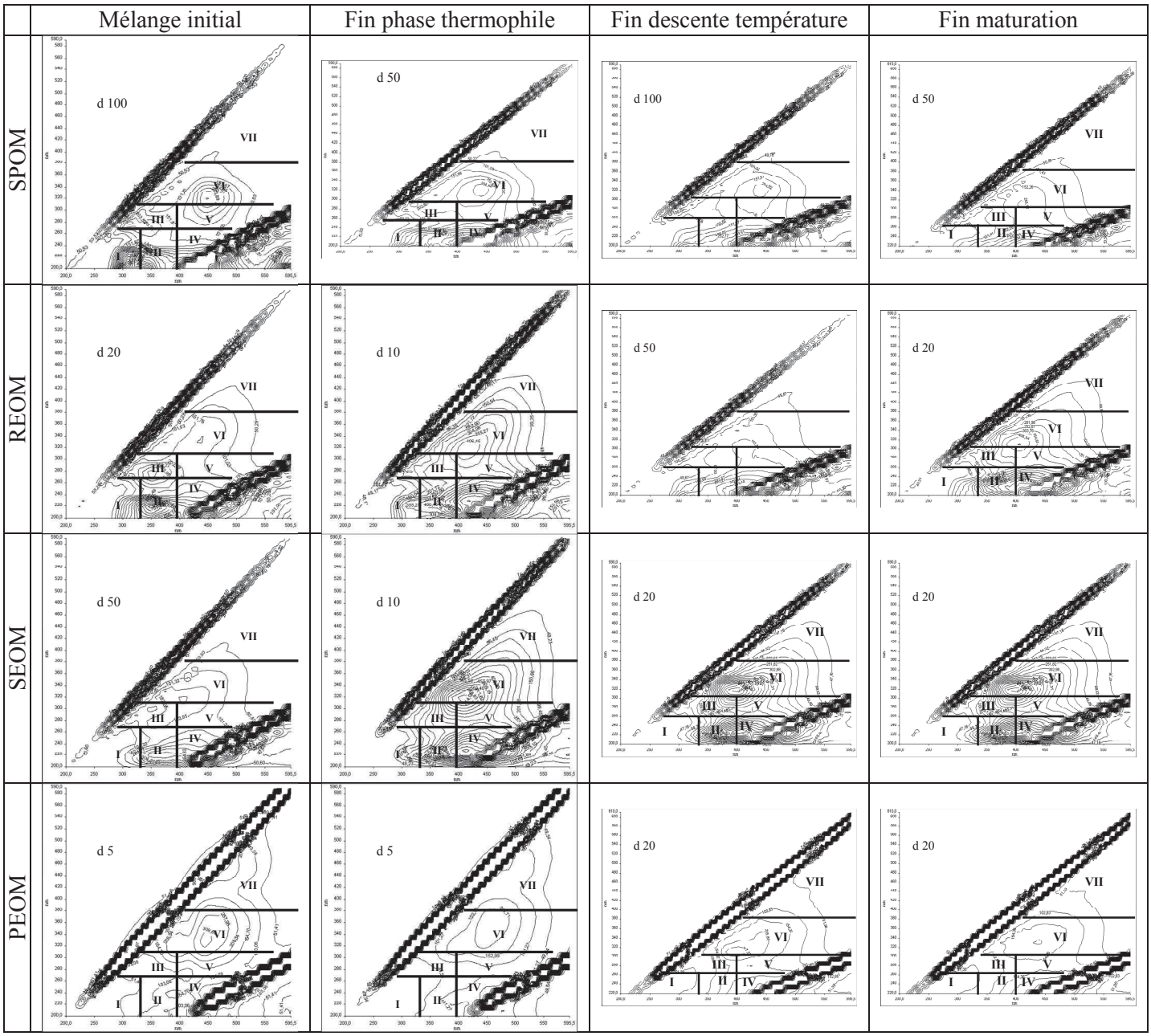



**Figure 115 : spectres de fluorescence des fractions du mélange initial, du compost fin phase thermophile, du compost fin descente température et du compost fin maturation du composteur C3**

## 3. Devenir des HAP et NP lors du compostage des boues secondaires épaissies

### *a) Les hydrocarbures aromatiques polycycliques*

Les concentrations en HAP sont mesurées sur chaque constituant du mélange et le mélange initial avant dopage (Figure 116).

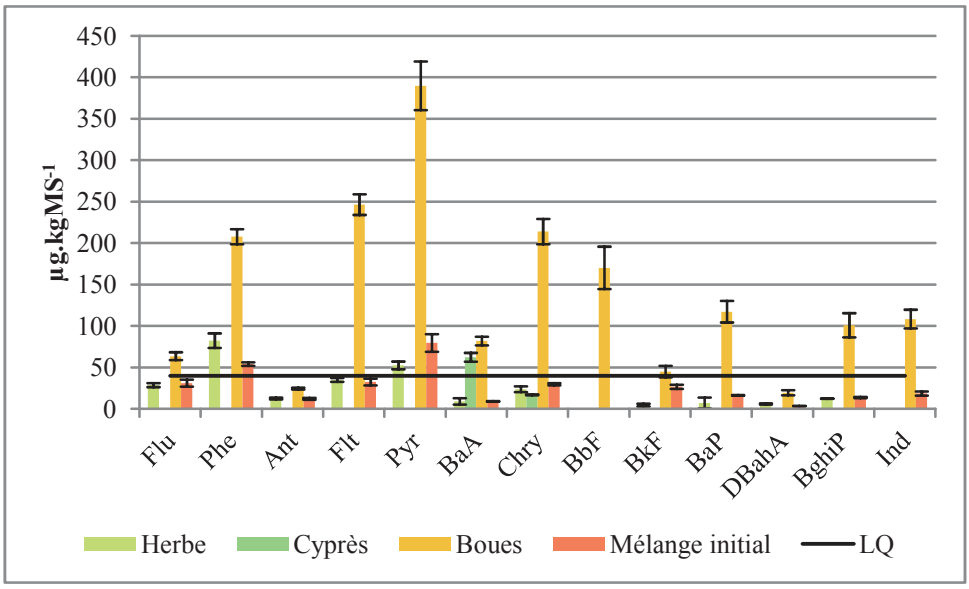



**Figure 116 : concentrations en HAP dans les constituants du mélange initial et dans le mélange initial avant dopage**

Les boues apportent la majeure partie de la contamination du mélange initial avant dopage. En effet, les teneurs en chaque HAP sont, pour la plupart des composés, largement supérieures à celles des déchets verts. Le cyprès est très peu contaminé : seuls le BaA et le Chry sont détectés. Dans l'herbe, sont retrouvés tous les HAP sauf BbF et Ind. La plupart des HAP présents dans les déchets verts sont en dessous de la limite de quantification (40 µg.kgMS$^{-1}$). La concentration en HAP totaux natifs du mélange initial est de 326 ± 8 µg.kgMS$^{-1}$. La concentration théorique calculée à partir des constituants du mélange est de 544 µg.kgMS$^{-1}$. La concentration mesurée est donc inférieure à la concentration théorique : soit la concentration théorique est mal évaluée car les déchets verts ont des teneurs proches voire en dessous de la limite de quantification soit il y un phénomène de formation de résidus liés lors du mélange.

Après dopage du mélange initial, la concentration en HAP totaux est de 32 198 ± 1 145 µg.kgMS$^{-1}$ or la concentration théorique (en tenant compte de la concentration de la solution de dopage, du volume de dopage, de la masse dopée et des HAP déjà présents dans le mélange initial) est de 38 039 µg.kgMS$^{-1}$. Seulement 85 % de la concentration théorique est retrouvée. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette valeur : pertes lors du dopage et/ou formation de résidus liés et/ou concentration de la solution de dopage avant son analyse.

La concentration en HAP totaux à chaque étape du compostage est ramenée à la matière sèche du mélange initial afin de pouvoir suivre l'évolution des HAP lors du compostage (Figure 117).

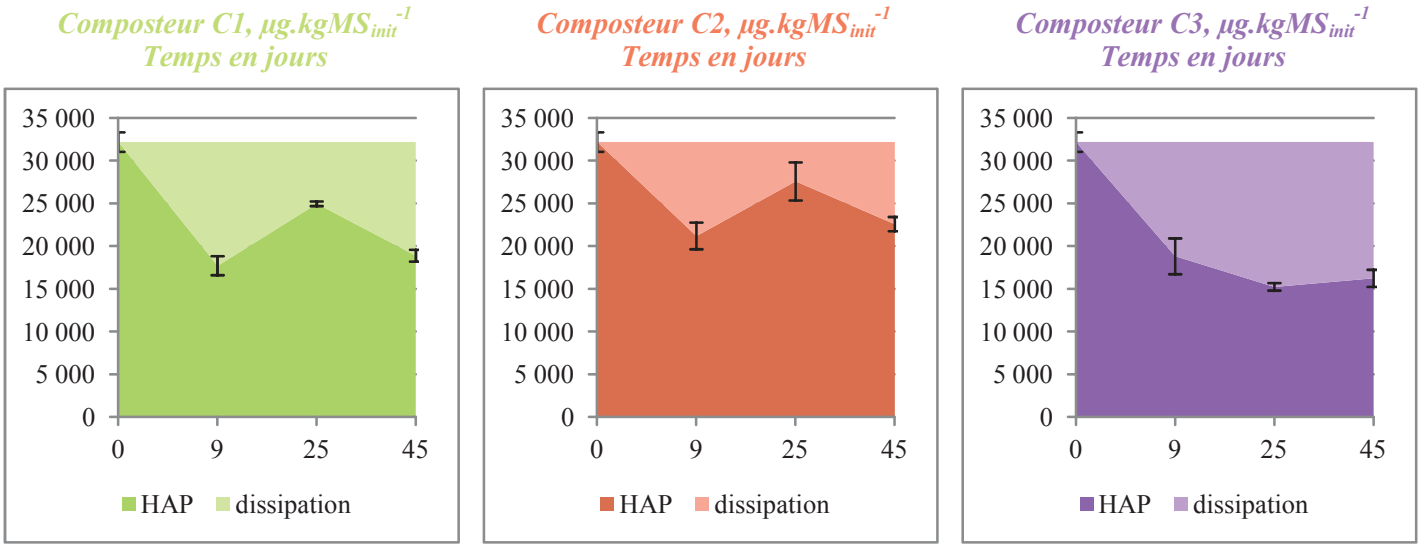



**Figure 117 : évolution de la concentration en HAP lors du compostage des boues secondaires non digérées**

Pour les trois composteurs, la concentration en HAP diminue fortement lors de la phase thermophile. Pour les composteurs C1 et C2, la concentration en HAP augmente durant la phase de descente de température alors que la concentration diminue pour le compost C3. Enfin lors de la phase de maturation, la concentration diminue à nouveau sauf pour le compost C3 où la concentration reste constante au cours de la maturation.

Ainsi, les composteurs C1 et C2 sont similaires alors que le composteur C3 a un comportement légèrement différent. La différence de comportement des composteurs a déjà été montrée au niveau de l'évolution de la matière organique et est liée à l'humidité résiduelle du compost à la fin de la phase thermophile. Ainsi les résultats confirment de nouveau le lien intime entre la matière organique, les micropolluants organiques et les microorganismes. En effet, si la matière organique n'est pas dégradée de façon similaire entre deux compostages, ce qui est lié à l'activité microbienne, l'évolution des micropolluants organiques est différente pour les deux compostages.

Pour essayer de mieux comprendre l'évolution des HAP lors du compostage, le bilan est réalisé sur les trois composteurs pour huit HAP sur les treize (annexe D).

Pour les trois composteurs, tous les HAP sont dissipés lors de la phase thermophile. La dissipation est d'autant plus importante que le poids moléculaire est faible.

Lors de la phase de descente de température, la concentration augmente pour les composteurs C1 et C2 et cette augmentation est d'autant plus importante que le poids moléculaire est élevé. Il semble donc que lors de la descente de température, des molécules sorbées pendant la phase thermophile soient désorbées et donc mesurables. Comme l'augmentation est faible voire nulle pour les HAP les plus légers, il est possible que ceux-ci soient volatilisés lors de la phase thermophile (fort débit d'air et

température élevée 60°C environ). Les HAP non volatilisés sont libérés lors de la phase de descente de température par modification de la structure de la matière organique. La question se pose de savoir pourquoi le composteur C3 ne montre alors pas une augmentation de la concentration lors de la phase thermophile. La différence entre les composteurs provient notamment des taux de dégradation de la matière lors de la phase thermophile et de l'humidité en fin de phase thermophile. Il est noté que la dégradation de la matière organique est d'autant plus importante que la perte en eau est faible lors de la phase thermophile. Or, la perte en eau limite l'activité microbienne lors du compostage (Francou, 2003). Ainsi, le composteur C3 qui présente le taux d'humidité le plus fort en fin de phase thermophile et la dégradation de la matière organique la plus élevée lors de la phase thermophile a probablement eu un métabolisme plus intense que les deux autres. Ainsi, les HAP sorbés non détectables ont pu être soit cométabolisés par la forte activité microbienne, ils ne sont donc plus présents et la concentration ne peut donc augmenter lors de la phase de descente de température ou le fort métabolisme a libéré ces HAP qui ont ensuite été volatilisés, pour ceux de faible poids moléculaire, car désorbés (ou les deux hypothèses à la fois). La première hypothèse tend à être confirmée par la différence d'augmentation de la concentration lors de la descente de température pour les composts C1 et C2. En effet, l'humidité résiduelle en fin de phase de descente de température est plus faible pour C1 que pour C2, or la concentration augmente moins dans C1 que dans C2. Ainsi, la matière organique, moins modifiée dans C1 retient plus de composés que pour C2.

Les phases de maturation sont démarrées à la même humidité et l'humidité résiduelle est la même : les évolutions des HAP lors de la phase de maturation sont semblables entre les trois composteurs.

En conclusion, il semble qu'une partie des HAP soient éliminés lors du compostage par volatilisation (notamment les HAP légers lors de la phase thermophile). Lors de la phase thermophile, en plus de la volatilisation, il y a sorption sur la matière organique et/ou dégradation des HAP par cométabolisme. Durant la phase de descente de température, la modification de la matière organique permet la désorption des HAP (réversibilité de la sorption précédente). La phase de maturation impacte peu la concentration des HAP excepté pour le Flu (HAP de faible poids moléculaire, plus facilement dégradable que les autres).

Dans tous les cas, il semble que le métabolisme microbien mis en œuvre lors du compostage ait un rôle important dans le devenir des micropolluants ; en effet, si l'activité microbienne est faible, les processus de dissipation sont liés à un piégeage physicochimique des HAP au sein de la matière organique. Les microorganismes modifient la matière organique et, ici, il semble que la modification de la matrice joue un rôle important sur la rétention ou la dissipation (volatilisation, dégradation) des HAP lors du compostage. Cela tend à confirmer le rôle important de la matière organique sur le devenir des micropolluants organiques. Bien sûr, le métabolisme microbien a aussi un rôle mais comme il impacte le devenir de la matière organique, l'étude de cette matière permet d'obtenir des informations sur ce métabolisme.

### b) Les nonylphénols

Les NP sont d'abord dosés dans les constituants du mélange initial du compost de boues puis sur le mélange initial avant et après dopage (Figure 118).

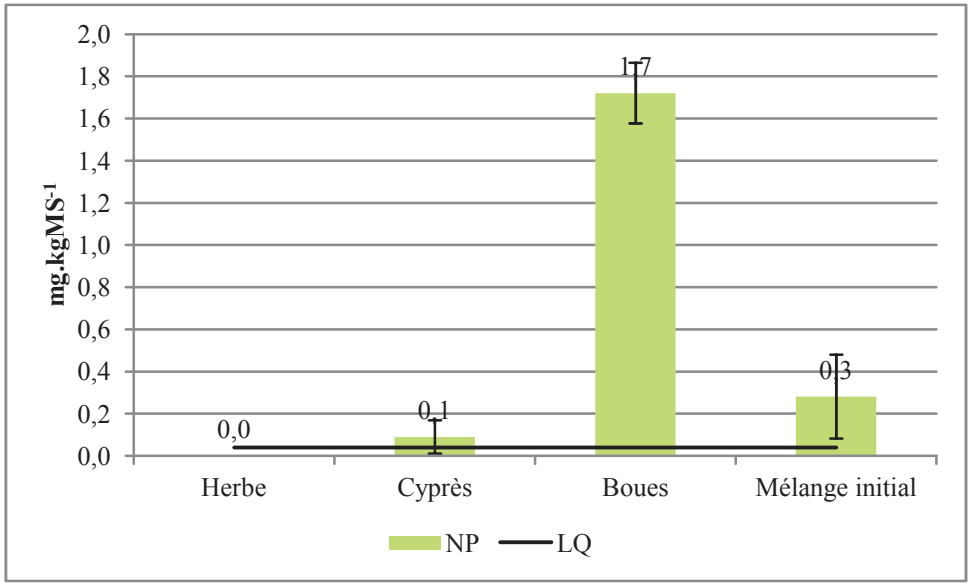



**Figure 118 : concentrations en NP dans les constituants du mélange initial et dans le mélange initial avant dopage**

Aucun NP n'est détecté dans l'herbe. Le cyprès est très faiblement contaminé, la concentration est proche de la limite de quantification. Les boues sont contaminées par les NP avec une concentration de 1,7 ± 0,1 mg.kgMS$^{-1}$. Le mélange initial a une concentration de 0,3 ± 0,2 mg.kgMS$^{-1}$. La contamination apportée par la boue est diluée par les déchets verts (la concentration du mélange initial correspond à peu près au quart de la concentration de la boue ce qui correspond au facteur de dilution). Après dopage, la concentration du mélange initial est de 27,3 ± 0,7 mg.kgMS$^{-1}$. La concentration théorique de dopage est de 25 mg.kgMS$^{-1}$. Les NP ajoutés sont donc bien retrouvés et aucune perte n'est constatée lors du dopage.

Les concentrations en NP sont mesurées à chaque étape du compostage. Les valeurs sont ramenées à la matière sèche initiale pour pouvoir suivre l'évolution des NP lors du compostage (Figure 119).

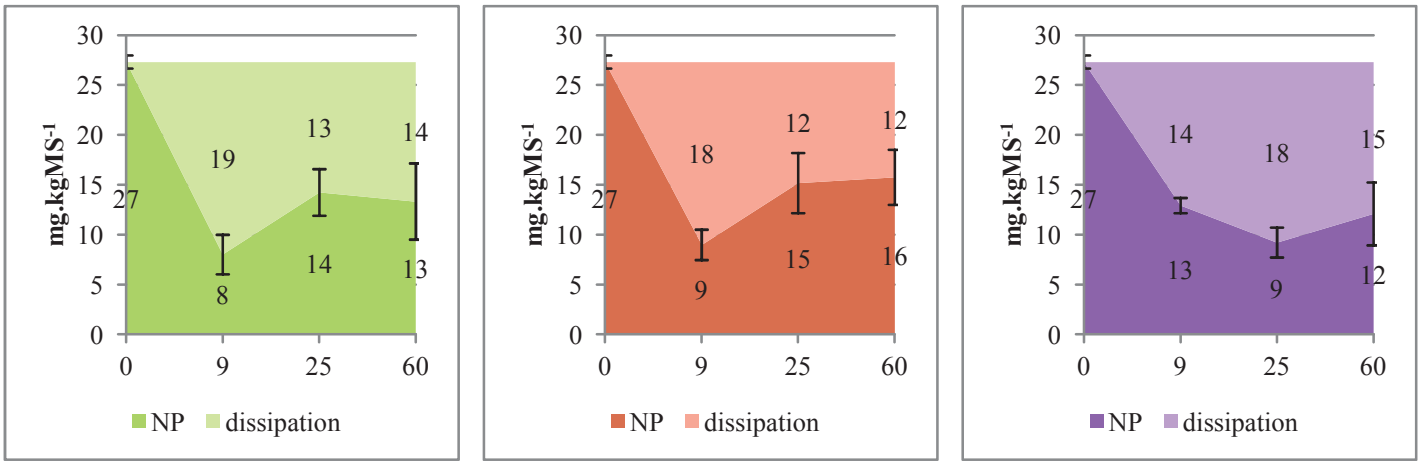



**Figure 119 : concentrations en NP à chaque étape du compostage**

L'évolution des NP est semblable pour les composteurs C1 et C2. Ce résultat semble cohérent avec les évolutions de la matière qui sont similaires pour les composteurs C1 et C2. L'évolution des NP dans le composteur C3 est différente de celle des deux autres, or l'évolution de la matière est différente pour le composteur C3 par rapport aux deux autres composteurs.

Pour les composteurs C1 et C2, la concentration en NP diminue fortement lors de la phase thermophile puis la concentration augmente lors de la phase de descente de température et reste constante. Pour le composteur C3, la concentration en NP diminue durant la phase thermophile et celle de descente de température puis reste constante lors de la phase de maturation.

Dans l'expérience menée ici, pour deux composteurs, la quantité de NP augmente lors de la phase de descente de température. Cela provient probablement de la dégradation de composés type NPnEO qui sont dégradés en NP, lentement dégradables par rapport aux NPnEO d'où une accumulation des NP. Même si l'augmentation de concentration peut être due à de la dégradation de NPnEO, il apparaît que les NP ont une évolution qui ressemble à celle des HAP de hauts poids moléculaires. Ainsi, les mêmes hypothèses que celles émises pour les HAP peuvent s'appliquer aussi ici.

L'abattement en NP lors du compostage est de 51 ± 13, 42 ± 9 et 56 ± 10 pour les composteurs C1, C2 et C3 respectivement. Les abattements totaux lors du compostage pour les composteurs C1 et C3 sont statistiquement équivalents (test ANOVA, Excel 2007, p value = 0,05). Statistiquement l'abattement du composteur C2 est différent des deux autres.

Lors de sa thèse, Lashermes (2010) a étudié le devenir de quatre micropolluants organiques lors du compostage d'un mélange de boue et de déchets verts dans le même système que celui utilisé ici. Elle a notamment travaillé sur le nonylphénol mais elle a utilisé une molécule radiomarquée. Ses bilans sont effectués en pourcentage de la radioactivité appliquée ; la radioactivité est mesurée dans les pièges à soude pour récupérer le dioxyde de carbone (ce qui permet de connaître la quantité de NP minéralisée), dans un piège au méthanol (NP sous formes de composés organiques volatiles), dans les

lixiviats, dans un extrait au $CaCl_2$, dans un extrait au méthanol (suivant l'extraction au $CaCl_2$) et enfin dans le solide restant (résidus non extractibles) (Figure 120).

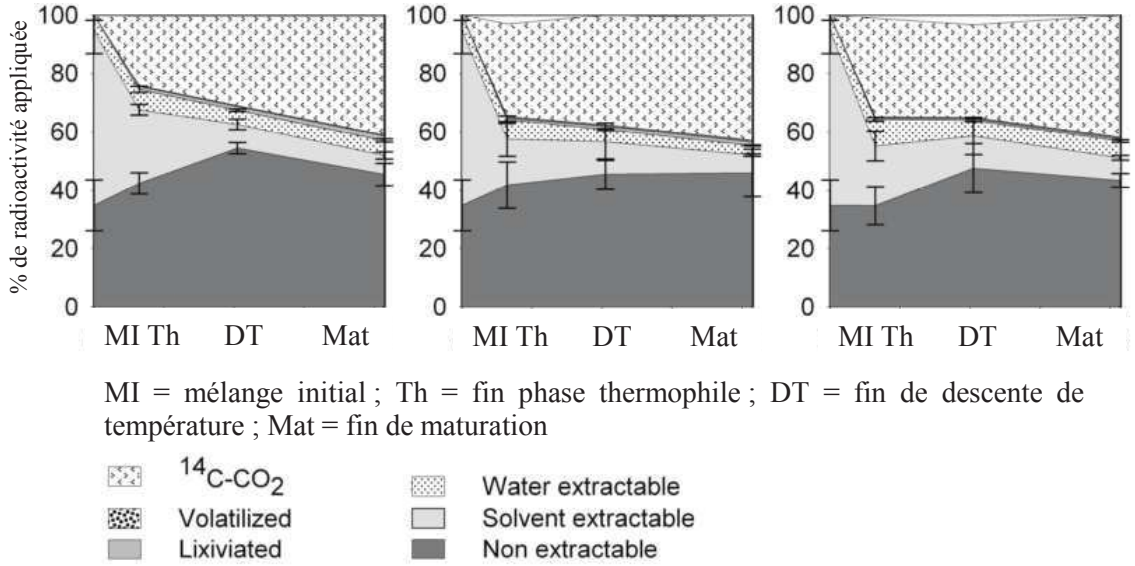



**Figure 120 : distribution de la radioactivité lors du compostage d'un mélange de déchets verts et de boues en laboratoire dopé avec des NP marqués au carbone 14** (Lashermes, 2010)

Les NP sont minéralisés en grande partie durant la phase thermophile du compostage. La minéralisation est faible durant la phase de descente de température et se poursuit durant la phase de maturation du compost. Ainsi, lors du compostage un des mécanismes de dissipation est la biodégradation des NP. La part de radioactivité retrouvée sous forme de composés organiques volatiles ou de lixiviats est très faible. La majeure partie de la radioactivité restante est présente dans la matière organique et correspond donc à des NP ou à des métabolites sorbés (molécules hydrophobes). La fraction extractible à l'eau semble constante lors du compostage et ne représente qu'environ 5 % de la radioactivité appliquée. La quantité de radioactivité extractible au méthanol diminue au cours du temps alors que la quantité de résidus non extractibles augmente. Ainsi, le deuxième mécanisme d'élimination des NP est la formation de résidus non extractibles. Environ 40 % de la radioactivité est minéralisée. Or, dans l'expérience effectuée ici, le pourcentage de dissipation est supérieur à cette valeur. Une partie des NP peut donc être convertie en résidus non extractibles. Toutefois, la quantité de résidus non extractibles devrait alors être de l'ordre de 10 % or cette valeur est différente de la quantité de résidus non extractibles formés mesurés par radioactivité. Ces différences peuvent s'expliquer par le substrat, en effet, la dissipation des micropolluants organiques liée aux phénomènes de sorption est liée aux propriétés physicochimiques de la matrice or les matrices organiques compostées sont différentes. La deuxième explication provient de la technique d'extraction des molécules. En effet, l'extraction au méthanol est plus « douce » que l'extraction à l'ASE qui en plus du solvant applique une pression et une température élevées. Cette différence est visible sur le mélange initial, en effet, avec l'extraction au méthanol 30 % de résidus non extractibles sont observés alors que l'extraction à l'ASE permet de récupérer l'intégralité des NP ajoutés.

L'estimation de la quantité de résidus non extractibles requiert l'utilisation de molécules radiomarquées. Toutefois, la question se pose de savoir qu'elle est la meilleure technique pour les isoler. Les micropolluants sont extraits puis la radioactivité est mesurée sur l'échantillon. Le résidu non extractible est une forme liée à la matière organique, non accessible aux microorganismes car non accessibles chimiquement par utilisation de solvants. Or l'extraction par solvant peut s'effectuer de diverses manières (ASE, agitation dans le solvant, Soxhlet, etc.) avec des solvants divers ; quelle technique permet donc d'estimer aux mieux ces résidus ? La présence de résidus non extractibles dans le compost peut poser problème lors de l'utilisation de ce compost en agriculture : les molécules sous forme de résidus liés peuvent-elles se libérer dans le sol par modification de la matière organique ? Il semble qu'un point crucial soit de déterminer précisément une technique pour mesurer ces résidus afin de pouvoir comparer les résultats des études qui étudient ces questions. Cela permettrait de définir les résidus non extractibles par rapport à la matière organique et non plus par rapport à la « quantité non extractible par la technique utilisée ».

#### *c) Lien entre l'évolution des HAP et NP lors du compostage des boues avec l'évolution de la matière organique*

L'hypothèse principale pour expliquer le devenir des micropolluants organiques est liée au métabolisme microbien qui s'estime alors avec l'étude du devenir de la matière organique. Pour le compostage des boues, les échantillons de matière organique prélevés à chaque étape du compostage des réacteurs C2 et C3 ont été fractionnés (cf. paragraphes précédents). Bien que les HAP et NP n'ont pas été dosés dans chacun des compartiments matière, l'évolution globale de chaque fraction devrait permettre de valider ou non les hypothèses émises précédemment.

Les tendances d'évolution de la matière organique sont semblables entre les deux composts. La seul différence provient des taux d'abattement de la matière et aussi des évolutions de la fluorescence au cours de la maturation. Lors de cette phase, les HAP de faible poids moléculaire sont dissipés et ceux de poids plus élevé restent constants ; pour les NP, la quantité reste constante au cours de la maturation. La complexification de la matière organique permet sans doute de garder piéger les HAP de haut poids moléculaire mais une activité microbienne étant présente une dissipation des HAP de faible poids moléculaire est possible probablement due à une dégradation. En effet, lors de la maturation, des pourritures (champignons) apparaissent sur le compost or ces organismes sont capables de dégrader les HAP et les NP (Eggen and Majcherczyk, 1998; Soares et al., 2005).

Lors de la phase thermophile l'évolution de la matière organique est identique pour les deux composts, la seule différence provient du taux d'abattement de la matière organique. Cela signifie que l'activité microbienne élevée limite le piégeage des HAP et des NP durant cette phase. La reprise de l'activité microbienne permet de libérer les HAP piégés dans la matière organique.

Ces résultats tendent à montrer alors qu'une partie des résidus non extractibles est remobilisable après modification de la matière organique. Si un compost ou autre PRO est épandu une fraction des résidus non extractibles de la matière organique utilisée peut être de nouveau disponible dans les sols.

## B. Devenir de la matière organique et des micropolluants organiques lors de la digestion anaérobie suivie du compostage des boues

### 1. Devenir de la matière organique lors de la digestion anaérobie

Les réacteurs anaérobies sont alimentés par des boues dopées en micropolluants organiques et congelées (décongélation juste avant l'utilisation). La digestion est conduite à une température de 37°C (la même que sur la station d'épuration sur laquelle ont été prélevés les échantillons) (Chapitre III, § A.2. et § A.3.).

**Tableau XXXI : performances de la digestion anaérobie des boues secondaires**

| Réacteur | Charge ($gDCO.L^{-1}.j^{-1}$) | Biogaz | Abattement MS (%MS) | Abattement DCO (%DCO) |
|---|---|---|---|---|
| Réacteur 2 L | 2 ± 1 | Env. 70 % $CH_4$ + | 27 ± 10 % | 37 ± 9 % |
| Réacteur 6 L | 1,5 ± 1 | 30 % $CO_2$ | 29 ± 7 % | 35 ± 7 % |
| Réacteur STEP | 3 | / | 34 % | 52 % |

La charge de chaque réacteur est inférieure à celle de la station d'épuration (Tableau XXXI). De plus, la charge est très variable au sein des réacteurs, ce qui peut s'expliquer par la structure des boues qui, une fois congelées et décongelées, ne sont plus homogènes mais présentent une phase particulaire rapidement décantable. Toutefois, la charge n'influe pas sur les performances des réacteurs qui atteignent rapidement un équilibre (Figure 121). Le pourcentage de DCO éliminée est plus élevé pour le réacteur de la station d'épuration que pour les réacteurs en laboratoire. Ceci peut s'expliquer par un temps de séjour plus élevé (20 à 30 jours selon le débit) donc une dégradation plus poussée.

Malgré des performances moindres par rapport au digesteur industriel (liées à la congélation des boues et aux paramètres opératoires), les performances des réacteurs en laboratoire sont équivalentes que le volume soit de 2 L ou de 6 L (répétabilité de la digestion anaérobie en laboratoire). Les performances de la digestion anaérobie en laboratoire sont excellentes. Les digesteurs fonctionnent bien : Moletta (2008) donne une composition moyenne du biogaz à 60 ± 10 % de méthane et 40 ± 10 % de dioxyde de carbone. De plus, une robustesse de la méthanisation est constatée en sortie car malgré les fluctuations de l'alimentation, les caractéristiques macroscopiques (MS et DCO) du digestat atteignent dès la fin du premier temps de séjour un équilibre.

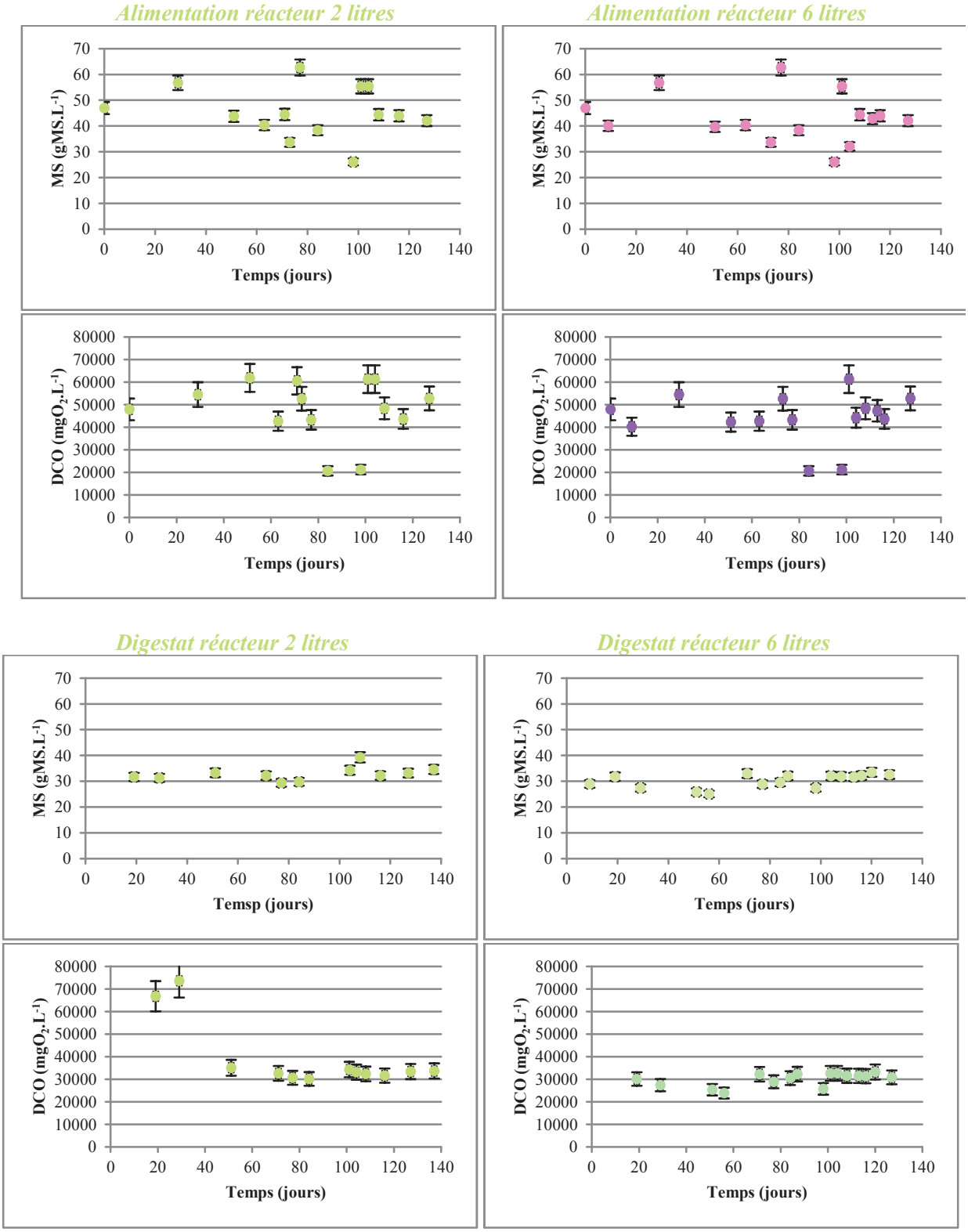



**Figure 121 : évolutions des MS et de la DCO de l'alimentation et des digestats au cours du temps**

Le protocole de fractionnement (protocole modifié présenté au Chapitre V) est appliqué sur la boue d'alimentation (boue initialement dopée et qui correspond à la moyenne des alimentations effectuées au cours de la digestion) et sur deux échantillons de digestat du réacteur de 6 L (échantillons prélevés

durant le dernier temps de séjour (réacteur à l'équilibre en termes de matière), à une semaine d'intervalle) (Figure 122).

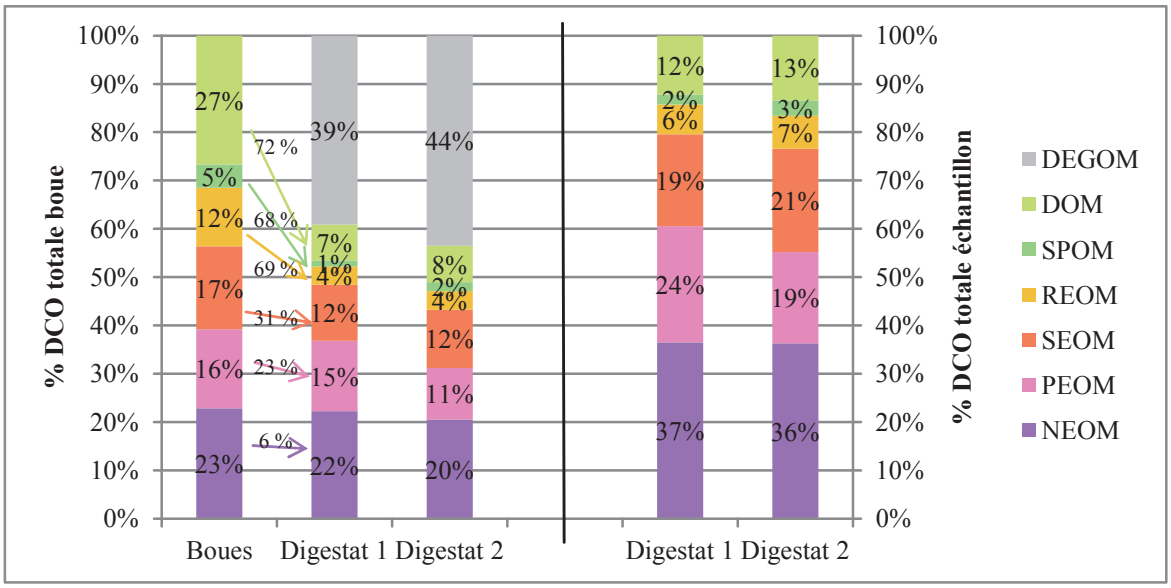



**Figure 122 : évolution des fractions « matière » lors de la digestion anaérobie des boues secondaires en réacteur semi continu**

Le protocole permet d'extraire environ 80 % de la DCO de la boue et environ 65 % de la DCO des digestats (sans tenir compte du terme de dégradation). Les fractionnements des deux prélèvements de boues digérées confirment l'équilibre en termes de matière. En effet, les deux résultats sont identiques (à quelques pourcents près). Le taux de dégradation de la DCO est d'environ 40 % ; ce taux de dégradation est plus faible que celui constaté sur le réacteur de la station d'épuration mais peut s'expliquer par une charge plus faible et un temps de séjour plus court (la charge impacte le temps de séjour hydraulique).

La boue présente une fraction DOM plus importante que les digestats. La fraction SEOM en termes de pourcentage de DCO est de même taille pour la boue et la boue digérée. Les fractions SPOM et REOM sont plus faibles dans le digestat que dans la boue alors que les fractions PEOM et NEOM sont plus importantes en taille dans le digestat. On observe au cours de la digestion une augmentation de la taille des compartiments les moins accessibles (PEOM et NEOM). Le protocole permet donc de discriminer la boue de la boue digérée.

Les abattements présentés sur la Figure 122 sont calculés à partir de la moyenne des deux fractionnements des digestats rapportés à la DCO de la boue d'alimentation (globalement identiques) et le fractionnement de la boue. Le taux de dégradation des compartiments diminue avec leur accessibilité chimique : l'accessibilité chimique correspond donc bien à l'accessibilité biologique de la matière et par extension, comme une partie de la matière organique est dégradée, à la biodisponibilité de la matière organique lors de la digestion anaérobie.

La complexité des compartiments est étudiée à travers la caractérisation par fluorescence 3D des fractions extraites. Pour chaque fraction, est calculé l'indice de complexité (Figure 123).

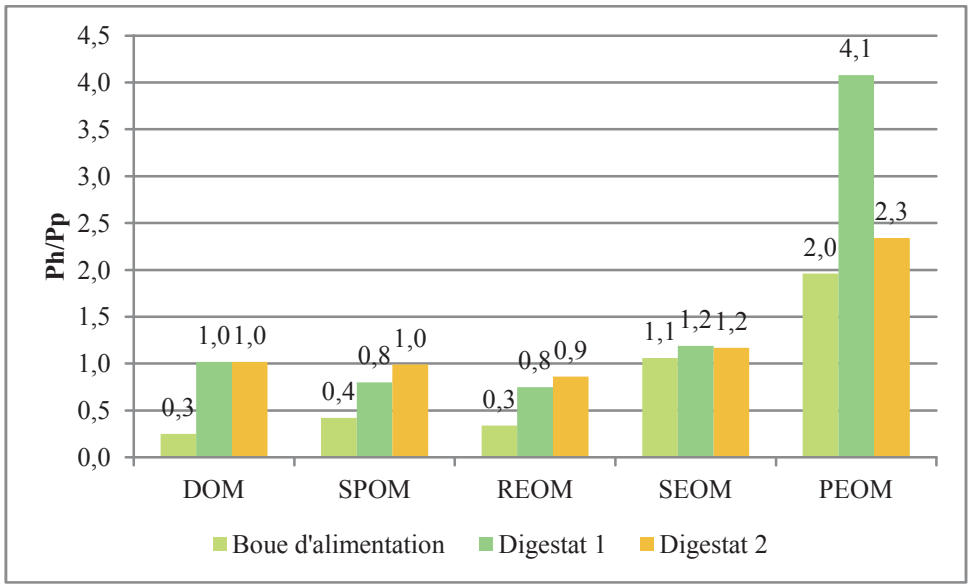



**Figure 123 : indices de complexité de chaque fraction des boues et digestats**

L'indice de complexité est équivalent pour les fractions DOM, SPOM et REOM de la boue. Il augmente pour la fraction SEOM (environ trois à quatre fois plus élevé que l'indice des fractions précédentes). L'indice de complexité de la fraction PEOM est deux fois plus élevé que l'indice de la fraction SEOM. Ici, un lien entre l'accessibilité chimique et la complexité de la matière organique est mis en évidence. Dans le cas des boues, la diminution de l'accessibilité biologique semble en lien avec l'augmentation de la complexité de la matière organique. Le spectre de la fraction DOM montre une prépondérance des zones I et II (Figure 124). La matière simple qui compose l'extrait est majoritairement composée de composés type protéique. Les fractions SPOM et REOM sont proches de la fraction DOM en termes de fluorescence mais de moindre taille en termes de DCO. La fraction SEOM montre des massifs de fluorescence au niveau des zones protéiques (zone II majoritaire) mais aussi un massif au niveau de la zone VI. Enfin, les zones IV et VI sont majoritaires pour la fraction PEOM de la boue montrant que cette fraction est très complexe. Les fractions de complexité similaire ont des taux de dégradation proches et plus la complexité augmente moindre est la dégradation. La caractérisation de la boue par fractionnement couplé à de la fluorescence 3D permet donc de mettre en évidence le lien entre l'accessibilité chimique et l'accessibilité biologique ainsi que le lien entre la complexité et la biodégradabilité de la matière.

Les résultats de fluorescence 3D sont les mêmes pour les deux digestats confirmant ainsi l'équilibre matière atteint à la fin de la digestion anaérobie. L'indice de complexité augmente pour les fractions DOM, SPOM et REOM : en effet, sur les spectres de fluorescence, apparaît un massif marqué au niveau de la zone VI. Les spectres de la fraction SEOM de la boue et des digestats sont similaires, l'indice de complexité ne change pas. Malgré tout, une diminution de la DCO est constatée

(dégradation probable de composés type sucres). Ce résultat est similaire avec les résultats des incubations anaérobies (Chapitre IV). Enfin, la complexité de la fraction PEOM varie peu aussi, ce compartiment est faiblement dégradé et il semble que la dégradation de la DCO soit liée à la forte dégradation des sucres non visibles en fluorescence 3D (la forte différence de l'indice de complexité est liée à la prépondérance des zones complexes et à la minorité des zones simples, cf. compostage des boues). Ce résultat est en accord avec les incubations anaérobies dans lesquelles la fraction NEOM (qui contenait alors PEOM et le même NEOM que dans le protocole modifié) n'évolue pas.

Au cours de la digestion anaérobie, les fractions les plus accessibles sont fortement dégradées et les fractions moins accessibles sont peu dégradées. De plus la dégradation de la DCO de chaque fraction est liée à la complexité de la dite fraction.

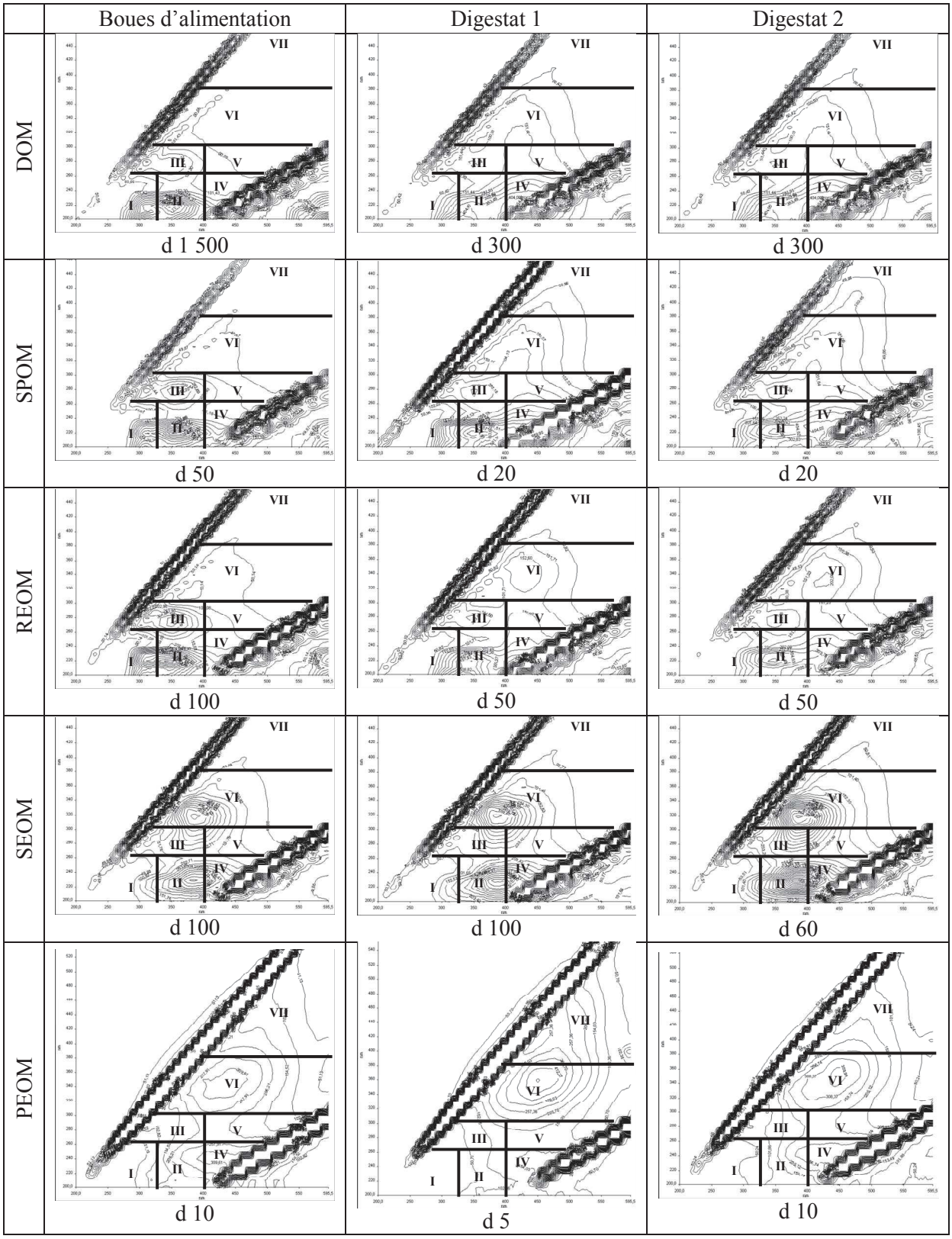



**Figure 124 : spectres de fluorescence des fractions de la boue d'alimentation et des digestats**

## 2. Devenir de la matière organique lors du compostage des boues digérées

Les boues digérées du réacteur de 6 L sont centrifugées à 18 600 g et 4°C pendant 30 min (sont mélangées les boues restant dans le réacteur et celles issues des trois derniers temps de séjour). La phase particulaire ainsi obtenue est compostée avec les mêmes co-substrats que lors du compostage des boues secondaires non digérées.

La composition du mélange est donnée à la Figure 125.

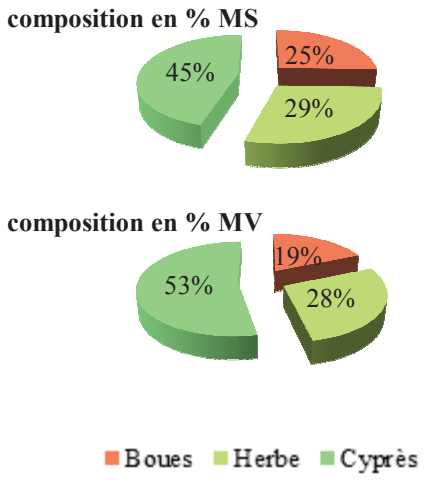
| | |
|---|---|
| *Herbes (43 %) = 209 ± 4 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 162 ± 3 gMV.kgMB$^{-1}$* |   |
| *Cyprès (19 %) = 675 ± 7 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 642 ± 8 gMV.kgMB$^{-1}$* | |
| *Boues digérées (41 %) = 174 ± 9 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 104 ± 3 gMV.kgMB$^{-1}$* | |
| *Mélange initial = 235 ± 30 gMS.kgMB$^{-1}$ ; 182 ± 31 gMV.kgMB$^{-1}$* | |

**Figure 125 : composition du mélange initial du compost de boues digérées (les % entre parenthèse donnent les % en masse de matière brute du mélange initial)**

La répartition en matière sèche est globalement la même que pour le mélange initial du compost de boues secondaires non digérées. Toutefois la répartition de la matière organique est légèrement différente car la boue digérée à une teneur en MV différente de la boue non digérée (ce qui augmente la proportion de la matière organique issue des déchets verts).

Le débit d'air entrant est de 196 ± 2 mL.min$^{-1}$ pour C1 et 194 ± 3 mL.min$^{-1}$ pour C2 au début du compostage (Figure 126). Le débit d'air imposé ensuite est de 116 ± 10 mL.min$^{-1}$ pour C1 et 112 ± 3 mL.min$^{-1}$ pour C2. Tout comme pour le compostage des boues, le débit d'air n'a pu être mesuré sur le troisième composteur. Toutefois, les débits imposés sont les mêmes que pour les deux autres composteurs, il est alors possible de supposer que le débit d'air est le même pour le troisième composteur.

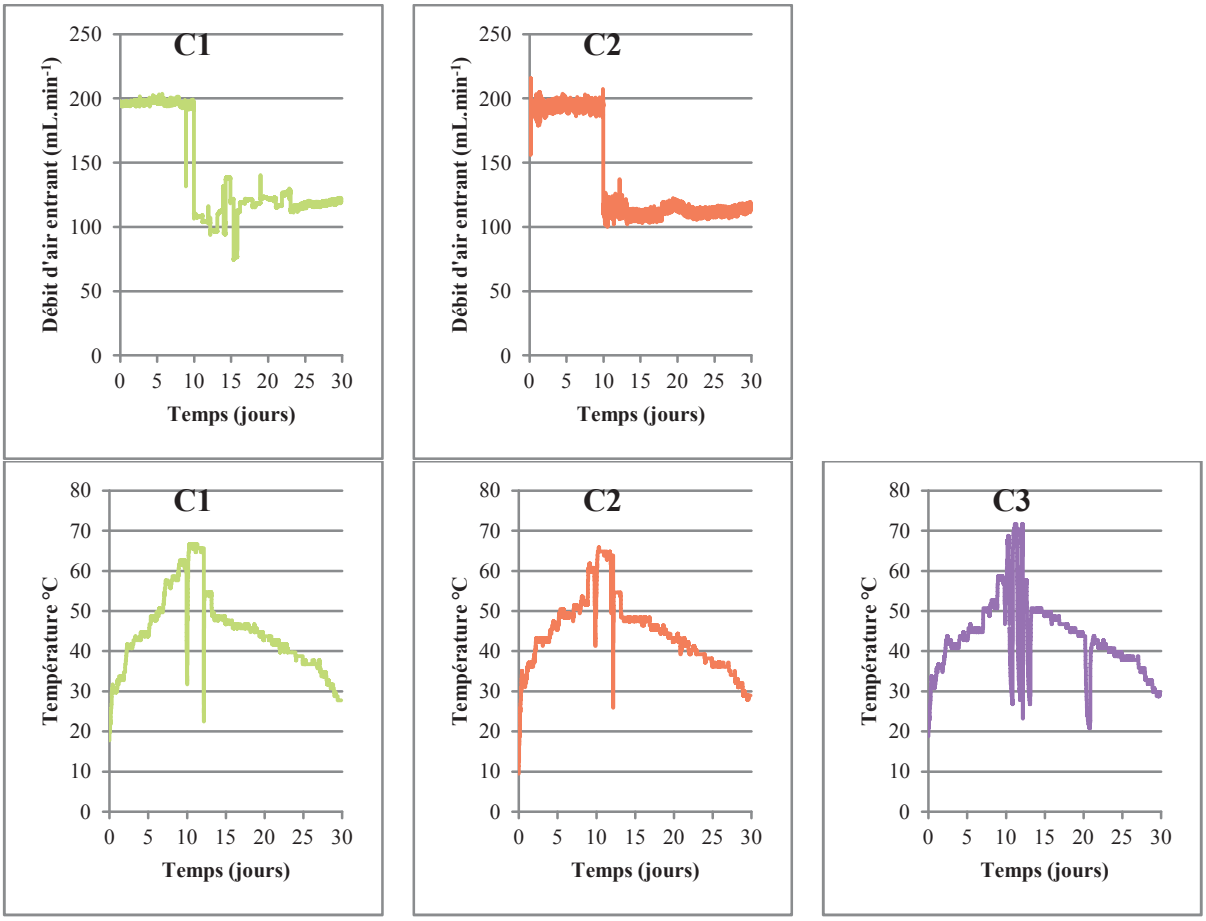



**Figure 126 : débit d'air et température lors du compostage des boues digérées en laboratoire**

Les profils de température sont très différents de ceux des boues. En effet, la boue digérée étant moins dégradable que la boue non digérée, la montée en température a été plus lente et plus difficile : elle a donc duré environ 10 jours (5 jours pour le compost de boue). Cela pourrait être aussi lié au fait que les microorganismes de la boue non digérée peuvent contribuer à la dégradation de la matière organique lors du compostage car des microorganismes aérobies sont apportés alors que les microorganismes anaérobies strictes apportés par les boues digérées sont tués par la présence d'oxygène. La différence de profil de température a déjà été démontrée par Maulini-Duran et al., 2013 : lors du compostage de boues digérées, la montée en température est moins rapide que pour les boues non digérées et la température atteinte est moindre (55°C pour le compost de boues et 35 °C pour le compost de boues digérées). La phase thermophile a été plus courte mais elle correspond bien aux recommandations pour les plate-formes de compostage : 3 jours avec une température supérieure à 60°C. De nombreuses pannes au niveau du thermostat du troisième composteur expliquent la forte variation de température lors de la phase thermophile. La phase de descente de température a duré 17 jours (un peu plus longue que la phase de descente de température du compost de boues qui a duré 15 jours).

Le pourcentage de MS à la fin de chaque étape du compostage est globalement identique pour les trois composteurs (Figure 127). Toutefois, le taux de MS après descente de température pour le compost C1

est légèrement inférieur à celui des deux autres composteurs. L'ajustement de l'humidité est le même pour les trois composteurs après chaque prélèvement, l'humidité initiale avant chaque étape n'aura donc pas d'influence entre les trois composteurs.

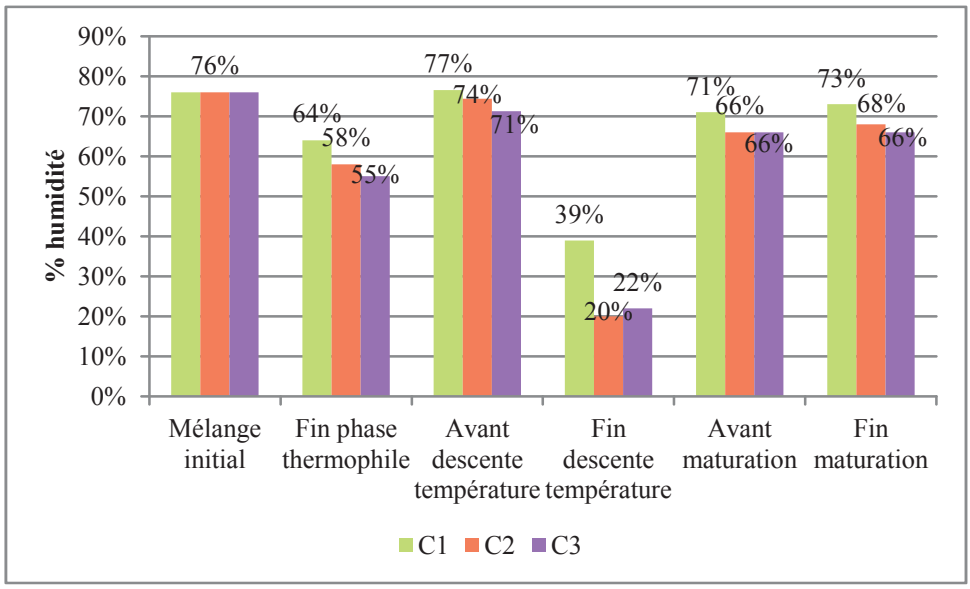



**Figure 127 : évolution de l'humidité au cours du compostage des boues digérées**

Les pertes en MS et en MV sont calculées à chaque étape du compostage pour les trois composteurs (Figure 128). Les pertes en matière organique sont cohérentes avec les pertes en matière organique au cours du compostage en laboratoire de Francou, 2003; Lashermes et al., 2012 : Francou, 2003 trouve des pertes en matière organique de 40 à 60 % environ lors du compostage dans des pilotes de 170 L d'un mélange de déchets verts + biodéchets + papiers et Lashermes et al., 2012 trouvent des pertes de matière organique de l'ordre de 46 % lors du compostage d'un mélange de boues non digérées et de déchets verts dans les mêmes pilotes que ceux utilisés dans cette étude.

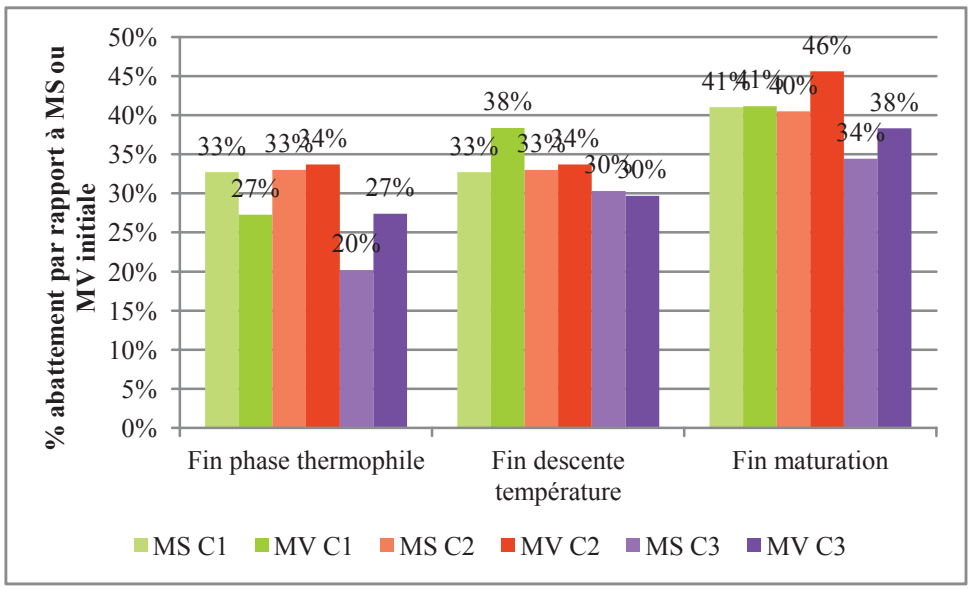



**Figure 128 : pertes en MS et MV à chaque étape du compostage des boues digérées**

Les composteurs C1 et C2 ont le même taux d'abattement des MS lors de la phase thermophile. Le taux de dégradation de la matière sèche dans le composteur C3 est plus faible, ce qui peut s'expliquer par les fortes variations de température lors de la phase thermophile qui ont perturbé le fonctionnement des microorganismes. La perte en MV pour le compost C1 est inférieure à la perte de MS, il s'agit peut-être d'une erreur lors de la mesure : en effet, les pertes de MV sont en générale supérieures aux pertes en MS car c'est la matière organique qui est dégradée lors du compostage.

Après la phase de descente de température, les taux d'élimination de MS et MV sont équivalents pour les trois composteurs : la matière organique non dégradée lors de la phase thermophile du compostage C3 est dégradée pendant la phase de descente de température : les phases thermophile et de descente de température permettent de dégrader toutes les matières organiques facilement dégradables. Les taux de dégradation de la matière sèche des composteurs C1 et C2 n'évoluent pas après la descente de température : les matières facilement dégradables ont déjà été dégradées lors de la phase thermophile.

La phase de maturation permet de dégrader encore un peu de matière organique, toutefois, le composteur C3 semble moins dégrader la matière organique lors de la maturation.

Les différences de dégradation entre les composteurs peuvent, comme pour le compostage des boues, s'expliquer par les teneurs en eau à la fin de chaque étape. En effet, lors de la phase thermophile, le compost C3 est le moins humide et c'est celui qui dégrade le moins.

Les trois composteurs sont globalement répétables (même si le composteur C3 dégrade un peu moins la matière organique mais les tendances restent semblables).

Le fractionnement a été réalisé sur le digestat et le mélange initial ; les résultats du fractionnement de l'herbe et du cyprès ont été repris puisque les mêmes matrices sont utilisées comme co-substrats (Figure 129).

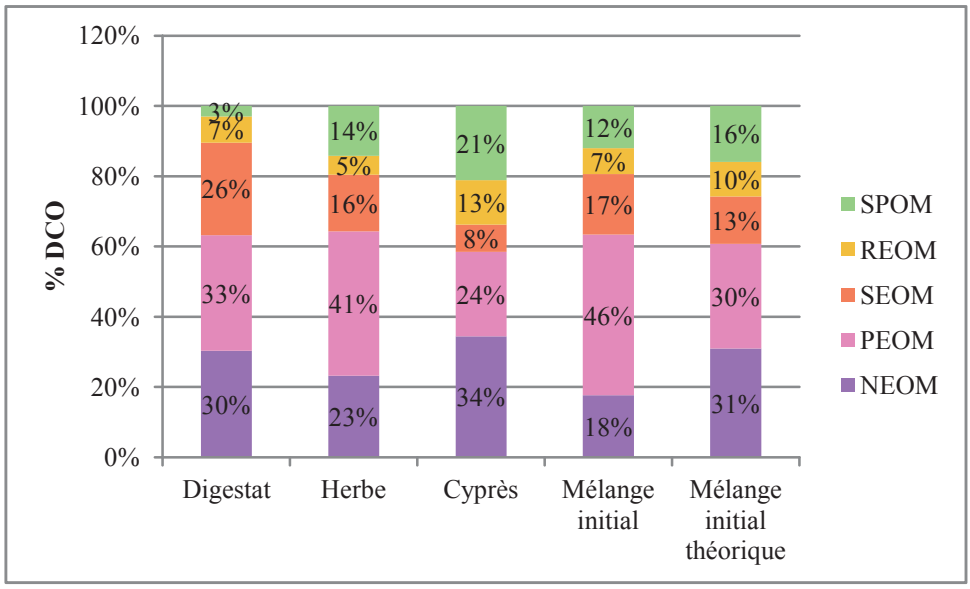



**Figure 129 : répartition de la DCO dans les co-substrats, la boue digérée et le mélange initial (réel et théorique)**

Le fractionnement du digestat montre que les fractions SPOM et REOM sont peu importantes comparées à la présence des fractions SEOM, PEOM et NEOM (10 % contre 90 % de la DCO). En effet, les fractions les plus accessibles ont été les plus dégradées lors de la digestion anaérobie. Le digestat apporte donc une matière organique moins accessible et plus complexe, ce qui peut expliquer la montée en température plus lente lors du compostage des boues digérées.

Les fractions SPOM, REOM et SEOM du mélange initial théorique sont proches des valeurs réelles, elles-mêmes proches de celles de l'herbe. La différence provient des compartiments PEOM et NEOM. Cela est probablement dû à l'hétérogénéité des matrices végétales (un prélèvement est effectué dans un grand volume de déchets verts ou de mélange initial pour faire les analyses).

L'indice de complexité de chaque fraction extraite augmente avec l'accessibilité chimique comme pour le mélange initial du compost de boues non digérées (Figure 130). De même que pour le compost de boues non digérées, les indices théoriques sont équivalents aux indices réels même si l'indice de la fraction PEOM est sous-évalué.

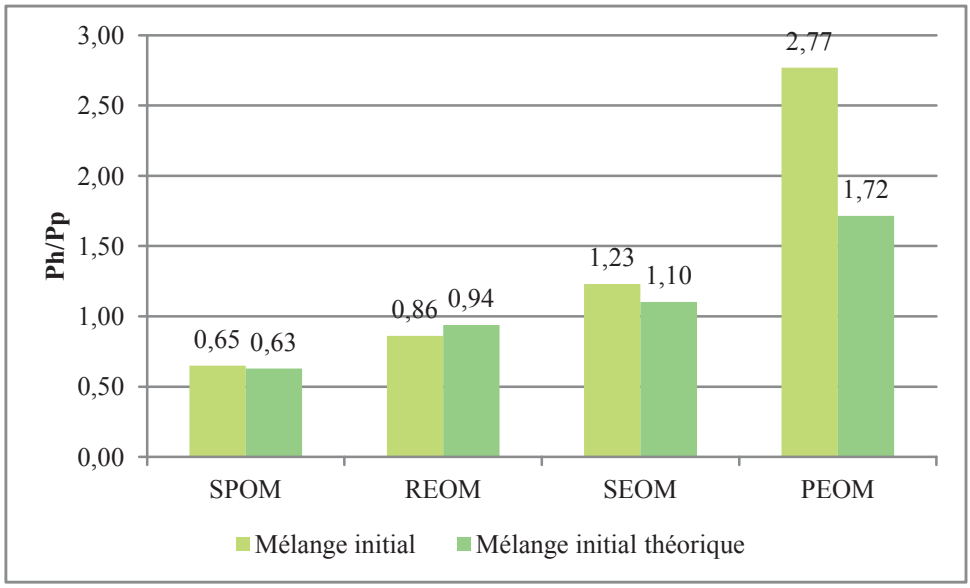



**Figure 130 : indices de complexité mesurés et théoriques du mélange initial du compost de boues digérées en laboratoire**

L'indice de complexité montre que la fraction SPOM est plus complexe dans le mélange initial du compost de digestat que dans le mélange initial du compost de boues. En effet, la boue digérée apporte une fraction SPOM plus complexe que celle des boues non digérées (Ph/Pp pour la fraction SPOM est de 0,75 pour les boues digérées et 0,37 pour les boues non digérées). En outre, la fraction de matière organique apportée par les déchets verts est plus importante or l'indice de complexité de la fraction SPOM pour l'herbe et pour le cyprès est de 0,60.

L'évolution de la matière organique au cours du compostage des boues non digérées a été suivie grâce au fractionnement de cette matière organique à chaque étape du compostage.

La répartition de la DCO des composts finaux C1 et C2 est comparée à la répartition de la DCO du mélange initial (Figure 131).

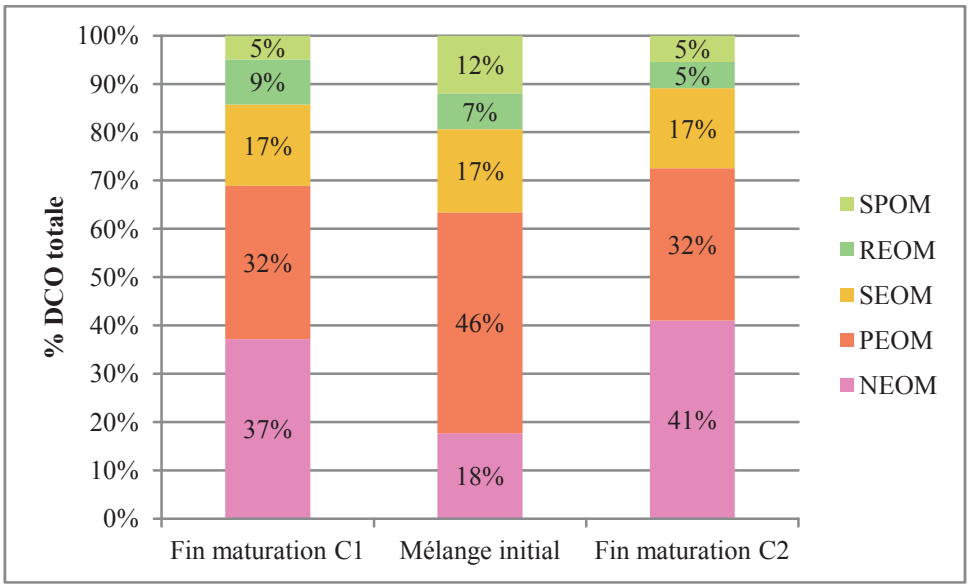



**Figure 131 : répartition de la DCO dans les fractions matière des composts matures C1 et C2 et dans le mélange initial lors du compostage des boues digérées en laboratoire**

Les composts finaux sont équivalents en termes de répartition de la DCO. Toutefois, contrairement au compost de boues, la répartition de la DCO dans le mélange initial est différente de celle des composts matures. En effet, bien que les fractions REOM et SEOM soient de taille similaire entre le mélange initial et le compost, la fraction SPOM est plus élevée dans le mélange initial (elle semble donc dégradée lors du compostage), la fraction PEOM est beaucoup plus élevée pour le mélange initial (dégradation lors du compostage) et la fraction NEOM double en taille lors du compostage (dégradation des composés facilement accessibles et dégradables d'où une proportion de NEOM qui augmente).

La répartition de la DCO est rapportée à la DCO du mélange initial pour tenir compte de la dégradation de la DCO (Figure 132). Le protocole de fractionnement permet d'extraire et de caractériser 60 à 80 % de la DCO.

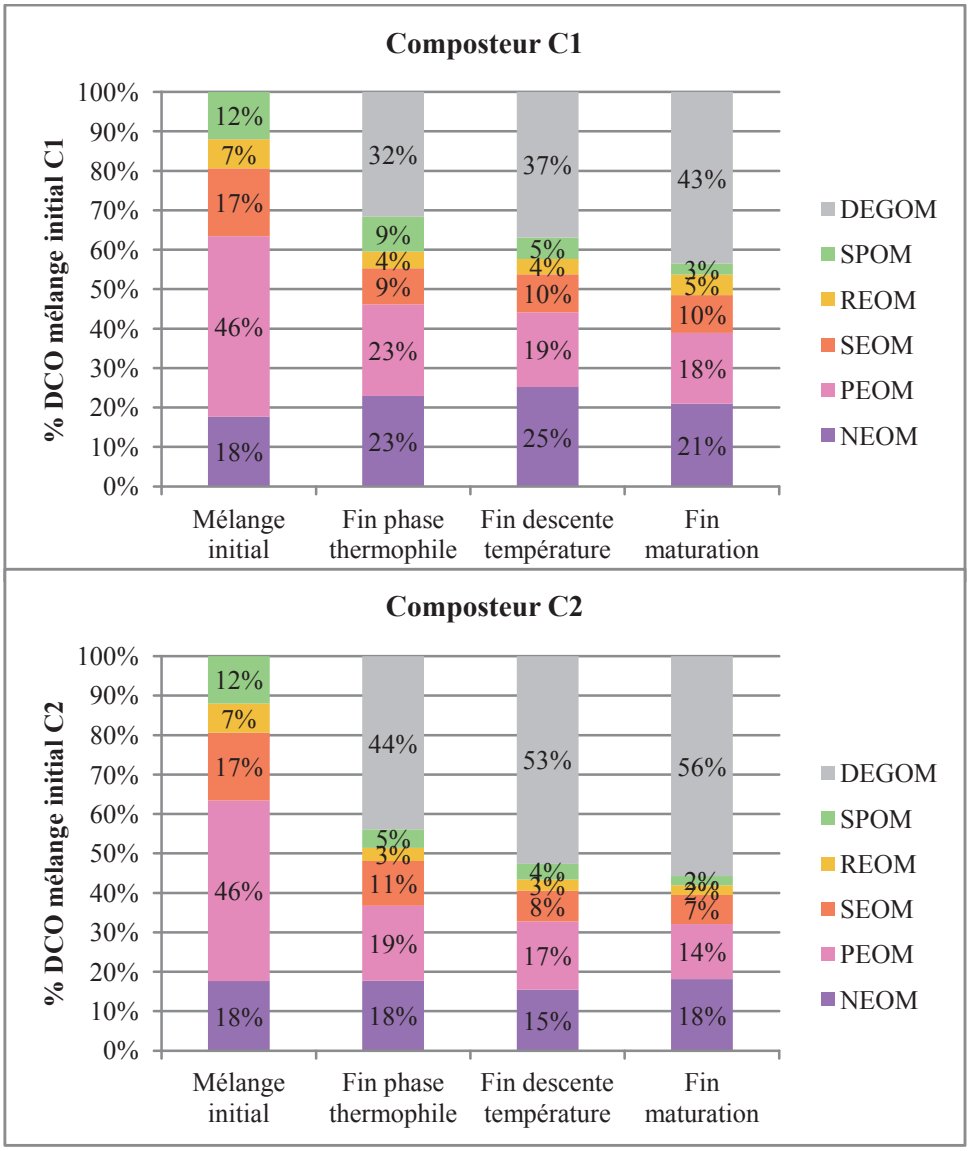



**Figure 132 : évolution des fractions matière lors du compostage des boues digérées**

Lors du compostage C1, durant la phase thermophile, 32 % de la DCO est dégradée. Toutes les fractions de matière organique sont dégradées sauf la fraction NEOM qui augmente légèrement. Le taux de dégradation de la fraction PEOM est plus élevé que celui des autres fractions. Lors de la descente de température, les fractions n'évoluent presque pas ; seule une partie des fractions SPOM et PEOM est dégradée. Enfin, lors de la maturation, les fractions extraites évoluent très peu, seule la matière organique non extractible (NEOM) diminue légèrement.

Globalement lors du compostage C1, les fractions sont toutes dégradées lors de la phase thermophile, ensuite la dégradation continue faiblement avec surtout une attaque au niveau de la fraction PEOM.

Lors du compostage C2, durant la phase thermophile, 44 % de la DCO est dégradée. Comme pour le compostage C1, toutes les fractions sont dégradées et particulièrement la fraction PEOM. Lors de la phase de descente de température, les fractions SEOM et PEOM sont dégradées. Lors de la maturation, la dégradation de ces fractions continue.

Entre les deux composteurs, les différences sont faibles, et globalement, la même tendance est retrouvée : dégradation de toutes les fractions organiques et faible évolution de la fraction NEOM. La similarité en termes d'évolution de la DCO confirme les similarités en termes d'évolution des matières sèches et matières volatiles.

Ici, la biodégradation de la matière organique diffère de celle lors de la digestion anaérobie. En effet, lors de la digestion anaérobie des boues, lorsque l'accessibilité de la fraction diminue, la complexité augmente et le taux de dégradation diminue. Or ici, bien que la complexité augmente avec la diminution de l'accessibilité, le taux de dégradation ne diminue pas avec la décroissance de l'accessibilité. Par exemple, la fraction PEOM peu accessible est la fraction la plus dégradée. La question peut se poser de savoir si le protocole de fractionnement permet bien ici d'estimer l'accessibilité biologique lors du compostage.

Lors de la digestion anaérobie, le pourcentage de DCO des fractions les plus accessibles (DOM, SPOM, REOM, SEOM) est de 61 % et le pourcentage de DCO des fractions difficilement accessibles est de 39 %. Les fractions très accessibles sont fortement dégradées lors de la digestion. Or, lors du compostage, les fractions accessibles initiales (SPOM, REOM, SEOM) ne représentent que 36 % de la DCO alors que les fractions difficilement accessibles représentent 64 % de la DCO. Lors de la montée en température et la phase thermophile, la température élevée permet l'hydrolyse des composés et il est possible que les compartiments facilement accessibles soient dégradés mais aussi rechargés par des composés complexes issus de l'hydrolyse de la matière organique. Le fractionnement permet bien de déterminer l'accessibilité biologique lors d'un procédé biologique mais la biodégradation des fractions dépend non seulement de leur accessibilité mais aussi de la taille des fractions, de la qualité de la matière organique de chaque fraction et des paramètres procédés.

Malgré tout, le fractionnement de la matière organique permet de bien voir l'évolution de la matière organique au cours du compostage. Les résultats obtenus dans cette étude sont comparables à ceux obtenus par Lashermes et al., 2012. En effet, en reprenant l'évolution de la matière organique lors du compostage de boues mélangées avec des déchets verts, les mêmes types d'évolution sont constatés (bien que le fractionnement ait été effectué selon le protocole Van Soest et que les résultats soient exprimés en pourcentage de matière organique). L'évolution de la matière organique est comparée pour les moyennes de réplicats : n = 2 pour le compostage effectué pour cette étude, n = 6 pour le compostage repris dans la thèse de Lashermes (2010).

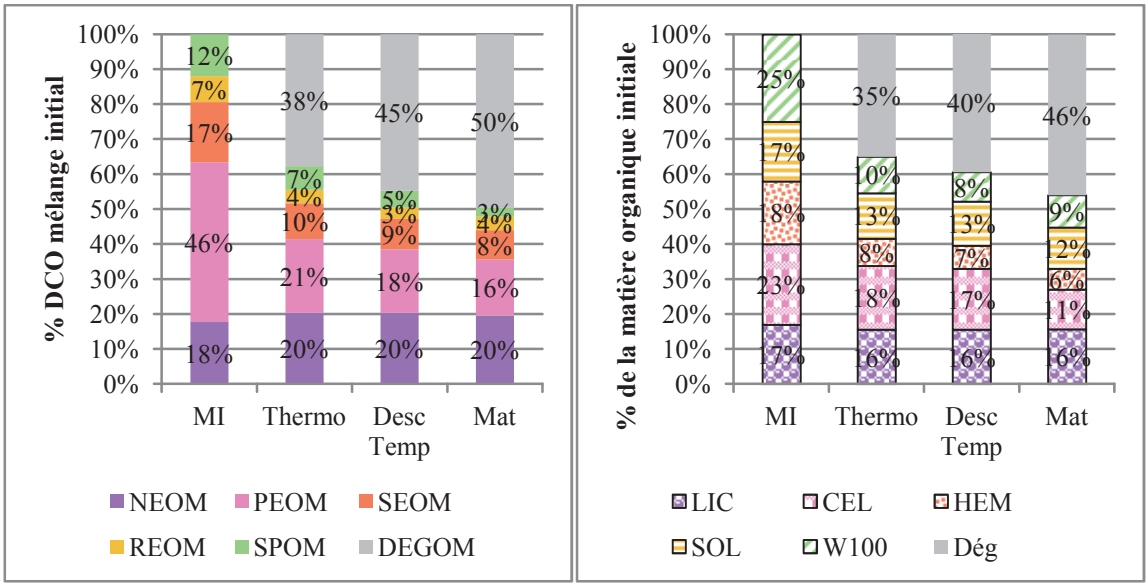



**Figure 133 : comparaison de l'évolution de la matière organique lors du compostage de boues**

Tout d'abord, il faut noter que la matière organique est fortement dégradée dans les deux cas lors de la phase thermophile puis lors des phases de descente de température et de maturation, les pourcentages de dégradation restent faibles. Les fractions SPOM, REOM et SEOM sont dégradées lors de la phase thermophile puis évoluent peu ; de même que les fractions W100 et SOL sont fortement dégradées lors de la phase thermophile puis n'évoluent presque plus. La fraction PEOM est fortement dégradée lors de la phase thermophile puis faiblement dégradée par la suite. Les fractions HEM et CEL sont aussi fortement dégradées lors de la phase thermophile puis faiblement dégradées pas la suite. La fraction lignine (LIC) n'évolue pas lors du compostage alors que la fraction NEOM augmente au cours du compostage. Ainsi, les composés non extraits dans cette étude doivent correspondre à de la lignine mais aussi à des composés complexes formés pendant le compostage et non extraits (accessibilité moindre)

Les compostages semblent donc identiques en termes d'évolution de la matière organique : le procédé de compostage utilisé conduit donc aux mêmes processus de dégradation de la matière organique. En effet, les mêmes processus ont lieu pour le compostage (dans les mêmes conditions) de deux mélanges différents : un composé de boues anaérobies avec de l'herbe et du cyprès et un autre composé de boues aérobies avec un mélange de déchets verts complètement différents.

Si le protocole Van Soest permet de bien décrire l'évolution de la matière organique lors du compostage tout comme le nouveau protocole défini au chapitre précédent, il ne permet pas de caractériser la matière organique extraite et d'estimer sa complexité. En effet, les étapes d'extractions de la matière se font à haute température (100°C) lors du fractionnement Van Soest (excepté l'extraction de la fraction CEL) et peuvent dénaturer une partie de la matière organique extraites. Une caractérisation par fluorescence 3D a été effectuée dans notre expérience sur les extraits du fractionnement à chaque étape du compostage (Figure 134).

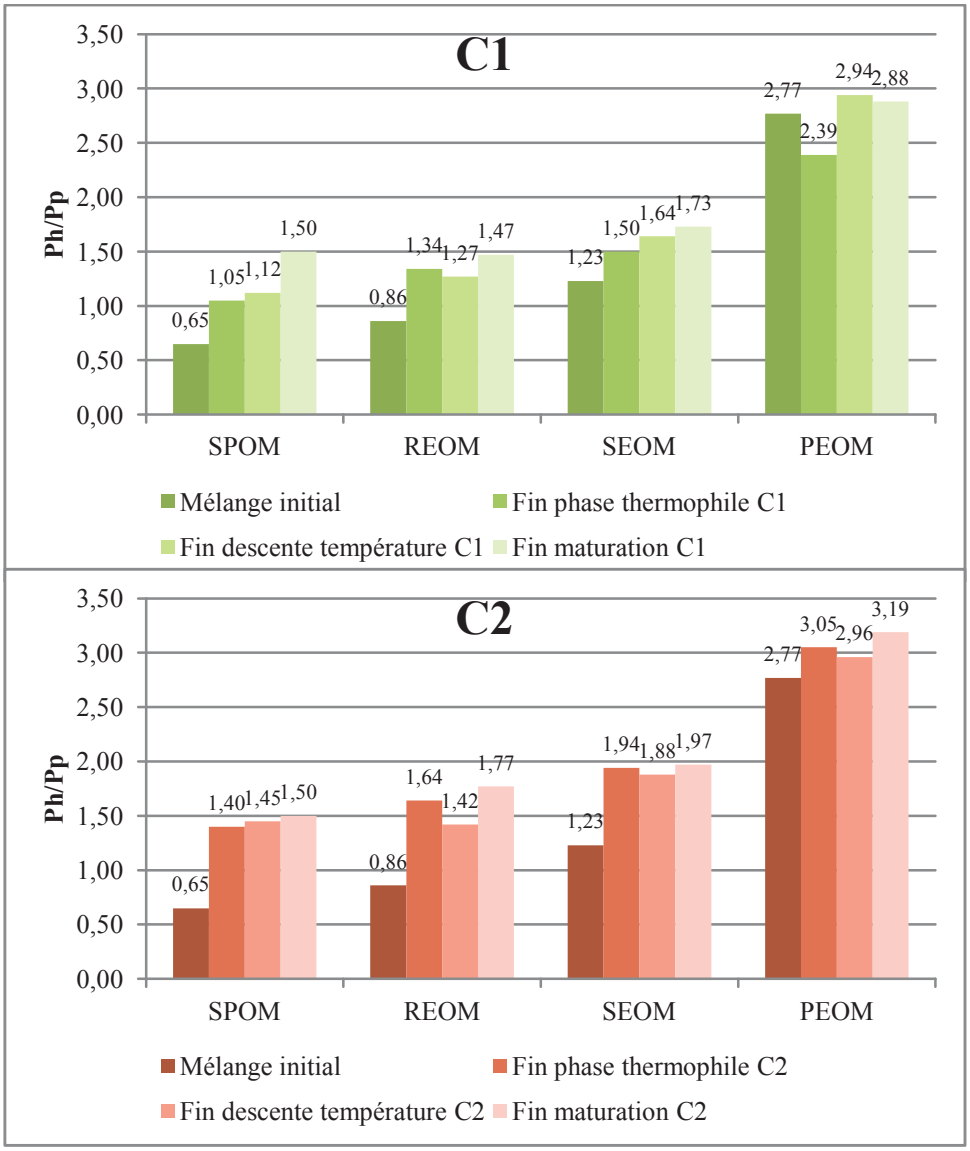



**Figure 134 : indice de complexité des fractions à chaque étape du compostage pour les composteurs C1 et C2**

Lors du compostage des boues digérées mélangées aux déchets verts (herbe et cyprès), il y a augmentation de la complexité de la matière organique. En effet, pour les fractions SPOM, REOM et SEOM, l'indice de complexité augmente à chaque étape du compostage. De la même façon qu'au cours de la digestion on observe une augmentation de la complexité des fractions au cours du compostage. Toutefois, pour la fraction PEOM, l'indice de complexité varie très peu. En effet, le compartiment PEOM provient majoritairement des déchets verts et donc correspond à une fraction de la lignocellulose : les composés ligneux, non dégradables sont détectés par fluorescence, alors que les sucres sont dégradés et n'apparaissent pas sur les spectres de fluorescence.

Si la complexité de la fraction PEOM est identique entre les deux composteurs, il apparaît des différences sur les autres fractions. En effet, l'indice de complexité final de la fraction SPOM est le même mais la complexité augmente plus vite pour le composteur C2 (très peu d'évolution de la

complexité après la phase thermophile contrairement au composteur C1). De plus, lors du compostage n°2, les indices de complexité sont plus élevés que pour le composteur C1.

Même si la DCO évolue de manière semblable entre les composteurs, la complexité de la matière peut être différente. Cela peut être dû à l'hétérogénéité du mélange initial ensuite séparé en plusieurs aliquots pour les analyses et pour servir de mélange initial pour chaque composteur ou à une sélection de microorganismes différente entre les deux composteurs.

Pour comparer les deux compostages plus précisément, les spectres de fluorescence 3D sont étudiés (Figure 135 et Figure 136).

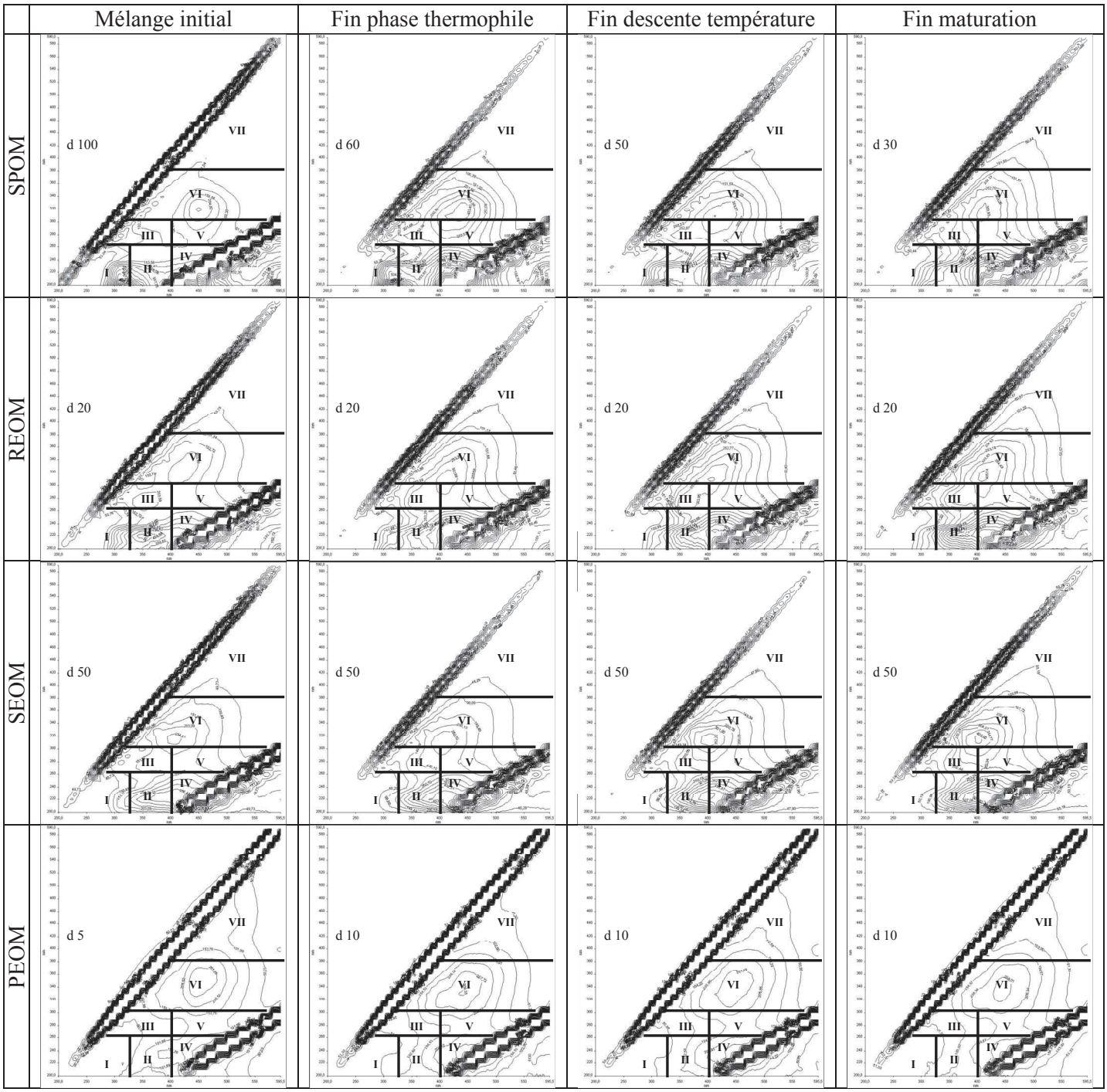



**Figure 135 : spectres de fluorescence des fractions à chaque étape du compostage C1**

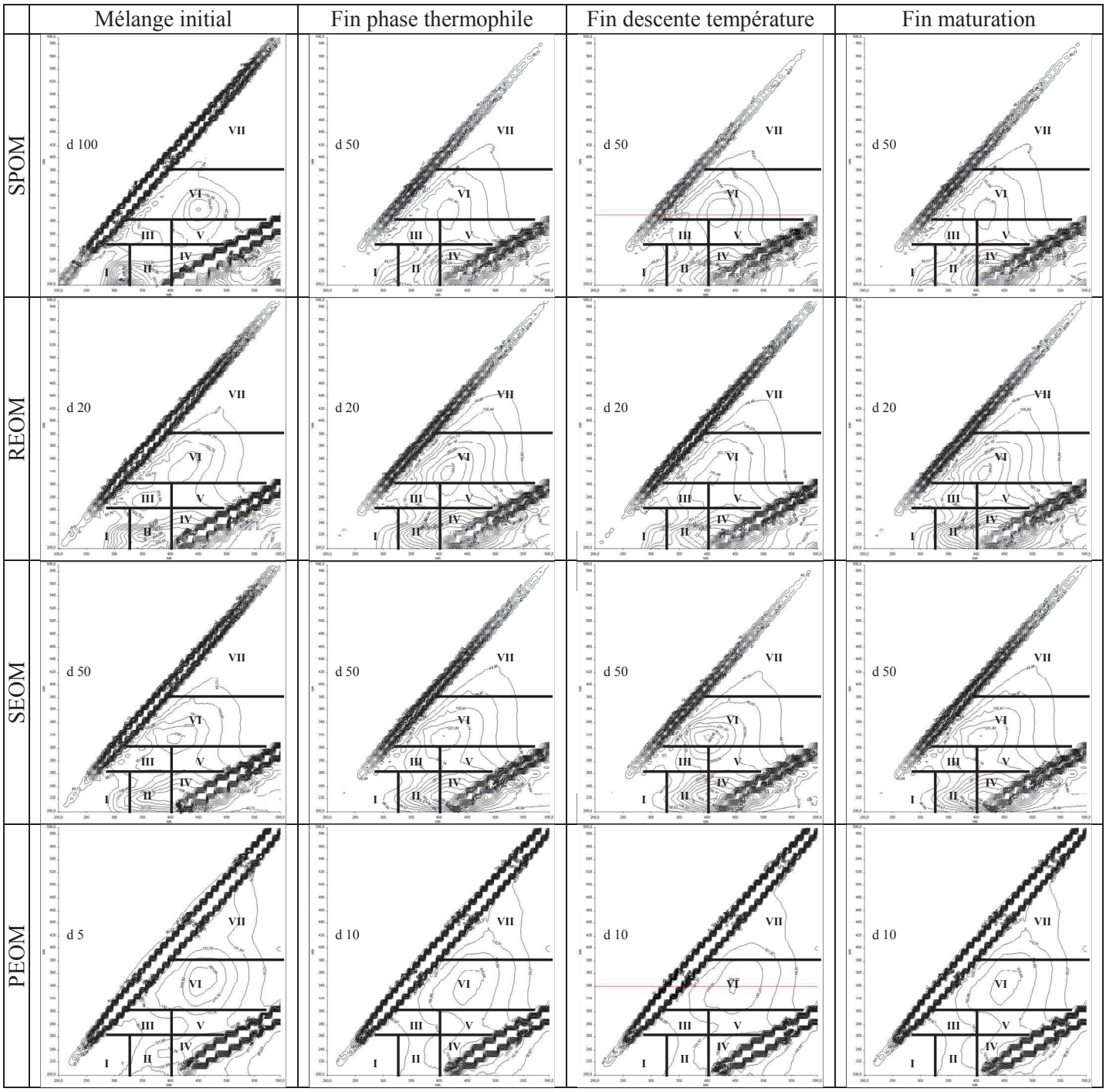



**Figure 136 : spectres de fluorescence des fractions à chaque étape du compostage C2**

Les évolutions des fractions en termes de fluorescence 3D sont semblables pour les deux composteurs.

Lors du compostage pour C1 et C2, la fraction PEOM est équivalente en termes de taille et de fluorescence 3D. En effet, après la phase thermophile, le pourcentage de DCO de la fraction PEOM est d'environ 20 %, l'indice de complexité varie peu (les écarts entre les indices sont considérés faibles par rapport aux indices des autres fractions en raison des erreurs potentiellement plus importantes dans le calcul de l'indice pour cette fraction) et les spectres sont similaires.

La fraction SPOM du mélange initial montre deux massifs de fluorescence majoritaires : un premier au niveau de la zone I et un deuxième au niveau au niveau de la zone VI. Au cours du compostage, le massif de la zone I tend à disparaître : dégradation des composés type protéines. Un massif apparaît en même temps au niveau de la zone IV : production de composés type acides fulviques qui complexifient la matière organique. Enfin, le massif présent dans la zone VI reste dans cette zone mais se déplace vers la gauche du spectre : simplification de la matière organique (même constat que pour le compost de boues).

La complexification des fractions REOM et SEOM au cours du compostage correspond à une apparition d'un massif dans la zone IV : humification de la matière organique au cours du compostage ; les massifs initiaux majoritaires étant présents dans les zones II et VI pour le mélange initial.

La fluorescence 3D permet donc de mettre en évidence l'humification de la matière organique lors du compostage. Les massifs en zone VI s'intensifient au cours du compostage montrant aussi l'humification de la matière organique par production de composés plus complexes.

Ainsi lors du compostage d'un mélange de boues digérées avec des déchets verts en conditions contrôlées en laboratoire, une forte dégradation de la matière organique est observée lors de la phase thermophile. Ce phénomène est visible pour les fractions SPOM, REOM et SEOM où les zones correspondant à des composés type protéique diminuent fortement dès la fin de la phase thermophile. L'humification qui suit ensuite est mise en évidence par l'apparition progressive de la zone IV et l'intensification de la fluorescence au niveau de la zone VI : la fluorescence 3D permet donc de mettre en évidence des phénomènes non visibles en étudiant seulement l'évolution de la répartition des fractions organiques.

### 3. Devenir des HAP et NP lors de la digestion anaérobie des boues

La quantité de HAP et de NP est mesurée sur les boues d'alimentation ainsi que sur les digestats.

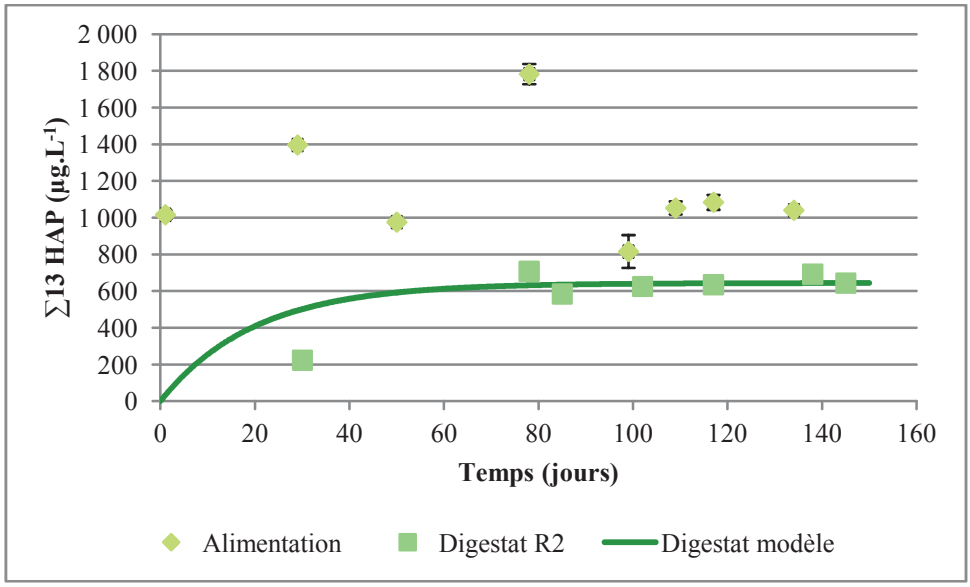



**Figure 137 : concentrations en HAP totaux de la boue d'alimentation et du digestat du réacteur de 2 L au cours du temps, le trait plein représente la concentration théorique dans le digestat en tenant compte du taux de dégradation des HAP et considérant un temps de séjour de 20 jours, un volume de réacteur constant de 2 L et une alimentation constante**

La concentration théorique du digestat est calculée par la formule suivante :

**Équation 16 : calcul de la concentration théorique du digestat au cours du temps**

$$C_t = \frac{\left((V_{réacteur} - V_{soutiré}).C_{t-1} + V_{alimenté}.C_{alimentation}.(1 - \%_{abattement})\right)}{V_{réacteur}}$$

où $C_t$ est la concentration au temps t en µg.L$^{-1}$, $V_{réacteur}$ le volume du réacteur en L, $V_{soutiré}$ le volume de digestat soutiré, $C_{t-1}$ la concentration du digestat au temps t-1 en µg.L$^{-1}$, $V_{alimenté}$ le volume de boue alimenté en L, $C_{alimentation}$ la concentration de l'alimentation en en µg.L$^{-1}$ et $\%_{abattement}$ le pourcentage d'abattement calculé.

Si l'équilibre matière est atteint rapidement, l'équilibre de la concentration en HAP est atteint beaucoup moins rapidement (Figure 137). L'abattement en HAP totaux est calculé sur les trois derniers points soit quand la concentration en HAP atteint un équilibre. L'abattement est de 39 ± 3 %.

**Équation 17 : calcul de l'abattement en micropolluants lors de la digestion anaérobie**

$$\%_{abattement} = \left(1 - \frac{C_{digestat}}{C_{alimentation}}\right).100$$

où $C_{digestat}$ en en µg.L$^{-1}$ est la concentration moyenne déterminée sur les derniers points lorsque la concentration ne varie presque plus et $C_{alimentation}$ en µg.L$^{-1}$ la concentration moyenne de la boue d'alimentation calculée sur les derniers points où la variation est faible.

La courbe théorique est cohérente avec les données expérimentales lorsque l'alimentation et le digestat sont stables en concentration de HAP. L'abattement en HAP est supérieur à l'abattement en matières sèches (27 ± 10 %). Toutefois, considérant l'erreur élevée sur l'abattement des matières sèches (cf. §

B.1.), l'équivalence entre la quantité de HAP dissipée et la quantité de MS dégradée semble être vérifiée (équivalence mise en évidence par Trably et al., 2003).

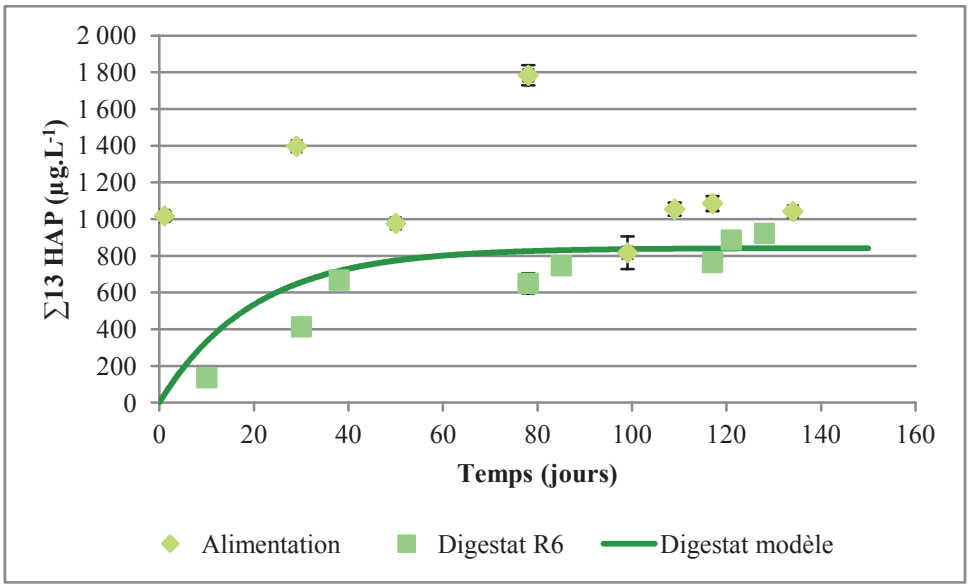



**Figure 138 : concentrations en HAP totaux de la boue d'alimentation et du digestat du réacteur de 6 L au cours du temps, le trait plein représente la concentration théorique dans le digestat en tenant compte du taux de dégradation des HAP et considérant un temps de séjour de 20 jours, un volume de réacteur constant de 6 L et une alimentation constante**

L'abattement en HAP est de 20 ± 7 % dans le réacteur de 6 L (Figure 138) ce qui est inférieur au pourcentage de dégradation des MS. Malgré quelques variations, il semble que le réacteur ait aussi atteint un équilibre en concentration de HAP. Comme pour le réacteur de 2 L l'équilibre est atteint beaucoup moins vite que l'équilibre en MS et DCO.

Les réacteurs sont reproductibles en termes de dégradation de la matière mais pas en termes de dégradation des HAP. Ce phénomène pourrait s'expliquer par les teneurs en AGV des digestats. La teneur moyenne des digestats du réacteur de 2 L est de 0,2 $g.L^{-1}$ et celle des digestats du réacteur de 6 L de 0,1 $g.L^{-1}$. Cela signifie que les AGV sont moins dégradés dans le réacteur de 2 L que dans le réacteur de 6 L. Cette différence de dégradation des AGV est probablement liée à la charge du réacteur de 2 L (environ 2 $gDCO.L^{-1}.j^{-1}$) supérieure à la charge du réacteur de 6 L (environ 1,5 $gDCO.L^{-1}.j^{-1}$). La dégradation des composés hydrophobes tels que les HAP et les NP est améliorée par la présence d'accepteurs d'électrons (Lu et al., 2008; Wiśniowska and Janosz-Rajczyk, 2007). Or, Lu et al., 2008 montrent que la présence de composés type AGV qui ont aussi besoin d'accepteurs d'électrons pour être dégradés mais plus facilement dégradables que les NP entraînent une compétition pour les accepteurs d'électrons. En supposant que l'effet soit le même pour les HAP, la dégradation plus forte des AGV dans le digesteur de 6 L entraîne une diminution de la dégradation des HAP. Ce résultat tend à être confirmé par le fait que la concentration des AGV est double dans le réacteur de 2 L par rapport au réacteur de 6 L et que le taux d'abattement des HAP est deux fois plus élevé dans le réacteur de 2 L que dans le réacteur de 6 L.

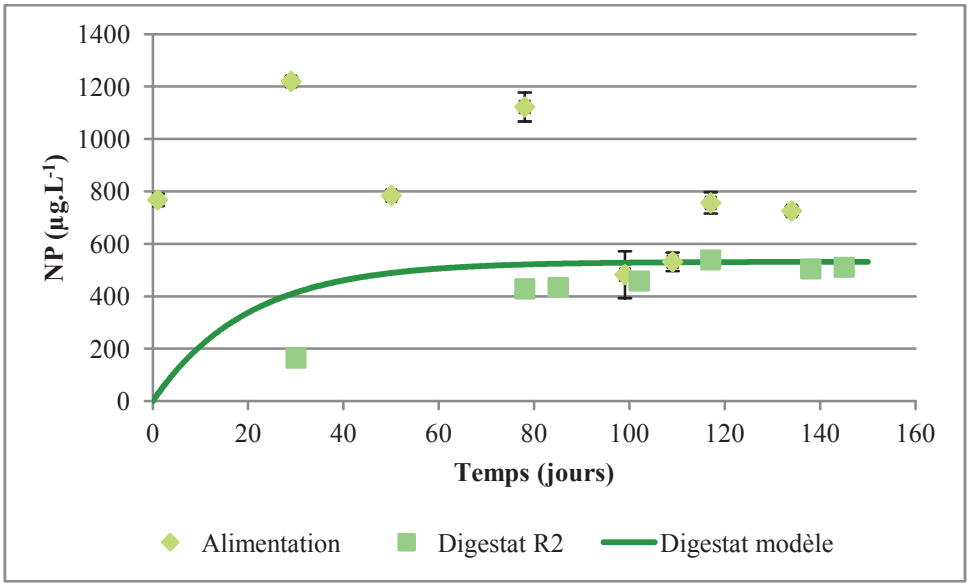



**Figure 139 : concentrations en NP de la boue d'alimentation et du digestat du réacteur de 2 L au cours du temps, le trait plein représente la concentration théorique dans le digestat en tenant compte du taux de dégradation des NP et considérant un temps de séjour de 20 jours, un volume de réacteur constant de 2 L et une alimentation constante**

Le taux de dissipation des NP dans le réacteur de 2 L est de 30 ± 3 % (Figure 139). L'équilibre de la concentration en NP est atteint après l'équilibre en concentration des HAP. Les NP semblent moins dissipables que les HAP ; toutefois, il faut nuancer cette remarque puisque la présence de NPnEO peut augmenter la concentration en NP et donc la dissipation apparente calculée à partir de l'entrée et de la sortie du réacteur est inférieure à l'abattement réel.

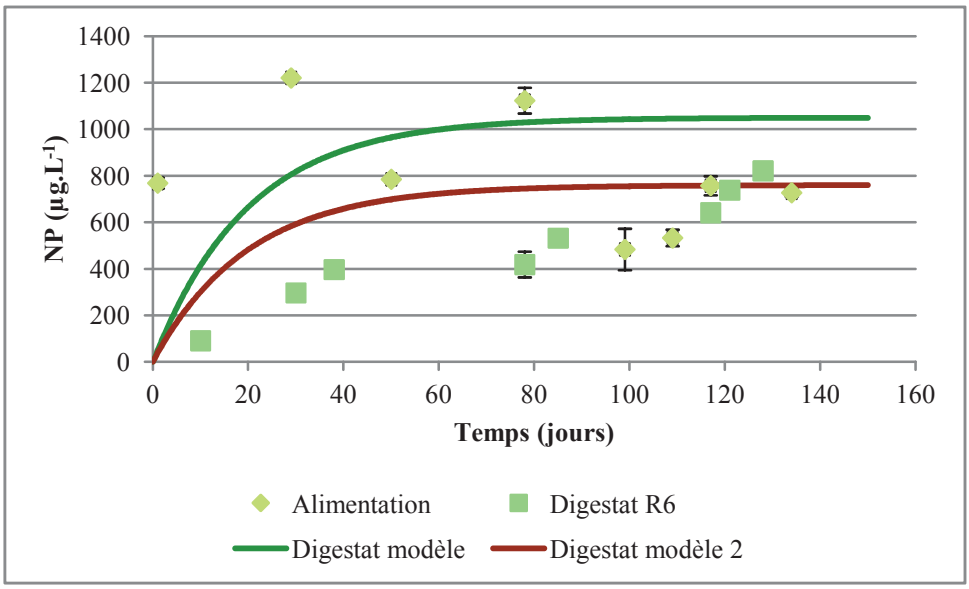



**Figure 140 : concentrations en NP de la boue d'alimentation et du digestat du réacteur de 6 L au cours du temps, le trait plein rouge représente la concentration théorique dans le digestat en tenant compte du taux de dégradation des NP et considérant un temps de séjour de 20 jours, un volume de réacteur constant de 6 L et une alimentation constante, le trait plein vert représente la concentration dans le digestat dans les mêmes conditions s'il n'y a pas de dégradation**

La dégradation des NP ne semblent pas se produire lors de la digestion anaérobie du réacteur de 6 L (Figure 140). Toutefois, la courbe théorique de la concentration du digestat en NP sans abattement

montre une accumulation des NP qui n'a pas lieu dans le réacteur. Une deuxième courbe est tracée (Digestat modèle 2) en tenant compte d'un abattement des NP. L'abattement considéré est de 15 % ainsi, il semble que malgré tout une dissipation des NP ait lieu lors de la digestion anaérobie, comme pour les HAP cette dégradation est plus faible que lors de la digestion anaérobie dans le réacteur de 2 L. Cette faible dégradation pourrait être aussi liée aux NPnEO présents naturellement dans la boue d'alimentation qui en se dégradant augmente la teneur en NP. La concentration en NP1EO et NP2EO des digestats au cours du temps est présentée dans la Figure 141.

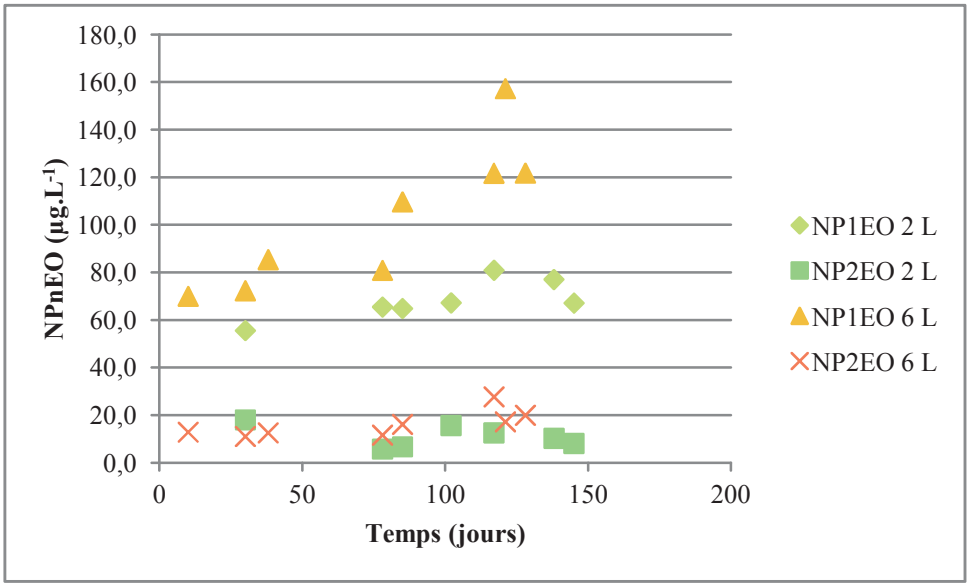



**Figure 141 : évolution de la concentration en NP1EO et NP2EO dans les digestats des réacteurs de 2 L et 6 L au cours de la digestion**

Les teneurs en NP2EO dans les digestats du réacteur de 6 L sont doubles par rapport à celles des digestats du réacteur de 2 L. Les teneurs en NP1EO dans les digestats du réacteur de 6 L sont supérieures à celles du réacteur de 2 L. La forte production des NPnEO lors de la digestion dans le réacteur de 6 L montre une dégradation rapide des NPnEO à plus longue chaîne et donc il est probable que la dégradation des NPnEO amène à une forte production de NP. Ce résultat est cohérent avec l'incubation anaérobie du mélange non dopé (cf. Chapitre VI) où l'abattement réel des NP est bien supérieur à l'abattement calculé en ne tenant compte que des NP initiaux et finaux. La question se pose aussi de savoir si la dissipation moindre des HAP dans le réacteur de 6 L est liée au fait que la dégradation des NPnEO soit beaucoup plus importante dans de réacteur que dans celui de 2 L. Si tel est le cas, cela signifie que les communautés microbiennes responsables de la dissipation des HAP et des NP sont les mêmes.

Le Tableau XXXII récapitule les taux d'abattement de chaque HAP et des NP au cours de la digestion anaérobie des boues.

**Tableau XXXII : taux d'abattement des HAP et NP au cours de la digestion anaérobie des boues en pourcentages**

| Micropolluant | Digesteur 2 L | Digesteur 6 L |
|---|---|---|
| NP | 30 ± 3 | |
| ∑ 13 HAP | 39 ± 3 | 20 ± 7 |
| Flu | 59 ± 17 | 31 ± 19 |
| Phe | 58 ± 9 | 24 ± 14 |
| Ant | 55 ± 8 | 25 ± 13 |
| Flt | 61 ± 5 | 22 ± 14 |
| Pyr | 60 ± 6 | 42 ± 8 |
| BaA | 35 ± 8 | 14 ± 12 |
| Chry | 35 ± 3 | 14 ± 6 |
| BbF | 24 ± 5 | 6 ± 5 |
| BkF | 21 ± 6 | 21 ± 9 |
| BaP | 22 ± 6 | 18 ± 9 |
| DBahA | 20 ± 7 | 12 ± 4 |
| BghiP | 29 ± 9 | 20 ± 11 |
| Ind | 18 ± 12 | 10 ± 6 |

Pour les deux digesteurs, même si les abattements sont différents, une diminution de l'abattement est constatée avec l'augmentation du poids moléculaire.

## 4. Devenir des HAP et NP lors du compostage des boues digérées

### *a) Les hydrocarbures aromatiques polycycliques*

Les HAP sont dosés sur chacun des constituants du mélange initial et sur le mélange initial (Figure 142).

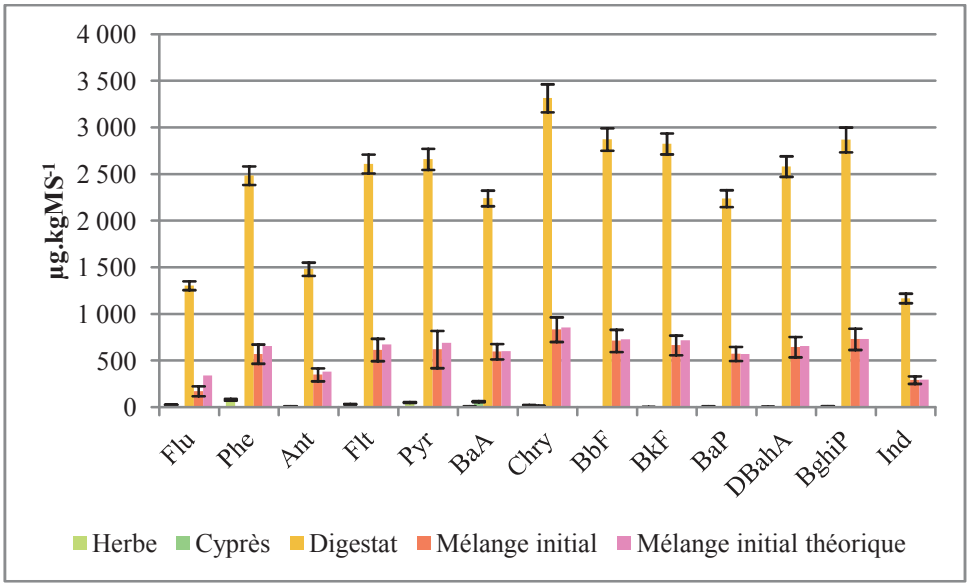



**Figure 142 : concentrations en HAP dans les constituants du mélange initial du compost de digestat et comparaison de la concentration du mélange initial avec la concentration théorique de ce même mélange**

Les HAP du mélange initial sont apportés majoritairement par les boues digérées, en effet, celles-ci sont hautement contaminées par comparaison aux déchets verts. Les concentrations du mélange initial théorique sont proches des concentrations mesurées (excepté pour le fluorène dont la concentration mesurée est plus faible que la concentration théorique) : la somme des 13 HAP est de 7 901 µg.kgMS$^{-1}$ pour le mélange théorique et de 7 386 ± 1 282 µg.kgMS$^{-1}$ pour la valeur mesurée. 93 % de la concentration théorique est retrouvée. La différence étant due à la somme de chaque composé (les erreurs s'accumulent), les HAP apportés par le digestat sont retrouvés (pas de pertes par formation de résidus liés).

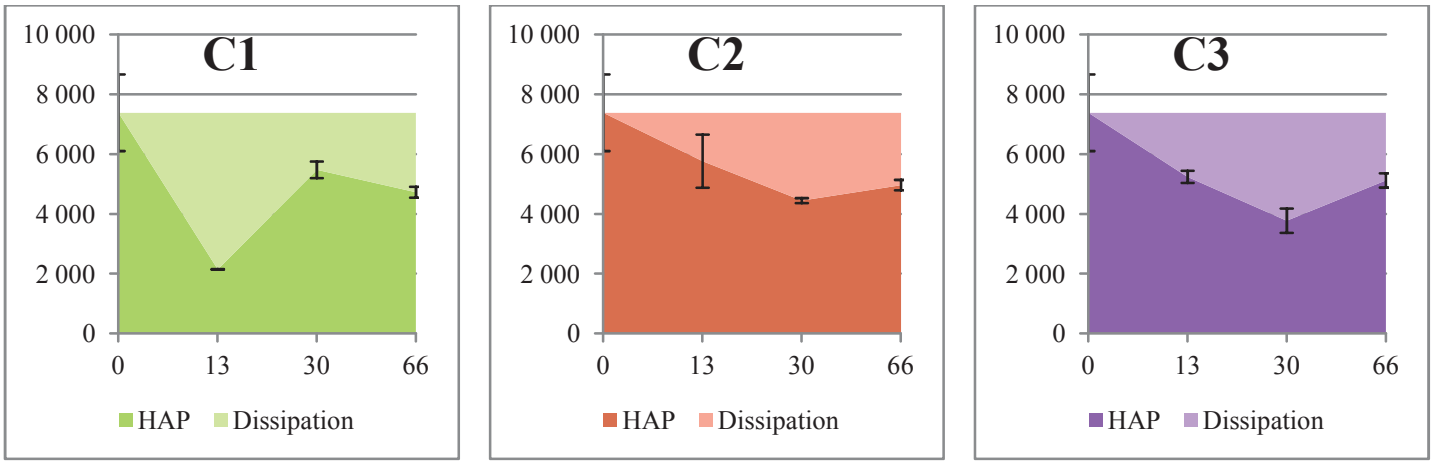



**Figure 143 : évolution de la concentration en HAP lors du compostage des boues secondaires non digérées (abscisse = temps en jours, ordonnée = concentration en HAP en µg.kgMS$_{initiale}$$^{-1}$)**

Lors du compostage C1, la concentration en Flu diminue fortement lors de la phase thermophile puis reste constante lors de la descente de température puis augmente de nouveau lors de la phase de maturation (Figure 143). Pour les autres composés, la concentration diminue durant la phase thermophile puis augmente pendant la descente de température puis évolue très peu voire pas du tout

durant la maturation. Ce comportement ressemble à celui des composts de boues C1 et C2 où des phénomènes de piégeage physicochimique ont eu lieu. Or ici, la dégradation liée à l'activité microbienne a bien eu lieu. Toutefois, lors de la montée en température des composts, il a été nécessaire de monter artificiellement la température pour atteindre 60 – 70°C, il est alors possible que la dégradation se fasse par les microorganismes lors de la montée « naturelle » en température et que lors de la montée « artificielle » en température, l'activité microbienne soit moindre et que donc des phénomènes plus d'ordre physicochimiques (de piégeage par exemple) aient lieu. Pour le compost C2, l'évolution ressemble à celle du compost C3 de boues, ce qui montre que l'activité microbienne a été « intacte » tout au long du compostage : les HAP sont dissipés lors de la phase thermophile puis la concentration n'évolue presque plus au cours du compostage. Lors du compostage C3, la concentration diminue pendant la phase thermophile puis elle reste constante pendant la phase de maturation avant d'augmenter au cours de la maturation. L'Ind a un comportement légèrement différent car sa concentration diminue tout au long du compostage. Les évolutions dans le compost C3 semblent cohérentes avec les taux d'humidité. En effet, lors de la phase thermophile le taux d'humidité restant est le plus faible expliquant une dégradation moindre de la matière organique par rapport aux autres composts. La dissipation des HAP a donc lieu suite à cet abattement de la matière organique mais un piégeage peut avoir lieu comme pour les composts de boues. Lors de la descente de température, les concentrations en HAP évoluent peu voire pas : le taux d'humidité en fin de descente de température est faible ce qui tend à démontrer une faible activité microbienne. Aucun HAP n'est libéré : il semble donc que le piégeage physicochimique qui a éventuellement lieu est favorisé par les températures élevées maintenues lors de la phase thermophile. Enfin, l'activité microbienne reprend lors de la maturation permettant de libérer certains HAP piégés.

#### *b) Les nonylphénols*

Les NP sont dosés sur les constituants du mélange initial et sur le mélange initial. La valeur théorique du mélange initial calculée à partir des différents constituants est comparée à la valeur mesurée : les valeurs sont identiques, l'extraction permet donc de récupérer 100 % des NP (Figure 144). Lors du compostage des boues digérées, la contamination est uniquement apportée par le digestat.

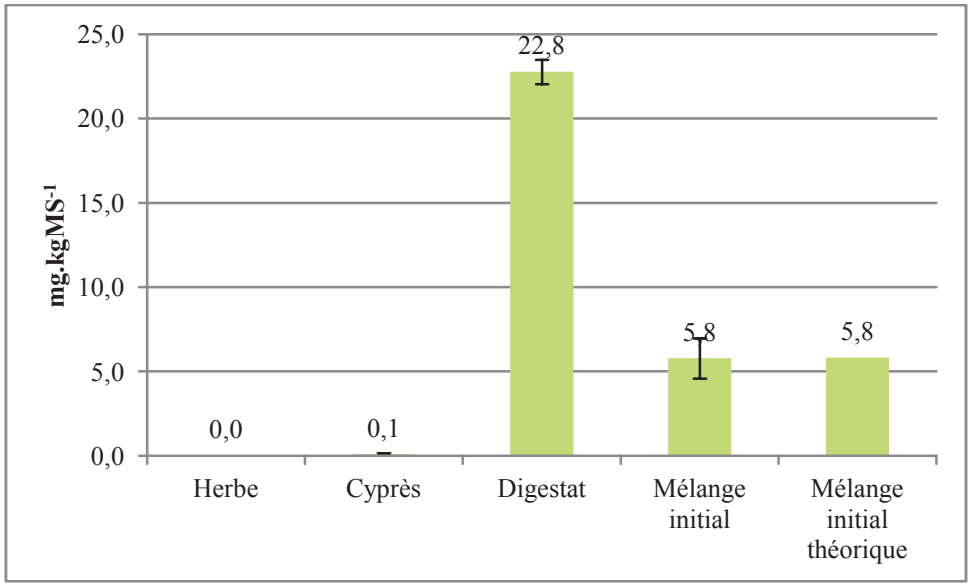



**Figure 144 : concentrations en NP dans les constituants du mélange initial du compost de digestat et comparaison de la concentration du mélange initial avec la concentration théorique de ce même mélange**

La concentration en NP de chaque échantillon prélevé au cours du compostage est rapportée à la matière sèche initiale afin de pouvoir suivre l'évolution de la concentration lors du compostage des boues digérées (Figure 145).

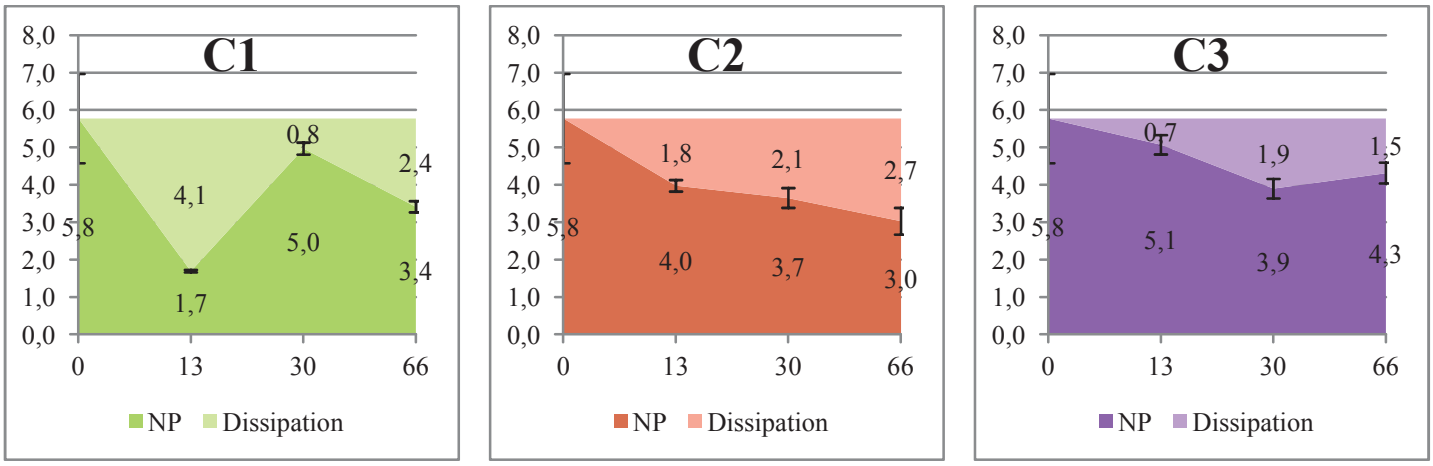



**Figure 145 : évolution de la concentration en NP au cours du compostage des boues digérées (abscisse = temps en jours, ordonnées = concentration des NP en mg.kgMS$_{init}^{-1}$)**

Le comportement des NP est semblable à celui des HAP lors du compostage C1 ; les processus impliqués dans le devenir des NP et de HAP lors de ce compostage semblent identiques. La même constatation est faite pour les deux autres composts.

## C. Localisation des NP au sein des compartiments matière lors de la digestion anaérobie suivie du compostage des boues

La répartition des NP dans les différents compartiments matière au cours de la digestion anaérobie est représentée Figure 146 (seul le réacteur de 6 L a été suivi, puisque c'est lui qui a alimenté les composts).

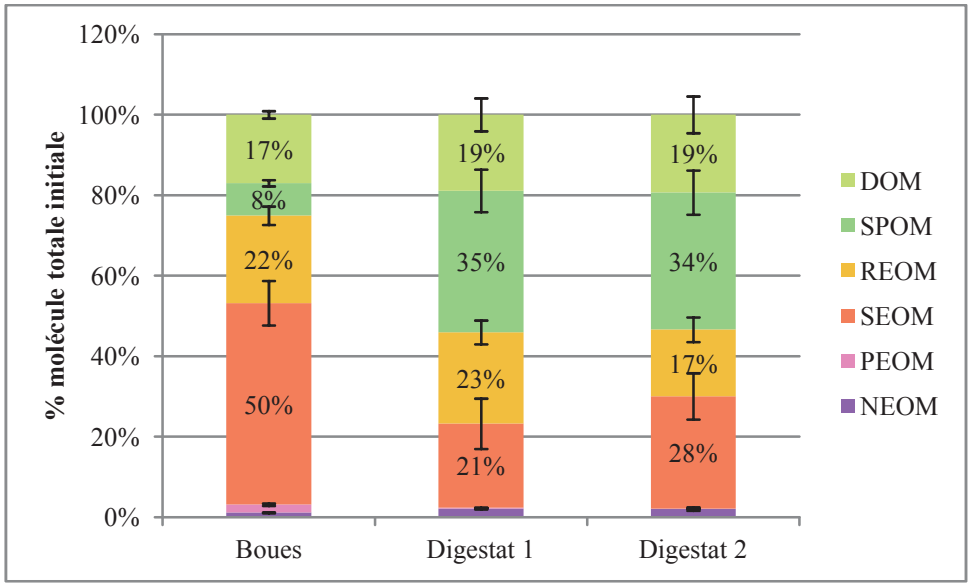



**Figure 146 : répartition des NP dans la boue et les digestats**

Aucun abattement n'est représenté puisque l'abattement apparent est nul. 50 % des NP se situent dans la fraction SEOM de la boue. La fraction présente dans PEOM et NEOM représente seulement 3 % des NP totaux. Les 47 % restant sont dans les fractions les plus accessibles. La répartition des NP est identique pour les deux digestats : l'équilibre matière est atteint mais aussi l'équilibre NP. La fraction DOM est semblable à celle de la boue. Les fractions PEOM et NEOM n'évoluent pas. La fraction SEOM diminue fortement lors de la digestion, REOM évolue peu et SPOM s'enrichit énormément. La lyse de la matière organique permet donc de transférer les NP vers des fractions plus accessibles. Lors des incubations anaérobies (Chapitre IV), une accumulation des NP dans la fraction SEOM a été notée. Or ici ce phénomène n'apparaît pas : en effet, lors des incubations il y a accumulation de la matière organique complexe produite alors qu'ici le réacteur semi-continu permet d'éliminer au fur et à mesure une partie de cette fraction complexe limitant le phénomène d'accumulation.

Lors des analyses de NP dans les co-substrats du compost de boues digérées, il a été vu que les NP sont uniquement apportés par les boues digérées. Ainsi, s'il y a relocalisation des NP lors du mélange, alors la répartition des NP dans le mélange initial sera différente de celle de la phase particulaire des boues sinon les répartitions seront identiques. Sont alors comparées les répartitions de la phase particulaire des boues digérées (moyenne des deux digestats) et du mélange initial (Figure 147).

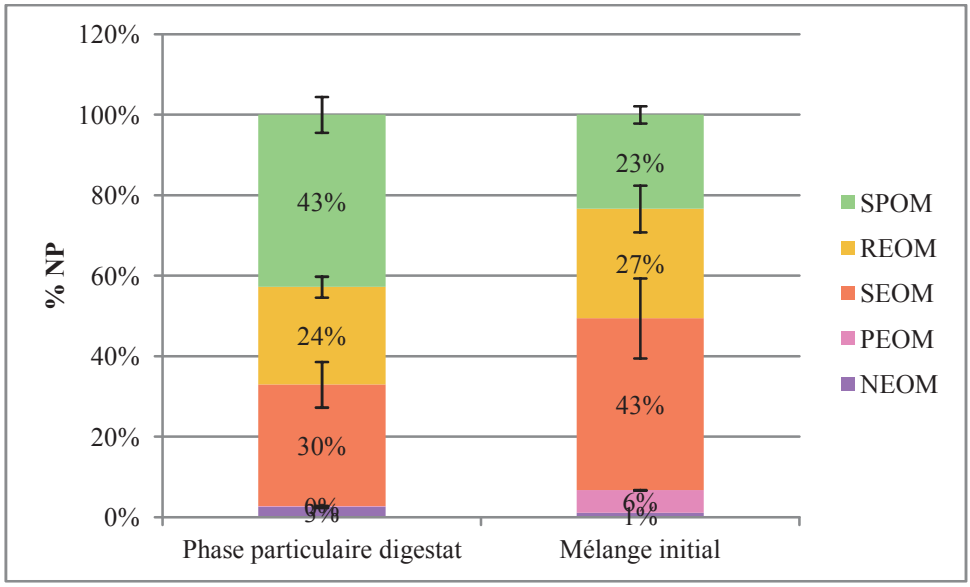



**Figure 147 : comparaison de la répartition des NP dans les digestats et dans le mélange initial du compost de boues digérées**

Un transfert des NP de la fraction SPOM des boues vers la fraction SEOM a lieu lors du mélange. Les NP ont une affinité plus forte pour la fraction SEOM des déchets verts. L'affinité pour la fraction SEOM est donc encore visible ici.

La répartition des NP dans les différents compartiments matière au cours du compostage est représentée Figure 148 et Figure 149. Le pourcentage est exprimé en fonction de la quantité initiale de NP.

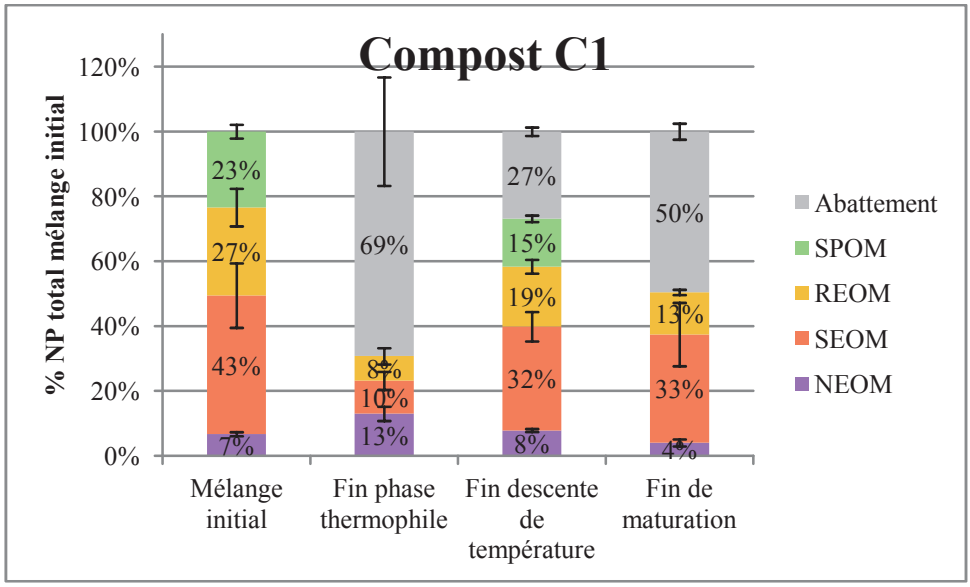



**Figure 148 : répartition des NP dans les différents compartiments matière au cours du compostage des boues digérées en laboratoire, compost C1 (NEOM = NEOM + PEOM)[4]**

Les pourcentages des NP dans chaque fraction du mélange initial augmentent avec %SPOM < %REOM < %SEOM. Cela tend à confirmer l'affinité des NP pour des composés complexes type humique puisque la complexité de chaque compartiment augmente avec la diminution de l'accessibilité. La présence des NP est très faible dans la fraction NEOM. Lors de la phase thermophile, une dissipation de 69 % des NP est constatée. Le pourcentage de la fraction SPOM devient nul et les pourcentages des fractions REOM et SEOM diminuent fortement. Au contraire, une augmentation de la fraction dans NEOM apparaît. Il est donc probable que les NP soient transférés des fractions les plus accessibles vers les fractions les moins accessibles pour former ensuite des résidus liés non quantifiables par le couple ASE/HPLC. Lors de la descente de température, la dissipation n'est plus que de 27 %. Ainsi une partie des résidus liés est remobilisée durant la descente de température. Les 27 % de dissipation englobent les 23 % de la fraction SPOM initiale. Or lors du compostage il y a bien eu une activité microbienne car la matière organique est dégradée : il semble donc que les NP présents dans la fraction SPOM sont dégradés alors que les NP des fractions moins accessibles deviennent encore moins accessible par piégeage physicochimique. Ces résidus non extractibles libérés se répartissent dans toutes les fractions de la matière organique mais majoritairement dans la fraction SEOM lors de la descente de température. Le pourcentage de la fraction NEOM diminue ce qui tend à confirmer l'hypothèse de la libération de composés non extractibles. En fin de maturation, la dissipation est de 50 %. La fraction SPOM disparaît, la fraction REOM diminue faiblement ainsi que la fraction NEOM. La fraction SEOM reste inchangée. Le pourcentage de dissipation en plus correspond au pourcentage de SPOM descente température et d'une

[4] Il n'y avait pas suffisamment de matière pour réaliser le dosage des NP après l'extraction PEOM. Ainsi, l'extraction a été uniquement faite sur le culot après extraction SEOM. La fraction NEOM inclue donc à la fois le « vrai » NEOM et la fraction PEOM.

partie du pourcentage de la fraction REOM. Il semble donc que la fraction SPOM est dégradée lors du compostage.

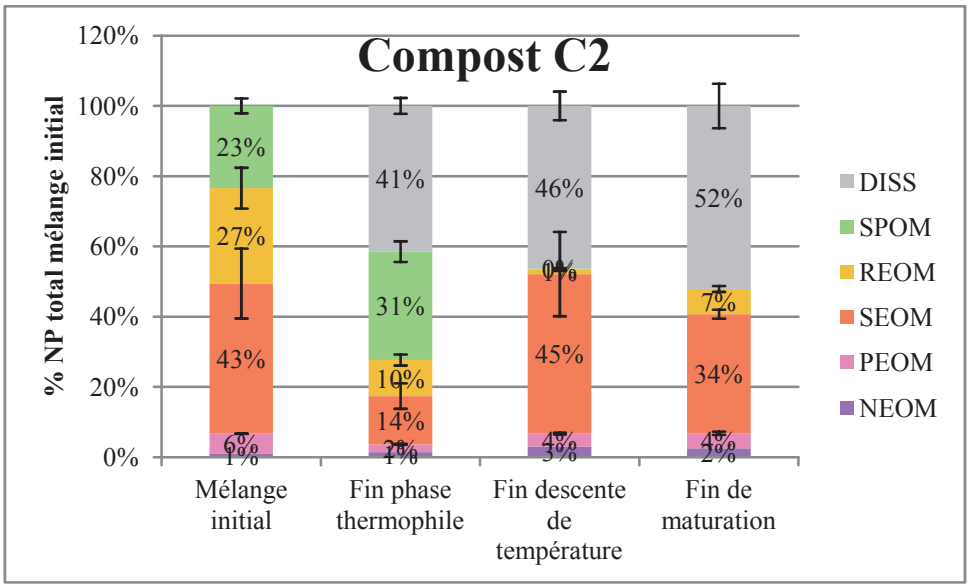



**Figure 149 : répartition des NP dans les différents compartiments matière au cours du compostage des boues digérées en laboratoire, compost C2**

Lors de la phase thermophile du compost C2, une dissipation de 41 % des NP est constatée. La fraction SPOM augmente au détriment des fractions REOM, SEOM et PEOM. Ici, il semble que l'activité microbienne n'ait pas été limitée lors de la phase thermophile et les NP sont libérés vers les fractions les plus accessibles pour y être ensuite probablement dégradés. Ce résultat est cohérent avec ce qui a été vu sur le compost C1 durant la descente de température où la reprise de l'activité microbienne lors de cette phase amène la libération des composés fortement sorbés sur la matière organique vers des fractions plus accessibles. Lors de la descente de température, l'activité microbienne est faible puisque la quantité de matière reste la même. Dans ce cas, il est noté que les NP se concentrent alors dans la fraction SEOM. Lors de la maturation, avec la reprise de l'activité microbienne, la fraction SEOM diminue alors que réapparaît la fraction REOM. Le taux de dissipation augmente légèrement probablement dû à une fraction SPOM qui apparaît durant la maturation puis qui est ensuite dégradée.

Les taux de dissipation finaux des NP dans les deux composts sont équivalents. Les répartitions finales sont quasiment les mêmes. Or les composts finaux obtenus ont des signatures de fluorescence équivalentes ainsi qu'une répartition de la matière organique équivalente. Ainsi, la localisation des NP dans le compost mature est donc bien liée à la nature de la matière organique.

## D. Conclusions

Les résultats montrent que la localisation des micropolluants organiques est bien liée au type de matière organique confirmant les résultats obtenus sur les incubations (Chapitre IV). L'activité microbienne a aussi une importance mais il semble que l'impact des microorganismes se fasse à

travers leur action directe sur la matière organique. Ils transforment la matière organique entraînant des modifications des compartiments matière et une modification de la localisation des micropolluants organiques.

Les résultats montrent un piégeage des micropolluants organiques lors du compostage puis une libération des composés piégés. Dans un premier temps, on parle de résidus non extractibles. Or, par définition, les résidus non extractibles ne sont pas réversibles. Ici, il faut parler de sorption réversible ou de piégeage des micropolluants organiques au sein de la matière organique. Cela soulève la question de savoir comment quantifier les vrais résidus non extractibles, ceux qui sont liés de manière irréversible à la matière organique.

L'évolution de la matière organique semble piloter le devenir des micropolluants organiques. Des abattements en HAP et NP sont constatés au cours de la digestion anaérobie et du compostage. Toutefois, il n'est pas possible de parler de dégradation puisque l'élimination ou dissipation des polluants se fait par dégradation ou par formation de résidus liés. Pour mieux comprendre les mécanismes d'élimination des micropolluants organiques il faut utiliser des techniques permettant de détecter la formation de résidus liés mais aussi les formes transformées (métabolites ou biogaz) des micropolluants organiques. Le carbone 14 est une des techniques qui permet de détecter la molécule dans les différents compartiments (air, lixiviats, matière organique, etc.). C'est le sujet du chapitre suivant.

# VII. Précision des mécanismes de dissipation des micropolluants organiques lors de la digestion anaérobie suivie du compostage de boues

# VII. Précision des mécanismes de dissipation des micropolluants organiques lors de la digestion anaérobie suivie du compostage de boues

## A. Introduction

Dans le chapitre précédent (« Devenir de la matière organique et des micropolluants organiques au cours de la digestion anaérobie et du compostage des boues »), un fort abattement des micropolluants organiques est constaté lors du procédé couplé digestion anaérobie suivie de compostage. La dégradation de la matière organique semble piloter la dissipation des micropolluants organiques. La question se pose de savoir s'il se produit juste un réarrangement des molécules au sein des compartiments matière et une migration vers un compartiment non extractible (formation de résidus liés) pour expliquer la dissipation ou si en plus du réarrangement, la dissipation est liée à la transformation voir la minéralisation des micropolluants organiques. La même expérimentation est ainsi mise en place pour déterminer les mécanismes d'élimination des micropolluants organiques en utilisant des molécules radiomarquées. L'utilisation de ces molécules marquées au carbone 14 permet de déterminer la localisation de la radioactivité sous différentes formes (gaz piégé, soluble, sorption sur solide). Le bilan de radioactivité permet alors de déterminer dans quel(s) compartiment(s) matière se situe la molécule et sous quelle forme. Il permet aussi de déterminer la quantité de molécule minéralisée donc totalement dégradée.

## B. Démarche expérimentale

La démarche expérimentale est la suivante (Figure 150) (cf. matériel et méthode paragraphe I.).

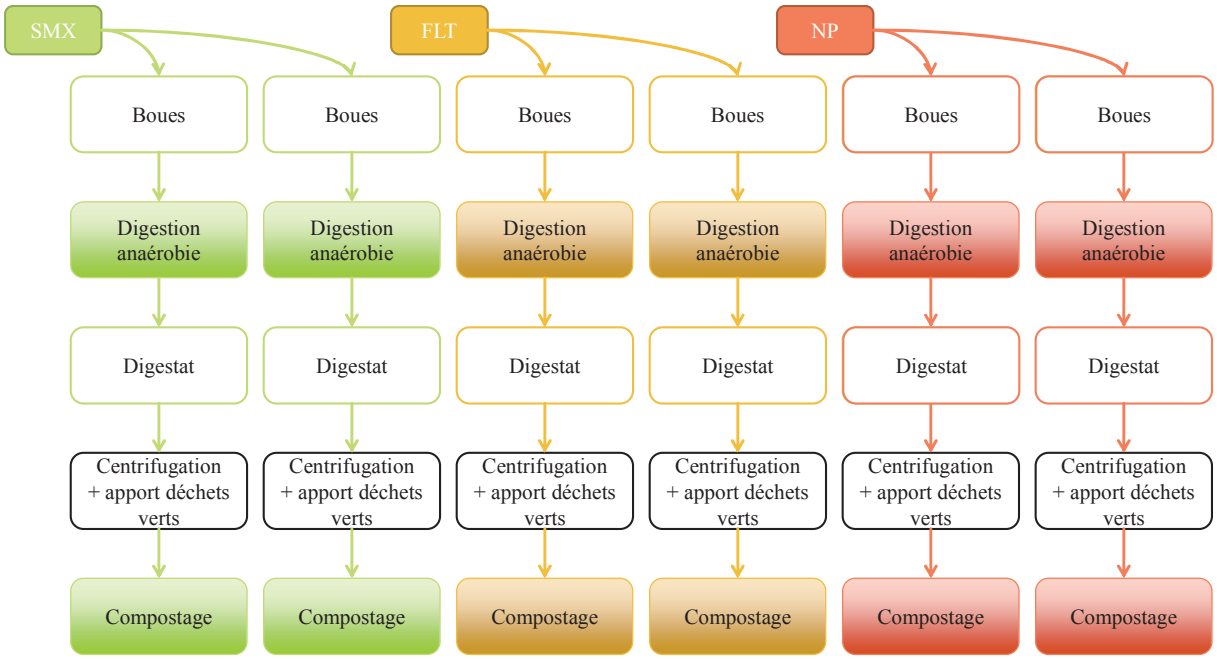


**Figure 150 : démarche expérimentale des manipulations avec utilisation de $^{14}C$**

## C. Fonctionnement des digesteurs et des composteurs

### 1. Digestion anaérobie en mode semi-continu des boues secondaires épaissies dopées avec des molécules marquées eu $^{14}C$

Les performances des digesteurs anaérobies ont été bien moindres que lors de l'expérimentation avec les molécules non marquées. L'équilibre dans les réacteurs étant atteints dès le premier temps de séjour, le taux d'abattement de la matière sèche est calculé à partir de la moyenne des MS des alimentations et la moyenne des MS des digestats obtenus à chaque temps de séjour (Figure 151).

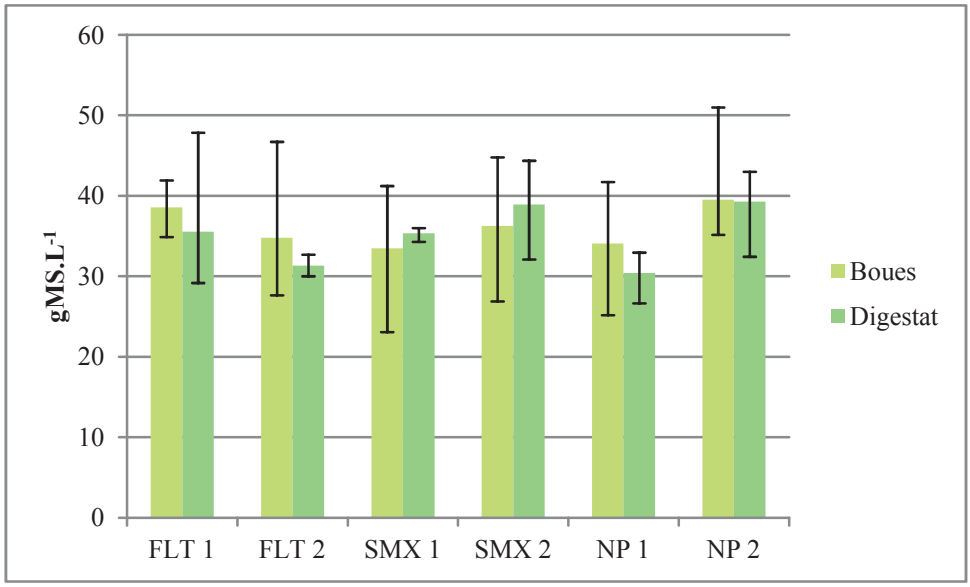



**Figure 151 : concentrations moyennes des boues d'alimentation et du digestat lors de la digestion anaérobie semi-continue des boues secondaires épaissies dopées avec des molécules marquées au $^{14}C$ (les barres d'erreur donnent les concentrations maximales et minimales atteints, l'histogramme représente les valeurs moyennes sur toute la digestion)**

Pour les deux réacteurs avec fluoranthène (FLT) et le réacteur 1 avec NP, l'abattement de la matière sèche est d'environ 10 % (l'abattement sur le réacteur de 2 L sans molécules marquées était de 28 %). Toutefois, les écarts-types sont importants ce qui peut faire apparaître un abattement qui ne s'est pas réellement produit. Les écarts déterminés ici peuvent être dus à la technique de séchage des boues et boues digérées. En effet, les échantillons marqués au $^{14}C$ ne peuvent être séchés à 105°C ou par lyophilisation pour éviter la volatilisation des composés radiomarqués. Ainsi, le séchage est effectué à 30°C pendant 48 h. Toutefois ce séchage n'est pas aussi efficace que le séchage à 105°C ou par lyophilisation et une partie de l'eau de l'échantillon peut rester liée à la matière sèche. L'abattement pour les deux réacteurs avec sulfaméthoxazole (SMX) et le réacteur 2 avec NP, présentent des abattements nuls. Pour le réacteur avec SMX, cela peut s'expliquer par le fait que la concentration en SMX est double par rapport à celle des réacteurs sans molécule marquée (soit 460 $\mu g.kgMS^{-1}$, valeur élevée par rapport aux données de la littérature : médiane à 20 $\mu g.kgMS^{-1}$, min=0,03 et max=243 $\mu g.kgMS^{-1}$, n=47 (Patureau et al., 2013)). Il est possible que la concentration forte ait eu un impact

négatif sur les microorganismes (la SMX est un antibiotique efficace sur de nombreuse bactéries ; en effet, cette molécule est utilisée pour le traitement de diverses maladies bactériennes).

Les performances moindres des six réacteurs sont probablement dues à une acidification du milieu par accumulation d'AGV : en effet, il n'y a pas de montée en charge du substrat, le réacteur est alimenté directement par la boue non diluée à une charge de 2-3 $gDCO.L^{-1}.j^{-1}$ (les digesteurs en laboratoire fonctionnent en général avec une charge de 1-1,5 $gDCO.L^{-1}.j^{-1}$). Il est possible que l'hydrolyse de la matière organique ait lieu mais que les archées méthanogènes n'aient eu pas le temps de dégrader les AGV produits. Ainsi, les réacteurs produisent peu de biogaz et le gaz majoritairement produit est le dioxyde de carbone. Aucune analyse d'AGV, de pH ou de composition de biogaz n'a été possible. Il n'est donc pas possible de savoir quelles sont les raisons exactes de la baisse de performance.

Toutefois, une production de biogaz dont il n'a pas été possible de déterminer la composition exacte a été déterminée lors de la digestion (Figure 152). Cette production est très faible par rapport à la production du réacteur de deux litres sans molécules marquées d'environ 1 $NL.j^{-1}$.

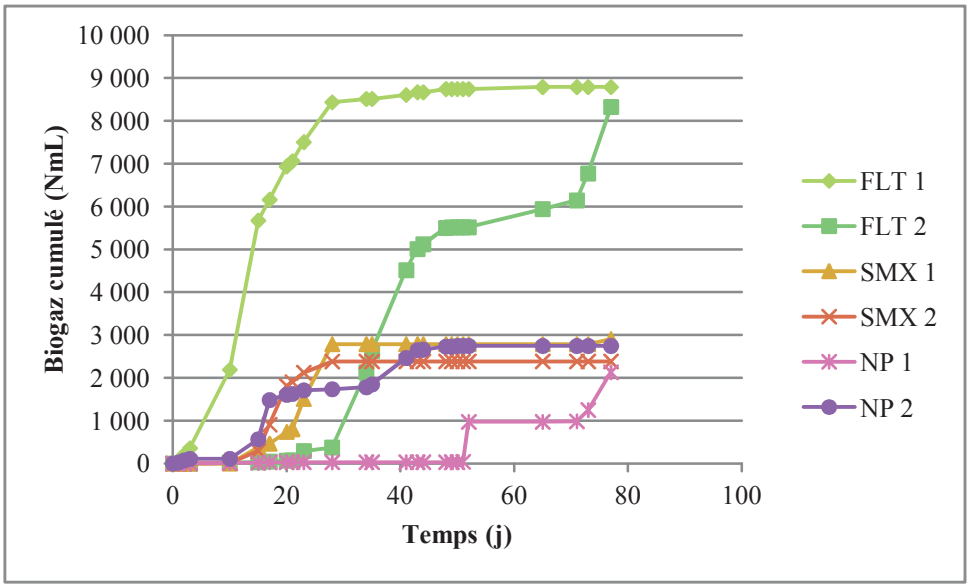



**Figure 152 : production de biogaz lors de la digestion anaérobie en mode semi-continu des boues secondaires épaissies avec utilisation de $^{14}C$**

Dans les réacteurs ne présentant pas de taux d'abattement des MS, la production de biogaz est très faible. Alors que sur les réacteurs présentant une dégradation non négligeable, la production de biogaz est plus élevée. Toutefois, le réacteur 1 avec NP montre un abattement alors que la production de biogaz est faible, ce qui pourrait s'expliquer par une fuite de gaz au niveau du réacteur. Pour les six réacteurs, une phase de latence apparaît qui pourrait valider l'hypothèse d'une acidification des réacteurs. La question se pose de savoir pourquoi seulement deux réacteurs, contenant de plus la même molécule, ont pu reprendre une activité de dégradation de la matière organique.

Les boues après « digestion » ont été centrifugées à 18 600 g et 4°C pendant 30 min. Le culot (phase particulaire) est mélangée avec de l'herbe et du thuya. Le mélange obtenu est composté en laboratoire.

## 2. Compostage des boues digérées en laboratoire et dopée en $^{14}C$

La composition en MS de chaque mélange initial est déterminée (Figure 153). Pour tous les mélanges, le thuya représente environ 40 % du total de matière sèche ; l'herbe représente aussi environ 40 % du total de matière sèche. Les taux étant légèrement variables d'un compost à l'autre en ce qui concerne les deux déchets verts (80 ± 5 % des MS), le taux de MS des boues est compris entre 15 et 25 % du total. Cette composition est assez proche des expérimentations effectuées sans molécule marquée (Chapitre VI,Figure 125) ; toutefois, la présence de l'herbe est un peu plus élevée et par conséquent celle du thuya (par rapport au cyprès) est un peu plus faible.

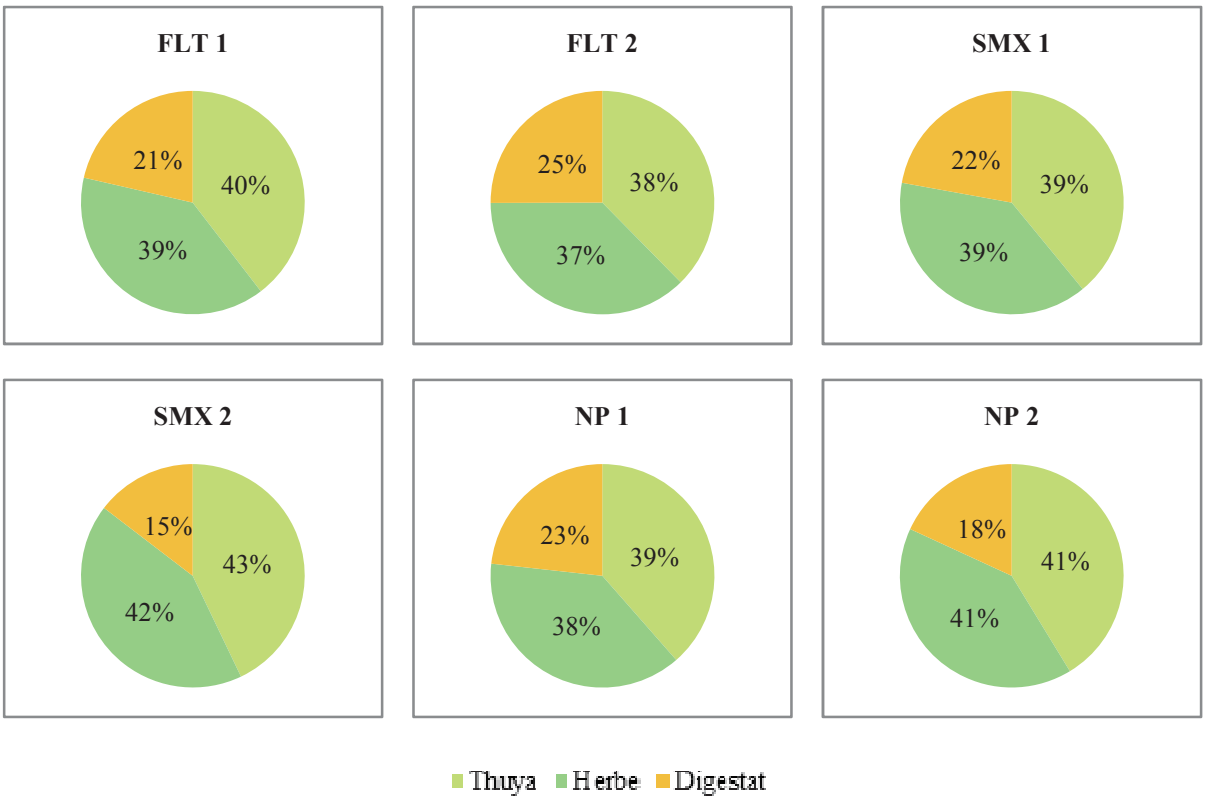



**Figure 153 : composition en MS de chaque mélange initial de compost de boues digérées dopées avec des molécules marquées au $^{14}C$**

L'humidité du mélange initial est comprise entre 60 et 75 % dépendant de la composition exacte du mélange initial (Figure 154). A la fin de la phase thermophile, l'humidité a fortement diminuée : elle est alors comprise entre 0 et 20 %. L'humidité est ajustée par apport d'eau à environ 50 % avant la phase de descente de température. Lors de cette phase, l'humidité du mélange baisse encore fortement pour atteindre des taux entre 15 et 20 %. Toutefois, l'effet de la température est bien visible puisque la baisse d'humidité est bien moindre par rapport à celle lors de la montée en température et de la phase thermophile. Enfin l'humidité est de nouveau ajustée avant maturation ; à la fin de cette étape, l'humidité a peu changé à part pour les composts FLT 2 et SMX 1 où l'humidité augmente fortement. Etant donné que la maturation est effectuée dans un système clos, il peut s'agir d'une concentration suite à une forte dégradation de la matière.

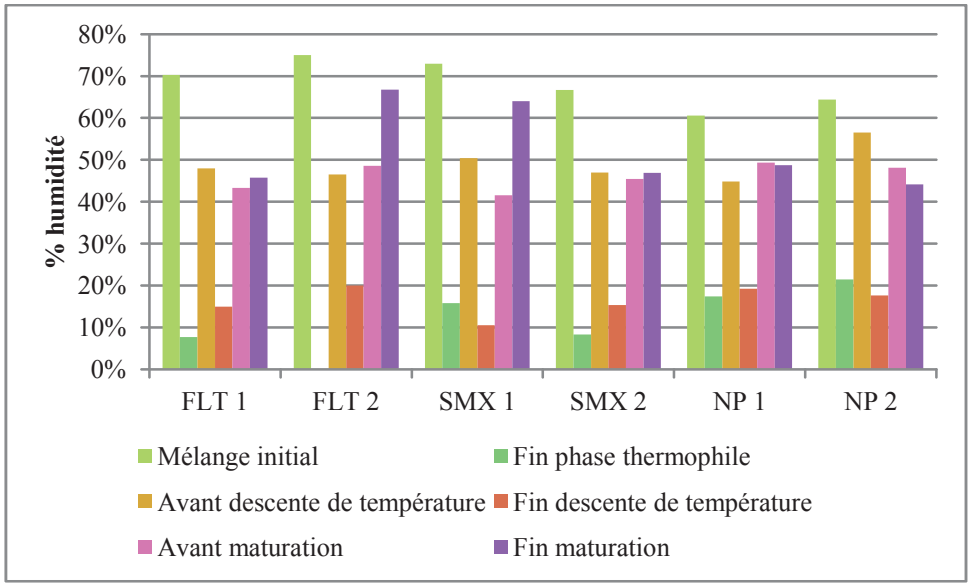



**Figure 154 : évolution de l'humidité au cours du compostage des boues digérées dopées avec des molécules marquées au $^{14}C$**

La Figure 155 représente les profils de température des composts lors des premières phases (montée en température, phase thermophile et descente de température). Les premières phases ont duré 42 jours. La maturation est effectuée à l'obscurité et à 28°C dans une chambre thermostatée et a duré 41 jours.

La montée en température se fait naturellement jusqu'à atteindre 40°C vers 8 jours environ. Ensuite, la montée en température est plus difficile, la température est donc augmentée progressivement et artificiellement via le polystat vers 60 – 70°C. La phase thermophile dure environ 3 jours puis la descente de température est progressive. Pour le composteur NP 1, une brusque montée de température est constatée au 2$^{ème}$ jour, lié à un défaut du polystat. Pour le composteur SMX 2, un problème d'acquisition de la température a eu lieu durant la descente de température. Malgré tout, les profils de température des 6 composteurs sont assez semblables.

Les profils de température sont différents de ceux obtenus lors du compostage des boues secondaires épaissies et ceux obtenus lors du compostage des boues digérées en laboratoire en ce qui concerne la montée en température. Toutefois, il faut noter que la montée naturelle en température rappelle celle du compost de boues secondaires épaissies et la montée artificielle à celle du compost de boues digérées. Il est donc probable que la montée naturelle en température soit liée à la dégradation de composés facilement dégradables et que la montée en température artificielle corresponde à la dégradation de la matière plus difficilement dégradable présente dans le mélange initial. Ainsi, la montée en température lors du compostage dépend fortement du type de matière organique à composter. Ceci tendrait aussi à confirmer que la digestion anaérobie n'ait pas été complète et qu'elle se soit arrêtée au stade de l'hydrolyse (faible abattement des MS et faible production de biogaz).

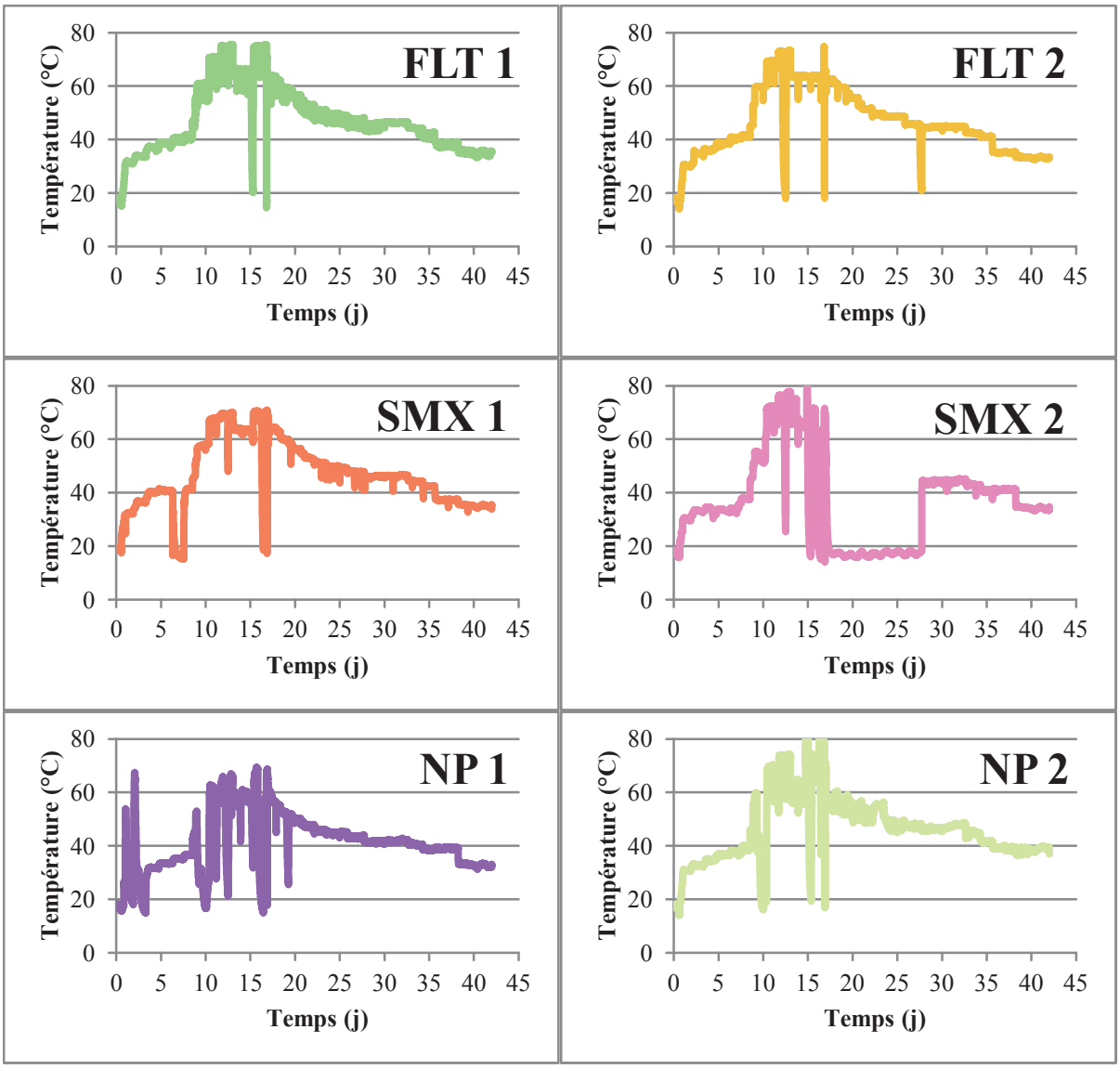



**Figure 155 : profils de température lors de la montée en température, de la phase thermophile et de la descente de température du compostage de boues avec molécules marquées au $^{14}C$**

La quantité de matière sèche est suivie au cours du compostage et permet de quantifier l'abattement de la matière au cours du procédé (Figure 156).

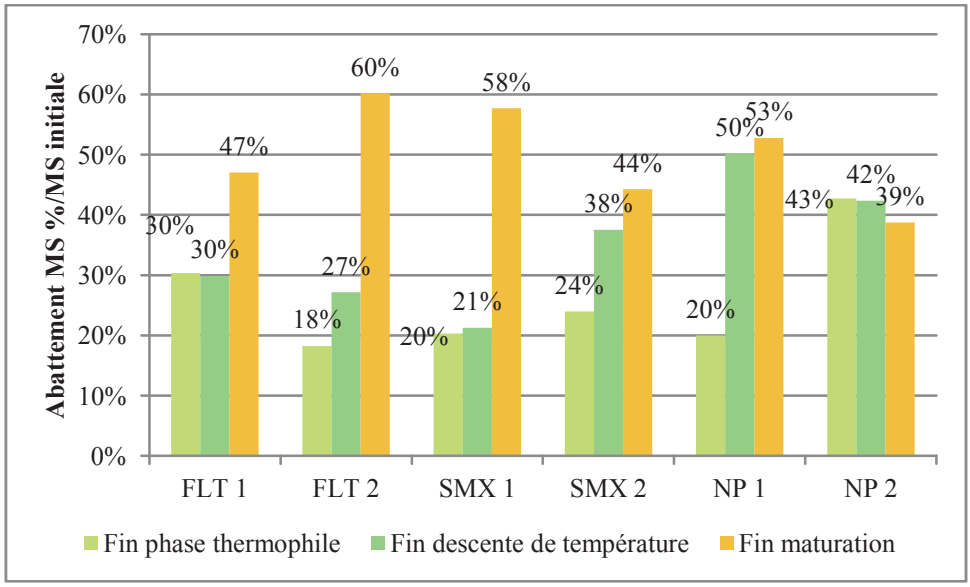



**Figure 156 : abattement de la matière sèche à chaque étape du compostage en pourcentages de la MS initial pour chaque réacteur**

Pour le composteur FLT 1, le taux d'abattement de la matière sèche est de 30 % dès la fin de phase thermophile. Durant la phase de descente de température, la matière n'est pas dégradée. Enfin, le taux de dégradation atteint 47 % à la fin de la maturation. Le comportement du composteur SMX 1 est similaire ; les taux de dégradation étant cependant différents. En effet, un abattement de 20 % de la MS est constaté à la fin de la phase thermophile. Le taux d'abattement évolue très peu après la phase de descente de température puis l'abattement de la matière sèche continue durant la maturation pour atteindre 58 %. Les composteurs FLT 2, SMX 2 et NP 1 présentent un abattement progressif de la matière : celle-ci est dégradée à chaque phase du compostage pour atteindre 60 %, 44 % et 53 % d'abattement final respectivement. Il faut toutefois noter que l'abattement durant la phase de maturation est faible par rapport aux autres composteurs pour NP 1.

Le composteur NP 2 a un comportement différent de tous les autres systèmes. En effet, environ 40 % de la matière sèche est dégradée dès la fin de la phase thermophile puis ce taux n'évolue plus (une légère baisse du taux d'abattement est calculée mais cela est probablement dû aux erreurs de pesées (la précision est de l'ordre du gramme)).

Pour la plupart des composteurs, le taux d'abattement final est plus élevé que pour les expérimentations sans molécule marquée et un fort abattement est constaté lors de la maturation.

La différence du taux d'abattement de la matière sèche lors du compostage peut s'expliquer par différents paramètres. Une relation linéaire a été trouvée entre les constituants du mélange et le taux d'abattement final de la matière (Figure 157).

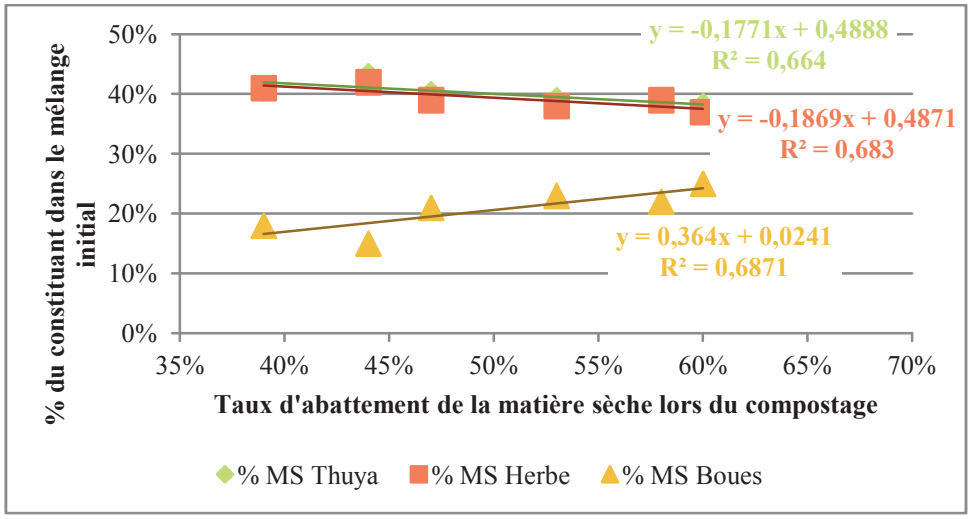



**Figure 157 : relations entre la composition de chaque mélange et le taux d'abattement de la matière sèche lors du compostage des boues avec $^{14}C$**

Le coefficient de corrélation est de 0,7 pour chaque constituant. Les corrélations montrent que plus le taux de boue est important plus la dégradation de la matière est élevée. Ce résultat est cohérent puisque la boue est un substrat facilement dégradable. Intéressement, le pourcentage d'herbe a un impact négatif sur l'abattement de la matière sèche alors qu'il était attendu à ce que l'herbe soit un substrat facilement dégradable en conditions aérobies. Toutefois, les pourcentages de l'herbe étant pour tous les mélanges proches des pourcentages de thuya, il est possible qu'un effet positif de l'herbe soit masqué. A l'effet de la quantité de boue s'ajoute aussi sa qualité. Lors de la méthanisation, la boue est hydrolysée. Cela a pu augmenter son pouvoir fermentescible pour le compostage sans générer suffisamment de composés humiques stables, la montée en température naturelle démarre donc bien.

La différence entre les abattements avec et sans molécule marquée peut aussi être due à la composition des mélanges qui est différente : en effet, les co-substrats utilisés ne sont pas les mêmes. Pour le compost sans molécule marquée, l'herbe utilisée lors des manipulations sans $^{14}C$ provient de tonte de pelouse de la région de Narbonne (Aude 11) alors que l'herbe utilisée lors des manipulations avec $^{14}C$ provient de la région d'Evreux (Eure 27). De plus le co-substrat qui apporte une structure aérée au mélange est aussi différent : sans $^{14}C$ il s'agit de cyprès alors qu'avec $^{14}C$ il s'agit de thuya (Tableau XXXIII).

**Tableau XXXIII : comparaisons des MS et MV des co-substrats des compostages avec et sans $^{14}C$**

| | MS ($gMS.gMB^{-1}$) | MV ($gMV.gMS^{-1}$) |
|---|---|---|
| Herbe Aude 11 | 0,21 ± 0,01 | 0,77 ± 0,01 |
| Herbe Evreux 27 | 0,26 ± 0,02 | 0,87 ± 0,01 |
| Cyprès | 0,68 ± 0,01 | 0,95 ± 0,01 |
| Thuya | 0,54 ± 0,03 | 0,96 ± 0,01 |

Les taux de MS de l'herbe ne varient pas entre les deux régions. Le taux de MS du cyprès est supérieur à celui du thuya ; toutefois l'humidité du mélange initiale est suffisante pour assurer un bon compostage malgré les différences d'humidité des co-substrats ligneux. Le taux de matière organique (MV) du thuya est similaire à celui du cyprès. La différence provient de l'herbe normande qui est plus riche en matière organique que l'herbe audoise.

La dégradation forte de la matière lors de la maturation dans certains des composteurs peut s'expliquer par rapport à l'enceinte de maturation utilisée. En effet, lors de manipulations sans $^{14}C$, l'enceinte est une fiole de 2 L en verre ambrée alors que lors des manipulations avec le $^{14}C$, les enceintes de maturation sont des dessiccateurs en verre (Figure 158). La surface pour étaler le compost est donc plus importante ainsi que le ciel gazeux lors de la maturation avec $^{14}C$ ce qui peut diminuer la présence de zones anaérobies qui limitent la dégradation de la matière.

***Sans $^{14}C$***
***Bouteille en verre ambré de 2 L***

***Avec $^{14}C$***
***Dessiccateur en verre***

**Figure 158 : systèmes de maturation utilisés sans $^{14}C$ et avec $^{14}C$**

## D. Evolution de la radioactivité au cours de la digestion anaérobie suivie du compostage de boue

### 1. Test préliminaire

Avant de mesurer la radioactivité sur les échantillons de boues, l'efficacité du Solvable™ a été testée sur un échantillon de boue dopée avec du $^{14}C$-FLT (la mesure de l'activité sur les boues n'est pas possible directement à cause d'effet de quenching lié à la sorption des molécules au sein des flocs de boue). Environ 2 mL de boue sont mis dans un tube dans un flacon en verre puis sont ajoutés 2, 4, 6, 8 ou 10 mL de la solution Solvable™. Les flacons sont agités à 20°C, 300 rpm pendant 24 h. L'agitation est arrêtée puis les flacons sont mis à reposer pour éliminer la mousse formée puis 1 mL est prélevé et passé au compteur pour déterminer l'activité. Ensuite, l'activité de la boue est calculée par rapport à l'activité du mélange boue + Solvable™ :

**Équation 18 : calcul de l'activité d'une boue diluée dans le Solvable™**

$$Activité_{boue} = \frac{Activité_{aliquot}}{V_{aliquot}} . \frac{V_{boue} + V_{Solvable^{TM}}}{V_{boue}}$$

où $Activité_{boue}$ est l'activité de la boue dopée en $DPM.mL^{-1}$, $Activité_{aliquot}$ est l'activité du mL prélevé, $V_{aliquot}$ le volume exacte de l'aliquot prélevé en mL (mesuré par pesée), $V_{boue}$ est le volume de boue dopée (mL) et $V_{SolvableTM}$ est le volume de solubilisateur utilisé (mL).

Cette activité est comparée à l'activité théorique (Figure 159). L'activité théorique est l'activité ajoutée au départ dans un volume de boue connue par un volume connu d'une solution de $^{14}C$-FLT dont l'activité est connue. Pour chaque volume testé, la solubilisation est répétée trois fois, l'activité calculée est donc la moyenne des trois essais.

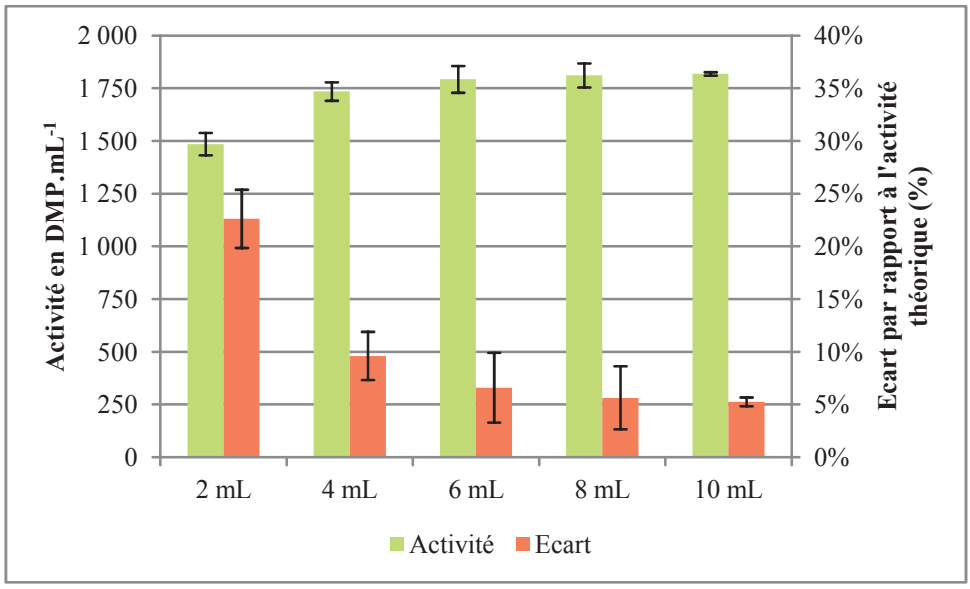



**Figure 159 : test de la solubilisation de la boue dans le Solvable$^{TM}$, comparaison entre l'activité théorique et l'activité mesurée sur une boue dopée avec $^{14}C$-FLT**

Les résultats à 6, 8 et 10 mL de la solution de solubilisation sont équivalents. Le volume de 8 mL est donc retenu avec une erreur de 5 %.

### 2. Répartition DOM/particulaire, minéralisation, lixiviation, résidus non extractibles et pertes

Lors de la digestion anaérobie, aucune radioactivité n'est détectée dans les pièges à gaz, suggérant l'absence de minéralisation des micropolluants dans les conditions étudiées. Ce résultat est à mettre au regard du fait que la dégradation de la matière organique est faible et que par conséquent la production de biogaz est aussi très faible (peu de minéralisation de la matière organique). Ainsi, la radioactivité introduite dans le réacteur doit correspondre à la radioactivité qui sort du réacteur (Figure 160).

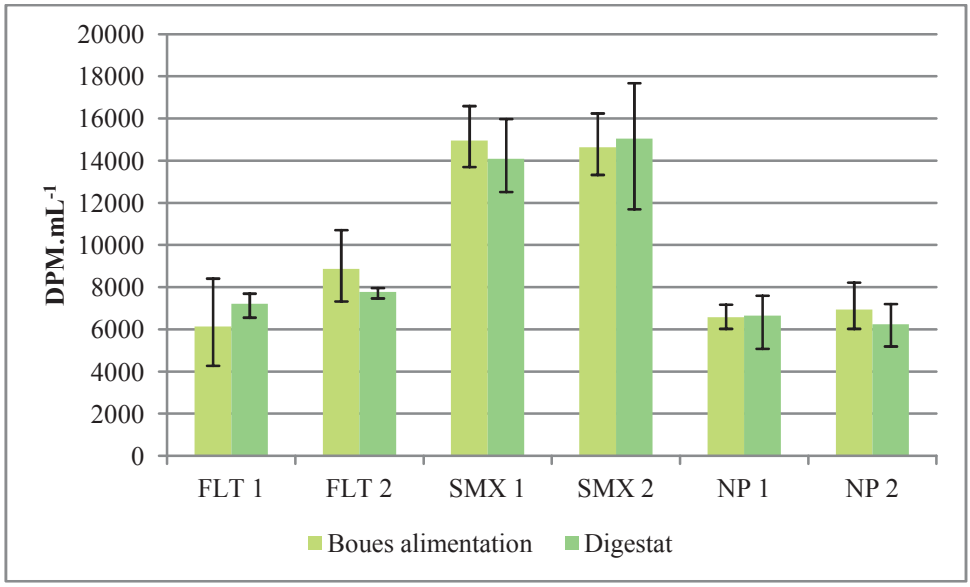



**Figure 160 : moyenne de la concentration de la radioactivité dans les boues d'alimentation et moyenne de la radioactivité dans les digestats pour chaque molécule marquée au $^{14}C$ (les histogrammes représentent la concentration moyenne et les barres d'erreurs donnent les minima et les maxima mesurés)**

La radioactivité du digestat est équivalente à celle du de la boue d'alimentation confirmant ainsi qu'aucune perte de radioactivité n'a lieu lors de la digestion.

La radioactivité totale est mesurée sur l'échantillon liquide après dissolution dans le Solvable™. Ensuite, l'échantillon liquide est centrifugé puis la radioactivité est mesurée sur la fraction DOM (phase aqueuse). La radioactivité de la phase particulaire est obtenue par différence entre la radioactivité totale et la radioactivité de la fraction DOM (phase aqueuse) (Figure 161).

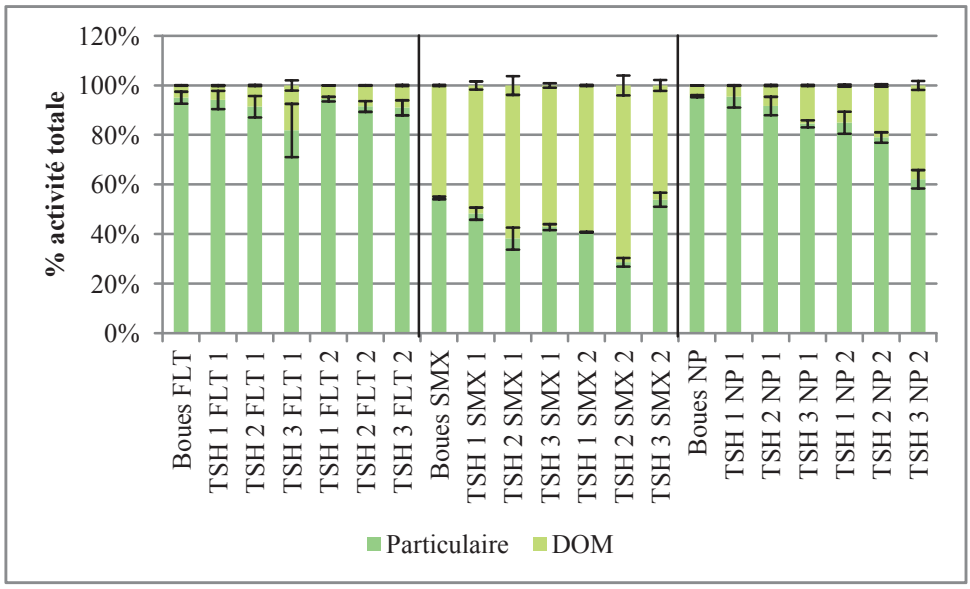



**Figure 161 : répartition de la radioactivité entre la fraction DOM et la phase particulaire**

Les polluants hydrophobes (FLT et NP) sont majoritairement dans la phase particulaire de la boue ; contrairement à la SMX, hydrophile, qui est majoritairement dans la fraction DOM. Malgré le mauvais fonctionnement des digesteurs, il est noté qu'une hydrolyse de la matière organique doit probablement

avoir lieu. En effet, la quantité de micropolluants présents dans la fraction DOM augmente au cours du temps.

L'activité de la phase particulaire calculée à partir de la différence entre l'activité totale et l'activité de la fraction DOM est comparée avec l'activité de la phase particulaire déterminée après solubilisation des phases particulaires séchées et broyées dans le Solvable™ (Figure 162).

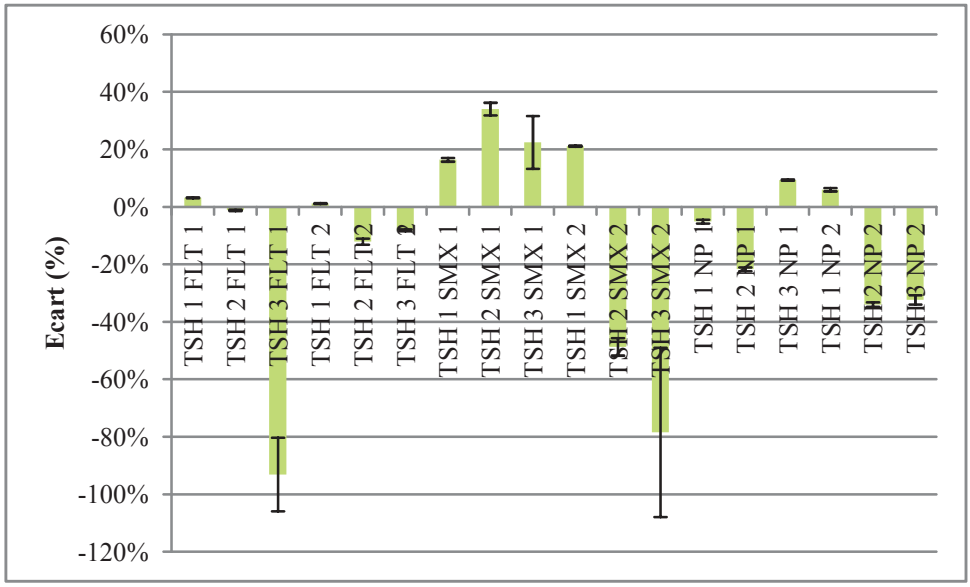



**Figure 162 : écart de l'activité de la phase particulaire déterminée après solubilisation au Solvable™ par rapport à l'activité de la phase particulaire calculée par différence entre l'activité totale et l'activité de la phase aqueuse**

Des écarts importants sont notés entre les deux déterminations de l'activité de la phase particulaire. Pour certains échantillons, l'activité déterminée par les deux méthodes est similaire ce qui signifie que la méthode est efficace. Toutefois, pour limiter les éventuelles erreurs, la détermination de l'activité particulaire est déterminée par la suite par différence entre l'activité totale et l'activité de la phase aqueuse. Les différences proviennent probablement de deux facteurs :

- L'hétérogénéité de la solution avec les échantillons sec : en effet, une suspension est obtenue ce qui peut empêcher le prélèvement homogène de la suspension ; lors de la solubilisation d'échantillons frais liquides, le problème de l'homogénéité ne se pose pas puisque la boue se mélange bien avec le solubilisateur pour former une solution homogène (cf. VII.D.1 où l'écart-type est faible sur la mesure de la radioactivité) ;
- Les erreurs : en effet, lors du calcul de l'activité de la phase particulaire par utilisation du solubilisateur, il faut à la fois tenir compte des erreurs de pesées liées à la préparation de la suspension mais aussi des erreurs de pesées lors de la détermination des MES ; il y a donc plus d'erreurs liées à la préparation des échantillons que lors de la mesure par différence.

Lors de l'utilisation du solubilisateur, il faut donc porter une grande attention à la fois à la préparation de l'échantillon mais aussi au prélèvement. En faisant attention à ces deux facteurs, la technique est fiable et elle est utilisée lors du fractionnement des échantillons où les masses de solide (culot

résiduel) ne sont pas suffisamment élevées pour permettre les analyses de radioactivité par Oxydizer et les analyses de quantités de radioactivité extractibles et non extractibles par ASE.

Lors du compostage, une production de $^{14}C\text{-}CO_2$ est uniquement détectée pour les NP lors de la maturation : les NP sont dégradés lors de la maturation. Aucune radioactivité n'est détectée dans les lixiviats à chaque étape du compostage : les micropolluants sont sorbés à la matière organique et ne sont pas entraînés par l'eau qui s'écoule du mélange.

La radioactivité des échantillons de compost est mesurée par Oxydizer. Un bilan est réalisé sur chaque composteur en DPM totaux à chaque étape du compostage. Les quantités de radioactivités totales sont comparées deux à deux :

- Mélange initial et fin de phase thermophile ;
- Fin de phase thermophile après prélèvement (d'où une diminution de l'activité totale) et fin de descente de température ;
- Fin de descente de température après prélèvement et fin de maturation.

Pour le SMX 1 (Figure 164), il y a peu de différence entre la quantité de radioactivité du mélange initial et la quantité de radioactivité dans le mélange après la fin de phase thermophile ce qui montre bien que la molécule n'est pas dégradée lors de la montée en température et la phase thermophile (on retrouve 101 % de la radioactivité introduite). Sont ensuite comparées les activités en fin de phase thermophile (après prélèvement) et en fin de descente de température : 120 % de la radioactivité est retrouvée. Bien que supérieur à 100 % (il s'agit probablement d'une erreur liée aux pesées et/ou aux problèmes d'homogénéité des échantillons, on considère que 20 % de plus ou de moins est acceptable sur le bilan), là encore il n'y a pas de dégradation de la molécule lors de la descente de température. Enfin, après maturation, 65 % de la radioactivité est retrouvée. Dans ce cas, l'écart est trop élevé pour considérer qu'il s'agit d'une erreur, il y a donc perte d'activité. Or aucune activité n'est détectée dans les pièges à $CO_2$. Soit il s'agit d'une erreur soit il y a production d'un métabolite volatile à 28°C.

Dans une review, Larcher and Yargeau, 2012 recensent les métabolites de la SMX identifiés à ce jour. Un métabolite possible, produit par lyse enzymatique d'une péroxydase issue de champigons (présents visuellement lors de la maturation), est entouré en rouge (Figure 163) :

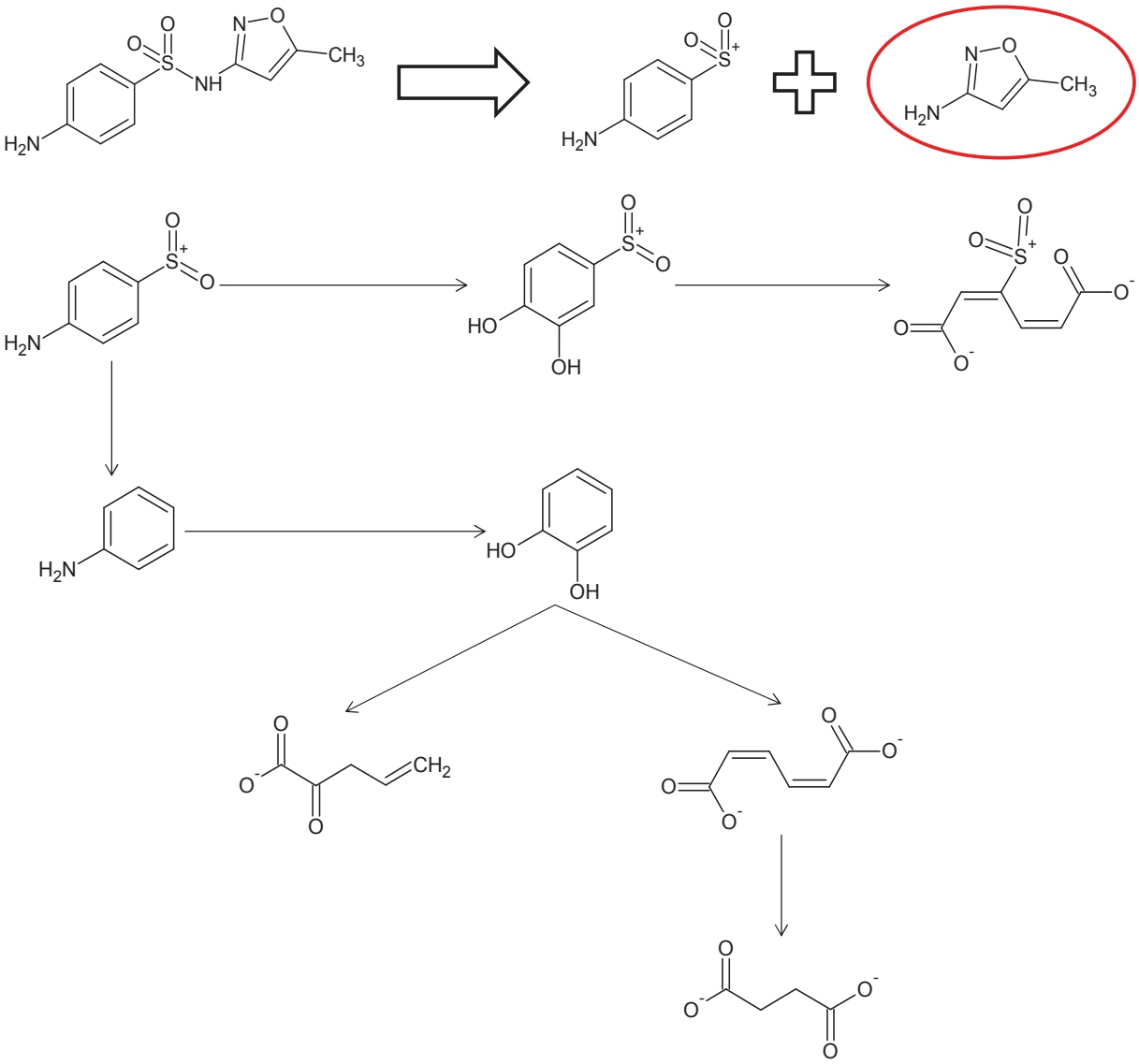



**Figure 163 : voies possibles de dégradation de la sulfaméthoxazole**

Ce qui signifie que la molécule de SMX a été « coupée » en deux. La molécule fille portant la radioactivité serait alors l'aniline avec un groupement sulfate. Or, l'aniline est peu volatile et très dégradable en conditions aérobies donc il est possible que cette molécule soit aussi dégradée. Un des produits de dégradation probables est l'acide succinique, molécule nécessaire au métabolisme des microorganismes mais aussi très volatile.

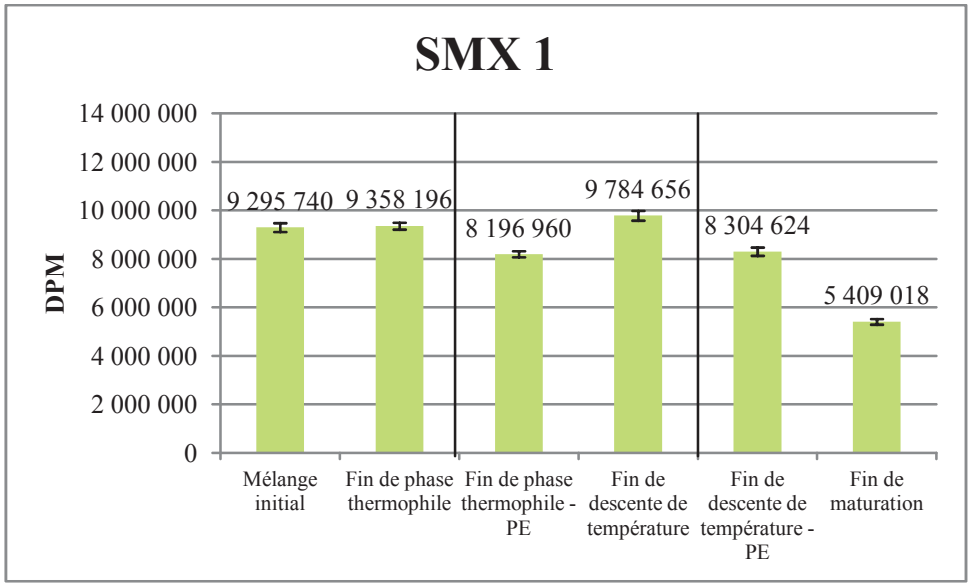



**Figure 164 : quantité de radioactivité à chaque étape du compostage SMX 1, PE = prélèvement pour analyses**

Pour la SMX 2 (Figure 165), il semble y avoir eu des problèmes de mesure de la radioactivité à chaque étape du compostage, il est difficile de conclure quant au devenir de la SMX en compostage dans ce réacteur. Il n'est donc pas possible de confirmer ou d'infirmer les hypothèses émises précédemment.

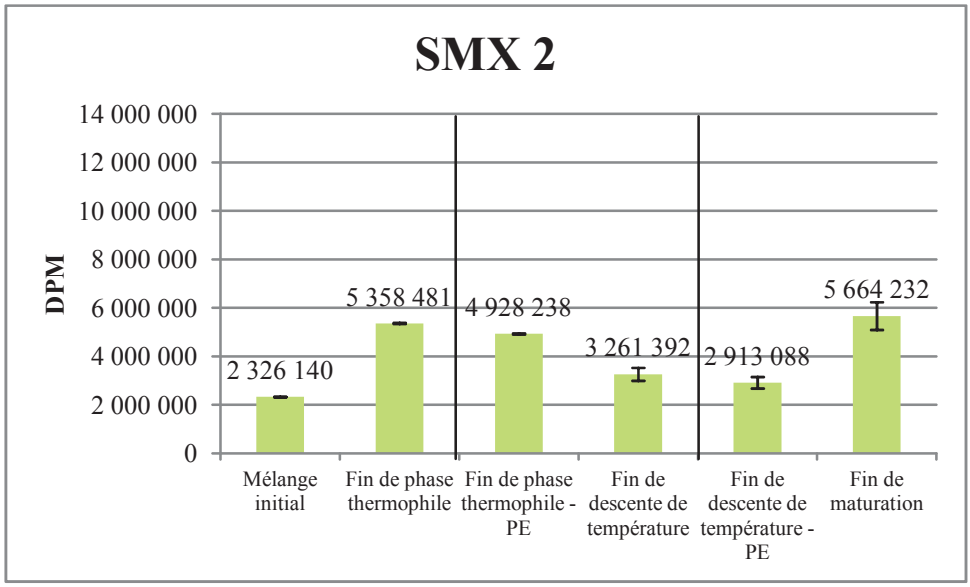



**Figure 165 : quantité de radioactivité à chaque étape du compostage SMX 2, PE = prélèvement pour analyses**

A la fin de la phase thermophile de FLT 1, 92 % de la radioactivité est retrouvée (Figure 166). Considérant les erreurs possibles et le fait qu'aucune activité n'est détectée dans les pièges à COV et $CO_2$, il est probable qu'aucune dissipation du FLT n'ait lieu lors de la phase thermophile. Un résultat similaire est obtenu pour le compost FLT 2 où 94 % de la radioactivité est retrouvée à la fin de la phase thermophile (Figure 167). A la fin de la descente de température, 141 % et 92 % de la radioactivité de la fin de phase thermophile de FLT 1 et FLT 2 respectivement sont retrouvés. De même que lors de la phase thermophile, il n'y a pas de dissipation par volatilisation ou minéralisation

du FLT lors de la descente de température. A la fin de la maturation, 56 % et 57 % du FLT de la fin de descente de température sont retrouvés. Dans ce cas, l'écart est trop important pour être attribué à l'accumulation des erreurs de pesées, d'échantillonnage, etc. il y a donc dissipation du FLT lors de la phase de maturation. Toutefois, aucune activité n'est détectée dans les pièges à $CO_2$. Soit il y a bien une erreur importante sur la mesure de l'activité soit il y a production d'un métabolite très volatile. La deuxième hypothèse est plus probable qu'une erreur de mesure qui serait identique sur deux répétitions d'expérimentation.

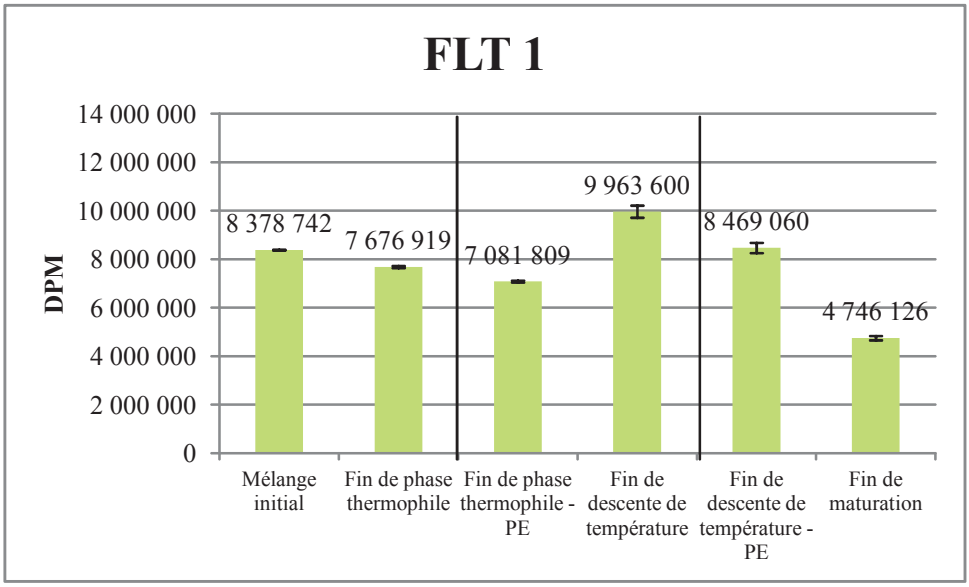



**Figure 166 : quantité de radioactivité à chaque étape du compostage FLT 1, PE = prélèvement pour analyses**

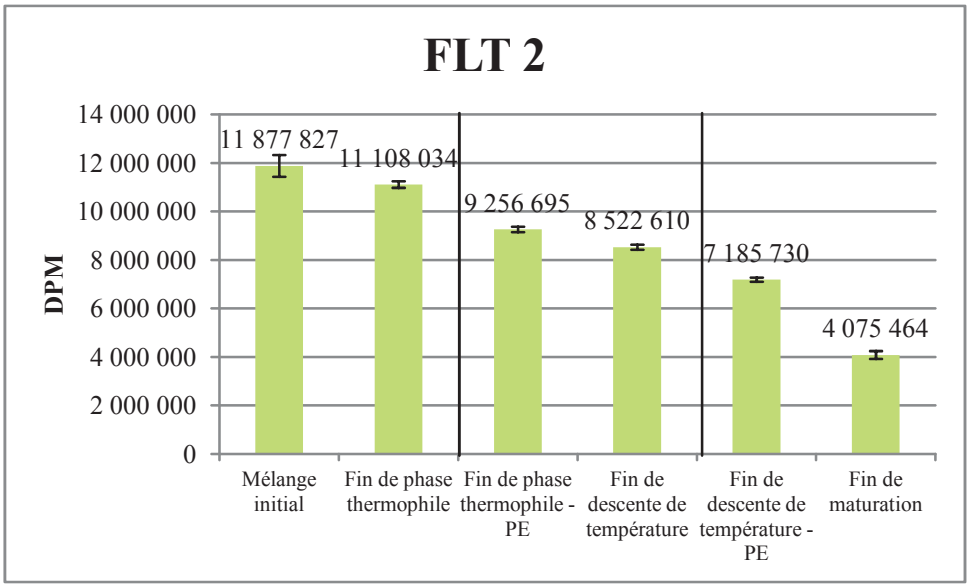



**Figure 167 : quantité de radioactivité à chaque étape du compostage FLT 2, PE = prélèvement pour analyses**

A la fin de la phase thermophile des composts NP 1 et NP 2, 109 % et 97 % de la radioactivité initiale sont retrouvés respectivement (Figure 168 et Figure 169). Après la descente de température, 80 % et 95 % de la radioactivité de la fin de phase thermophile sont retrouvés respectivement pour NP 1 et NP

2. Lors de la phase thermophile et lors de la phase de descente de température, aucune minéralisation/dégradation/volatilisation n'a lieu. Enfin, lors de la phase de maturation, 44 % et 88 % de la radioactivité de la phase de descente de température est retrouvée. Or, lors de la maturation, une partie de l'activité est retrouvée dans les pièges à $CO_2$. En tenant compte de l'activité piégée sous forme de $CO_2$, les taux de recouvrements de la radioactivité sont de 61 % et 95 % pour NP 1 et NP 2 respectivement lors de la maturation. Pour NP 2, le bilan est bouclé à 5 % près. Mais pour NP 1 il manque presque 40 % de l'activité : soit production d'un métabolite volatile ou soit le piège à $CO_2$ n'est pas suffisamment efficace soit il y a une erreur sur la mesure de l'activité du compost mature.

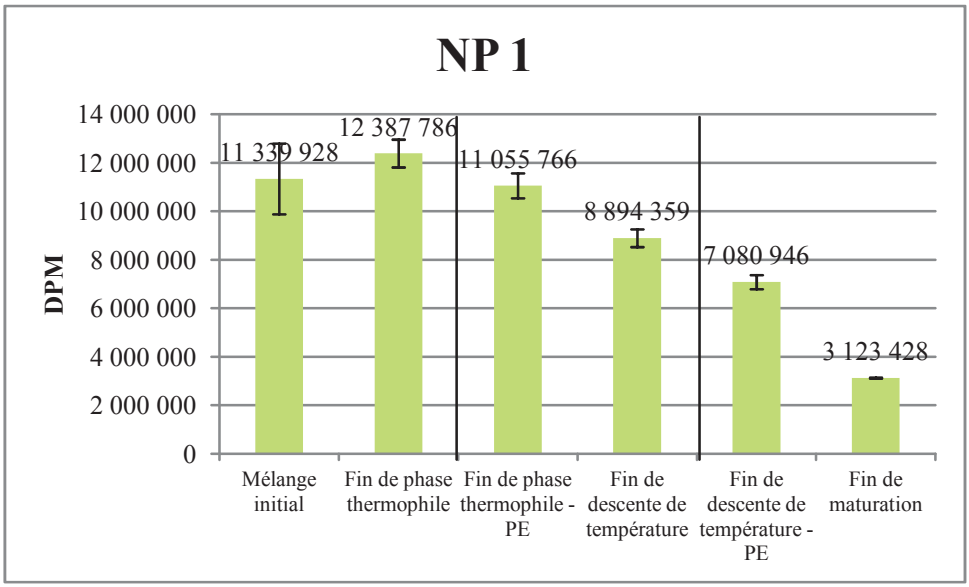



**Figure 168 : quantité de radioactivité à chaque étape du compostage NP 1, PE = prélèvement pour analyses**

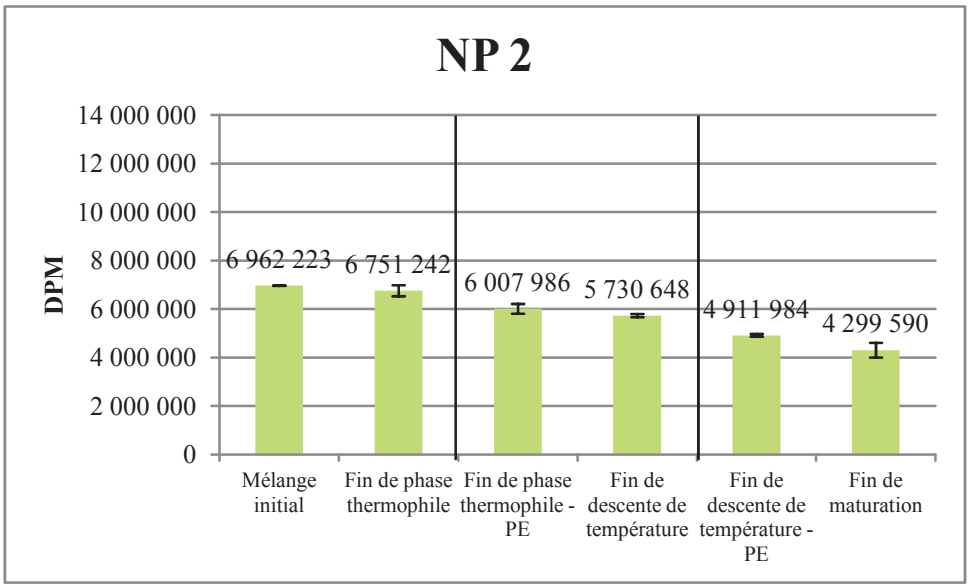



**Figure 169 : quantité de radioactivité à chaque étape du compostage NP 2, PE = prélèvement pour analyses**

Si aucun micropolluant organique n'est minéralisé lors de la digestion, les NP sont dégradés lors de la phase de maturation des composts (du dioxyde de carbone marqué est détecté dans les pièges à $CO_2$).

Le taux de $^{14}C\text{-}CO_2$ cumulé en DPM est tracé en fonction du temps : l'allure de la courbe est celle d'une courbe de production de biogaz type équation de Gompertz (Figure 170).

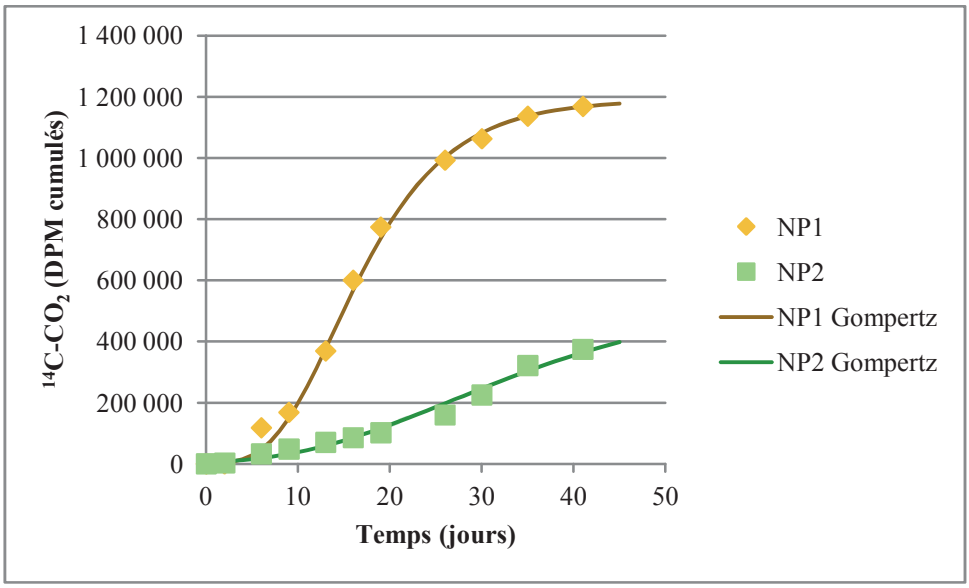



**Figure 170 : courbes de minéralisation du $^{14}C$-NP lors de la maturation et modélisation des courbes par l'équation de Gompertz modifiée**

L'équation de Gompertz modifiée est la suivante (Lo et al., 2010) :

**Équation 19 : équation de Gompertz modifiée pour la production de biogaz**

$$y(t) = A.e^{\left(-e^{\left(\frac{\mu_m e}{A}(\lambda - t)+1\right)}\right)}$$

où y(t) est l'accumulation de $^{14}C\text{-}CO_2$ en DPM au temps t, A est la production cumulée maximale de $^{14}C\text{-}CO_2$ en DPM, $\mu_m$ est le taux maximal de production de $^{14}C\text{-}CO_2$ en DPM.j$^{-1}$, $\lambda$ est la phase de latence en j et e est le nombre d'Euler ($e = e^1 \approx 2{,}718282$).

La modélisation donne pour les deux composts :

- Quantité maximale de radioactivité $^{14}C\text{-}CO_2$ = 1 190 000 DPM pour NP 1 et 560 000 DPM pour NP 2 ;
- Le taux de dégradation maximal est de 64 266 DPM.j$^{-1}$ pour NP 1 et 12 134 DPM.j$^{-1}$ pour NP 2 ;
- La phase de latence est de 7 jours pour NP 1 et de 10 jours pour NP 2.

La dégradation des NP semble être corrélée à la dégradation de la matière organique. En effet, les capacités de dégradation sont plus élevées pour NP 1 que pour NP 2 or lors du compostage la dégradation de la matière organique du NP 1 est beaucoup plus élevée que la dégradation de la matière organique du NP 2 qui est nulle ou quasi nulle. Ainsi, la présence d'une biomasse capable d'humifier la matière organique permet de dégrader les NP.

Chaque échantillon issu des compostages FLT 1, FLT 2, NP 1 et NP 2 (Chapitre III, § I.) a été extrait à l'ASE (MI = mélange initial, TH = fin de phase thermophile, DT = fin de descente de température, MAT = fin de maturation). La radioactivité est mesurée sur le mélange extrait (Hex/Ace, erreur de 10 %) puis sur le reste de la cellule par combustion à l'oxidizer (Cellule). La somme des deux est comparée avec l'activité totale mesurée par combustion de l'échantillon à l'oxidizer (Oxidizer tot).

La somme de l'extrait Hex/Ace et du reste de la cellule représente environ 85 % de la radioactivité mesurée par combustion sauf pour l'échantillon en fin de maturation FLT 2 où la somme est supérieure à la radioactivité totale mesurée (erreur importane sur l'extrait Hex/Ace) (Figure 171 et Figure 172). Les 15 % de différences peuvent être liés à une volatilisation d'une partie des molécules. Dans tous les cas, la somme des quantités extractibles et non extractibles permettent de valider les mesures par combustion (à un coefficient près). Quel que soit le compost considéré, la fraction non extraite est très faible.

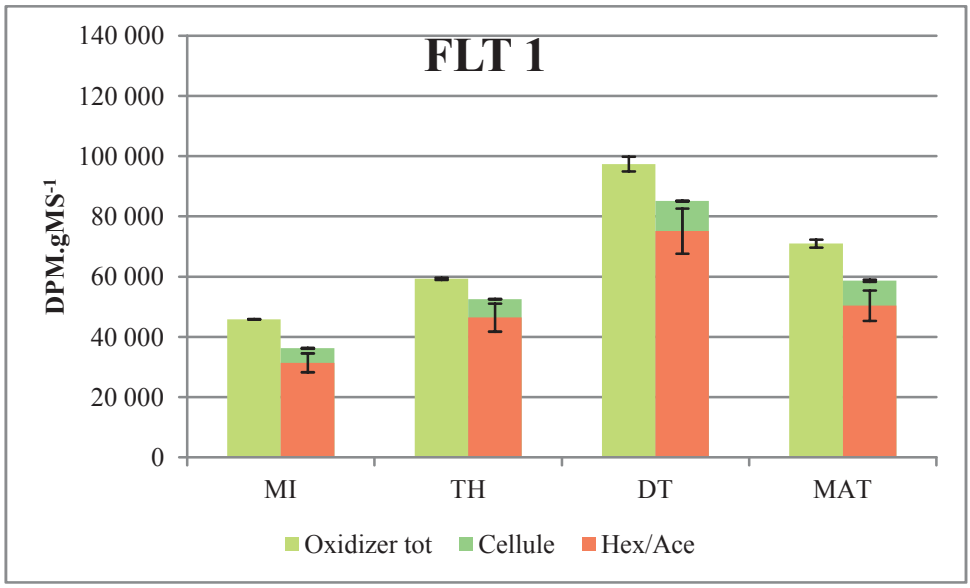



**Figure 171 : comparaison de la radioactivité totale mesurée par combustion avec la somme de la radioactivité extraite par ASE et de la radioactivité restante dans la cellule mesurée par combustion pour les échantillons de compost FLT 1**

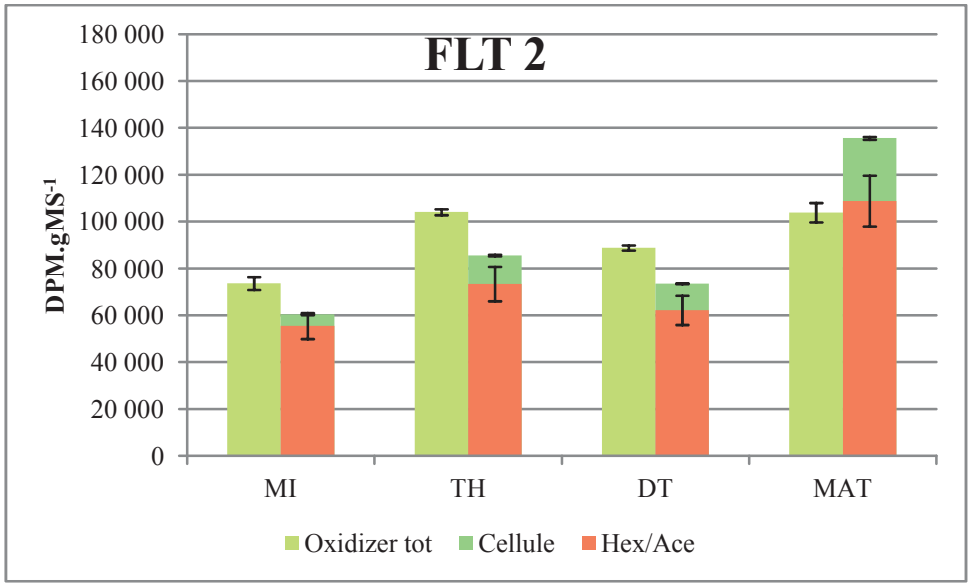



**Figure 172 : comparaison de la radioactivité totale mesurée par combustion avec la somme de la radioactivité extraite par ASE et de la radioactivité restante dans la cellule mesurée par combustion pour les échantillons de compost FLT 2**

Pour le compostage NP 1 (Figure 173), la somme de l'extrait et du reste de la cellule est équivalente à la radioactivité totale de l'échantillon. Ici, il y a peu ou pas de différences contrairement aux résultats sur le FLT. Ceci est probablement lié à la volatilité moindre des NP par rapport au FLT. On remarque que l'extractabilité au solvant augmente lors de la phase thermophile et la phase de descente de température puis diminue lors de la maturation. L'augmentation de l'extractabilité au solvant peut provenir de la dégradation de la matière organique. Lors de la maturation l'extractabilité devient moindre : les NP extractibles donc plus accessibles sont dégradés et de plus l'humification de la matière conduit au piégeage des composés sur des substances humiques.

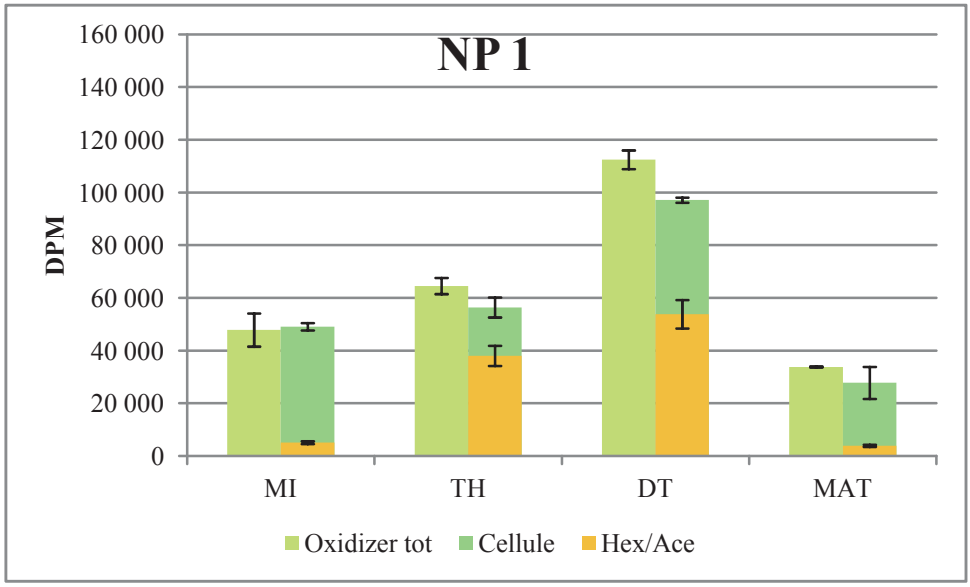



**Figure 173 : comparaison de la radioactivité totale mesurée par combustion avec la somme de la radioactivité extraite par ASE et de la radioactivité restante dans la cellule mesurée par combustion pour les échantillons de compost NP 1**

Comme pour le NP 1, la somme de l'extrait et du reste de la cellule correspond bien au total (Figure 174). On remarque ici aussi une augmentation de l'extractibilité puis une diminution.

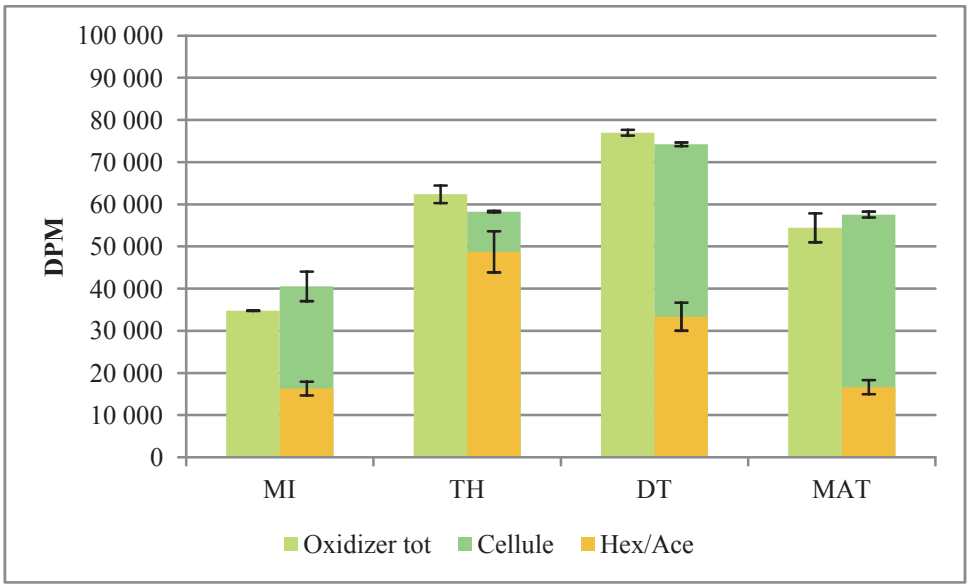



**Figure 174 : comparaison de la radioactivité totale mesurée par combustion avec la somme de la radioactivité extraite par ASE et de la radioactivité restante dans la cellule mesurée par combustion pour les échantillons de compost NP 2**

Pour le FLT, le pourcentage extractible n'évolue pas au cours du compostage alors que lorsque le NP est mélangé aux déchets verts son extractibilité diminue fortement puis les microorganismes du compostage le rendent de plus en plus accessible.

La Figure 175 représente le pourcentage de radioactivité extractible et radioactivité non extractible à chaque étape du compostage pour FLT et NP.

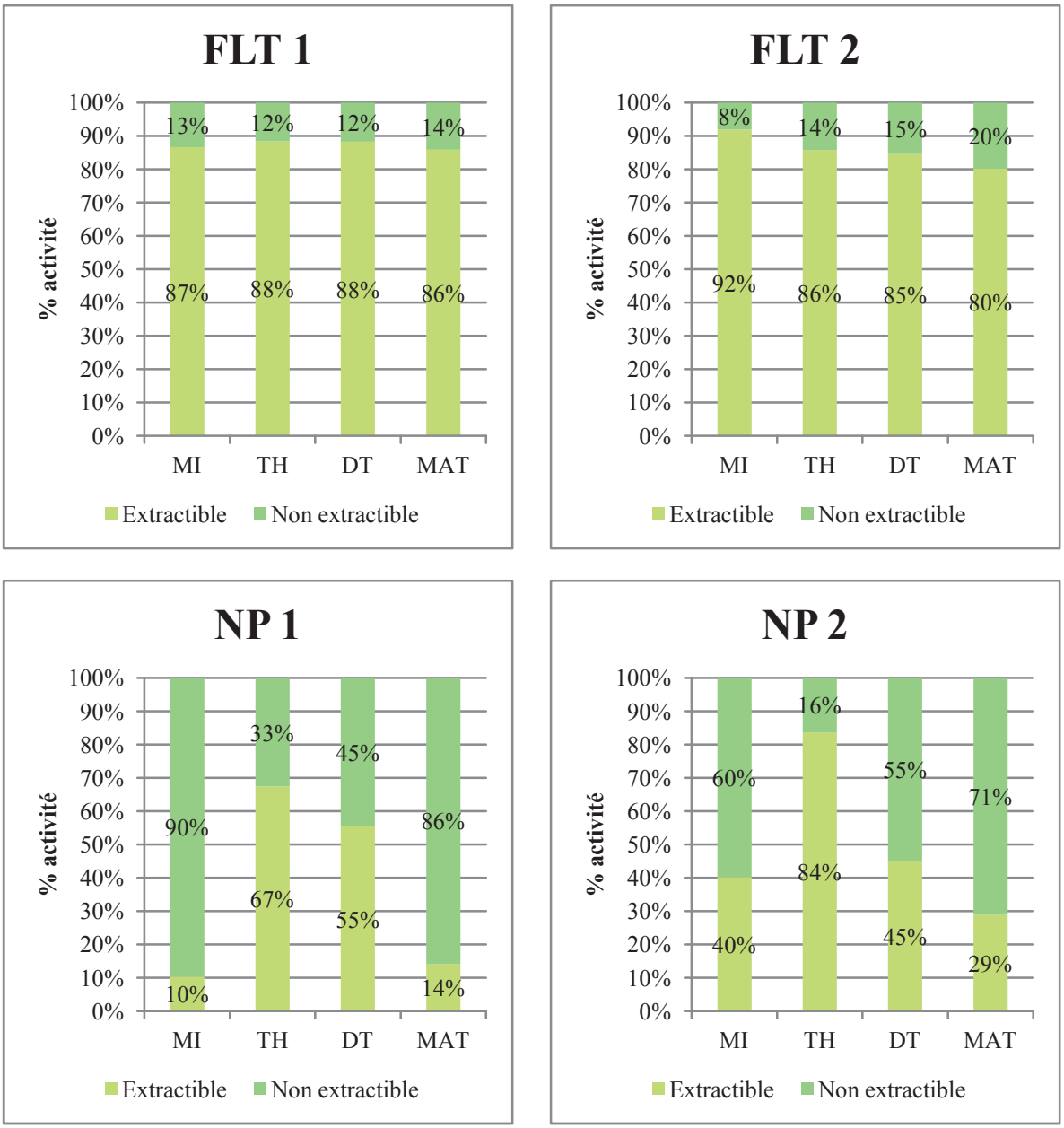



**Figure 175 : répartition extractible/non extractible à chaque étape du compostage pour FLT et NP en pourcentages de l'activité de l'échantillon**

Lors du compost FLT 1, le pourcentage non extractible reste constant. Lors du compost FLT 2, le pourcentage non extractible augmente. La différence entre les deux composts provient des abattements matière au cours du compostage : lors du compost FLT 1, la dégradation est forte dès le départ (30 % de MS), puis la MS n'est pas dégradée durant la descente de température et enfin la matière est dégradée durant la phase de maturation ; lors du compost FLT 2, la MS est moins dégradée lors de la phase thermophile (18 %) puis est graduellement dégradée durant la phase de descente de température et de maturation. L'activité microbienne est donc plus importante lors de la phase thermophile de FLT 1 que lors de la phase thermophile de FLT 2. Ainsi, les mécanismes mis en jeu dans le devenir du FLT lors de la phase thermophile sont différents : une activité biologique forte empêche la formation de résidus non extractibles alors que les mécanismes physiques permettent une formation de résidus non

extractibles. La montée en température et la phase thermophile ont donc un fort impact sur le devenir du FLT lors du compostage.

Lors du compostage des NP, le pourcentage non extractible diminue à la fin de la phase thermophile, lorsque l'activité microbienne est forte (NP 2 = 43 % abattement MS et NP 1 = 20 % abattement MS) le pourcentage non extractible est moindre, ce qui montre que l'activité microbienne influe sur la formation des résidus non extractibles. Lors de la descente de température, l'impact de la biomasse active est négligeable puisque la présence ou l'absence de dégradation de la matière conduit à la formation de résidus non extractibles. Enfin lors de la maturation, la quantité de résidus non extractibles augmente ce qui peut être lié au fait qu'une partie des NP est minéralisée lors de la maturation (il est probable que les NP dégradés soient ceux présents dans la fraction extractible Hex/Ace). Ce résultat est cohérent puisque le pourcentage non extractible est plus élevé pour le compost NP 1 où la minéralisation est beaucoup plus élevée.

Pour essayer de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu, le fractionnement est appliqué sur les échantillons de FLT.

Les bilans extractible/non-extractible et totaux confirment les mesures effectuées sur le total. Dans le paragraphe suivant, sont présentés les résultats du fractionnement des échantillons de boues et de compost sur le FLT.

### 3. Fractionnement de la matière organique lors de la digestion anaérobie suivie du compostage de boues : localisation, formes et teneurs du FLT

Le fractionnement est réalisé sur la boue d'alimentation, le digestat du dernier temps de séjour (celui qui a servi pour le compostage), le mélange initial du compost, le compost en fin de phase thermophile, le compost en fin de descente de température et le compost en fin de maturation.

Lors du fractionnement des échantillons de compost, un bilan est effectué pour vérifier si la totalité de la radioactivité introduite est récupérée : l'activité introduite est comparée à la somme de l'activité de l'extrait, du culot de fractionnement et de l'acétone qui a servi au lavage du tube. Les taux de recouvrement varient entre 90 et 99 % de l'activité introduite (des erreurs peuvent provenir des mesures de l'activité des surnageants dont l'activité est parfois proche du bruit de fond (30 DPM)). La mesure de la radioactivité sur le culot est nécessaire puisque si le bilan est réalisé uniquement sur les extraits et le culot résiduel après toutes les extractions, seulement 30 % de la radioactivité est retrouvée. Le fait de retrouver la quasi-totalité de la radioactivité introduite lors du bilan montre qu'une partie du FLT est sorbée sur les parois du tube. Toutefois cette fraction sorbée ne contamine pas les fractions extraites ensuite par désorption du FLT. Dans le cas contraire, on aurait un enrichissement de certaines fractions extraites ce qui n'est pas le cas et il faut une attaque au solvant avec des ultrasons (attaque forte) pour récupérer le FLT sorbé. Tout cela conforte dans le fait de

déterminer les répartitions de HAP et NP, polluants hydrophobes, par différence des concentrations restantes dans les culots de fractionnement.

La répartition de la radioactivité dans les échantillons de boues et boues digérées est réalisée après fractionnement de la matière organique (Figure 176).

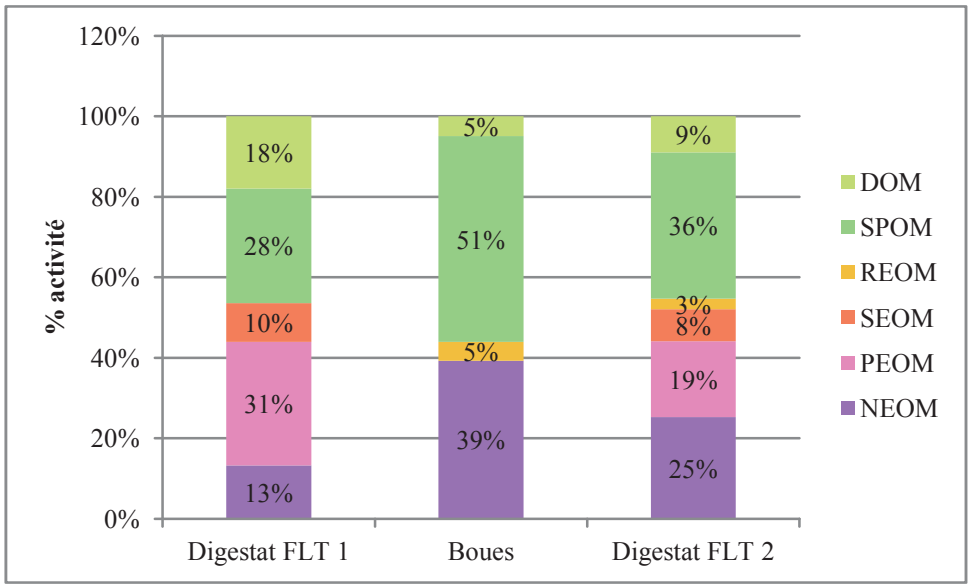



**Figure 176 : répartition de la radioactivité dans les compartiments matière des boues et des digestats en pourcentage de la radioactivité totale**

Si la digestion n'a pas été performante, une lyse de matière organique est toutefois probable et la répartition du FLT évolue. Pour les deux digestats, un enrichissement de la fraction DOM est constaté. Les fractions SPOM, REOM et NEOM diminuent. La diminution de ces fractions permet l'enrichissement des fractions SEOM et PEOM. Ainsi, la lyse de la matière organique permet de libérer la radioactivité de la matière non extractible vers des fractions plus accessibles (PEOM). La fraction SPOM, très riche en radioactivité dans la boue, permet l'enrichissement à la fois de la fraction DOM mais aussi de compartiments moins accessibles tels que SEOM. La lyse de la matière organique est très faible, ainsi, il est probable que la radioactivité restante corresponde majoritairement à du FLT. En effet, la phase particulaire des digestats est extraite à l'ASE. L'extrait, repris dans le méthanol, est analysé par HPLC et uniquement du FLT est détecté. Toutefois, l'analyse ne permet de caractériser que 80 % de l'activité extraite (pertes pendant la reprise), il est donc possible qu'une faible fraction de la radioactivité ne soit pas issue du FLT mais d'un métabolite.

La répartition de l'activité dans la phase particulaire est comparée à l'activité du mélange initial (Figure 177).

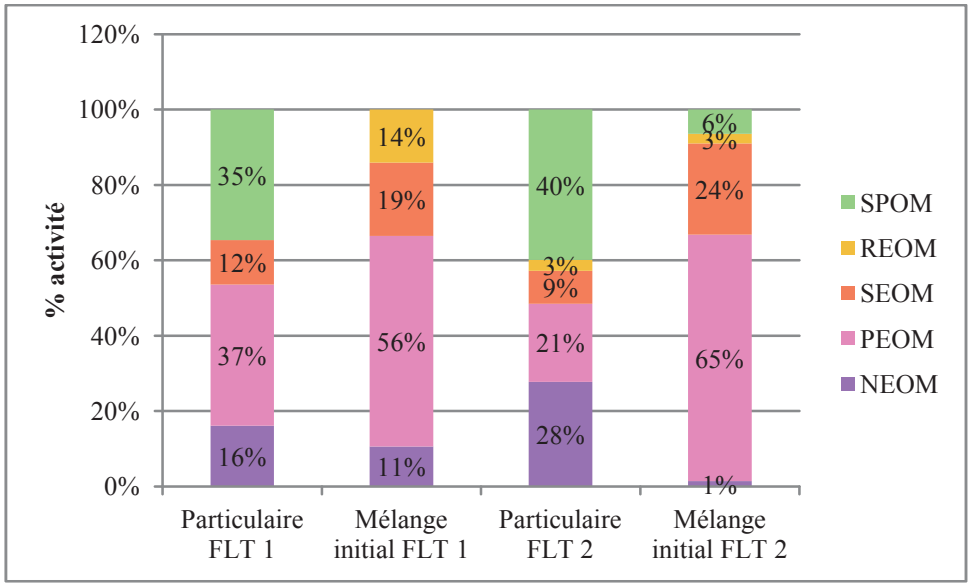



**Figure 177 : comparaison de la répartition de l'activité de la phase particulaire des boues digérées avec le mélange initial du compost**

La présence des déchets verts change totalement la répartition de la radioactivité dans les compartiments matière. La fraction NEOM diminue ainsi que la fraction SPOM. Un fort enrichissement des fractions SEOM et PEOM a lieu ce qui montre que le FLT a une forte affinité pour les composés complexes présents dans ces fractions. Le mélange avec les déchets verts diminuent donc l'accessibilité du FLT ce qui peut avoir un impact sur le devenir de cette molécule lors du compostage.

La répartition de la radioactivité lors du compostage est donnée en pourcentage de la radioactivité du mélange initial (pour les phases thermophiles et de descente de température, au vu des bilans effectués précédemment les pertes ou gains sont attribués à des accumulations d'erreurs dans ce cas, il est considéré que le bilan est à 100 % pour les premières étapes du compostage) (Figure 178 et Figure 179).

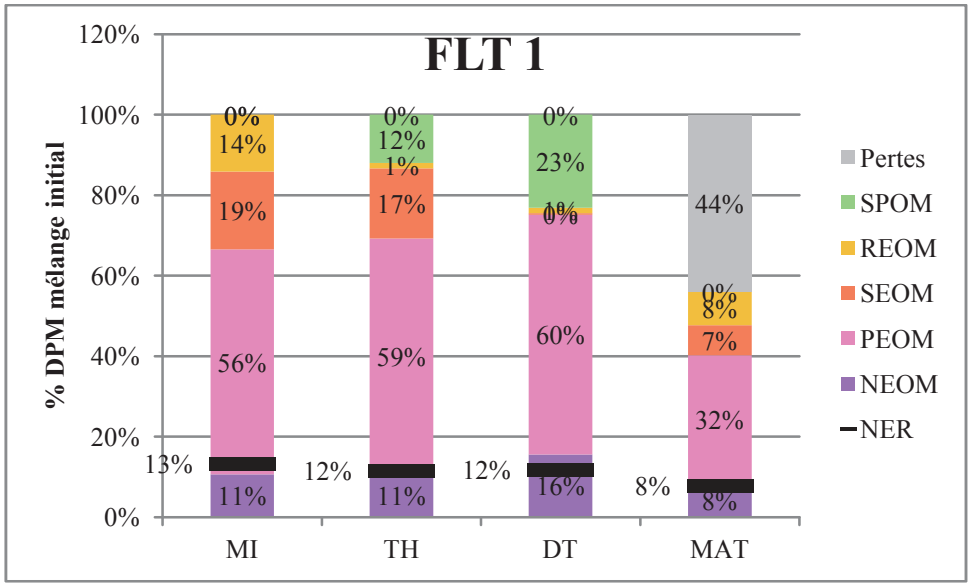



**Figure 178 : répartition de la radioactivité dans les compartiments matière au cours du compostage FLT 1**

Au cours des premières étapes du compostage, les fractions les plus accessibles du mélange initial (REOM et SEOM) disparaissent au profit d'une fraction encore plus accessible (SPOM) et d'une autre largement moins accessible (PEOM). Les résidus non extractibles au mélange hexane/acétone par l'ASE (NER) correspondent à 13 % de la radioactivité. Ainsi, il semble que les NER soient présents dans la fraction NEOM.

Lors de la phase thermophile, les fractions SEOM, PEOM et NEOM n'évoluent pas. La fraction REOM diminue fortement au profit de la fraction SPOM : il y a libération de la radioactivité vers un compartiment plus accessible. Le pourcentage de NER reste constant et semble toujours correspondre à la fraction NEOM. Lors de la descente de température, la fraction REOM reste faible (1 %) et la fraction SEOM disparaît au profit de SPOM qui continue à s'enrichir en radioactivité. Ici encore, la fraction de NER correspond à la fraction de NEOM.

Lors de la maturation, une perte en radioactivité est constatée. La fraction SPOM disparaît et les fractions REOM et SEOM sont de nouveau présentes. La fraction PEOM diminue de 50 % environ. Il semble que la perte de PEOM permettent l'enrichissement des fractions REOM et SEOM. Les fractions NER et NEOM sont toujours cohérentes entre elles et n'évoluent pas. La perte d'activité lors de la maturation semble provenir de l'appauvrissement du compartiment PEOM au profit des compartiments plus accessibles qui eux-mêmes s'appauvrissent.

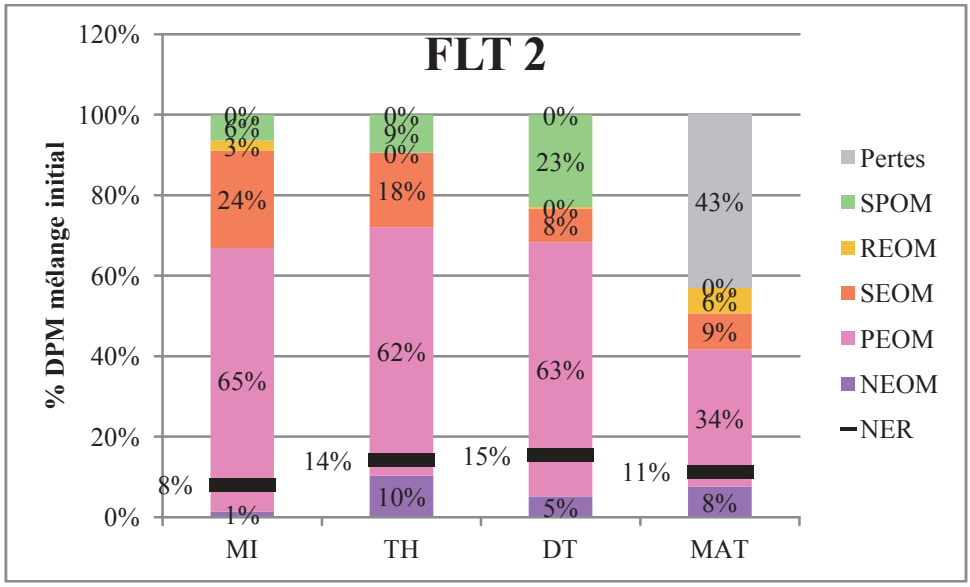



**Figure 179 : répartition de la radioactivité dans les compartiments matière au cours du compostage FLT 2**

Le mélange initial contient une fraction SPOM de 6 %. La fraction REOM est de 6% et la fraction SEOM est de 24 %. Comme pour le mélange initial du compost FLT 1, la fraction majoritaire est PEOM avec 65 % de la radioactivité. La fraction NEOM est de 1 %. Les NER sont de 8 %. Ici, il semble qu'une partie des NER soient extraites dans la fraction PEOM. Comme pour le compost FLT 1, les fractions REOM et SEOM diminuent lors de la phase thermophile et la phase de descente de température au profit de la fraction SPOM. En fin de maturation, la fraction PEOM diminue. Il semble y avoir un enrichissement des fractions SEOM et REOM puis un appauvrissement qui conduit aux « pertes ». Enfin comme pour le compostage FLT 1, la fraction SPOM disparaît lors de la maturation.

A chaque étape du fractionnement, un culot est sacrifié, sa radioactivité totale est mesurée puis le reste du culot est extrait à l'ASE. La radioactivité est mesurée sur l'extrait puis sur le reste de la cellule. Les extraits ASE (Hex/Ace) sont ensuite évaporés puis repris dans le méthanol pour analyse HPLC.

Le bilan extractible/non extractible effectué sur les culots et comparé aux activités introduites à chaque fractionnement montre que les résidus non extractibles polluants ne sont pas extraits lors des extractions SPOM, REOM et SEOM. Il semble donc bien y avoir une correspondance entre le non extractible matière et les résidus non extractibles. Ce qui signifie que les résidus non extractibles lors du compostage sont présents dans les fractions ligneuses les plus réfractaires de la matière organique.

L'activité de l'échantillon repris dans le méthanol est mesurée puis comparée avec l'activité de l'extrait (en DPM totaux) afin de quantifier la quantité exacte de radioactivité caractérisée par HPLC (Figure 180 et Figure 181). Les culots PEOM ne sont pas extraits car il ne reste pas suffisamment de matière pour réaliser l'extraction.

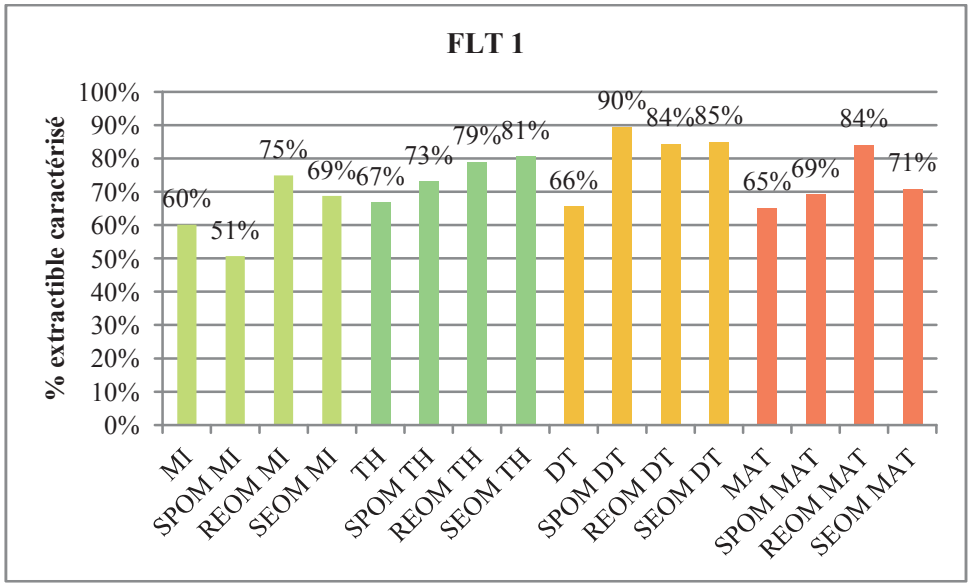



**Figure 180 : pourcentage de radioactivité restante après évaporation de l'extrait ASE et reprise dans le méthanol pour les échantillons de compost fractionnés FLT 1**

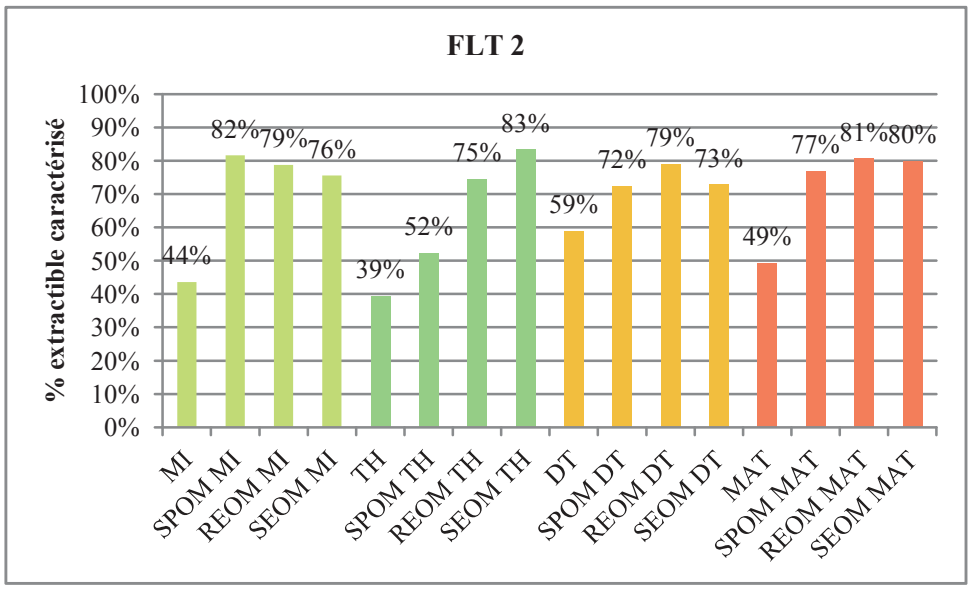



**Figure 181 : pourcentage de radioactivité restante après évaporation de l'extrait ASE et reprise dans le méthanol pour les échantillons de compost fractionnés FLT 2**

Les pourcentages de récupération sont très variables ; pour la plupart des échantillons, le pourcentage de récupération augmente avec l'avancement dans le fractionnement. Moins il reste de radioactivité, moins la perte est importante.

Les extraits sont comparés avec le chromatogramme de la solution de dopage en FLT (Figure 182). Pour tous les extraits, la radioactivité extraite du culot et caractérisée correspond à du FLT non transformé. Ainsi, les échantillons contiennent majoritairement du FLT non transformé. Le pourcentage non caractérisé peut correspondre à du FLT sorbé sur les parois du ballon d'évaporation, du FLT volatilisé lors du séchage par flux d'azote ou un (des) métabolite(s) sorbé(s) sur les parois du ballon ou volatilisé(s).

Solution de dopage

Extrait

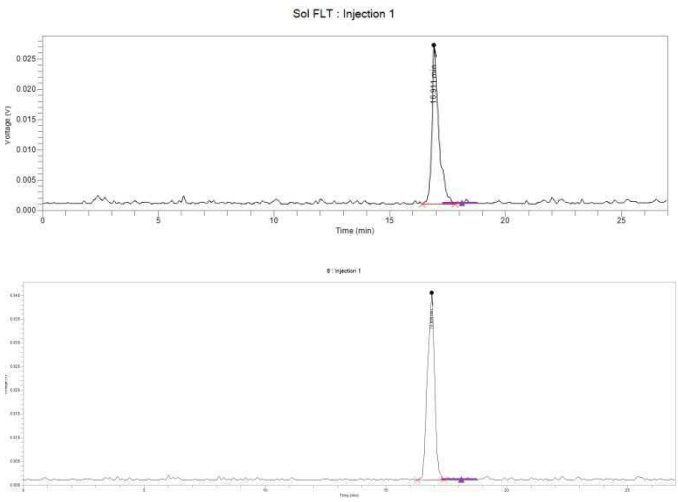



**Figure 182 : comparaison du chromatogramme de la solution de dopage en $^{14}$C-FLT avec le chromatogramme d'un extrait ASE repris dans le méthanol (un seul chromatogramme est montré, les autres sont tous semblables)**

Lors des expérimentations sans $^{14}$C, un abattement en FLT est constaté or les résidus non extractibles présents lors du compostage ne peuvent expliquer cet abattement (ils sont présents dès le mélange initial, et la formation de résidus non extractibles est faible voire nulle). Or les bilans de radioactivité montrent une perte encore inexpliquée de radioactivité lors de la phase de maturation. Il est donc probable qu'il y ait production lors du compostage d'un métabolite du FLT non détecté ici. Aux erreurs de bilans près (on considère alors que la perte de radioactivité lors de la maturation n'est pas une erreur), il apparaît que la perte de radioactivité se fait au niveau de la phase de maturation pour les deux compostages. Soit le FLT n'est pas attaqué durant les premières phases de compostage puis est transformé lors de la maturation, soit le FLT est transformé au cours du compostage mais que les éventuels métabolites produits pendant les premières phases ne sont pas volatiles puis qu'une transformation a lieu lors de la maturation, produisant un composé volatile qui n'est pas piégé (il n'y a pas de piège à COV (méthanol pur) dans l'enceinte de maturation).

## E. Conclusions

Les résultats obtenus avec le $^{14}$C confortent le lien fort entre la localisation des micropolluants organiques et le type de matière organique. La digestion anaérobie n'ayant pas été complète, il n'est donc pas possible de préciser les mécanismes de dissipation des micropolluants organiques lors de la digestion anaérobie. Les résultats sur le compost montrent que lors du compostage, une partie des micropolluants organiques peut être dégradée. Les NP sont minéralisés lors de la phase de maturation et il semble qu'un métabolite volatile des NP soit produit. Bien que les résultats ne montrent aucune minéralisation du FLT et de la SMX lors du compostage, les bilans en $^{14}$C montrent d'importants abattements lors de la phase de maturation qui laissent supposer la production de métabolites de ces deux composés. Les résidus non extractibles sont présents tout au long du compostage et ce dès le mélange initial ce qui signifie que la formation de ces résidus n'est pas un mécanisme de dissipation du FLT lors du compostage.

Les résultats de ce dernier chapitre montrent l'importance de la phase de maturation pour l'élimination du Flt et du NP. Or, le chapitre précédent montre l'importance de la phase thermophile. Ces résultats semblent au premier abord contradictoire. Toutefois, lors des expérimentations au $^{14}C$ c'est l'activité de l'échantillon qui est mesurée et elle peut aussi bien correspondre à la molécule mère ou à des métabolites alors que les dosages effectués sans marquage permettent seulement de mesurer les quantités de molécules mères. Ainsi, il semble que la dissipation remarquée lors du chapitre précédent puisse être liée à la formation d'un ou plusieurs métabolites du Flt et du NP et que ce soit ce ou ces métabolites qui sont dégradés lors de la phase de maturation. Dans ce cas, il semble que les bactéries, microorganismes majoritaires lors de la phase thermophile soient capables de transformer le Flt ou le NP est que les microorganismes de maturation soient capables de transformer les métabolites soit en d'autres molécules soit en dioxyde de carbone.

La dissipation des molécules telles que le Flt et le NP lors du compostage de boues digérées peut donc être améliorée en identifiant les paramètres clefs qui jouent sur la dégradation des molécules lors de la phase thermophile et lors de la maturation. Il est important alors de pouvoir mieux contrôler le déroulement du compostage pour améliorer la dissipation des micropolluants organiques. Les résultats des chapitres précédents montrent que le devenir de la matière organique pilote le devenir des HAP et NP. De plus, la localisation de ces familles de micropolluants est fortement liée à la composition de la matière organique et, dans le cas du Flt, les résultats avec la molécule marquée tendent à démontrer que la présence dans les compartiments les plus accessibles permet la dissipation par dégradation des molécules. L'ajout de substrat pour lequel les HAP ou NP ont une forte affinité mais qui soit aussi accessibles permettrait d'améliorer l'élimination de ces composés lors du compostage.

Toutefois, si les NP ou leurs métabolites sont dégradés lors du compostage, il apparaît que la dégradation probable du Flt soit liée à la formation d'un métabolite volatile. Ce composé n'est pas identifié. Or cette nouvelle molécule pourrait être plus toxique que la molécule mère. Il convient donc de mieux étudier les métabolites pouvant être produits par dégradation afin, le cas échéant, de limiter la formation de molécules plus toxiques lors des procédés. Dans ce cas il faut alors privilégier la formation de résidus non extractibles. Etant donné les résultats du Flt, il apparaît que l'ajout de matière type lignocellulose permettrait de favoriser la formation de ces résidus non extractibles et donc de séquestrer les composés dans la matière organique. Cependant, si les résidus non extractibles sont peu susceptibles d'être relibérés dans les sols à court termes car la matière organique non extractible est peu dégradable, sur une échelle de temps plus longue, la modification de cette matière organique pourrait permettre la libération des composés piégés et donc de voir une augmentation des pollutions dans les sols sur lesquelles ces matières organiques sont épandues.

# VIII. Conclusions et perspectives

# VIII. Conclusions et perspectives

L'objectif principal de cette étude était de mieux comprendre le lien entre l'évolution de la matière organique et la dynamique des micropolluants organiques au cours de la digestion anaérobie et du compostage de boues. Afin d'y répondre, nous avons développé une méthode de caractérisation poussée de la matière organique basée sur une extraction séquentielle au moyen de solutions de plus en plus agressives ; nous l'avons couplée à la quantification des micropolluants organiques dans chaque sous compartiment. Cette méthode a ensuite été appliquée sur des échantillons issus soit de filières industrielles, soit de réacteurs en laboratoire en présence de molécules ajoutées avec ou sans radio marquage.

L'hypothèse est que le devenir des micropolluants organiques lors du traitement de déchets organiques est lié au devenir de la matière organique. Nous avons décidé de travailler sur des matrices modèles type boues, sur des procédés modèles (digestion anaérobie et compostage) ainsi que sur des composés modèles (hydrocarbures aromatiques polycycliques et nonylphénols et composés émergents pharmaceutiques). Nous avons, dans un premier temps, vérifié que les micropolluants organiques se distribuaient au sein des compartiments matière ainsi extraits et déterminé quels sont les facteurs qui pilotent cette répartition.

Les incubations anaérobies des boues ont permis de valider notre approche. Elles montrent en effet que les micropolluants organiques (HAP et NP) se répartissent dans les différents compartiments de la matière organique. Cette répartition est à la fois dépendante de la composition des compartiments de la matière organique mais aussi des propriétés physicochimiques des micropolluants organiques. Lors de l'incubation, les compartiments « matière » les plus accessibles sont dégradés et se complexifient ; la dégradation de ces compartiments en fonction de leur accessibilité chimique prouve aussi qu'un lien existe entre l'accessibilité chimique et l'accessibilité biologique de la matière organique lors de la digestion anaérobie. L'approche mise en place pour quantifier et caractériser les compartiments matière lors de la digestion anaérobie est donc pertinente. L'évolution de la matière organique implique une redistribution des micropolluants organiques. La comparaison entre deux inocula différents conforte le lien entre la nature des compartiments matière et la distribution des micropolluants organiques. Elle montre aussi que l'approche est pertinente car elle permet de discriminer des mélanges différents. La comparaison entre les mélanges dopés et non dopés avec les micropolluants organiques met en exergue le lien entre la présence des micropolluants organiques dans les compartiments accessibles de la matière organique et leur bioaccessibilité au cours de la digestion anaérobie, ainsi que les phénomènes de vieillissement (localisation dans des compartiments peu accessibles) qui s'opèrent au cours du traitement. Si une partie des micropolluants organiques est relocalisée dans les compartiments les moins accessibles de la matière organique, ce qui peut limiter leur dissipation par dégradation mais favoriser une éventuelle dissipation par formation de résidus non

extractibles, une partie des micropolluants organiques est relocalisée dans des fractions plus accessibles, probablement par lyse de la matière organique lors du procédé de digestion anaérobie mais aussi par augmentation de la complexité de ces compartiments, ce qui entraîne une affinité plus forte pour ces compartiments. La relocalisation vers ces compartiments plus accessibles semble favoriser une dissipation par dégradation biologique.

Afin de pouvoir étudier de la même façon les échantillons de boues après différents traitements biologiques (compostage, digestion anaérobie et digestion anaérobie suivie de compostage), il a été nécessaire d'adapter la méthodologie de caractérisation de la matière organique en combinant des approches centrées soit uniquement sur des boues, soit uniquement sur des déchets verts. Nous avons ainsi développé un protocole de fractionnement nous permettant d'avoir accès à 70 – 80 % de la matière organique caractérisée par son accessibilité chimique et sa complexité grâce à une analyse spectrale en fluorescence 3D. Ce protocole, une fois validé, a été utilisé sur des échantillons issus des fermentations en laboratoire.

L'étude des paramètres macroscopiques de la boue avant et après digestion anaérobie en laboratoire montre de bons abattements en termes de matière sèche, matière volatile et DCO. Le procédé est donc performant. L'étude du fractionnement de la matière organique au cours de la digestion anaérobie montre la dégradation de plus en plus faible de chaque compartiment en fonction de la décroissance de leur accessibilité chimique. Pour chaque compartiment (excepté PEOM), une augmentation de la complexité de la matière organique est constatée. Cela conforte que l'accessibilité chimique ici effectuée mime l'accessibilité biologique lors de la digestion anaérobie. La caractérisation des constituants des mélanges initiaux du compost de boues non digérées et du compost de boues digérées en laboratoire montre que le fractionnement est additif puisque la moyenne des fractionnements des constituants permet de retrouver la répartition de la DCO ainsi que la complexité des compartiments du mélange initial. Ce résultat montre la force du protocole utilisé. De plus, cela apporte un intérêt dans la caractérisation des substrats entrant en digestion anaérobie ou compostage. Par exemple, s'il est souhaité étudié des déchets organiques potentiellement recyclables par traitement biologique, il sera aussi possible d'étudier les mélanges de ces substrats sans avoir à réaliser le mélange et à le caractériser. Lors du compostage, des différences sont notés entre le compost de boues et le compost de boues digérées. Toutefois, les tendances de dégradation de chaque compartiment matière, déterminées par le fractionnement, sont identiques entre les composteurs. Le fractionnement permet de mettre en évidence la forte dégradation de la matière organique issu des holocelluloses lors de la phase thermophile puis les effets de la maturation (humification) sur le compost à travers la fluorescence 3D. Contrairement à la digestion anaérobie, le taux de dégradation de chaque fraction ne diminue pas avec la diminution de l'accessibilité. La biodégradation est en effet dépendante de l'accessibilité mais aussi de la composition de la matière organique et des processus de dégradation mis en œuvre dans chaque

procédé. Malgré tout, comme pour la digestion anaérobie, le fractionnement explicite et représente le devenir de la matière organique lors du compostage.

Le dosage des HAP et NP lors du compostage des boues montre que ce procédé est capable d'éliminer une partie des micropolluants organiques. La localisation des HAP et NP n'a pu être effectuée, mais les résultats montrent que la dissipation des micropolluants organiques est fortement liée au devenir de la matière organique. Les microorganismes transformant la matière organique sont fortement impactés par l'humidité du mélange et il semble que cet impact sur la transformation de la matière organique joue aussi sur le devenir des HAP et NP. Cela conforte que le devenir des HAP et NP lors du compostage est lié au devenir de la matière organique.

Le procédé de digestion est capable d'éliminer une partie des micropolluants organiques (HAP et NP). La répartition des NP dans les boues non digérées montre une forte affinité pour le compartiment SEOM, riche en composés type humique. La digestion ne permet pas d'éliminer les NP dans le réacteur caractérisé. Toutefois, une modification de la localisation des NP est constatée lors de la digestion anaérobie : libération des NP vers des compartiments beaucoup plus accessibles comme SPOM et REOM. Dans le cas des NP, il n'y a pas de stabilisation des composés dans les compartiments les moins accessibles et les molécules deviennent plus disponibles. Le compostage des boues digérées montre aussi des abattements en HAP et NP. Tout comme pour le compostage des boues non digérées, il semble y avoir un lien fort entre le devenir des HAP et NP et le devenir de la matière organique. Lors du mélange avec les déchets verts, la localisation des NP (uniquement apportés par les boues digérées) change complètement, ce qui signifie que le mélange d'une matière organique avec un autre entraîne une relocalisation des NP. Ceux-ci sont relocalisés dans le mélange initial vers des compartiments moins accessibles. Les résultats montrent que la première phase du compostage (phase thermophile) a une importance dans la dissipation des HAP et NP puisque c'est pendant cette étape que sont dissipés le plus de molécules. Lors de cette phase thermophile, les NP sont à la fois dissipés et relocalisés vers des fractions beaucoup plus accessibles. Durant la descente de température, les NP se répartissent majoritairement dans le compartiment SEOM, riches en composés humiques. Enfin, la maturation permet de commencer à relibérer les NP vers des compartiments plus accessibles.

L'étude précédente est ensuite complétée par des expérimentations au $^{14}C$ (fluoranthène FLT, nonylphénol NP et sulfaméthoxazole SMX) afin d'identifier les processus de dissipation. Bien que la digestion anaérobie n'ait pas été complète et ne permette pas de préciser réellement les mécanismes de dissipation des micropolluants organiques lors de ce procédé, nous n'avons pas vu de minéralisation des composés ni de formation de résidus non extractibles mais une relocalisation, il y a donc eu probablement une transformation des composés et une production de métabolites. Le compostage des boues digérées a permis de mettre en évidence les phénomènes de dissipation des micropolluants organiques. Une minéralisation du NP est constatée lors de la phase de maturation avec probablement

production d'un métabolite volatile. Une diminution de la quantité de radioactivité totale du FLT ou de la SMX lors la phase de maturation des composts et une absence de $^{14}C\text{-}CO_2$ dans le piège à dioxyde de carbone tendent à montrer la dégradation des molécules en métabolites (volatiles) lors de la maturation. Les résultats obtenus mettent donc en évidence l'importance de la phase de maturation sur la dégradation des micropolluants organiques. La localisation du $^{14}C$-FLT dans les compartiments matière tend à montrer que les résidus non extractibles ne sont pas les principaux mécanismes de dissipation de cette molécule lors du compostage car la quantité de ces résidus est globalement constante et présente dès le mélange initial. Le compostage permet au contraire de dégrader la matière et permet au FLT de se relocaliser vers des fractions plus accessibles. Les expérimentations ont permis d'identifier des points critiques qui sont utiles pour les expérimentations : la forte probabilité d'avoir des métabolites implique de trouver des moyens pour capter ou extraire puis analyser/identifier ces métabolites (certains peuvent être plus toxiques que la molécule mère).

Le couplage de la caractérisation des compartiments de la matière organique avec la localisation des micropolluants organiques au sein de ces compartiments permet de mieux comprendre la dynamique des micropolluants organiques et les processus (sorption, biodégradation) qui régissent leur élimination. L'hypothèse du lien entre le devenir de la matière organique et le devenir des micropolluants organiques est validée.

D'un point de vue technologique, tous les procédés favorisant la présence de compartiments accessibles présentant une complexité intermédiaire (accessible et disponible donc pas de substances humiques trop complexes) pourrait accroître la dissipation en augmentant la dégradation. L'inverse peut aussi être envisagé : augmentation de la formation de résidus liés, augmentation des temps de séjour, favorisation de l'humification, etc. cela soulève toutefois des interrogations. En effet, favoriser la présence des micropolluants dans les compartiments les plus accessibles pourrait permettre une amélioration de la dissipation notamment par biodégradation lors du procédé. Toutefois, cette dégradation peut conduire à la formation de métabolites qu'il convient de maîtriser pour éviter la production de molécules plus toxiques. Si les micropolluants présents dans les compartiments les plus accessibles ne sont pas dégradés, ils peuvent alors être plus disponibles et donc facilement dégradés dans les sols. Toutefois, le mélange de la matière organique avec la matière organique du sol peut changer leur localisation et donc entraîner ces composés facilement extractibles vers des fractions de sol peu disponible et peu dégradables où il y aura une forte contamination et une faible élimination des composés. Favoriser la formation de résidus non extractibles est une bonne solution mais à court terme. En effet, les polluants sont piégés sur des matières organiques très peu dégradables mais à long termes ces matières seront transformées et pourront peut-être libérer les composés dans les sols.

L'étude menée ici montre que les micropolluants organiques ont des comportements différents au sein d'un même procédé. Ce qui montre que la structure et donc les propriétés physicochimiques des molécules impacte leur devenir. Ici, les HAP et NP ont été étudiés en les considérant comme

composés modèle mais ils ne sont pas les seuls micropolluants existants. Il pourrait alors être intéressant d'effectuer cette approche sur d'autres familles de composés comme les pesticides ou les produits pharmaceutiques qui auront des comportements probablement très différents. Cependant, l'étude de molécules pharmaceutiques, par exemple, demande des développements en termes d'analyses puisque ces molécules ont souvent un ou plusieurs pKa. Le fractionnement de la matière organique étant basé sur des attaques à des pH différents, cela pourrait impacter l'extraction des molécules et il pourrait avoir « contamination » d'un extrait par une fraction de la molécule présente dans un autre compartiment que celui extrait.

S'il existe de nombreux micropolluants organiques, certains ne sont pas retrouvés uniquement dans les boues d'épuration. Ainsi, il apparaît que l'étude avec la même approche d'autres matrices serait très intéressante. Les matrices type fumiers ou lisiers peuvent contenir des composés pharmaceutiques et ont un fort pouvoir fermentescible ce qui les rend valorisables en digestion anaérobie par exemple.

La localisation des micropolluants organiques est liée à la composition de la matière organique. Or certains procédés de traitement des boues ne dégradent pas la matière organique mais peuvent la transformer donc impacter la localisation et la disponibilité des micropolluants organiques. L'approche développée ici pourrait être utilisée sur des procédés de chaulage, par exemple, fortement utilisé en traitement des boues avant épandage.

La méthodologie mise en place ici peut aussi s'appliquer à des systèmes sol/matière fertilisante pour déterminer à la fois l'évolution de la matière organique dans le sol et celle des micropolluants organiques associés. L'utilisation de la méthodologie de fractionnement et de caractérisation de la matière organique peut servir aussi à mettre en place des indicateurs ou des variables utiles pour la modélisation du devenir de la matière organique lors de la digestion anaérobie, du compostage ou après épandage. Cette modélisation pourrait aussi inclure un module décrivant le devenir des micropolluants organiques en lien avec le devenir matière. Cela permettrait de mieux appréhender les paramètres pilotant la dégradation de la matière organique mais aussi le devenir des micropolluants organiques afin d'optimiser les systèmes de traitement pour fournir des produits épandables ayant une bonne qualité en termes de matière organique mais aussi pour garantir l'innocuité des matières en termes de micropolluants organiques.

# IX. Références bibliographiques


Abad, E., Martínez, K., Planas, C., Palacios, O., Caixach, J., Rivera, J., 2005. Priority organic pollutant assessment of sludges for agricultural purposes. Chemosphere 61, 1358–69.

ADEME, 2012. Chiffres-Clefs, Déchets, édition 2012.

Adsul, M.G., Singhvi, M.S., Gaikaiwari, S.A., Gokhale, D. V, 2011. Development of biocatalysts for production of commodity chemicals from lignocellulosic biomass. Bioresour. Technol. 102, 4304–12. doi:10.1016/j.biortech.2011.01.002

Ahel, M., Giger, W., Molnar, E., Ibric, S., 2000. Determination of nonylphenol polyethoxylates and their lipophilic metabolites in sewage effluents by normal-phase high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. Croat. Chem. Acta 73, 209–227.

Andreadakis, A.D., 1993. Physical and chemical properties of activated sludge floc. Water Res. 27, 1707–1714. doi:10.1016/0043-1354(93)90107-S

Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., van Lier, J.B., 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. Water Sci. Technol. 59, 927–34. doi:10.2166/wst.2009.040

Aparicio, I., Santos, J.L., Alonso, E., 2009. Limitation of the concentration of organic pollutants in sewage sludge for agricultural purposes: A case study in South Spain. Waste Manag. 29, 1747–53. doi:10.1016/j.wasman.2008.11.003

Balaban, M., Ucar, G., 1999. The effect of the duration of alkali treatment on the solubility of polyoses. Turkish J. Agric. For. 23, 667–671.

Barret, M., 2009. Devenir des perturbateurs endocriniens HAPs / NP / PCBs au cours de la digestion anaérobie de boues contaminées : rôle de la biodisponibilité et du cométabolisme. Université Montpellier II.

Barret, M., Barcia, G.C., Guillon, A., Carrère, H., Patureau, D., 2010a. Influence of feed characteristics on the removal of micropollutants during the anaerobic digestion of contaminated sludge. J. Hazard. Mater. 181, 241–7. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.05.003

Barret, M., Carrère, H., Delgadillo, L., Patureau, D., 2010b. PAH fate during the anaerobic digestion of contaminated sludge: Do bioavailability and/or cometabolism limit their biodegradation? Water Res. 44, 3797–806. doi:10.1016/j.watres.2010.04.031

Barret, M., Delgadillo-Mirquez, L., Trably, E., Delgénès, N., Braun, F., Cea-Barcia, G., Steyer, J.P., Patureau, D., 2012. Anaerobic Removal of Trace Organic Contaminants in Sewage Sludge: 15 Years of Experience. Pedosphere 22, 508–517. doi:10.1016/S1002-0160(12)60035-6

Baßmann-Schnitzler, F., Séquaris, J.-M., 2005. Sorption properties of hydrophobically modified poly(acrylic acids) as natural organic matter model substances to pyrene. Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp. 260, 119–128. doi:10.1016/j.colsurfa.2005.04.001

Bayané, A., Guiot, S.R., 2010. Animal digestive strategies versus anaerobic digestion bioprocesses for biogas production from lignocellulosic biomass. Rev. Environ. Sci. Bio/Technology 10, 43–62. doi:10.1007/s11157-010-9209-4

Bayard, R., Gourdon, R., 2007. Traitement biologique des déchets, T.I. ed.

Beausse, J., 2004. Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. TrAC Trends Anal. Chem. 23, 753–761. doi:10.1016/j.trac.2004.08.005

Benabdallah El-Hadj, T., Dosta, J., Márquez-Serrano, R., Mata-Alvarez, J., 2007. Effect of ultrasound pretreatment in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion with emphasis on naphthalene and pyrene removal. Water Res. 41, 87–94. doi:10.1016/j.watres.2006.08.002

Bernal-Martínez, A., Carrère, H., Patureau, D., Delgenès, J.P., 2005. Combining anaerobic digestion and ozonation to remove PAH from urban sludge. Process Biochem. 40, 3244–3250. doi:10.1016/j.procbio.2005.03.028

Blanchard, M., Teil, M.J., Ollivon, D., Legenti, L., Chevreuil, M., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorobiphenyls in wastewaters and sewage sludges from the Paris area (France). Environ. Res. 95, 184–97. doi:10.1016/j.envres.2003.07.003

Bouju, H., Ricken, B., Beffa, T., Corvini, P.F.-X., Kolvenbach, B. a, 2012. Isolation of bacterial strains capable of sulfamethoxazole mineralization from an acclimated membrane bioreactor. Appl. Environ. Microbiol. 78, 277–9. doi:10.1128/AEM.05888-11

Bourdat-Deschamps, M., Leang, S., Bernet, N., Daudin, J.-J., Nélieu, S., 2014. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction - ultra-high-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry: optimisation and matrix effects reduction by Quick, Easy, Cheap, Effecti. J. Chromatogr. A. doi:10.1016/j.chroma.2014.05.006

Brändli, R.C., Bucheli, T.D., Kupper, T., Mayer, J., Stadelmann, F.X., Tarradellas, J., 2007. Fate of PCBs, PAHs and their source characteristic ratios during composting and digestion of source-separated organic waste in full-scale plants. Environ. Pollut. 148, 520–8. doi:10.1016/j.envpol.2006.11.021

Braun, F., 2012. Impact des communautés microbiennes sur la dynamique de dégradation des micropolluants organiques au sein d'écosystèmes épuratoires et sur l'expression de leur toxicité. Université Montpellier II.

Brignon, J.-M., 2005. Nonylphénols et éthoxylates.

Bruno, F., Curini, R., Di Corcia, A., Fochi, I., Nazzari, M., Samperi, R., 2002. Determination of Surfactants and Some of Their Metabolites in Untreated and Anaerobically Digested Sewage Sludge by Subcritical Water Extraction Followed by Liquid Chromatography−Mass Spectrometry. Environ. Sci. Technol. 36, 4156–4161. doi:10.1021/es020002e

Bugge, T. V, Larsen, P., Saunders, A.M., Kragelund, C., Wybrandt, L., Keiding, K., Christensen, M.L., Nielsen, P.H., 2013. Filtration properties of activated sludge in municipal MBR wastewater treatment plants are related to microbial community structure. Water Res. 47, 6719–30. doi:10.1016/j.watres.2013.09.009

Bura, R., Cheung, M., Liao, B., Finlayson, J., Lee, B., Droppo, I., Leppard, G., Liss, S., 1998. Composition of extracellular polymeric substances in the activated sludge floc matrix. Water Sci. Technol. 37, 325–333. doi:10.1016/S0273-1223(98)00125-5

Byrns, G., 2001. The fate of xenobiotic organic compounds in wastewater treatment plants. Water Res. 35, 2523–2533. doi:10.1016/S0043-1354(00)00529-7

Cea-Barcia, G., 2012. Identification des mécanismes qui gèrent la disponibilité des micropolluants organiques en vue de l'optimisation de leur dégradation au sein d'écosystèmes épuratoires. Université Montpellier II.

Chang, V.S., Holtzapple, M.T., 2000. Fundamental Factors Affecting Biomass Enzymatic Reactivity. Appl. Biochem. Biotechnol. 84-86, 5–38. doi:10.1385/ABAB:84-86:1-9:5

Chefetz, B., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G., Guthrie, E.A., 2000. Pyrene Sorption by Natural Organic Matter. Environ. Sci. Technol. 34, 2925–2930. doi:10.1021/es9912877

Chen, M.-Y., Lee, D.-J., Tay, J.-H., Show, K.-Y., 2007. Staining of extracellular polymeric substances and cells in bioaggregates. Appl. Microbiol. Biotechnol. 75, 467–74. doi:10.1007/s00253-006-0816-5

Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J. a, Booksh, K., 2003. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. Environ. Sci. Technol. 37, 5701–10.

Cherney, D.J.R., 2000. Characterization of forages by chemical analysis. Forage Rumin. Nutr. 281–300.

Chiou, C.T., McGroddy, S.E., Kile, D.E., 1998. Partition Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Soils and Sediments. Environ. Sci. Technol. 32, 264–269. doi:10.1021/es970614c

Choi, M., Furlong, E.T., Moon, H.-B., Yu, J., Choi, H.-G., 2011. Contamination of nonylphenolic compounds in creek water, wastewater treatment plant effluents, and sediments from Lake Shihwa and vicinity, Korea: comparison with fecal pollution. Chemosphere 85, 1406–13.

Clarke, B.O., Smith, S.R., 2011. Review of "emerging" organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. Environ. Int. 37, 226–47. doi:10.1016/j.envint.2010.06.004

Comte, S., Guibaud, G., Baudu, M., 2006. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) resulting from activated sludge according to their type: Soluble or bound. Process Biochem. 41, 815–823. doi:10.1016/j.procbio.2005.10.014

Comte, S., Guibaud, G., Baudu, M., 2006a. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and EPS complexation properties. Enzyme Microb. Technol. 38, 237–245. doi:10.1016/j.enzmictec.2005.06.016

Comte, S., Guibaud, G., Baudu, M., 2006b. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and complexation properties of Pb and Cd with EPS. Enzyme Microb. Technol. 38, 246–252. doi:10.1016/j.enzmictec.2005.06.023

Comte, S., Guibaud, G., Baudu, M., 2007. Effect of extraction method on EPS from activated sludge: an HPSEC investigation. J. Hazard. Mater. 140, 129–37. doi:10.1016/j.jhazmat.2006.06.058

Conrad, A., Kontro, M., Keinänen, M.M., Cadoret, A., Faure, P., Mansuy-Huault, L., Block, J.-C., 2003. Fatty acids of lipid fractions in extracellular polymeric substances of activated sludge flocs. Lipids 38, 1093–1105. doi:10.1007/s11745-006-1165-y

Crampon, M., Bureau, F., Akpa-Vinceslas, M., Bodilis, J., Machour, N., Le Derf, F., Portet-Koltalo, F., 2014. Correlations between PAH bioavailability, degrading bacteria, and soil characteristics during PAH biodegradation in five diffusely contaminated dissimilar soils. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 21, 8133–45. doi:10.1007/s11356-014-2799-6

D'Abzac, P., 2010. Composition, extraction et rôle dans la fixation des éléments métalliques des polymères extracellulaires issus de biomasses épuratoires granulaires anaérobies.

De Paolis, F., Kukkonen, J., 1997. Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: Influence of pH and the structure of humic material. Chemosphere 34, 1693–1704. doi:10.1016/S0045-6535(97)00026-X

Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass : Laboratory Analytical Procedure (LAP) [WWW Document], n.d. URL http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42618.pdf (accessed 10.6.14).

Dignac, M., Urbain, V., Rybacki, D., Bruchet, A., Snidaro, D., Scribe, P., 1998. Chemical description of extracellular polymers: implication on activated sludge floc structure. Water Sci. Technol. 38, 45–53. doi:10.1016/S0273-1223(98)00676-3

Dong, J., Xia, X., Zhai, Y., 2013. Investigating particle concentration effects of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) sorption on sediment considering the freely dissolved concentrations of PAHs. J. Soils Sediments 13, 1469–1477. doi:10.1007/s11368-013-0736-9

DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal. Chem. 28, 350–356. doi:10.1021/ac60111a017

Eggen, T., Majcherczyk, A., 1998. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus Pleurotus ostreatus. Int. Biodeterior. Biodegradation 41, 111–117. doi:10.1016/S0964-8305(98)00002-X

Ehlers, L.J., Luthy, R.G., 2003. Peer Reviewed: Contaminant Bioavailability in Soil and Sediment. Environ. Sci. Technol. 37, 295A–302A. doi:10.1021/es032524f

Elefsiniotis, P., Oldham, W.K., 1994. Substrate degradation patterns in acid-phase anaerobic digestion of municipal primary sludge. Environ. Technol. 15, 741–751. doi:10.1080/09593339409385480

Fan, Z., Casey, F.X.M., Hakk, H., Larsen, G.L., 2007. Persistence and fate of 17beta-estradiol and testosterone in agricultural soils. Chemosphere 67, 886–95. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.11.040

Fernández-Sanjuan, M., Rigol, A., Sahuquillo, A., Rodríguez-Cruz, S., Lacorte, S., 2009. Determination of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates in sewage sludge: effect of sample pre-treatment. Anal. Bioanal. Chem. 394, 1525–33. doi:10.1007/s00216-009-2747-3

Fountoulakis, M., Drillia, P., Pakou, C., Kampioti, A., Stamatelatou, K., Lyberatos, G., 2005. Analysis of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge by high performance liquid chromatography following microwave-assisted extraction. J. Chromatogr. A 1089, 45–51. doi:10.1016/j.chroma.2005.05.109

Francou, C., 2003. STABILISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE AU COURS DU COMPOSTAGE DE DECHETS URBAINS : influence de la nature des déchets et du procédé de compostage - Recherche d'indicateurs pertinents. Institut National Agronomique Paris-Grignon.

Frolund, B., Griebe, T., Nielsen, P.H., 1995. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. Appl. Microbiol. Biotechnol. 43, 755–761. doi:10.1007/BF00164784

Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P.H., 1996. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. Water Res. 30, 1749–1758.

Gabriel, F.L.P., Heidlberger, A., Rentsch, D., Giger, W., Guenther, K., Kohler, H.-P.E., 2005. A novel metabolic pathway for degradation of 4-nonylphenol environmental contaminants by Sphingomonas xenophaga Bayram: ipso-hydroxylation and intramolecular rearrangement. J. Biol. Chem. 280, 15526–33. doi:10.1074/jbc.M413446200

Gallé, T., Grégoire, C., Wagner, M., Bierl, R., 2005. Bioavailability of HOC depending on the colloidal state of humic substances: a case study with PCB-77 and Daphnia magna. Chemosphere 61, 282–92. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.01.068

Gao, H., Ma, J., Xu, L., Jia, L., 2014. Hydroxypropyl-β-cyclodextrin extractability and bioavailability of phenanthrene in humin and humic acid fractions from different soils and sediments. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 21, 8620–30. doi:10.1007/s11356-014-2701-6

Garnier, C., Görner, T., Lartiges, B.S., Abdelouhab, S., de Donato, P., 2005. Characterization of activated sludge exopolymers from various origins: A combined size-exclusion chromatography and infrared microscopy study. Water Res. 39, 3044–3054.

Giger, W., Brunner, P., Schaffner, C., 1984. 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. Science (80-. ). 225, 623–625. doi:10.1126/science.6740328

Godin, B., Agneessens, R., Gofflot, S., Lamaudiere, S., Sinnaeve, G., Gerin, P.A., Delcarte, J., 2010. Review on analytical methods for lignocellulosic biomass structural polysaccharides. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 15, 165–182.

Granier, L.K., Lafrance, P., Campbell, P.G.C., 1999. An experimental design to probe the interactions of dissolved organic matter and xenobiotics : Bioavailability of pyrene and 2,2′,5,5′-tetrachlorobiphenyl to Daphnia magna. Chemosphere 38, 335–350. doi:10.1016/S0045-6535(98)00187-8

Gunasekara, A.S., Simpson, M.J., Xing, B., 2003. Identification and Characterization of Sorption Domains in Soil Organic Matter Using Structurally Modified Humic Acids. Environ. Sci. Technol. 37, 852–858. doi:10.1021/es026151e

Haitzer, M., Höss, S., Traunspurger, W., Steinberg, C., 1998. Effects of dissolved organic matter (DOM) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms — a review —. Chemosphere 37, 1335–1362. doi:10.1016/S0045-6535(98)00117-9

Haritash, A.K., Kaushik, C.P., 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. J. Hazard. Mater. 169, 1–15. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.03.137

Haynes, R.J., Murtaza, G., Naidu, R., 2009. Advances in Agronomy Volume 104, Advances in Agronomy. Elsevier. doi:10.1016/S0065-2113(09)04004-8

He, X.-S., Xi, B.-D., Wei, Z.-M., Jiang, Y.-H., Yang, Y., An, D., Cao, J.-L., Liu, H.-L., 2011. Fluorescence excitation-emission matrix spectroscopy with regional integration analysis for characterizing composition and transformation of dissolved organic matter in landfill leachates. J. Hazard. Mater. 190, 293–9. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.03.047

Hoa, P., Nair, L., Visvanathan, C., 2004. The effect of nutrients on extracellular polymeric substance production and its influence on sludge properties. Water SA 29, 437–442. doi:10.4314/wsa.v29i4.5050

Holbrook, R.D., Love, N.G., Novak, J.T., 2004. Investigation of Sorption Behavior between Pyrene and Colloidal Organic Carbon from Activated Sludge Processes. Environ. Sci. Technol. 38, 4987–4994. doi:10.1021/es035115s

Houot, S., Vergé-Leviel, C., Poitrenaud, M., 2012. Potential Mineralization of Various Organic Pollutants During Composting. Pedosphere 22, 536–543. doi:10.1016/S1002-0160(12)60038-1

Huang, M., Li, Y., Gu, G., 2010. Chemical composition of organic matters in domestic wastewater. Desalination 262, 36–42. doi:10.1016/j.desal.2010.05.037

INERIS, 2005. Rapport d'étude N°66244 - DESP - R01 - Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, Guide méthodologique.

Ji, Z., Chen, G., Chen, Y., 2010. Effects of waste activated sludge and surfactant addition on primary sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation. Bioresour. Technol. 101, 3457–62. doi:10.1016/j.biortech.2009.12.117

Jimenez, J., 2012. Organic matter characterization with 3D fluorescence spectroscopy for anaerobic digestion modeling of wastewater treatment sludge. Université Montpellier II.

Jimenez, J., Gonidec, E., Cacho Rivero, J.A., Latrille, E., Vedrenne, F., Steyer, J.-P., 2014. Prediction of anaerobic biodegradability and bioaccessibility of municipal sludge by coupling sequential extractions with fluorescence spectroscopy: towards ADM1 variables characterization. Water Res. 50, 359–72. doi:10.1016/j.watres.2013.10.048

Jin, B., Wilén, B.-M., Lant, P., 2004. Impacts of morphological, physical and chemical properties of sludge flocs on dewaterability of activated sludge. Chem. Eng. J. 98, 115–126. doi:10.1016/j.cej.2003.05.002

John, D.M., House, W.A.A., White, G.F.G.F., 2000. Environmental fate of nonylphenol ethoxylates: Differential adsorption of homologs to components of river sediment. Environ. Toxicol. Chem. 19, 293–300. doi:10.1002/etc.5620190207

Jorand, F., Bouebigne, F., Block, J., Urbain, V., 1998. Hydrophobic/hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances. Water Sci. Technol. 37, 307–315. doi:10.1016/S0273-1223(98)00123-1

Jung, H.-J.G., 1997. Analysis of Forage Fiber and Cell Walls in Ruminant Nutrition. J. Nutr. 127, 810S–.

Kadlec, M.C., Benson, W.H., 1995. Relationship of aquatic natural organic material characteristics to the toxicity of selected insecticides. Ecotoxicol. Environ. Saf. 31, 84–97. doi:10.1006/eesa.1995.1047

Kang, S., Xing, B., 2005. Phenanthrene Sorption to Sequentially Extracted Soil Humic Acids and Humins. Environ. Sci. Technol. 39, 134–140. doi:10.1021/es0490828

Koullas, D.P., Christakopoulos, P., Kekos, D., Macris, B.J., Koukios, E.G., 1992. Correlating the effect of pretreatment on the enzymatic hydrolysis of straw. Biotechnol. Bioeng. 39, 113–6. doi:10.1002/bit.260390116

Kraaij, R. (H. ., Ciarelli, S., Tolls, J., Kater, B.J., Belfroid, A., 2001. Bioavailability of lab-contaminated and native polycyclic aromatic hydrocarbons to the amphipod Corophium volutator relates to chemical desorption. Environ. Toxicol. Chem. 20, 1716–1724. doi:10.1002/etc.5620200814

Kukkonen, J., McCarthy, J.F., Oikari, A., 1990. Effects of XAD-8 fractions of dissolved organic carbon on the sorption and bioavailability of organic micropollutants. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 19, 551–557. doi:10.1007/BF01059074

Langdon, K. a, Warne, M.S.J., Smernik, R.J., Shareef, A., Kookana, R.S., 2011. Selected personal care products and endocrine disruptors in biosolids: an Australia-wide survey. Sci. Total Environ. 409, 1075–81. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.12.013

Larcher, S., Yargeau, V., 2012. Biodegradation of sulfamethoxazole : current knowledge and perspectives 309–318. doi:10.1007/s00253-012-4326-3

Lashermes, G., 2010. Evolution des polluants organiques au cours du compostage de déchets organiques : approche expérimentale et modélisation. AgroParisTech.

Lashermes, G., Barriuso, E., Houot, S., 2012. Dissipation pathways of organic pollutants during the composting of organic wastes. Chemosphere 87, 137–143. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.12.004

Lashermes, G., Barriuso, E., Le Villio-Poitrenaud, M., Houot, S., 2012. Composting in small laboratory pilots: performance and reproducibility. Waste Manag. 32, 271–7. doi:10.1016/j.wasman.2011.09.011

Lashermes, G., Houot, S., Barriuso, E., 2010. Sorption and mineralization of organic pollutants during different stages of composting. Chemosphere 79, 455–462. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.01.041

Laureano-Perez, L., Teymouri, F., Alizadeh, H., Dale, B.E., 2005. Understanding Factors that Limit Enzymatic Hydrolysis of Biomass: Characterization of Pretreated Corn Stover. Appl. Biochem. Biotechnol. 124, 1081–1100. doi:10.1385/ABAB:124:1-3:1081

Lawther, J., Sun, R., Banks, W., 1996. Effects of extraction conditions and alkali type on yield and composition of wheat straw hemicellulose. J. Appl. Polym. Sci. 60, 1827–1837. doi:10.1002/(SICI)1097-4628(19960613)60:113.0.CO;2-N

Li, C., Berns, A.E., Schäffer, A., Séquaris, J.-M., Vereecken, H., Ji, R., Klumpp, E., 2011. Effect of structural composition of humic acids on the sorption of a branched nonylphenol isomer. Chemosphere 84, 409–14. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.03.057

Li, X.Y., Yang, S.F., 2007. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge. Water Res. 41, 1022–30. doi:10.1016/j.watres.2006.06.037

Liao, B.., Allen, D.., Droppo, I.., Leppard, G.., Liss, S.., 2001. Surface properties of sludge and their role in bioflocculation and settleability. Water Res. 35, 339–350. doi:10.1016/S0043-1354(00)00277-3

Liao, B.Q., Allen, D.G., Leppard, G.G., Droppo, I.G., Liss, S.N., 2002. Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs. J. Colloid Interface Sci. 249, 372–80. doi:10.1006/jcis.2002.8305

Liss, S.N., Droppo, I.G., Flannigan, D.T., Leppard, G.G., 1996. Floc Architecture in Wastewater and Natural Riverine Systems. Environ. Sci. Technol. 30, 680–686. doi:10.1021/es950426r

Liu, H., Fang, H.H.P., 2002. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. J. Biotechnol. 95, 249–256.

Lo, H.M., Kurniawan, T.A., Sillanpää, M.E.T., Pai, T.Y., Chiang, C.F., Chao, K.P., Liu, M.H., Chuang, S.H., Banks, C.J., Wang, S.C., Lin, K.C., Lin, C.Y., Liu, W.F., Cheng, P.H., Chen, C.K., Chiu, H.Y., Wu, H.Y., 2010. Modeling biogas production from organic fraction of MSW co-digested with MSWI ashes in anaerobic bioreactors. Bioresour. Technol. 101, 6329–35. doi:10.1016/j.biortech.2010.03.048

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265–75.

Lu, J., Jin, Q., He, Y., Wu, J., Zhang, W., Zhao, J., 2008. Anaerobic degradation behavior of nonylphenol polyethoxylates in sludge. Chemosphere 71, 345–51. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.08.068

Marttinen, S.K., Kettunen, R.H., Rintala, J.A., 2003. Occurrence and removal of organic pollutants in sewages and landfill leachates. Sci. Total Environ. 301, 1–12.

Maulini-Duran, C., Artola, A., Font, X., Sánchez, A., 2013. A systematic study of the gaseous emissions from biosolids composting: raw sludge versus anaerobically digested sludge. Bioresour. Technol. 147, 43–51. doi:10.1016/j.biortech.2013.07.118

McSwain, B.S., Irvine, R.L., Hausner, M., Wilderer, P.A., 2005. Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge. Appl. Environ. Microbiol. 71, 1051–7. doi:10.1128/AEM.71.2.1051-1057.2005

Méthanisation.info - Etapes de la digestion anaérobie [WWW Document], n.d. URL http://www.methanisation.info/etapes.html (accessed 6.5.12).

Ministère de l'Environnement, du Développement Durable et de l'Energie, C.G. du D.D., 2012. Les micropolluants dans les eaux [WWW Document]. URL http://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/lessentiel/s/autres-micropolluants-eaux.html?tx_ttnews[tt_news]=22335&tx_ttnews[catdomaine]=1097&cHash=8e0b22ddbb65ad1d9e426befd9e0dd68 (accessed 3.7.13).

Moletta, R., 2008. Méthanisation de la biomasse, T.I. ed, Techniques de l'ingénieur. Bioprocédés.

Morgan, J.W., Forster, C.F., Evison, L., 1990. A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludges. Water Res. 24, 743–750.

Mottet, A., François, E., Latrille, E., Steyer, J.P., Déléris, S., Vedrenne, F., Carrère, H., 2010. Estimating anaerobic biodegradability indicators for waste activated sludge. Chem. Eng. J. 160, 488–496. doi:10.1016/j.cej.2010.03.059

Muller, M., Jimenez, J., Antonini, M., Dudal, Y., Latrille, E., Vedrenne, F., Steyer, J.-P., Patureau, D., 2014. Combining chemical sequential extractions with 3D fluorescence spectroscopy to characterize sludge organic matter. Waste Manag.

Muller, M., Milori, D.M.B.P., Déléris, S., Steyer, J.-P., Dudal, Y., 2011. Solid-phase fluorescence spectroscopy to characterize organic wastes. Waste Manag. 31, 1916–23. doi:10.1016/j.wasman.2011.05.012

Neale, P.A., Antony, A., Gernjak, W., Leslie, G., Escher, B.I., 2011. Natural versus wastewater derived dissolved organic carbon: implications for the environmental fate of organic micropollutants. Water Res. 45, 4227–37. doi:10.1016/j.watres.2011.05.038

Nie, Y., Qiang, Z., Zhang, H., Ben, W., 2012. Fate and seasonal variation of endocrine-disrupting chemicals in a sewage treatment plant with A/A/O process. Sep. Purif. Technol. 84, 9–15.

Nielsen, P.H., Thomsen, T.R., NIelsen, J.L., 2004. Bacterial composition of activated sludge - importance for floc and sludge properties. Water Sci. Technol. 49, 51–58.

Oesterreich, T., Klaus, U., Volk, M., Neidhart, B., Spiteller, M., 1999. Environmental fate of amitrole: Influence of dissolved organic matter. Chemosphere 38, 379–392. doi:10.1016/S0045-6535(98)00185-4

Oleszczuk, P., Zielińska, A., Cornelissen, G., 2014. Stabilization of sewage sludge by different biochars towards reducing freely dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content. Bioresour. Technol. 156, 139–45. doi:10.1016/j.biortech.2014.01.003

Park, C., Novak, J.T., 2007. Characterization of activated sludge exocellular polymers using several cation-associated extraction methods. Water Res. 41, 1679–88. doi:10.1016/j.watres.2007.01.031

Patureau, D., Delgenes, N., Delgenes, J.-P., 2008. Impact of sewage sludge treatment processes on the removal of the endocrine disrupters nonylphenol ethoxylates. Chemosphere 72, 586–91.

Patureau, D., Delgenes, N., Muller, M., Dagnino, S., Lhoutellier, C., Delgenes, J.-P., Balaguer, P., Hernandez-Raquet, G., 2012. Chemical and toxicological assessment of a full-scale biosolid compost. Environ. Toxicol. Chem. 31, 2748–56. doi:10.1002/etc.2002

Patureau, D., Luneau, M., Delgenès, N., Houot, S., Bourdat-Deschamps, M., Leang, S., 2013. Evaluation des lfux de micropolluants organiques prioritaires et émergents sur les sols via les

apports de produits résiduaires organiques : efficacité des procédés de traitement et impact potentiel sur les plantes et les écosystèmes aquatiques.

Perminova, I. V., Grechishcheva, N.Y., Kovalevskii, D. V., Kudryavtsev, A. V., Petrosyan, V.S., Matorin, D.N., 2001. Quantification and Prediction of the Detoxifying Properties of Humic Substances Related to Their Chemical Binding to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Environ. Sci. Technol. 35, 3841–3848. doi:10.1021/es001699b

Petrasek, A.C., Kugelman, I.J., Austern, B.M., Pressley, T.A., Winslow, L.A., Wise, R.H., 1983. Fate of toxic organic compounds in wastewater treatment plants. J. Water Pollut. Control Fed. 55, 1286–1296.

Phillips, D.H., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen. 443, 139–147. doi:10.1016/S1383-5742(99)00016-2

Puri, V.P., 1984. Effect of crystallinity and degree of polymerization of cellulose on enzymatic saccharification. Biotechnol. Bioeng. 26, 1219–22. doi:10.1002/bit.260261010

Raunkjær, K., Hvitved-Jacobsen, T., Nielsen, P.H., 1994. Measurement of pools of protein, carbohydrate and lipid in domestic wastewater. Water Res. 28, 251–262. doi:10.1016/0043-1354(94)90261-5

Rey-Salgueiro, L., García-Falcón, M.S., Martínez-Carballo, E., González-Barreiro, C., Simal-Gándara, J., 2008. The use of manures for detection and quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons and 3-hydroxybenzo[a]pyrene in animal husbandry. Sci. Total Environ. 406, 279–86. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.07.059

Rogers, H.R., 1996. Sources, behaviour and fate of organic contaminants during sewage treatment and in sewage sludges. Sci. Total Environ. 185, 3–26. doi:10.1016/0048-9697(96)05039-5

Rowsell, V.F., Tangney, P., Hunt, C., Voulvoulis, N., 2009. Estimating Levels of Micropollutants in Municipal Wastewater. Water. Air. Soil Pollut. 206, 357–368. doi:10.1007/s11270-009-0112-y

Salloum, M.J., Chefetz, B., Hatcher, P.G., 2002. Phenanthrene Sorption by Aliphatic-Rich Natural Organic Matter. Environ. Sci. Technol. 36, 1953–1958. doi:10.1021/es015796w

Samaras, V.G., Stasinakis, A.S., Mamais, D., Thomaidis, N.S., Lekkas, T.D., 2013. Fate of selected pharmaceuticals and synthetic endocrine disrupting compounds during wastewater treatment and sludge anaerobic digestion. J. Hazard. Mater. 244, 259–267.

Semple, K.T., Doick, K.J., Jones, K.C., Burauel, P., Craven, A., Harms, H., 2004. Peer Reviewed: Defining Bioavailability and Bioaccessibility of Contaminated Soil and Sediment is Complicated. Environ. Sci. Technol. 38, 228A–231A. doi:10.1021/es040548w

Sheng, G.-P., Yu, H.-Q., Li, X.-Y., 2006. Stability of sludge flocs under shear conditions: roles of extracellular polymeric substances (EPS). Biotechnol. Bioeng. 93, 1095–102. doi:10.1002/bit.20819

Singh, N., Berns, A.E., Hennecke, D., Hoerner, J., Koerdel, W., Schaeffer, A., 2010. Effect of soil organic matter chemistry on sorption of trinitrotoluene and 2,4-dinitrotoluene. J. Hazard. Mater. 173, 343–8. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.08.090

Smith, K.E.C., Thullner, M., Wick, L.Y., Harms, H., 2009. Sorption to Humic Acids Enhances Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Biodegradation. Environ. Sci. Technol. 43, 7205–7211. doi:10.1021/es803661s

Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., Lester, J.N., 2008. Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. Environ. Int. 34, 1033–49. doi:10.1016/j.envint.2008.01.004

Soares, A., Jonasson, K., Terrazas, E., Guieysse, B., Mattiasson, B., 2005. The ability of white-rot fungi to degrade the endocrine-disrupting compound nonylphenol. Appl. Microbiol. Biotechnol. 66, 719–25. doi:10.1007/s00253-004-1747-7

Sophonsiri, C., Morgenroth, E., 2004. Chemical composition associated with different particle size fractions in municipal, industrial, and agricultural wastewaters. Chemosphere 55, 691–703. doi:10.1016/j.chemosphere.2003.11.032

Soto, A.M., Justicia, H., Wray, J.W., Sonnenschein, C., 1991. p-Nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene. Environ. Health Perspect. 92, 167–73.

Sponza, D.T., 2002. Extracellular polymer substances and physicochemical properties of flocs in steady and unsteady-state activated sludge systems. Process Biochem. 37, 983–998. doi:10.1016/S0032-9592(01)00306-5

Stasinakis, A.S., 2012. Review on the fate of emerging contaminants during sludge anaerobic digestion. Bioresour. Technol. 121, 432–40. doi:10.1016/j.biortech.2012.06.074

Stasinakis, A.S., Mermigka, S., Samaras, V.G., Farmaki, E., Thomaidis, N.S., 2012. Occurrence of endocrine disrupters and selected pharmaceuticals in Aisonas River (Greece) and environmental risk assessment using hazard indexes. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 19, 1574–83.

Trably, E., Patureau, D., Delgenes, J.P., 2003. Enhancement of polycyclic aromatic hydrocarbons removal during anaerobic treatment of urban sludge. Water Sci. Technol. 48, 53–60.

Urbain, V., Block, J.C., Manem, J., 1993. Bioflocculation in activated sludge: an analytic approach. Water Res. 27, 829–838. doi:10.1016/0043-1354(93)90147-A

Van der Wal, L., Jager, T., Fleuren, R.H.L.J., Barendregt, A., Sinnige, T.L., van Gestel, C.A.M., Hermens, J.L.M., 2004. Solid-Phase Microextraction To Predict Bioavailability and Accumulation of Organic Micropollutants in Terrestrial Organisms after Exposure to a Field-Contaminated Soil. Environ. Sci. Technol. 38, 4842–4848. doi:10.1021/es035318g

Van Soest, P.J., 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. J. Ass. Off. Anal. Chem 46, 829–835.

Van Soest, P.J., Wine, R.H., 1967. Use od detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. J. Ass. Off. Anal. Chem 50, 50–55.

Vitte, I., Duran, R., Hernandez-Raquet, G., Mounier, J., Jézéquel, R., Bellet, V., Balaguer, P., Caumette, P., Cravo-Laureau, C., 2012. Dynamics of metabolically active bacterial communities involved in PAH and toxicity elimination from oil-contaminated sludge during anoxic/oxic oscillations. Appl. Microbiol. Biotechnol. doi:10.1007/s00253-012-4219-5

Wang, C., Sun, H., Liu, H., Wang, B., 2014. Biodegradation of pyrene by Phanerochaete chrysosporium and enzyme activities in soils: Effect of SOM, sterilization and aging. J. Environ. Sci. (China) 26, 1135–44. doi:10.1016/S1001-0742(13)60507-0

Wilén, B.-M., Jin, B., Lant, P., 2003. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. Water Res. 37, 2127–2139.

Wilson, C.A., Novak, J.T., 2009. Hydrolysis of macromolecular components of primary and secondary wastewater sludge by thermal hydrolytic pretreatment. Water Res. 43, 4489–98. doi:10.1016/j.watres.2009.07.022

Wiśniowska, E., Janosz-Rajczyk, M., 2007. Selected PAHs concentration changes under nitrate and sulphate reducing conditions. Desalination 211, 232–237.

Wood: chemistry, ultrastructure, reactions, 1983.

Wood: chemistry, ultrastructure, reactions., n.d. Wood Chem. Ultrastruct. React. xiii + 613 pp.

Wu, G., Li, X., Kechavarzi, C., Sakrabani, R., Sui, H., Coulon, F., 2014. Influence and interactions of multi-factors on the bioavailability of PAHs in compost amended contaminated soils. Chemosphere 107, 43–50. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.03.035

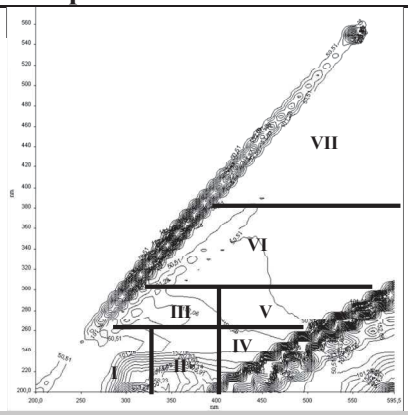
Yamamoto, H., Liljestrand, H.M., Shimizu, Y., Morita, M., 2003. Effects of Physical−Chemical Characteristics on the Sorption of Selected Endocrine Disruptors by Dissolved Organic Matter Surrogates. Environ. Sci. Technol. 37, 2646–2657. doi:10.1021/es026405w

Ying, G.-G., Williams, B., Kookana, R., 2002. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates—a review. Environ. Int. 28, 215–226. doi:10.1016/S0160-4120(02)00017-X

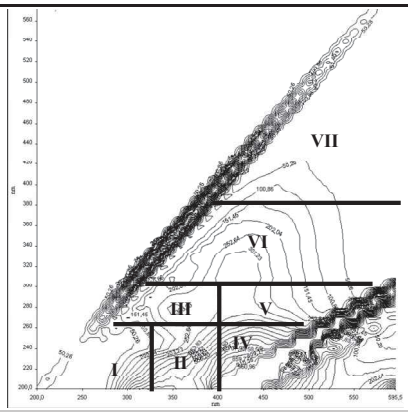
Zhang, M., Ahmad, M., Lee, S.S., Xu, L.H., Ok, Y.S., 2014. Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to lignin: effects of hydrophobicity and temperature. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 93, 84–8. doi:10.1007/s00128-014-1290-x

# X. Annexes

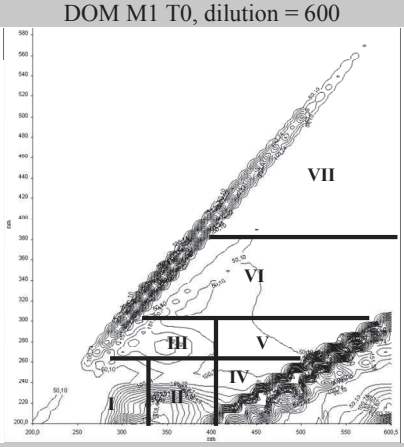
## Annexe A : spectres de fluorescence 3D du chapitre IV



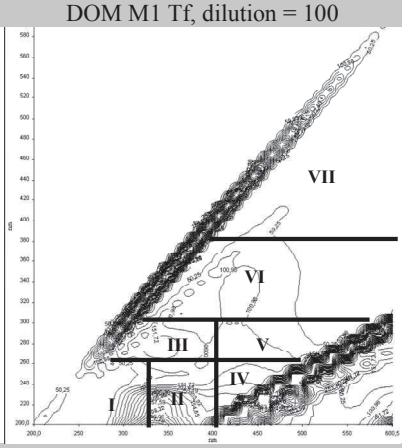

DOM M1 T0, dilution = 600



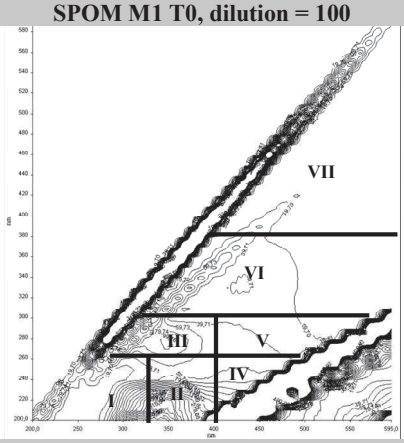

DOM M1 Tf, dilution = 100



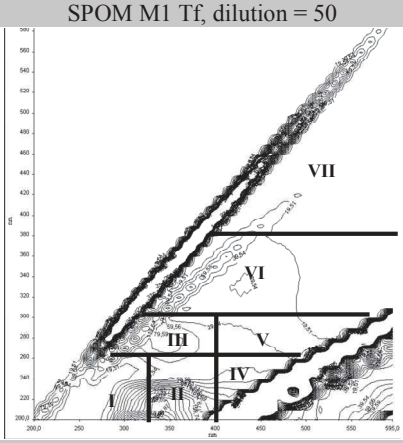

**SPOM M1 T0, dilution = 100**



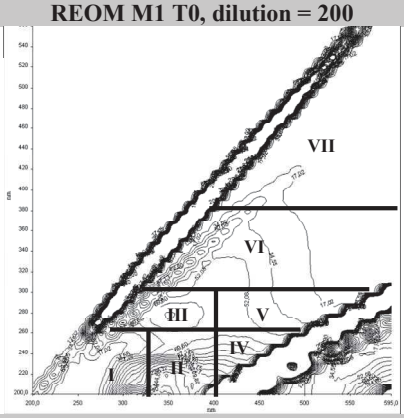

SPOM M1 Tf, dilution = 50



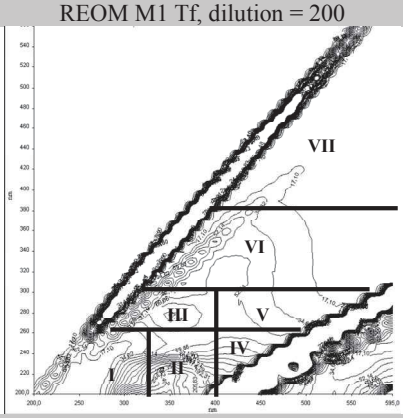

**REOM M1 T0, dilution = 200**




REOM M1 Tf, dilution = 200

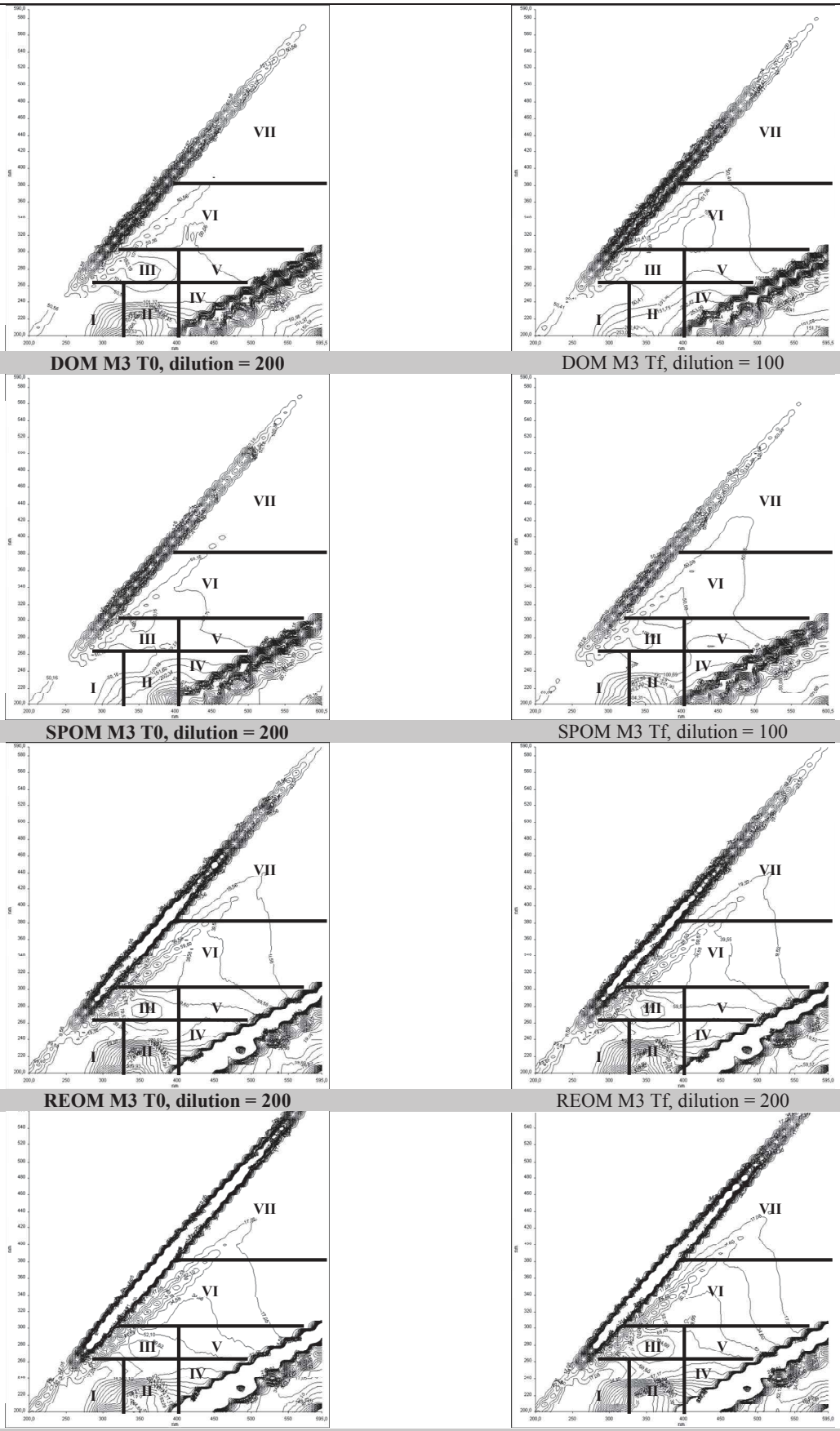



**SEOM M1 T0, dilution = 300**




SEOM M1 Tf, dilution = 300

**Figure 1 : spectres de fluorescence 3D des compartiments matière du mélange M1**




**DOM M3 T0, dilution = 200** | DOM M3 Tf, dilution = 100

**SPOM M3 T0, dilution = 200** | SPOM M3 Tf, dilution = 100

**REOM M3 T0, dilution = 200** | REOM M3 Tf, dilution = 200

**SEOM M3 T0, dilution = 300** | SEOM M3 Tf, dilution = 300

**Figure 2 : spectres de fluorescence 3D des compartiments matière du mélange M3**

**Annexe B : détermination de la concentration en tétraborate et du pH de la solution d'extraction SPOM modifiée**

La teneur en tétraborate et le pH de la nouvelle solution d'extraction sont déterminés par un plan d'expériences composite à deux facteurs (Figure 3) afin d'obtenir les mêmes performances que l'extraction au bicarbonate.

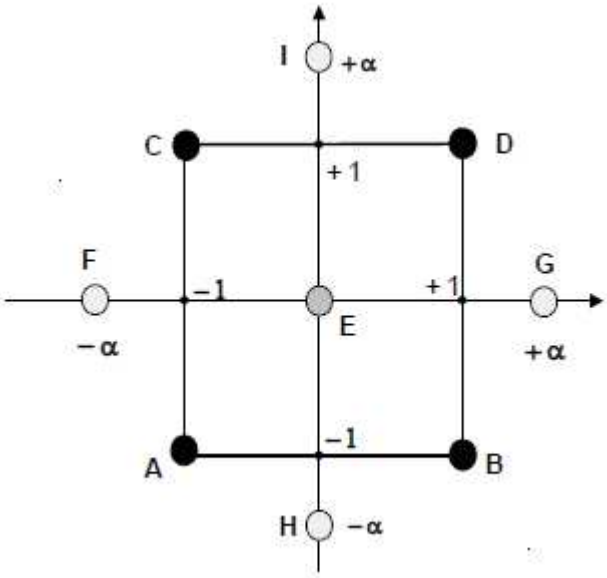



**Figure 3 : représentation du domaine expérimental du plan d'expériences**

Le critère d'orthogonalité est appliqué ($\alpha = \sqrt{2} \approx 1{,}21$) *i.e.* que l'erreur est la même en tout point équidistant du point central du domaine expérimental. La réponse est la quantité de carbone organique extraite calculée à partir des quatre extractions successives. Cette réponse est comparée à la quantité de carbone organique extrait par la solution SPOM du protocole initial. Le test est effectué sur la phase particulaire lyophilisée d'une boue secondaire épaissie (échantillonnage n°1).

La réponse est modélisée par la formule suivante :

$$y = a_0 + a_1.x_1 + a_2.x_2 + a_{12}.x_1.x_2 + a_{11}.x_1^2 + a_{22}.x_2^2$$

où y est le vecteur réponse, $x_1$ et $x_2$ les valeurs centrées réduites respectives de la concentration et du pH et $a_i$, i ∈ {1 ; 2 ; 12 ; 11 ; 22}, les coefficients du modèle. Les valeurs centrées réduites sont calculées en estimant que -1,21 correspond à 0 $g.L^{-1}$ ou 6 unités pH et 1,21 à 6,44 $g.L^{-1}$ ou 8 unités pH.

Les valeurs des coefficients sont estimés par le calcul suivant :

$$A = \left( {}^tX.X \right)^{-1}.\ {}^tX.y$$

où A est le vecteur des coefficients estimés et X la matrice du modèle (déterminant les essais à réaliser) :

$$A = \begin{pmatrix} a_0 \\ a_1 \\ a_2 \\ a_{12} \\ a_{11} \\ a_{22} \end{pmatrix} ; X = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & 1 & -1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & -\sqrt{2} & 0 & 0 & 2 & 0 \\ 1 & \sqrt{2} & 0 & 0 & 2 & 0 \\ 1 & 0 & -\sqrt{2} & 0 & 0 & 2 \\ 1 & 0 & \sqrt{2} & 0 & 0 & 2 \end{pmatrix}$$

L'erreur sur chaque coefficient est calculée en prenant la racine carrée des coefficients diagonaux de la matrice S :

$$S = \sigma^2.\left( {}^tX.X\right)^{-1}$$

où σ est l'erreur sur le point central du domaine expérimental.

Le tableau I présente les essais réalisés. L'essai n°5 correspond au point central du domaine expérimental, il est mené en duplicat car il sert au calcul d'erreur sur les coefficients.

**Tableau I : essais réalisés lors du plan d'expériences**

| Essai | Concentration en tétraborate disodique (g.L$^{-1}$) | pH |
|---|---|---|
| 1 | 0,56 | 6,17 |
| 2 | 5,88 | 6,17 |
| 6 | 0,56 | 7,83 |
| 4 | 5,88 | 7,83 |
| 5 | 3,22 | 7 |
| 6 | 0 | 7 |
| 7 | 6,44 | 7 |
| 8 | 3,22 | 6 |
| 9 | 3,22 | 8 |

Les calculs pour la modélisation des résultats du plan d'expériences sont implémentés sur Scilab et les valeurs suivantes sont obtenues (la quantité de carbone extraite est exprimée en mgC.L$^{-1}$.gMB$^{-1}$) :

$$y = \begin{pmatrix} 2014 \\ 2001 \\ 3040 \\ 2928 \\ 2615 \\ 2541 \\ 2513 \\ 1926 \\ 2902 \end{pmatrix} ; A = \begin{pmatrix} 2623 \\ -36 \\ 439 \\ -40 \\ -11 \\ -99 \end{pmatrix} ; \sqrt{diag(S)} = \begin{pmatrix} 5 \\ 2 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \\ 4 \end{pmatrix}$$

La quantité extraite lors du protocole n°1 (extraction au bicarbonate) est de 2 772 mgC.L$^{-1}$.gMB$^{-1}$.

La surface de réponse suivante est obtenue (Figure 4).

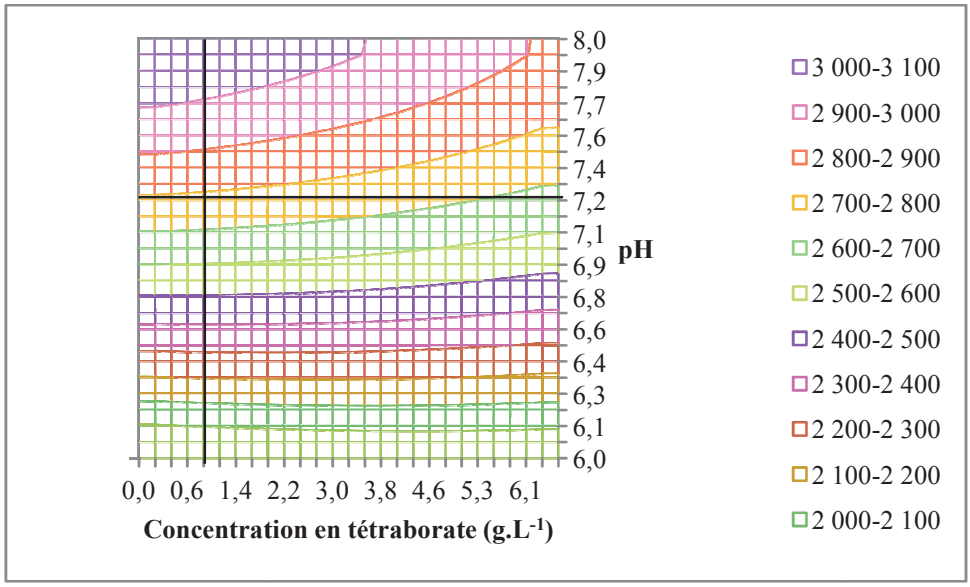
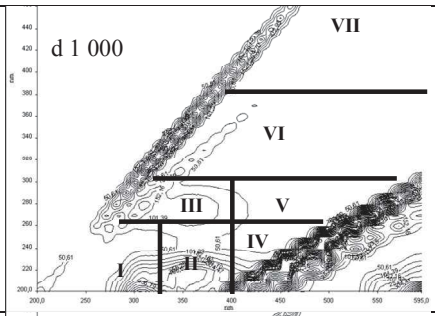
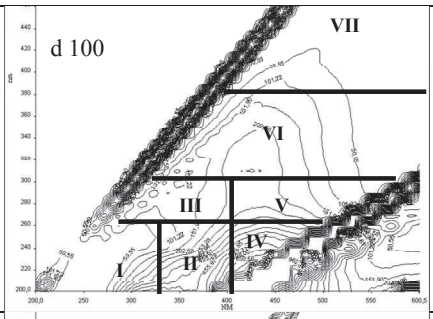
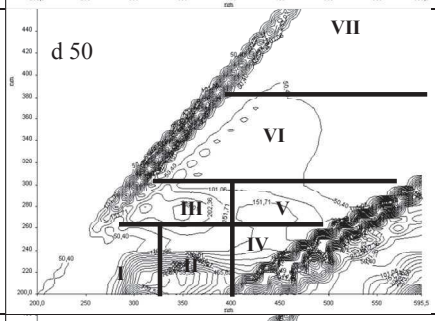
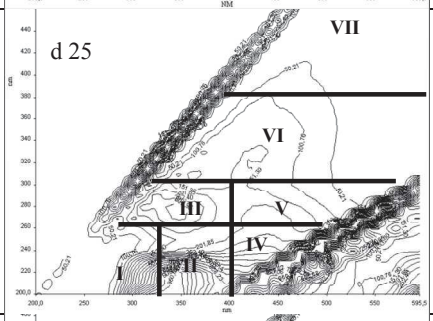
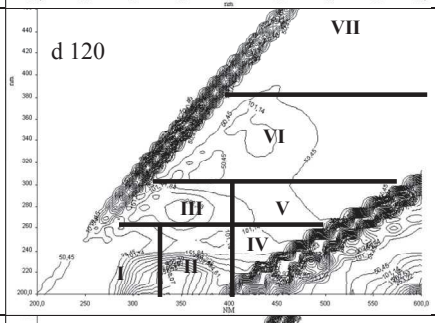
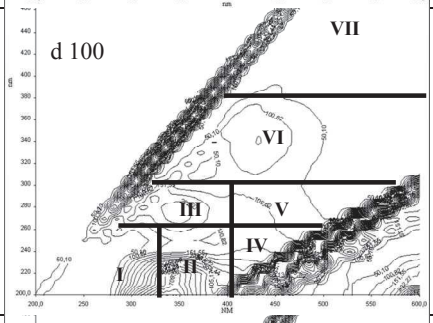
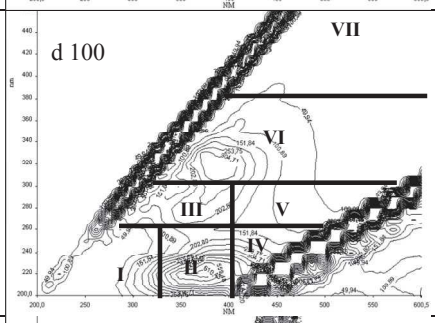
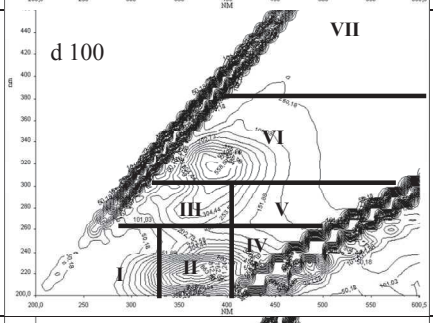
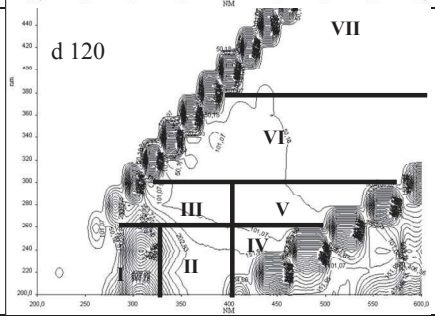
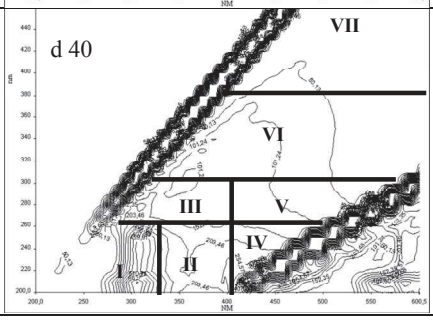



**Figure 4 : surface de réponse du plan d'expériences composite (les courbes de niveaux donnent la quantité de carbone organique extraite en mgC.L$^{-1}$.gMB$^{-1}$)**

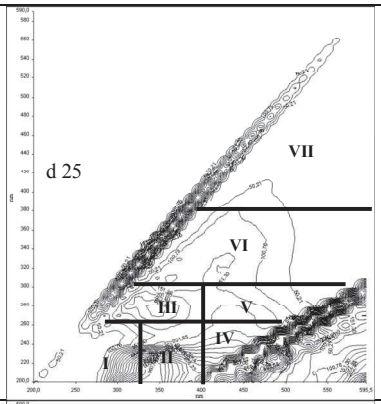
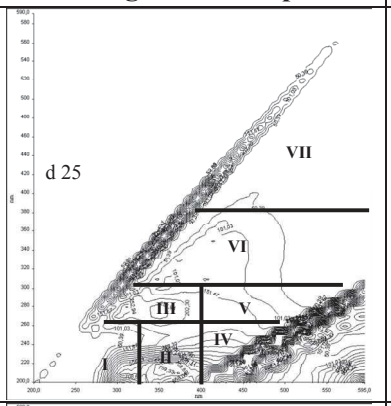
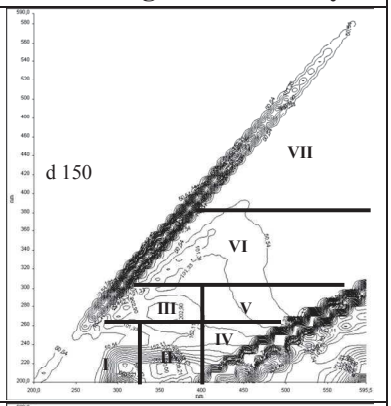
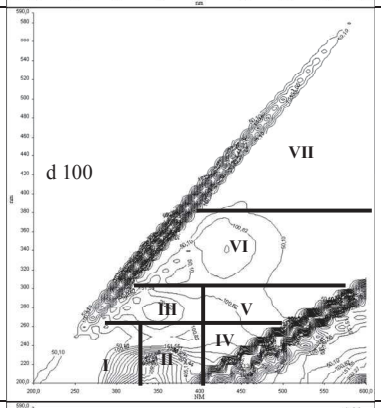
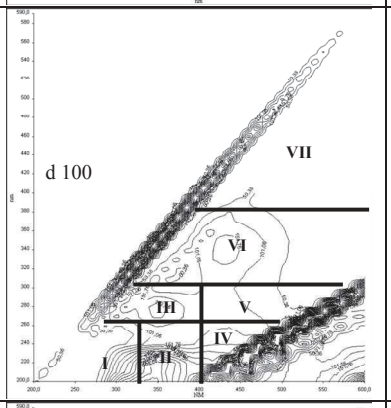
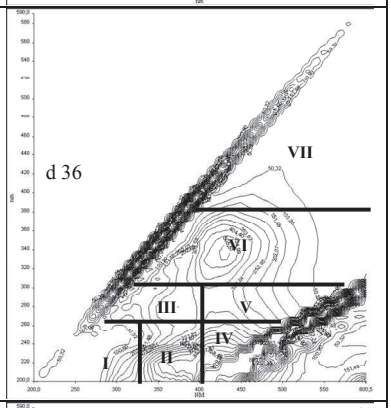
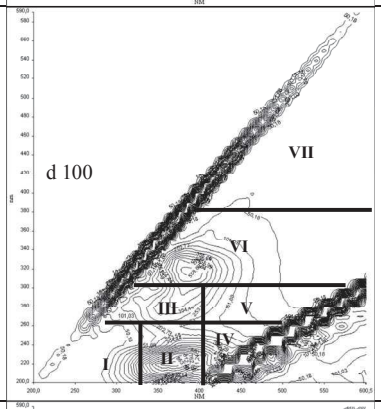
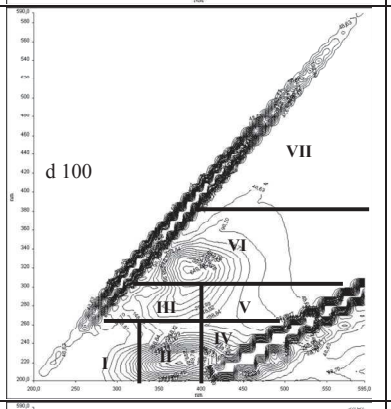
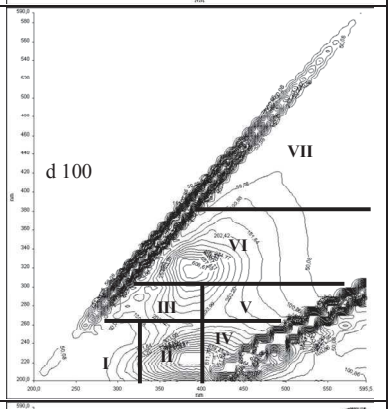
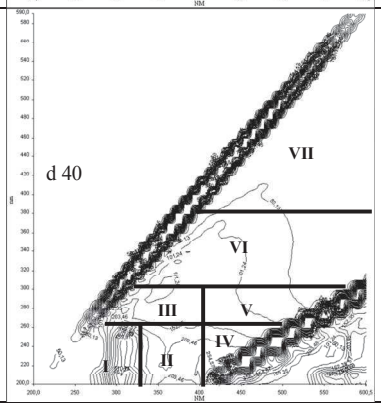
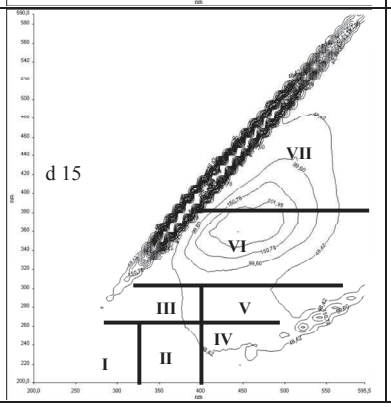
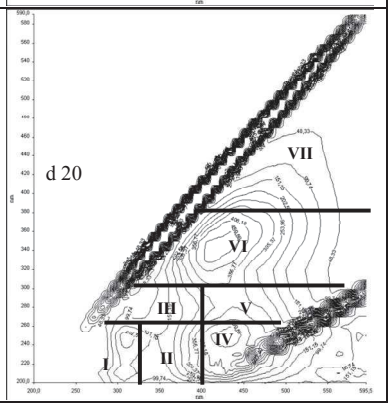
Les résultats nous permettent d'obtenir le pH et la concentration de la solution SPOM du protocole n°2 : pH fixé à 7,25 et concentration C à 1 g.L$^{-1}$. En fait, la solution se trouve sur une partie d'une ellipse d'équation $99.pH^2 + 11.C^2 + 10.C.pH - 439.pH + 36.C - 149 = 0$ se trouvant dans le domaine expérimental. Pour déterminer le point de l'ellipse à choisir, la concentration est fixée à une valeur pour laquelle la préparation de la solution est simple (1 g.L$^{-1}$), le pH de la solution est alors déduit de la valeur de la concentration fixée.

**Annexe C : spectres de fluorescences des compartiments matière des matrices de validation du protocole de fractionnement modifié**

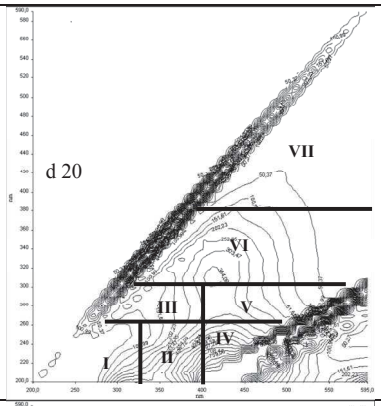
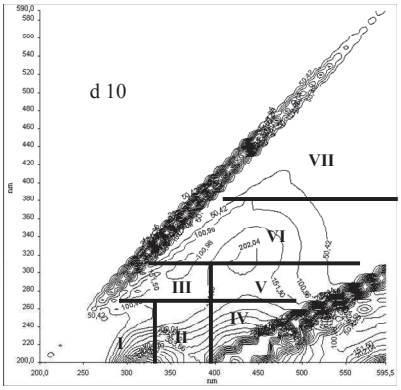
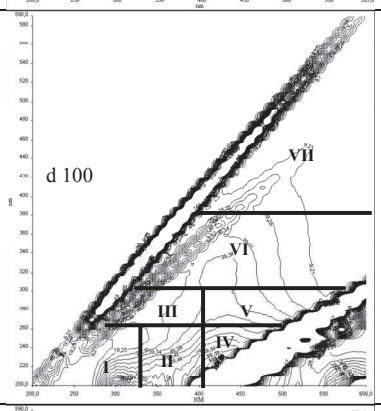
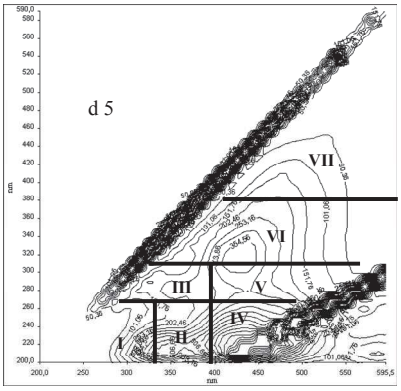
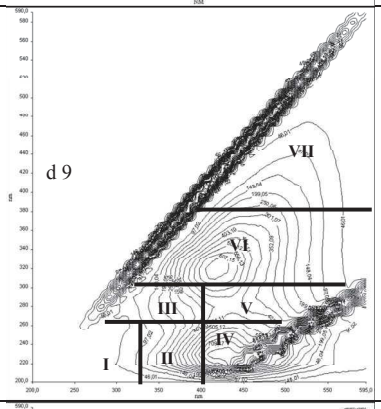
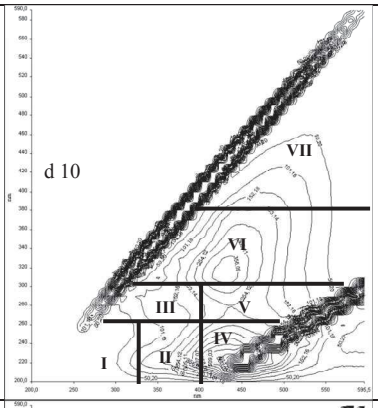
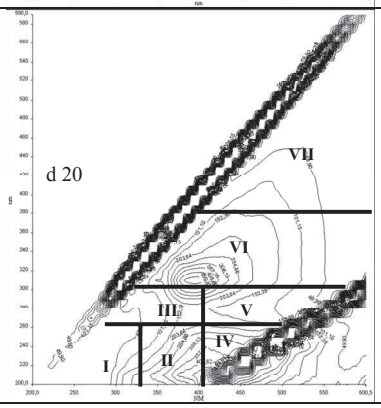
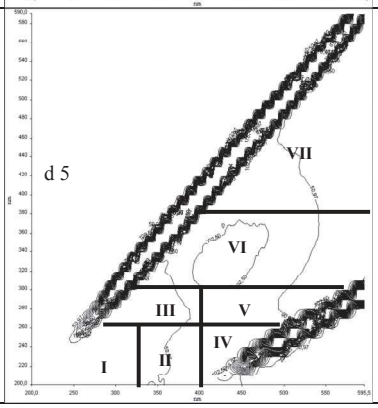
- ***Boues et boues digérées***

| | Boues | Boues digérées |
|---|---|---|
| **DOM** |  |  |
| **SPOM** |  |  |
| **REOM** |  |  |
| **SEOM** |  |  |
| **PEOM** |  |  |

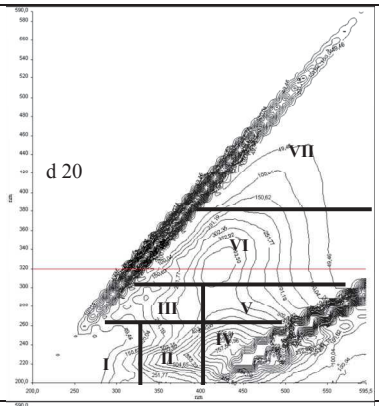
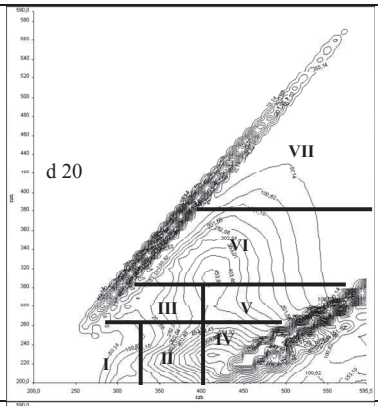
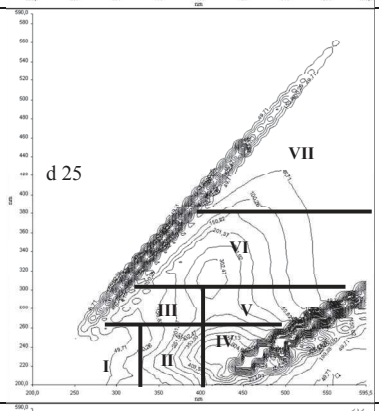
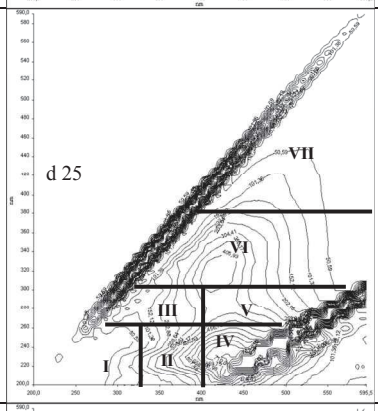
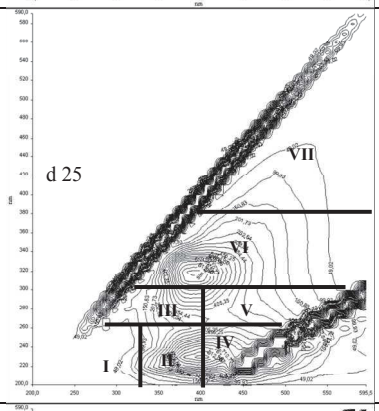
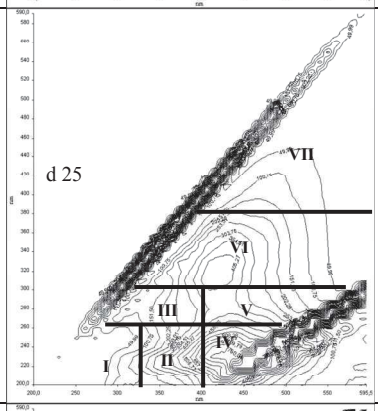
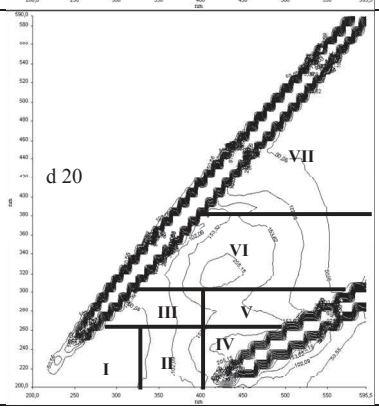
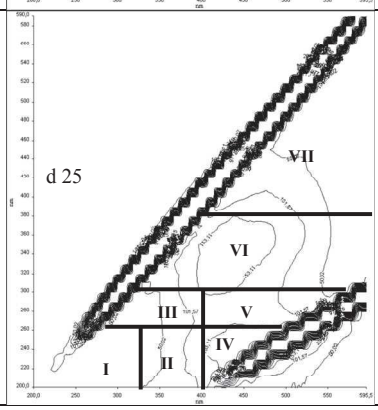
- ***Boues digérées après déshydratation ou séchage***

| | Boues digérées | Boues digérées filtre-presse | Boues digérées centridry |
|---|---|---|---|
| **SPOM** |   |   |   |
| **REOM** |   |   |   |
| **SEOM** |   |   |   |
| **PEOM** |   |   |   |

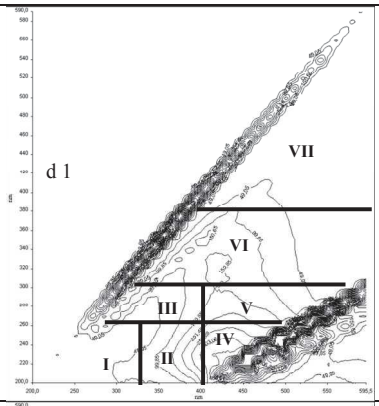
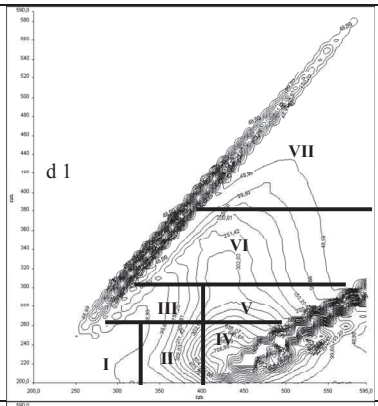
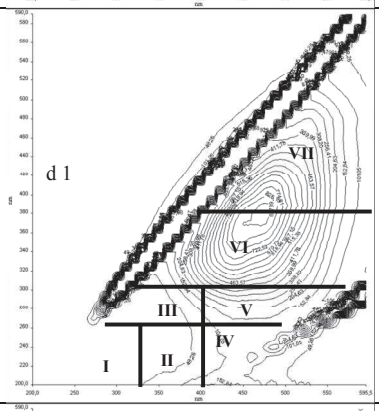
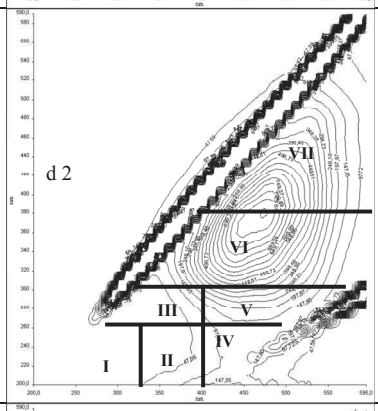
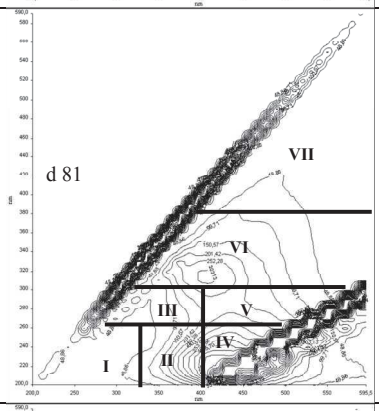
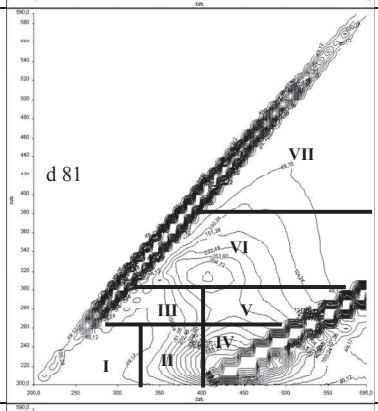
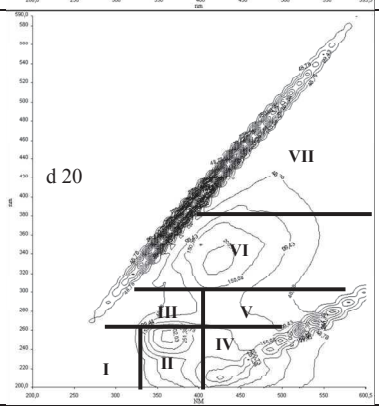
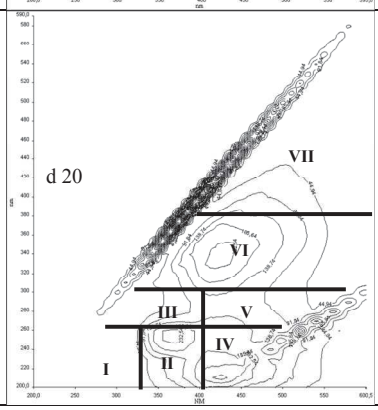
- ***Co-substrats***

| | Structurant | Déchets verts |
|---|---|---|
| **SPOM** |  |  |
| **REOM** |  |  |
| **SEOM** |  |  |
| **PEOM** |  |  |

- ***Mélange initial et compost de boues digérées***

| | Mélange initial | Compost |
|---|---|---|
| **SPOM** |   |   |
| **REOM** |   |   |
| **SEOM** |   |   |
| **PEOM** |   |   |

- ***Sols***

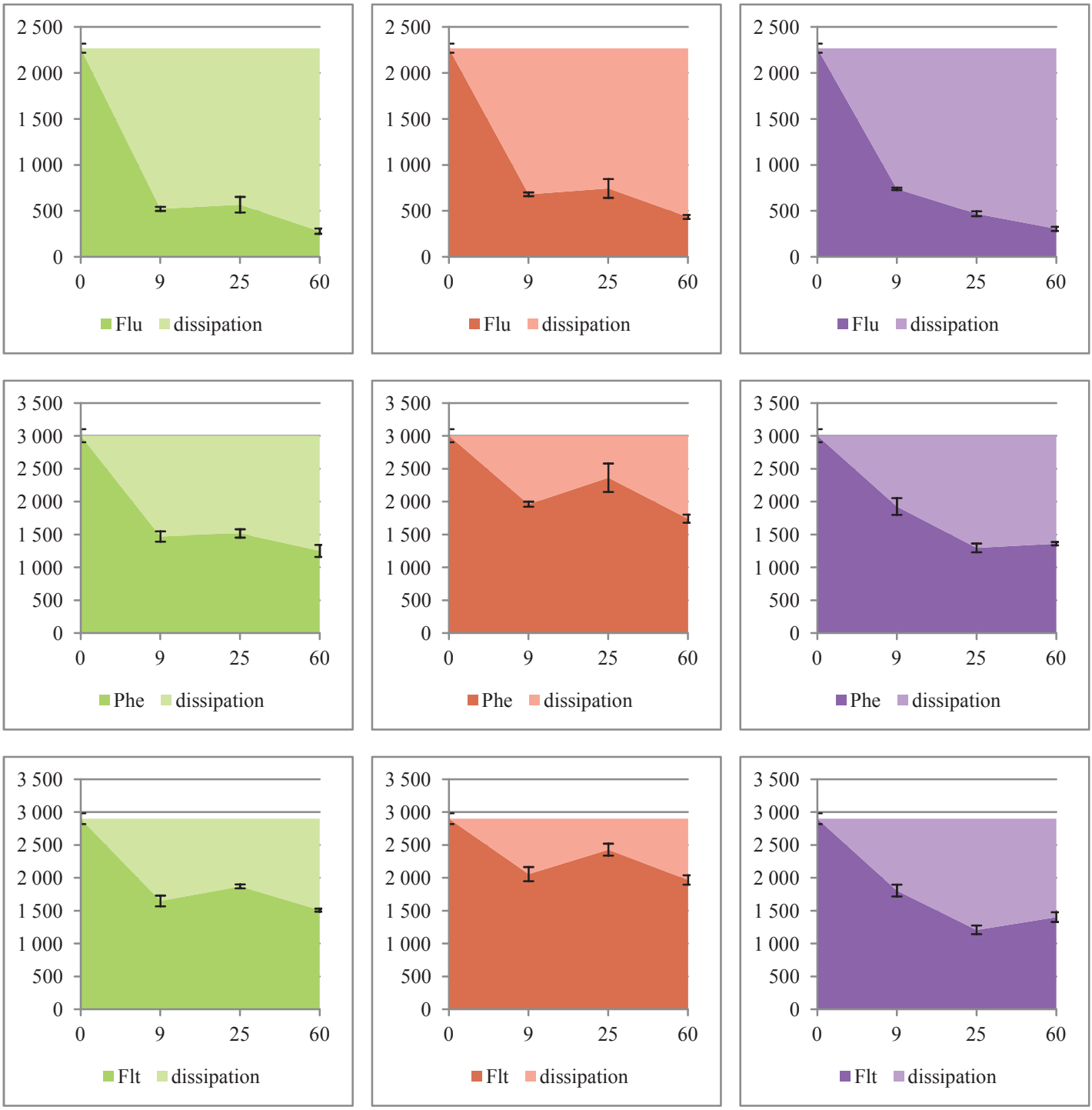
| | Sol T-N | Sol T+N |
|---|---|---|
| **SPOM** |  |  |
| **REOM** |  |  |
| **SEOM** |  |  |
| **PEOM** |  |  |

**Annexe D : évolution du Flu, Phe, Flt, BaA, BbF, BaP, BghiP et Ind lors du compostage des boues (0 jour = mélange initial, 9 jours = fin de phase thermophile, 25 jours = fin de descente de température, 60 jours = fin de maturation)**

*Composteur C1, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

*Composteur C2, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

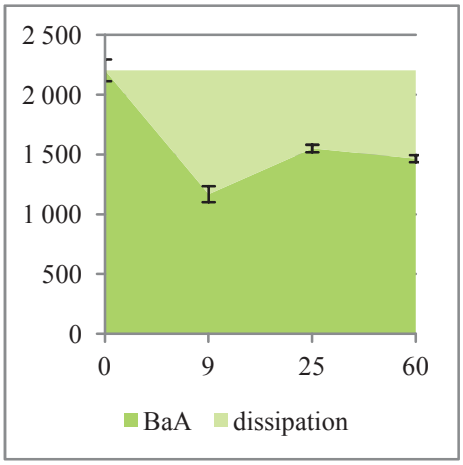
*Composteur C3, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

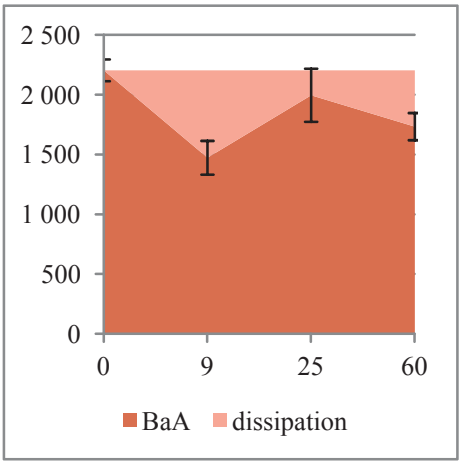


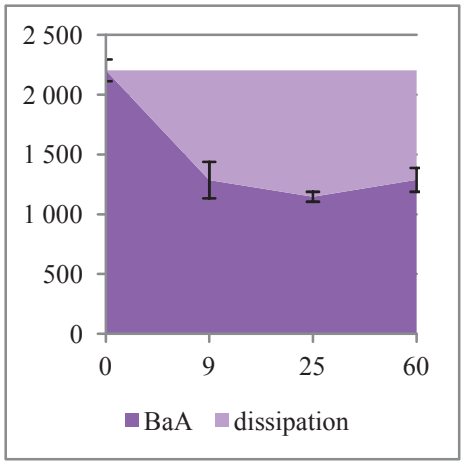
*Composteur C1, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

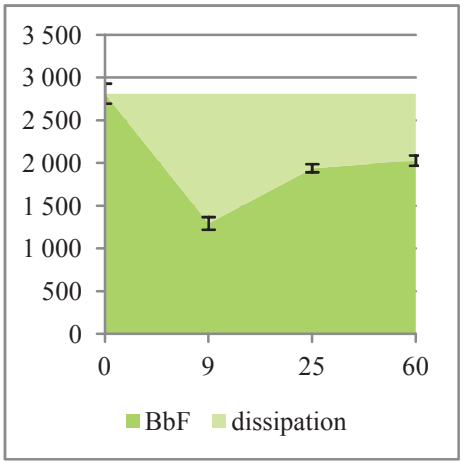
*Composteur C2, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

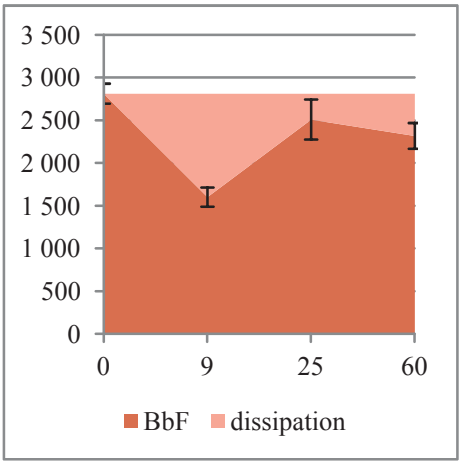
*Composteur C3, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

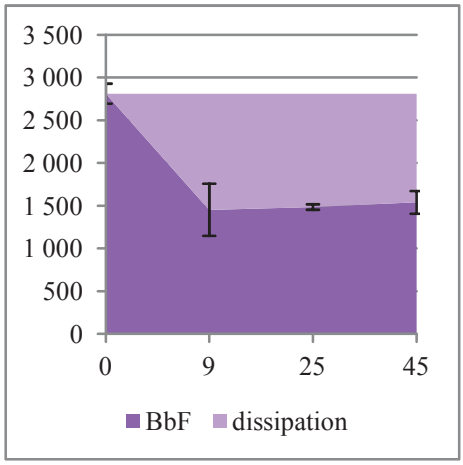


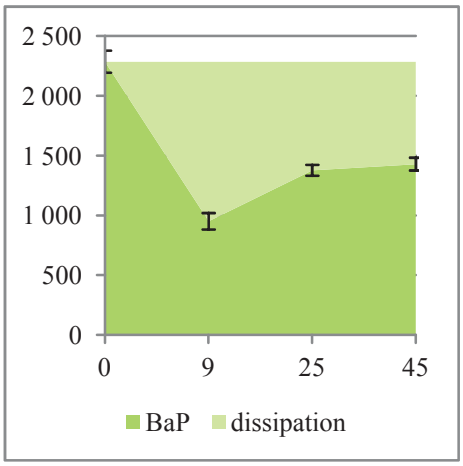



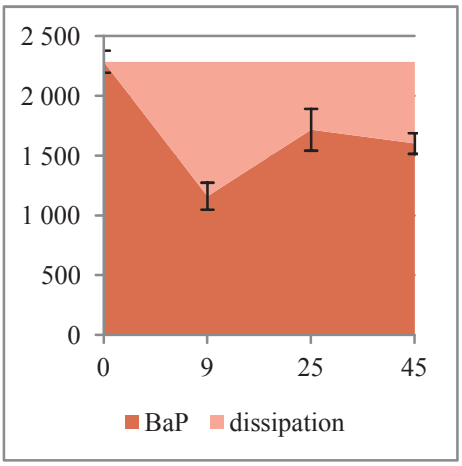



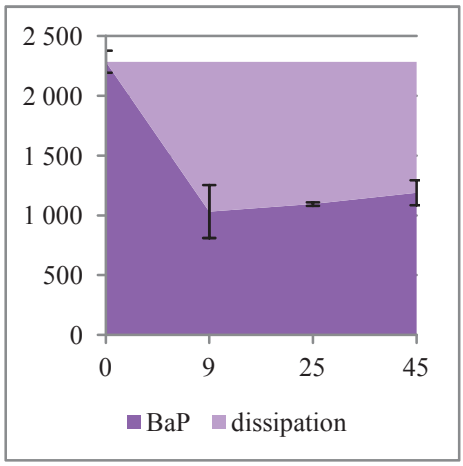



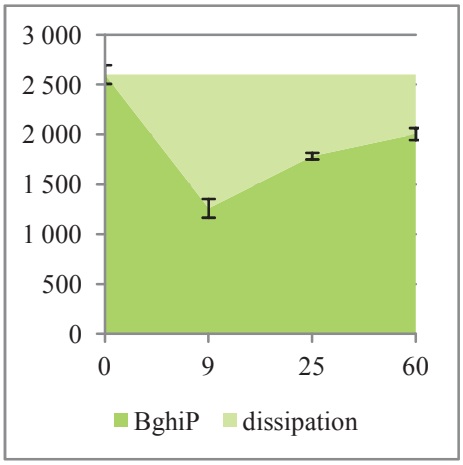



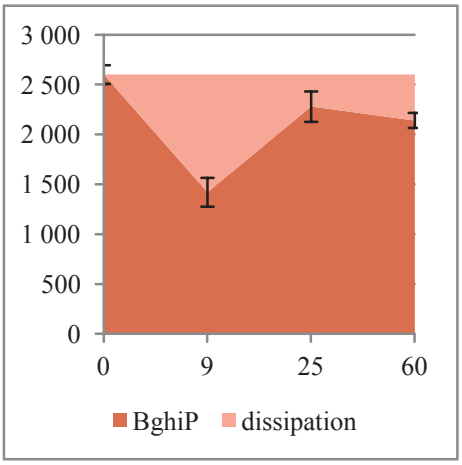



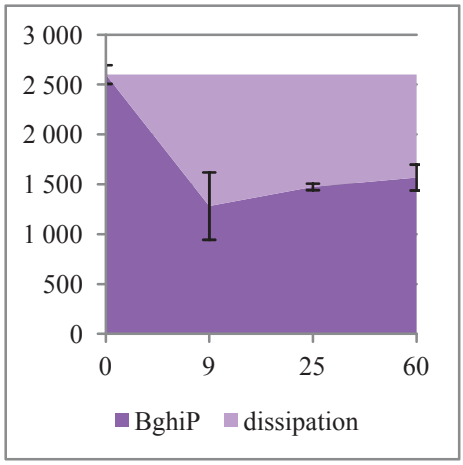
*Composteur C1, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

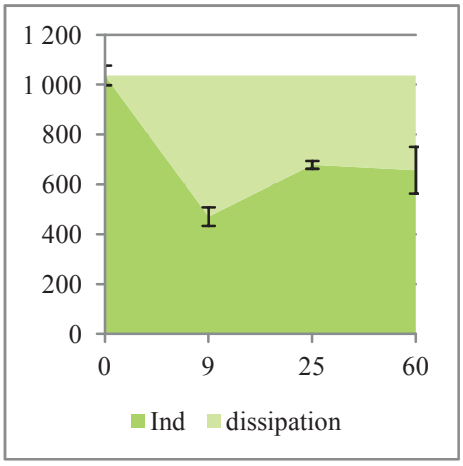


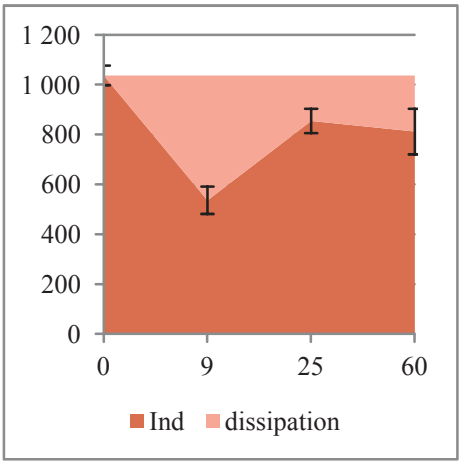

*Composteur C2, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

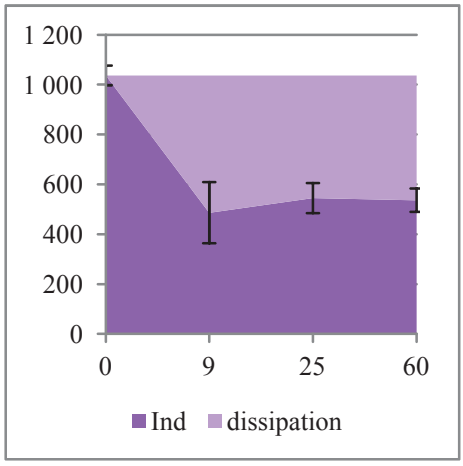



*Composteur C3, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*



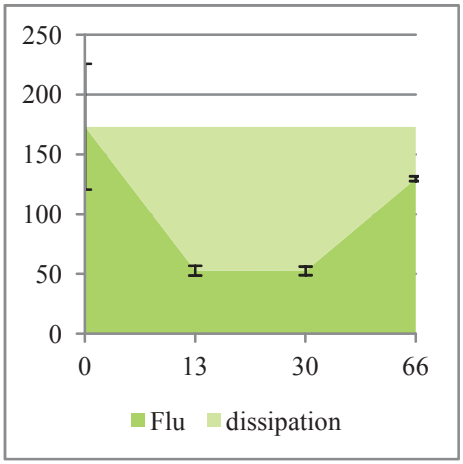



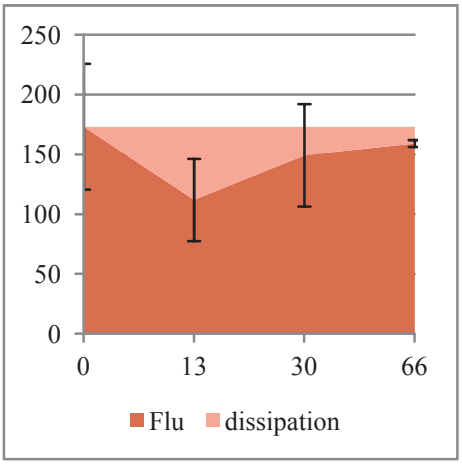
**Annexe E : évolution du Flu, Phe, Flt, BaA, BbF, BaP, BghiP et Ind lors du compostage des boues digérées (0 jour = mélange initial, 13 jours = fin de phase thermophile, 30 jours = fin de descente de température, 66 jours = fin de maturation)**

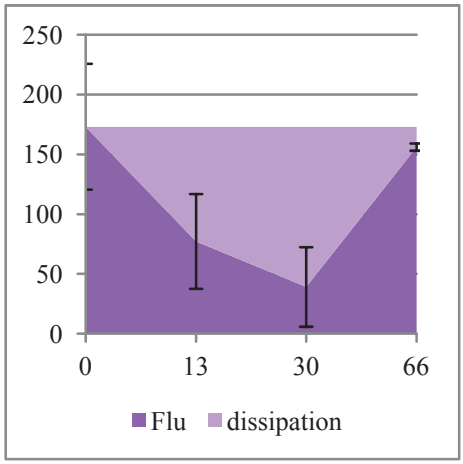
*Composteur C1, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

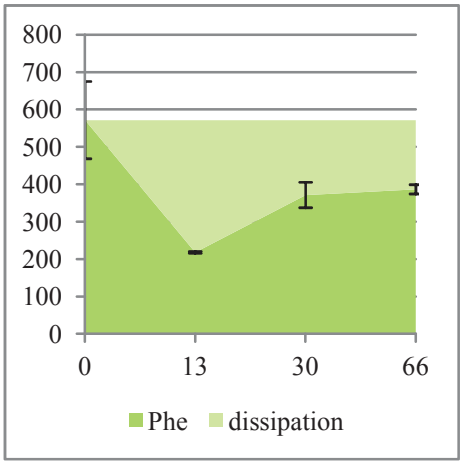
*Composteur C2, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

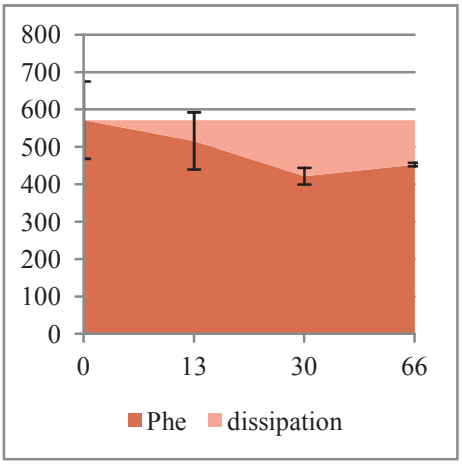
*Composteur C3, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

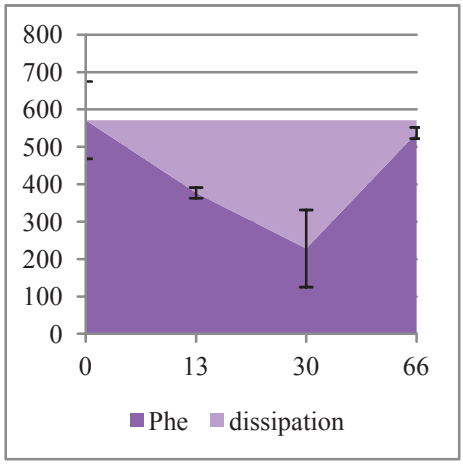


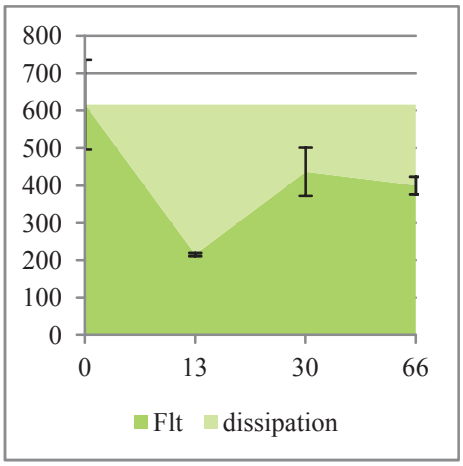



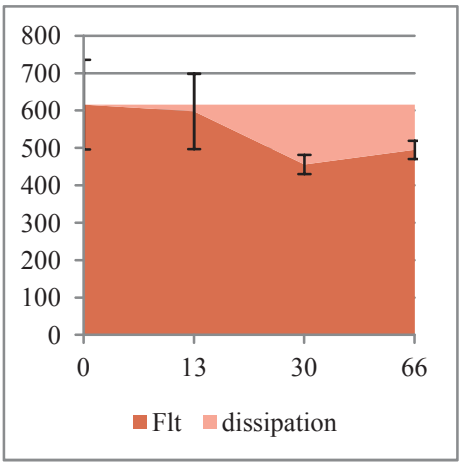



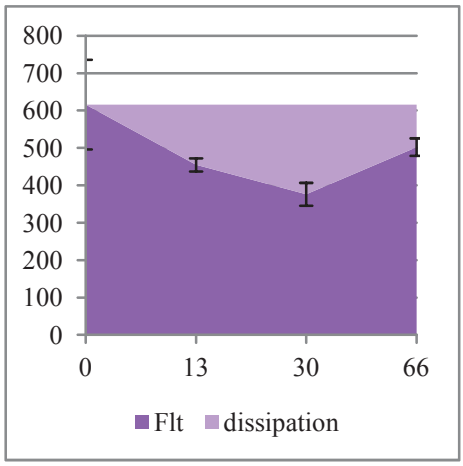



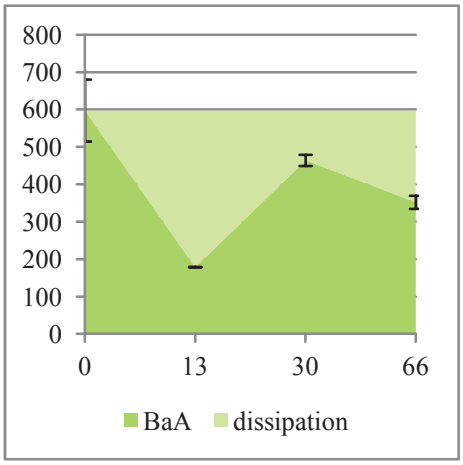



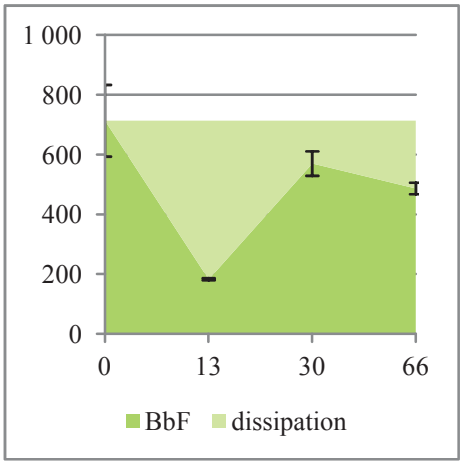



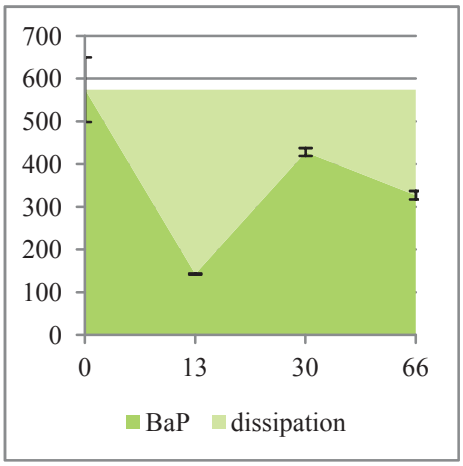



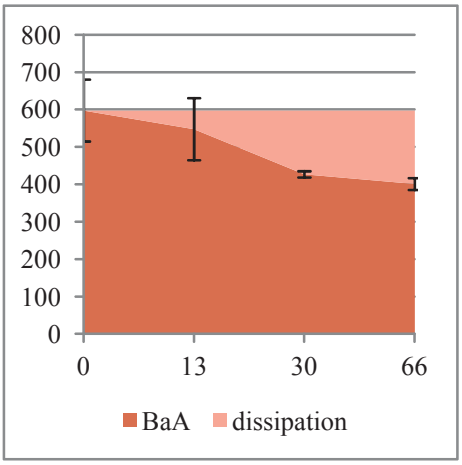
*Composteur C1, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

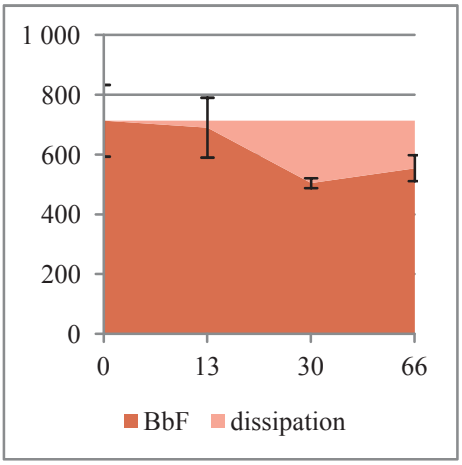


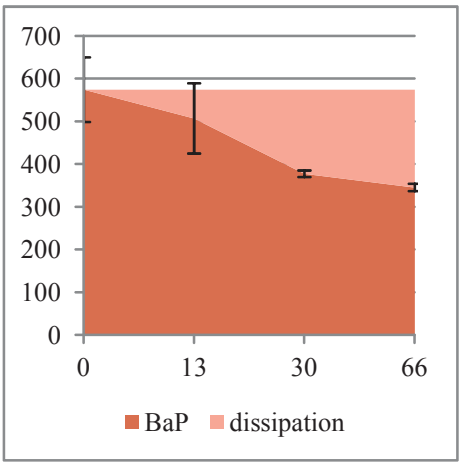



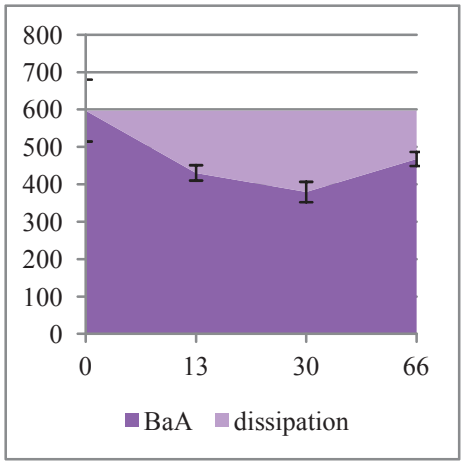

*Composteur C2, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

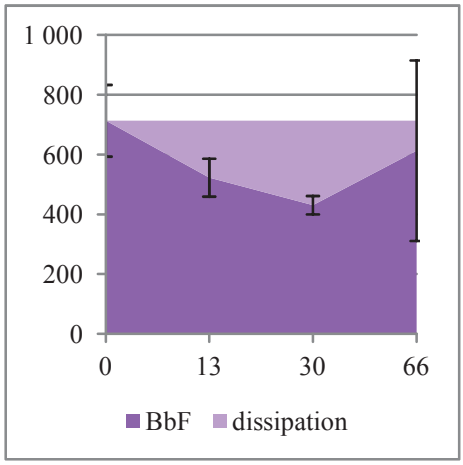


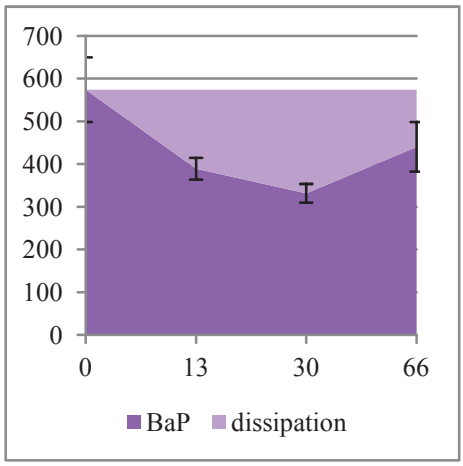



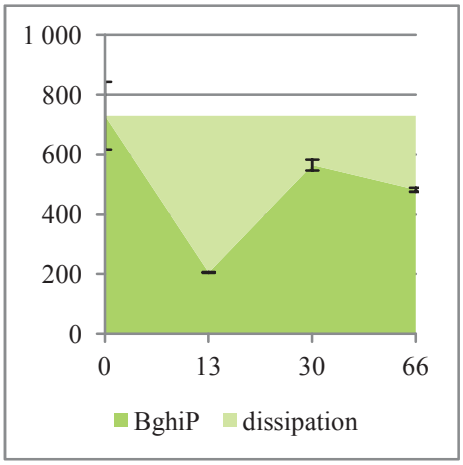

*Composteur C3, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*



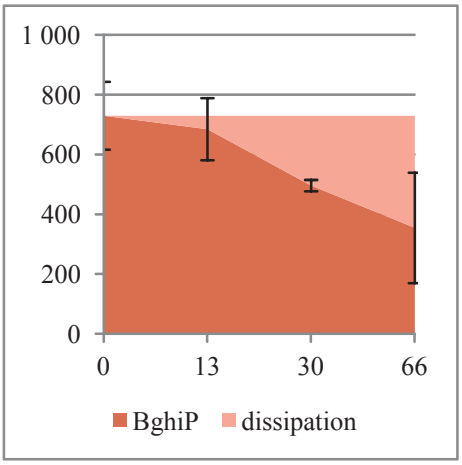



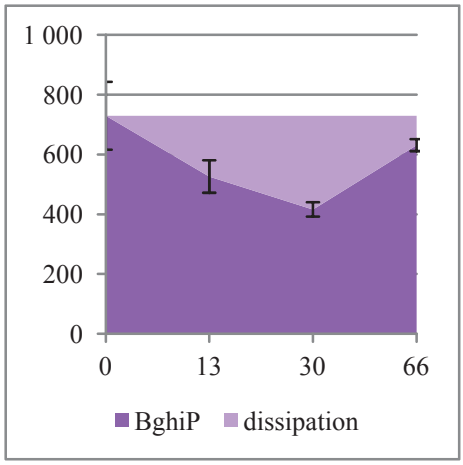
*Composteur C1, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

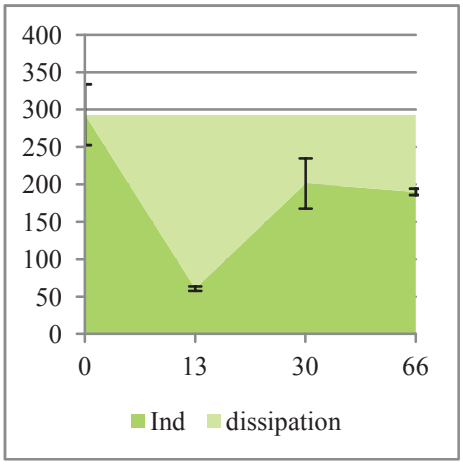


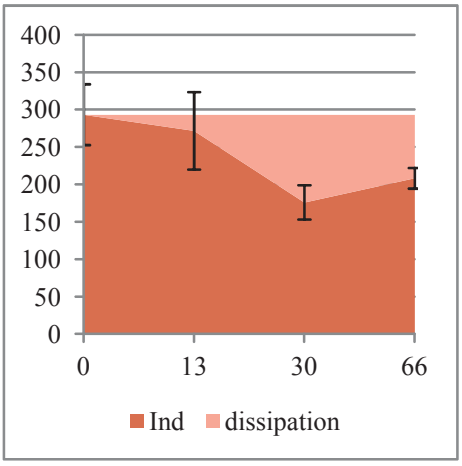

*Composteur C2, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*

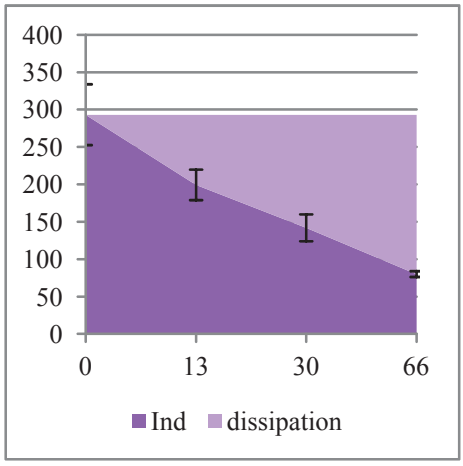



*Composteur C3, µg.kgMS$_{init}^{-1}$*
*Temps en jours*



## Valorisation des travaux de thèse

**Posters :**

- Journée des doctorants de l'ADEME 2012 (Angers): « Dynamique des micropolluants organiques au cours du traitement biologique de résidus solides. Lien entre caractérisation du résidu, localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments du résidu et processus (sorption, biodégradation) ».
- RESMO 2013 « Vers de nouveaux concepts autour des matières organiques » (Biarritz) : « Dynamique des micropolluants organiques au cours du traitement biologique de résidus solides. Lien entre caractérisation du résidu, localisation des micropolluants organiques au sein des compartiments du résidu et processus (sorption, biodégradation) ».
- Micropol & Ecohazard 2013 (Zurich) : « Fate of organic micropollutants during anaerobic digestion of sewage sludge: localization of micropollutants within sludge organic matter pools ».
- AD 13 (Santiago de Compostela) : « Fate of organic micropollutants during anaerobic digestion of sewage sludge: localization of micropollutants within sludge organic matter pools ».
- WastEng 2014 (Rio de Janeiro) : « Organic matter transformation drives the fate of organic micropollutants during anaerobic digestion and composting of sludge ».

**Présentations orales :**

- Ecole chercheurs franco-suédoise « MIM Waste 2012. Mining, Industrial and Municipal solid WASTES » (Limoges) : « Dynamic of organic micropollutants during biological treatment of sewage sludge ».
- RAMIRAN 2013 (Versailles) : « Fate of organic micropollutants during anaerobic digestion of sewage sludge: localization of micropollutants within sludge organic matter pools ».
- ORBIT 2014 (Gödöllő): « Organic matter transformation drives the fate of organic micropollutants (PAHs) during anaerobic digestion and composting of sludge ».

**Articles :**

- Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in sludge organic matter pools as a driving force of their fate during anaerobic digestion. Quentin J. Aemig, Claire Chéron, Nadine Delgenès, Julie Jimenez, Sabine Houot, Jean-Philippe Steyer, Dominique Patureau, Waste Management, 2015 (rédaction en cours)
- A new organic matter fractionation methodology applied on a large panel of organic wastes: bioaccessibility and complexity characterization. Julie Jimenez, Quentin J. Aemig, Nicolas Doussiet, Jean-Philippe Steyer, Sabine Houot, Dominique Patureau, Waste Management, 2015 (soumis)
- Coupling anaerobic digestion and composting enhances PAH dissipation in sewage sludge in interaction with organic matter transformation. Quentin J. Aemig, Nicolas

Doussiet, Alice Danel, Nadine Delgenès, Julie Jimenez, Sabine Houot, Dominique Patureau, 2015, Chemosphere (rédaction en cours)