



HAL
open science

Caractérisation, évaluation de la toxicité du biogaz issu de déchets ménagers et valorisation par reformage catalytique

Carole Tanios

► **To cite this version:**

Carole Tanios. Caractérisation, évaluation de la toxicité du biogaz issu de déchets ménagers et valorisation par reformage catalytique. Autre. Université du Littoral Côte d'Opale; Université Libanaise, 2017. Français. NNT : 2017DUNK0474 . tel-01946560

HAL Id: tel-01946560

<https://theses.hal.science/tel-01946560>

Submitted on 6 Dec 2018

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.



THESE EN COTUTELLE

délivrée par

L'UNIVERSITE DU LITTORAL CÔTE D'OPALE

et

L'UNIVERSITE LIBANAISE

pour obtenir le grade de

Docteur en Chimie

présentée par

CAROLE TANIOS

Caractérisation, évaluation de la toxicité du biogaz issu de déchets ménagers et valorisation par reformage catalytique

Soutenue publiquement le 19 décembre 2017

Membres du Jury

Najat SALIBA , Professeur, American University of Beirut	Rapporteur
Béchara TAOUK , Professeur, Unité de Technologie de Compiègne	Rapporteur
Jane ESTEPHANE , Professeur, University of Balamand	Examineur
Maya BOUTROS , Professeur, Université Libanaise	Examineur
Cédric GENNEQUIN , Maître de conférences, Université Littoral Côte d'Opale	Examineur
Bilal NSOULI , Professeur, Centre National de Recherches Scientifiques	Examineur
Madona LABAKI , Professeur, Université Libanaise	Examineur
Edmond ABI-AAD , Professeur, Université Littoral Côte d'Opale	Examineur

Résumé

Ce travail étudie la récupération d'énergie de la fraction fermentescible des déchets. En effet, la matière organique se décompose en absence d'oxygène et produit simultanément du biogaz. L'une des technologies émergentes consiste à utiliser le CH₄ et le CO₂, les deux principaux composants du biogaz. C'est la réaction de reformage à sec du méthane ($\text{CH}_4 + \text{CO}_2 \rightarrow 2 \text{CO} + 2 \text{H}_2$), particulièrement intéressante, car elle permet de produire un gaz de synthèse avec un rapport H₂/CO proche de 1, avantageux pour plusieurs applications industrielles, et de se débarrasser de deux gaz à effet de serre. Cependant, vu son caractère endothermique, le reformage à sec du méthane nécessite l'utilisation d'un catalyseur, pour éviter d'avoir à opérer à des températures très élevées pour obtenir des conversions suffisantes. De plus, le reformage à sec du méthane s'accompagne de réactions secondaires, dont certaines conduisent à la formation de carbone. Dans ce contexte, les efforts sont orientés vers le développement de systèmes catalytiques ayant une bonne activité et une bonne résistance aux dépôts de carbone.

Dans ce travail, des échantillons réels de biogaz sont analysés dans deux centres de biométhanisation, l'un en France et l'autre au Liban. Nos résultats montrent que le vrai biogaz est composé, outre des composants majeurs CH₄ et CO₂, de NH₃, H₂S, de quelques terpènes et de certains COV. Ensuite, des oxydes mixtes de Co, Ni, Mg et Al sont préparés en utilisant la voie hydrotalcite, afin d'obtenir des propriétés catalytiques intéressantes dans le reformage à sec du méthane. L'évaluation des performances catalytiques en présence de certaines impuretés présentes dans le biogaz telles que les composés organiques volatils (toluène) fait également partie de ce travail. Enfin, la toxicité du biogaz issu des centres de biométhanisation est évaluée. Des cultures de cellules pulmonaires humaines (BEAS-2B) sont ainsi exposées à l'interface air/liquide en utilisant le système Vitrocell®. Après exposition des cellules, un ensemble de marqueurs de toxicité est déterminé. Par cette étude, l'impact du biogaz sur la santé humaine sera évalué.

Mots-clés: biogaz, reformage à sec du méthane, hydrotalcite, cobalt, nickel, formation de carbone, toxicité

Abstract

This work studies the energy recovery of the fermentable fraction of waste. Indeed, organic matter decomposes in the absence of oxygen and simultaneously produces biogas. One of the emerging technologies is to upgrade CH₄ and CO₂, the two major components of biogas. This is the dry reforming of methane ($\text{CH}_4 + \text{CO}_2 \rightarrow 2 \text{CO} + 2 \text{H}_2$) (DRM), which is particularly interesting, since it makes possible to produce a synthesis gas with a H₂/CO ratio close to 1, advantageous for several industrial applications, and to get rid of two greenhouse gases. However, due to its endothermic nature, the dry reforming of methane requires the use of a catalyst, to avoid operating at very high temperatures in order to obtain sufficient conversions. Moreover, the dry reforming of methane is accompanied by secondary reactions, some of which lead to the formation of carbon. In this context, efforts have been focused on the development of catalytic systems with good activity and good resistance against carbon deposition.

In this work, real biogas samples were analyzed at two biomethanation centers, one in France and the other in Lebanon. Thus, knowing the identity and the quantity of the various compounds, a study of their effect on the efficiency of the catalyst is done. Our results show that the real biogas is composed, besides the major components CH₄ and CO₂, of NH₃, H₂S, some terpenes and some VOCs. In addition, mixed oxides of Co, Ni, Mg, and Al were prepared using the hydrotalcite route, in order to obtain interesting catalytic properties. The prepared systems were characterized by different physicochemical techniques and tested in the dry reforming of methane. The Co-Ni based system seems to be the best system joining the high activity of nickel with the high resistance of cobalt towards carbon deposition. The evaluation of the catalytic performances in the presence of some impurities that exist in biogas such as volatile organic compounds (toluene) is also a part of this work. Finally, the toxicity of biogas collected from biomethanation centers was evaluated. Human lung cell cultures (BEAS-2B) were thus exposed at the air / liquid interface using the Vitrocell® system. After exposure of the cells, a set of toxicity markers is determined. In this study, the impact of biogas on human health will be evaluated.

Keywords: biogas, dry reforming of methane, hydrotalcite, cobalt, nickel, carbon formation, toxicity

Liste des figures

Figure 1. 1: Différentes étapes de la méthanisation.....	26
Figure 1. 2: Schéma représentatif d'un centre de biométhanisation fonctionnant selon le procédé Valorga.....	33
Figure 1. 3: Digesteur Valorga utilisé pour la méthanisation des biodéchets.....	34
Figure 1. 4: a) Réception des bouteilles et des flacons en plastique, b) Digesteur de méthanisation et gazomètre (le gazomètre sert à lisser l'alimentation des moteurs qui produisent de l'électricité à partir du biogaz).....	36
Figure 1. 5: Schéma représentant la filière de biométhanisation des déchets fermentescibles allant du tri à la valorisation dans un centre de traitement au Nord de la France.....	37
Figure 1. 6: a) Tri mécanique des déchets solides municipaux, b) Séparation du plastique pour le recyclage, c) Digesteurs de méthanisation, d) Tour de désulfuration et le filtre de charbon actif.....	39
Figure 1. 7: Schéma représentant les quantités d'énergie produites en fonction des quantités de déchets reçus et leurs devenir.....	40
Figure 1. 8: Identification des COV grâce aux bibliothèques des spectromètres de masse (SM) de l'AirmoVOC et de l'EM 640.....	43
Figure 1. 9: Branchement des appareils d'analyse au sein du centre de biométhanisation français.....	47
Figure 1. 10: Analyseur fixe pour la mesure du méthane.....	48
Figure 1. 11: a) μ -GC, b) Pompe d'aspiration du biogaz, c) Point de prélèvement après désulfuration, d) Point de prélèvement après charbon actif.....	49
Figure 1. 12: a) Analyseur portatif, b) Analyseur fixe.....	49
Figure 1. 13: Concentrations de CH ₄ , CO ₂ et O ₂ obtenues par μ GC/TCD lors de la campagne d'analyse réalisée sur l'unité de biométhanisation au nord de la France le 6 avril 2016.....	50
Figure 1. 14: Répartition des différentes catégories de déchets en fonction des saisons dans le centre de biométhanisation français.....	54
Figure 1. 15: Concentrations de CH ₄ , CO ₂ , O ₂ et H ₂ S obtenues par l'analyseur fixe lors de la campagne d'analyse réalisée sur l'unité de biométhanisation au sud du Liban le 12 mai 2016....	55
Figure 1. 16: Composition moyenne du biogaz suite aux campagnes d'analyse réalisées sur l'unité de biométhanisation au sud du Liban en mai 2016.....	56
Figure 1. 17: Pourcentages volumiques des concentrations des principaux composants du biogaz issus des deux centres de biométhanisation français et libanais.....	58

Figure 2. 1: Variation des constantes d'équilibre en fonction de la température de : (2.a) la réaction du reformage à sec et des réactions secondaires, (2.b) Réaction inverse du gaz à l'eau; (2.c) Réaction de méthanation; (2.d) Décomposition du méthane; (2.e) Réaction de Boudouard; (2.f) Réaction inverse de gazéification du carbone.....	70
Figure 2. 2: Représentation schématique de la structure d'une HDL.....	74
Figure 2. 3: Exemple d'adsorption du CO ₂ sur les sites basiques des oxydes dérivés d'une structure de type hydrotalcite.....	78
Figure 2. 4: Voies de formation du carbone par la réaction de craquage du méthane.....	79
Figure 2. 5: Mécanismes de formation des filaments carbonés par craquage du CH ₄ ou réaction de Boudouard.....	80
Figure 2. 6: Schéma de la synthèse des oxydes mixtes Co _x Ni _y Mg _z Al ₂ O ₉ à partir de précurseurs de type hydrotalcite.....	83
Figure 2. 7: Courbes des analyses thermiques différentielles (ATD) et gravimétriques (ATG) des solides séchés.....	90
Figure 2. 8: Diffractogrammes de rayons X des solides séchés.....	93
Figure 2. 9: Diffractogrammes de rayons X des solides calcinés à 800 °C sous flux d'air.....	94
Figure 2. 10: Spectres FT-IR des solides séchés.....	97
Figure 2. 11: Spectres FT-IR des solides calcinés.....	98
Figure 2. 12: Profils RTP des solides calcinés.....	100
Figure 2. 13: Profils DTP-CO ₂ des solides calcinés.....	103
Figure 3. 1: Montage du test catalytique en reformage à sec du méthane utilisé.....	115
Figure 3. 2: Montage du test catalytique en reformage à sec du méthane.....	116
Figure 3. 3: Evolution de la conversion du CH ₄ en fonction de la température de la réaction en absence de catalyseur, et en présence du catalyseur Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 sans et avec réduction à différentes températures.....	120
Figure 3. 4: Evolution de la conversion du CO ₂ en fonction de la température de la réaction en absence de catalyseur, et en présence du catalyseur Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 sans et avec réduction à différentes températures.....	121
Figure 3. 5 : Evolution de la conversion du CH ₄ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co _x Ni _y Mg _z Al ₂ 800.....	124
Figure 3. 6 : Evolution de la conversion du CO ₂ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co _x Ni _y Mg _z Al ₂ 800.....	124

Figure 3. 7: Rapport molaire H ₂ /CO obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co _x Ni _y Mg _z Al ₂ 800	127
Figure 3. 8: Evolution du rendement en H ₂ obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co _x Ni _y Mg _z Al ₂ 800	128
Figure 3. 9: Evolution du rendement en CO obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co _x Ni _y Mg _z Al ₂ 800	128
Figure 3. 10: Bilan carbone obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co _x Ni _y Mg _z Al ₂ 800	129
Figure 3. 11: Diffractogrammes de rayons X des solides après reformage à sec du méthane....	130
Figure 3. 12: Courbe de l'analyse thermique différentielle (ATD) et pics de déconvolution obtenus pour Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 après reformage à sec du méthane	132
Figure 3. 13: Analyses thermiques différentielles (ATD) des solides après reformage à sec du méthane	133
Figure 3. 14: Profils OTP des solides après reformage à sec du méthane	135
Figure 3. 15: Evolution du taux de conversion du méthane pour le catalyseur Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et le catalyseur industriel Ni (50%)/Al ₂ O ₃ en fonction de la température de la réaction	137
Figure 3. 16: Diffractogrammes de rayons X du catalyseur Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et du catalyseur industriel Ni (50%)/Al ₂ O ₃ après reformage à sec du méthane	138
Figure 3. 17: Evolution de la conversion du CH ₄ durant les cycles catalytiques en présence du Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800	140
Figure 3. 18: Evolution du taux de conversion du CO ₂ durant les cycles catalytiques en présence du Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800	141
Figure 3. 19: Bilan carbone durant les cycles catalytiques en présence du Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800.....	142
Figure 3. 20: Analyse thermique du Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 après les cycles catalytiques	142
Figure 3. 21: Test de stabilité à 800 °C pendant 20 h en présence du Co ₂ Ni ₂ Al ₂ Mg ₂ 800.....	143
Figure 3. 22: Analyse thermique du Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 après test de stabilité pendant 20 h à 800 °C	145
Figure 3. 23: Evolution de la conversion du méthane en fonction de la température pour les deux différentes formes (poudre et pastille) du Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800.....	148
Figure 3. 24: Evolution de la conversion du CH ₄ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 avec et sans toluène.....	149
Figure 3. 25: Evolution de la conversion du CO ₂ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 avec et sans toluène.....	149

Figure 3. 26: Rapport molaire H ₂ /CO en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 avec et sans toluène.....	150
Figure 3. 27: Evolution du rendement en H ₂ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 avec et sans toluène.....	151
Figure 3. 28: Evolution du rendement en CO en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 avec et sans toluène.....	152
Figure 3. 29: Bilan carbone en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 avec et sans toluène.....	153
Figure 3. 30: Conversion du toluène en fonction de la température de la réaction en présence des deux catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 pour les teneurs 180 et 1470 ppm de toluène.....	154
Figure 3. 31: Evolution du benzène suivi par SM, en fonction de la température de la réaction en présence des deux catalyseurs Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 pour les teneurs 180 et 1470 ppm de toluène.....	154
Figure 3. 32: Diffractogrammes de rayons X des Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 après reformage à sec du méthane en présence du toluène.....	155
Figure 3. 33: Profils OTP des Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 après reformage à sec du méthane en présence du toluène.....	156
Figure 3. 34: Analyses thermiques différentielles (ATD) des Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 et Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 après reformage à sec du méthane en absence et en présence du toluène.....	157
Figure 4. 1: Etapes de réduction monoélectronique de l'oxygène produisant les ERO.....	170
Figure 4. 2: Différents types de lésions primaires de l'ADN.....	174
Figure 4. 3: Effets des agents toxiques directs et indirects sur l'ADN.....	175
Figure 4. 4: Voie de signalisation de Nrf2 et transcription du gène antioxydant HO-1.....	179
Figure 4. 5: Voie de signalisation du CYP1A1.....	180
Figure 4. 6: Schéma représentatif du cycle cellulaire.....	182
Figure 4. 7: Voie de signalisation de c-jun et c-fos.....	183
Figure 4. 8: Voie de signalisation du P53.....	184
Figure 4. 9: Méthodes d'exposition à la culture cellulaire.....	185
Figure 4. 10: Flacon de culture T75 Corning® CellBind®.....	189
Figure 4. 11: Inserts Transwell® dans une plaque 6 puits.....	189

Figure 4. 12: Cellules BEAS-2B en culture observées au microscope optique inversé	191
Figure 4. 13: Module Vitrocell® 6/3 CF	194
Figure 4. 14: Flux du mélange gazeux à l'intérieur du module Vitrocell®	194
Figure 4. 15: Chronologie des manipulations des cellules en inserts	195
Figure 4. 16: Modules Vitrocell® en cours d'exposition avec les sacs Tedlar contenant le biogaz	197
Figure 4. 17: Principe de la PCR en temps réel avec détection par une sonde fluorescente (technologie TaqMan®).....	199
Figure 4. 18: Expression relative des gènes IL-8, MCP-1, Nrf2, HO-1, CYP1A1, c-fos, c-jun et TP53, après exposition des cellules BEAS-2B pendant 15, 30 et 60 min aux échantillons de biogaz français et libanais	208
Figure 4. 19: Expression relative des gènes IL-8, MCP-1, Nrf2, HO-1, CYP1A1, c-fos, c-jun et TP53, après exposition des cellules BEAS-2B pendant 60 min aux échantillons de biogaz français, libanais et propre dilués à 10, 20 et 40 %.....	212

Liste des tableaux

Tableau 1. 1: Composition chimique du biogaz en fonction de son origine,.....	31
Tableau 1. 2: Tableau descriptif du système employé pour la détection et la quantification des composés majeurs dans le biogaz	41
Tableau 1. 3: Tableau descriptif du système employé pour la détection et la quantification des composés soufrés dans le biogaz	42
Tableau 1. 4: Tableau descriptif du système employé pour la détection et la quantification des COV dans le biogaz	44
Tableau 1. 5: Description des sacs Tedlar	45
Tableau 1. 6: Tableau descriptif des tubes Tenax pour la détection et la quantification des composés présents à l'état des traces dans le biogaz.....	46
Tableau 1. 7: Composition moyenne du biogaz suite aux campagnes d'analyse réalisées sur l'unité de biométhanisation au nord de la France en juillet 2015 et avril 2016	51
Tableau 1. 8: Concentrations de COV de type BTEX obtenues avant et après traitement par le charbon actif suite aux campagnes d'analyse réalisées sur l'unité de biométhanisation au sud du Liban en mai 2016	57
Tableau 2. 1: Pertes de masse théorique et expérimentale lors de la calcination sous flux d'air des solides séchés	92
Tableau 2. 2: Les phases détectées pour les solides calcinés à 800 °C, leurs symboles et les numéros JCPDS	94
Tableau 2. 3: Surfaces spécifiques des solides séchés et calcinés	95
Tableau 2. 4 : Pourcentages massiques élémentaires expérimental et théorique des solides calcinés et leurs formules chimiques expérimentales	99
Tableau 2. 6: Quantités d'H ₂ expérimentales and théoriques consommées par les solides calcinés	102
Tableau 3. 1: Comparaison de l'activité catalytique en reformage à sec du méthane en présence des catalyseurs Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800 et Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800 pour différents rapports molaires CH ₄ /CO ₂	122
Tableau 3. 2: Les phases détectées pour les solides après reformage à sec du méthane, leurs symboles et les numéros JCPDS.....	130
Tableau 3. 3: Consommations d'oxygène expérimentales et théoriques des solides après reformage à sec du méthane.....	136

Tableau 3. 4: Les phases détectées pour les solides après reformage à sec du méthane du catalyseur $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et du catalyseur industriel Ni (50%)/ Al_2O_3 , leurs symboles et les numéros JCPDS 138

Tableau 3. 5: Les phases détectées pour les solides $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane en présence du toluène, leurs symboles et les numéros JCPDS.... 156

Tableau 4. 1: Composition des différents mélanges gazeux étudiés 187

Tableau 4. 2: Les références des amorces choisies..... 203

INTRODUCTION

Les questions interdépendantes d'approvisionnement en énergie et de protection de l'environnement constituent des défis majeurs confrontant le monde d'aujourd'hui, plus particulièrement le besoin en énergie renouvelable et la lutte contre les émissions de gaz à effet de serre (GES) qui contribuent au réchauffement de la planète [1] [2]. Les principales sources des émissions de GES sont dues à la combustion du gaz naturel, du charbon et du pétrole pour le chauffage et nombreuses finalités industrielles, et pour la production d'électricité et le transport. En outre, ces sources d'énergie sont limitées et présentent un risque d'épuisement. Résoudre ces problèmes n'est pas évident, surtout en face de l'accroissement continu de la population mondiale et du développement industriel et économique. Ainsi, les recherches se sont focalisées sur la production d'énergie propre et renouvelable permettant de se dispenser de l'utilisation des énergies fossiles.

A titre d'exemple, le Liban ne dispose pas pour l'instant de sources d'énergies fossiles. Il dépend énergétiquement à 100 % de pays producteurs de pétrole. Le gouvernement libanais s'est engagé d'ici 2020 à ce que 12 % de ses besoins énergétiques en électricité proviennent des énergies renouvelables [3]. Il est à noter que les énergies renouvelables ont couvert 18 % de la consommation électrique en France au premier trimestre de l'année 2017 [4].

Par ailleurs, avec le développement de la technologie et la croissance des sociétés, la quantité de déchets augmente à une vitesse exponentielle [5] [6]. La pollution de la planète par les déchets générés par l'homme est devenue ainsi un problème mondial. En fait, le traitement des déchets par les modes normalement utilisés, tels que l'incinération et les décharges, présente plusieurs inconvénients. En fait, des centaines de substances toxiques (poussières, molécules acides) s'échappent dans l'atmosphère lors de l'incinération des déchets. De même, des contaminants chimiques et microbiologiques peuvent se répandre dans l'environnement si les conditions de confinement sont insuffisantes dans les centres de stockage [7].

En 2015, le Liban a fait face à une crise de déchets, après la fermeture de la principale décharge qui accueillait les ordures de Beyrouth et ses banlieues. La collecte des déchets a cessé et des tonnes d'ordures ont noyé la région de Beyrouth [8]. Le gouvernement a décidé d'acheminer les déchets vers des sites d'enfouissement, ce qui est jusqu'au moment insuffisant avec l'absence de tri, du recyclage et du traitement [9].

Face à toutes ces problématiques citées, la méthanisation présente le double intérêt d'être simultanément une filière de production d'énergie renouvelable et une voie alternative de traitement des déchets en minimisant les risques de pollution liés aux autres modes de traitement. La méthanisation ou la digestion anaérobique est une méthode biologique naturelle basée sur l'activité d'une flore microbienne qui permet de convertir la matière organique en éléments simples. Ce procédé produit un digestat, qui peut être utilisé comme fertilisant pour les sols, et un gaz, appelé biogaz, qui peut être valorisé et utilisé comme source d'énergie verte et alternative pour remplacer le combustible fossile [10].

Le biogaz est un gaz combustible composé majoritairement de méthane (CH_4) et de dioxyde de carbone (CO_2). Il contient également des composés intermédiaires comme l'eau, l'hydrogène sulfuré, ainsi qu'un grand nombre de composés minoritaires : hydrocarbures, aldéhydes, alcools, cétones, etc.

La variabilité de la composition du biogaz est liée aux procédés utilisés pour sa production et son épuration, mais également, à l'origine de la matière organique et à la nature des déchets. Ces derniers sont directement dépendants des saisons, de l'évolution de la réglementation et des modes de vie, qu'il s'agisse des habitudes de tri ou de consommation. De même, le pouvoir méthanogène est variable en fonction du type de matière organique ; la capacité à générer du méthane n'est pas la même pour toutes les matières organiques. Par exemple, les déchets de cuisine sont susceptibles de produire plus de méthane que le carton. En revanche, les constituants du bois ont un pouvoir méthanogène très faible, étant des composés très stables [11].

Des études réalisées en 2013 [12] montrent l'existence de 389 installations de production et de valorisation de biogaz en France. Seules 11 installations parmi elles sont destinées au traitement des déchets ménagers. Par contre, le Liban, ne dispose actuellement que d'un seul centre de production de biogaz.

Il est possible de réaliser une production contrôlée de biogaz dans des méthaniseurs, suite à la collecte des déchets. La part fermentescible des ordures ménagères résiduelles est captée par un procédé de tri mécanique. Cette part est groupée dans des bioréacteurs dans lesquels sont réunies les conditions physico-chimiques idéales afin de convertir un maximum de la matière organique en biogaz [4]. Ainsi plusieurs milliers de m^3/h de biogaz pourraient être récupérés et utilisés par des procédés thermiques et/ou électriques. Toutefois, les risques liés à ces procédés

concernent essentiellement les impuretés présentes dans le biogaz dont la nature et la quantité dépendent largement de la charge initiale (tri des déchets à la source, déchets ménagers fermentescibles) et des conditions de stockage et de décomposition (présence d'une quantité d'air, température, pH).

Dans ce travail, nous proposons en premier lieu de comparer les compositions de biogaz issus de la bio-méthanisation en France et au Liban. Pour ce faire, des échantillonnages au sein de deux centres de bio-méthanisation, l'un en France et l'autre au Liban ont été effectués. La composition chimique réelle du biogaz et les impuretés présentes ont été identifiées.

Le couplage de la production de biogaz avec des procédés catalytiques permet de le convertir en composés chimiques de plus haute valeur. Par exemple, l'hydrogène issu du reformage catalytique du biogaz est considéré comme une source d'énergie propre et renouvelable. Associé à la pile à combustible, l'hydrogène se présente comme un « vecteur énergétique » propre pour la production d'électricité et de chaleur (cogénération), avec l'eau comme produit de la réaction [13]. Les piles à combustible alimentées directement en biogaz issu de la biomasse sont d'ailleurs déjà en développement au Japon et en Allemagne et pourraient le devenir demain pour l'ensemble du monde. De plus, l'ensemble hydrogène et monoxyde de carbone formé par le reformage du biogaz permet d'obtenir une large gamme de composés chimiques comme le formaldéhyde, l'acide acétique et les hydrocarbures liquides [14][15][16]. De ce fait, la réaction de reformage entre le méthane et le dioxyde de carbone ($\text{CH}_4 + \text{CO}_2 \rightarrow 2 \text{CO} + 2 \text{H}_2$) est aujourd'hui un objectif industriel hautement stratégique non seulement pour réduire les émissions de gaz à effet de serre et pour valoriser le biogaz mais aussi pour produire le gaz de synthèse (mélange d'hydrogène et de monoxyde de carbone) en vue d'élaborer des carburants.

La réaction de conversion du biogaz en gaz de synthèse est généralement réalisée en présence de catalyseurs. Cependant, le problème majeur associé à cette réaction est le dépôt rapide de carbone sur le catalyseur provenant principalement des réactions secondaires de dissociation du monoxyde de carbone ($2 \text{CO} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{C}$) et de décomposition du méthane ($\text{CH}_4 \rightarrow \text{C} + 2 \text{H}_2$) [16]. Ce dépôt de carbone conduit à une désactivation du catalyseur. En plus du dépôt de carbone décrit ci-dessus, le reformage du biogaz affecte le catalyseur par la présence d'impuretés tels les composés organiques volatils et les composés soufrés. Ces produits peuvent

agir en diminuant la performance du catalyseur [17]. Dans ce cadre, les efforts se sont orientés dans le sens du développement de systèmes catalytiques ayant une bonne activité ainsi qu'une bonne résistance au dépôt de carbone. L'étude de l'influence de la présence d'impuretés contenues dans le biogaz sur la performance catalytique est également nécessaire.

En fait, l'histoire du domaine de la catalyse hétérogène appliquée aux réactions modèles de reformage, fait preuve d'une grande évolution : une variété de supports a été étudiée impliquant l'utilisation de métaux nobles comme Ru, Pd, Pt, Rh, etc. qui sont très actifs et sélectifs pour le reformage du méthane et certains métaux de transition comme Ni, Fe, Co, Cu, etc. qui sont moins coûteux que les métaux nobles et qui montrent une bonne activité catalytique [15] [16]. Vu le faible coût et la grande disponibilité de ces derniers, une grande attention leur a été accordée. Cependant, le dépôt de carbone qui accompagne l'emploi des catalyseurs à base de métaux de transition, entraînant le blocage des sites actifs et leur désactivation relativement rapide, constitue une préoccupation. Ainsi, en modifiant le support choisi, en changeant les rapports molaires des éléments, en optimisant la méthode de préparation, des améliorations ont été obtenues concernant l'activité, la sélectivité et la stabilité des catalyseurs [4].

En conséquence, au sein de ce travail, une série de catalyseurs avec différentes teneurs de Co et de Ni est préparée par voie hydrotalcite. Les hydrotalcites permettent de combiner les éléments choisis afin d'obtenir, après calcination, des oxydes mixtes présentant des propriétés intéressantes en catalyse telles qu'une surface spécifique relativement élevée et une bonne stabilité thermique [12] [13]. Les performances catalytiques des solides préparés sont ensuite évaluées vis-à-vis d'une réaction modèle du reformage à sec du méthane, en absence et en présence de toluène comme exemple d'impuretés. Ces solides ont été caractérisés par différentes techniques physico-chimiques avant et après test catalytique.

Par ailleurs, l'analyse du biogaz brut et valorisé impose de prendre en compte les risques sanitaires. Le biogaz non traité comporte de nombreux éléments chimiques connus pour leur toxicité, voire cancérogénicité. Du sulfure d'hydrogène, des hydrocarbures, de l'ammoniac, du monoxyde de carbone et de l'azote ont ainsi été détectés lors d'essais de méthanisation du biogaz [1]. La présence de ces nombreuses impuretés dans le biogaz peut d'une part entraîner des désactivations des systèmes catalytiques, mais aussi d'autre part, présenter des effets sanitaires graves. En effet, certains composés présents à de faibles concentrations sont cancérogènes pour

l'homme [4]. Dans le cadre d'une démarche de développement d'énergie renouvelable, il sera important de s'assurer de l'absence de toxicité des émissions de biogaz canalisées, ainsi que de celle du gaz et des impuretés issus de sa transformation, en vue de leur utilisation à grande échelle.

Ainsi, l'aspect toxicologique du biogaz issu de la biométhanisation des déchets ménagers et de celui du gaz de synthèse obtenu après reformage à sec du biogaz est abordé dans ce travail. Une exposition des cellules pulmonaires humaines aux mélanges gazeux est effectuée en variant deux paramètres majeurs qui sont la durée et la concentration d'exposition. Pour ce faire, une culture sur inserts permettra d'exposer les cellules en interface air/liquide en utilisant le dispositif Vitrocell®. C'est un système direct et dynamique qui a la particularité unique de permettre cette exposition à l'interface Air-Liquide [18].

En somme, ce manuscrit s'articule autour de quatre chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à l'étude des notions de déchets, de leur valorisation et au principe de la biométhanisation. Les deux centres de biométhanisation français et libanais sont décrits. Les prélèvements du biogaz réalisés auprès de ces deux centres et les analyses effectuées sont ensuite présentés. En effet, des échantillonnages ont été effectués afin de mener une analyse chimique sur site complétée par une analyse ultérieure en laboratoire. Cette tâche a été faite en collaboration avec le Centre Commun de Mesures de l'ULCO (CCM) qui dispose des moyens techniques et analytiques adéquats.
- Dans le deuxième chapitre, le processus du reformage à sec du méthane est expliqué et les catalyseurs déjà étudiés pour ce processus sont présentés. Par la suite, une description de la structure hydrotalcite et des processus de désactivation des catalyseurs est effectuée. Après cette partie bibliographique, la synthèse d'une série de catalyseurs par voie hydrotalcite avec différentes teneurs de Co et de Ni est décrite, suivie d'une introduction à certaines techniques de caractérisation physico-chimique qui seront effectuées en vue de faciliter la compréhension des performances des catalyseurs. Les résultats de ces caractérisations effectuées sur nos catalyseurs avant et après décomposition thermique sont ensuite présentés. La synthèse des catalyseurs est effectuée au sein de la Plateforme de Recherche en Nanosciences et Nanotechnologie de l'Ecole Doctorale en Sciences et

Technologie de l'Université Libanaise (PR2N/EDST), alors que les caractérisations sont réalisées à l'Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) de l'Université du Littoral - Côte d'Opale (ULCO).

- Le troisième chapitre détaille le banc catalytique utilisé et traite les résultats des activités catalytiques et la stabilité des catalyseurs préparés vis-à-vis de la réaction modèle de reformage à sec du méthane. Les modifications des catalyseurs engendrées par la réaction sont étudiées par différentes techniques physico-chimiques. Le meilleur catalyseur de notre série est comparé à un catalyseur industriel et des tests de vieillissement sont effectués pour étudier la stabilité du système catalytique au fil du temps. Enfin, le toluène est introduit dans le test catalytique pour évaluer son impact en tant qu'impureté présente dans le biogaz. Ce travail a été mené à l'UCEIV.
- Le quatrième chapitre aborde l'aspect toxicologique du biogaz issu de la biométhanisation des déchets ménagers. Une étude bibliographique sur l'effet des composants de ce gaz sur la santé humaine ainsi qu'une description des mécanismes toxicologiques les plus importants sont présentées. La préparation et l'exposition des cellules pulmonaires aux mélanges gazeux en utilisant le dispositif Vitrocell® sont détaillées. Enfin, les résultats obtenus sont présentés, analysés et interprétés. Ce travail a été mené à l'UCEIV.

A la fin, une conclusion fait ressortir les principaux apports de ce travail ainsi que les perspectives envisagées.

Références bibliographiques

- [1] I. Dincer, C. Acar, Review and evaluation of hydrogen production methods for better sustainability, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2014) 11094–11111.
- [2] T. LeValley, A. Richard, M. Fan, The progress in water gas shift and steam reforming hydrogen production technologies, *International Journal of Hydrogen Energy*. 39 (2014) 16983–17000.
- [3] N. Abdul Rahim, Liban, Secteurs à haut potentiel, Approche du marché, Recommandations, Invest-export.brussels. (2014).
- [4] Consommation électrique: 18% d'énergies vertes au 1T. <http://www.lefigaro.fr/flash-eco/2017/05/18/97002-20170518FILWWW00199-consommation-electrique-18-d-energies-vertes-au-1t.php> (accessed October 29, 2017).
- [5] J. Fernández-Rodríguez, M. Pérez, L.I. Romero, Temperature-phased anaerobic digestion of Industrial Organic Fraction of Municipal Solid Waste: A batch study, *Chemical Engineering Journal*. 270 (2015) 597–604.
- [6] M. Gulhane, A. Khardenavis, S. Karia, P. Pandit, G.S. Kanade, S. Lokhande, A.N. Vaidya, H.J. Purohit, Biomethanation of vegetable market waste in an anaerobic baffled reactor: Effect of effluent recirculation and carbon mass balance analysis, *Bioresource Technology*. 215 (2016) 100–109.
- [7] Les traitements des déchets et leurs risques associés | Cancer et environnement. <http://www.cancer-environnement.fr/93-Traitements-des-dechets-et-riesquesassocies.ce.aspx> (accessed October 16, 2017).
- [8] Problème des déchets. Traitement, coût et solution. http://magazine.com.lb/index.php/fr/liban/le-saviez-vous-?issue_id=115 (accessed October 29, 2017).
- [9] La crise des déchets du Liban couve depuis 40 ans, *Middle East Eye*. <http://www.middleeasteye.net/fr/reportages/la-crise-des-d-chets-du-liban-couve-depuis-40-ans-1786343947> (accessed October 30, 2017).
- [10] R. Rajagopal, D.I. Massé, G. Singh, A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia, *Bioresource Technology*. 143 (2013) 632–641.
- [11] C. Leroux, Biogaz: un avenir pour les déchets ménagers?, in: *La Chimie et l'habitat*, EDP Sciences. (2011) 65–72.
- [12] Les chiffres clés de la filière biogaz en France en 2013 | MAGAZINE ET PORTAIL FRANCOPHONE DES BIOÉNERGIES. <https://www.bioenergie-promotion.fr/36318/les-chiffres-cles-de-la-filiere-biogaz-en-france-en-2013/> (accessed October 17, 2017).
- [13] Y. Qi, Z. Cheng, Z. Zhou, Steam reforming of methane over Ni catalysts prepared from hydrotalcite-type precursors: Catalytic activity and reaction kinetics, *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 23 (2014) 76–85.
- [14] S. Sumrunronnasak, S. Tantayanon, S. Kiatgamolchai, T. Sukonket, Improved hydrogen production from dry reforming reaction using a catalytic packed-bed membrane reactor with

- Ni-based catalyst and dense PdAgCu alloy membrane, *International Journal of Hydrogen Energy*. 41 (2016) 2621–2630.
- [15] A. Serrano-Lotina, L. Daza, Long-term stability test of Ni-based catalyst in carbon dioxide reforming of methane, *Applied Catalysis A: General*. 474 (2014) 107–113.
- [16] M.A. Soria, C. Mateos-Pedrero, A. Guerrero-Ruiz, I. Rodríguez-Ramos, Thermodynamic and experimental study of combined dry and steam reforming of methane on Ru/ ZrO₂-La₂O₃ catalyst at low temperature, *International Journal of Hydrogen Energy*. 36 (2011) 15212–15220.
- [17] V. Chiodo, S. Maisano, G. Zafarana, F. Urbani, Effect of pollutants on biogas steam reforming, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 1622–1628.
- [18] M. Al Zallouha, Y. Landkocz, J. Brunet, R. Cousin, E. Genty, D. Courcot, S. Siffert, P. Shirali, S. Billet, Usefulness of toxicological validation of VOCs catalytic degradation by air-liquid interface exposure system, *Environmental Research*. 152 (2017) 328–335.

CHAPITRE I

PRELEVEMENT ET ANALYSE DU BIOGAZ



Sommaire

CHAPITRE I.....	21
PRELEVEMENT ET ANALYSE DU BIOGAZ.....	21
A. Etude bibliographique.....	23
1. Déchets : Définition, types, origines et valorisation.....	23
2. Biométhanisation.....	24
2.1. Histoire et définition.....	24
2.2. Principe.....	25
2.3. Biométhanisation en industrie.....	27
2.4. Enjeux de la biométhanisation.....	28
3. Biogaz.....	29
3.1. Composition.....	29
3.2. Valorisation.....	31
4. Exemples concrets de centres de biométhanisation.....	32
4.1. Procédé Valorga.....	32
4.2. Centre de biométhanisation au Nord de la France.....	35
4.3. Centre de biométhanisation au Sud du Liban.....	37
B. Etude analytique du biogaz.....	41
1. Identification et quantification des composés.....	41
1.1. Composés majoritaires.....	41
1.2. Composés soufrés.....	42
1.3. Composés azotés.....	42
1.4. Composés organiques volatils.....	43
1.5. Analyse des composés majoritaires et minoritaires (traces).....	44
2. Echantillonnage.....	47
2.1. Centre de biométhanisation au Nord de la France.....	47
2.2. Centre de biométhanisation au Sud du Liban.....	48
C. Résultats et discussion.....	50
1. Centre de biométhanisation au Nord de la France.....	50
2. Centre de biométhanisation au Sud du Liban.....	54
3. Comparaison entre les centres de biométhanisation français et libanais.....	57
Références bibliographiques.....	59

Ce chapitre est composé de trois parties, une étude bibliographique, une étude analytique et une présentation des résultats ainsi que leur discussion. La première partie traite les notions de déchets et de valorisation. Par la suite, elle aborde le principe de la biométhanisation avec ses différentes étapes ainsi que la composition du biogaz. Enfin, elle décrit deux centres de biométhanisation, l'un français, l'autre libanais. Dans la deuxième partie, les techniques de prélèvement et l'échantillonnage du biogaz sont décrits. Dans la dernière partie, les résultats obtenus lors de nos prélèvements sont présentés et interprétés.

A. Etude bibliographique

1. Déchets : Définition, types, origines et valorisation

L'article L. 541-1-1 du code de l'environnement français précise que :

- « toute substance ou tout objet, ou plus généralement tout bien meuble, dont le détenteur se défait ou dont il a l'intention ou l'obligation de se défaire » est qualifié comme déchet.
- « toute opération dont le résultat principal est que des déchets servent à des fins utiles en substitution à d'autres substances, matières ou produits qui auraient été utilisés à une fin particulière, ou que des déchets soient préparés pour être utilisés à cette fin, y compris par le producteur de déchets » est une opération de valorisation [1].

Plusieurs critères existent pour distinguer entre les différentes catégories de déchets, pouvant être classés suivant leur nature (déchets dangereux, non dangereux et inertes), leur origine (déchets municipaux, déchets agricoles et industriels) et leur mode de traitement (déchets recyclables, valorisables énergétiquement, réutilisables, etc.) [1].

En effet, la quantité de déchets, en particulier les déchets solides municipaux, augmente continuellement avec la croissance des sociétés et l'urbanisation rapide [2] [3]. L'activité humaine mondiale produit environ 10 millions de tonnes de déchets chaque jour, ce qui présente une production mondiale d'environ 4 milliards de tonnes de déchets par an [4]. En raison des impacts environnementaux néfastes des déchets, leur gestion est devenue une préoccupation environnementale et sociale. Ainsi, diverses alternatives ont été proposées pour minimiser l'impact négatif des déchets en réduisant leur volume, en les utilisant comme une source d'énergie puisque perpétuelle et renouvelée [2].

Notre étude, s'intéresse tout particulièrement à la valorisation énergétique de la fraction fermentescible des déchets. En effet, ces ressources fatales fermentescibles sont nombreuses et peuvent être issues de trois principaux secteurs :

- L'agriculture : les déchets d'élevage, les résidus de récolte.
- Les collectivités : les ordures ménagères (fruits, végétaux, matière grasse, papiers et cartons souillés), les déchets verts, les boues des stations d'épuration des eaux usées urbaines, les déchets de marché, des restaurants, des abattoirs.
- L'industrie : les déchets des industries agro-alimentaires, les eaux de lavage [5] [6].

Les deux principales façons de produire de l'énergie à partir des biodéchets sont l'incinération et la méthanisation produisant du biogaz.

Dans la plupart des cas, l'incinération des déchets n'est pas efficace, vu leur faible proportion en matière organique sèche, limitant par la suite l'énergie qui se dégage au cours de leur combustion. En revanche, la méthanisation permet à la fois de réduire le volume de déchets et des émissions de gaz à effet de serre en valorisant le biogaz dégagé lors de la décomposition des déchets [7].

Ainsi, la méthanisation, qui est une méthode biologique basée sur l'activité de communautés microbiennes spécifiques, donne un nouvel attrait pour le traitement de ces déchets.

2. Biométhanisation

2.1. Histoire et définition

L'histoire de la méthanisation remonte à l'année 1630, lorsque Van Lemond découvre que la fermentation de la matière organique dégage un gaz inflammable [8]. Puis en 1776, Alessandro Volta observa du gaz qui se libérait d'un marais et mit en évidence, l'existence de gaz hydrogène carboné dans les bulles de gaz émises des marais. En 1787, Antoine-Laurent Lavoisier lui donne le nom de "gas hidrogenium carbonatrum" [9]. Un peu plus tard, en 1808, Humphrey Davy démontre sa présence dans les gaz produits lors de la décomposition de lisiers. Après soixante ans, Jules Reiset repère le dégagement du gaz combustible des marais en étudiant la dynamique de l'azote dans les fumiers. L'origine de ce gaz était attribuée à l'activité microbienne. Le terme "méthane" fut proposé en 1865 et confirmé en 1892 par un congrès international de nomenclature chimique [9].

Cependant, les premières applications des traitements anaérobiques n'étaient mises en œuvre qu'en 1895 en Angleterre pour l'éclairage public et 1897 en Inde avec l'objectif de produire du carburant pour véhicule [8]. La digestion anaérobie fut historiquement l'une des technologies de traitement les plus anciennes utilisées par l'humanité. Jusqu'aux années 1970, elle était couramment utilisée uniquement dans la gestion des déchets des stations d'épuration.

Par définition, la méthanisation ou la digestion anaérobie est un processus biologique naturel qui permet de convertir la matière organique (glucides, lipides, protéines) en éléments simples (CH_4 , CO_2 , NH_3 et H_2S), formant le biogaz, grâce à l'action d'une flore microbienne complexe et spécifique. Ce procédé a la particularité de produire, à côté du biogaz, un produit humide riche en matières organiques appelé digestat, qui, après maturation par compostage, peut être utilisé comme fertilisant pour les sols [10].

2.2. Principe

Le processus biologique de la méthanisation permet la réduction progressive de la longueur des chaînes carbonées de la matière organique. Bien qu'il soit complexe, ce processus peut se diviser en quatre étapes indissociables faisant intervenir des populations bactériennes bien spécifiques : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse [11]. La figure 1.1 est une simple représentation de ces étapes.

La première étape est l'hydrolyse de la matière organique complexe, comme les protéines, les graisses, la cellulose et l'amidon, etc. Cette phase est assurée par des bactéries hydrolytiques qui sécrètent des enzymes comme la protéase, la cellulase, la lipase, l'amylase, responsables de la transformation des protéines en acides aminés, des glucides en sucres simples et des lipides en acides gras, glycérol ou autres alcools. L'hydrolyse est souvent une étape limitante des substrats solides, puisque la biomasse est constituée de différentes intégrités structurelles [11] [12].

La deuxième étape est l'acidogénèse. Elle met en action des bactéries acidogènes qui transforment le substrat en un mélange d'acides organiques principalement l'acide acétique (avec l'acide lactique, l'acide propanoïque, etc.), des composés neutres (alcools et glycérol), ainsi que du dioxyde de carbone et du dihydrogène [13]. Il s'agit du processus de fermentation réalisé par les organismes acidogènes.

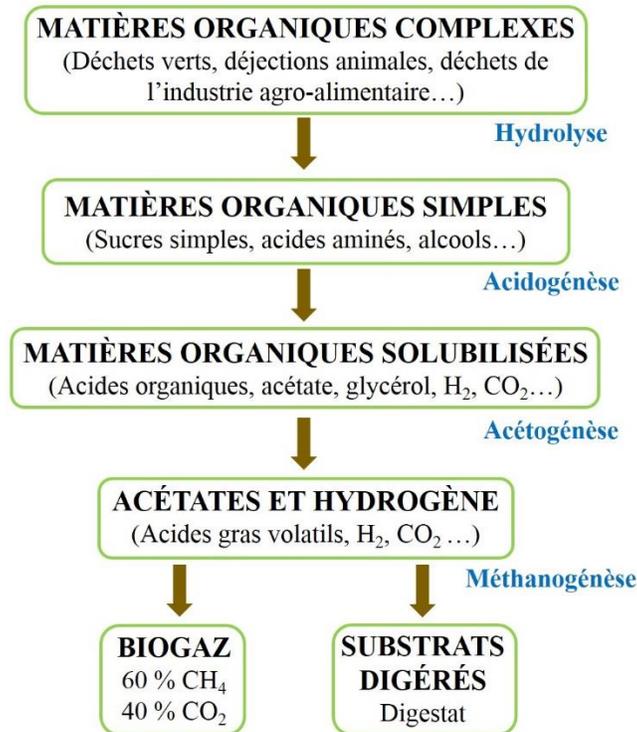


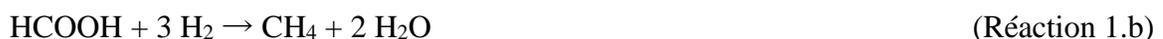
Figure 1. 1: Différentes étapes de la méthanisation

Lors de la troisième étape, les divers acides et les autres produits issus de l'étape précédente se transforment en acides gras volatils, essentiellement en acide acétique (CH₃COOH), en dioxyde de carbone (CO₂) et en hydrogène (H₂), précurseurs directs du méthane [13]. Cette étape porte le nom d'acétogénèse durant laquelle les bactéries réductrices acétogènes interviennent.

Durant cette étape, l'accumulation d'hydrogène [14] a lieu. Ce dernier est systématiquement transféré des bactéries acétogènes aux bactéries méthanogènes utilisatrices d'hydrogène, évitant ainsi toute inhibition de l'acétogénèse. Ces associations obligatoires entre les bactéries acétogène et méthanogène sont appelées associations syntrophiques [15].

Enfin et durant la quatrième étape, les bactéries méthanogènes utilisent les précurseurs formés lors des étapes précédentes pour générer le méthane [16]. La méthanogénèse est assurée par deux voies :

- A partir d'hydrogène, du dioxyde de carbone et d'acide formique, à l'aide des bactéries hydrogénotrophes :



- A partir d'acide acétique, de méthanol et de méthylamine, avec les bactéries acétotrophes :



Ces réactions sont lentes et peu exothermiques [15].

A la fin de la digestion, du biogaz, majoritairement composé de CH_4 et CO_2 , et un digestat, sont formés.

2.3. Biométhanisation en industrie

A l'échelle industrielle, la production du biogaz à partir de déchets peut se faire soit suite à une dégradation spontanée, il s'agit alors des installations de stockage des déchets non dangereux ou centres d'enfouissement techniques classe 2 (CET), soit par méthanisation en digesteur.

Cette dernière consiste à éliminer les composés indésirables (métaux, déchets non fermentescibles), et à introduire par la suite la matière organique dans un réacteur, appelé digesteur [6] où certaines conditions physicochimiques doivent être maîtrisées [17].

En effet, le pH doit être voisin de la neutralité, entre 6,5 et 8,5 avec un optimum entre 7 et 8 [18] [19]. Un pH inférieur à 6,5 entraîne une acidification dans le méthaniseur suite à l'inhibition des bactéries méthanogènes. Par conséquent, une accumulation des acides gras volatils est observée vu que leur production sera supérieure à leur consommation. Par contre, un pH supérieur à 8,5 peut causer une alcalose. L'alcalose provient d'un excès d'ammoniac dans le milieu, conséquence d'un apport de substrat trop riche en protéines. L'ammoniac entraîne une augmentation du pH et inhibe les bactéries acidogènes et acétogènes, accumulant alors les produits d'hydrolyse (acides aminés, acides gras, sucres).

De même, les gammes de températures doivent être bien contrôlées en fonction du régime choisi. Plus précisément, la méthanisation peut être psychrophile, mésophile ou thermophile [18]. La première, avec des installations non chauffées et des températures en dessous de $25\text{ }^\circ\text{C}$, n'est plus utilisée car elle impose des temps de rétention très longs. Le régime mésophilique exige un optimum de $37\text{ }^\circ\text{C}$ et des temps de séjour de l'ordre de 40 jours. Par contre, le système thermophilique nécessite un optimum vers $55\text{ }^\circ\text{C}$, permettant un processus

plus rapide et plus efficace. Dans ce cas, le temps de séjour dans le digesteur peut avoisiner une vingtaine de jours, vu que la croissance des bactéries de méthanisation est plus grande en conditions thermophiles par rapport aux autres régimes [2] [20].

De plus, les populations bactériennes anaérobies agissent de manière préférentielle à faible potentiel d'oxydoréduction, paramètre représentant l'état de réduction du système. Un potentiel redox entre - 300 et - 400 mV est adéquat pour la réduction des substances organiques [21].

Il faut noter que les bactéries requises aux différentes étapes de la biométhanisation se trouvent à l'état naturel dans les écosystèmes anaérobies. Cependant, il est possible d'ajouter de ces bactéries au début de la méthanisation pour augmenter le rendement de dégradation des déchets. Un apport suffisant de micro-nutriments assurant la survie de la microflore est aussi important [18].

La méthanisation a lieu dans des digesteurs, constitués d'une cuve fermée, étanche à l'air dans laquelle les microorganismes dégradent les effluents organiques pour produire du biogaz.

Le choix du digesteur varie en fonction du procédé utilisé [20]. Ainsi, il existe des :

- Digesteurs à culture fixée : les bactéries se fixent sur un support mobile ou statique pour augmenter leur population.
- Digesteurs infiniment mélangés : le substrat est homogénéisé à l'aide d'un brassage mécanique ou au gaz. Les substrats de ces digesteurs contiennent plus de matière sèche que les digesteurs à culture fixée.
- Réacteurs à écoulement piston : ce sont des digesteurs cylindriques horizontaux dans lesquels le substrat est introduit d'un côté et se déplace lentement vers la sortie tout en se décomposant. Ces digesteurs fonctionnent avec plus de matière sèche que les réacteurs infiniment mélangés.

2.4. Enjeux de la biométhanisation

La construction d'une installation de biométhanisation offre plusieurs intérêts. Tout d'abord, elle présente une filière de production d'énergie renouvelable suite à la valorisation du biogaz émis. En fait, la production d'électricité, de chaleur et de carburant à

l'aide de biogaz s'avère intéressante vu que les énergies fossiles utilisées massivement de nos jours sont épuisables [10] [22].

De plus, la valorisation du biogaz protège l'environnement en évitant des rejets de méthane dans l'atmosphère, gaz à effet de serre dont le pouvoir de réchauffement global est 25 fois supérieur à celui du dioxyde de carbone [2].

La méthanisation permet aussi de diminuer le pourcentage de matière sèche et de réduire sensiblement le volume de déchets qui seraient normalement dirigés en centres d'enfouissement ou directement incinérés [23]. Ainsi, elle minimise les risques de pollution liés à ces modes de traitement de déchets. En effet, elle évite les nuisances locales autour des sites comme les odeurs et les insectes en cas de stockage des déchets. En outre, la combustion du biogaz libère principalement de l'eau et du dioxyde de carbone, contrairement à l'incinération des déchets qui peut libérer des gaz nocifs et toxiques [24]. Par ailleurs, le cycle du carbone est neutre puisque la quantité de dioxyde de carbone provenant de la combustion du méthane est égale à celle captée par la biomasse utilisée comme ressource d'énergie [11].

Les installations de biogaz permettent également de récupérer en sortie du fermenteur un digestat, généralement valorisé sous forme d'engrais [25].

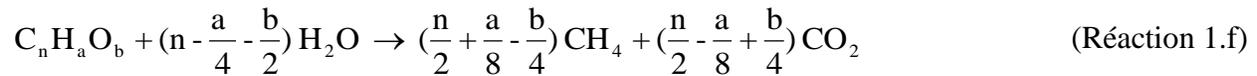
Par conséquent, la biométhanisation est considérée comme une méthode de dépollution et de traitement très efficace des déchets organiques fermentescibles [6].

3. Biogaz

3.1. Composition

Le biogaz brut est un mélange composé essentiellement de méthane (CH_4) et de gaz carbonique (CO_2) produit par fermentation anaérobie de matières organiques, spontanément dans des conditions naturelles (marais, décharges d'ordures ménagères) ou bien dans des installations spécifiques appelées digesteurs. Généralement, la composition volumique en CH_4/CO_2 dans le biogaz est voisine de 60/40 [26]. Mais cette composition est variable et dépend surtout du processus employé (mésophile ou thermophile) et de la nature des déchets organiques fermentés, plus précisément de la proportion Carbone - Hydrogène - Oxygène - Azote (C, H, O, N) [16]. En effet, un substrat riche en C et H, comme les corps gras, produit un biogaz contenant une forte proportion de méthane ($\approx 90\%$), alors qu'un substrat moyennement riche en C et H, comme les glucides et les lisiers des vaches, produit moyennement 55 % de méthane [27].

La production de biogaz est réalisée selon l'équation classique de Buswell et Mueller (1952) [28] :



Le biogaz contient également des composés à faibles concentrations tels que l'eau (H₂O), l'oxygène (O₂), l'azote (N₂), l'ammoniac (NH₃) et le sulfure d'hydrogène (H₂S) à l'origine du caractère nauséabond du biogaz [29]. Une grande variété de composés indésirables, n'excédant pas en totalité les 1 %, est aussi observée. Ils peuvent être des produits intermédiaires de fermentation, comme les alcools, les acides, les esters et l'hydrogène, ou même des thiols (mercaptans), des terpènes, des siloxanes, ou une grande variété de composés organiques volatils dont certains sont fluorés ou chlorés et des métaux lourds, tels que Pb, Cd, Hg et As [30].

Ces composés varient selon la nature du substrat fermenté, comme c'est le cas du méthane et du gaz carbonique. Ainsi, le biogaz issu de la méthanisation d'ordures ménagères a une composition distincte de celui provenant des décharges, ou de la fermentation de fumier, de résidus de récolte ou d'effluents industriels [31]. Les déchets municipaux organiques sont un substrat hautement souhaitable pour les digesteurs anaérobies en ce qui concerne leur haute biodégradabilité et leur rendement en méthane [32][33] [34]. Le tableau 1.1 liste la composition de différents biogaz résultant de la méthanisation dans divers types d'installations.

A la sortie des installations, le biogaz ne peut pas être utilisé tel quel. Il doit subir un prétraitement [37]. L'objectif principal de l'épuration du biogaz brut consiste à éliminer les substances indésirables et les traces de polluants, surtout que certaines substances sont considérées comme critiques dans le biogaz. Par exemple, le sulfure d'hydrogène (H₂S) et le dioxyde de carbone en solution sont corrosifs, les siloxanes (R₂SiO) entraînent un dépôt de silice endommageant les moteurs des installations d'extraction et de valorisation, de même pour le H₂S qui forme l'acide sulfurique (H₂SO₄) dans les gaz d'échappement et qui attaque les surfaces métalliques des équipements. De plus, il ne faut pas négliger le caractère toxique et irritant du H₂S et de certains Composés Organiques Volatils (COV) [30] [38] .

Tableau 1. 1: Composition chimique du biogaz en fonction de son origine, % représente le pourcentage volumique [15] [27] [35] [36]

	Composant						
	% CH ₄	% CO ₂	% N ₂	% O ₂	% H ₂ O	H ₂ S (mg/m ³)	
Type d'installations	Digesteur de déchets Organiques	45-80	27-45	0-5	0-1	4-6	100-900
	Décharges d'ordures Ménagères	45-58	25-40	2-18	0-1	6	20-50
	Centre d'enfouissement technique	45-60	35-55	0-30	0-1	6-15	0-2000
	Station d'épuration	55-75	20-45	0-1	0-0,5	6	1000- 4000
	Lisiers de bovins	60-75	19-33	0-1	0-0,5	6	3000- 10000

3.2. Valorisation

Le biogaz peut être valorisé sous plusieurs formes :

- Energie thermique par combustion : la chaleur de combustion du biogaz sert à la production d'eau chaude et de vapeur pour chauffer les logements et les collectivités ou à l'entretien de la température des fermenteurs [26].
- Energie électrique : le biogaz peut alimenter un moteur ou une turbine à gaz qui produit de l'électricité [17]. L'objectif de cette production peut être une autoconsommation et/ou une revente au réseau électrique. Dans le cas d'une cogénération, le biogaz produit de l'électricité et de la chaleur utilisée pour chauffer les digesteurs des installations [26].
- Injection dans le réseau de gaz naturel : le biogaz peut être injecté sur le réseau de gaz naturel après un certain nombre de prétraitements pour éliminer le CO₂, H₂S, O₂, H₂O et les composés halogénés [22].
- Biogaz carburant : le biogaz peut également être utilisé comme biocarburant à condition qu'il soit correctement épuré. Son emploi est pour l'instant limité à des flottes de

véhicules captives (véhicules d'entreprise, taxis, bus de ville, camions d'ordures ménagères) [11].

- Reformage du méthane pour former de l'hydrogène renouvelable. Ce type de valorisation sera le centre d'intérêt des chapitres suivants.

Partant de ces différents types de valorisation, le biogaz issu de déchets est considéré une énergie renouvelable : sa production permet de se débarrasser d'une partie des déchets et son utilisation permet de réduire les consommations d'énergie non renouvelable ainsi que de diminuer la dépendance aux énergies fossiles [17] [27].

4. Exemples concrets de centres de biométhanisation

4.1. Procédé Valorga

Le procédé Valorga a été développé en France en 1981 pour traiter initialement la fraction organique des déchets ménagers et plus tard il a été adapté au traitement des déchets mixtes [39]. La première installation pilote a été établie en 1982 à Montpellier, en France. La première usine à l'échelle industrielle, a été ouverte en 1988 à Amiens, en France [15].

Les deux centres, en France et au Liban, sélectionnés pour cette étude, sont basés sur le procédé Valorga pour le traitement des ordures ménagères issues d'une collecte sélective ou non. Ce système est adapté aux déchets verts, végétaux des parcs et jardins, gazons, branchages, aux déchets organiques de cuisine ou du potager, restes de repas, épluchures, essuie-tout, journaux, sachets de thé, coquilles d'œufs, aux boues de station d'épuration, etc. Il est appliqué à la fois pour le traitement des déchets ménagers triés mécaniquement (issus de collecte en vrac) et pour le traitement des déchets ménagers triés à la source.

Les principaux objectifs de cette technique sont la valorisation maximale de la matière organique et la protection de l'environnement. En effet, le procédé Valorga est une filière complète constituée d'une unité de réception, de préparation et de tri des déchets, d'une unité de méthanisation, d'une unité de valorisation du biogaz et d'une unité de séchage biologique et d'affinage de l'amendement organique.

La figure 1.2 est un schéma représentatif d'une installation fonctionnant selon le procédé Valorga. L'unité de réception et de tri des déchets organiques est constituée d'un pont-bascule permettant la pesée des camions de collecte arrivant à l'usine, d'un hall de réception et de déchargement, et d'un système de séparation des impuretés, de calibrage et de réduction

granulométrique, en fonction de la nature exacte des déchets à traiter. Des transporteurs sont nécessaires pour l'acheminement du produit vers l'unité de méthanisation. Cette dernière permet la fermentation anaérobie de la fraction fermentescible des déchets. L'introduction des matières se fait après mélange et malaxage, sous forme de boue épaisse, à forte teneur en matière sèche.

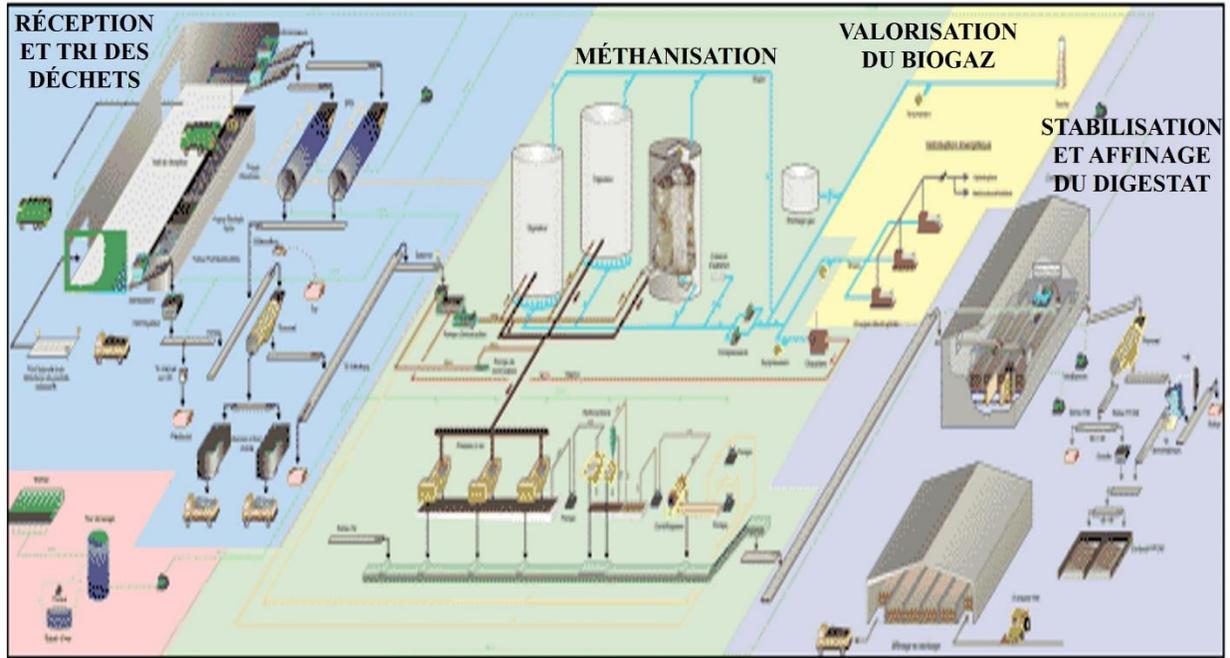


Figure 1. 2: Schéma représentatif d'un centre de biométhanisation fonctionnant selon le procédé Valorga

Le procédé Valorga privilégie trois facteurs pendant la phase de maintien des biodéchets dans le digesteur :

- L'absence d'oxygène,
- La température de 55 °C,
- La durée de séjour de 21 jours.

Ces trois éléments, combinés à la forme du digesteur, permettent d'accélérer la décomposition des biodéchets. Le digesteur Valorga est cylindrique vertical mais le cheminement des matières est de type piston horizontal. En effet, le fermenteur comporte une paroi médiane sur environ les 2/3 de son diamètre. Les entrées et sorties de déchets sont situées à la base du réacteur, de part et d'autre de cette paroi, ce qui implique un cheminement circulaire des matières. Par conséquent, les déchets introduits ne peuvent être extraits qu'après avoir parcouru toute la surface du digesteur. Ce système garantit un faible temps de séjour pour la totalité de la matière fermentescible.

Par ailleurs, afin d'assurer un rendement optimal de la dégradation, la matière fermentescible doit être homogénéisée durant son séjour dans le digesteur. La méthode d'agitation appliquée dans le procédé Valorga est pneumatique : elle consiste à injecter du biogaz à la base du réacteur sous pression (8 bars), de façon périodique et automatique. Le biogaz utilisé pour l'agitation tourne en circuit fermé. Ce système affirme l'absence totale de pièce d'agitation mécanique à l'intérieur du digesteur, dont la maintenance impliquerait l'ouverture de l'enceinte hermétique voire sa vidange.

La figure 1.3 montre le digesteur Valorga utilisé pour la méthanisation des biodéchets. Sa géométrie particulière garantit un temps de séjour des déchets de l'ordre de 3 semaines.

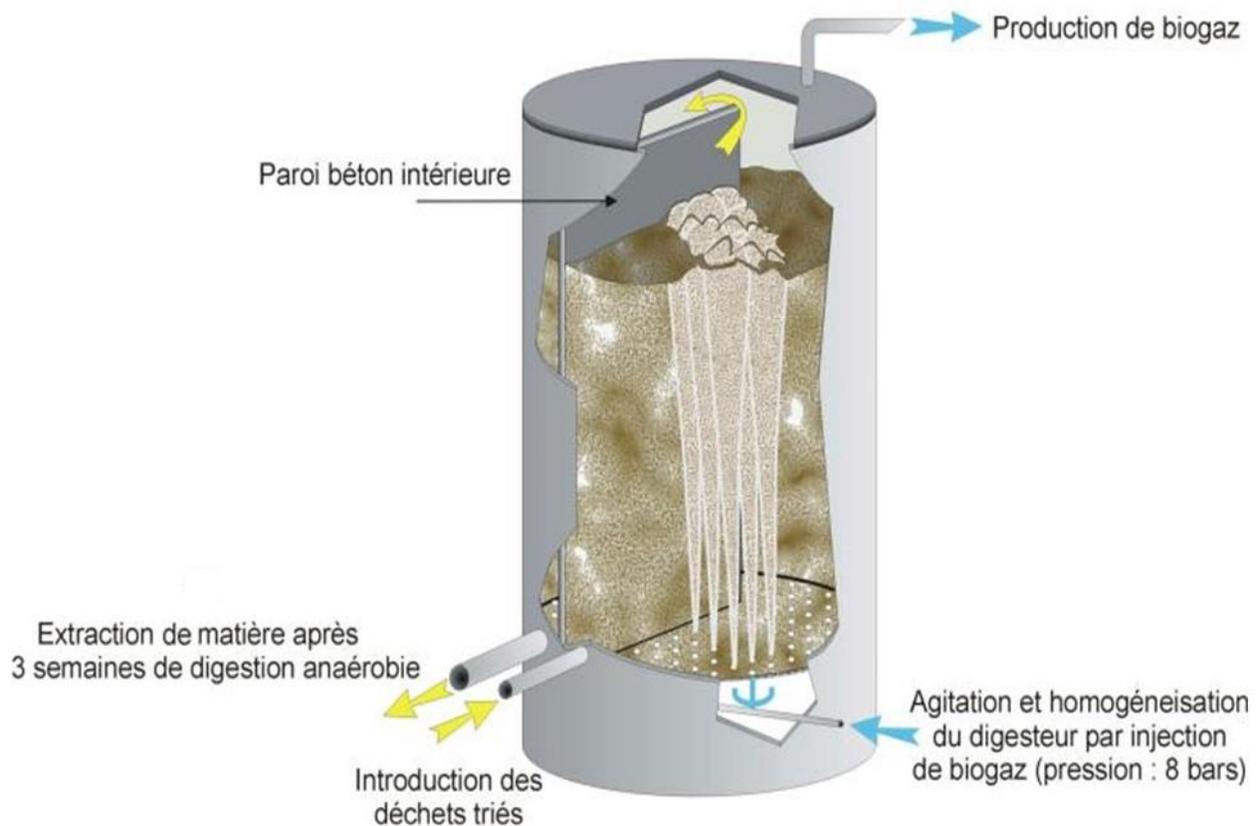


Figure 1. 3: Digesteur Valorga utilisé pour la méthanisation des biodéchets

La dernière unité est destinée à produire un compost organique à partir de la matière extraite des digesteurs. Le produit digéré, extrait du digesteur par simple gravité, subit un pressage mécanique et un stockage d'environ deux semaines. Un retournement systématique en

vue d'une aération du digestat est effectué. Un système de criblage permet d'extraire les produits indésirables.

La progression par séquence de la matière dans le digesteur garantit un compost d'une qualité optimale et constante.

Toutes les installations possèdent un biofiltre traitant l'air issu des unités de réception/préparation des déchets, de l'unité de méthanisation et de l'unité de stabilisation et d'affinage du digestat.

4.2. Centre de biométhanisation au Nord de la France

Au service de 62 communes au Nord de la France, pour un bassin de population de 160 000 habitants, l'installation étudiée est caractérisée par des infrastructures qui respectent la norme H.Q.E (Haute Qualité Environnementale). Dans ce cadre, elle comprend un réseau de 8 déchèteries, un centre de tri, des centres de recyclage spécifiques à chaque type de déchets, un centre de valorisation des déchets organiques par méthanisation et un centre d'enfouissement technique.

D'une part, 18 000 tonnes/an d'emballages ménagers propres et secs comprenant des bouteilles et flacons en plastiques, des boîtes métalliques, du carton, des papiers (journaux, magazines et revues) et du verre, sont reçus après un tri sélectif à la source (Figure 1.4.a). Ils subissent un second tri manuel et automatique à leur arrivée au centre. Ensuite, ils sont conditionnés sous forme de balles puis stockés, pour que la part valorisable soit finalement dirigée vers différentes filières de valorisation matière (80 %), et le refus de tri (20 %) vers le centre d'enfouissement.

D'autre part, 24 000 tonnes/an de matières organiques résultant de la collecte sélective des biodéchets (reste de repas, papiers souillés) et des déchets verts ainsi que 1 000 tonnes/an de déchets organiques d'industries agro-alimentaires (huiles et graisses) sont orientés vers l'unité de biométhanisation. Ils sont introduits dans le digesteur (Figure 1.4.b) après broyage, criblage et séparation de la ferraille par aimantation. L'enchaînement de ces différentes étapes permet une préparation des déchets et un traitement optimisé (Figure 1.5).

Le centre étudié a choisi le procédé de méthanisation Valorga et bénéficie du méthane produit dans une station de cogénération pour la génération d'énergie électrique revendue à

l'EDF et calorifique utilisée pour chauffer le digesteur et les bâtiments de l'installation. Il garantit, en plus, la production d'un compost hygiénisé.



Figure 1. 4: a) Réception des bouteilles et des flacons en plastique, b) Digesteur de méthanisation et gazomètre (le gazomètre sert à lisser l'alimentation des moteurs qui produisent de l'électricité à partir du biogaz)

L'air vicié issu des équipements fermés (broyeur, presses), ainsi que l'air vicié du hall de réception des déchets et l'air de l'unité d'affinage est dirigé directement vers une unité de traitement d'air.

Pour les déchets non collectés en porte-à-porte tels que le bois, les batteries, les déchets ménagers spéciaux (peintures, solvants, néons, piles, etc.) et les DEEE (Déchets d'Equipements Electriques et Electroniques), etc., des déchèteries, dont la localisation et la capacité sont conçues selon le besoin et la législation, en assurent la réception et le stockage.

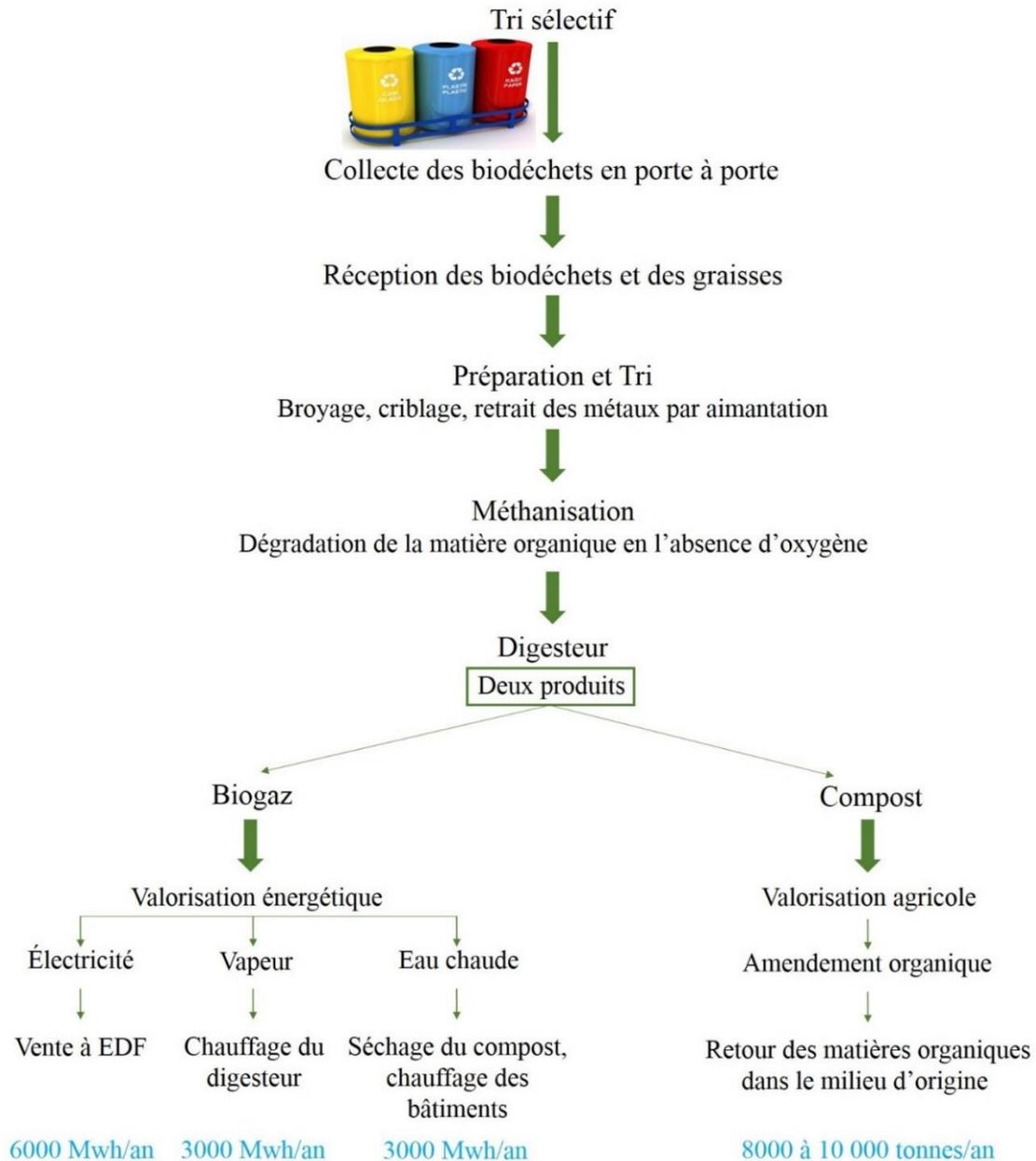


Figure 1. 5: Schéma représentant la filière de biométhanisation des déchets fermentescibles allant du tri à la valorisation dans un centre de traitement au Nord de la France

4.3. Centre de biométhanisation au Sud du Liban

Faisant partie des technologies "Waste to Energy", la biométhanisation commence à prendre place au Liban. Exploitant un terrain de 40 000 m², l'entreprise sélectionnée traite les déchets de 16 municipalités au Sud du Liban, pour un bassin de population de 250 000 habitants, en collaboration avec une société locale de collecte des ordures.

Ce centre est également une usine "Zero Waste", grâce au développement d'un système de traitement et de gestion totale du matériel global reçu qui exclut la dépendance à l'enfouissement sanitaire et l'incinération.

Dans un premier temps, les déchets solides municipaux qui arrivent au centre de tri sont séparés mécaniquement, afin d'extraire les matières non organiques (métaux, plastique, verre, etc.), surtout qu'au Liban le tri sélectif à la source n'est pas encore répandu (Figure 1.6.a). Cette séparation permet, en premier lieu, le recyclage des composants non organiques comme le plastique, le papier, les pneus, les métaux et autres (Figure 1.6.b). En revanche, la matière organique récupérée est mélangée avec de l'eau afin d'obtenir une boue qui est pompée vers les digesteurs anaérobies (Figure 1.6.c). Le procédé de méthanisation utilisé au sein de ce centre est aussi le procédé Valorga, décrit dans le paragraphe précédent.

Après une vingtaine de jours à une température de 55 °C, le biogaz est obtenu. A sa sortie du méthaniseur, il passe par une tour de désulfuration puis dans un filtre de charbon actif, ce qui permet d'obtenir du biogaz plus pur (Figure 1.6.d). En fait, le biogaz est mis en contact avec un solvant dans une tour où l'H₂S migre préférentiellement dans la phase liquide. En revanche, le filtre de charbon actif, constitué essentiellement de matière carbonée à structure poreuse, permet la fixation de bactéries aérobies. Ces bactéries oxydent l'H₂S qui sera piégé dans les pores du charbon actif. En outre, le charbon actif est l'un des meilleurs adsorbants disponibles pour le piégeage des BTEX [40] [41].

Le biogaz épuré est ensuite transformé, par cogénération, en électricité suffisante pour le fonctionnement de l'usine et l'éclairage des lampadaires de la région, et en chaleur pour le chauffage des digesteurs (Figure 1.7). Le digestat, résidu de la fermentation anaérobie, est utilisé comme fertilisant dans l'agriculture minimisant sa dépendance aux engrais chimiques.

Des filtres, qui purifient l'air à l'intérieur du bâtiment, sont installés, ce qui soulage les travailleurs contre l'odeur nuisible qui accompagne le traitement des déchets.

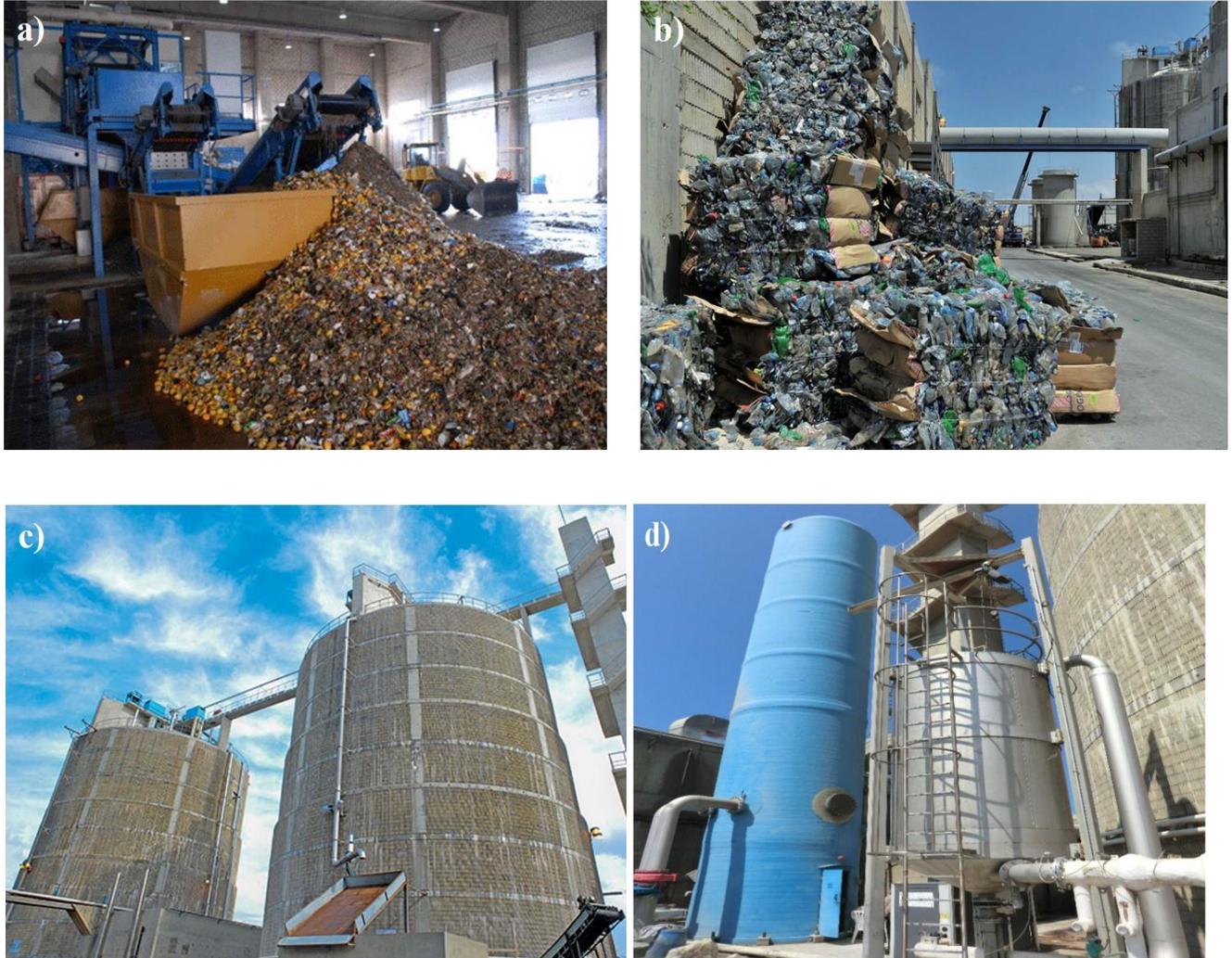


Figure 1. 6: a) Tri mécanique des déchets solides municipaux, b) Séparation du plastique pour le recyclage, c) Digesteurs de méthanisation, d) Tour de désulfuration et le filtre de charbon actif

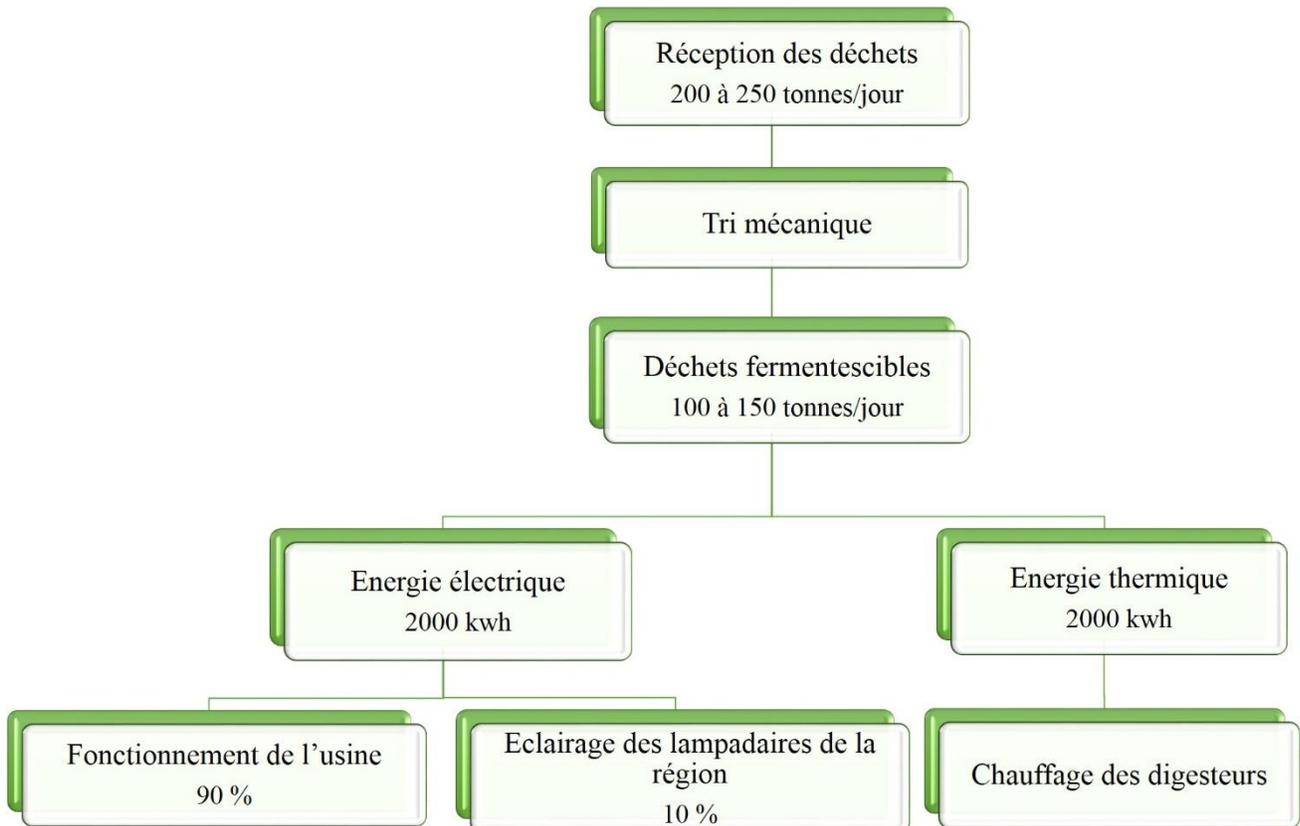


Figure 1. 7: Schéma représentant les quantités d'énergie produites en fonction des quantités de déchets reçus et leurs devenir

B. Etude analytique du biogaz

1. Identification et quantification des composés

Les composants d'un biogaz peuvent être répartis en quatre familles : les gaz majoritaires, les composés soufrés légers, les composés azotés légers et les composés organiques volatils [27] [30]. Chaque famille nécessite un dispositif et un programme spécifiques d'analyse. Ainsi, un ensemble d'analyseurs a été adopté afin d'avoir une idée globale sur la nature et la quantité de chaque composé présent dans le biogaz. Pour la plupart des composés analysés, l'identification se fait par la chromatographie en phase gazeuse.

1.1. Composés majoritaires

L'identification des gaz CH_4 , CO_2 , O_2 , N_2 et CO a été réalisée grâce à leurs temps de rétention par micro-chromatographie en phase gazeuse, par comparaison avec des standards en bouteille certifiés. Ces mêmes standards ont été utilisés pour la quantification de ces composés par le détecteur à conductivité thermique (TCD). En fait, le système de détection consiste en un catharomètre fonctionnant par la mesure de la tension de déséquilibre d'un pont Wheastone. Sa réponse est proportionnelle à la différence de conductibilité thermique entre le flux entrant et le flux sortant. Ainsi pour chaque gaz, la surface du pic chromatographique est proportionnelle à la concentration molaire de ce gaz dans le mélange. Le tableau 1.2 présente les principales caractéristiques du système employé.

Tableau 1. 2: Tableau descriptif du système employé pour la détection et la quantification des composés majeurs dans le biogaz

Micro Chromatographie en phase gazeuse : Agilent	
Gaz analysés	CH_4 , CO_2 , N_2 , O_2 , CO
Type de colonne	Stabilwax (polaire), poraplot
Four	Isotherme 80 °C
Gaz vecteur	Hélium
Limite de détection	Ordre du ppm
Détecteur couplé	TCD (Thermal Conductivity Detector)

1.2. Composés soufrés

La détection des composés soufrés est réalisée par un Chroma S, un chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à photoionisation de flamme (FPD). L'identification des composés soufrés (H_2S , $(CH_3)_2S$ ou DMS, SO_2 , etc.) a été effectuée grâce aux temps de rétention du Chroma S préétablis dans les tables d'identification de Chromatotec, figurant dans la notice du Chroma S. Un système de double colonne est utilisé (MXT-30 et MXT-4) pour une meilleure séparation des composés légers. La quantification est assurée grâce à un étalonnage par rapport au DMS et aux facteurs de réponse des différents composés définis dans les tables de Chromatotec. Deux séquences différentes sont utilisées, l'une nommée AMBCOS utilisée généralement pour des analyses d'air ambiant, et l'autre nommée NAT_GAZ dédiée à l'analyse d'échantillon de gaz naturel. La différence entre ces méthodes se situe au niveau de la température de colonne, qui est de 35 °C pour l'AMBCOS et de 60 °C pour la NAT_GAZ.

Le tableau 1.3 englobe les principales caractéristiques de l'appareillage adopté pour l'analyse des composés soufrés.

Tableau 1. 3: Tableau descriptif du système employé pour la détection et la quantification des composés soufrés dans le biogaz

Chroma S	
Gaz analysés	H_2S , CS_2 , COS , SO_2 , Sulfures, Mercaptans
Type de colonne	MXT-30 et MXT-4 (système de double colonne)
Four	Isotherme à 35 °C ou 60 °C
Gaz vecteur	Azote
Limite de détection	Dizaine de ppb
Détecteur couplé	FPD (Flame Photometry Detector)

1.3. Composés azotés

Les composés azotés (NO , NO_2 , NH_3) sont identifiés et quantifiés grâce à leur absorbance à une longueur d'onde spécifique (UV, IR) et un étalonnage à l'aide de standards

gazeux commerciaux. Le détecteur par absorption adopté, X-stream du système EMERSON, est un analyseur en continu dans lequel une pompe aspire l'air à analyser au travers de 3 modules :

- Module NO₂ (UV)
- Module NO (IR)
- Module NH₃ (IR)

L'appareil mesure les taux de ces composés toutes les minutes, ce qui nous apporte un suivi complet tout au long de la période d'analyse.

1.4. Composés organiques volatils

Les différents COV tels que les BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène, *o,m,p*-xylènes), les terpènes, les cétones, etc. ont été identifiés grâce à leur temps de rétention (comparés aux temps de rétention obtenus avec des standards). Cette identification a également pu être vérifiée grâce aux bibliothèques des spectromètres de masse (SM) de l'AirmoVOC et de l'EM 640 (Figure 1.8).

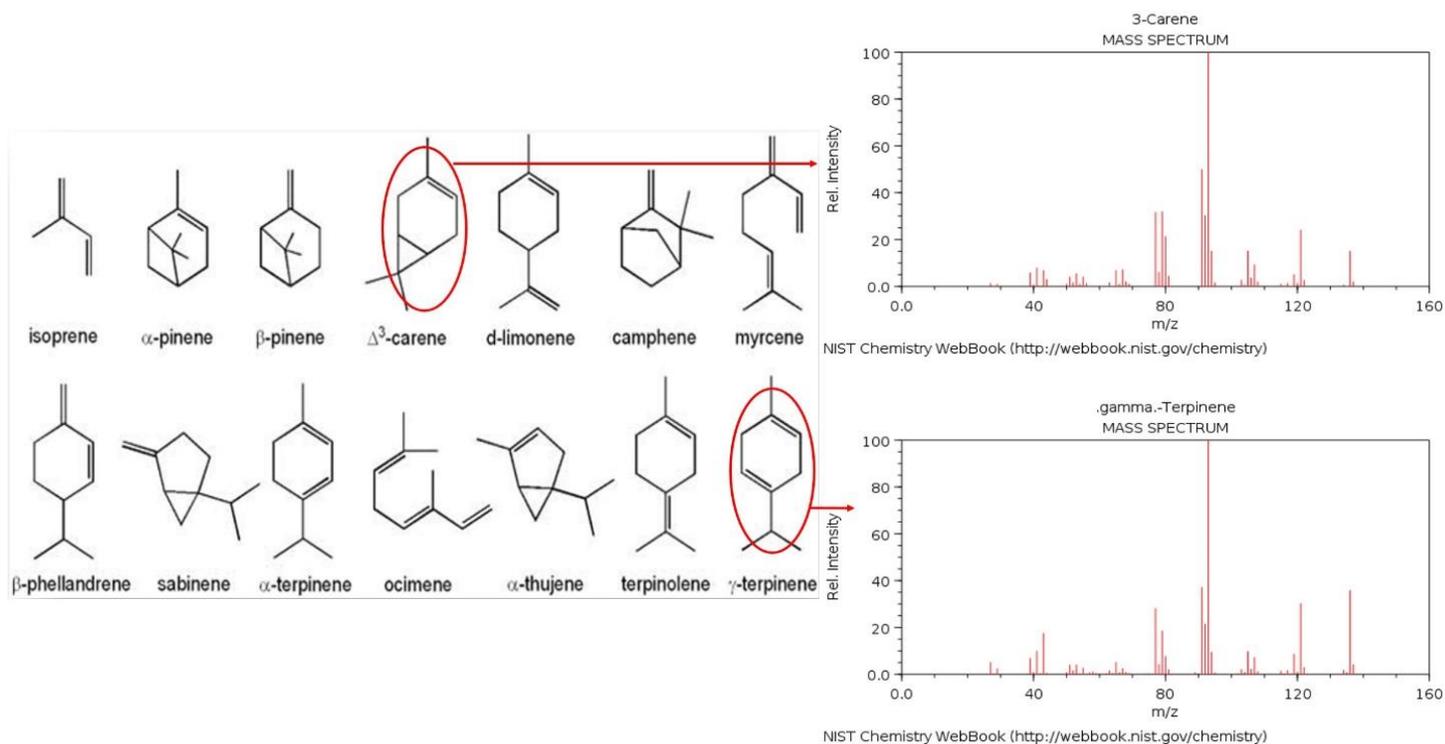


Figure 1. 8: Identification des COV grâce aux bibliothèques des spectromètres de masse (SM) de l'AirmoVOC et de l'EM 640

Pour l'analyseur AirmoVOC, l'étalonnage a été réalisé grâce au benzène. Des facteurs de réponse expérimentaux ont été appliqués pour les composés déjà étudiés auparavant, et théoriques pour les composés non encore étudiés (notice de l'AirmoVOC). La quantification est réalisée grâce à un détecteur à ionisation de flamme (FID). Le tableau 1.4 présente les principales caractéristiques de l'appareillage.

Tableau 1. 4: Tableau descriptif du système employé pour la détection et la quantification des COV dans le biogaz

AirmoVOC C6C12	
Gaz analysés	Composés organiques volatils
Type de colonne	MXT-30 apolaire
Four	Gradient de température
Gaz vecteur	Hydrogène
Limite de détection	Dizaine de ppt/ Dizaine de ppb
Détecteurs couplés	Flame Ionization Detector ou FID (quantification), SM (identification)

1.5. Analyse des composés majoritaires et minoritaires (traces)

En général, les sacs de prélèvement d'air ou les poches à gaz sont les mieux adaptés pour les projets impliquant l'analyse de composés dans la gamme de ppmv et le matériau du sac doit être choisi en fonction de son utilisation. En effet, les sacs les plus communément adoptés comprennent des films de fluorure de polyvinyle, appelés sacs Tedlar, vu les multiples propriétés avantageuses de ce matériau (Tableau 1.5). Ces sacs ont été utilisés lors des campagnes de prélèvement réalisées dans le cadre de notre étude [39] [40].

Tableau 1. 5: Description des sacs Tedlar

Sacs Tedlar	
Description	<ul style="list-style-type: none"> - Une vanne permettant le remplissage - Une pompe à faible débit peut être utilisée pour la collecte de l'échantillon
Propriétés	<ul style="list-style-type: none"> - Flexibilité - Bonne inertie chimique - Bonne résistance aux intempéries - Faible diffusion des gaz - Bonnes propriétés mécaniques sur une large gamme de température - Faible coût - Simple manipulation
Composés recherchés	CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S, N ₂ , O ₂ , COV
Conditions de stockage	<ul style="list-style-type: none"> - Garder à l'abri de la lumière surtout pour les sacs transparents pour éviter les réactions photochimiques - Stocker dans une boîte protectrice à température ambiante



Une analyse directe à partir des sacs Tedlar a été effectuée pour les composés majoritaires. Dans ce cas, chaque sac rempli d'échantillon, a été connecté directement à la boucle d'injection de la chromatographie en phase gazeuse par un tube.

En revanche, pour les composés à l'état de traces, une étape intermédiaire de concentration est nécessaire. Dans ce cas, des tubes Tenax ou cartouches ont été employés.

Le Tenax est une résine polymère poreuse à base d'oxyde 2,6-diphénylène. Il représente l'adsorbant le plus utilisé pour capter les composés organiques volatils et semi-volatils et il est adéquat pour les composés ayant un point d'ébullition entre 70 °C et 320 °C. Grâce à cet outil de prélèvement, la détection de COV dans la gamme du ppb ou du ppt est possible.

L'analyse des tubes Tenax nécessite un système de désorption thermique où les substances adsorbées sont libérées par chauffage et transférées à un piège froid pour être concentrées.

Ensuite, le piège froid est chauffé rapidement, ainsi les composés sont acheminés vers une colonne de chromatographie en phase gazeuse pour la séparation.

Un traitement avant usage est indispensable afin de nettoyer les tubes et de s'assurer qu'il n'y a pas des quantités significatives de substances qui résident sur l'adsorbant. Le nettoyage se fait en chauffant les tubes Tenax à une température de 300 °C pendant 5 minutes. C'est l'étape de conditionnement.

Le tableau 1.6 englobe les principales caractéristiques du système adopté pour l'analyse des composés à l'état de traces.

Tableau 1. 6: Tableau descriptif des tubes Tenax pour la détection et la quantification des composés présents à l'état des traces dans le biogaz

Tubes Tenax	
Description	<ul style="list-style-type: none"> - Un tube en Inox ou en verre - Des raccords dont le matériau est compatible avec celui du tube
Propriétés	<ul style="list-style-type: none"> - Piégeage des composés volatils dans l'air ou émis par des liquides ou des solides - Température limite élevée arrivant jusqu'à 350 °C - Faible affinité à l'eau - Stabilité de la ligne de base après conditionnement - Faible coût - Simple manipulation
Composés recherchés	<ul style="list-style-type: none"> COV spécifiques et siloxanes, Composés chlorés et fluorés Hydrofluorocarbures (HFC)



2. Echantillonnage

2.1. Centre de biométhanisation au Nord de la France

L'identification et la quantification des composés présents dans le biogaz produit par l'unité de biométhanisation des déchets organiques située au Nord de la France, sont effectuées suite à deux campagnes réalisées l'une en juillet 2015 et l'autre en avril 2016.

La ligne de production du biogaz dans ce centre était divisée en cinq, ce qui nous a permis de raccorder tous les appareils en même temps, comme le montre la figure 1.9, et également d'avoir la possibilité d'effectuer des prélèvements en sacs Tedlar et des cartouches pour des analyses complémentaires.

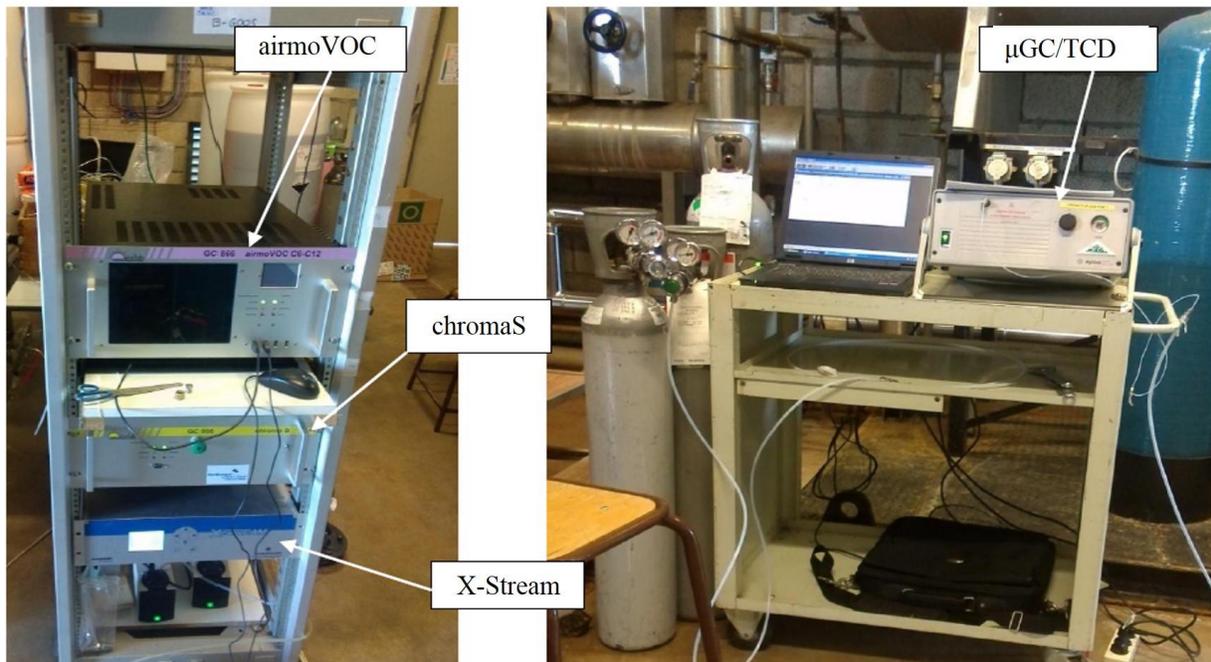


Figure 1. 9: Branchement des appareils d'analyse au sein du centre de biométhanisation français

Le centre étudié est équipé d'un analyseur fixe (Figure 1.10) pour suivre les concentrations du gaz principal du biogaz sortant du biométhaniseur, le méthane. Ainsi, nous avons comparé les résultats obtenus par nos analyses aux concentrations volumiques obtenues par cet analyseur.



Figure 1. 10: Analyseur fixe pour la mesure du méthane

2.2. Centre de biométhanisation au Sud du Liban

La campagne sur le site de la société Libanaise, située au sud du Liban, s'est déroulée les 10, 11 et 12 mai 2016. Vu la mobilité que nous avons effectuée de la France au Liban, seule la μ -GC a été emportée.

La ligne de prélèvement du biogaz, reliée à une pompe (Figure 1.11.b) était divisée en deux, ce qui nous a permis de raccorder en particulier la μ -GC (Figure 1.11.a), et d'effectuer des prélèvements soit sur cartouches, soit à l'aide de poches à gaz. Les mesures et les analyses sont effectuées sur deux points de production du biogaz :

- après la tour de désulfurisation avec la μ -GC, les sacs Tedlar et les cartouches (Figure 1.11.c).
- après le filtre de charbon actif avec les sacs Tedlar et les cartouches seulement (Figure 1.11.d).

Le centre est équipé de deux analyseurs, l'un fixe et l'autre portatif (Figure 1.12), pour suivre les analyses du biogaz sortant du biométhaniseur. L'analyseur fixe est placé après le procédé de désulfurisation et mesure les concentrations volumiques en CH_4 , CO_2 , O_2 et la teneur du H_2S en ppm, alors que celui portatif nous a servi pour les analyses après désulfurisation et après le filtre de charbon actif et mesure seulement les concentrations volumiques en CH_4 et CO_2 .

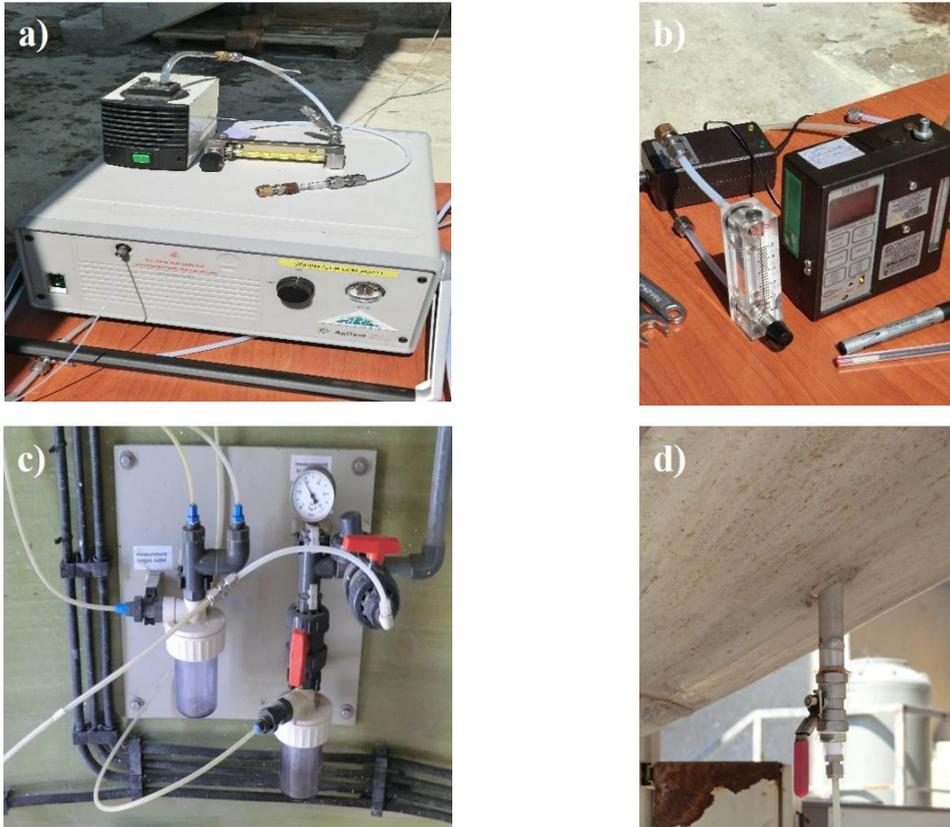


Figure 1. 11: a) μ -GC, b) Pompe d'aspiration du biogaz, c) Point de prélèvement après désulfuration, d) Point de prélèvement après charbon actif



Figure 1. 12: a) Analyseur portatif, b) Analyseur fixe

C. Résultats et discussion

1. Centre de biométhanisation au Nord de la France

La figure 1.13 présente la variation des concentrations de CH₄, de CO₂ et d'O₂, en pourcentage volumique en fonction du temps, relevés le 6 avril 2016 par μ GC/TCD. Nous remarquons que les taux des composés étudiés sont assez stables. Cependant, une déstabilisation de ces taux est observée vers 16 h 25, le moment où nous avons prélevé du biogaz pour remplir un sac Tedlar.

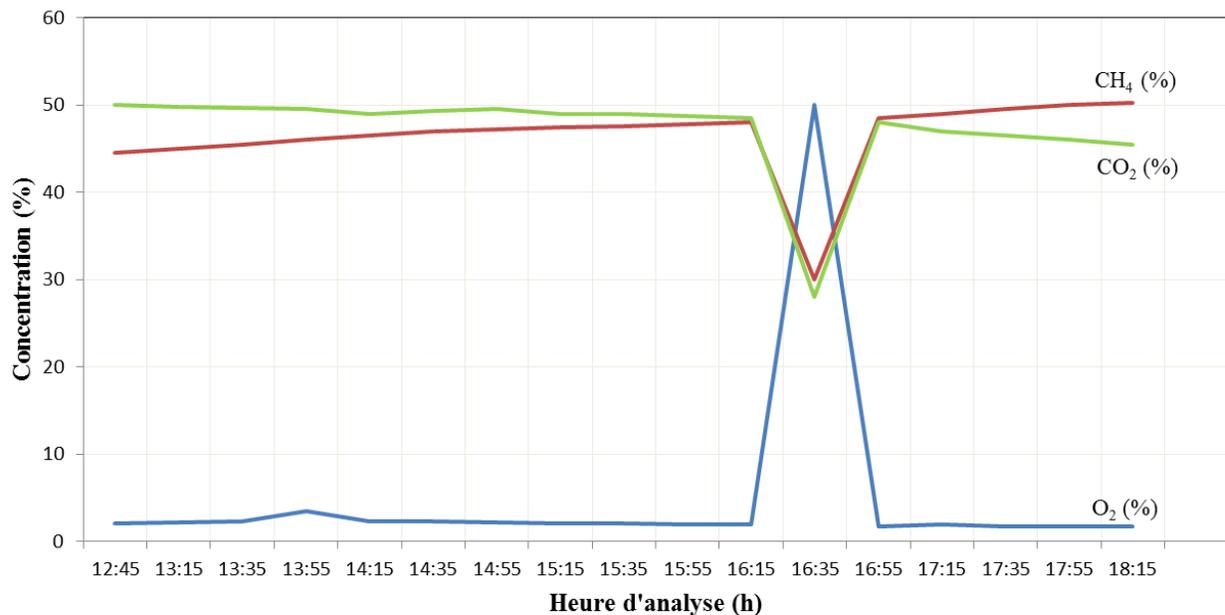


Figure 1. 13: Concentrations de CH₄, CO₂ et O₂ obtenues par μ GC/TCD lors de la campagne d'analyse réalisée sur l'unité de biométhanisation au nord de la France le 6 avril 2016

Les résultats obtenus étaient stables durant tous les jours où les prélèvements ont été menés et ceci pour les deux campagnes effectuées. Ceci nous a permis de faire des comparaisons entre les saisons.

Le tableau 1.7 présente une comparaison de la composition moyenne du biogaz suite aux campagnes d'analyse réalisées sur l'unité de biométhanisation au nord de la France en juillet 2015 et avril 2016.

Tableau 1. 7: Composition moyenne du biogaz suite aux campagnes d'analyse réalisées sur l'unité de biométhanisation au nord de la France en juillet 2015 et avril 2016 (H₂O* calculée par différence)

	Composé	Juillet 2015	Avril 2016
Gaz majoritaires (%)	CH ₄	50,9	46,7
	CO ₂	43,5	45,6
	Air (O ₂ + N ₂)	0,8	1,2
	H ₂ O*	4,7	6,2
	Total	99,9	99,7
Composés azotés (ppm)	NO	38,3	25,4
	NO ₂	6	16,6
	NH ₃	214,8	120
	Total	259,1	162
Composés soufrés (ppm)	DES**	-	0,2
	DMS**	3,4	5,2
	DMDS**	-	0,3
	Méthyl-SH	10,8	13,3
	Ethyl-SH	-	3,7
	n-butyl-SH	-	0,3
	n-propyl-SH	0,9	-
	H ₂ S	196	218
	SO ₂	75	11,7
Total	286	252,7	
Terpènes (ppm)	α-pinène	120,2	155,5
	Camphène	9,9	-
	3 carène	131,2	294,1
	β-pinène	30,9	118,4
	4 carène	132,5	DéTECTÉ
	Cumène	180,3	-
	Limonène	207,9	1 323
	p cymène	-	815,2
	γ-terpinène	6,3	15,2
	Terpinolène	32,1	-
Total	851,3	2 721,4	
Autres COV (ppm)	Butanone	18,6	DéTECTÉ
	Benzène	0,1	-

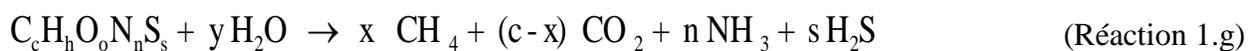
Toluène	0,8	Détecté
Ethylbenzène	0,5	-
<i>m & p</i> xylène	0,8	-
<i>o</i> xylène	0,8	-
2-pentanone	1,9	-
3-pentanone	2,5	-
2-hexanone	0,5	-
Total	26,5	-

**DES = diéthylsulfure ((C₂H₅)₂S); DMS = diméthylsulfure ((CH₃)₂S); DMDS = diméthyldisulfure (C₂H₆S₂)

Tout d’abord, la composition globale du biogaz en pourcentage volumique est conforme à la littérature [26] [42]. En effet, les concentrations des principaux gaz varient respectivement entre 46,7 et 50,9 % pour le CH₄ et entre 43,5 et 45,6 % pour le CO₂, et entre 0,8 et 1,2 % pour l’air. Ces pourcentages sont cohérents avec ceux trouvés pour les déchets organiques et ménagers (Tableau 1.1). La concentration de l’eau est calculée par différence, et sa présence est due au fonctionnement de l’usine selon le procédé Valorga où les déchets sont introduits dans le digesteur, sous forme de boue épaisse, à forte teneur en matière sèche. De même, l’eau pourrait également provenir du processus de méthanogénèse (Réactions 1.a, 1.b et 1.d).

Viennent ensuite les composés secondaires, classés en quatre catégories : les composés azotés, les composés soufrés, les terpènes et autres COV. La nature et la concentration de ces divers composés sont liées à différents facteurs comme l’âge de la structure, les saisons (différence de températures), l’origine des déchets (déchets ménagers, agricoles, industriels) et la quantité traitée.

Parmi les composés azotés légers et les composés soufrés, NH₃ et H₂S sont les plus prépondérants. Ce résultat est caractéristique du biogaz issu de la fermentation des déchets verts organiques riches en protéines tels que les restes des aliments, les épluchures des fruits, le reste des légumes, la tonte de gazon et les autres herbes du jardin [16] [32]. En effet, la dégradation anaérobie des protéines produit du NH₃ et du H₂S selon l’équation suivante [28] :



Ces biodéchets sont collectés le plus souvent pendant la durée estivale, ce qui explique la plus grande concentration du biogaz en composés azotés en juillet qu’en avril.

Les NO_x sont généralement peu présents; ces composés étant surtout des produits de combustion.

Les composés soufrés légers y sont aussi présents (familles des mercaptans et sulfures) avec des teneurs de quelques ppm. Leur formation provient de la dégradation des acides aminés contenant du soufre ou même de la méthylation du soufre présent dans la biomasse dans les conditions anaérobies [43]. Ils agissent comme précurseurs de la production de sulfure d'hydrogène via les processus de méthanisation. Par exemple, après sa formation à partir des acides aminés contenant du soufre, ou à partir de la méthylation anaérobie du soufre, le diméthylsulfure (DMS) se réduit par conversion méthanogène pour donner du méthane et du méthanethiol. Le méthanethiol forme plus tard le méthane, et le sulfure d'hydrogène [44].

Enfin, la dernière famille détectée est celle des COV. Leur faible concentration est reliée au fait que les déchets traités sont des déchets ménagers et non des déchets industriels.

L'émission des xénobiotiques, comme le toluène et le benzène, est généralement associée à la présence de matériaux synthétiques tels que les polymères plastiques, les emballages alimentaires, etc. [45]. Elle peut être aussi associée à la matière grasse existante parmi les déchets, par exemple, les huiles, le beurre, les produits alimentaires gras et aux petits copeaux de bois provenant des jardins et des parcs [46].

Les cétones, surtout la butanone, sont présents en quantité non négligeable. En effet, pour les composés difficilement dégradables chimiquement, l'hydrolyse paraît comme étape limitante [2]. Cependant, pour les substances facilement dégradables chimiquement, c'est l'étape de production de l'acétate au cours de la fermentation anaérobie qui est limitante [12]. Ceci entraîne l'accumulation de substances C3-C4 comme la butanone dans le fermenteur.

Nous notons aussi la prédominance des terpènes dans le volume total de COV, surtout celle du limonène. En effet, les terpènes sont des constituants des huiles essentielles et peuvent être obtenus à partir des fleurs, des feuilles, des fruits, des racines, etc. [43].

Leur présence en quantité considérable dans le biogaz étudié est prévue, puisque le régime adopté à l'unité de biométhanisation est thermophilique et implique des températures élevées durant le processus de fermentation, ce qui a comme résultat une évaporation davantage des COV terpéniques, migrant par la suite dans la phase gazeuse.

De plus, nous remarquons une plus grande concentration de ces composés en avril 2016, temps de l'abattage des arbres, sources essentielles de différents types de terpènes (limonène, β -pinène, γ -terpinène) [47].

En outre, leur concentration détectée lors des deux campagnes est de loin plus prononcée que celles des composés azotés et soufrés, vue la plus grande quantité en déchets de jardin traitée par ce centre par rapport aux autres types de biodéchets.

La figure 1.14 montre la répartition des différentes catégories de déchets traités dans le centre de biométhanisation étudié en fonction des saisons.

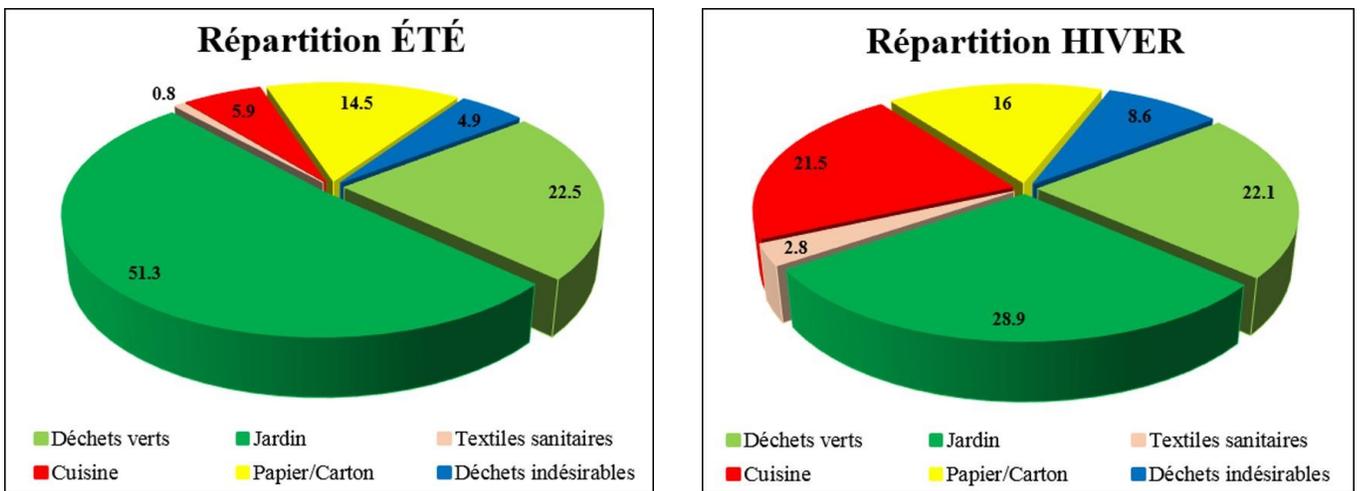


Figure 1. 14: Répartition des différentes catégories de déchets en fonction des saisons dans le centre de biométhanisation français

2. Centre de biométhanisation au Sud du Liban

Les résultats d'analyse du biogaz de l'unité de biométhanisation libanaise obtenus par les deux analyseurs fixe et mobile présents dans le centre étaient identiques. Ces résultats étaient plutôt semblables à ceux obtenus avec nos équipements, à l'exception du cas du méthane. En fait, le méthane mesuré par les analyseurs du centre est légèrement supérieur à celui obtenu par nos équipements, et ceci peut être dû au délai qui s'est écoulé entre le moment du prélèvement et celui d'analyse, qui a été effectuée après un certain temps. La figure 1.15 présente les concentrations de CH₄, CO₂, O₂ et H₂S obtenus avec l'analyseur fixe (celles obtenues par l'analyseur mobile ne sont pas montrées). Les résultats obtenus par nos équipements sont détaillés dans les diagrammes de la figure 1.16.

Les concentrations moyennes des principaux gaz notés tout au long de la campagne, par nos équipements, sont égales à 45 % pour le CH₄, 38 % pour le CO₂, 13 % pour l'air et 3 % pour l'eau. Cette composition est typique des biogaz issus des digesteurs de déchets organiques et ménagers [35], sachant que la fraction organique représente environ 50 à 55% des déchets solides mixtes municipaux entrant dans ce centre.

Pour cette campagne, d'une part, l'analyse des composés azotés n'était pas possible, vu que le détecteur par absorption adopté, X-stream, nécessite un débit de 60 L/h, ce qui n'est pas conforme avec l'utilisation des poches de prélèvement. D'autre part, les échantillons de biogaz dans les sacs Tedlar ont été analysés avec l'airmoVOC et le Chroma S. Les essais effectués avec l'airmoVOC étaient inefficaces pour observer des composés à l'état de traces, à cause de leur non conservation dans les sacs pendant longtemps, vu que le délai entre le prélèvement et l'analyse était plus long que prévu suite à un problème technique. Seuls les échantillons sur cartouche ont alors été analysés.

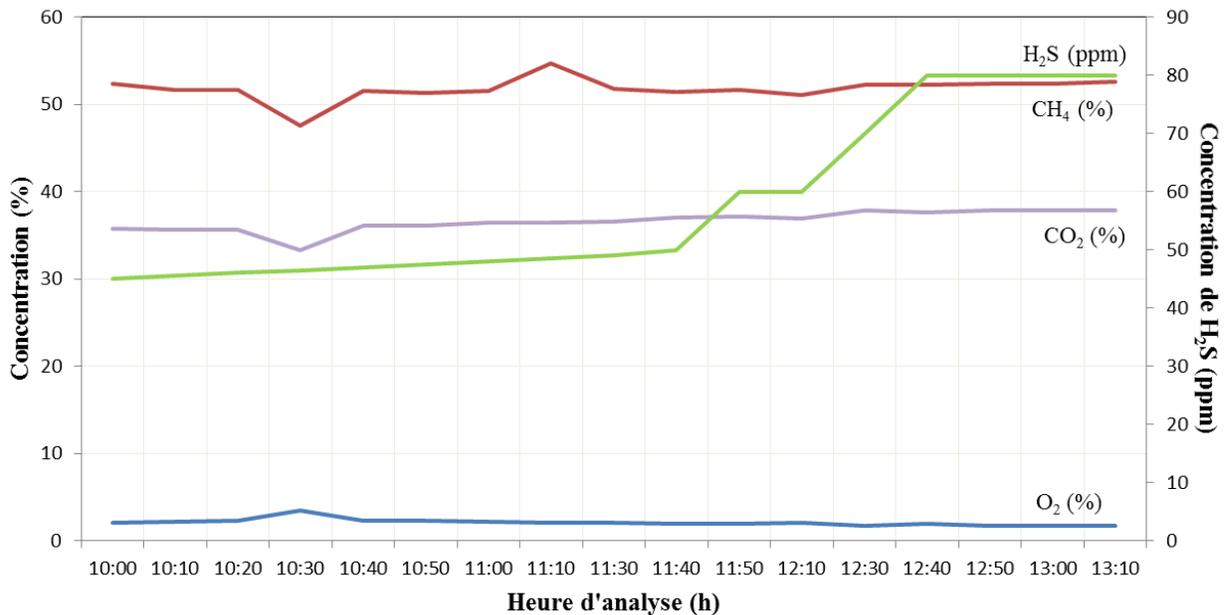


Figure 1. 15: Concentrations de CH₄, CO₂, O₂ et H₂S obtenues par l'analyseur fixe lors de la campagne d'analyse réalisée sur l'unité de biométhanisation au sud du Liban le 12 mai 2016

Les mercaptans sont présents avec des teneurs de quelques ppm, et une dominance du H₂S est notée. Ce résultat est lié à la fermentation des déchets organiques tels que les fruits, les légumes, les céréales, les restes des aliments, et surtout les viandes, les poissons et les déchets des abattoirs, à forte teneur en protéines [32] [38] [48]. Une augmentation de la teneur de H₂S est

notée au bout d'une heure et demie d'analyse. En effet, les pics de sulfure d'hydrogène sont inversement proportionnels à l'activité des bactéries aérobies fixées sur le filtre de charbon actif, et qui transforment l' H_2S en soufre élémentaire (S_2) et en acide sulfurique (H_2SO_4). Étant donné que cette transformation s'effectue en présence d'oxygène qui est régulée automatiquement, cette augmentation peut être due à un léger retard de l'alimentation en oxygène. En conséquence, moins d'oxydation s'est produite à cet instant.

Les différents COV, BTEX et terpènes, sont détectés en quantité presque négligeable, de l'ordre du ppb. Leur faible concentration est liée au fait que les déchets entrant dans le digesteur sont ménagers. Le cymène et le limonène sont les plus concentrés puisqu'ils proviennent des garnitures des fruits, des légumes, des fleurs, des feuilles, etc.

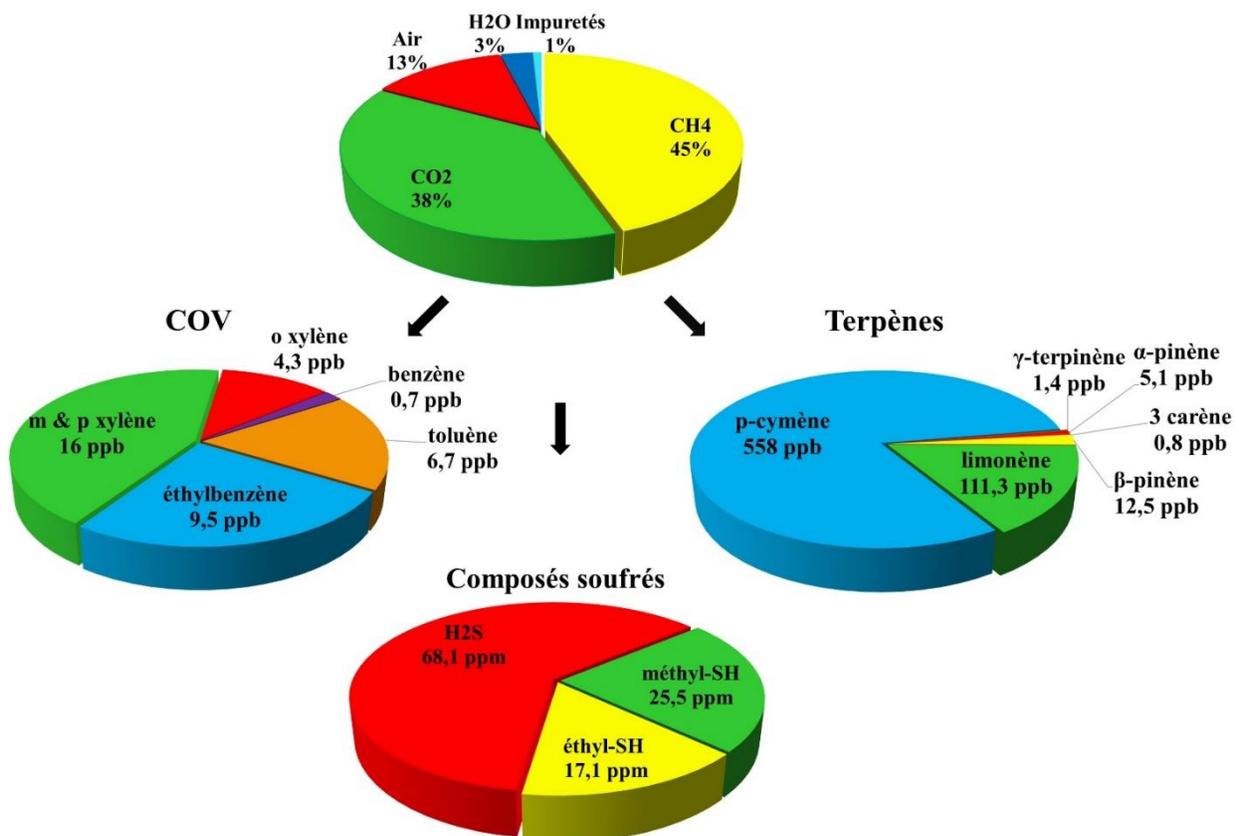


Figure 1. 16: Composition moyenne du biogaz suite aux campagnes d'analyse réalisées sur l'unité de biométhanisation au sud du Liban en mai 2016

Les concentrations du CH₄, CO₂, et de l'air restent les mêmes après passage du biogaz dans le charbon actif. Seule la concentration des COV de type BTEX a diminué suite au

traitement par le charbon actif comme l'indique le tableau 1.8. En effet, plusieurs auteurs [40] [41] [49] [50] ont démontré l'efficacité du charbon actif vis-à-vis de l'adsorption des BTEX.

Tableau 1. 8: Concentrations de COV de type BTEX obtenues avant et après traitement par le charbon actif suite aux campagnes d'analyse réalisées sur l'unité de biométhanisation au sud du Liban en mai 2016

	Composé	Avant charbon actif	Après charbon actif
BTEX (ppb)	Benzène	0,7	0,2
	Toluène	6,7	2,2
	Ethylbenzène	9,5	3
	<i>m & p</i> xylène	16	3,5
	<i>o</i> xylène	4,3	1,4
	Total	37,2	10,3

3. Comparaison entre les centres de biométhanisation français et libanais

Les résultats obtenus dans les deux centres français et libanais, sont conformes à la littérature et sont typiques du biogaz émis de déchets municipaux contenant des déchets ménagers et organiques de cuisine ou du potager, des restes de repas, des épluchures, des déchets jardiniers, des végétaux et des fruits, des papiers, des parcs et des jardins, des gazons et des branchages, des fumiers, des essuie-tout, des journaux, des sachets de thé, des coquilles d'œufs, etc.[6] [8] [26] [27] [31] [35] [42] [51].

Les concentrations volumiques des principaux composants du biogaz (Figure 1.17), issus des deux centres de biométhanisation sélectionnés, sont proches et ceci est dû à l'emploi du procédé Valorga convenable à la fois pour le traitement des déchets ménagers triés à la source ou même triés mécaniquement à l'arrivée au centre [15] [39].

Cependant, pour les composés secondaires considérés comme impuretés, la plus faible teneur des composés soufrés et des BTEX observée pour le biométhaniseur libanais par rapport à celui français est principalement liée au traitement du biogaz par désulfuration et par piégeage sur charbon actif. La plus faible concentration en terpènes obtenue dans le biogaz libanais serait due à la plus faible proportion de déchets verts traités dans ce cas.

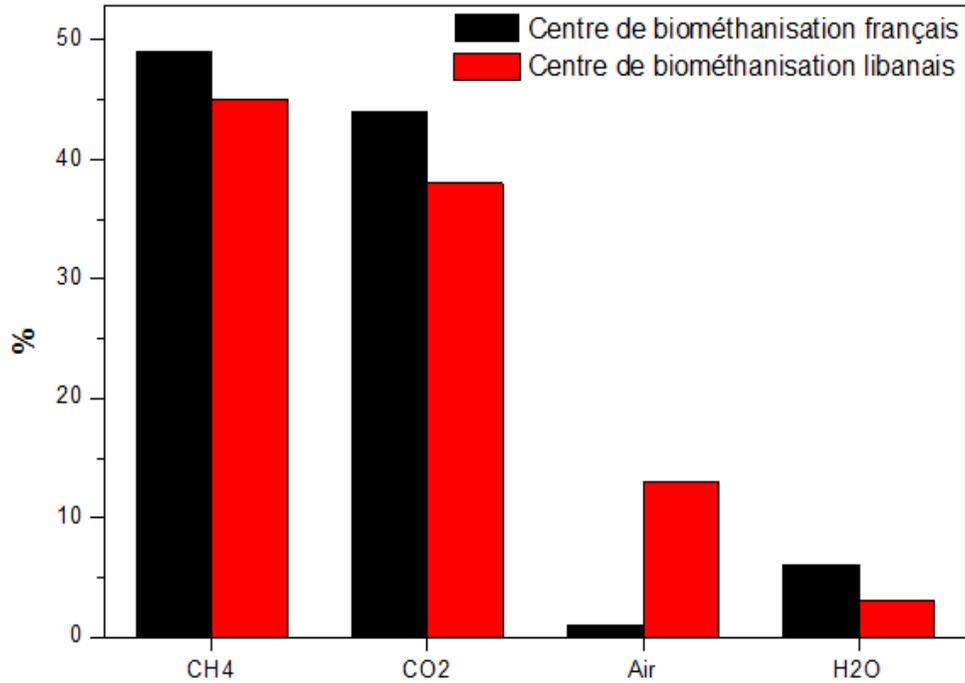


Figure 1. 17: Pourcentages volumiques des concentrations des principaux composants du biogaz issus des deux centres de biométhanisation français et libanais

Dans la suite de notre étude, le reformage catalytique du méthane par le dioxyde de carbone, composants majeurs du biogaz, sera étudié sur des catalyseurs oxydes de Co, Ni, Mg et Al préparés par voie hydrotalcite. L'effet de l'impureté toluène sur la performance catalytique sera examiné.

Références bibliographiques

- [1] M.A.D. Nicklaus, Lexique à l'usage des acteurs de la gestion des déchets, Commissariat général au développement durable – Service de l'économie, de l'évaluation et de l'intégration du développement durable, (2012).
- [2] J. Fernández-Rodríguez, M. Pérez, L.I. Romero, Temperature-phased anaerobic digestion of Industrial Organic Fraction of Municipal Solid Waste: A batch study, *Chemical Engineering Journal*. 270 (2015) 597–604.
- [3] M. Gulhane, A. Khardenavis, S. Karia, P. Pandit, G.S. Kanade, S. Lokhande, A.N. Vaidya, H.J. Purohit, Biomethanation of vegetable market waste in an anaerobic baffled reactor: Effect of effluent recirculation and carbon mass balance analysis, *Bioresource Technology*. 215 (2016) 100–109.
- [4] Planetoscope - Statistiques : Production de déchets dans le monde. <https://www.planetoscope.com/dechets/363-production-de-dechets-dans-le-monde.html>, accessed July 27, 2017).
- [5] A. Addou, Valorisation matière des déchets ménagers: la méthanisation, in: Développement Durable, Traitement Des Déchets, Valorisation, Élimination, Ellipses, Paris: TECHNOSUP. (2009) 76–91.
- [6] J.B.S. Wenisch, Etude Biogaz Etat des lieux et potentiel du biométhane carburant, in: Groupe de travail Energie-Environnement de l'Association Française du Gaz Naturel pour Véhicules, GDF Suez, IFP, Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME). (2009).
- [7] R.Z. Gaur, S. Suthar, Anaerobic digestion of activated sludge, anaerobic granular sludge and cow dung with food waste for enhanced methane production, *Journal of Cleaner Production*. 164 (2017) 557–566.
- [8] N. Dupont, Valorisation du biogaz de fermentation : combustion catalytique, Thèse de doctorat de l'Université Claude Bernard - Lyon I. (2010).
- [9] J. A. Lima Amarante, Biométhanisation des déchets putrescibles municipaux – technologies disponibles et enjeux pour le Québec, (2010).
- [10] R. Rajagopal, D.I. Massé, G. Singh, A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia, *Bioresource Technology*. 143 (2013) 632–641.
- [11] Q. Feng, Y. Lin, Integrated processes of anaerobic digestion and pyrolysis for higher bioenergy recovery from lignocellulosic biomass: A brief review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 77 (2017) 1272–1287.
- [12] M.J. Odedina, B. Charnnok, K. Saritpongteeraka, S. Chaiprapat, Effects of size and thermophilic pre-hydrolysis of banana peel during anaerobic digestion, and biomethanation potential of key tropical fruit wastes, *Waste Management*. 68 (2017) 128-138.
- [13] M.A. Khan, H.H. Ngo, W. Guo, Y. Liu, X. Zhang, J. Guo, S.W. Chang, D.D. Nguyen, J. Wang, Biohydrogen production from anaerobic digestion and its potential as renewable energy, *Renewable Energy*. (2017) 1-15.

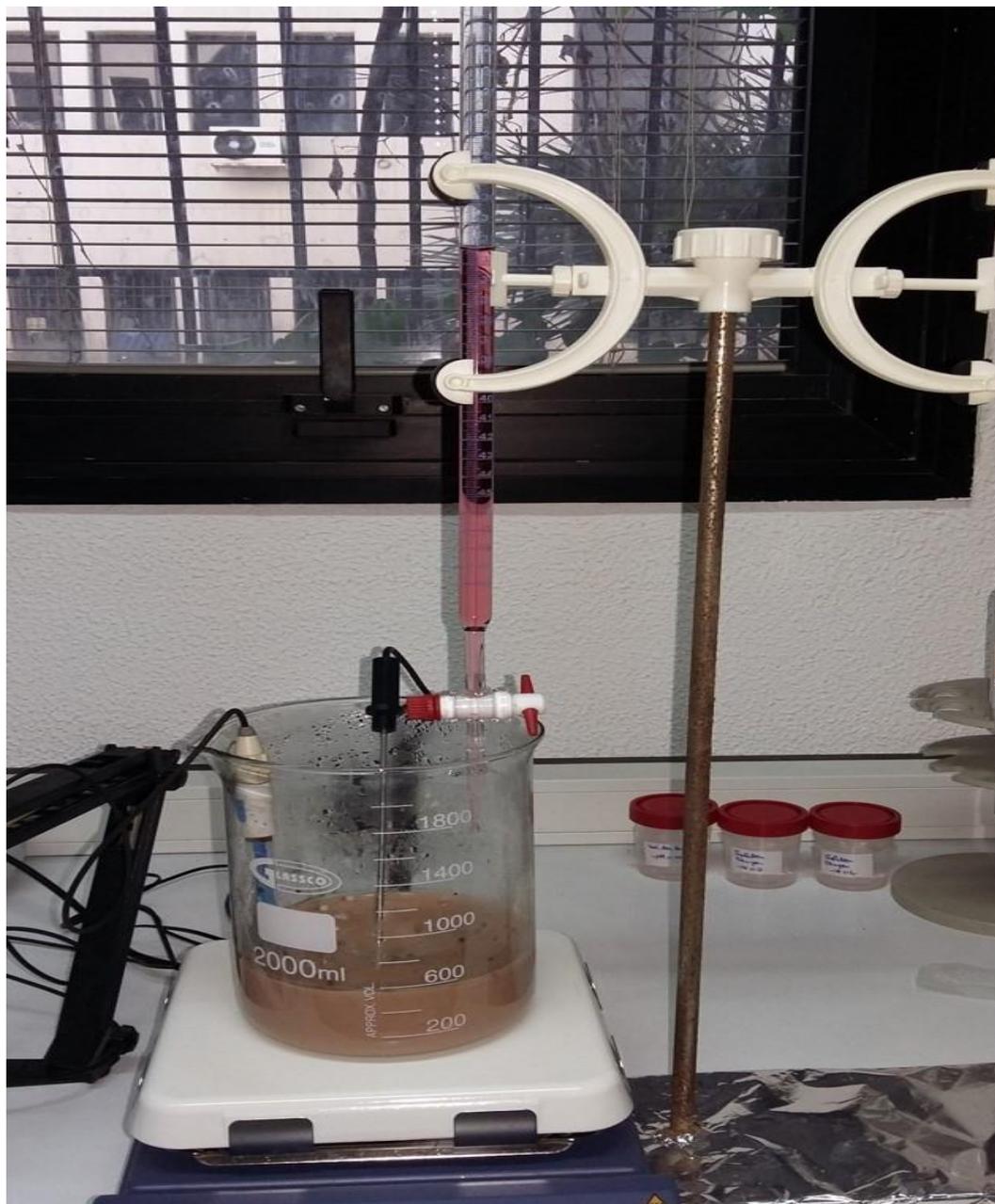
- [14] A. Jaffrin, N. Bentounes, A.M. Joan, S. Makhlof, Landfill Biogas for heating Greenhouses and providing Carbon Dioxide Supplement for Plant Growth, *Biosystems Engineering*. 86 (2003) 113–123.
- [15] J. Poulleau, Caractérisation des BIOGAZ, Bibliographie, Mesures sur sites, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, INERIS, (2002).
- [16] J.I. Salazar Gómez, H. Lohmann, J. Krassowski, Determination of volatile organic compounds from biowaste and co-fermentation biogas plants by single-sorbent adsorption, *Chemosphere*. 153 (2016) 48–57.
- [17] A. Raheem, M.Y. Hassan, R. Shakoor, Bioenergy from anaerobic digestion in Pakistan: Potential, development and prospects, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 59 (2016) 264–275.
- [18] S. Jain, S. Jain, I.T. Wolf, J. Lee, Y.W. Tong, A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 52 (2015) 142–154.
- [19] L. Li, L. Feng, R. Zhang, Y. He, W. Wang, C. Chen, G. Liu, Anaerobic digestion performance of vinegar residue in continuously stirred tank reactor, *Bioresource Technology*. 186 (2015) 338–342.
- [20] C. Mao, Y. Feng, X. Wang, G. Ren, Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 45 (2015) 540–555.
- [21] L.D. Nghiem, P. Manassa, M. Dawson, S.K. Fitzgerald, Oxidation reduction potential as a parameter to regulate micro-oxygen injection into anaerobic digester for reducing hydrogen sulphide concentration in biogas, *Bioresource Technology*. 173 (2014) 443–447.
- [22] D. Fabbri, C. Torri, Linking pyrolysis and anaerobic digestion (Py-AD) for the conversion of lignocellulosic biomass, *Current Opinion in Biotechnology*. 38 (2016) 167–173.
- [23] J. Ariunbaatar, A. Panico, G. Esposito, F. Pirozzi, P.N.L. Lens, Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste, *Applied Energy*. 123 (2014) 143–156.
- [24] O.K.M. Ouda, S.A. Raza, R. Al-Waked, J.F. Al-Asad, A.-S. Nizami, Waste-to-energy potential in the Western Province of Saudi Arabia, *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*. 29 (2017) 212–220.
- [25] L. Sun, S. Wan, W. Luo, Biochars prepared from anaerobic digestion residue, palm bark, and eucalyptus for adsorption of cationic methylene blue dye: Characterization, equilibrium, and kinetic studies, *Bioresource Technology*. 140 (2013) 406–413.
- [26] M.W. Bell, Y.S. Tang, U. Dragosits, C.R. Flechard, P. Ward, C.F. Braban, Ammonia emissions from an anaerobic digestion plant estimated using atmospheric measurements and dispersion modelling, *Waste Management*. 56 (2016) 113–124.
- [27] S. Rasi, A. Veijanen, J. Rintala, Trace compounds of biogas from different biogas production plants, *Energy*. 32 (2007) 1375–1380.
- [28] A.M. Buswell, H.F. Mueller, Mechanism of Methane Fermentation, *Industrial & Engineering Chemistry*. 44 (1952) 550–552.

- [29] R.M. Jingura, R. Matengaifa, Optimization of biogas production by anaerobic digestion for sustainable energy development in Zimbabwe, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 13 (2009) 1116–1120.
- [30] J. Brosseau, M. Heitz, Trace gas compound emissions from municipal landfill sanitary sites, *Atmospheric Environment*. 28 (1994) 285–293.
- [31] S. Bassil, Procédé propre de production de chaleur et d'électricité à partir d'un biogaz produit à l'échelle domestique: exemples de matériaux catalytiques de reformage du méthane, Thèse de doctorat de l'Université Claude Bernard - Lyon I. (2014).
- [32] M. Westerholm, J. Moestedt, A. Schnürer, Biogas production through syntrophic acetate oxidation and deliberate operating strategies for improved digester performance, *Applied Energy*. 179 (2016) 124–135.
- [33] K. Hagos, J. Zong, D. Li, C. Liu, X. Lu, Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 76 (2017) 1485–1496.
- [34] R. Zhang, H. El-Mashad, K. Hartman, F. Wang, G. Liu, C. Choate, P. Gamble, Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion, *Bioresource Technology*. 98 (2007) 929–935.
- [35] A. H. Igoni, M.J. Ayotamuno, C.L. Eze, S.O.T. Ogaji, S.D. Probert, Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste, *Applied Energy*. 85 (2008) 430–438.
- [36] U.C. Okonkwo, E. Onokpite, A.O. Onokwai, Comparative study of the optimal ratio of biogas production from various organic wastes and weeds for digester/restarted digester, *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*. In Press, Corrected Proof (2016).
- [37] F. Kristjanpoller, A. Crespo, L. Barberá, P. Viveros, Biomethanation plant assessment based on reliability impact on operational effectiveness, *Renewable Energy*. 101 (2017) 301–310.
- [38] P. Peu, S. Picard, A. Diara, R. Girault, F. Béline, G. Bridoux, P. Dabert, Prediction of hydrogen sulphide production during anaerobic digestion of organic substrates, *Bioresource Technology*. 121 (2012) 419–424.
- [39] S. Verma, Anaerobic digestion of biodegradable organics in municipal solid wastes, Department of Earth & Environmental Engineering, (Henry Krumb School of Mines) Fu Foundation School of Engineering & Applied Science Columbia University. (2002).
- [40] F. Del Gratta, M. Durif, Y. Fagault, I. Zdanévitch, Exposition par inhalation au benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX) dans l'air - Sources, mesures et concentrations. (2004).
- [41] F. Su, C. Lu, S. Hu, Adsorption of benzene, toluene, ethylbenzene and p-xylene by NaOCl-oxidized carbon nanotubes, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 353 (2010) 83–91.
- [42] S. Chattanathan, S. Adhikari, M. McVey, O. Fasina, Hydrogen production from biogas reforming and the effect of H₂S on CH₄ conversion, *International Journal of Hydrogen Energy*. 39 (2014) 19905–19911.

- [43] D. Papurello, C. Soukoulis, E. Schuhfried, L. Cappellin, F. Gasperi, S. Silvestri, M. Santarelli, F. Biasioli, Monitoring of volatile compound emissions during dry anaerobic digestion of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste by Proton Transfer Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry, *Bioresource Technology*. 126 (2012) 254–265.
- [44] S. Rasi, J. Läntelä, J. Rintala, Trace compounds affecting biogas energy utilisation – A review, *Energy Conversion and Management*. 52 (2011) 3369–3375.
- [45] B.F. Staley, F. Xu, S.J. Cowie, M.A. Barlaz, G.R. Hater, Release of Trace Organic Compounds during the Decomposition of Municipal Solid Waste Components, *Environmental Science & Technology*. 40 (2006) 5984–5991.
- [46] B. Scaglia, V. Orzi, A. Artola, X. Font, E. Davoli, A. Sanchez, F. Adani, Odours and volatile organic compounds emitted from municipal solid waste at different stage of decomposition and relationship with biological stability, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 4638–4645.
- [47] V. Orzi, E. Cadena, G. D’Imporzano, A. Artola, E. Davoli, M. Crivelli, F. Adani, Potential odour emission measurement in organic fraction of municipal solid waste during anaerobic digestion: relationship with process and biological stability parameters, *Bioresource Technology*. 101 (2010) 7330–7337.
- [48] T. Amon, B. Amon, V. Kryvoruchko, W. Zollitsch, K. Mayer, L. Gruber, Biogas production from maize and dairy cattle manure—Influence of biomass composition on the methane yield, *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 118 (2007) 173–182.
- [49] A.A.M. Daifullah, B.S. Girgis, Impact of surface characteristics of activated carbon on adsorption of BTEX, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 214 (2003) 181–193.
- [50] S.-H. Kwon, D. Cho, A comparative, kinetic study on cork and activated carbon biofilters for VOC degradation, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 15 (2009) 129–135.
- [51] P. J. Rivard, La biométhanisation de fumier de bovin à une température psychrotrophe, Thèse de doctorat de l’Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue. (2015).

CHAPITRE II

SYNTHESE ET CARACTERISATION DES CATALYSEURS



Sommaire

CHAPITRE II	63
SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DES CATALYSEURS.....	63
A. Etude bibliographique.....	66
1. Reformage à sec du méthane	66
1.1. Principe.....	66
1.2. Mécanismes réactionnels.....	67
1.3. Etude thermodynamique.....	69
2. Catalyseurs du reformage à sec du méthane.....	70
2.1. Composition chimique du catalyseur	70
2.2. Préparation du catalyseur	72
3. Hydroxydes Doubles Lamellaires (HDLs).....	73
4. Désactivation du catalyseur	75
5. Différentes formes de carbone.....	78
B. Partie expérimentale	81
1. Synthèse des oxydes mixtes $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2\text{O}_9$ par voie hydrotalcite.....	81
2. Techniques de caractérisations physico-chimiques.....	83
2.1. Analyses Thermiques Différentielle (ATD) et Gravimétrie (ATG).....	84
2.2. Diffraction des rayons X (DRX)	85
2.3. Détermination de la surface spécifique BET.....	86
2.4. Spectroscopie Infrarouge (FT-IR).....	86
2.5. Composition élémentaire mesurée par PIXE	87
2.6. Réduction en Température Programmée (RTP).....	88
2.7. Désorption en Température Programmée (DTP- CO_2)	88
2.8. Oxydation en Température Programmée (OTP)	89
C. Caractérisation physico-chimique des catalyseurs	90
1. Etude de la décomposition thermique des solides séchés par Analyses Thermiques (ATD/ATG)	90
2. Analyse de la structure par Diffraction des Rayons X (DRX)	92
3. Mesure de la surface spécifique par la méthode BET	95
4. Spectroscopie Infrarouge (FT-IR)	96
5. Composition élémentaire mesurée par PIXE	99
6. Réduction en température programmée (RTP).....	99
7. Désorption en température programmée (DTP- CO_2).....	102

8. Conclusion.....	104
Références bibliographiques.....	105

Dans ce chapitre, le processus du reformage à sec du méthane est expliqué en abordant son principe, son mécanisme réactionnel et son étude thermodynamique. Un bilan des catalyseurs étudiés pour le processus de reformage est ensuite présenté. Puis, une description de la structure hydrotalcite et des précurseurs d'oxydes mixtes est effectuée. Les processus de désactivation des catalyseurs sont présentés. Après cette partie bibliographique, la synthèse d'une série de catalyseurs préparée à partir de précurseurs de type hydrotalcite avec différentes teneurs de Co et de Ni est décrite. Finalement, une brève introduction à certaines méthodes de caractérisation physico-chimique et les résultats de ces caractérisations effectuées sur nos catalyseurs avant et après décomposition thermique sont présentés.

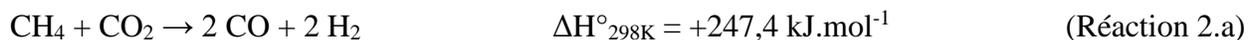
A. Etude bibliographique

1. Reformage à sec du méthane

1.1. Principe

Le reformage à sec est une des technologies émergentes consistant à valoriser le biogaz produit par la fermentation anaérobie des déchets organiques fermentescibles (Cf. partie I.A.3.2). Le reformage à sec du méthane, adopté dans notre étude, est basé sur une réaction fortement endothermique mettant en jeu le méthane et le dioxyde de carbone présents dans le biogaz pour produire un gaz de synthèse équimolaire qui consiste en un mélange de dihydrogène (H₂) et de monoxyde de carbone (CO).

La réaction de reformage à sec du méthane (RS) est la suivante :

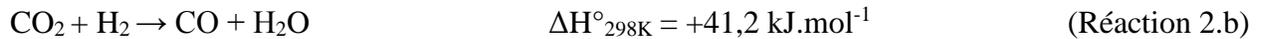


En premier lieu, cette réaction favorise la gestion d'une fraction importante de déchets par méthanisation [1] et présente l'avantage de consommer à la fois du CH₄ et du CO₂, deux gaz à effet de serre, ce qui est fortement important de nos jours [2]. En plus, le gaz de synthèse obtenu, avec un rapport H₂/CO proche de 1, est une clé dans l'industrie chimique vu qu'il est utilisé dans différentes sortes de synthèses hautement sélectives afin d'obtenir une large gamme de composés chimiques comme le formaldéhyde, l'acide acétique et les hydrocarbures liquides [2–4]. D'autre part, l'hydrogène produit est considéré comme l'un des vecteurs d'énergie les plus prometteurs vu que sa combustion ne rejette que de l'eau, par la suite il est respectueux de l'environnement. Outre l'aspect environnemental, l'hydrogène est même avantageux au niveau

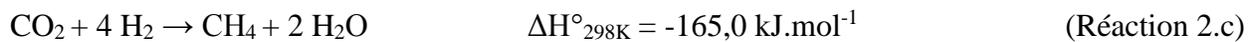
économique puisque la quantité d'énergie produite par sa combustion est supérieure à celle produite par n'importe quel autre combustible par unité de masse.

Cependant, la réaction du reformage à sec du méthane (RS) (Réaction 2.a) est endothermique et s'accompagne de réactions secondaires telles que [2] [3]:

La réaction inverse du gaz à l'eau (Reverse Water Gas Shift):



La réaction de méthanation :



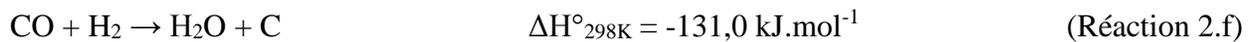
La décomposition du méthane :



La réaction de Boudouard :



La réaction inverse de gazéification du carbone :

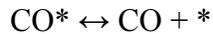
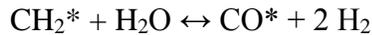
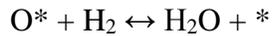
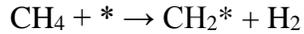


Vu le caractère endothermique de la réaction de RS, l'utilisation d'un catalyseur, pour éviter d'aller à des températures très élevées et faciliter la faisabilité du processus est nécessaire. Le problème majeur associé aux réactions de reformage du biogaz, demeure cependant, le dépôt de carbone sur le système catalytique. Ce produit provient essentiellement de la réaction de décomposition du méthane (Réaction 2.d), de la réaction de Boudouard (Réaction 2.e) et de la réaction inverse de gazéification du carbone (Réaction 2.f). Ce carbone peut agir comme poison du catalyseur et conduire à une désactivation de celui-ci [4]. D'où, des efforts sont encore à faire afin de trouver un système catalytique qui oriente la sélectivité envers la réaction 2.a.

1.2. Mécanismes réactionnels

Différents schémas réactionnels ont été proposés pour la réaction de reformage à sec du méthane en présence de différents types de catalyseurs.

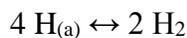
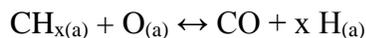
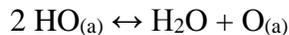
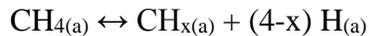
Le mécanisme réactionnel, proposé par Bodrov et al. [5] et par Nakamura et al. [6], comporte les étapes suivantes :



* correspond à un site d'adsorption.

La première étape constitue l'étape cinétiquement déterminante de la réaction, elle correspond à l'adsorption déshydrogénante de CH_4 sur des sites actifs avec formation d'espèces CH_2 adsorbé et H_2 gazeux. La deuxième et la troisième étape conduisent à la formation de H_2O suivant la réaction inverse du gaz à l'eau où une espèce oxygène adsorbée, issue de l'adsorption dissociative de CO_2 , se combine à H_2 gazeux pour donner une molécule de H_2O . Les deux dernières étapes correspondent à la réaction de surface des espèces CH_2 avec H_2O et à la désorption des produits.

Par ailleurs, Erdöhelyi et al. [7] et Rostrup-Nielsen et al. [8] décrivent un schéma ressemblant au précédent, mais faisant intervenir d'autres intermédiaires réactionnels :



Durant la première étape, le CH_4 se décompose sur le métal pour donner des espèces CH_x et de l'hydrogène adsorbé. La deuxième séquence consiste en la dissociation de CO_2 , activée par des atomes d'hydrogène de surface, qui conduit à la formation de groupements hydroxyyles adsorbés. Ces derniers sont les précurseurs de l'eau et de l'oxygène adsorbé. La formation du gaz de synthèse a lieu durant la dernière séquence. Les atomes d'oxygène adsorbés réagissent avec les espèces CH_x de surface et forment le CO et l'hydrogène adsorbé qui se transforme en hydrogène gazeux.

1.3. Etude thermodynamique

Les calculs thermodynamiques montrent que la réaction principale de reformage à sec (Réaction 2.a) n'est pas spontanée sous pression atmosphérique et une température inférieure à 633 °C ($\Delta G > 0$) vu son caractère fortement endothermique. De plus, la liaison C-H de la molécule de méthane est très stable avec une grande énergie de dissociation, de l'ordre de 435 kJ.mol⁻¹. Donc pour obtenir une bonne conversion du méthane dans la réaction de reformage, une température élevée est requise afin de dissocier la liaison C-H. Par ailleurs, à des températures supérieures à 633 °C, où la réaction de reformage est spontanée, d'autres réactions secondaires peuvent avoir lieu (Réactions 2.d, 2.e, 2.f), affectant d'une façon significative la réaction ciblée (Réaction 2.a). La figure 2.1 montre les variations des constantes d'équilibre des réactions impliquées en fonction de la température.

Vu son caractère endothermique, la constante d'équilibre de la réaction de reformage à sec augmente considérablement avec l'augmentation de la température (courbe (2.a)). Pour des réactions moyennement endothermiques, les constantes d'équilibre augmentent avec la température : cas de la réaction de décomposition du méthane (courbe (2.d)) et de la réaction inverse du gaz à l'eau (courbe (2.b)). Par contre, étant exothermiques, la réaction de méthanation (courbe (2.c)), la réaction de Boudouard (courbe (2.e)) et la réaction inverse de gazéification du carbone (courbe (2.f)) sont thermodynamiquement défavorables aux hautes températures. Ainsi, procéder sous hautes températures ($T \geq 750$ °C) permet d'augmenter l'équilibre de conversion de la réaction principale et par suite de la favoriser par rapport aux autres réactions secondaires [9].

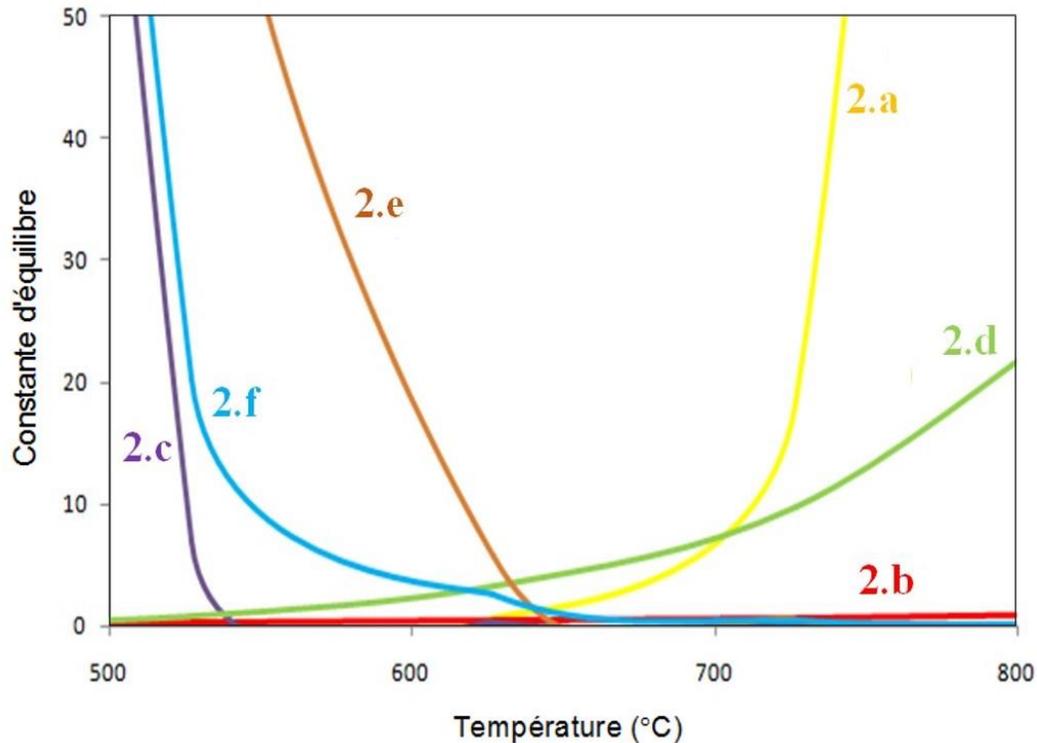


Figure 2. 1: Variation des constantes d'équilibre en fonction de la température de : (2.a) la réaction du reformage à sec et des réactions secondaires, (2.b) Réaction inverse du gaz à l'eau; (2.c) Réaction de méthanation; (2.d) Décomposition du méthane; (2.e) Réaction de Boudouard; (2.f) Réaction inverse de gazéification du carbone

Afin d'accélérer le processus de reformage et de favoriser la réaction 2.a par rapport aux autres, l'utilisation d'un catalyseur est nécessaire. De nombreux catalyseurs ont été étudiés dans la réaction de reformage à sec. Dans le paragraphe suivant, nous abordons le choix des catalyseurs effectués dans le présent travail.

2. Catalyseurs du reformage à sec du méthane

Dans les conditions optimales de mélange réactionnel et de température, un catalyseur est nécessaire pour accélérer le processus et diriger la réaction dans un sens privilégié afin d'avoir des rendements acceptables. Le mécanisme de la réaction de reformage à sec du méthane est fortement lié au catalyseur. Ainsi, un choix judicieux des éléments chimiques constituant le catalyseur et de sa méthode de préparation est primordial.

2.1. Composition chimique du catalyseur

Fischer et Tropsch ont été les premiers à étudier le reformage à sec du méthane en utilisant de nombreux catalyseurs à base de métaux. Une variété de métaux nobles (Ru, Rh, Pd,

Ir) ainsi que de métaux de transition (Ni, Co, Fe, Cu) ont été largement testés pour cette réaction. En fait, les catalyseurs à base de Ru, Rh, Pd et Ir ont fait preuve d'une bonne stabilité et d'une bonne résistance au dépôt de carbone au cours de cette réaction [6] [7]. Cependant, vu leur coût élevé et leur faible quantité disponible, il s'est avéré plus pratique de développer des catalyseurs à base de métaux non nobles.

Ainsi, les catalyseurs à base de Ni sont apparus comme catalyseurs efficaces pour le reformage à sec du méthane avec des performances souhaitables et un faible coût [1] [9–11]. Ils présentent une activité élevée en termes de conversion du méthane. Le grand défi lié à l'utilisation de ces catalyseurs est la désactivation sévère en raison des problèmes de frittage, d'oxydation du métal et particulièrement du dépôt de carbone [12–14]. Par ailleurs, les catalyseurs à base de Co ont montré une stabilité catalytique et une résistance au dépôt de carbone qui résultent probablement de la grande affinité du Co pour l'oxygène provenant du CO_2 [15–17].

De multiples efforts ont été orientés vers l'amélioration de l'activité et de la stabilité des catalyseurs à base de métaux de transition, surtout de Ni et de Co, ainsi que vers la réduction de la formation de carbone et l'empoisonnement par certaines espèces comme le soufre présent dans le biogaz [9] [18].

Par conséquent, il s'est avéré que l'association des systèmes à base de Co et de Ni semble être très prometteuse car elle combine l'activité élevée du nickel en reformage avec la forte résistance du cobalt au dépôt de carbone [11] [15] [19] [20]. En fait, ces avantages apparaissent dans la littérature, où plusieurs études [19] [21] [22] prouvent que la présence de ces deux cations dans les solides modifie les propriétés catalytiques, en particulier le comportement redox et la résistance à la désactivation.

Selon Munoz et al.[21], le système mixte Ni-Co présente un meilleur comportement redox et des centres basiques plus forts par rapport aux systèmes isolés Ni ou Co. Zhang et al. [9] ont étudié la performance catalytique de plusieurs combinaisons Ni-Me sur un support de type MgAlO_x avec Me = Co, Fe ou Cu, vu que tous ces éléments métalliques possèdent des configurations électroniques similaires. Leur étude a montré que le catalyseur bimétallique Ni-Co dépasse largement les autres combinaisons en termes de surface spécifique. En plus, il présente le plus grand volume de pores, l'activité catalytique la plus importante ainsi que la plus faible vitesse de dépôt de carbone. Il faudrait également souligner sa stabilité considérable par rapport aux autres

combinaisons sans perte importante d'activité [9]. Zhu et al. [23] rapportent que la résistance à la formation de carbone en présence du catalyseur bimétallique Ni-Co est le résultat de l'effet synergique des métaux, de leur haute dispersion et de leur forte interaction avec le support. Li et al. [17] montrent que le cobalt métallique a une plus grande affinité que le nickel pour les espèces oxygénées provenant du CO₂, durant la réaction de reformage. En plus, la bonne performance du catalyseur bimétallique Ni-Co est attribuée par Long et al. [24] à la grande dispersion des métaux, à la petite taille de leurs particules et à l'effet d'interaction entre Ni et Co. D'autres contributions, comme celle de Xu et al. [18] et You et al. [25], ont confirmé ces observations et ont attribué la meilleure performance obtenue pour Ni-Co à l'effet synergique entre ces deux métaux, la grande dispersion de la phase active et la forte interaction support-métal, améliorant les propriétés en catalyse hétérogène et entravant la formation de carbone [1] [18] [24].

Autre que les sites actifs, le support joue un rôle important sur l'activité catalytique. Comme son nom l'indique, c'est un support pour le métal afin d'obtenir un catalyseur stable avec une grande surface active. Différents supports ont été testés dans le reformage à sec du méthane afin de trouver la meilleure combinaison phase active/support selon l'activité catalytique obtenue. Cependant, les supports les plus utilisés en reformage du méthane sont MgO, Al₂O₃, SiO₂, ZrO₂, TiO₂ et CeO₂. Ces oxydes ont été testés, et étant caractérisé par une température de fusion relativement élevée (environ 2800 °C) et une bonne stabilité, MgO a été sélectionné dans notre travail [26]. De plus, cet oxyde possède des propriétés basiques recherchées pour les réactions de reformage à sec du méthane, afin de limiter le dépôt de carbone responsable de la désactivation du catalyseur [27]. Toutefois, sa faible surface spécifique constitue une majeure limitation. Pour contourner ce problème, Al₂O₃ a été ajouté pour former AlMgO_x combinant la résistance thermique élevée de MgO et la surface spécifique élevée de Al₂O₃ [24] [26].

2.2. Préparation du catalyseur

Outre la composition du catalyseur, plusieurs études ont montré l'effet de la méthode de préparation sur la performance catalytique.

Différentes techniques de préparation de catalyseurs existent dans la littérature. Plus principalement, nous trouvons la méthode d'imprégnation durant laquelle le support est mis en contact avec une solution du précurseur métallique, et la co-précipitation qui consiste à mélanger

des solutions de sels métalliques, généralement à pH constant, et à les faire précipiter pour avoir le produit final.

Pour choisir la méthode la plus adéquate, Bhattacharayya et al. [28] ont comparé l'activité d'oxydes mixtes Ni-Mg-Al avec celle de catalyseurs supportés Ni/Al₂O₃ et Ni/MgAl₂O₄ et ont conclu que les catalyseurs préparés par co-précipitation étaient plus actifs et plus stables que ceux préparés par imprégnation. Cette méthode sera alors adoptée dans notre étude pour préparer des Hydroxydes Doubles Lamellaires (II.A.3) et sera plus développée dans le paragraphe II.B.1.

Généralement, une étape de calcination vient après l'étape de synthèse. C'est une étape de prétraitement thermique de l'échantillon en présence d'air afin d'obtenir le catalyseur dans sa forme finale. Pour la température de calcination, les opinions sont divergentes puisque certains auteurs considèrent qu'elle a peu d'effet sur les propriétés catalytiques alors que d'autres préfèrent une température relativement élevée.

Par contre, la plupart des auteurs ont mis l'accent sur l'importance d'optimiser la température de réduction avant la réaction de reformage, vu son influence sur les propriétés du catalyseur [15] [28]. Le choix de ces deux facteurs sera discuté ultérieurement.

Dans ce qui suit, nous avons choisi d'élaborer des systèmes catalytiques massiques à base d'oxydes de nickel, de cobalt, de magnésium et d'aluminium. Ces oxydes sont obtenus suite à la calcination d'hydroxydes doubles lamellaires (HDL) préparés par co-précipitation.

3. Hydroxydes Doubles Lamellaires (HDLs)

Également nommés matériaux de type hydrotalcite, les HDLs appartiennent à une large famille de composés argileux anioniques. Leur structure est similaire à celle de la brucite, Mg(OH)₂, où chaque ion Mg²⁺ est situé au centre d'octaèdres possédant les anions OH⁻ aux sommets. Ces octaèdres partagent leurs arêtes pour former des couches planes et neutres, qui sont liées ensemble par des liaisons d'hydrogène [29].

La première formule exacte attribuée à l'hydrotalcite en 1915, est Mg₆Al₂(OH)₁₆CO₃.4H₂O mettant en relief le rôle essentiel des carbonates dans la formation de ce type de structure [29].

La substitution des cations divalents Mg²⁺ par un cation trivalent de rayon cationique similaire, comme Al³⁺, génère aux couches une charge positive, pouvant être compensée par des anions comme les ions CO₃²⁻, NO₃⁻ et SO₄²⁻ [30]. Ainsi, l'électroneutralité de l'ensemble est assurée. En

effet, les cations viennent occuper des sites octaédriques formant les feuillets cationiques alors que les anions se répartissent d'une façon aléatoire dans le domaine interlamellaire, et se déplacent librement avec des molécules d'eau [29], maintenant ainsi une charge électrique globale neutre.

La cohésion de la structure hydrotalcite est assurée d'une part par les interactions électrostatiques entre les feuillets métalliques oxygénés et les anions présents en interfeuillelet, et d'autre part, par les liaisons hydrogène qui s'établissent entre les molécules d'eau, les anions interlamellaires et les groupements hydroxyles des feuillets [31]. De même, la taille des anions ainsi que le nombre et la force des liaisons entre les anions et les groupes hydroxyles des feuillets déterminent l'épaisseur de l'interfeuillelet [31].

La figure 2.2 est une représentation schématique de la structure d'une HDL [31].

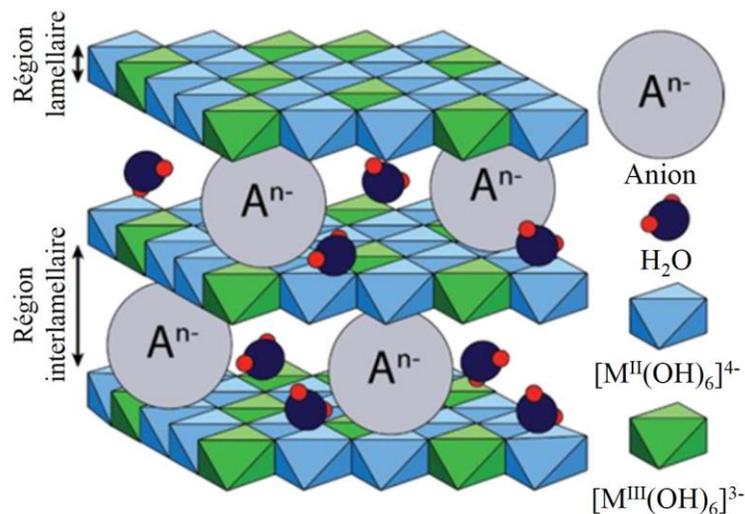


Figure 2. 2: Représentation schématique de la structure d'une HDL

$[M_{1-x}^{2+}M_x^{3+}(OH)_2]^{x+}(A^{n-})_{x/n}.mH_2O$ est la formule générale traduisant la structure des HDLs où M^{2+} et M^{3+} sont des cations métalliques à l'état +2 et +3, A^{n-} l'anion de compensation et x varie entre 0,2 et 0,33 [17] [32] [33].

Ainsi, une grande variété de composés formés par différentes combinaisons de cations M^{2+} et M^{3+} et d'anions A^- peut être synthétisée [29] [34]. Les feuillets les plus couramment synthétisés sont à base de magnésium et d'aluminium. Cependant, d'autres métaux ayant un rayon ionique similaire à celui des ions Mg^{2+} et Al^{3+} peuvent être associés tels que Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Co^{3+} , Mn^{3+} , Ga^{3+} [35] [36]. L'anion qui présente la meilleure stabilité et la plus grande affinité d'occupation des interfeuillelets est le carbonate.

Les HDLs trouvent une large gamme d'application dans différents domaines, et sont surtout utilisés après leur calcination. L'effondrement de la structure lamellaire de l'hydrotalcite par décomposition thermique contrôlée permet d'obtenir des oxydes mixtes avec une grande surface spécifique [37]. En effet, l'eau et les anions quittant le domaine interlamellaire créent des canaux dans les couches de type brucite, conduisant à la formation d'une structure poreuse [16] [32]. Le mélange obtenu d'oxyde de métal divalent ($M^{II}O$) et de spinelle ($M^{II}M^{III}O_4$) possède une stabilité thermique considérable. Ce mélange forme après réduction, de cristallites métalliques thermiquement stables intéressants dans la catalyse hétérogène [29] [37].

De plus, plusieurs études ont mis en évidence l'influence de la température de calcination sur la performance du catalyseur préparé par voie hydrotalcite, montrant que les températures de calcination inférieures à 750 °C résultent, en général, en une plus faible stabilité et activité catalytique [38]. En effet, l'élévation de température permet l'évolution des sites actifs du catalyseur et du support, qui sont des phases métastables vers des phases thermiquement plus stables [39]. En outre, vu que la réaction du reformage à sec du méthane est favorable à des températures supérieures à 633 °C, il est alors préférable de calciner les catalyseurs utilisés à des températures supérieures.

4. Désactivation du catalyseur

La durée de vie des catalyseurs est limitée ; certains perdent leur activité ou leur sélectivité après quelques minutes, d'autres durent parfois plusieurs années. La désactivation se produit par des mécanismes qui sont chimiques et/ou physiques. Ces mécanismes sont généralement divisés en quatre classes :

- Le frittage : connu autrement par le "sintering", le frittage est un processus physique irréversible qui conduit à la réduction de l'aire active du catalyseur. Il se traduit par une migration de petits cristallites métalliques qui se rassemblent en cristaux de taille supérieure entraînant la diminution de la dispersion [40]

Le facteur le plus important favorisant cette migration est la température du milieu [41]. En fait, une température élevée conduit à une augmentation significative du frittage.

- L'empoisonnement : ce phénomène résulte de la présence d'une impureté dans la charge d'alimentation qui, en s'adsorbant sur les sites actifs du catalyseur, réduit son activité [41].

Un poison peut avoir seulement un effet géométrique en bloquant un site actif, ou un effet électronique en modifiant la capacité d'adsorption d'autres espèces. Ainsi, de faibles quantités de poison suffiront pour inhiber l'adsorption des réactifs sur le catalyseur. Les poisons peuvent aussi modifier la nature chimique des sites actifs ou entraîner la formation de nouveaux composés bouleversant ainsi la performance du catalyseur [42].

Dans les conditions de reformage du biogaz, le sulfure d'hydrogène H_2S , peut être chimiquement adsorbé sur le métal de surface du catalyseur, selon la réaction : $H_2S + M \rightarrow M-S + H_2$ [8] [43]. Cependant, il est possible de régénérer le catalyseur empoisonné par augmentation de la température, ce qui favorise la cinétique de la réaction de désorption des espèces sulfurées adsorbées [44] [45].

- La perte des espèces actives par volatilisation ou par transformation de phase : les espèces actives des catalyseurs peuvent se perdre par vaporisation, sous des températures très élevées, par exemple sous forme de carbonyles volatils de métaux [39]. Ce processus s'observe lorsqu'il y a formation d'un composé volatil au cours des étapes de la réaction [39]. Les espèces actives peuvent aussi se convertir en d'autres espèces moins actives ou moins sélectives. Si la phase active des catalyseurs est métallique, l'oxydation des particules du métal est aussi une cause de désactivation. Cette oxydation est possible avec les catalyseurs à base de métaux de transition. Par contre, les métaux nobles sont généralement non oxydables. De même, dans le cas des catalyseurs d'oxydes de métaux, une transformation d'une phase cristalline à une autre peut avoir lieu, entraînant la formation d'espèces non actives. Dans beaucoup de cas, les sites actifs et le support du catalyseur sont des phases métastables qui évoluent vers des phases plus stables suite aux élévations de température. Il faut noter que pour les catalyseurs, ce phénomène s'observe à des températures basses vu la faible taille des particules, leur mobilité élevée ainsi que la nature poreuse du support. Ces changements de phases conduisent généralement à des diminutions de l'activité ou de la sélectivité catalytique [39].
- L'encrassement : autrement nommé "fouling", ce phénomène de désactivation du catalyseur consiste en un blocage physique des sites, tel que le dépôt de poussière ou surtout de résidus carbonés ou « coke » [41]. Ces dépôts peuvent soit couvrir les sites actifs soit bloquer les pores [39]. Par la suite, l'activité et la sélectivité du catalyseur seront affectées à cause des limitations du transfert de matière.

L'activité du catalyseur suite au dépôt de carbone, peut être restaurée en le brûlant : c'est la "régénération" du catalyseur [8] [46].

La désactivation par formation de carbone constitue le problème majeur associé aux réactions de reformage du biogaz. Ce phénomène est très courant durant le reformage à sec, vu qu'il est un processus fortement endothermique qui exige des températures relativement élevées pour atteindre des taux importants de conversion des réactifs. De telles températures favorisent en parallèle certaines réactions secondaires de formation de carbone, telles que la décomposition du CH_4 (Réaction 2.d) et la dismutation du CO , appelée réaction de Boudouard (Réaction 2.e), favorables entre 550 et 800 °C [47] [48].

La formation de carbone en reformage du méthane dépend aussi de la composition et de la structure du catalyseur [48]. Par conséquent, de nombreuses études se sont focalisées sur la résolution de ce problème par le développement de catalyseurs qui limitent la vitesse de dépôt de carbone soit en utilisant des métaux convenables, soit en ajoutant de composés basiques [32] [47] [49]. Ainsi, un choix convenable du métal doit être effectué. En effet, d'après Rostrup-Nielsen et al. [8], la quantité de carbone déposé à la surface des catalyseurs métalliques diminue selon l'ordre suivant : $\text{Ni} \gg \text{Rh} > \text{Ir} \approx \text{Ru} \approx \text{Pd}$ (500 °C). La présence de MgO ou de La_2O_3 , possédant un caractère basique, contribue clairement à la réduction du dépôt de carbone [4] [50]. En effet, ce type de promoteurs augmente l'adsorption du CO_2 acide en surface, améliorant par la suite la dissociation de ce dernier et accélérant l'élimination du carbone [18] [49] [50]. Le même effet est observé en ajoutant du potassium (K) ou du calcium (Ca) [9]. En plus, l'addition de MgO au catalyseur à base de Ni supporté donne lieu à une solution solide NiO-MgO qui stabilise les cristallites de Ni et réduit la formation de carbone [31]. En outre, une des suggestions « anti-coke » consiste à introduire un second métal pour former un système catalytique bimétallique. Dans ce cadre, l'addition de Co, Fe, Cu, Cr, Sn, Mn, Mo, V et Rh a été étudiée [18] [51] conduisant à des résultats positifs, les teneurs ajoutées et le mode d'action de chacun de ces éléments déterminent leur efficacité.

Au sein de ce travail, comme il a été déjà expliqué dans la partie II.A.2.1, l'association des systèmes à base de Co et de Ni est réalisée, combinant l'activité élevée du nickel dans le reformage avec la forte résistance du cobalt au dépôt de carbone. Les oxydes de ces métaux seront obtenus à partir d'une structure de type hydrotalcite contenant aussi du Mg-Al. Ces

derniers possèdent différents types de sites basiques résistants au dépôt de carbone : des groupes hydroxyle en surface comme sites basiques faibles de Bronsted, des paires oxygène/métal formant des sites basiques modérés de Lewis et des anions O^{2-} faiblement coordonnés constituant des sites basiques forts. Ces différents sites sont représentés dans la figure 2.3 [50].

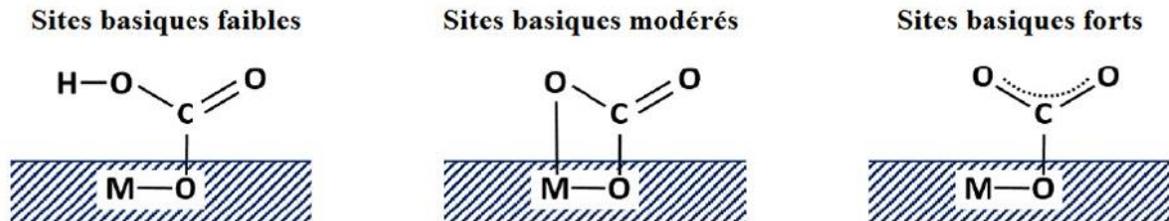


Figure 2. 3: Exemple d'adsorption du CO_2 sur les sites basiques des oxydes dérivés d'une structure de type hydrotalcite

De plus, des températures de calcination élevées et contrôlées améliorent l'interaction métal-support, réduisant ainsi le dépôt de carbone [9]. A de telles températures, nous nous attendons donc à de bonnes interactions entre les différents cations métalliques, d'où le choix d'une température de calcination de 800 °C dans notre cas.

5. Différentes formes de carbone

La formation de carbone provient principalement d'un déséquilibre entre les vitesses de décomposition du méthane et du dioxyde de carbone [52]. Lorsque la décomposition du CH_4 est plus rapide que celle du CO_2 , le carbone formé n'est plus gazéifié et s'accumule à la surface du catalyseur, causant sa désactivation. La gazéification du carbone de surface peut avoir lieu lors de sa réaction avec le CO_2 non réagi (inverse de la réaction de Boudouard).

Le carbone produit peut prendre plusieurs formes au travers les réactions de craquage du méthane (Réaction 2.d), de Boudouard (Réaction 2.e) et de gazéification du carbone (Réaction 2.f), notamment la forme de filaments de carbone ou de carbone encapsulant les particules métalliques. La voie de formation du carbone par la réaction de craquage du méthane est résumée dans la figure 2.4 [52].

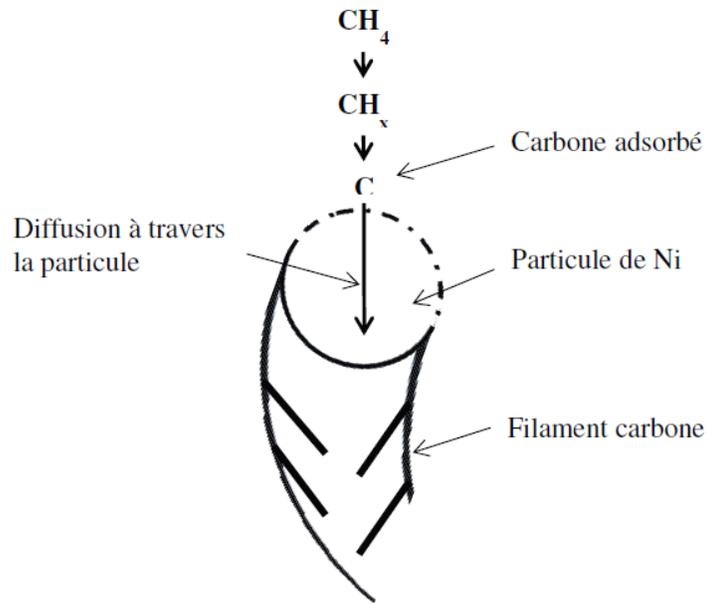


Figure 2. 5: Mécanismes de formation des filaments carbonés par craquage du CH_4 ou réaction de Boudouard

Le carbone est donc formé à partir des espèces méthyliques et migre en surface des particules de Ni. Ces atomes de carbone diffusent ensuite au travers des particules métalliques pour se loger et s'accumuler sous celles-ci. La désactivation provient alors de la destruction possible de la structure du catalyseur par la croissance des filaments ou encore de l'éloignement des particules du support [42].

B. Partie expérimentale

1. Synthèse des oxydes mixtes $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2\text{O}_9$ par voie hydrotalcite

La méthode de préparation des catalyseurs conditionne à la fois le degré de dispersion des agents actifs du catalyseur, la forme, la structure poreuse et par conséquent l'activité catalytique. Dans le cas des catalyseurs préparés par précipitation, le type de structure poreuse et la surface spécifique dépendent largement des conditions expérimentales : pH du milieu, concentration des solutions utilisées, température, vitesse de précipitation et de maturation du précipité, lavage et traitement thermique. Ainsi, toutes ces conditions doivent être bien maîtrisées.

Plusieurs approches de synthèse de minéraux argileux anioniques ont été étudiées [30] [56], dont la co-précipitation. Cette méthode est connue comme l'une des plus fiables et reproductibles [29], ainsi que la plus avantageuse de point de vue combinaison de plusieurs métaux au sein d'une même phase homogène [57], stabilité des particules métalliques dans la matrice d'oxydes et interaction entre éléments [58]. En effet, pour combiner deux ou plusieurs cations métalliques au sein d'une même phase homogène, il est nécessaire de réaliser des précipitations dans des conditions de sursaturation. Ces conditions de sursaturation peuvent être atteintes soit par des méthodes physiques telles que l'évaporation, soit par des méthodes chimiques telles que le contrôle de pH. Dans ce dernier cas, il est nécessaire d'opérer à un pH supérieur ou égal à celui auquel l'hydroxyde le plus soluble précipite [29].

Des oxydes mixtes à base de Co, Ni, Mg et Al ont été synthétisés à partir de précurseur de type hydrotalcite en respectant un rapport molaire $M^{(II+)}/M^{(III+)} = 3$. Une solution contenant des quantités appropriées de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (SIGMA ALDRICH, pureté 98 %), $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (UNI-CHEM, 98 %), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Riedel de Haën, 97 %) et $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (UNI-CHEM, 98 %) a été préparée et ajoutée, goutte à goutte et sous agitation modérée, à une solution aqueuse de NaOH (2 M) (MERCK, 99%) et Na_2CO_3 (1 M) (GPR, 99%). Le pH est maintenu à 9 et la température à 60 °C. Après précipitation, une agitation pendant 1 h des solutions à 60 °C a été effectuée. La suspension obtenue a été placée dans l'étuve et chauffée à 60 °C pendant 18 h assurant ainsi une cristallisation lente de la phase hydrotalcite, connue également comme étape de maturation. Ensuite, le précipité a été filtré puis lavé plusieurs fois à l'eau déminéralisée chaude (60 °C) jusqu'à obtention d'un pH neutre. En effet, ce lavage permet d'éliminer les ions solubles (nitrates, Na^+ , etc.) [38]. Séché par la suite, à une température de 60 °C pendant 48 h, le

précipité a été broyé dans un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Ainsi, les solides préparés sont nommés : $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2$ HT, $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2$ HT, $\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2$ HT, $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2$ HT, $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2$ HT et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2$ HT où les chiffres en indice représentent le rapport molaire nominal des métaux utilisés. L'abréviation HT signifie que les échantillons ont été préparés par voie hydrotalcite. Ces solides ont été finalement calcinés à 800 °C pendant 4 h sous un flux d'air sec de 2 L.h⁻¹ et une vitesse de montée en température de 1 °C.min⁻¹.

Les conditions de calcination (température, temps et milieu) jouent un rôle déterminant en ce qui concerne le diamètre moyen des pores et la taille des sites actifs [45] [52]. Par suite, le choix du palier de calcination à 800 °C revient à deux raisons essentielles : d'abord les résultats des analyses thermogravimétriques décèlent, à cette température, une décomposition totale de la structure hydrotalcite en oxyde stable [43]. De plus, vu que les températures lors des tests catalytiques atteignent des valeurs voisines de 800 °C, il est important d'assurer au préalable, une stabilisation thermique des catalyseurs à cette température-là. Les solides calcinés sont nommés $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, $\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$, $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2800$. En effet, ces oxydes ont à 800 °C les formules chimiques générales suivantes : $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{O}_9$, $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{O}_9$, $\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{O}_9$, $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{O}_9$, $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{O}_9$ et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{O}_9$.

Le schéma présenté dans la figure 2.6 résume la synthèse des oxydes mixtes $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2\text{O}_9$ par voie hydrotalcite.

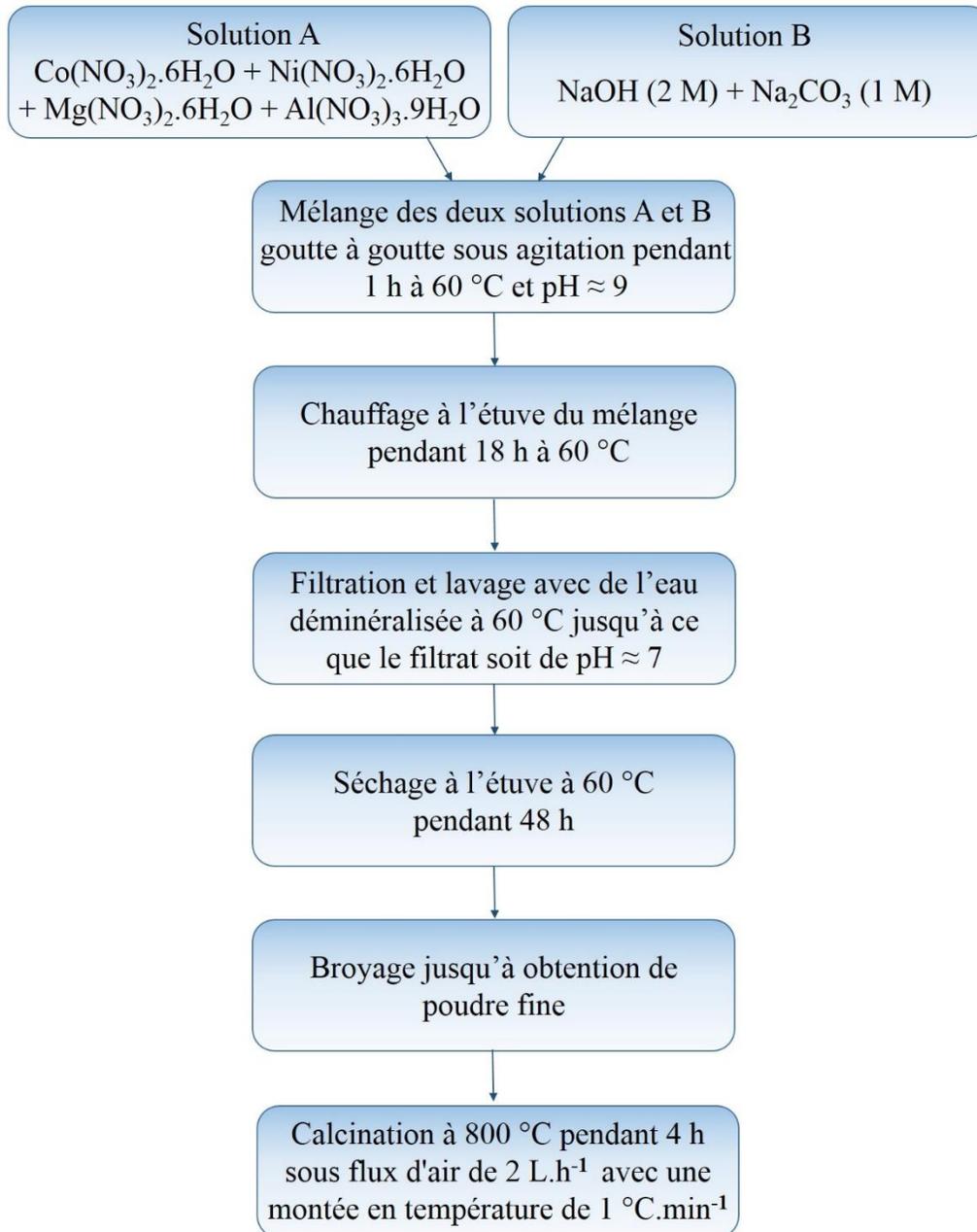


Figure 2. 6: Schéma de la synthèse des oxydes mixtes $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2\text{O}_9$ à partir de précurseurs de type hydrotalcite

2. Techniques de caractérisations physico-chimiques

Le changement de l'activité et de la sélectivité avec les propriétés du catalyseur est l'un des objectifs majeurs de la recherche en catalyse. Ainsi, maintes propriétés physiques et chimiques doivent être connues pour avoir une meilleure compréhension des fonctions catalytiques.

Le paragraphe suivant rassemble un certain nombre de techniques mises en œuvre en catalyse hétérogène. Ces techniques ont été utilisées pour la caractérisation de nos catalyseurs avant et après calcination ainsi qu'après le test de reformage catalytique. La procédure pour chaque technique expérimentale est également décrite dans cette partie.

2.1. Analyses Thermiques Différentielle (ATD) et Gravimétrie (ATG)

L'application des méthodes thermiques permet de fournir des grandeurs thermodynamiques indispensables à la connaissance des transformations chimiques d'un échantillon.

Le module ATD/ ATG combine deux techniques d'analyse thermique :

- l'analyse thermique différentielle (ATD) qui consiste à mesurer la différence de température entre une substance active et un matériau de référence, généralement inerte, comme une fonction de la température. Lorsqu'une transformation de l'échantillon actif intervient, elle met en jeu une quantité d'énergie et sa température s'écarte alors de celle du témoin. La température différentielle ΔT est enregistrée sous forme de pic ou d'une succession de pics dont l'aire est proportionnelle à la quantité de chaleur échangée. Ainsi, elle permet, entre autres, de déceler aisément une transformation thermique en renseignant sur les réactions de l'échantillon avec le milieu environnant mais aussi sur ses transformations structurales internes.
- l'analyse thermique gravimétrique (ATG) amène des précisions plus quantitatives en permettant un bilan matière. Elle consiste en l'étude d'un échantillon à partir des variations de sa masse, lorsque cet échantillon est placé dans un environnement thermique et physico-chimique contrôlé. L'instrument de mesure est donc un outil de pesage [59].

Ces deux mesures ont été simultanément effectuées sur un appareil NETZSCH STA 409 de la température ambiante jusqu'à 1000 °C (montée en température de 5 °C.min⁻¹) sous un flux d'air sec de 75 mL.min⁻¹. Pour chacune des analyses, la prise d'essai a été environ de 10 mg. Deux creusets en alumine sont placés symétriquement sur le plateau d'une balance placée dans un four. L'un des creusets contient l'échantillon à analyser dont la masse prélevée est fonction de la masse volumique apparente du solide et de l'éventuelle exothermicité de la réaction, alors que l'autre creuset est vide, il s'agit du creuset de référence. Un système de thermocouples permet de

contrôler et de mesurer la température de l'échantillon. Les différences mesurées entre l'échantillon et la référence permettent de réaliser les analyses thermiques différentielle (différence de température) et gravimétrique (perte ou gain de masse). Le logiciel TA ANALYSIS permet de traiter les résultats obtenus. L'emploi de cette technique permet, pour les échantillons séchés, de suivre les étapes de la destruction de la structure hydrotalcite et la formation des oxydes mixtes, et pour les échantillons après test, de mettre en évidence l'oxydation des espèces métalliques ainsi que du carbone formé à la surface du catalyseur et d'éventuellement quantifier ces derniers.

2.2. Diffraction des rayons X (DRX)

Les rayons X, de longueur d'onde voisine de celle des dimensions interatomiques, présentent un phénomène de diffusion cohérente sur un solide organisé. La géométrie et l'organisation atomique sont déduites à partir des raies diffractées. Les informations sont donc beaucoup plus riches sur les solides bien cristallisés que sur les solides amorphes et non-stœchiométriques où la structure locale est variable. L'analyse intéresse l'ensemble du solide et donc la structure du catalyseur. La technique comporte, en général, une source de rayons X (RX) monochromatique, l'échantillon et une détection par photomultiplicateur ou film photographique. Les applications sont très nombreuses et font de cette technique l'une des plus importantes [46].

La structure des solides a été analysée à température ambiante par la technique de diffraction de rayons X en employant un diffractomètre Bruker D8 advance. Un faisceau de rayons monochromatiques et parallèles de longueur d'onde connue, produit grâce à un filament de tungstène et une anticathode de cuivre (énergie de rayonnement : 8074 eV, longueur d'onde : 1,5406 Å), bombarde l'échantillon. Ce dernier est étalé sous forme de poudre sur un support en pyrex légèrement creusé qui tourne autour d'un axe situé dans son plan. Les particules sont orientées au hasard, il y aura toujours une famille de plans donnant lieu à la diffraction, de telle sorte que l'on obtiendra simultanément tous les faisceaux susceptibles de diffracter. Les conditions générales d'acquisition correspondent à une plage angulaire en 2θ allant de 5° à 80° pour les échantillons non calcinés et de 20° à 80° pour les échantillons calcinés avec un pas de mesure $2\theta = 0,02^\circ$ et une durée d'intégration de 2 s. Les phases cristallines sont identifiées en comparant les diffractogrammes avec ceux de composés de référence dans la base de données du

« Joint Committee on Powder Diffraction Standards » (JCPDS) établie par l'« International Center for Diffraction Data » (ICDD). Cette comparaison est faite grâce au logiciel EVA.

2.3. Détermination de la surface spécifique BET

La surface spécifique a été déterminée en se basant sur l'adsorption physique et la désorption de molécules gazeuses en utilisant un appareil Thermo-electron Qsurf M1. Les solides présentent à leur surface des défauts et/ou des pores de taille variable, qui augmentent leur surface de contact et par suite la probabilité d'adsorption d'entités réactionnelles sur le catalyseur. La détermination de l'aire spécifique est basée sur l'adsorption d'un gaz inerte sur la surface du solide qui s'effectue avec de faibles forces (forces de Van Der Waals) à basse température (-196 °C). Cette adsorption permet de mesurer la totalité de la surface des particules de poudre, accessible aux molécules de gaz extérieures. La méthode généralement adoptée est connue sous le sigle BET (Brunauer, Emmett et Teller) et elle s'appuie sur l'évaluation de la quantité de gaz inerte physisorbé correspondant à une monocouche de molécules adsorbées sur la surface du solide.

Une étape importante doit être faite au préalable, il s'agit de l'étape de dégazage durant laquelle les impuretés et tout composé organique ou vapeur d'eau sont supprimés de la surface du catalyseur par chauffage [60]. Les échantillons non calcinés sont traités à une température de 55 °C pendant 45 min et ceux calcinés sont traités à une température de 130 °C pendant 30 min. L'adsorption d'un mélange de 30 % N₂ (gaz adsorbé) et 70 % He (gaz vecteur) est effectuée à une température de -196 °C, la température de l'azote liquide. Suite à l'achèvement de l'adsorption, l'échantillon est retiré de l'azote liquide et laissé à température ambiante. Le chauffage rapide de l'échantillon entraîne la désorption de l'azote gazeux et ce dernier est quantifié par un détecteur à conductivité thermique (TCD). En effet, ce système de détection consiste en un catharomètre fonctionnant par la mesure de la tension de déséquilibre de Wheatstone. Sa réponse est proportionnelle à la différence de conductibilité thermique entre une cavité toujours balayée par du gaz vecteur pur et un élément chauffé, placé dans une autre cavité. Si la conductibilité thermique varie, un déséquilibre du pont est enregistré.

2.4. Spectroscopie Infrarouge (FT-IR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) permet d'accéder à la nature chimique et à l'organisation conformationnelle et structurale des matériaux analysés. Sous

l'effet du rayonnement IR, les molécules de l'échantillon analysé vont subir des excitations de vibrations des liaisons chimiques à des fréquences spécifiques au type de liaison et au groupe d'atomes impliqués.

Les analyses IR ont été effectuées à température ambiante sur un spectromètre BRUKER EQUINOX 55, équipé d'un détecteur DTGS (Deuterated Triglycine Sulfate). La spectrométrie en mode transmission a été utilisée. Le faisceau infrarouge émis traverse donc l'échantillon, d'où la nécessité de diluer ce dernier dans un support transparent tel que le bromure de potassium (KBr) (composé transparent dans la gamme $10000 - 300 \text{ cm}^{-1}$ et inerte) à raison de 2 mg de catalyseur dans 198 mg de KBr. Le mélange est ensuite broyé et pastillé sous une pression de 10 tonnes pendant 5 minutes. Les spectres IR ont été enregistrés dans la gamme $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, avec une accumulation de 64 scans et une résolution de 4 cm^{-1} .

2.5. Composition élémentaire mesurée par PIXE

La composition élémentaire des échantillons est mesurée par PIXE (Particle Induced X-ray Emission) en utilisant l'accélérateur tandem de la Commission Libanaise de l'Énergie Atomique (CLEA)-CNRSL.

Cette méthode d'analyse utilise les faisceaux d'ions accélérés et repose sur l'exploitation du rayonnement secondaire dû à la relaxation de l'énergie déposée dans le matériau bombardé. Les émissions secondaires sont assez diverses, parmi lesquelles nous trouvons l'émission de fragments neutres, ionisés, excités ou non (ions, agrégats, molécules) en provenance du matériau bombardé et l'émission de produits de réactions nucléaires (photons γ , particules diffusées ou émises) et atomiques (X, UV, électrons).

La technique PIXE exploite l'émission des raies X caractéristiques des éléments présents dans la cible analysée. Cette technique permet la caractérisation et le dosage multiélémentaire des éléments dont le numéro atomique Z est supérieur à 10 ($Z > 10$).

L'accélérateur tandem délivre un faisceau avec une énergie maximale de protons de 3,2 MeV. Cette charge est suffisante pour avoir une erreur statistique de moins de 2-3 % sur la surface du pic de l'élément mesuré. La chambre d'analyse, qui est sous vide, contient un détecteur de rayons X Si(Li) situé à 45° par rapport au faisceau d'ions. L'échantillon analysé est fixé sur une roue dont la rotation, entraînée par un moteur, est contrôlée par ordinateur. Les

spectres de PIXE sont traités avec le programme Gupixwin (version Windows du logiciel Guelph PIXE).

Les échantillons à analyser doivent être élaborés sous forme de pastilles. Ainsi le mélange est broyé et pastillé sous une pression de 10 tonnes pendant 10 secondes.

2.6. Réduction en Température Programmée (RTP)

La réduction en température programmée est utilisée pour déterminer la réductibilité d'un catalyseur ainsi que le degré d'oxydation de la phase active dans les oxydes métalliques. Il s'agit d'un suivi de l'hydrogène consommé en fonction de la température. La RTP permet de mettre en évidence la formation d'alliages au sein des catalyseurs bimétalliques ainsi que de caractériser la force de l'interaction phase active-support. Elle détermine aussi le nombre d'espèces réductibles présentes dans le catalyseur ainsi que la température à laquelle la réduction a lieu.

L'appareil utilisé pour ces mesures est un système Altamira AMI 200. Une quantité de 50 mg d'échantillon a été déposée dans un tube en quartz et prétraitée sous un flux d'argon de grande pureté. Ce flux d'argon, ayant un débit de 30 mL.min⁻¹, circule sous une température allant de l'ambiante à 150 °C avec une montée en température de 5 °C.min⁻¹. Cette dernière température est maintenue pendant 1 h pour éliminer toute substance physisorbée. L'échantillon a ensuite été refroidi à 30 °C avant d'être chauffé à 950 °C sous un flux de 5 % H₂ / Ar à un débit de 30 mL.min⁻¹ avec une vitesse de chauffage de 5 °C.min⁻¹. Le signal correspondant à la consommation de H₂ est obtenu par un TCD.

2.7. Désorption en Température Programmée (DTP-CO₂)

La DTP consiste à étudier, dans notre cas, la basicité des oxydes mixtes issus de la calcination des hydrotalcites en fonction de la quantité de CO₂ adsorbée. L'acidité de cette molécule est suffisante pour évaluer tous les sites basiques [61]. En effet, le CO₂ acide et volatil est adsorbé sur le catalyseur solide à une température déterminée. Les molécules adsorbées sont ensuite désorbées en présence d'hélium en chauffant le catalyseur de façon programmée. Le gaz désorbé est quantifié par un TCD. La quantité de molécules acides désorbées et la température de désorption définissent la basicité totale, le nombre de sites basiques ainsi que leur force. Dans un profil DTP, les pics à basse température correspondent à la désorption du CO₂ des sites basiques faibles et ceux aux températures élevées correspondent aux sites basiques forts.

Dans ce but, le même dispositif Altamira AMI 200 a été employé. Une masse de 100 mg d'échantillon calciné à 800 °C a été introduite dans un tube en quartz placé dans un four où un thermocouple permet de lire la température du catalyseur. En premier lieu, l'oxyde mixte est dégazé à 150 °C pendant 1 h sous flux d'hélium (30 mL.min⁻¹), après une montée à partir de la température ambiante à raison de 10 °C.min⁻¹. La quantité de CO₂ adsorbée est déterminée par l'injection de pulses de 4,5 % CO₂/He. La désorption est effectuée dans la gamme de température allant de la température ambiante à 900 °C sous un flux d'hélium de 30 mL.min⁻¹ avec une vitesse de montée de 10 °C.min⁻¹. Le CO₂ désorbé a été quantifié par un TCD.

2.8. Oxydation en Température Programmée (OTP)

L'oxydation en température programmée est réalisée sur les catalyseurs après réaction catalytique pour déterminer principalement la nature et la quantité de carbone déposée. L'oxygène consommé pour l'oxydation permet de mesurer la quantité de carbone déposé sur les catalyseurs. En plus, les phases actives qui peuvent être réduites durant le test par l'hydrogène formé, se réoxydent dans ces conditions.

L'OTP est effectuée sur les catalyseurs après tests catalytiques, avec le même dispositif Altamira AMI 200, en suivant l'évolution de la consommation d'oxygène en fonction de la température. 20 mg d'échantillon calciné à 800 °C est traité à 150 °C pendant 1 h sous flux d'hélium de 30 mL.min⁻¹, après une montée à partir de la température ambiante à raison de 10 °C.min⁻¹. Puis, les analyses par OTP ont été réalisées sous un flux de gaz de 10 % d'O₂ dans l'hélium avec une montée en température de 5 °C/min de la température ambiante jusqu'à 900 °C. La quantité de O₂ adsorbée est déterminée par l'injection de pulses de 10 % O₂/He et le O₂ désorbé est quantifié par un TCD.

C. Caractérisation physico-chimique des catalyseurs

1. Etude de la décomposition thermique des solides séchés par Analyses Thermiques (ATD/ATG)

La figure 2.7 montre, pour chaque hydrotalcite préparée, trois ou quatre pics endothermiques associés à des pertes de masse visibles sur les courbes thermogravimétriques.

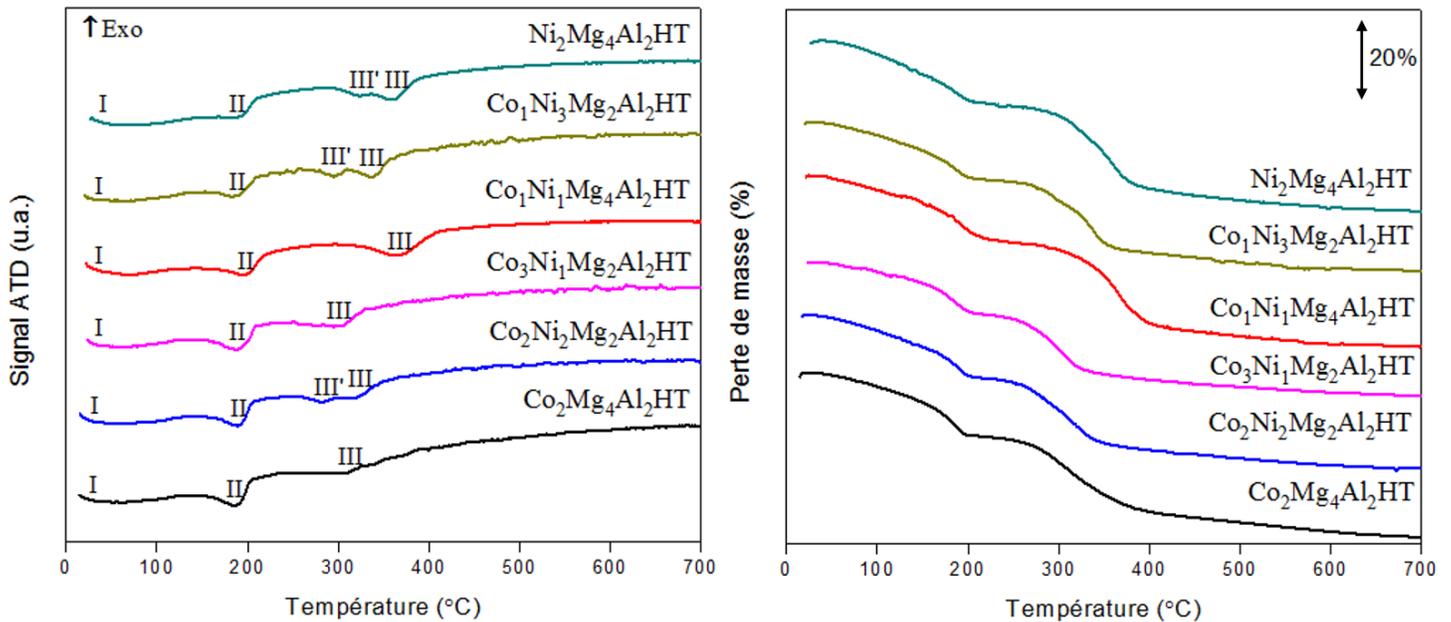


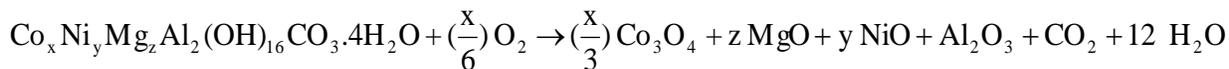
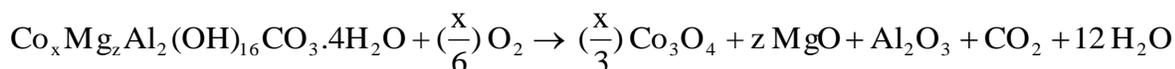
Figure 2. 7: Courbes des analyses thermiques différentielles (ATD) et gravimétriques (ATG) des solides séchés

La première perte de masse des échantillons à une température inférieure à 250 °C, associée à un pic endothermique, est attribuée à la perte de l'eau physisorbée (pic I) et à l'élimination de l'eau de la couche interlamellaire (pic II) [62].

La seconde perte de masse observée entre 250 °C et 450 °C, est due à la décomposition des groupes hydroxyle dans les couches de type brucite, ainsi qu'à la décomposition et l'élimination des anions des intercouches (carbonates, nitrates). Au cours de cette étape, la destruction de la structure hydrotalcite et la formation d'oxydes métalliques ont lieu. Cette perte de masse se présente en ATD sous un pic endothermique asymétrique (pic III) accompagné parfois d'un épaulement (pic III') [30]. En effet, la perte des groupes hydroxyles et celle des anions peuvent se dérouler simultanément donnant lieu à un seul pic (pic 3) ou distinctement donnant lieu à deux pics (pics III et III') [63].

Il est à noter que ce stade de la décomposition de l'hydrotalcite dépend de sa composition, plus précisément de la nature des cations présents dans la couche de type brucite. En effet, une stabilité thermique de Co-Al-HT plus faible que celle de Ni-Al-HT est remarquée. Ce constat a été déjà fait par plusieurs auteurs [19]. Il pourrait être lié à l'oxydation rapide des ions Co^{2+} [16]. D'autre part, il est à mentionner que lorsque la teneur en Mg diminue, la déshydroxylation et la décarbonatation ont lieu à de plus basses températures, ce qui résulte en une diminution de la stabilité thermique de la structure HT. De ce fait, en comparant les hydrotalcites à composition similaire, nous remarquons que celui à plus haute teneur en Mg est le plus stable ($\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{HT}-\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{HT}$ / $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{HT}-\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{HT}$ / $\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{HT}-\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{HT}$). Ce phénomène, observé par différents auteurs [54] [55], est attribué à la diminution des interactions électrostatiques entre les couches brucite et les interfeuillettes avec la diminution de la teneur en Mg. Ces mêmes auteurs ont suivi la décomposition thermique de séries d'hydrotalcites où le métal divalent qui substitue le magnésium est le cobalt et/ou le nickel [54] [55]. Les thermogrammes obtenus ont également montré une stabilité thermique qui diminue avec le degré de substitution du magnésium par les autres métaux divalents Co^{2+} et/ou Ni^{2+} . Ils ont interprété ce résultat par la plus grande affinité des cations Mg^{2+} que les cations Co^{2+} et Ni^{2+} pour les anions CO_3^{2-} présents en interfeuille.

L'effondrement de la structure hydrotalcite cause la formation d'oxydes métalliques. Il en résulte une perte de masse suite au départ de CO_2 et de H_2O selon les réactions suivantes :



Les pertes de masse théoriques ont été calculées selon ces équation-bilans qui correspondent aux pics II et III-III' des courbes ATD. La perte due à l'eau physisorbée (pic I) n'est pas considérée dans ce calcul. Dans le tableau 2.1, les pertes de masse théoriques sont comparées aux valeurs expérimentales obtenues lors des analyses thermogravimétriques.

Les pertes de masse théoriques et expérimentales sont proches. Les différences observées pourraient être dues à un degré d'hydratation de l'hydrotalcite légèrement différent de 4 (le degré d'hydratation pris en considération dans nos calculs) et à la stœchiométrie des hydrotalcites

préparées où une différence entre la formule réelle du solide HT préparé et la formule nominale théorique peut avoir lieu [37] [50].

Tableau 2. 1: Pertes de masse théorique et expérimentale lors de la calcination sous flux d'air des solides séchés

Echantillon	Perte massique théorique (%)	Perte massique expérimentale (%)
Co₂Mg₄Al₂ HT	38,76	41,05
Co₂Ni₂Mg₄Al₂ HT	35,06	38,06
Co₃Ni₁Mg₂Al₂ HT	37,51	41,06
Co₁Ni₁Mg₂Al₂ HT	38,66	41,05
Co₁Ni₃Mg₂Al₂ HT	37,53	41,02
Ni₂Mg₄Al₂ HT	38,79	43,05

2. Analyse de la structure par Diffraction des Rayons X (DRX)

Les diffractogrammes des rayons X des solides séchés sont présentés sur la figure 2.8.

Les raies enregistrées sont attribuées aux plans cristallins d'une structure hydrotalcite (3R symétrie rhomboédrique; JCPDS 220700). Toutes les diffractions caractéristiques à 11°, 23°, 35°, 39°, 47°, 61° et 62° correspondent respectivement aux réflexions (003) (006) (009) (015) (018) (110) et (113), qui sont caractéristiques des composés de type hydrotalcite [10] [14] [16] [64]. Aucune raie attribuée aux hydroxydes de Ni, Co, Mg, ou Al n'apparaît. Cela suggère que ces métaux sont très dispersés dans les couches brucite évitant l'agglomération et la formation d'hydroxydes isolés.

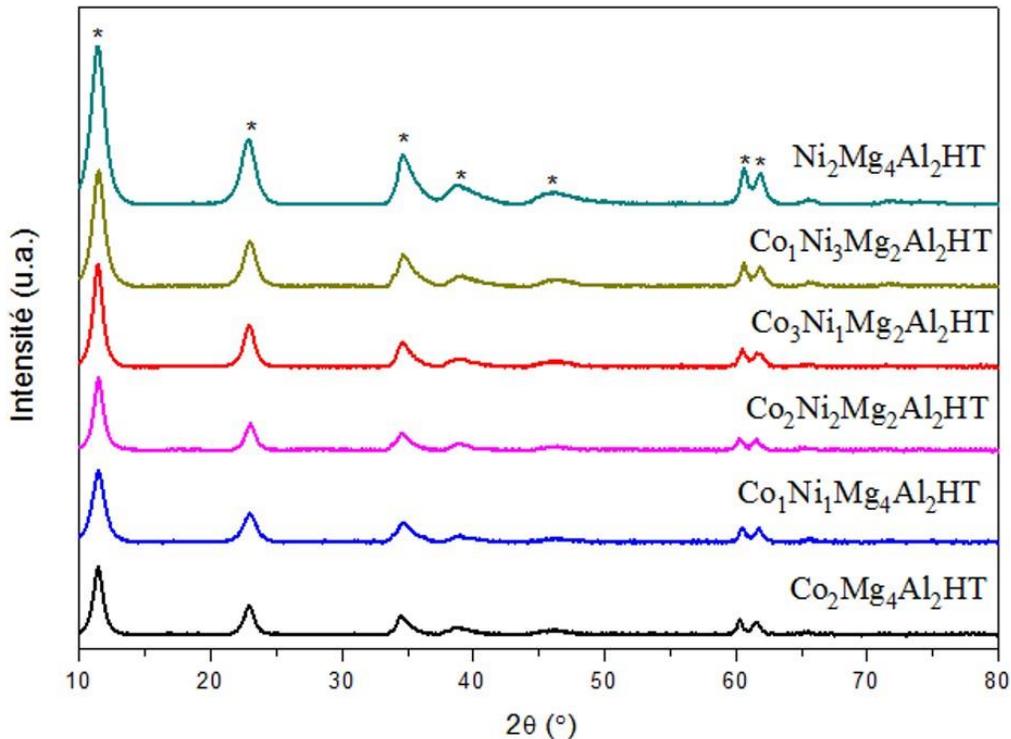


Figure 2. 8: Diffractogrammes de rayons X des solides séchés
 * : Phase hydrotalcite, JCPDS : 220700

Sur les diffractogrammes de rayons X des échantillons calcinés à 800 °C (Figure 2.9), la disparition des différentes raies caractéristiques de la structure de type hydrotalcite est notée. Les résultats montrent que, suite à la calcination à 800 °C, la structure de type hydrotalcite a complètement disparu et un mélange d'oxydes métalliques simples et mixtes est apparu. Ces oxydes sont les suivants : CoAl_2O_4 , Co_3O_4 , MgAl_2O_4 , MgO , NiO , CoO , NiAl_2O_4 et NiCo_2O_4 . Le symbole et numéro JCPDS de chaque phase sont détaillés dans le tableau 2.2.

La largeur des raies de diffraction peut être expliquée par la présence d'un mélange de phases d'oxydes qui sont difficilement différenciables par DRX, en raison de leurs valeurs de 2θ très proches et des intensités similaires de leurs différentes raies de diffraction [65].

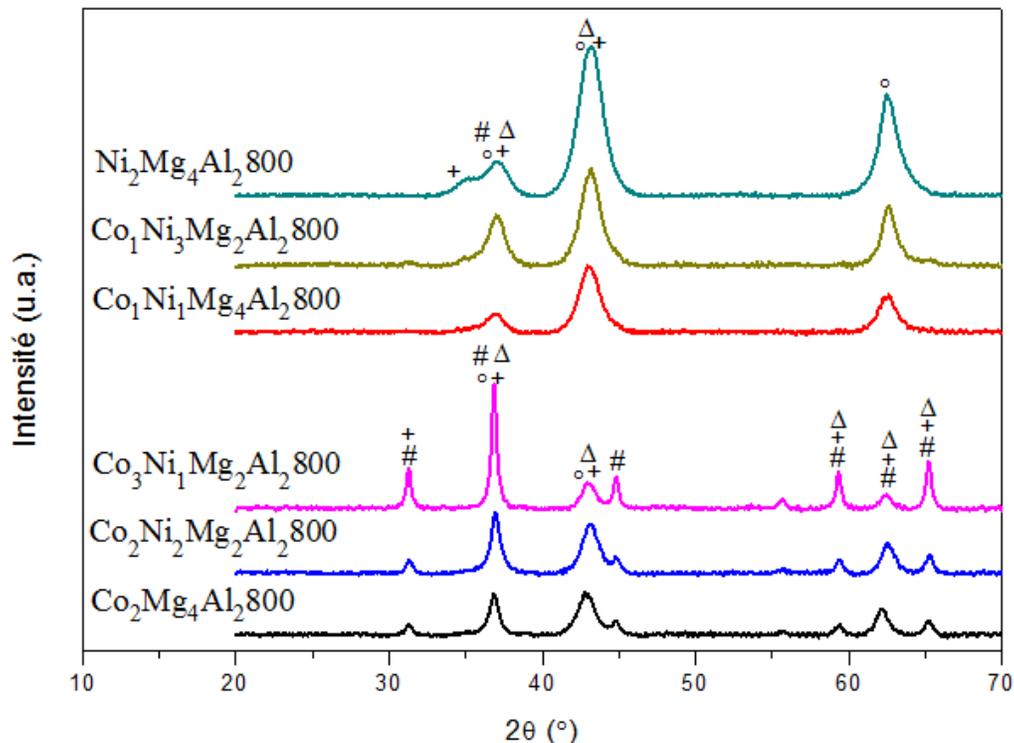


Figure 2. 9: Diffractogrammes de rayons X des solides calcinés à 800 °C sous flux d'air

Tableau 2. 2: Les phases détectées pour les solides calcinés à 800 °C, leurs symboles et les numéros JCPDS

Symbole	Phase détectée	JCPDS N°
#	CoAl ₂ O ₄	440160
#	Co ₃ O ₄	421467
◊	MgAl ₂ O ₄	211152
◊	MgO	450946
◊	NiO	441159
◊	CoO	481719
+	NiAl ₂ O ₄	100339
Δ	NiCo ₂ O ₄	731702

Selon plusieurs auteurs [20] [21] [25], la calcination à haute température (500-800 °C) favorise la formation de solutions solides de type spinelle de Ni²⁺-Al³⁺, Co²⁺-Al³⁺ et Mg²⁺-Al³⁺; il s'agit de NiAl₂O₄, CoAl₂O₄ et MgAl₂O₄ respectivement. Selon la littérature [43], les raies de diffraction caractéristiques de la phase spinelle MgAl₂O₄ au sein des catalyseurs à base de Ni-Mg-Al commencent à apparaître lorsque les échantillons sont calcinés à 500 °C, et une

augmentation supplémentaire de la température de calcination entraîne la formation d'une véritable phase spinelle [30]. NiCo_2O_4 , solution solide de type spinelle de $\text{Ni}^{2+}\text{-Co}^{3+}$, peut être également formée après calcination [9]. D'un autre côté, la formation de Co_3O_4 est due à l'oxydation facile des ions Co^{2+} et à la plus grande stabilité thermodynamique que possède Co_3O_4 dans l'air par rapport à CoO [16].

Ainsi, l'analyse des échantillons par DRX montre que tous les solides préparés par voie hydrotalcite présentent la structure lamellaire et que la calcination à 800°C est suffisante pour sa destruction et l'obtention d'oxydes simples et mixtes.

3. Mesure de la surface spécifique par la méthode BET

La détermination de la surface spécifique par la méthode BET a été réalisée pour les solides avant et après calcination. Le tableau 2.3 montre les résultats obtenus.

Tableau 2. 3: Surfaces spécifiques des solides séchés et calcinés

Echantillon	Surface spécifique	Surface spécifique
	($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$) HT	($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$) 800
$\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2$	108	138
$\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2$	127	161
$\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2$	87	74
$\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2$	92	208
$\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2$	117	180
$\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2$	138	203

Après calcination, une augmentation de la surface spécifique de l'hydrotalcite Co-Ni-Mg-Al est observée, exception faite pour $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$. L'un des avantages du passage par la structure hydrotalcite est le fait que l'oxyde obtenu conserve une aire spécifique élevée, même après un traitement thermique à haute température (800°C dans notre cas). En effet, les mêmes oxydes, préparés par simple co-précipitation des hydroxydes, sans passer par la voie hydrotalcite, montrent après calcination à 800°C des aires spécifiques beaucoup plus faibles, de l'ordre de quelques $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ [66]. En fait, l'aire spécifique plus élevée obtenue suite au passage par la structure hydrotalcite peut être expliquée par le développement d'une structure poreuse due à l'élimination de l'eau et des anions en interfeuillet et à la transformation des ions carbonates CO_3^{2-} en CO_2 après calcination, ce qui résulte en une augmentation de la surface spécifique [16]

[67]. En outre, Stanimirova et al.[68] suggèrent une évolution thermique de la structure hydrotalcite Mg-Al (Mg/Al = 3) conduisant à une phase amorphe de "périclase métahydrotalcite P" entre 400 °C et 900 °C et à une solution solide de MgO + MgAl₂O₄. La "Périclase métahydrotalcite P", qui est une phase amorphe, peut être en partie responsable de la surface spécifique élevée caractérisant les échantillons après calcination [16].

4. Spectroscopie Infrarouge (FT-IR)

Les spectres FT-IR des solides séchés sont présentés sur la figure 2.10. Ces spectres confirment l'obtention du profil typique de l'hydrotalcite. Les principales caractéristiques proviennent des anions en interfeuille et des molécules d'eau [33].

Tous les échantillons montrent de larges bandes à 3550 cm⁻¹, attribuées à la vibration d'élongation de la liaison O-H des groupes hydroxyles des molécules d'eau physisorbée et des molécules d'eau présentes dans la zone interlamellaire [10].

Un petit épaulement à 3000 cm⁻¹ correspond à un second type de vibration d'élongation d'O-H, résultant d'une liaison pont hydrogène entre les molécules d'eau et les groupes carbonate localisés dans les interfeuillets [69].

La bande faible à 1650 cm⁻¹ correspond à la vibration de déformation angulaire des molécules d'eau de la couche interlamellaire dans la structure hydrotalcite [70].

La bande à 1370 cm⁻¹ est attribuée à la vibration d'élongation des carbonate CO₃²⁻ présents également en interfeuille [30] [70].

Les bandes observées à un nombre d'ondes inférieur à 900 cm⁻¹ sont dues à des interactions M-O (M = Al, Mg, Ni, Co) [70] [71]. Cependant, il est difficile de donner strictement une attribution pour chaque bande vu que les bandes se chevauchent en raison de la présence de plusieurs cations métalliques.

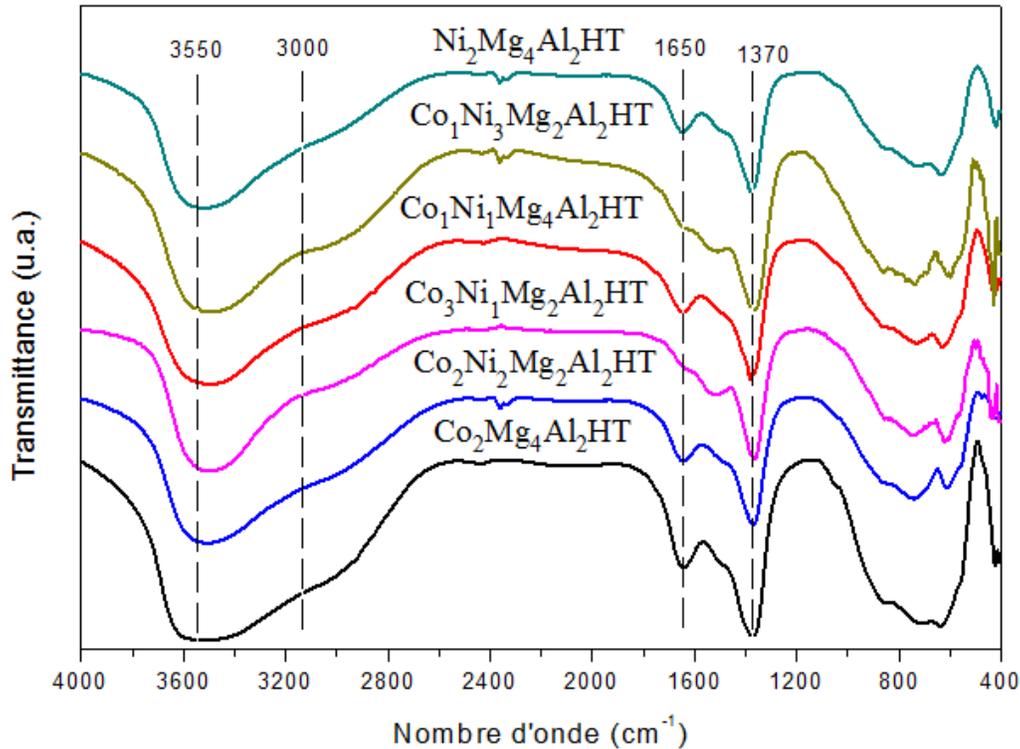


Figure 2. 10: Spectres FT-IR des solides séchés

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a mis en évidence l'existence des liaisons chimiques des groupements fonctionnels dans la structure hydrotalcite confirmant ainsi les études DRX et celles de l'analyse thermique.

Il faut noter qu'une bande dédoublée localisée vers 2360 cm^{-1} , due au dioxyde de carbone provenant de l'atmosphère de la chambre infrarouge, apparaît sur la majorité de nos spectres.

Les spectres infrarouges des solides calcinés sont présentés sur la figure 2.11.

Par comparaison aux spectres des hydrotalcites, nous remarquons :

- une diminution de l'intensité des bandes IR à 3450 cm^{-1} des liaisons O-H des groupes hydroxyles des molécules d'eau physisorbée et des molécules d'eau présentes dans la zone interlamellaire, ainsi que de la bande à 1640 cm^{-1} , due à la vibration de déformation angulaire des molécules d'eau de la couche intermédiaire dans la structure hydrotalcite. Ceci est le résultat de l'élimination d'une grande partie de l'eau et des hydroxyles par calcination

- une diminution de la largeur et de l'intensité de la bande à 1370 cm^{-1} provenant de la vibration d'élongation des anions carbonate CO_3^{2-} présents en interfeuillet, indiquant l'élimination de la majorité de ces ions suite au traitement thermique à 800 °C [29].
- un déplacement des nombres d'onde de 3550 à 3450 cm^{-1} , 1650 à 1640 cm^{-1} et de 1370 à 1380 cm^{-1} , vu la modification de l'environnement chimique des liaisons OH et CO_3^{2-} suite à la calcination.
- la disparition de l'épaule à 3000 cm^{-1} dû à l'interaction entre H_2O et CO_3^{2-} .
- des différences dans les bandes des M-O, dans la région inférieure à 900 cm^{-1} à cause de la transformation de la structure hydrotalcite en oxydes mixtes.

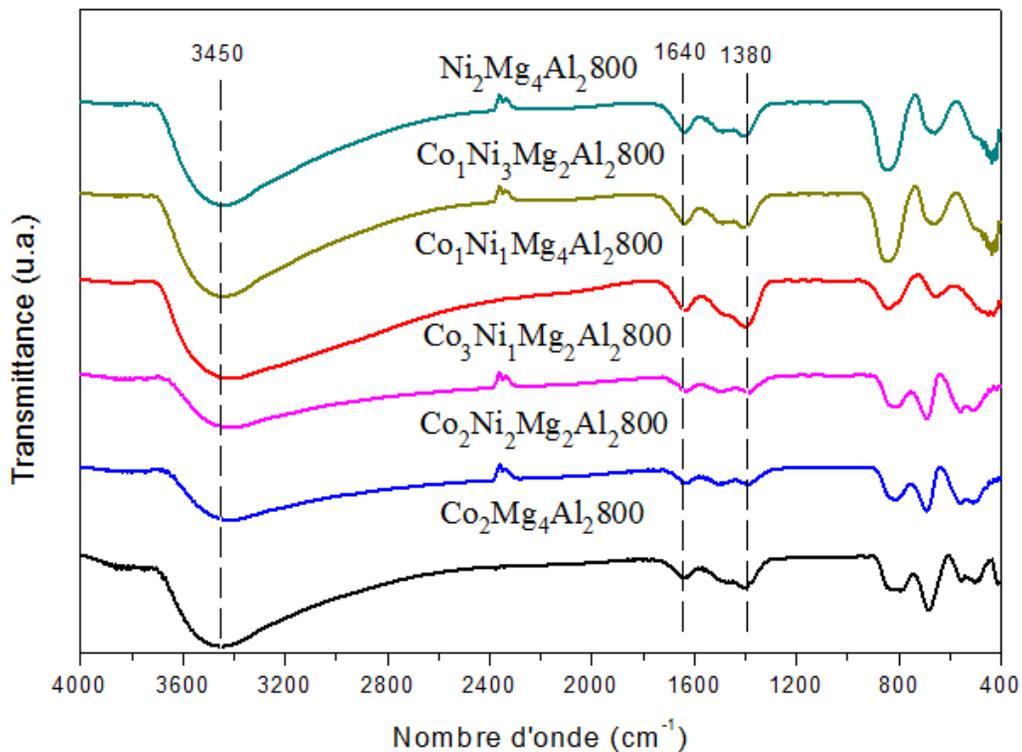


Figure 2. 11: Spectres FT-IR des solides calcinés

Ces changements prouvent la destruction de la structure hydrotalcite suite au traitement thermique sous air. Cependant, l'eau et les carbonates sont toujours observés. En fait, les oxydes métalliques peuvent adsorber physiquement des molécules d'eau ce qui explique la présence des bandes d'eau [72]. En plus, il se peut que les carbonates ne soient pas décomposés en totalité à la température de calcination (800 °C) ou que le CO_2 gazeux provenant de l'air ambiant se soit adsorbé sur les sites basiques des oxydes métalliques, donnant lieu à des bandes de carbonate [73]. Ces structures liées aux carbonates ou hydroxyles ne sont pas détectées par DRX

des échantillons calcinés, soit à cause de leur faible teneur, soit à cause de leur présence sous forme amorphe.

5. Composition élémentaire mesurée par PIXE

Afin de déterminer la composition élémentaire des oxydes préparés, de mesures par PIXE ont été menés.

Les formules chimiques expérimentales ont été déterminées à partir des valeurs des pourcentages massiques élémentaires obtenus par PIXE. Le tableau 2.4 présente les formules nominales et expérimentales. Il en est déduit que les compositions expérimentales ne diffèrent pas, d'une manière significative, des compositions nominales.

Tableau 2. 4 : Pourcentages massiques élémentaires expérimental et théorique des solides calcinés et leurs formules chimiques expérimentales

Formule nominale de l'échantillon	% massique théorique					% massique expérimental					Formule expérimentale
	Co	Ni	Mg	Al	O	Co	Ni	Mg	Al	O	
$\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{O}_9$	28,6	-	22,2	14,2	35,0	28,5	-	23,5	13,1	34,9	$\text{Co}_2\text{Mg}_{3,8}\text{Al}_{2,2}\text{O}_{9,0}$
$\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{O}_9$	24,5	23,9	9,5	11,9	30,2	24,5	24,4	10,1	11,2	29,9	$\text{Co}_{2,01}\text{Ni}_{1,9}\text{Mg}_{1,8}\text{Al}_{2,1}\text{O}_{9,1}$
$\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{O}_9$	37,1	12,4	9,3	11,5	29,8	36,7	12,2	10,1	11,2	29,9	$\text{Co}_{2,0}\text{Ni}_{1,0}\text{Mg}_{1,8}\text{Al}_{2,1}\text{O}_{8,9}$
$\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{O}_9$	14,9	14,4	21,7	14,1	34,8	14,3	14,2	23,6	13,1	34,9	$\text{Co}_{1,1}\text{Ni}_{1,0}\text{Mg}_{3,7}\text{Al}_{2,2}\text{O}_{8,9}$
$\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2\text{O}_9$	12,6	36,7	9,4	11,4	29,8	12,2	36,6	10,1	11,2	29,9	$\text{Co}_{1,0}\text{Ni}_{3,0}\text{Mg}_{1,9}\text{Al}_{2,0}\text{O}_{8,9}$
$\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{O}_9$	-	27,2	22,8	14,6	35,4	-	28,5	23,6	13,1	34,9	$\text{Ni}_{1,9}\text{Mg}_{3,9}\text{Al}_{2,2}\text{O}_{9,1}$

6. Réduction en température programmée (RTP)

Les profils RTP des solides à base de Co, Ni, Mg et Al, calcinés à 800 °C sont présentés sur la figure 2.12.

Les solides $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2$ 800, $\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2$ 800 et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2$ 800 montrent un seul pic de réduction à température élevée (TE), entre 500 °C et 900 °C. En revanche, les solides $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2$ 800, $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2$ 800 et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2$ 800 révèlent, outre que le pic à TE, des pics de réduction à températures faibles (TF), températures inférieures à 500 °C. Plus précisément, un pic à TF pour $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2$ 800 (II), deux pics séparés à TF pour $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2$ 800 (I et II) et deux pics, à TF, chevauchés pour $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2$ 800 (I et II) sont observés.

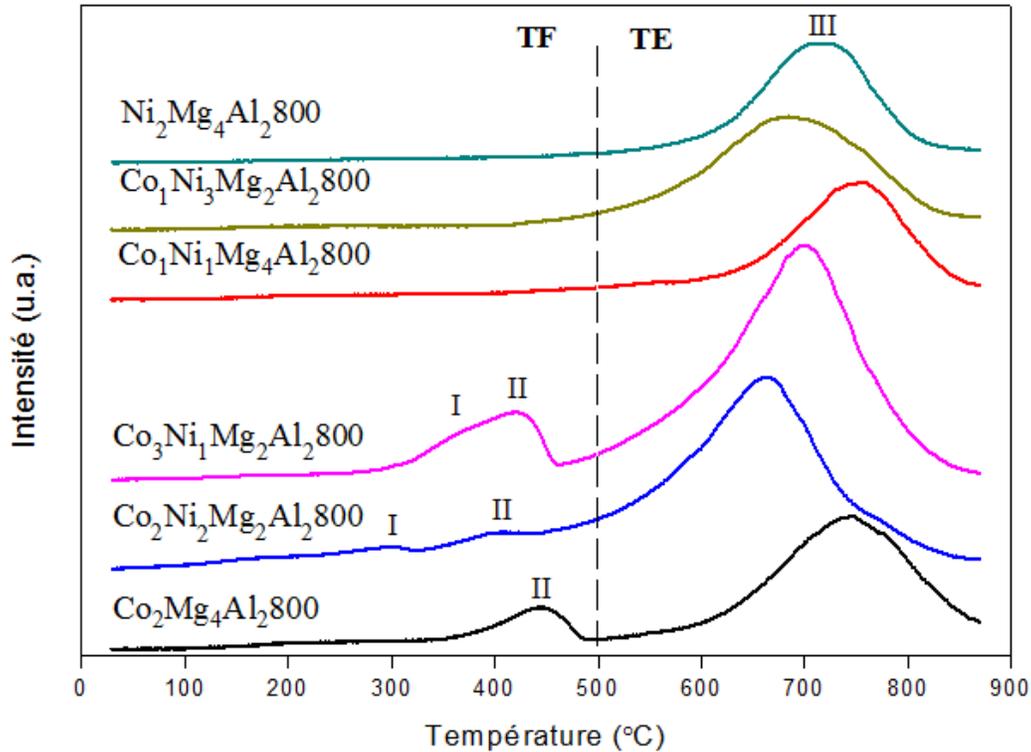
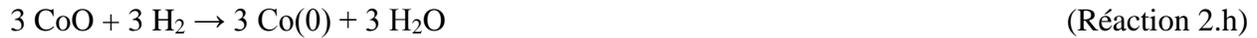


Figure 2. 12: Profils RTP des solides calcinés

Ainsi, nos échantillons peuvent être divisés en deux catégories : ceux dont la teneur molaire en Co est ≥ 2 , qui révèlent plus qu'un seul pic de réduction (TF et TE) et ceux dont la teneur molaire en Co est < 2 qui montrent un seul pic de réduction (TE). Il est important de noter que les pics de réduction observés sont associés à la réduction des espèces de nickel et de cobalt en métaux Ni et Co vu que les oxydes de magnésium et d'aluminium ne sont pas réductibles dans nos conditions [74].

Les pics à TE sont attribués à la réduction du Co et du Ni présents dans les spinelles ou oxydes mixtes tels que CoAl_2O_4 , NiCo_2O_4 et NiAl_2O_4 [21] [60] [75–77]. En effet, la présence de ces oxydes a été mise en évidence par DRX. En fait, dans ce type d'oxydes, Co^{2+} , Co^{3+} et Ni^{2+} sont en forte interaction avec Mg et Al dans la matrice [21] [78] [79] et par suite, nécessitent des températures élevées pour être réduits [65] [69]. De plus, il est à noter que la température de réduction (pic TE) augmente lorsque la teneur en Mg augmente. Ceci est dû à l'interaction du Co et du Ni avec Mg qui augmente avec la teneur en Mg, rendant plus difficile la réduction des espèces de Co et de Ni [75] [76].

Les pics à TF sont associés à la réduction de Co_3O_4 , CoO [65] [74] [77] et NiO [65] [80–82] qui sont en faible interaction avec le reste de la matrice, en espèces métalliques, suivant les réactions suivantes :



CoO peut être présent au sein du solide et peut même être formé suite à la réduction de Co_3O_4 . En effet, des raies de diffraction dues à Co_3O_4 , CoO et NiO ont été observées en DRX. Cependant, des pics à TF sont détectés uniquement lorsque la teneur en $\text{Co} \geq 2$. Les oxydes ayant des teneurs molaires en $\text{Ni} \geq 2$ ($\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2800$), ne montrent pas de pic TF. Alors, nous pouvons déduire que les pics à TF sont uniquement dus à la réduction de Co_3O_4 et de CoO .

En outre, il est remarqué que dans les solides dépourvus de Ni ($\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$), un seul pic à TF est observé alors que dans les solides contenant à la fois Co et Ni , deux pics à TF sont observés. Ces pics à TF, séparés ($\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$) ou chevauchés ($\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$), peuvent être attribués à la réduction d'espèces de Co ayant des interactions différentes avec la matrice ; des espèces de Co voisines du Ni (pics TF à des températures plus faibles) et des espèces de Co non voisines du Ni (pics TF à plus hautes températures).

Ainsi, les résultats RTP montrent que même si le Ni existe à une teneur importante, il demeure dispersé dans la matrice d'oxydes sous forme d'oxydes mixtes ou spinelles, alors que le Co , présent en teneur élevée, forme des espèces Co_3O_4 et/ou CoO séparées en plus des solutions solides ou de spinelles avec Mg et Al .

Le tableau 2.6 regroupe la quantité d'hydrogène consommée expérimentalement (pics I, II et III) et celle calculée théoriquement pour tous les catalyseurs. L'augmentation de la consommation d'hydrogène avec l'augmentation de la teneur en Co / Ni confirme que tous les pics observés en RTP ne sont liés qu'à la réduction des espèces de Co / Ni . En outre, il est à noter que pour les catalyseurs les plus riches en cobalt ($\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$) les quantités expérimentales sont inférieures à celles théoriques, révélant qu'une partie des espèces à base de Co et/ou Ni n'a pas été réduite. En revanche, pour les catalyseurs ($\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$), les quantités expérimentales sont supérieures à celles théoriques. Ce fait pourrait être expliqué par la réduction

d'espèces carbonate [83] [84]. En effet, il a été montré dans le paragraphe II.C.4 que des bandes dues au carbonate sont toujours présentes sur les spectres IR des solides étudiés même après un traitement thermique à 800 °C.

D'après ces résultats de RTP, nous constatons que les catalyseurs sont réduits à une température de 800 °C sous flux d'hydrogène. Ainsi, ces conditions seront utilisées pour activer les catalyseurs avant le test de reformage.

Tableau 2. 5: Quantités d'H₂ expérimentales and théoriques consommées par les solides calcinés

Echantillon	Consommation d'H ₂ (μmol.g ⁻¹)							
	Expérimentale				Théorique			
	Pic I	Pic II	Pic III	Total	Co ₃ O ₄ à CoO	CoO à Co(0)	NiO à Ni(0)	Total
Co ₂ Mg ₄ Al ₂ 800	-	665	3750	4415	1614	4843	-	6457
Co ₂ Ni ₂ Mg ₂ Al ₂ 800	105	151	8759	9015	1384	4151	4151	9686
Co ₃ Ni ₁ Mg ₂ Al ₂ 800	-	1240	7180	8420	2074	6224	2074	10372
Co ₁ Ni ₁ Mg ₄ Al ₂ 800	-	-	5881	5881	807	2423	2423	5653
Co ₁ Ni ₃ Mg ₂ Al ₂ 800	-	-	9196	9196	692	2076	6229	8997
Ni ₂ Mg ₄ Al ₂ 800	-	-	6051	6051	-	-	4847	4847

7. Désorption en température programmée (DTP-CO₂)

Comme mentionné précédemment dans la partie II.B.2.7, la DTP-CO₂ permet d'étudier la basicité de l'échantillon. La figure 2.13 montre les profils DTP-CO₂ des oxydes Co_xNi_yMg_zAl₂800.

Tous les solides montrent deux pics de désorption, l'un vers 250 °C et l'autre vers 550 °C, à l'exception de Co₃Ni₁Mg₂Al₂800 qui présente un seul pic large entre 350 et 750 °C. L'existence de deux pics de désorption indique la présence de deux types différents de sites basiques. Dans notre cas, le caractère basique provient essentiellement des oxydes de magnésium, MgAl₂O₄ et MgO, dont la présence a été mise en évidence par DRX [65]. En effet, MgO est connu pour ses propriétés basiques.

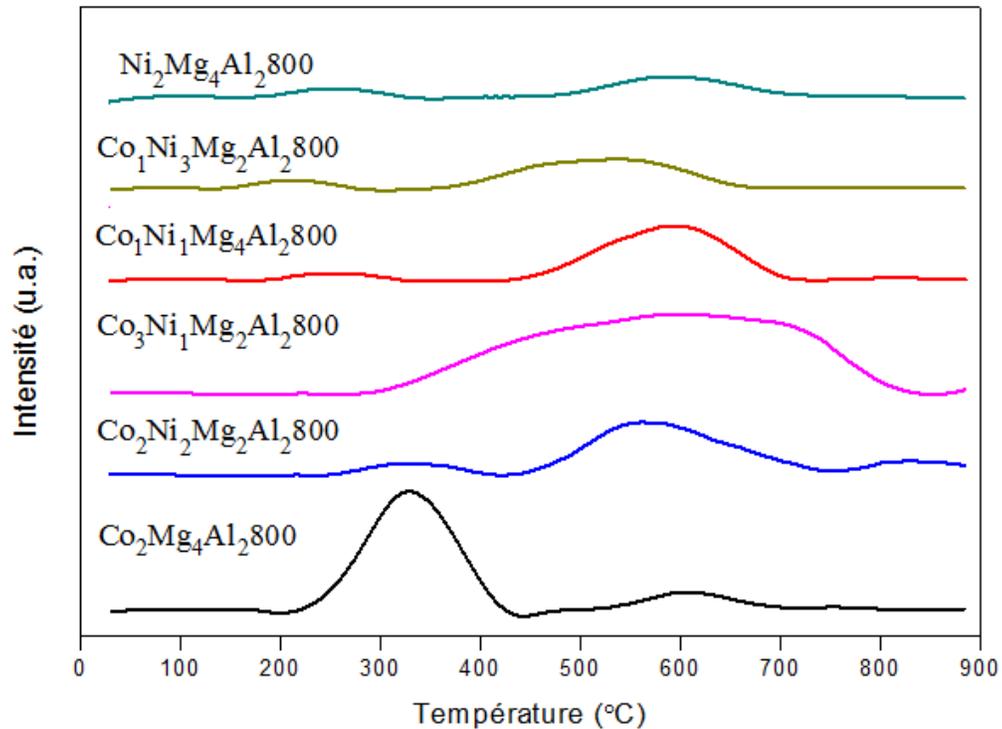


Figure 2. 13: Profils DTP-CO₂ des solides calcinés

Ainsi, et d'après la littérature [30] [27], le premier pic, vers 250 °C, est attribué à la présence d'espèces carbonates bidentés sur les sites basiques de force modérés de Lewis, associés principalement aux paires $Mg^{2+}-O^{2-}$ et $Al^{3+}-O^{2-}$. Le deuxième pic, à des températures supérieures à 300 °C, est attribué à la présence de carbonates monodentés sur les sites basiques forts (anions O^{2-}).

Par la suite, nous pouvons conclure que les catalyseurs contenant une teneur de $Co \leq 2$, possèdent des sites basiques de force moyenne - en plus des sites basiques forts -. Parmi cette catégorie de catalyseur, $Co_2Mg_4Al_2800$ présente la concentration la plus élevée en sites basiques de force moyenne. Par contre, $Co_3Ni_1Mg_2Al_2800$, ayant une teneur molaire en $Co > 2$ semble ne pas contenir de tels sites (absence de pic vers 250 °C), mais présente un pic large indiquant la présence d'une concentration élevée de sites basiques forts. En plus, les études ont démontré que lorsque la teneur en Ni augmente, le caractère acide devient plus marqué [43] [85]. Ce fait permettrait d'expliquer les faibles intensités de pics à 250 °C et 550 °C obtenus pour $Ni_2Mg_4Al_2800$ et $Co_1Ni_3Mg_2Al_2800$ [86] [87].

8. Conclusion

Les différentes caractérisations physico-chimiques (ATG/ATD, DRX, spectroscopie IR) montrent que tous les solides $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2$ HT préparés par voie hydrotalcite présentent bien la structure lamellaire quel que soit le degré de substitution du Mg par le Co et/ou le Ni.

La calcination à 800°C est suffisante pour la destruction de cette structure et l'obtention d'oxydes simples et mixtes.

La mesure des aires spécifiques par la méthode BET montre l'augmentation de la surface spécifique après calcination des solides séchés, vu le développement d'une structure poreuse suite à l'élimination de l'eau et des anions en interfeuillet et à la transformation des ions carbonates CO_3^{2-} en CO_2 .

L'étude de ces oxydes par réduction en température programmée (RTP) montre que même si le Ni existe avec une teneur importante, il demeure dispersé dans la matrice d'oxydes sous forme d'oxydes mixtes ou spinelles, alors que le Co, présent en teneur élevée, forme Co_3O_4 et/ou CoO séparément en plus des solutions solides ou de spinelles avec Mg et Al.

L'analyse de basicité par DTP- CO_2 a confirmé la présence de sites basiques modérés et forts à la surface des solides à l'exception de $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ qui présente uniquement des sites basiques forts. Cette étude a également démontré que lorsque la teneur en Ni augmente, le caractère basique devient moins marqué.

Dans le chapitre qui suit, tous les solides calcinés à 800 °C sous flux d'air, seront testés dans une réaction modèle de reformage à sec du biogaz afin d'évaluer leurs performances catalytiques et de choisir le meilleur catalyseur. L'effet de l'impureté toluène sur la performance catalytique sera aussi examiné.

Références bibliographiques

- [1] X. Zhang, C. Yang, Y. Zhang, Y. Xu, S. Shang, Y. Yin, Ni–Co catalyst derived from layered double hydroxides for dry reforming of methane, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2015) 16115–16126.
- [2] S. Sumrunronnasak, S. Tantayanon, S. Kiatgamolchai, T. Sukonket, Improved hydrogen production from dry reforming reaction using a catalytic packed-bed membrane reactor with Ni-based catalyst and dense PdAgCu alloy membrane, *International Journal of Hydrogen Energy*. 41 (2016) 2621–2630.
- [3] A. Serrano-Lotina, L. Daza, Long-term stability test of Ni-based catalyst in carbon dioxide reforming of methane, *Applied Catalysis A: General*. 474 (2014) 107–113.
- [4] M.A. Soria, C. Mateos-Pedrero, A. Guerrero-Ruiz, I. Rodríguez-Ramos, Thermodynamic and experimental study of combined dry and steam reforming of methane on Ru/ ZrO₂-La₂O₃ catalyst at low temperature, *International Journal of Hydrogen Energy*. 36 (2011) 15212–15220.
- [5] I.M. Bodrov, L.O. Apelbaum, Kinetics of the reaction of methane with CO₂ over nickel, *Journal of Catalysis*. 10 (1968) 99.
- [6] J. Nakamura, K. Aikawa, K. Sato, T. Uchijima, Role of support in reforming of CH₄ with CO₂ over Rh catalysts, *Catalysis Letters*. 25 (1994) 265–270.
- [7] A. Erdöhelyi, J. Cserényi, E. Papp, F. Solymosi, Catalytic reaction of methane with carbon dioxide over supported palladium, *Applied Catalysis A: General*. 108 (1994) 205–219.
- [8] J.R. Rostrup-Nielsen, J.H.B. Hansen, CO₂-Reforming of Methane over Transition Metals, *Journal of Catalysis*. 144 (1993) 38–49.
- [9] J. Zhang, H. Wang, A.K. Dalai, Development of stable bimetallic catalysts for carbon dioxide reforming of methane, *Journal of Catalysis*. 249 (2007) 300–310.
- [10] P. Tan, Z. Gao, C. Shen, Y. Du, X. Li, W. Huang, Ni-Mg-Al solid basic layered double oxide catalysts prepared using surfactant-assisted coprecipitation method for CO₂ reforming of CH₄, *Chinese Journal of Catalysis*. 35 (2014) 1955–1971.
- [11] M. Goula, N. Charisiou, K. Papageridis, A. Delimitis, E. Pachatouridou, E. Iliopoulou, Nickel on alumina catalysts for the production of hydrogen rich mixtures via the biogas dry reforming reaction: Influence of the synthesis method, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2015) 9183–9200.
- [12] M.H. Aboonassr Shiraz, M. Rezaei, F. Meshkani, Microemulsion synthesis method for preparation of mesoporous nanocrystalline γ -Al₂O₃ powders as catalyst carrier for nickel catalyst in dry reforming reaction, *International Journal of Hydrogen Energy*. 41 (2016) 6353–6361.
- [13] F. Meshkani, M. Rezaei, Nanocrystalline MgO supported nickel-based bimetallic catalysts for carbon dioxide reforming of methane, *International Journal of Hydrogen Energy*. 35 (2010) 10295–10301.

- [14] H. Özdemir, M.A. Faruk Öksüzömer, M. Ali Gürkaynak, Preparation and characterization of Ni based catalysts for the catalytic partial oxidation of methane: Effect of support basicity on H₂/CO ratio and carbon deposition, *International Journal of Hydrogen Energy*. 35 (2010) 12147–12160.
- [15] C. Gennequin, M. Safariamin, S. Siffert, A. Aboukaïs, E. Abi-Aad, CO₂ reforming of CH₄ over Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite like precursors, *Catalysis Today*. 176 (2011) 139–143.
- [16] C. Gennequin, S. Kouassi, L. Tidahy, R. Cousin, J. Lamonier, G. Garcon, P. Shirali, F. Cazier, A. Aboukaïs, S. Siffert, Co–Mg–Al oxides issued of hydrotalcite precursors for total oxidation of volatile organic compounds. Identification and toxicological impact of the by-products, *Comptes Rendus Chimie*. 13 (2010) 494–501.
- [17] D. Li, M. Lu, S. Xu, C. Chen, Y. Zhan, L. Jiang, Preparation of supported Co catalysts from Co–Mg–Al layered double hydroxides for carbon dioxide reforming of methane, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 5063-5071.
- [18] J. Xu, W. Zhou, Z. Li, J. Wang, J. Ma, Biogas reforming for hydrogen production over nickel and cobalt bimetallic catalysts, *International Journal of Hydrogen Energy*. 34 (2009) 6646–6654.
- [19] D. San-Jose-Alonso, J. Juan-Juan, M.J. Illan-Gomez, M.C. Roman-Martinez, Ni, Co and bimetallic Ni–Co catalysts for the dry reforming of methane, *Applied Catalysis A: General*. 371 (2009) 54–59.
- [20] B. Coq, D. Tichit, S. Ribet, Co/Ni/Mg/Al Layered Double Hydroxides as Precursors of Catalysts for the Hydrogenation of Nitriles: hydrogenation of Acetonitrile, *Journal of Catalysis*. 189 (1999) 117–128.
- [21] M. Munoz, S. Moreno, R. Molina, Synthesis of Ce and Pr-promoted Ni and Co catalysts from hydrotalcite type precursors by reconstruction method, *International Journal of Hydrogen Energy*. 37 (2012) 18827–18842.
- [22] T.L. LeValley, A.R. Richard, M. Fan, Development of catalysts for hydrogen production through the integration of steam reforming of methane and high temperature water gas shift, *Energy*. 90, Part 1 (2015) 748–758.
- [23] J. Zhu, X. Peng, L. Yao, J. Shen, D. Tong, C. Hu, The promoting effect of La, Mg, Co and Zn on the activity and stability of Ni/SiO₂ catalyst for CO₂ reforming of methane, *International Journal of Hydrogen Energy*. 36 (2011) 7094–7104.
- [24] H. Long, Y. Xu, X. Zhang, S. Hu, S. Shang, Y. Yin, X. Dai, Ni-Co/Mg-Al catalyst derived from hydrotalcite-like compound prepared by plasma for dry reforming of methane, *Journal of Energy Chemistry*. 22 (2013) 733–739.
- [25] X. You, X. Wang, Y. Ma, J. Liu, W. Liu, X. Xu, H. Peng, C. Li, W. Zhou, P. Yuan, X. Chen, Ni–Co/Al₂O₃ Bimetallic Catalysts for CH₄ Steam Reforming: Elucidating the Role of Co for Improving Coke Resistance, *ChemCatChem*. 6 (2014) 3377–3386.

- [26] V.A. Tsipouriari, A.M. Efstathiou, Z.L. Zhang, X.E. Verykios, Reforming of methane with carbon dioxide to synthesis gas over supported Rh catalysts, *Catalysis Today*. 21 (1994) 579–587.
- [27] M. Nawfal, Valorisation catalytique du biogaz pour une énergie propre et renouvelable, Thèse de doctorat de l'Université du Littoral Côte d'Opale. (2015).
- [28] A. Bhattacharayya; V.W. Chang, D.J. Schumacher, CO₂ reforming of methane to syngas I: evaluation of hydrotalcite clay-derived catalysts, *Applied Clay Science*. 13 (1998) 317–328.
- [29] F. Cavani, F. Trifirò, A. Vaccari, Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications, *Catalysis Today*. 11 (1991) 173–301.
- [30] U. Sikander, S. Sufian, M.A. Salam, A review of hydrotalcite based catalysts for hydrogen production systems, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 19851–19868.
- [31] R. Dębek, M. Motak, T. Grzybek, M.E. Galvez, P. Da Costa, A Short Review on the Catalytic Activity of Hydrotalcite-Derived Materials for Dry Reforming of Methane, *Catalysts*. 7 (2017) 1-25.
- [32] M.G. Álvarez, R.J. Chimentão, F. Figueras, F. Medina, Tunable basic and textural properties of hydrotalcite derived materials for transesterification of glycerol, *Applied Clay Science*. 58 (2012) 16–24.
- [33] X. Xue, H. Zhang, S. Zhang, Preparation of MgAl LDHs Intercalated with Amines and Effect on Thermal Behavior for Poly(vinyl chloride), *Advances in Materials Physics and Chemistry*. 04 (2014) 258-266.
- [34] K.A. Carrado, A. Kostapapas, S.L. Suib, Layered double hydroxides (LDHs), *Solid State Ionics*. 26 (1988) 77–86.
- [35] P. Kuśtrowski, L. Chmielarz, E. Bożek, M. Sawalha, F. Roessner, Acidity and basicity of hydrotalcite derived mixed Mg–Al oxides studied by test reaction of MBOH conversion and temperature programmed desorption of NH₃ and CO₂, *Materials Research Bulletin*. 39 (2004) 263–281.
- [36] K. Shekoochi, F.S. Hosseini, A.H. Haghighi, A. Sahrayian, Synthesis of some Mg/Co-Al type nano hydrotalcites and characterization, *MethodsX*. 4 (2017) 86–94.
- [37] M. Nawfal, C. Gennequin, M. Labaki, B. Nsouli, A. Aboukaïs, E. Abi-Aad, Hydrogen production by methane steam reforming over Ru supported on Ni–Mg–Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2015) 1269–1277.
- [38] A. Serrano-Lotina, L. Rodríguez, G. Muñoz, L. Daza, Biogas reforming on La-promoted NiMgAl catalysts derived from hydrotalcite-like precursors, *Power Sources*. 196 (2011) 4404–4410.
- [39] K. Kumbilieva, L. Petrov, Y. Alhamed, A. Alzahrani, Reaction Mechanism and Deactivation Modes of Heterogeneous Catalytic Systems, *Chinese Journal of Catalysis*. 32 (2011) 387–404.

- [40] J. Ducamp, A. Bengaouer, P. Baurens, I. Fechete, P. Turek, F. Garin, Statu quo sur la méthanation du dioxyde de carbone : une revue de la littérature, *Comptes Rendus Chimie*. In Press, Corrected Proof (2017).
- [41] L. R. Novaes, M.E. Pacheco, V.M.M. Salim, N.S. de Resende, Accelerated deactivation studies of hydrotreating catalysts in pilot unit, *Applied Catalysis A: General*. 548 (2017) 114-121.
- [42] C.H. Bartholomew, Mechanisms of catalyst deactivation, *Applied Catalysis A: General*. 212 (2001) 17-60.
- [43] O.W. Perez-Lopez, A. Senger, N.R. Marcilio, M.A. Lansarin, Effect of composition and thermal pretreatment on properties of Ni-Mg-Al catalysts for CO₂ reforming of methane, *Applied Catalysis A: General*. 303 (2006) 234-244.
- [44] S. Appari, V.M. Janardhanan, R. Bauri, S. Jayanti, Deactivation and regeneration of Ni catalyst during steam reforming of model biogas: An experimental investigation, *International Journal of Hydrogen Energy*. 39 (2014) 297-304.
- [45] X. Yang, An experimental investigation on the deactivation and regeneration of a steam reforming catalyst, *Renewable Energy*. 112 (2017) 17-24.
- [46] G. Scacchi, M. Bouchy, J.-F. Foucaut, O. Zahraa, R. Fournet, Cinétique et catalyse, *Lavoisier*. (2017).
- [47] Ş. Özkara-Aydınoglu, Thermodynamic equilibrium analysis of combined carbon dioxide reforming with steam reforming of methane to synthesis gas, *International Journal of Hydrogen Energy*. 35 (2010) 12821-12828.
- [48] B. Abdullah, N.A. Abd Ghani, D.-V.N. Vo, Recent advances in dry reforming of methane over Ni-based catalysts, *Journal of Cleaner Production*. 162 (2017) 170-185.
- [49] D.P. Debecker, E.M. Gaigneaux, G. Busca, Exploring, tuning, and exploiting the basicity of hydrotalcites for applications in heterogeneous catalysis, *Chemistry*. 15 (2009) 3920-3935.
- [50] J. Abou Rached, Production d'hydrogène par reformage catalytique du toluène sur des oxydes mixtes Ni-Mg-Al. Effet de l'ajout de cérium ou de lanthane, Thèse de doctorat en cotutelle, Université du Littoral Côte d'Opale et University of Balamand. (2017).
- [51] M. Safariamin, L.H. Tidahy, E. Abi-Aad, S. Siffert, A. Aboukaïs, Dry reforming of methane in the presence of ruthenium-based catalysts, *Comptes Rendus Chimie*. 12 (2009) 748-753.
- [52] M. Gaillard, Reformage à sec du méthane à de catalyseurs à base de molybdène : vers la valorisation catalytique du biogaz, Thèse de doctorat de l'Université de Lille. (2016).
- [53] A. Rakib, Valorisation du méthane en hydrogène par reformage catalytique, Thèse de doctorat de l'Université du Littoral Côte d'Opale. (2012).
- [54] D. Swierczynski, C. Courson, A. Kiennemann, Study of steam reforming of toluene used as model compound of tar produced by biomass gasification, *Chemical Engineering and Processing*. 47 (2008) 508-513.

- [55] J.-W. Snoeck, G.F. Froment, M. Fowles, Steam/CO₂ Reforming of Methane. Carbon Formation and Gasification on Catalysts with Various Potassium Contents *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 41 (2002) 3548–3556.
- [56] P. Benito, V. Dal Santo, V. De Grandi, M. Marelli, G. Fornasari, R. Psaro, A. Vaccari, Coprecipitation versus chemical vapour deposition to prepare Rh/Ni bimetallic catalysts, *Applied Catalysis B: Environmental*. 179 (2015) 150–159.
- [57] C. C. Arruda, P. H. L. Cardoso, I. M. M. Dias, R. Salomão, Hydrotalcite (Mg₆Al₂(OH)₁₆(CO₃)·4H₂O): A potentially useful raw material for refractories, *INTERCERAM*. 62 (2013) 187–191.
- [58] G. Fornasari, M. Gazzano, D. Matteuzzi, F. Trifirò, A. Vaccari, Structure and reactivity of high-surface-area Ni/Mg/Al mixed oxides, *Applied Clay Science*. 10 (1995) 69–82.
- [59] A. Auroux, Les techniques physiques d'étude des catalyseurs, TECHNIP., Paris:, in: Centre National de La Recherche Scientifique, Institut de Recherches Sur La Catalyse, Technip. (1988) 856–867.
- [60] A.H. Fakeeha, W.U. Khan, A.S. Al-Fatesh, A.A. Ibrahim, A.E. Abasaeed, Production of hydrogen from methane over lanthanum supported bimetallic catalysts, *International Journal of Hydrogen Energy*. 41 (2016) 8193–8198.
- [61] S. Abello, F. Medina, D. Tichit, J. Perez-Ramirez, X. Rodriguez, J.E. Sueiras, P. Salagre, Y. Cesteros, Study of alkaline-doping agents on the performance of reconstructed Mg-Al hydrotalcites in aldol condensations, *Applied Catalysis. A, General*. 281 (2005) 191–198.
- [62] A. Serrano-Lotina, A.J. Martin, M.A. Folgado, L. Daza, Dry reforming of methane to syngas over La-promoted hydrotalcite clay-derived catalysts, *International Journal of Hydrogen Energy*. 37 (2012) 12342–12350.
- [63] Y.-J. Lin, D.-Q. Li, D.G. Evans, X. Duan, Modulating effect of Mg–Al–CO₃ layered double hydroxides on the thermal stability of PVC resin, *Polymer Degradation and Stability*. 88 (2005) 286–293.
- [64] J. Lamonier, A. Boutoundou, C. Gennequin, M. Josefina, P. Zurita, S. Siffert, A. Aboukaïs, Catalytic Removal of Toluene in Air over Co–Mn–Al Nano-oxides synthesized by Hydrotalcite Route, *Catalysis Letter*. 118 (2007) 165–172.
- [65] S.I. Garcés-Polo, J. Villarroel-Rocha, K. Sapag, S.A. Korili, A. Gil, Adsorption of CO₂ on mixed oxides derived from hydrotalcites at several temperatures and high pressures, *Chemical Engineering Journal*. 332 (2017) 24–32.
- [66] J. Abou Rached, Amélioration des performances catalytiques de matériaux solides à base de nickel dans le reformage des hydrotalcites par introduction de différents éléments promoteurs, Mémoire de M2 Recherche, Université Libanaise. (2013).
- [67] L. Chmielarz, M. Rutkowska, P. Kuśtrowski, M. Drozdek, Z. Piwowska, B. Dudek, R. Dziembaj, M. Michalik, An influence of thermal treatment conditions of hydrotalcite-like materials on their catalytic activity in the process of N₂O decomposition, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 105 (2011) 161–170.

- [68] T. Stanimirova, N. Petrova, I. Vergilov, G. Kirov, Thermal decomposition products of hydrotalcite-like compounds: low temperature metaphases, *Journal of Materials Science*. 34 (1999) 4153–4161.
- [69] S. Bepari, S. Basu, N.C. Pradhan, A.K. Dalai, Steam reforming of ethanol over cerium-promoted Ni-Mg-Al hydrotalcite catalysts, *Catalysis Today*. 291 (2017) 47–57.
- [70] W. Zhou, Q. Tao, J. Pan, J. Liu, J. Qian, M. He, Q. Chen, Effect of basicity on the catalytic properties of Ni-containing hydrotalcites in the aerobic oxidation of alcohol, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 425 (2016) 255–265.
- [71] K. Takanabe, K.I. Nagaoka, K. Aika, Improved resistance against coke deposition of titania supported cobalt and nickel bimetallic catalysts for carbon dioxide reforming of methane, *Catalysis Letters*. 102 (2005) 153–157.
- [72] F. Li, L. Zhang, D.G. Evans, X. Duan, Structure and surface chemistry of manganese-doped copper-based mixed metal oxides derived from layered double hydroxides, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 244 (2004) 169–177.
- [73] W. Xie, H. Peng, L. Chen, Calcined Mg–Al hydrotalcites as solid base catalysts for methanolysis of soybean oil, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 246 (2006) 24–32.
- [74] C. Gennequin, T. Barakat, H.L. Tidahy, R. Cousin, J.F. Lamonier, A. Aboukais, S. Siffert, Use and observation of the hydrotalcite “memory effect” for VOC oxidation, *Catalysis Today*. 157 (2010) 191–197.
- [75] J. Zheng, M.O. Jones, S. Huahong, X. Tiancun, P.P. Edwards, S. Jixin, Catalytic partial oxidation of methane over Ni-based catalysts derived from Ni-Mg/Al ternary hydrotalcites, *Energy and Fuels*. 23 (2009) 1634–1639.
- [76] R. Guil-López, R.M. Navarro, M.A. Peña, J.L.G. Fierro, Hydrogen production by oxidative ethanol reforming on Co, Ni and Cu ex-hydrotalcite catalysts, *International Journal of Hydrogen Energy*. 36 (2011) 1512–1523.
- [77] A. Machocki, T. Ioannides, E. Papadopoulou, B. Banach, Hydrogen-rich gas generation from alcohols over cobalt-based catalysts for fuel cell feeding, *Fuel Processing Technology*. 148 (2016) 341–349.
- [78] K. Sato, N. Abe, T. Kawagoe, S. Miyahara, K. Honda, K. Nagaoka, Supported Ni catalysts prepared from hydrotalcite-like compounds for the production of hydrogen by ammonia decomposition, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 6610–6617.
- [79] R. Dębek, M. Motak, M.E. Galvez, T. Grzybek, P. Da Costa, Promotion effect of zirconia on Mg(Ni,Al)O mixed oxides derived from hydrotalcites in CO₂ methane reforming, *Applied Catalysis B: Environmental*. 121 (2017) 185–208.
- [80] L. Chmielarz, P. Kuśtrowski, A. Rafalska-Łasocha, R. Dziembaj, Influence of Cu, Co and Ni cations incorporated in brucite-type layers on thermal behaviour of hydrotalcites and reducibility of the derived mixed oxide systems, *Thermochimica Acta*. 395 (2002) 225–236.
- [81] A. Fonseca, E.M. Assaf, Production of the hydrogen by methane steam reforming over nickel catalysts prepared from hydrotalcite precursors, *Journal of Power Sources*. 142 (2005) 154–159.

- [82] A. Al-Fatesh, Suppression of carbon formation in CH₄-CO₂ reforming by addition of Sr into bimetallic Ni-Co/c-Al₂O₃ catalyst, *Journal of King Saud University – Engineering Sciences*. 27 (2015) 101–107.
- [83] D. Chlala, J.-M. Giraudon, N. Nuns, C. Lancelot, R.-N. Vannier, M. Labaki, J.-F. Lamonier, Active Mn species well dispersed on Ca²⁺ enriched apatite for total oxidation of toluene, *Applied Catalysis B: Environmental*. 184 (2016) 87–95.
- [84] D. Chlala, M. Labaki, J.-M. Giraudon, O. Gardoll, A. Denicourt-Nowicki, A. Roucoux, J.-F. Lamonier, Toluene total oxidation over Pd and Au nanoparticles supported on hydroxyapatite, *Comptes Rendus Chimie*. 19 (2016) 525–537.
- [85] J. Abou Rached, C. El Hayek, E. Dahdah, C. Gennequin, S. Aouad, H.L. Tidahy, J. Estephane, B. Nsouli, A. Aboukaïs, E. Abi-Aad, Ni based catalysts promoted with cerium used in the steam reforming of toluene for hydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 12829–12840.
- [86] M.K. Montañez, R. Molina, S. Moreno, Nickel catalysts obtained from hydrotalcites by coprecipitation and urea hydrolysis for hydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy*. 39 (2014) 8225–8237.
- [87] M. Manikandan, A.K. Venugopal, K. Prabu, R.K. Jha, R. Thirumalaiswamy, Role of surface synergistic effect on the performance of Ni-based hydrotalcite catalyst for highly efficient hydrogenation of furfural, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 417 (2016) 153–162.

CHAPITRE III

REFORMAGE A SEC DU METHANE



Sommaire

CHAPITRE III	112
REFORMAGE A SEC DU METHANE	112
A. Test catalytique.....	114
1. Description du montage.....	115
1.1. Introduction et régulation des gaz	115
1.2. Réacteur catalytique	115
1.3. Détection et quantification des espèces gazeuses réactives et produites.....	116
2. Conditions opératoires.....	116
3. Formules de calcul.....	117
B. Evaluation de la performance des solides $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2800$ dans le reformage à sec du méthane	118
1. Influence de la présence du catalyseur et de son prétraitement.....	118
2. Influence de la composition du mélange gazeux.....	121
3. Influence de la composition chimique du catalyseur.....	123
C. Caractérisation des solides $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane.....	130
1. Analyse de la structure par Diffraction des Rayons X (DRX)	130
2. Etude du dépôt de carbone par Analyses Thermiques (ATD/ATG)	131
3. Analyses par Oxydation en Température Programmée (OTP).....	134
D. Comparaison entre $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et un catalyseur industriel	136
E. Test de stabilité.....	139
1. Test de stabilité sur $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$	140
2. Test de stabilité sur $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$	143
F. Reformage à sec du méthane en présence d'impureté.....	145
1. Test catalytique.....	146
2. Influence de la mise en forme du catalyseur	147
3. Influence de l'ajout du toluène	148
4. Conclusion.....	157
Références bibliographiques.....	159

Le but de ce travail est d'étudier le reformage du biogaz, dont la composition chimique a été détaillée dans le chapitre I. Ce reformage sera effectué en faisant réagir le méthane et le dioxyde de carbone en présence d'impuretés que contient le biogaz. Cependant, il sera nécessaire, dans une première partie, d'étudier une réaction modèle de reformage à sec en présence des gaz purs afin de mesurer l'activité des catalyseurs. Le banc catalytique utilisé est décrit, puis, les résultats des tests catalytiques sont présentés et analysés afin d'évaluer la performance des catalyseurs vis-à-vis de la réaction de reformage. Les modifications des catalyseurs engendrées par la réaction de reformage sont analysées par différentes techniques physico-chimiques. Ensuite, une comparaison du meilleur catalyseur de la série préparée avec un catalyseur industriel est également réalisée. De plus, des tests de vieillissement sont effectués pour examiner la stabilité du système catalytique au fil du temps. Enfin, l'effet des composés secondaires détectés dans le biogaz sur la réaction modèle sera évalué, en utilisant le toluène comme molécule test.

A. Test catalytique

Afin d'évaluer les performances des solides préparés, des tests de reformage à sec du méthane ont été effectués, dans le banc catalytique présenté dans la figure 3.1. Ce dispositif expérimental, développé au laboratoire, est composé de trois parties principales :

- 1) Un système d'introduction et de régulation des réactifs
- 2) Le réacteur catalytique
- 3) Un système analytique de détection et de quantification des espèces gazeuses (réactifs restants et produits formés).



Figure 3. 1: Montage du test catalytique en reformage à sec du méthane utilisé

1. Description du montage

1.1. Introduction et régulation des gaz

Les flux des gaz introduits (CH_4 , CO_2 , H_2 , Ar, impuretés) sont limités grossièrement par des manomètres fixés sur les bouteilles de gaz sous pression, puis régulés précisément à l'aide de débitmètres massiques.

1.2. Réacteur catalytique

Le système d'introduction des gaz et le réacteur sont reliés par une vanne à quatre voies. Elle permet, soit d'injecter les gaz dans le réacteur, soit de court-circuiter le réacteur (by-pass) et d'envoyer les gaz directement vers les analyseurs, afin d'identifier et de quantifier les gaz injectés avant la réaction (blanc). Le test catalytique se déroule dans un micro réacteur en quartz à lit fixe sous forme de U. Il est placé dans un four vertical muni d'un système de régulation de température. En effet, un thermocouple placé contre le réacteur, plus précisément au niveau du lit catalytique, mesure la température de ce dernier. De plus, l'orifice du four est bouché par une plaque, afin de limiter la dissipation de la chaleur et assurer un meilleur contrôle de température.

1.3. Détection et quantification des espèces gazeuses réactives et produites

Une micro-chromatographie en phase gazeuse de marque Varian CP micro-4900 assure l'analyse des réactifs (CH_4 , CO_2 , impuretés) et des produits (H_2 , CO) sortant du réacteur. Les espèces gazeuses, réactifs et produits, sont analysées avec un détecteur à conductivité thermique (TCD) après séparation sur un tamis moléculaire (H_2 , CO et CH_4), et une colonne Poraplot Q (CO_2). Le gaz vecteur utilisé est l'argon de grande pureté ($P = 99,9999\%$) caractérisé par une conductivité thermique de $5,2 \text{ cal/cm.s degré} \times 10^5$ (à 100°C) ce qui améliore la sensibilité de la détection par TCD.

La figure 3.2 présente le montage détaillé du test catalytique en reformage à sec du méthane.

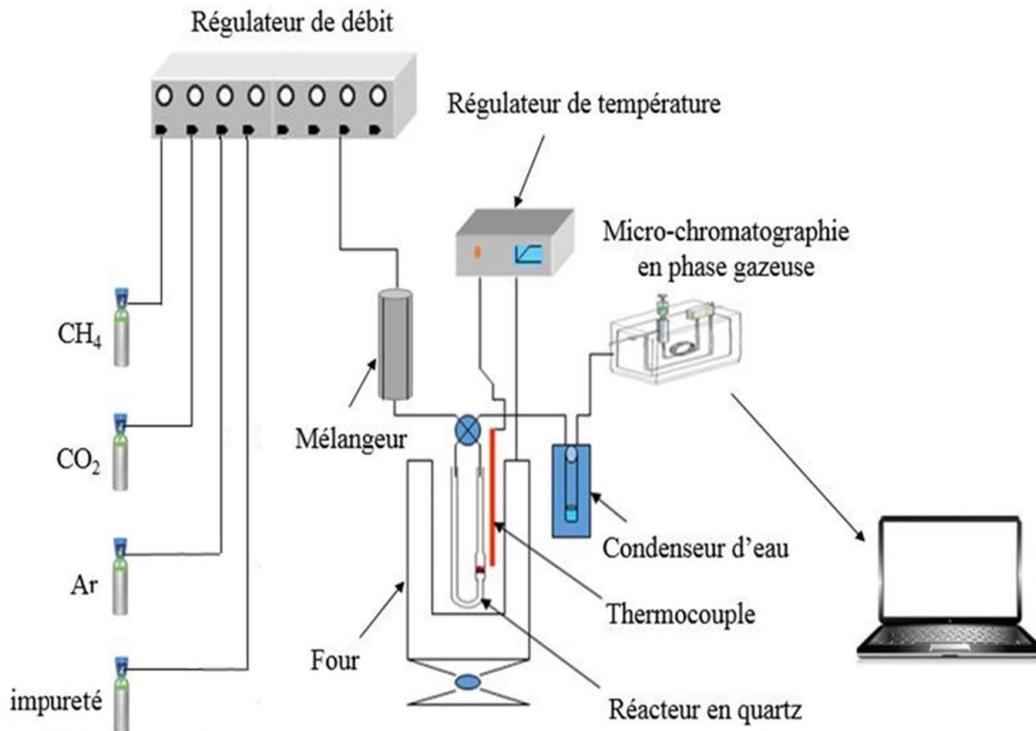


Figure 3. 2: Montage du test catalytique en reformage à sec du méthane

2. Conditions opératoires

Au cours de chaque test, une masse de 100 mg du catalyseur est introduite dans le réacteur en quartz à lit fixe en forme de U. Ce dernier est alimenté par un mélange gazeux de $\text{CH}_4/\text{CO}_2/\text{Ar}$ respectivement dans les proportions suivantes 20%/20%/60% sous pression

atmosphérique et un rapport molaire CH_4/CO_2 égal à 1. Le débit total est de $100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et la Vitesse Volumique Horaire (VVH) est de $\sim 32000 \text{ h}^{-1}$. Avant tout test de reformage catalytique, chaque catalyseur doit subir une étape d'activation qui consiste à le traiter par un mélange réducteur 5% H_2/Ar après une montée rapide en température de l'ambiante jusqu'à $800 \text{ }^\circ\text{C}$. Cette dernière température est maintenue pendant 2 heures afin d'activer le catalyseur. Ce prétraitement est discuté dans la partie III.B.1. Le réacteur est ensuite refroidi jusqu'à $400 \text{ }^\circ\text{C}$ sous un flux d'argon, pour démarrer le test dans une gamme de température allant de $400 \text{ }^\circ\text{C}$ à $800 \text{ }^\circ\text{C}$ suivant un programme conçu au laboratoire. Ainsi des analyses par micro-chromatographie en phase gazeuse des effluents de réaction se font toutes les cinq minutes, pour permettre de calculer les conversions des réactifs, les sélectivités, les rendements en produits et le bilan carbone.

3. Formules de calcul

Les conversions de CH_4 (X_{CH_4}) et de CO_2 (X_{CO_2}), les sélectivités en H_2 (S_{H_2}) et en CO (S_{CO}), le rapport H_2/CO , les rendements de H_2 (H_2) et de CO (CO) ainsi que le bilan carbone (BC) sont calculés comme par les formules ci-dessous [1–4]:

Conversion de méthane (X_{CH_4}) :

$$X_{\text{CH}_4} = \frac{(\text{CH}_4, \text{ent} - \text{CH}_4, \text{sort})}{\text{CH}_4, \text{ent}} \times 100 \quad (\text{Equation 3.1})$$

Les abréviations ent et sort concernent respectivement les concentrations de l'espèce gazeuse entrante et sortante du réacteur.

Conversion du dioxyde de carbone (X_{CO_2}) :

$$X_{\text{CO}_2} = \frac{(\text{CO}_2, \text{ent} - \text{CO}_2, \text{sort})}{\text{CO}_2, \text{ent}} \times 100 \quad (\text{Equation 3.2})$$

Sélectivité en hydrogène (S_{H_2}) :

$$S_{\text{H}_2} = \frac{\text{H}_2, \text{sort}}{2 \times (\text{CH}_4, \text{ent} - \text{CH}_4, \text{sort})} \times 100 \quad (\text{Equation 3.3})$$

Sélectivité en monoxyde de carbone (S_{CO}) :

$$S_{CO} = \frac{CO, \text{sort}}{(CH_4, \text{ent} + CO_2, \text{ent}) - (CH_4, \text{sort} + CO_2, \text{sort})} \times 100 \quad (\text{Equation 3.4})$$

Rapport H₂/CO :

$$\text{Ratio H}_2/\text{CO} = \frac{S_{H_2}}{S_{CO}} \quad (\text{Equation 3.5})$$

Rendement en hydrogène (%) :

$$H_2 = \frac{H_2, \text{sort}}{2 \times (CH_4, \text{ent})} \times 100 \quad (\text{Equation 3.6})$$

Rendement en monoxyde de carbone (%) :

$$CO = \frac{CO, \text{sort}}{(CH_4, \text{ent} + CO_2, \text{ent})} \times 100 \quad (\text{Equation 3.7})$$

Bilan carbone (%) :

$$BC = \frac{(CO_2, \text{sort} + CH_4, \text{sort} + CO, \text{sort})}{(CO_2, \text{ent} + CH_4, \text{ent})} \times 100 \quad (\text{Equation 3.8})$$

B. Evaluation de la performance des solides Co_xNi_yMg_zAl₂800 dans le reformage à sec du méthane

1. Influence de la présence du catalyseur et de son prétraitement

Sous les mêmes conditions utilisées en présence des solides Co_xNi_yMg_zAl₂800, des tests préliminaires en absence de catalyseur ont été effectués (figures 3.3 et 3.4) et ont montré que la réaction de reformage à sec du méthane se produit très faiblement dans la gamme de température étudiée (400-800 °C). Ceci est traduit par une conversion de méthane et de dioxyde de carbone ne dépassant pas 4 % et 0,6 % respectivement. En fait, le reformage peut être réalisé en absence de catalyseur (Cf. partie II.A.1.1.3). Cependant, la présence d'un catalyseur est nécessaire pour accélérer le processus tout en diminuant les températures et les temps de la réaction, et pour diriger cette dernière vers la voie réactionnelle voulue, vu le panel de réactions secondaires possibles, ce qui induit une augmentation de la sélectivité en gaz de synthèse.

En outre, en vue d'étudier l'effet du prétraitement par l'hydrogène sur l'activité catalytique de nos systèmes, une série de tests a été réalisée sur le catalyseur Co₂Mg₄Al₂800. Le

catalyseur non réduit, et réduit à différentes températures de prétraitements choisies d'après les résultats de la RTP discutés dans la partie II.C.6, a été étudié. Les résultats des conversions de méthane et du dioxyde de carbone en fonction de la température sont présentés respectivement dans les figures 3.3 et 3.4. Il est à noter que des résultats similaires sont obtenus pour les autres catalyseurs.

En absence d'une réduction préalable du catalyseur utilisé, les conversions obtenues sont presque nulles. Ce même résultat est obtenu pour le catalyseur traité à 300 °C sous hydrogène avant test, où aucune espèce n'est réduite comme il est déjà démontré par RTP (Cf. partie II.C.6). Par contre, suite au prétraitement du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2\text{O}_8$ par l'hydrogène à 550 °C, nous remarquons une augmentation significative des conversions à partir de 700 °C. Ceci est dû à la réduction des espèces en faible interaction avec la matrice (Co_3O_4 , CoO , NiO), en espèces métalliques, qui a lieu entre 350 et 500 °C [5–7]. En outre, les conversions obtenues sur le même catalyseur réduit avant test à 800 °C sont beaucoup plus élevées à partir de 500 °C. En effet, les spinelles et les oxydes mixtes (CoAl_2O_4 , NiCo_2O_4 , NiAl_2O_4) qui sont en forte interaction avec Mg et Al dans la matrice [8] [9] [10] nécessitent des températures de l'ordre de 500-900 °C pour être réduits (Cf. partie II.C.6). Ainsi, nous constatons que les espèces métalliques (Co et Ni) formées après réduction des oxydes sous flux d'hydrogène, sont responsables de l'activité catalytique durant la réaction de reformage à sec du méthane.

D'après cette comparaison, il s'est avéré que le prétraitement des solides par l'hydrogène à 800 °C est indispensable pour activer les systèmes catalytiques dans les conditions de la réaction de reformage à sec du méthane. Les espèces actives dans nos solides sont le cobalt et le nickel à l'état métallique, et leur absence induit une perte de conversion, vu la disparition des sites d'adsorption et d'activation des réactifs [11] [12]. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux de la littérature, qui montrent que le prétraitement des catalyseurs par l'hydrogène est une étape importante pour réduire les phases oxydes en phases métalliques qui sont responsables de l'activité catalytique durant le reformage à sec du méthane. Dębek et al. [13] ont montré qu'une réduction sous H_2 des catalyseurs Ni-Al préparés par voie hydrotalcite améliore leurs performances dans la réaction de reformage à sec du méthane. De même, Perez-Lopez et al. [14] ont prouvé que le rendement de la réaction de reformage augmente avec les températures de réduction des catalyseurs Ni-Mg-Al préparés par voie hydrotalcite. De plus, Gennequin et al. [11] ont montré qu'en absence de prétraitement réducteur, aucune activité significative n'est

observée dans le reformage à sec du méthane. Ils ont attribué ce résultat à l'absence de phase métallique nécessaire à l'adsorption et à l'activation des réactifs. En revanche, un prétraitement sous hydrogène 800 °C a fortement augmenté l'activité des catalyseurs.

En vue de ces résultats, tous les catalyseurs utilisés dans cette étude sont réduits à 800 °C sous hydrogène pendant 2 heures, avant d'effectuer le test catalytique de reformage à sec du méthane.

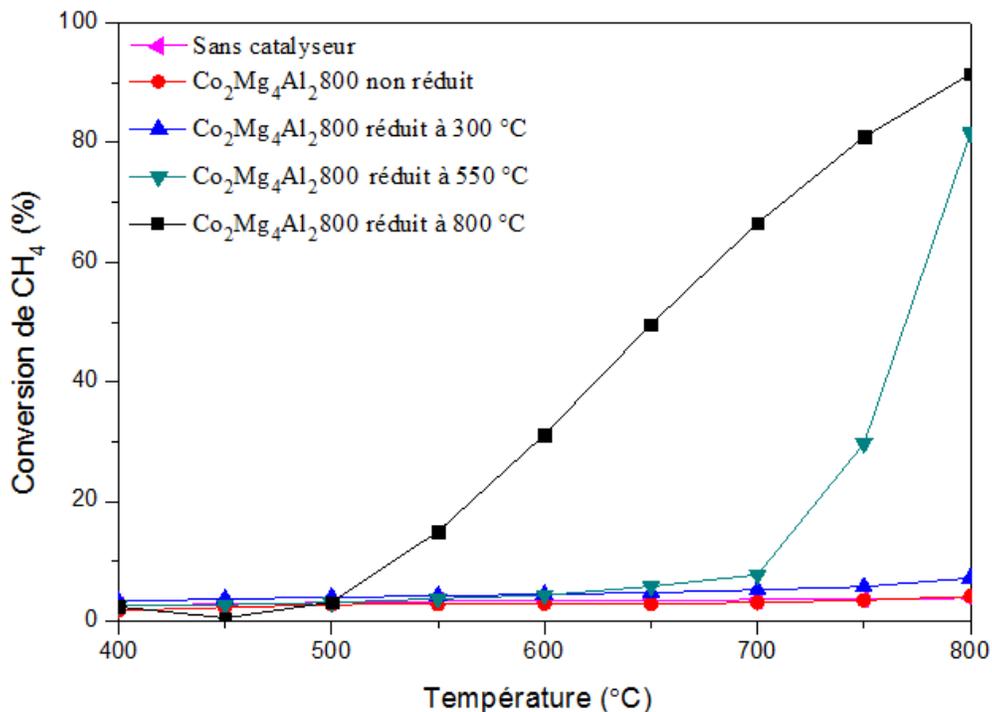


Figure 3. 3: Evolution de la conversion du CH₄ en fonction de la température de la réaction en absence de catalyseur, et en présence du catalyseur Co₂Mg₄Al₂800 sans et avec réduction à différentes températures

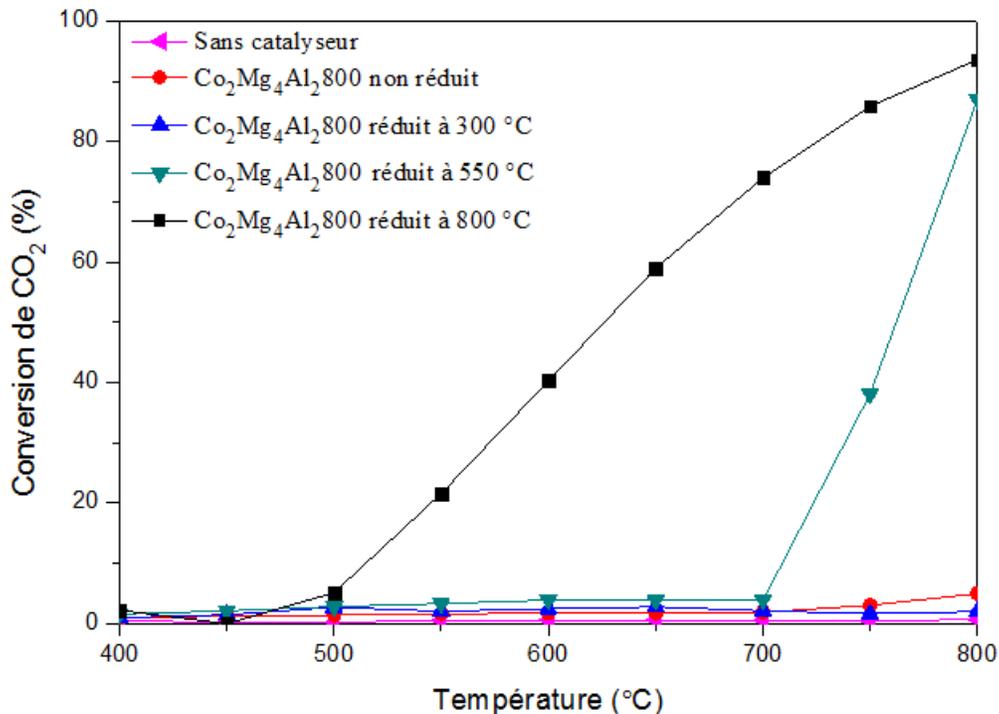


Figure 3. 4: Evolution de la conversion du CO₂ en fonction de la température de la réaction en absence de catalyseur, et en présence du catalyseur Co₂Mg₄Al₂800 sans et avec réduction à différentes températures

2. Influence de la composition du mélange gazeux

L'analyse du biogaz réel présenté dans le chapitre I, montre des variations dans le rapport CH₄/CO₂. Afin d'étudier l'influence de la composition du mélange gazeux sur la performance catalytique de nos solides, deux différents rapports molaires CH₄/CO₂ (1 et 1,5) ont été utilisés avec les oxydes Co₂Mg₄Al₂800 et Co₂Ni₂Mg₂Al₂800.

Les conversions du CH₄ et du CO₂ ainsi que le bilan carbone obtenus sont reportés dans le tableau 3.1.

Tableau 3. 1: Comparaison de l'activité catalytique en reformage à sec du méthane en présence des catalyseurs $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ pour différents rapports molaires CH_4/CO_2

	Température (°C)	$\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$		$\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$	
		Rapport = 1	Rapport = 1,5	Rapport = 1	Rapport = 1,5
Conversion CH_4 (%)	700	91	71	91	66
	750	96	81	96	80
	800	98	81	98	81
Conversion CO_2 (%)	700	85	90	82	88
	750	92	98	91	99
	800	97	100	96	100
Bilan carbone	700	90	75	74	77
	750	86	71	76	73
	800	84	75	77	74

Quand les deux réactifs sont en quantités stœchiométriques ($\text{CH}_4/\text{CO}_2 = 1$), leurs conversions doivent être égales. Or, celle du CH_4 est légèrement supérieure à celle du CO_2 , suggérant le déroulement de réactions secondaires consommant le méthane, telles que la décomposition du méthane (Réaction 2.d), en plus de la réaction prédominante qui est le reformage à sec du méthane.

Pour un rapport $\text{CH}_4/\text{CO}_2 = 1,5$, le CO_2 est le réactif limitant, il va donc réagir presque complètement conduisant à des conversions proches de 100 %. Dans ce cas, la conversion maximale du méthane, réactif en excès, doit être proche de 67 %, si nous supposons que seule la réaction de reformage a lieu. Des conversions de CH_4 supérieures à cette valeur, suggèrent la consommation du CH_4 par la réaction secondaire de décomposition du méthane (Réaction 2.d).

Fakeeha et al. [15], Hassani Rad et al. [17] ainsi que Wisniewski et al. [16] ont modifié le rapport CH_4/CO_2 dans l'alimentation de la réaction de reformage à sec et ont obtenu des résultats similaires aux nôtres.

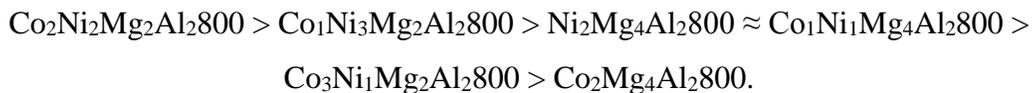
En parallèle, il faut noter que la réaction de décomposition du méthane (2.d) a un plus faible effet avec le rapport $\text{CH}_4/\text{CO}_2 = 1$ qui se traduit par un bilan carbone, en général, plus élevé que celui obtenu avec le rapport $\text{CH}_4/\text{CO}_2 = 1,5$, où le méthane est en excès par rapport au dioxyde de carbone.

Un rapport CH_4/CO_2 égal à l'unité favorise la conversion du méthane et du dioxyde de carbone et la production du gaz de synthèse en limitant le dépôt de carbone, produit par les réactions secondaires. En effet, les études du reformage à sec du méthane sont généralement effectuées avec un rapport CH_4/CO_2 proche de 1 pour s'assurer que les réactions secondaires qui peuvent se produire parallèlement à la réaction de reformage pourraient être minimisées afin de produire un gaz de synthèse avec le rapport H_2/CO souhaitable [18]. Ainsi, un rapport $\text{CH}_4/\text{CO}_2 = 1$ est choisi pour la suite de notre étude, afin de mesurer l'activité de nos catalyseurs.

3. Influence de la composition chimique du catalyseur

Les taux de conversion du méthane et du dioxyde de carbone en fonction de la température de réaction, durant le processus du reformage à sec du méthane en présence des catalyseurs $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2800$, sont présentés dans les figures 3.5 et 3.6.

Vu son caractère endothermique, la réaction de reformage à sec du méthane est thermodynamiquement et cinétiquement favorable à températures élevées [2] [19]. Par conséquent, les conversions augmentent avec la température et les réactifs (CH_4 et CO_2) sont convertis d'une façon efficace. En plus, il paraît, en se basant sur la conversion du CH_4 , que l'activité catalytique varie, à 600-650 °C, selon l'ordre suivant :



Les catalyseurs dépourvus de nickel et ceux contenant des teneurs élevées de Co par rapport au Ni, $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$, montrent l'activité catalytique la plus faible. Ceci pourrait être dû d'une part à leur surface spécifique inférieure à celle des autres (Cf. partie II.C.3) et d'autre part à la plus faible réactivité du Co par rapport au Ni vis-à-vis du reformage à sec.

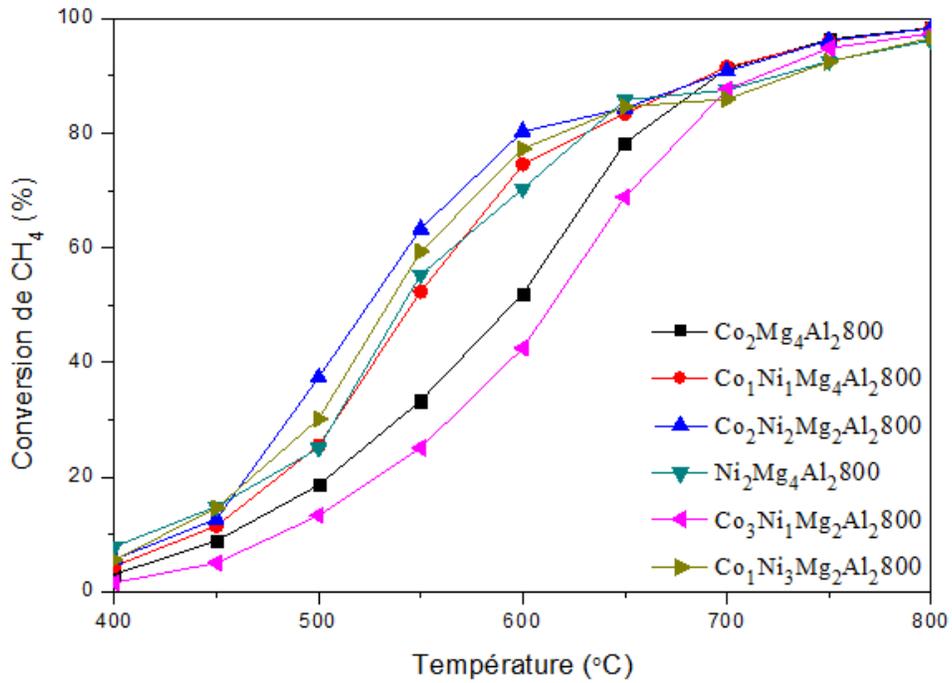


Figure 3. 5 : Evolution de la conversion du CH₄ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co_xNi_yMg_zAl₂800

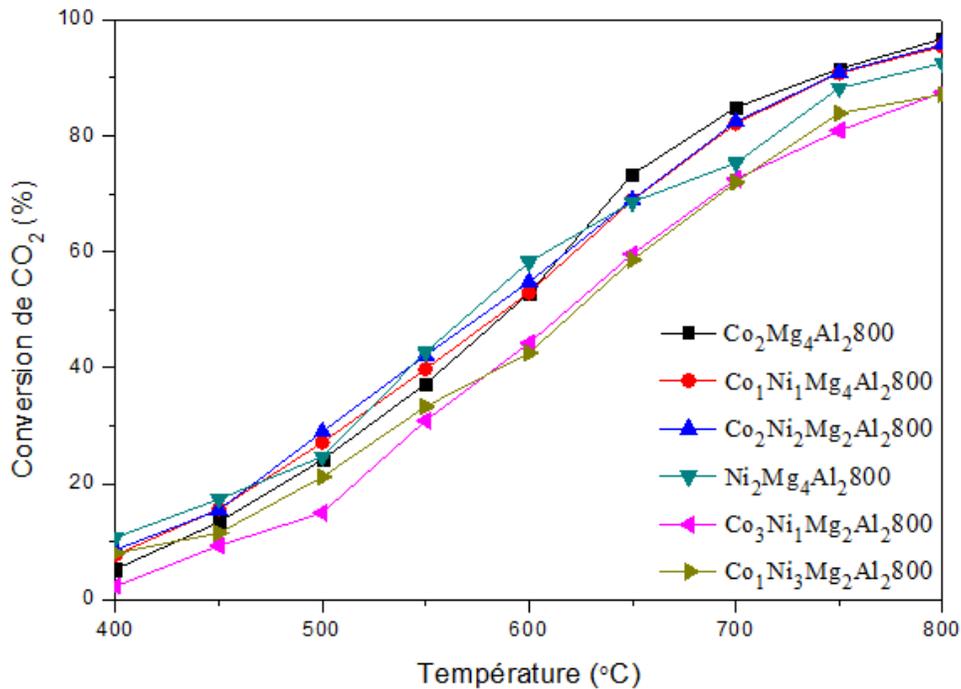


Figure 3. 6 : Evolution de la conversion du CO₂ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co_xNi_yMg_zAl₂800

Pour des températures de 700-800 °C, la différence entre les taux de conversion du méthane sur les différents catalyseurs devient négligeable. Il est à rappeler que dans cet intervalle de température, la réaction de reformage à sec du méthane est plus favorisée [20].

En se basant sur la conversion du CO₂, l'activité catalytique est presque la même pour les catalyseurs étudiés, à l'exception du Co₁Ni₃Mg₂Al₂800 et Co₃Ni₁Mg₂Al₂800, qui tendent à être légèrement moins actifs par rapport au reste des catalyseurs.

L'activité des systèmes catalytiques à base de Ni et Co est liée à leur réduction, étape qui a précédé le test. La RTP a montré que la réduction des espèces de Ni et/ou Co, parmi lesquels les composés spinelles, a lieu à des températures inférieures à 800 °C. Outre la réduction préalable au test, la température du test catalytique atteint 800 °C, et par suite, de nouveaux sites actifs peuvent être formés suite à la production de H₂ et CO, par la réaction de reformage à sec du méthane, ces gaz ayant tous les deux un caractère réducteur [21].

Plusieurs auteurs ont trouvé que les catalyseurs à base d'oxydes de Ni-Co sont plus actifs que ceux à base de Ni ou Co seul. Luisetto et al. [20] ont montré que les systèmes catalytiques à base de Ni-Co entraînent des valeurs de conversion du CH₄ proches de l'équilibre thermodynamique de la réaction de reformage à sec du méthane, alors qu'avec les systèmes monométalliques les conversions étaient inférieures à l'équilibre thermodynamique. La meilleure activité des catalyseurs contenant le Co et le Ni peut être liée à l'interaction entre Ni et Co favorisant la réaction de reformage à sec du méthane comme noté par Al-Fatesh [7]. Sharifi et al. [22] ont constaté que les catalyseurs Co-Ni possèdent une meilleure activité dans le reformage à sec du méthane que les catalyseurs Cu-Ni. Zhang et al. [23] ont également comparé la combinaison de Co, Fe, Cu et Mn avec Ni et ont constaté que le catalyseur bimétallique Ni-Co présentait la plus grande performance catalytique dans cette réaction. Phongaksorn et al. [24] ont expliqué la meilleure réactivité des systèmes Ni-Co par rapport à Ni ou Co seul par la grande dispersion, la forte interaction métal-support (SMSI) ainsi que la formation d'alliages de Ni-Co. L'alliage Ni-Co s'est avéré être plus réductible que les espèces Ni ou Co [25] [26], et conduire à des particules de Ni de plus petite taille entraînant une meilleure dispersion et une interaction Ni-Co encore plus forte [27].

Dans notre cas, il paraît que le meilleur catalyseur pour la conversion du CH₄ et du CO₂ est Co₂Ni₂Mg₂Al₂800.

En outre, vu l'utilisation de quantités stœchiométriques de CH₄ et de CO₂, les conversions de ces deux réactifs doivent être égales (selon la réaction 2.a), et le rapport H₂/CO doit être égal à l'unité quelle que soit la température. Cependant, pour des températures de 600 °C-750 °C, les résultats montrent des déviations par rapport aux prédictions théoriques. En effet, la conversion du CH₄ est généralement supérieure à celle du CO₂. A 800 °C, les conversions de CH₄ et de CO₂ sont similaires, avec une tendance pour Co₁Ni₃Mg₂Al₂800 et Co₃Ni₁Mg₂Al₂800 à conduire vers une conversion de CO₂ légèrement plus faible que celle du CH₄. La différence observée entre les résultats expérimentaux et les prédictions thermodynamiques est due au déroulement de réactions secondaires qui entrent en compétition avec la réaction principale de reformage à sec du méthane. Ces réactions indésirables affectent largement la performance de la réaction et contribuent à la consommation de réactifs et de produits. Ces réactions sont les réactions (2.b), (2.c), (2.d), (2.e) et (2.f) (Cf. partie II.A.1.1). Elles conduisent à une consommation plus ou moins importante de CH₄, CO₂, CO et H₂.

Par ailleurs, la figure 3.7 révèle que le rapport H₂/CO n'est pas toujours égal à 1 et les figures 3.8 et 3.9 indiquent que les rendements en H₂ et CO ne sont pas égaux. De tels résultats confirment le déroulement de réactions secondaires, notamment celle de la décomposition du méthane (Réaction (2.d)). La figure 3.10 montre le bilan carbone sur les différents catalyseurs étudiés en fonction de la température.

A l'exception de Co₂Mg₄Al₂800 et Co₃Ni₁Mg₂Al₂800, pour une température de 600-800 °C, le bilan carbone augmente tout en restant inférieur à 100 %. Une valeur de bilan carbone inférieure à 100 % indique qu'un certain nombre d'atomes de carbone présents dans le flux entrant ne sont pas retrouvés dans le flux sortant du réacteur, ces atomes demeurent sur les catalyseurs. En effet, le carbone solide peut se former suite aux réactions secondaires (2.d), (2.e) et (2.f). Par exemple, à 600-650 °C, un rapport H₂/CO > 1 associé à un bilan carbone non bouclé et un taux de conversion de CH₄ supérieur à celui du CO₂, suggère le déroulement de la réaction de décomposition du méthane (2.d). Cette réaction produit du H₂, donnant ainsi un rendement en H₂ supérieur à celui de CO comme le montrent les figures 3.8 et 3.9. De même, à 600-650 °C, un rapport H₂/CO > 1 associé à un bilan carbone non bouclé et un taux de conversion de CH₄ supérieur à celui du CO₂, suggère le déroulement de la réaction de Boudouard (2.e) et de la réaction inverse de la gazéification du carbone (2.f). En effet, la réaction de Boudouard

consomme le CO, induisant un rendement en CO inférieur à celui en H₂ alors que la réaction inverse de gazéification du carbone (2.f) consomme des quantités égales de CO et de H₂.

A 600-650 °C, pour Co₂Mg₄Al₂800 et Co₃Ni₁Mg₂Al₂800, le bilan carbone est inférieur à 100 %. Parallèlement, le rapport H₂/CO est inférieur à 1 avec un rendement de H₂ inférieur à celui du CO, et une conversion de CO₂ légèrement supérieure à celle du CH₄. Ce résultat suggère l'apparition de la réaction inverse du gaz à l'eau (2.b), où CO₂ et H₂ sont consommés.

A des températures > 700 °C, le rapport molaire H₂/CO est proche de 1 pour tous les catalyseurs, et la conversion du CO₂ est approximativement égale à celle du CH₄, alors que le rendement en H₂ est inférieur à celui du CO, suggérant la prédominance de la réaction de reformage à sec du méthane (2.a) avec la faible occurrence de la réaction inverse du gaz à l'eau (2.b).

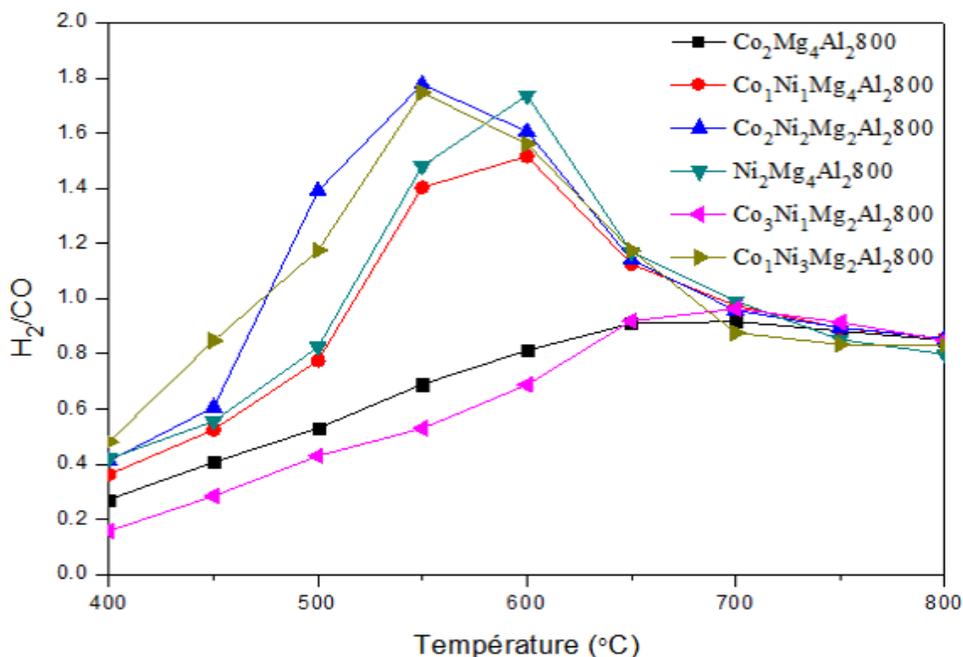


Figure 3. 7: Rapport molaire H₂/CO obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co_xNi_yMg_zAl₂800

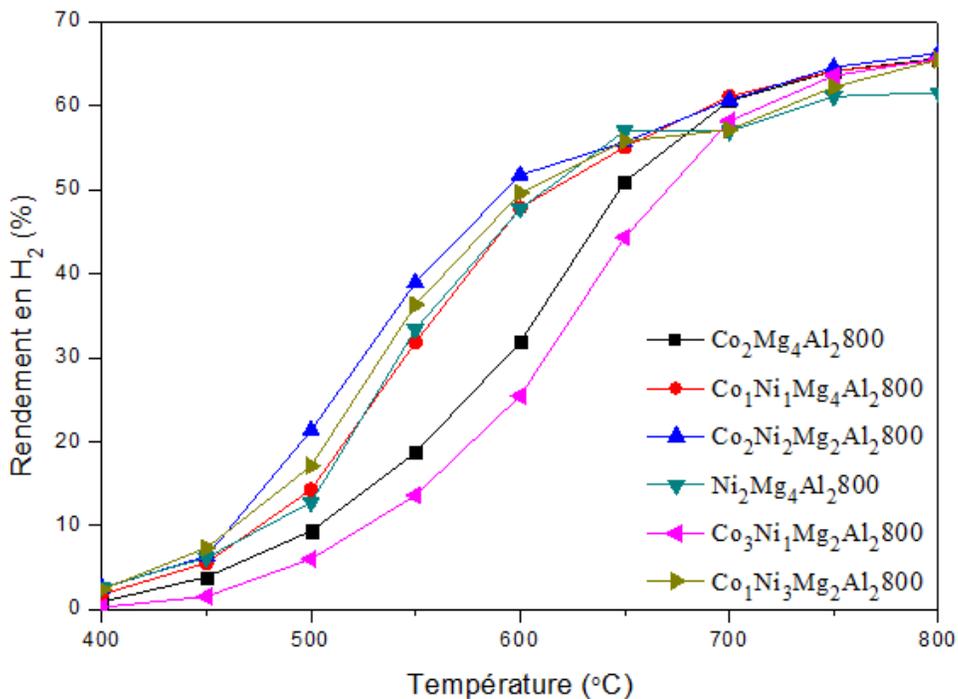


Figure 3. 8: Evolution du rendement en H₂ obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co_xNi_yMg_zAl₂800

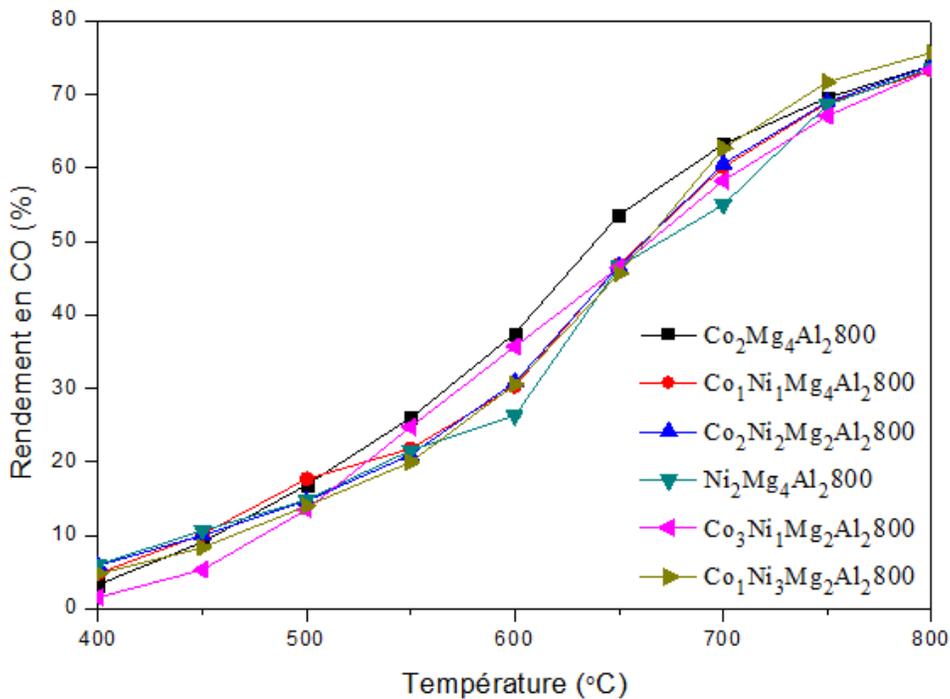


Figure 3. 9: Evolution du rendement en CO obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co_xNi_yMg_zAl₂800

Nous pouvons conclure que les réactions secondaires ont une plus faible probabilité d'avoir lieu sur $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ où le rapport molaire de Co par rapport à Ni est plus élevé que pour les autres solides. $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$, le plus actif dans notre série, semble être moins résistant au dépôt de carbone que $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$. Ceci peut revenir au fait qu'il montre une activité plus importante que les deux autres catalyseurs. En effet, il est bien connu que le Co diminue la quantité de carbone déposé [22] [25] [28] mais entraîne parallèlement une plus faible activité que le Ni. Cependant, certains auteurs ont étudié l'influence du rapport Ni/Co et ont démontré la nécessité d'opérer avec un rapport optimal afin d'améliorer les propriétés catalytiques. Ainsi, pour Takanabe et al. [25], le rapport molaire Co/Ni optimal est égal à 90/10, pour Long et al. [3], il est égal à 2/8 et pour Abdollahifar et al. [29], il correspond à 3 % en masse de Co et 10 % en masse de Ni supportés sur $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-MgO}$.

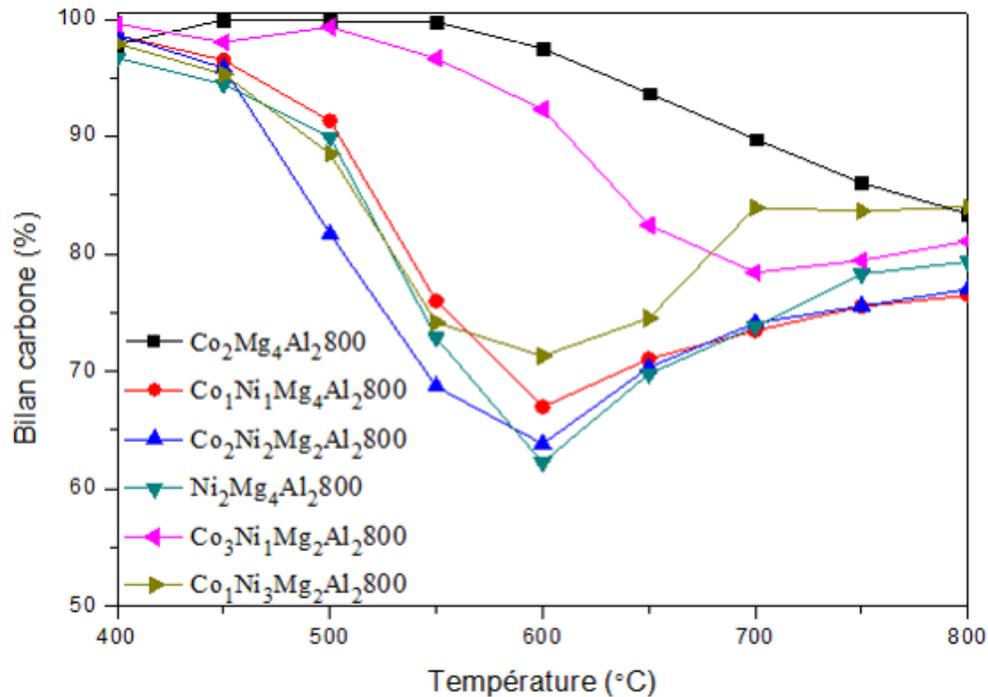


Figure 3. 10: Bilan carbone obtenu en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2800$

C. Caractérisation des solides $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane

1. Analyse de la structure par Diffraction des Rayons X (DRX)

La figure 3.11 montre les profils DRX des catalyseurs $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2800$ après test en reformage à sec du méthane. Le symbole et numéro JCPDS de chaque phase détectée sont détaillés dans le tableau 3.2.

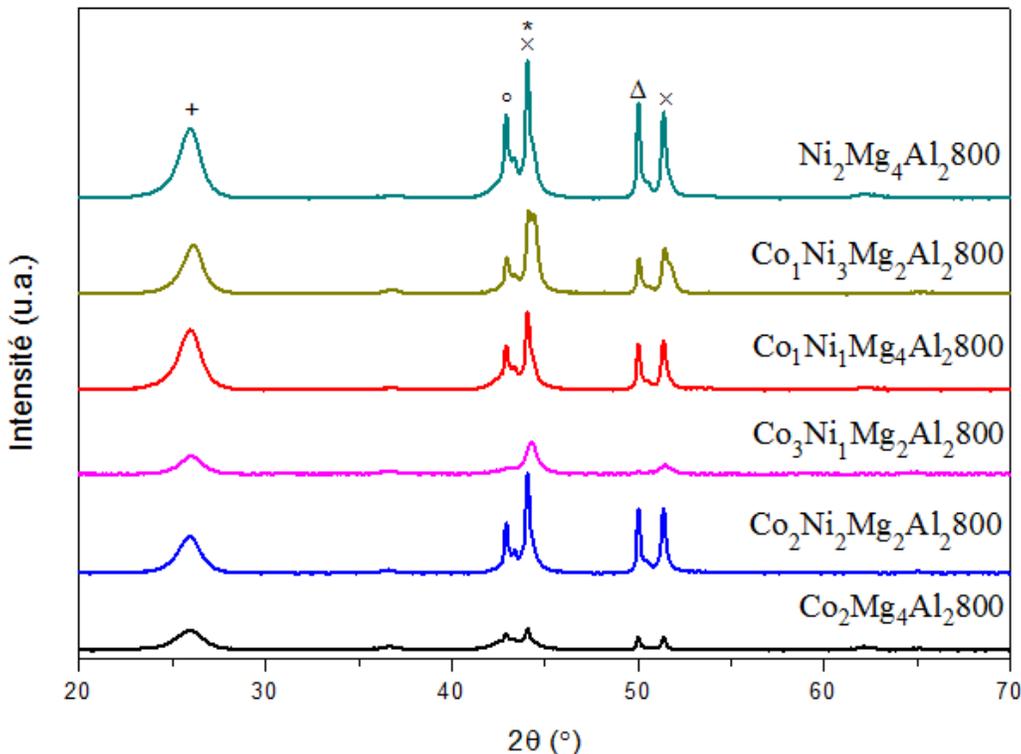


Figure 3. 11: Diffractogrammes de rayons X des solides après reformage à sec du méthane

Tableau 3. 2: Les phases détectées pour les solides après reformage à sec du méthane, leurs symboles et les numéros JCPDS

Symbole	Phase détectée	JCPDS N°
*	C cubique	800017
+	C hexagonal	751621
×	Co	150806
×	Ni	211152
o	MgO	450946
Δ	$\text{AlNi}_3\text{C}_{0,5}$	240712
Δ	$\text{AlCo}_3\text{C}_{0,5}$	441159

Plusieurs types de dépôt de carbone ont été identifiés en reformage catalytique du méthane, tels que les atomes de carbone adsorbés, le carbone amorphe et le graphite cristallin [11] [30]. Dans tous les diffractogrammes obtenus, la raie de diffraction du carbone est présente. Ceci indique qu'une fraction du carbone déposé sur les catalyseurs possède une nature cristalline de graphite [31]. Mais, l'intensité des pics attribués au carbone diffère d'un catalyseur à un autre, révélant la formation de quantités variables de carbone cristallisé suite au reformage à sec du méthane. $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ montrent une plus faible intensité des raies de diffraction de rayons X du carbone ($2\theta \approx 26^\circ$), indiquant une moindre quantité de dépôt de carbone sur ces catalyseurs [31]. Ces résultats sont en accord avec les courbes de la figure 3.10 qui montrent un bilan carbone globalement plus élevé pour ces deux catalyseurs ($\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$) et avec les résultats de l'analyse de désorption en température programmée (DTP- CO_2) (figure 2.13) qui présentent les pics les plus larges liés à la présence d'une concentration élevée de sites basiques. En effet, ces sites favorisent la gazéification des espèces carbonées à la surface du catalyseur et réduisent le dépôt de carbone [32]. Par contre, l'intensité élevée du pic du carbone à $2\theta \approx 26^\circ$ notée pour le $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ indique une quantité de dépôt de carbone cristallisé plus élevée comparée à celles des autres catalyseurs. En fait, cette observation est en accord avec le caractère acide plus marqué pour ce catalyseur, comme l'a révélé l'étude par DTP- CO_2 .

De plus, la présence des raies de diffraction de rayons X correspondant aux phases métalliques de Co et de Ni ($2\theta \approx 44^\circ$ et 52°), confirme que les catalyseurs initialement réduits ne sont pas complètement oxydés sous les conditions de la réaction de reformage à sec du méthane en raison de l'effet réducteur des espèces produites (H_2 et CO). Il faut également noter la présence d'une faible quantité d'oxydes comme MgO ($2\theta \approx 43^\circ$) dans tous les catalyseurs. La formation de solutions solides entre le carbone et nos métaux, tels que $\text{AlNi}_3\text{C}_{0,5}$ et $\text{AlCo}_3\text{C}_{0,5}$, n'est pas exclue.

2. Etude du dépôt de carbone par Analyses Thermiques (ATD/ATG)

L'analyse thermique différentielle (ATD) est effectuée sur les oxydes $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2800$ après test en reformage à sec du méthane afin de mettre en évidence le dépôt de carbone produit au cours de la réaction.

Ces courbes présentent un ou deux pics qui peuvent être déconvolués en quatre sous-pics à environ 380, 460, 500 et 570 °C, indiquant la présence de différentes espèces de carbone à la surface du catalyseur. Un exemple montrant les quatre sous-pics est présenté dans la figure 3.12 pour le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ après test.

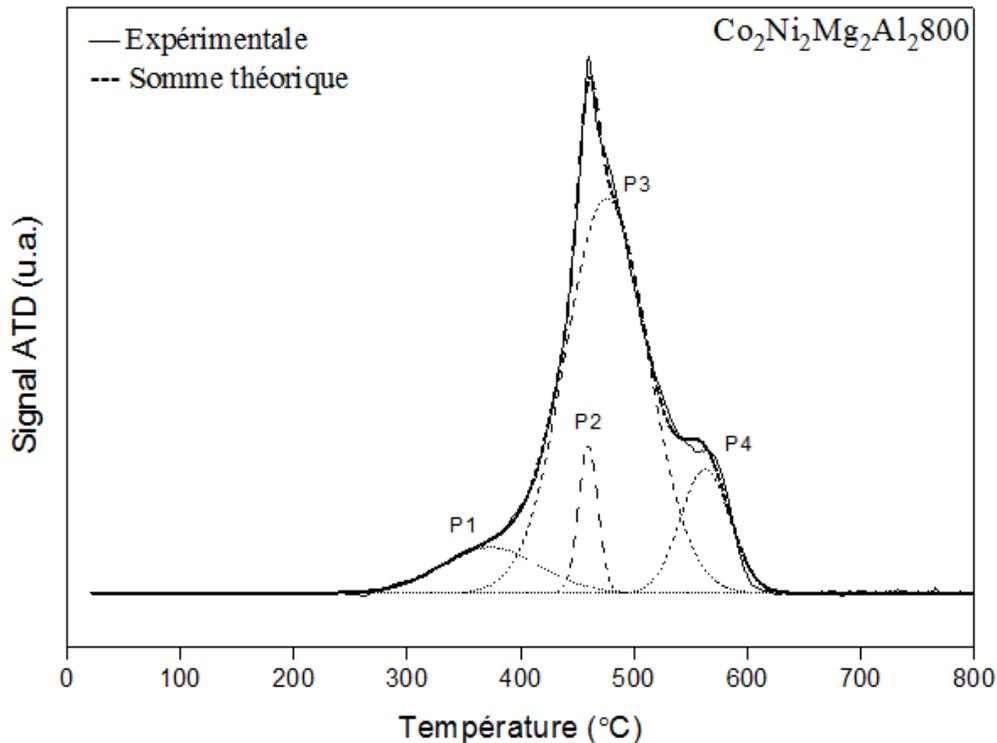


Figure 3. 12: Courbe de l'analyse thermique différentielle (ATD) et pics de déconvolution obtenus pour $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane

Le premier pic (P1) se trouvant aux alentours de 380 °C peut être attribué au carbone amorphe C_α qui s'oxyde facilement [33] [34]. Néanmoins, certains auteurs attribuent ce pic à l'oxydation des particules métalliques présentes à la surface du catalyseur [31]. Le second pic (P2) aux alentours de 460 °C est associé à l'oxydation du carbone déposé de type C_β à proximité des sites métalliques du catalyseur [31]. Les catalyseurs après tests montrent également un pic (P3) aux alentours de 500 °C qui correspond à C_γ difficile à gazéifier [35]. Le pic (P4) aux alentours de 570 °C n'est pas facilement identifiable. Il peut être attribué à l'oxydation du carbone relativement inerte, de grande stabilité dont l'oxydation se fait à plus haute température [36]. La figure 3.13 montre les courbes ATD obtenues pour tous les catalyseurs après test.

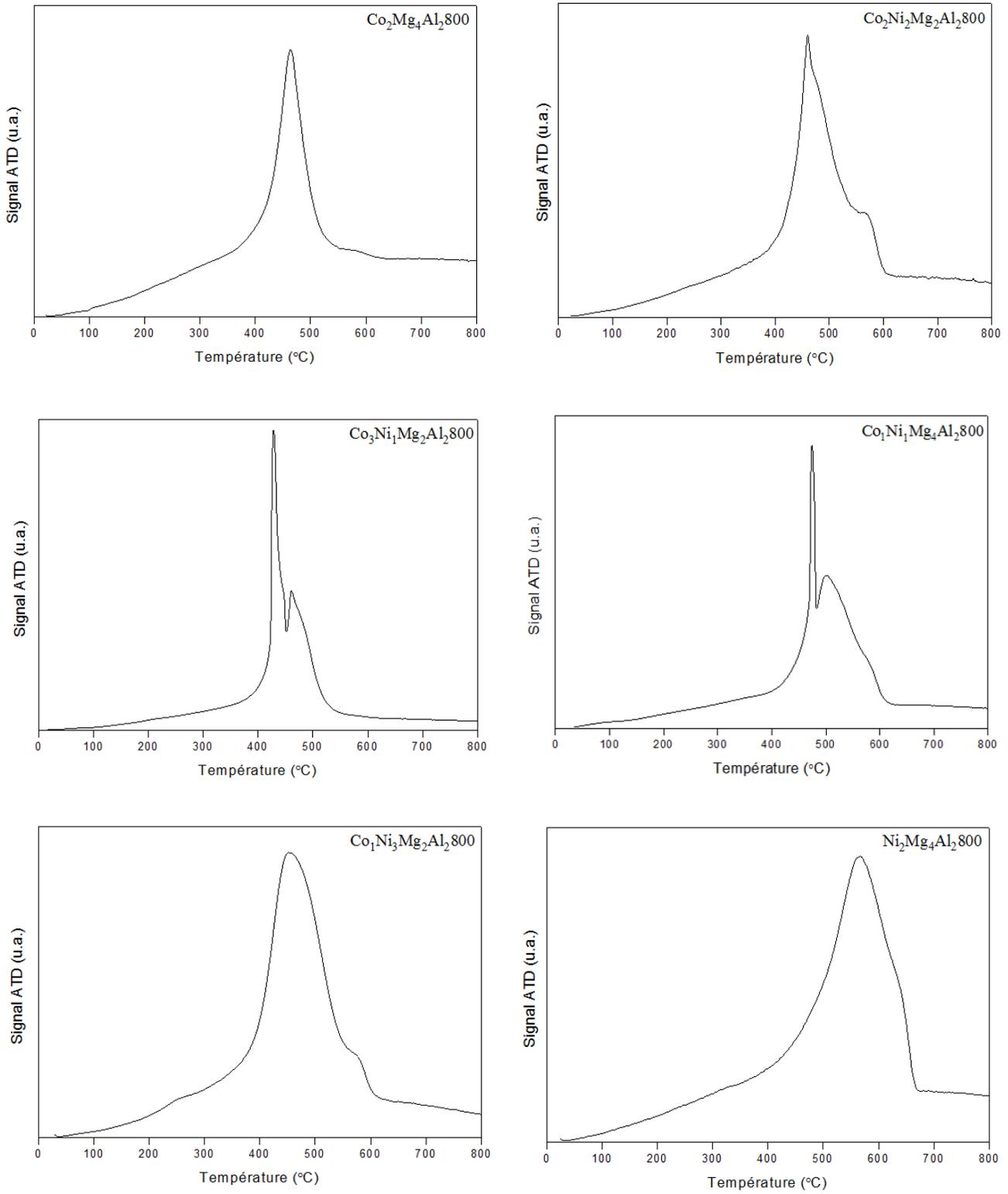


Figure 3. 13: Analyses thermiques différentielles (ATD) des solides après reformage à sec du méthane

Le phénomène exothermique déplacé vers des températures plus élevées pour $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2800$, comparé à ceux observés pour les autres catalyseurs, implique que le carbone déposé sur les catalyseurs ayant un rapport molaire de Co supérieur à 1, est plus facilement éliminé que celui formé sur $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ [20] [31]. Nous pouvons conclure que la présence du Co empêche la formation du carbone suite aux réactions rédox où le cobalt oxyde le carbone, et cette oxydation est en accord avec la plus faible intensité des pics de diffraction du carbone observés en DRX. En effet, Co facilite l'oxydation du carbone même si ce dernier forme un alliage avec le Ni [22]. Il est bien mentionné en littérature [7] [20] [22] [37] [38], que les catalyseurs contenant du Co sont fortement résistants au dépôt de carbone, un fait qui peut expliquer la quantité plus faible de carbone déposé obtenu dans notre cas.

Grzona et al. [39] ont proposé que le cobalt diminue la vitesse de formation du carbone par oxydation du carbone de surface en CO ou CO_2 , vu que le cobalt est un catalyseur efficace dans l'oxydation des suies. En plus, Zhang et al. [23] ont comparé la composition élémentaire dans la masse à la composition élémentaire en surface pour les catalyseurs monométalliques et bimétalliques à base de Ni-Co. La comparaison a indiqué que le rapport $\text{Ni}_{\text{surface}}/\text{Ni}_{\text{masse}}$ pour les catalyseurs monométalliques de Ni est similaire à celui des catalyseurs bimétalliques Ni-Co, alors que le rapport $\text{Co}_{\text{surface}}/\text{Co}_{\text{masse}}$ était inférieur pour le catalyseur monométallique de Co par rapport au catalyseur bimétallique Ni-Co. La coexistence de Ni-Co dans les catalyseurs bimétalliques entraîne un enrichissement apparent de la surface en Co et diminue par la suite la quantité de carbone déposé.

3. Analyses par Oxydation en Température Programmée (OTP)

Les analyses OTP sont effectuées sur les différents catalyseurs après reformage à sec du méthane, en suivant l'évolution de la consommation d'oxygène en fonction de la température. La figure 3.14 montre les courbes obtenues pour tous les catalyseurs.

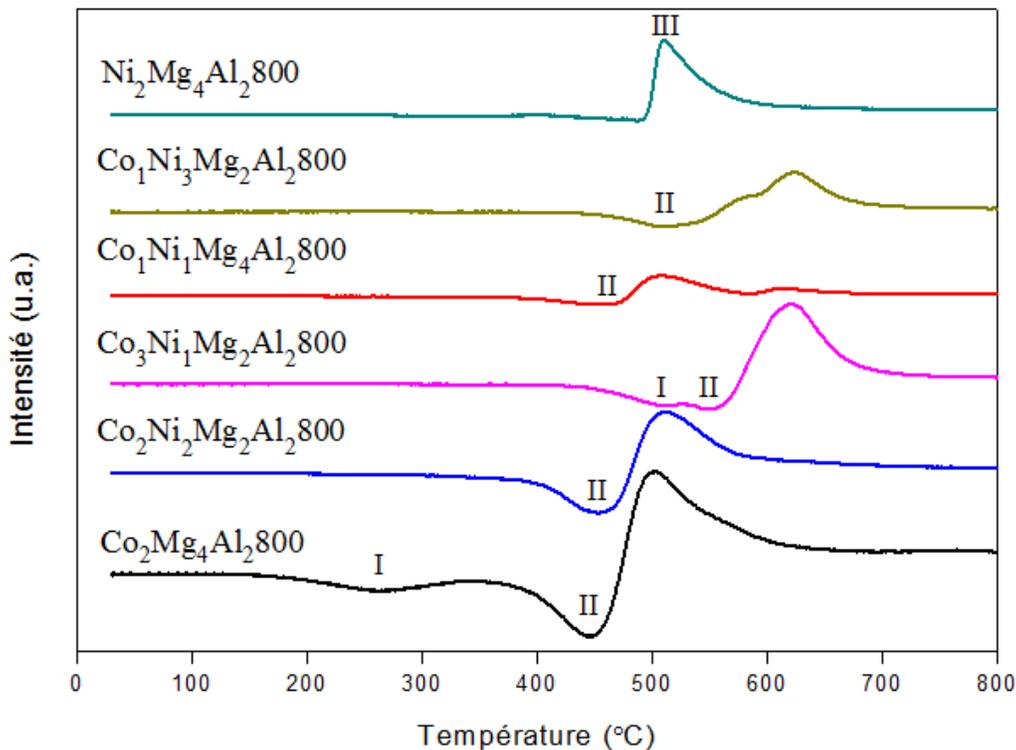


Figure 3. 14: Profils OTP des solides après reformage à sec du méthane

Les courbes OTP du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ présentent trois pics de consommation d'oxygène alors que celles du $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$, $\text{Co}_1\text{Ni}_1\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_1\text{Ni}_3\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ ne présentent que deux pics. Le $\text{Ni}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ ne montre qu'un seul pic.

Les pics vers le bas (I et II) correspondent à l'oxydation des particules métalliques de Co et de Ni réduits par l'hydrogène et/ou le monoxyde de carbone formé(s) durant le test selon les réactions suivantes :



L'existence de deux pics vers le bas dans certains cas ($\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$) est attribuée aux différentes formes de Co et de Ni présents dans les solides après le reformage. Les premiers pics sont liés au Co et au Ni isolés, cependant les seconds sont ceux du Co et du Ni métalliques sous forme de solutions solides $\text{AlCo}_3\text{Co}_{0,5}$ et $\text{AlNi}_3\text{Co}_{0,5}$. L'existence de ces différentes formes a été déjà révélée par DRX.

De plus, un pic vers le haut (III) dû à l'oxydation de carbone est observé pour tous les catalyseurs. En effet, cette oxydation dégage du dioxyde de carbone selon la réaction :



Le dégagement du CO_2 fait dévier la ligne de base du TCD vers le haut [40] [41].

Le tableau 3.3 regroupe les consommations d'oxygène expérimentales et théoriques des solides après le reformage à sec du méthane. La consommation théorique a été estimée en supposant que tous les sites Co et Ni sont réduits et que par suite ils consommeront de l'oxygène pour se réoxyder totalement.

Tableau 3. 3: Consommations d'oxygène expérimentales et théoriques des solides après reformage à sec du méthane

Echantillon	Consommation d'O ₂ (μmol.g ⁻¹)	
	Expérimentale	Théorique
Co₂Mg₄Al₂800	2803	2421
Co₂Ni₂Mg₂Al₂800	4434	4151
Co₃Ni₁Mg₂Al₂800	4690	4149
Co₁Ni₁Mg₄Al₂800	2865	2422
Co₁Ni₃Mg₂Al₂800	4514	4152
Ni₂Mg₄Al₂800	2606	2424

La consommation expérimentale d'oxygène pour tous les catalyseurs est supérieure à la consommation théorique nécessaire pour oxyder le Co et le Ni métalliques. Cette surconsommation d'oxygène indique que les espèces métalliques sont totalement oxydées, et que l'oxydation du carbone déposé sur la surface du catalyseur a lieu en plus de celle du Co et du Ni.

D. Comparaison entre Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 et un catalyseur industriel

A l'issue des tests de reformage réalisés avec les solides Co_xNi_yMg_zAl₂800, nous avons choisi le Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 qui a montré la meilleure activité catalytique pour le comparer à un catalyseur commercial largement utilisé dans l'industrie, le Ni (50%)/Al₂O₃ (Acros Organics).

La figure 3.15 montre l'évolution du taux de conversion du méthane pour le catalyseur Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 préparé au laboratoire et le catalyseur industriel Ni (50%)/Al₂O₃.

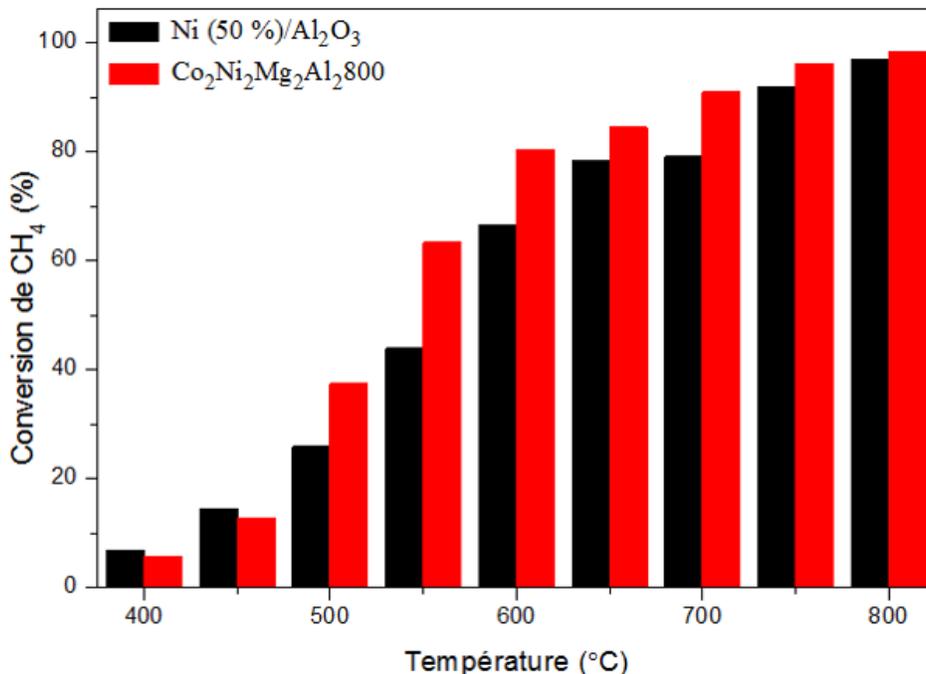


Figure 3. 15: Evolution du taux de conversion du méthane pour le catalyseur Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 et le catalyseur industriel Ni (50%)/Al₂O₃ en fonction de la température de la réaction

A partir de 600 °C, Ni (50%)/Al₂O₃ montre une plus faible conversion que Co₂Ni₂Mg₂Al₂800. Cette différence est nettement observée entre 600 et 700 °C, malgré le fait que l'oxyde mixte préparé au laboratoire contient uniquement 24,5% en masse de nickel alors que le catalyseur industriel est chargé de 50% en masse de nickel.

En fait, une teneur élevée en métal peut provoquer des agglomérats qui peuvent diminuer l'activité catalytique vu qu'une partie des sites actifs ne participe pas à la réaction [42–44]. La diffraction des rayons X effectuée sur ces deux catalyseurs après le reformage à sec est présentée dans la figure 3.16. Le symbole et numéro JCPDS de chaque phase détectée sont détaillés dans le tableau 3.4.

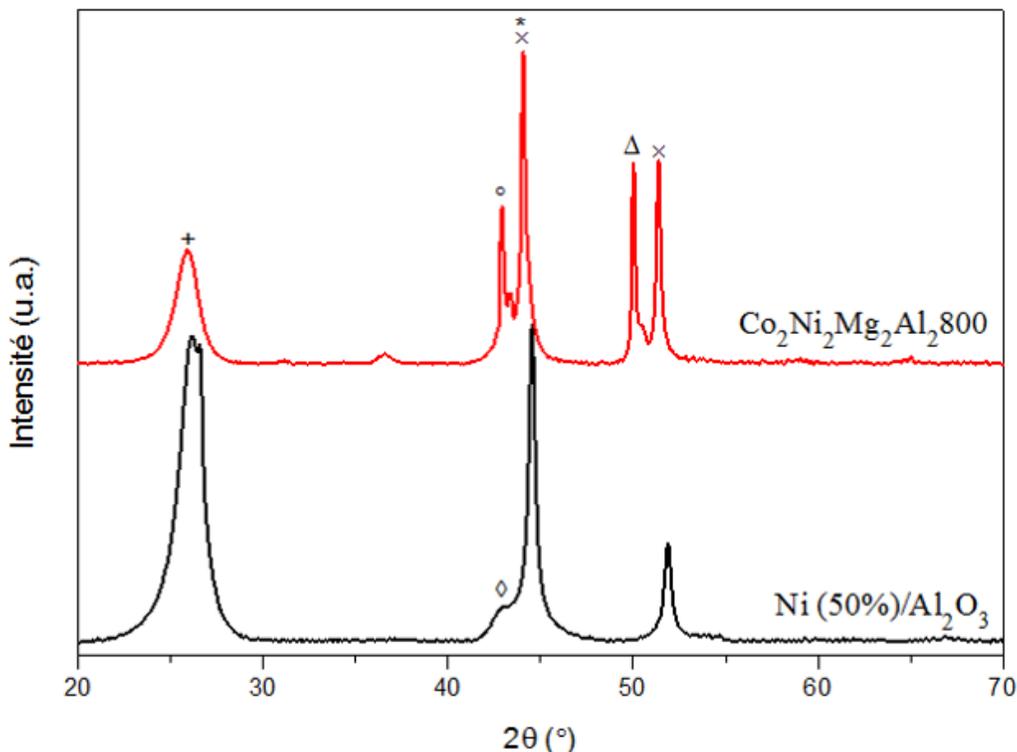


Figure 3. 16: Diffractogrammes de rayons X du catalyseur $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et du catalyseur industriel $\text{Ni (50\%)/Al}_2\text{O}_3$ après reformage à sec du méthane

Tableau 3. 4: Les phases détectées pour les solides après reformage à sec du méthane du catalyseur $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et du catalyseur industriel $\text{Ni (50\%)/Al}_2\text{O}_3$, leurs symboles et les numéros JCPDS

Symbole	Phase détectée	JCPDS N°
*	C cubique	800017
+	C hexagonal	751621
×	Co	150806
×	Ni	211152
◦	MgO	450946
Δ	$\text{AlNi}_3\text{C}_{0,5}$	240712
Δ	$\text{AlCo}_3\text{C}_{0,5}$	441159
◊	NiAl_2O_4	100339
◊	Al_2O_3	10173

Le catalyseur industriel $\text{Ni (50\%)/Al}_2\text{O}_3$, présente une raie à environ $2\theta = 43^\circ$ qui correspond à la formation des particules de NiAl_2O_4 et qui ne figure pas pour le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ [43]. De plus, la raie à environ $2\theta = 52^\circ$, correspondant au nickel métallique

résultant de la réduction des oxydes de Ni (NiO, NiAl₂O₄) durant le test catalytique, est moins intense pour Ni (50%)/Al₂O₃ que pour Co₂Ni₂Mg₂Al₂800. En calculant la taille des particules de Ni d'après la DRX, nous obtenons une taille des particules de Ni plus petite pour le Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 (50 nm) par rapport au Ni (50%)/Al₂O₃ (296 nm). Ces résultats indiquent la présence d'agglomérats de grandes tailles sur la surface de l'alumine, empêchant la dispersion du métal et conduisant ainsi à une diminution de l'activité catalytique du catalyseur industriel. De plus, la surface spécifique obtenue par la méthode BET pour le catalyseur industriel (145 m².g⁻¹) est inférieure à celle du catalyseur préparé au laboratoire (161 m².g⁻¹). Ce constat pourrait expliquer la différence des taux de conversion du méthane entre ces deux catalyseurs.

Nous remarquons également que la raie située à $2\theta = 26,8^\circ$ qui correspond au carbone hexagonal est plus intense pour le Ni (50%)/Al₂O₃, indiquant que la quantité du carbone déposé sur la surface de ce catalyseur est plus importante dans ce cas [31]. Nous pouvons déduire donc que la différence observée dans les conversions du méthane entre 500 et 700 °C, entre ces deux catalyseurs, est due au plus faible nombre de sites actifs du Ni (50%)/Al₂O₃ ainsi qu'à la formation d'une plus grande quantité de carbone sur sa surface.

De même, il ne faut pas oublier l'effet de l'interaction entre le Ni et Co dans le Co₂Ni₂Mg₂Al₂800, favorisant la réaction de reformage à sec du méthane comme noté par plusieurs auteurs [7] [22] [24] [26] [27]. Ces auteurs ont obtenu de bonnes activités pour les catalyseurs Co-Ni dans le reformage à sec du méthane et les ont attribuées à la formation d'alliages de Ni-Co qui se caractérisent par une petite taille des particules de Ni et de Co entraînant une plus grande dispersion des particules et une forte interaction métal-support (SMSI).

E. Test de stabilité

Un bon catalyseur est jugé par son importante activité et ses sélectivités vis-à-vis des produits de la réaction étudiée. Cependant, il faut également qu'il soit stable avec le temps. La durée de vie d'un catalyseur est un des plus importants critères de choix d'un catalyseur. Ainsi dans ce qui suit, nous avons effectué des tests de stabilité sur le Co₂Ni₂Mg₂Al₂800, présentant la meilleure activité parmi nos catalyseurs et sur le Co₂Mg₄Al₂800 qui a le plus faible dépôt de carbone après le test de reformage à sec du méthane.

1. Test de stabilité sur $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$

L'étude menée sur l'oxyde $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ a consisté à effectuer 15 cycles catalytiques, en montée de température. Entre un cycle et le suivant, le catalyseur a été refroidi sous gaz inerte et maintenu sous cette atmosphère jusqu'au cycle suivant. La durée de chaque cycle est d'environ 10 heures. Après les cycles 5 et 10, une oxydation sous air du carbone formé a été effectuée, afin de régénérer le catalyseur [45].

Les figures 3.17 et 3.18 présentent la variation de la conversion du CH_4 et du CO_2 respectivement, tout au long des cycles du test de vieillissement.

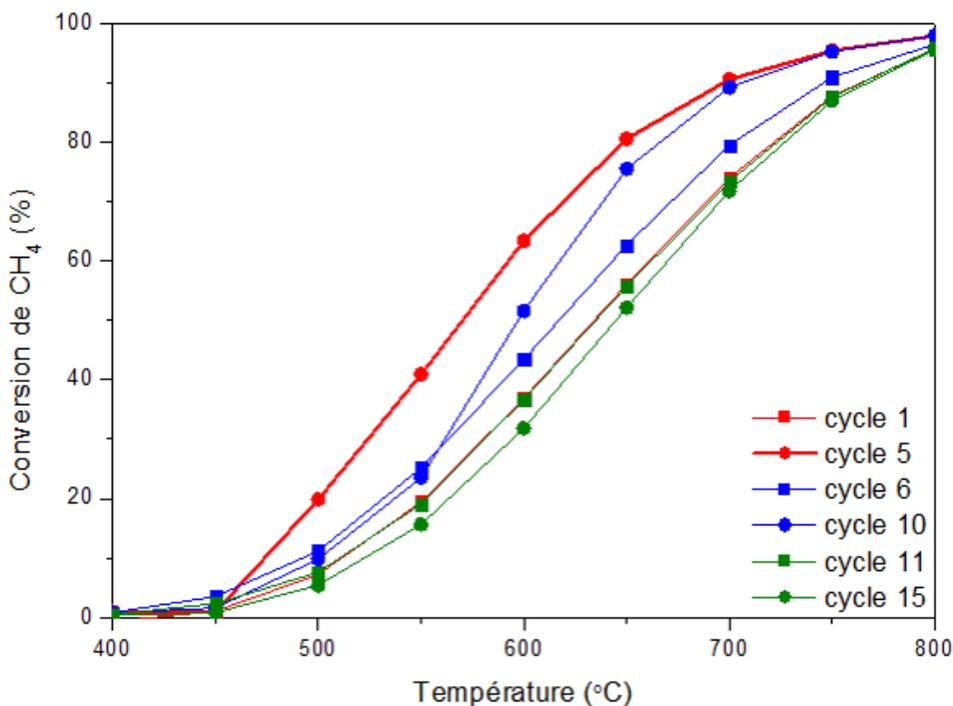


Figure 3. 17: Evolution de la conversion du CH_4 durant les cycles catalytiques en présence du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$

D'une façon générale, l'activité catalytique diminue avec le nombre de cycles, exception faite aux cycles 5 et 10. Globalement, les cycles où les conversions sont les meilleures sont associés aux bilans carbone les plus faibles (figure 3.19). Autrement dit, lorsque le catalyseur montre l'activité la plus importante, la quantité de dépôt de carbone la plus élevée est formée. Cela revient au fait que la réaction de reformage s'accompagne de réactions secondaires.

Finalement et malgré l'oxydation du carbone formé au bout des cycles 5 et 10, le catalyseur n'a pas montré une amélioration de l'activité donc il n'a pas été effectivement

régénéré. Ceci permet de dire que la désactivation progressive du catalyseur n'est pas uniquement due au dépôt de carbone, qui peut être éliminé par oxydation sous air, mais également à un frittage de la phase métallique. Des analyses de la dispersion du métal après les cycles devraient être effectuées pour vérifier cette dernière hypothèse.

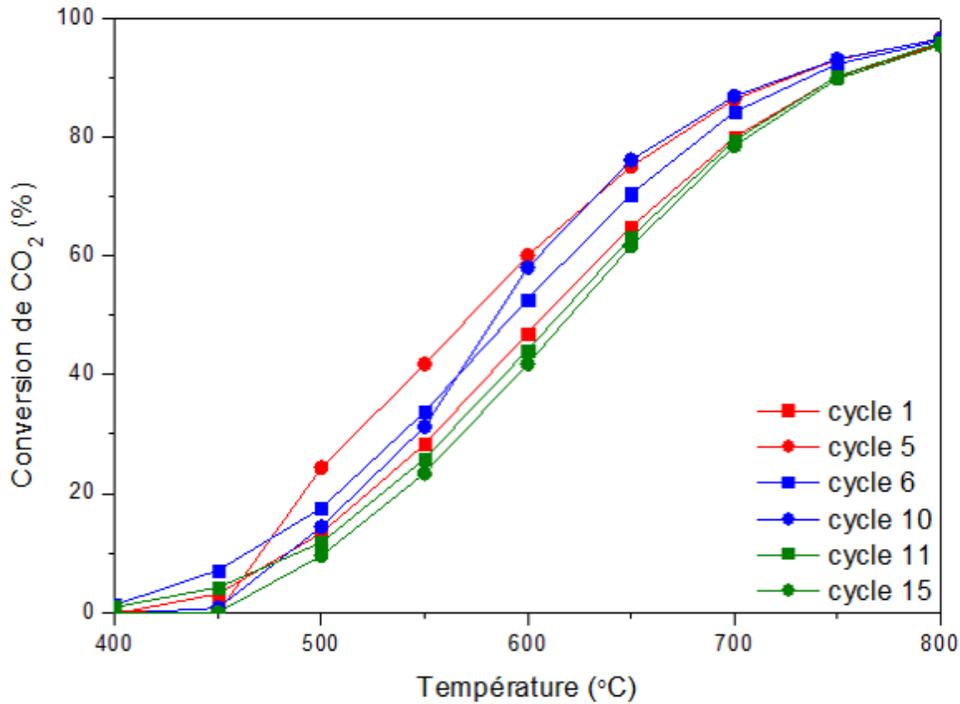


Figure 3. 18: Evolution du taux de conversion du CO₂ durant les cycles catalytiques en présence du Co₂Mg₄Al₂₈₀₀

L'analyse thermique de l'échantillon après test de stabilité est effectuée. La figure 3.20 présente les résultats obtenus. Le gain de masse observé vers 300-400 °C est attribué à l'oxydation du Co réduit lors du test. Par contre, la perte de masse de 17 %, accompagnée du pic ATD vers 474 °C, correspond au départ de carbone C_β près des sites métalliques du catalyseur [31] [46]. Ainsi, les résultats ATD confirment l'oxydation du carbone par traitement sous air. La désactivation du catalyseur, malgré la régénération sous air, ne serait donc pas due au dépôt de carbone mais plutôt au frittage des particules métalliques.

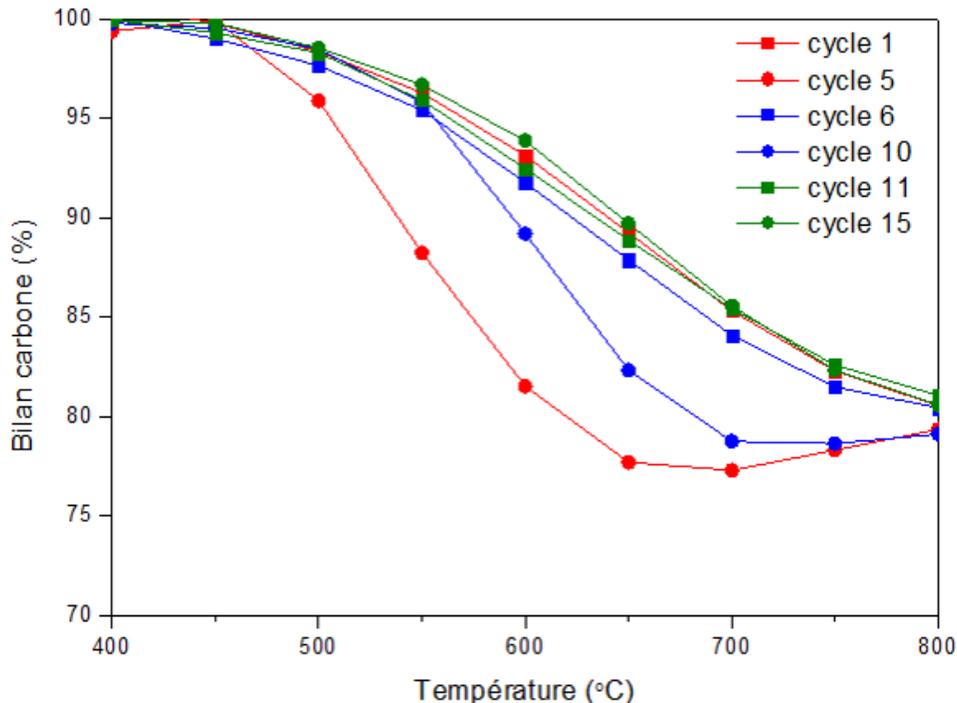


Figure 3. 19: Bilan carbone durant les cycles catalytiques en présence du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$

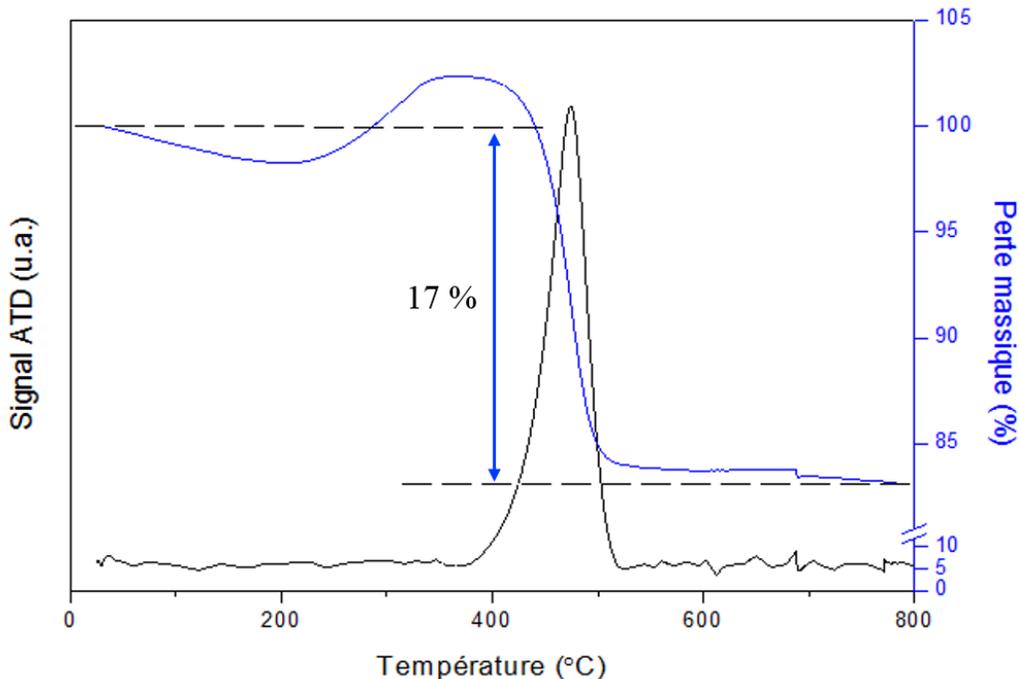


Figure 3. 20: Analyse thermique du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après les cycles catalytiques

Il est à noter qu'une augmentation de l'activité catalytique a été observée pour les cycles 5 et 10. En effet, certaines études ont confirmé que le carbone peut jouer un rôle dans la réaction de reformage, en favorisant un contact étroit entre le carbone et le métal, agissant ainsi comme

un collecteur CH_x et réduisant le temps de résidence des espèces carbonées sur la surface métallique, ce qui peut limiter le processus de désactivation de la surface du catalyseur malgré la quantité de dépôt de carbone [11] [47]. De plus, il se peut que l'hydrogène produit durant la réaction de reformage à sec du méthane et durant sa décomposition après les cycles 1 et 6, initie une réduction in situ du catalyseur conduisant à une activité améliorée durant les cycles 5 et 10 [48].

2. Test de stabilité sur $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$

Le test de stabilité mené sur l'oxyde $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ est réalisé pendant 20 heures à 800 °C pour étudier sa désactivation en fonction du temps. La figure 3.21 montre les conversions de CH_4 et de CO_2 obtenues, ainsi que le rapport H_2/CO et le bilan carbone tout au long du test.

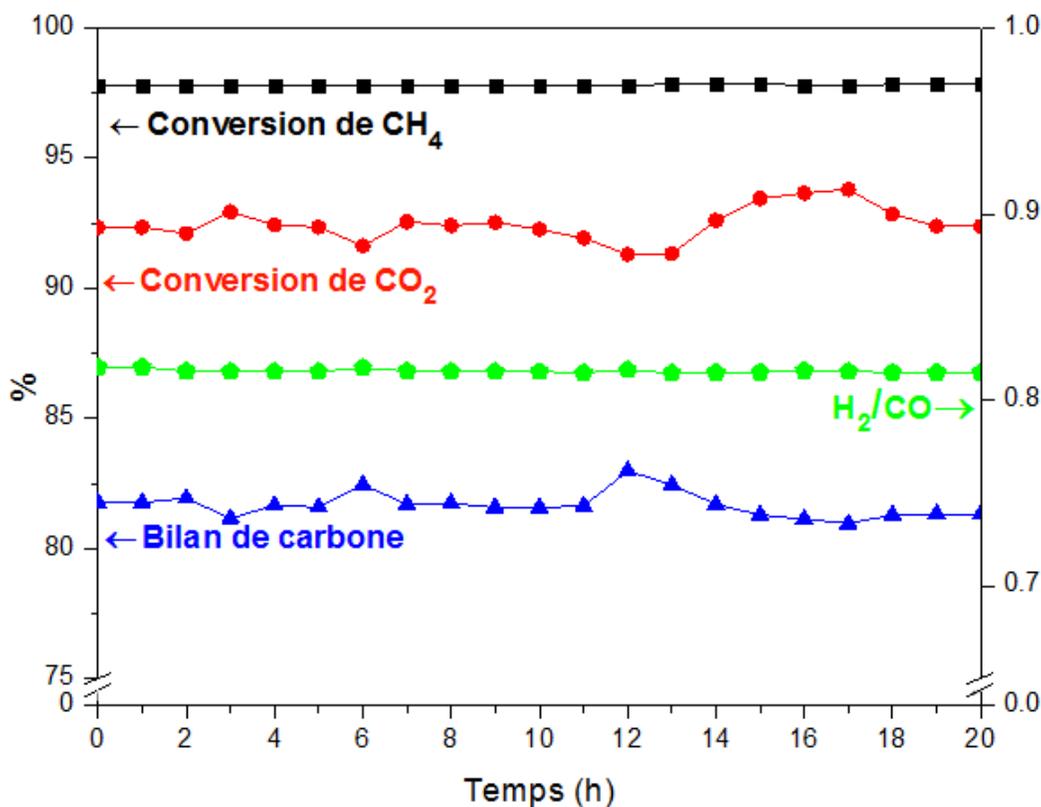


Figure 3. 21: Test de stabilité à 800 °C pendant 20 h en présence du $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Al}_2\text{Mg}_2800$

Nous remarquons que la conversion de CH_4 (96 %), le rapport H_2/CO (0,8) et la teneur en eau (0,24) restent constants pendant la période de 20 heures, alors que la conversion de CO_2 et le bilan carbone varient respectivement entre 81-83,5 % et 91-93,5 %.

Ces observations indiquent le déroulement de la réaction inverse du gaz à l'eau (2.b) et la réaction de décomposition du méthane (2.d) qui entrent en compétition avec la réaction principale du reformage à sec du méthane. En effet, durant la réaction (2.b), le CO₂ réagit avec le H₂ et produit du H₂O et du CO, menant ainsi à un rapport H₂/CO < 1. En effet, de faibles quantités d'eau ont été détectées. De plus, la réaction (2.d) produit du H₂ et du C et est responsable du dépôt de carbone.

Cependant, malgré le déroulement de ces réactions secondaires et le dépôt de carbone produit, le catalyseur Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 s'est révélé être résistant à la désactivation pendant ces 20 heures, conservant des conversions de CH₄ et de CO₂ supérieures à 92%.

Plusieurs auteurs ont effectué de tels tests de stabilité sur d'autres catalyseurs. Serrano-Lotina et al. [49] [50] ont obtenu des conversions de CO₂ toujours plus élevées que les conversions de CH₄ avec un rapport H₂/CO inférieurs à 1 et ont attribué ces résultats à une prédominance de la réaction inverse du gaz à l'eau (2.b). Dahdah et al. [2] ont eu des conversions de CH₄ et de CO₂ similaires avec un rapport de H₂/CO proche de l'unité durant toute la période du test de stabilité. Les catalyseurs préparés par Yu et al. [36] ont montré une diminution de l'activité durant le test de stabilité. Cette observation a été attribuée au dépôt de carbone rapide et à la contribution de la réaction (2.b), responsable du rapport H₂/CO inférieur à 1.

La figure 3.22 montre le signal ATD et la perte massique enregistrés pour le catalyseur Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 après 20 heures à 800 °C.

Le gain de masse observé entre 200 et 400 °C est attribué à l'oxydation des particules métalliques Co et Ni réduits lors du test [36]. La quantité de carbone déposé est considérable et présente 40 % de la masse du catalyseur après test de stabilité. Ces dépôts de carbone sont oxydés entre 440 et 460 °C en présence d'air et sont probablement similaires aux dépôts de carbone de type C_β à proximité des sites métalliques du catalyseur [31]. Dans la plupart des études montrant une stabilité du catalyseur [2] [51], les auteurs attribuent la bonne activité à un cycle périodique de dépôt et d'élimination du carbone. Ce cycle est observé dans notre cas, avec une amplitude de faible pourcentage variant entre 81-83,5 % et 91-93,5 % respectivement pour la conversion de CO₂ et le bilan carbone. D'autres auteurs attribuent aussi la bonne stabilité du catalyseur bimétallique Ni-Co à l'interaction entre Ni et Co, à leur forte interaction avec les

autres éléments chimiques du catalyseur, à la petite taille de leurs particules et à leur haute dispersion, empêchant ainsi le frittage [3] [18] [24] [49].

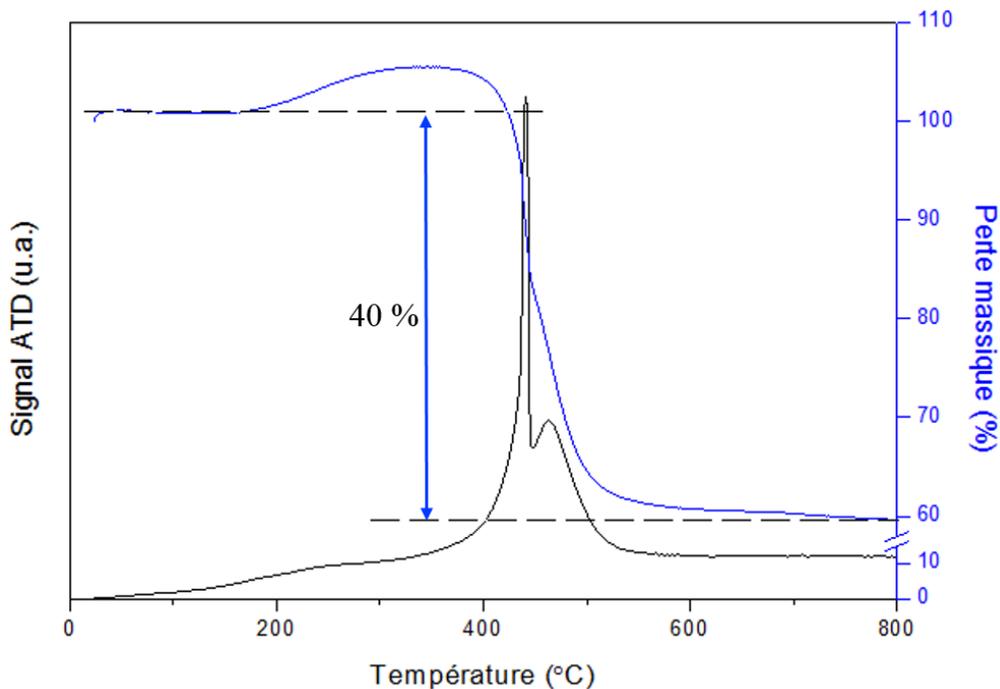


Figure 3. 22: Analyse thermique du $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ après test de stabilité pendant 20 h à 800 °C

Ainsi, le catalyseur $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ reste stable durant 20 heures de réaction de reformage à sec du méthane malgré l'occurrence de réactions secondaires induisant un dépôt de carbone considérable.

F. Reformage à sec du méthane en présence d'impureté

La plupart des recherches sur le reformage sont souvent réalisées avec un mélange de gaz modèle sans tenir compte des contaminants présents dans le biogaz. Or ces contaminants, même à des niveaux de traces, peuvent conduire à un empoisonnement de la phase métallique du catalyseur. Par exemple, plusieurs travaux effectués en présence de composés soufrés montrent la désactivation des catalyseurs même pour de très faibles teneurs de ces composés. Chattanathan et al. [52] ont étudié l'effet de l'ajout de différentes concentrations d' H_2S (0,5 ; 1 et 1,5 mol%) durant le reformage du biogaz et ont trouvé que même l'introduction de la plus faible quantité d' H_2S diminue les conversions de CH_4 et de CO_2 d'environ 20 % directement après 10 min de test. Chiodo et al. [53] ont mis en évidence une désactivation totale des catalyseurs à base de Ni

lors de l'ajout de 1 à 2 ppm de H₂S, même si des taux de désactivation différents ont été obtenus. Appari et al. [54] ont proposé un modèle cinétique détaillé capable de simuler le reformage du biogaz en présence du H₂S avec des catalyseurs à base de Ni. Ils ont signalé que pour des températures de 700 ° C, une désactivation complète du catalyseur a lieu. Jablonski et al. [55] ont montré que des catalyseurs de Ni ont été complètement désactivés à 1, 3 et 5 ppm de différentes espèces soufrées. Ils ont indiqué que l'effet de l'empoisonnement des catalyseurs par le soufre est tellement fort et que l'utilisation des carburants hydrocarbonés nécessite l'élimination du soufre à des niveaux inférieurs au ppm.

Ainsi, dans le travail présent et après l'étude effectuée avec les composants principaux du biogaz sur la série des catalyseurs choisis, il sera important d'étudier l'effet des composés secondaires détectés dans le biogaz réel analysé dans le chapitre I. Comme il est déjà indiqué, les impuretés sont classées en quatre catégories : les composés azotés, les composés soufrés, les terpènes et les autres COV. Pour une meilleure interprétation des résultats, il est préférable d'abord d'étudier l'effet sur le reformage catalytique à sec du méthane en présence d'une molécule modèle. Sachant que les composés soufrés sont déjà largement étudiés, nous allons nous focaliser sur les COV, en choisissant le toluène (C₆H₅-CH₃) comme molécule test.

1. Test catalytique

Le test utilisé pour étudier l'effet du toluène sur la réaction de reformage à sec du méthane repose sur le principe déjà décrit dans la partie III.A.1.1. avec quelques modifications vu que le toluène est en phase liquide. Ainsi, un système basé sur le principe de saturateur est installé pour le toluène. Un récipient rempli de toluène liquide pur est maintenu à température et pression constantes. Ce récipient est surmonté d'une plaque trouée permettant la diffusion contrôlée en continu d'une faible quantité de toluène. Le produit diffusé est mélangé au gaz porteur qui est l'argon. Le saturateur placé dans un four, permet de contrôler la quantité de toluène diffusé. Ainsi, une plus grande quantité de toluène sera diffusée avec l'augmentation de la température. Afin de déterminer la quantité du produit liquide diffusé par unité de temps en fonction de la température du saturateur, une calibration préalable pour le toluène a été effectuée. Des concentrations égales à 1500 ppm et 200 ppm de toluène qui correspondent respectivement à des températures du saturateur de 70 °C et 30 °C sont utilisées lors de notre travail. Le flux total des réactifs (CH₄, CO₂, toluène) et du gaz vecteur (Ar) est de 100 mL.min⁻¹. Le mélange envoyé

est d'abord vaporisé en continu à l'aide des filaments chauffants enroulés sur les tuyaux en inox puis entraîné sous pression atmosphérique dans le circuit par l'argon vers le four où se trouve le réacteur en quartz contenant le catalyseur.

Une chromatographie en phase gazeuse de marque CPG Varian3800 assure l'analyse du gaz en sortie du réacteur. Les réactifs CH_4 et CO_2 et les produits H_2 et CO sont analysés avec un détecteur à conductivité thermique (TCD) après séparation sur un tamis moléculaire (H_2 et CO) et une colonne HayeSep Q (CH_4 et CO_2). D'autre part, les sous-produits provenant de la conversion du toluène (C_6H_6 et C_2H_4) ainsi que le toluène non converti sont analysés par chromatographie équipée d'un détecteur à ionisation en flamme (FID) et d'une colonne sep : cpml PONA CB. L'ensemble est couplé à un spectromètre de masse (Omnistar, Pfeiffer vacuum GSD 301 O) afin de suivre l'évolution des produits et des sous-produits.

2. Influence de la mise en forme du catalyseur

Les études précédentes ont été réalisées sur des catalyseurs sous forme de poudre. Avec l'introduction du toluène, les catalyseurs sont préparés sous forme de pastilles afin de limiter les transferts de masse et de chaleur et d'éviter un colmatage du réacteur. Les catalyseurs sont pressés sous une pression de 2 tonnes puis broyés dans un mortier. Les poudres obtenues sont passées à travers deux tamis superposés de dimensions 350 et 800 μm pour obtenir des particules de taille homogène. Afin d'évaluer l'influence de la forme du catalyseur sur les performances catalytiques, un test sans toluène est effectué sur des pastilles.

La figure 3.23 présente la conversion du méthane fonction de la température pour les deux différentes formes (poudre et pastille) du catalyseur $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$.

Les conversions de méthane obtenues en présence des catalyseurs sous forme de poudre et de pastille sont similaires. Aucun changement significatif au niveau de la performance du catalyseur n'a été observé durant le test catalytique de reformage à sec du méthane. Cela indique l'absence de l'influence de la mise en forme du catalyseur sur son activité catalytique dans les conditions de tests choisies. De tels résultats sont obtenus dans des études précédentes [43] [44].

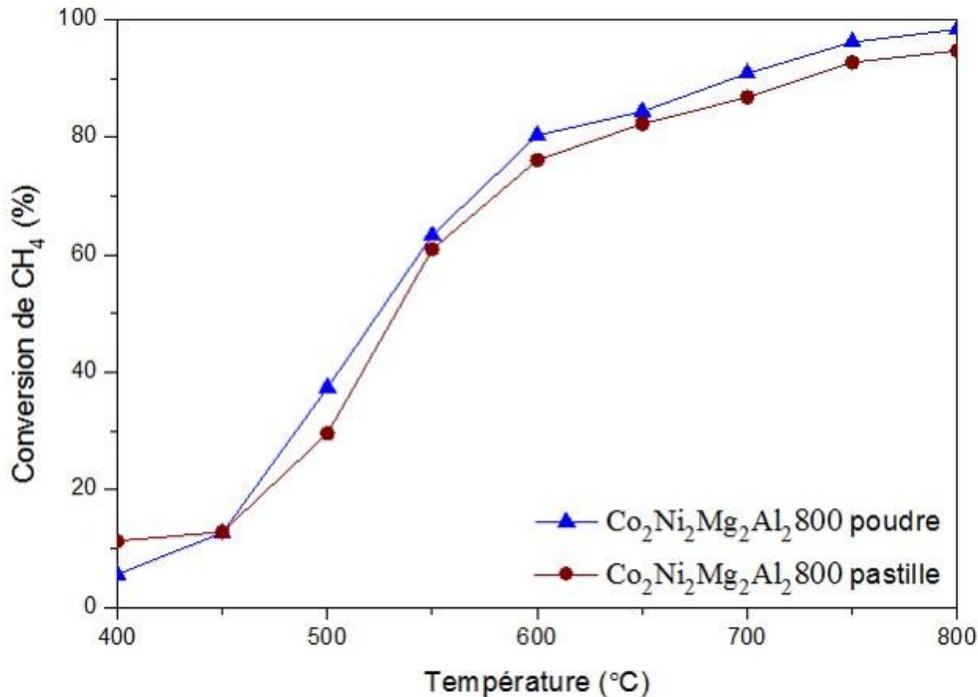


Figure 3. 23: Evolution de la conversion du méthane en fonction de la température pour les deux différentes formes (poudre et pastille) du $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$

3. Influence de l'ajout du toluène

Afin d'étudier l'effet de l'ajout du toluène sur l'activité des catalyseurs durant le reformage à sec du méthane, deux concentrations sont choisies. La première teneur visée, 1500 ppm, correspond à la somme de toutes les impuretés présentes dans les biogaz réels prélevés au sein de cette étude et analysés dans le chapitre I. La deuxième concentration égale à 200 ppm de toluène, convient aux teneurs les plus élevées trouvées pour chaque impureté. Cependant, en pratique, nous avons obtenu des concentrations de 1480 ppm et de 180 ppm de toluène qui correspondent respectivement à des températures du saturateur de 70 °C et 30 °C. Les catalyseurs testés sont le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ pour les deux teneurs de toluène, avec les nomenclatures T1470 et T180, et le $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ uniquement pour la plus faible teneur.

Les figures 3.24 et 3.25 illustrent les conversions de CH_4 et de CO_2 obtenues pour les deux catalyseurs sans et avec toluène.

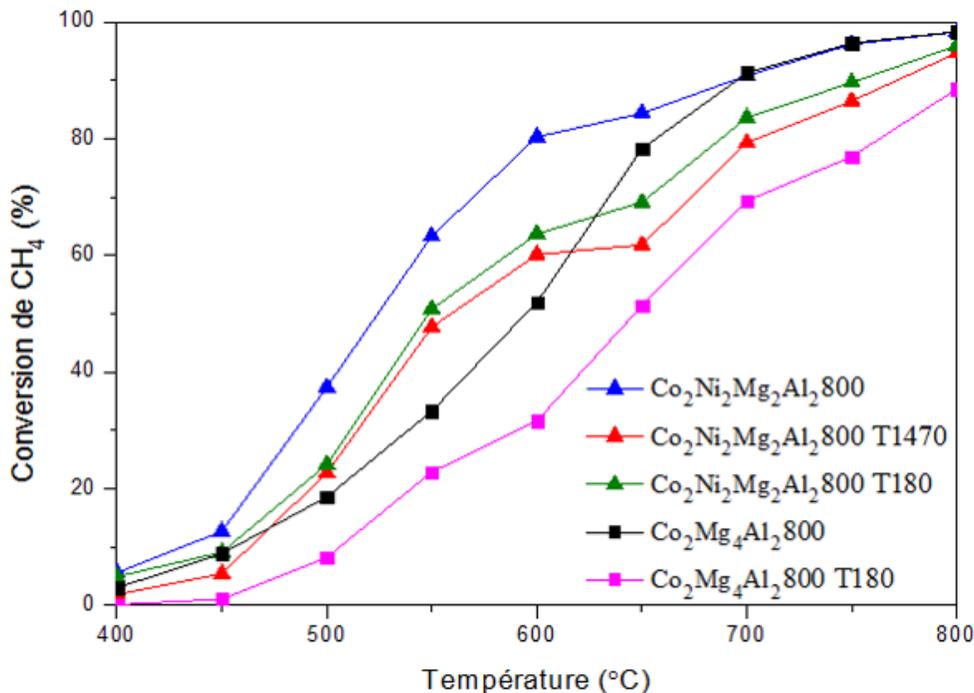


Figure 3. 24: Evolution de la conversion du CH₄ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 et Co₂Mg₄Al₂800 avec et sans toluène

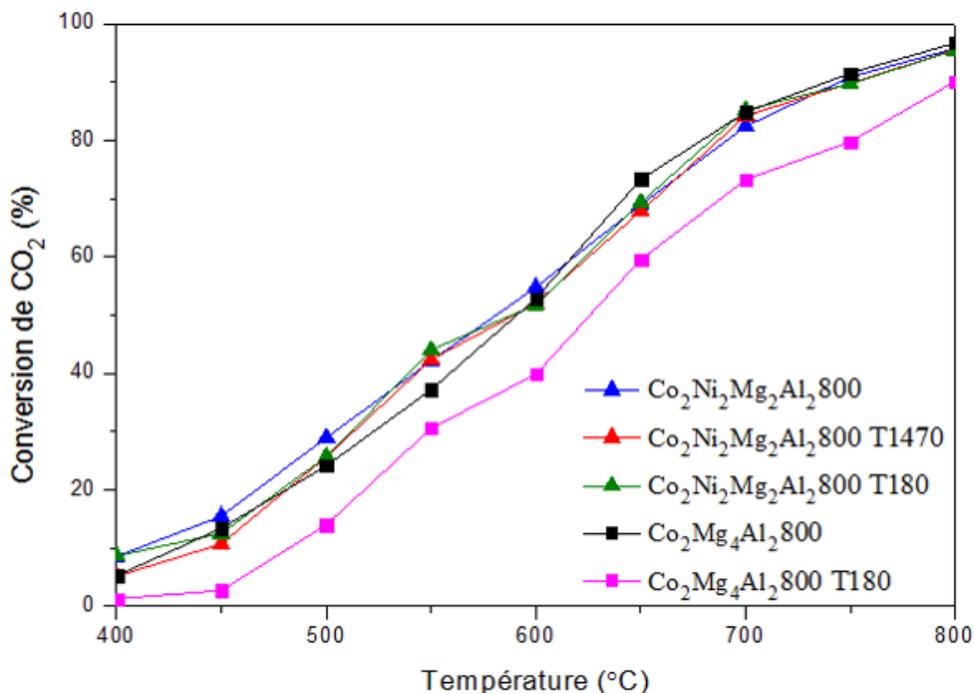


Figure 3. 25: Evolution de la conversion du CO₂ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 et Co₂Mg₄Al₂800 avec et sans toluène

Il est clair que l'ajout de toluène diminue la conversion du CH_4 d'une valeur moyenne de 15 % pour les deux catalyseurs étudiés, quelle que soit la température de réaction. Cependant, nous remarquons que la conversion du CO_2 est la plus affectée dans le cas du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$, alors qu'elle reste quasiment la même pour le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$. Les rapports H_2/CO (figure 3.26) obtenus en présence de toluène diminuent fortement entre 600 et 650 °C. De plus, les rendements en H_2 et en CO (figures 3.27 et 3.28) conservent les mêmes allures que ceux sans toluène mais avec de plus faibles valeurs, surtout dans le cas du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$. Ces résultats confirment l'occurrence des réactions secondaires, parallèlement avec la réaction de reformage à sec, en présence du toluène comme en son absence. Ces réactions ont été discutées en détails dans le paragraphe III.A.3.

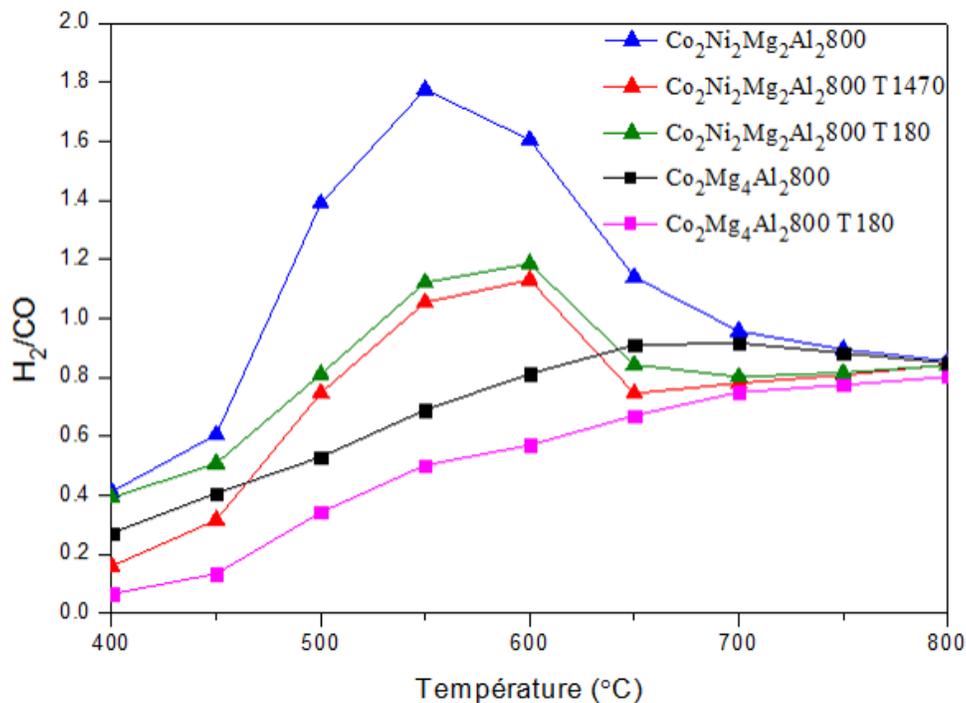


Figure 3. 26: Rapport molaire H_2/CO en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ avec et sans toluène

Peu d'auteurs ont étudié l'effet des hydrocarbures sur le reformage du méthane.

Une étude menée par Chiodo et al. [53] rapporte l'influence de plusieurs contaminants ajoutés au biogaz propre sur un catalyseur à base de Ni. Parmi ces contaminants, un mélange d'hydrocarbures formé d'éthane, d'éthylène, d'acétylène et de propylène, a été étudié. Avec des concentrations d'intoxication inférieures à 200 ppm, les performances catalytiques obtenues

étaient stables pendant 100 heures. Par contre, lorsqu'une concentration totale en hydrocarbures de 800 ppm a été ajoutée dans le flux de gaz d'entrée, la conversion du méthane a été réduite d'environ 12 % après 25 heures de test. Les auteurs ont attribué le phénomène de désactivation catalytique à la formation de carbone sur la surface du catalyseur due à des réactions de craquage des hydrocarbures selon la réaction : $C_nH_{2n} \rightarrow n C + n H_2$. D'une manière générale, une plus haute tendance au craquage des hydrocarbures a lieu à mesure que l'insaturation et le poids moléculaire augmentent [53] [56], et par conséquent, les aromatiques tels que le toluène sont des précurseurs majeurs de carbone. La décomposition du toluène se présente comme suit : $C_7H_8 \rightarrow 7 C + 4 H_2$ (Réaction 3.d). Cette réaction est favorable dans toute la marge de température utilisée dans nos tests catalytiques (400-800 °C). Même pour de faibles concentrations de toluène, cette réaction a lieu en plus des réactions indésirables (2.b), (2.c), (2.d), (2.e) et (2.f) affectant largement la performance de la réaction principale.

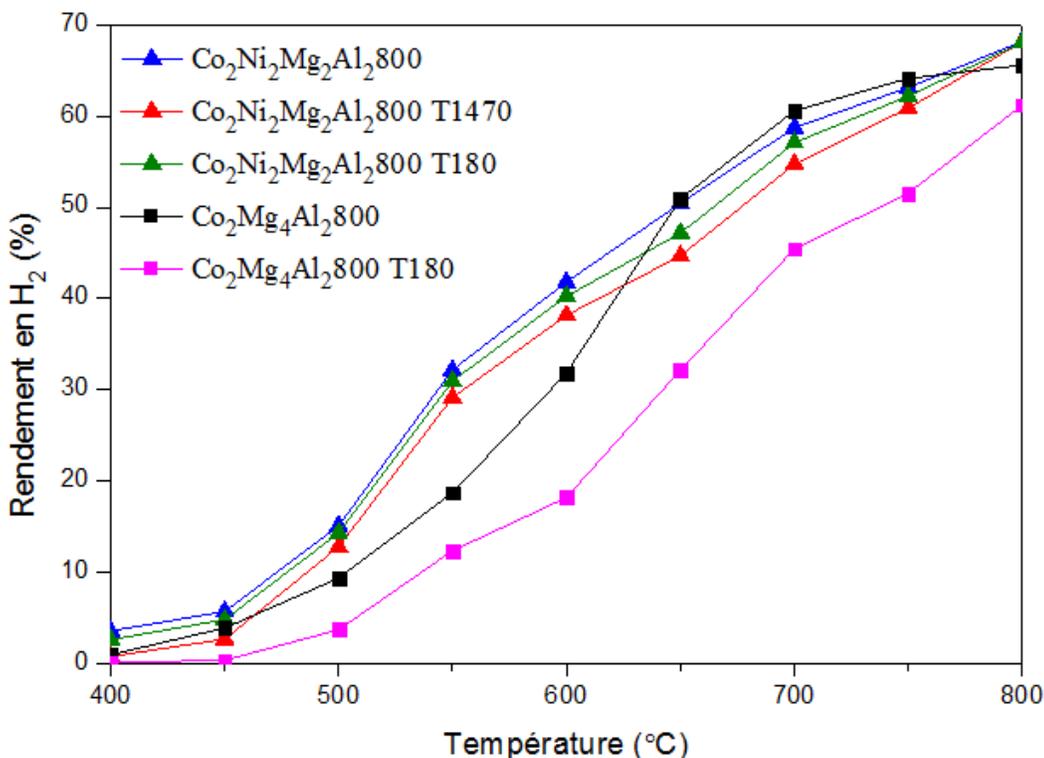


Figure 3. 27: Evolution du rendement en H₂ en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 et Co₂Mg₄Al₂800 avec et sans toluène

De plus, Dagle et al. [57] montrent que la présence de benzène et de naphthalène conduit à des désactivations marquées de l'activité catalytique en raison de la cokéfaction sur les catalyseurs à base de Ni, Rh et Ir. De même, Laprune et al. [56] ont étudié l'effet du naphthalène

sur la conversion du méthane à 700, 800 et 900 °C en présence de deux catalyseurs commerciaux à base de Rh et de Ni. Une concentration de 1400 ppm de naphthalène a fortement empoisonné les catalyseurs durant le reformage de méthane. De même, le pyrène plus volumineux et présent dans les biogaz analysés dans le premier chapitre, conduit à des résultats similaires, à une concentration de 5 ppm. En revanche, le toluène avait un effet moins tolérant sur l'activité des échantillons à base de Ni, et la diminution des rendements est principalement due à un blocage des sites actifs suite au dépôt de carbone.

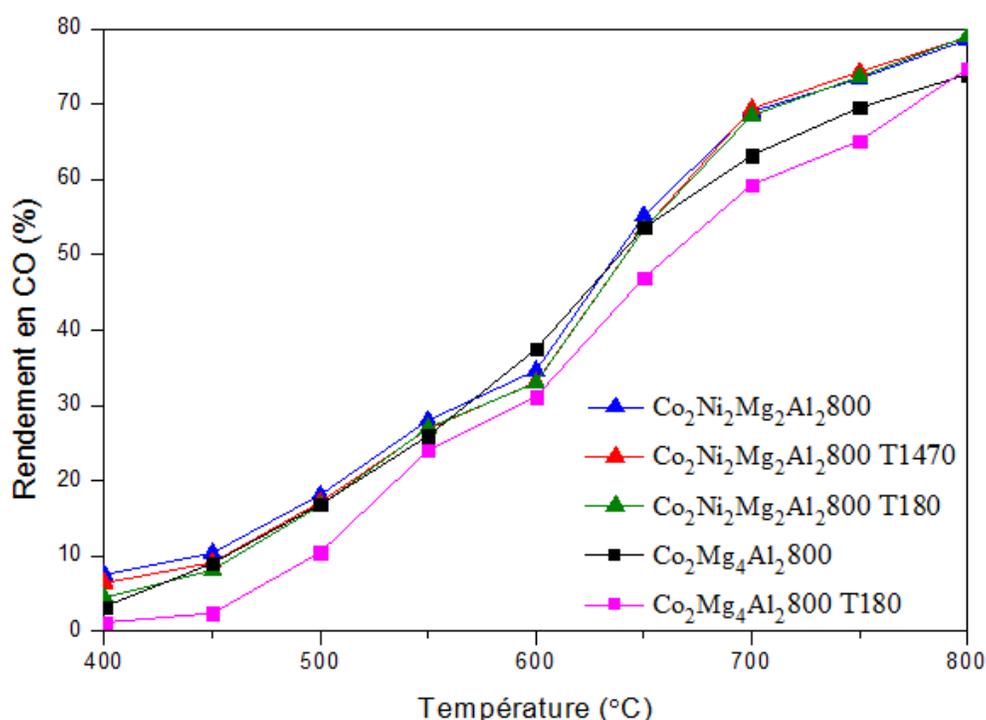


Figure 3. 28: Evolution du rendement en CO en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs Co₂Ni₂Mg₂Al₂800 et Co₂Mg₄Al₂800 avec et sans toluène

Pour Co₂Mg₄Al₂800, l'évolution du bilan carbone avec la température montre également la même allure en absence et en présence du toluène, avec une tendance à un meilleur bilan en absence de ce dernier. Par ailleurs, pour Co₂Ni₂Mg₂Al₂800, l'évolution du bilan carbone avec la température (figure 3.29) présente la même allure en présence et en absence du toluène. Toutefois, le bilan est moins bouclé en absence de toluène. Ceci suggère que le toluène n'est pas uniquement impliqué dans la formation de carbone, mais qu'il rentre en compétition avec le CH₄ en réagissant avec le CO₂. Ce fait pourrait également expliquer les plus faibles conversions de méthane obtenues en présence de toluène.

Nous pouvons conclure que la présence du toluène diminue le rendement catalytique des catalyseurs durant le reformage à sec du méthane. Cependant, le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ demeure plus actif que le $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ vu la haute activité du Ni alors qu'il est moins résistant au dépôt de carbone que le $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ vu que le Co diminue la quantité de carbone.

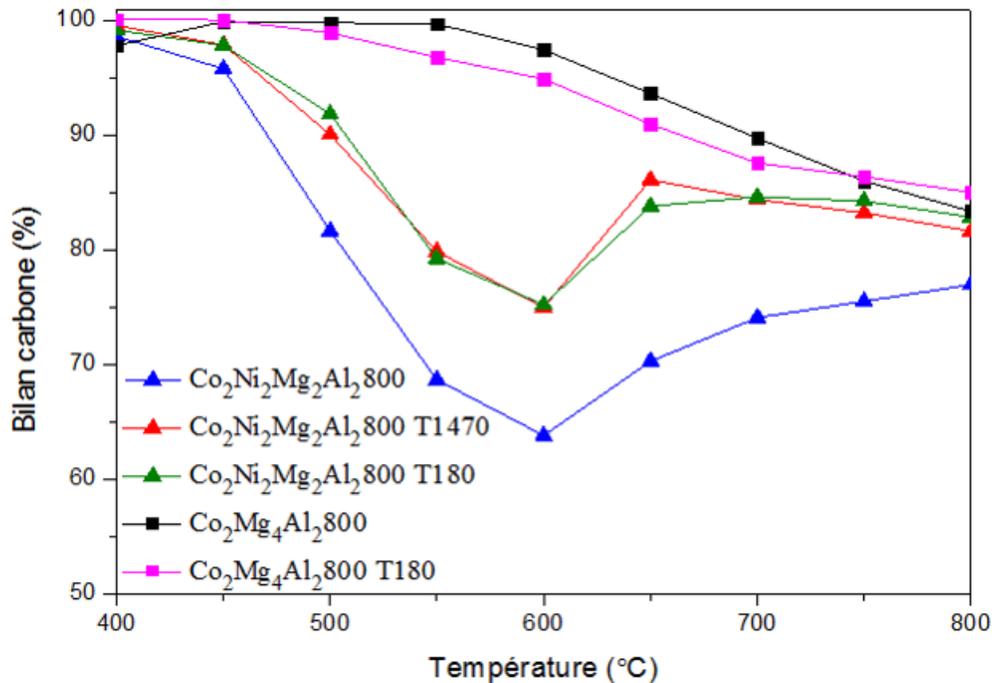


Figure 3. 29: Bilan carbone en fonction de la température de la réaction en présence des catalyseurs $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ avec et sans toluène

Afin de mieux comprendre le mécanisme réactionnel qui prend place en présence de ces catalyseurs, l'évolution des sous-produits formés en fonction de la température a été suivie par spectrométrie de masse (SM). Les analyses ont montré la présence du benzène (C_6H_6) comme produit secondaire.

Les figures 3.30 et 3.31 montrent respectivement la conversion du toluène et l'évolution du benzène suivi par SM en fonction de la température de la réaction, en présence des deux catalyseurs $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ pour les teneurs 180 et 1470 ppm de toluène.

Nous remarquons que la conversion du toluène est totale dès que la température atteint 500 °C, parallèlement, la concentration en benzène s'annule totalement à 500 °C. En effet, entre 400 et 500 °C, la réaction d'hydrodésalkylation est favorable : $\text{C}_7\text{H}_8 + \text{H}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_6 + \text{CH}_4$ (Réaction 3.e). Elle consiste en la décomposition du toluène en benzène et en méthane en présence de l'hydrogène formé, ce qui explique la plus faible conversion du CH_4 dans cette marge de température [42].

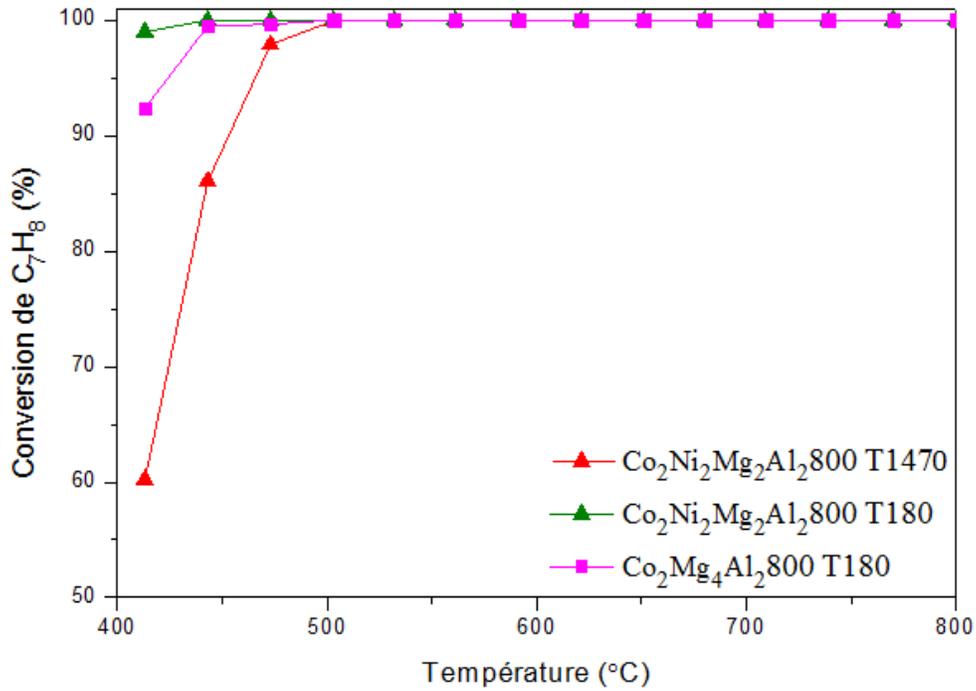


Figure 3. 30: Conversion du toluène en fonction de la température de la réaction en présence des deux catalyseurs $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ pour les teneurs 180 et 1470 ppm de toluène

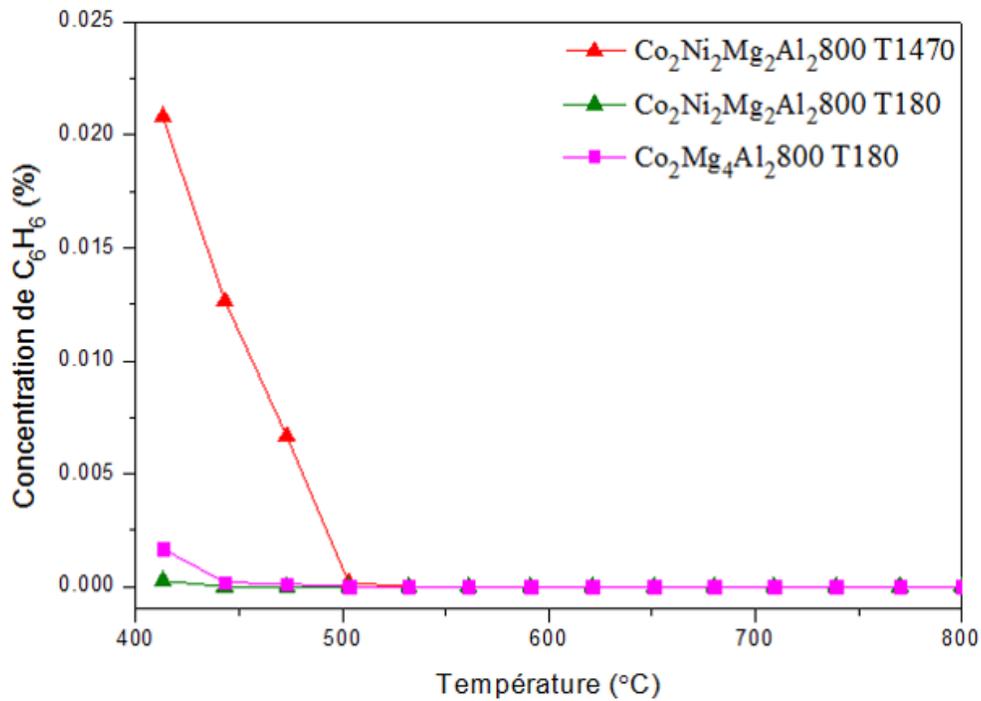


Figure 3. 31: Evolution du benzène suivi par SM, en fonction de la température de la réaction en présence des deux catalyseurs $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ pour les teneurs 180 et 1470 ppm de toluène

La figure 3.32 montre les profils DRX des catalyseurs $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après test en reformage à sec du méthane en présence du toluène. Le symbole et numéro JCPDS de chaque phase détectée sont détaillés dans le tableau 3.5.

Nous remarquons que l'intensité des pics attribués au carbone ($2\theta \approx 26^\circ$) diminue après le reformage à sec en présence du toluène pour le $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ seulement, alors qu'elle reste quasiment la même pour le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ T180 et augmente pour le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ T1470. Cependant, l'intensité des raies de diffraction de rayons X correspondant aux phases métalliques de Co et de Ni ($2\theta \approx 44^\circ$ et 52°) et à l'oxyde de magnésium ($2\theta \approx 43^\circ$) diminuent pour les deux catalyseurs en présence du toluène. Les résultats DRX sont en accord avec les profils OTP présentés dans la figure 3.33. L'OTP montre un pic ascendant attribué à l'oxydation du carbone (Réaction 3.c) : ce pic est, en présence de toluène, plus faible pour le $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et plus intense pour le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$. De plus, il est noté l'absence de pic OTP correspondant à l'oxydation des particules métalliques de Co et de Ni (Réactions 3.1 et 3.2) pour les catalyseurs en présence de toluène.

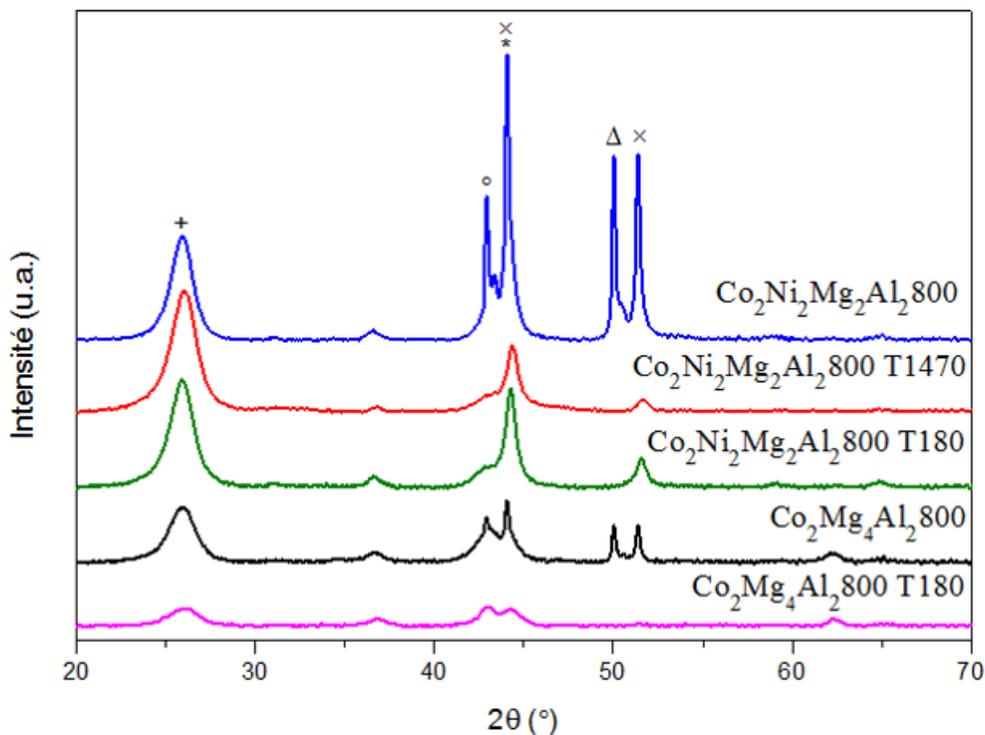


Figure 3. 32: Diffractogrammes de rayons X des $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane en présence du toluène

Tableau 3. 5: Les phases détectées pour les solides $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane en présence du toluène, leurs symboles et les numéros JCPDS

Symbole	Phase détectée	JCPDS N°
*	C cubique	800017
+	C hexagonal	751621
×	Co	150806
×	Ni	211152
°	MgO	450946
Δ	$\text{AlNi}_3\text{C}_{0,5}$	240712
Δ	$\text{AlCo}_3\text{C}_{0,5}$	441159

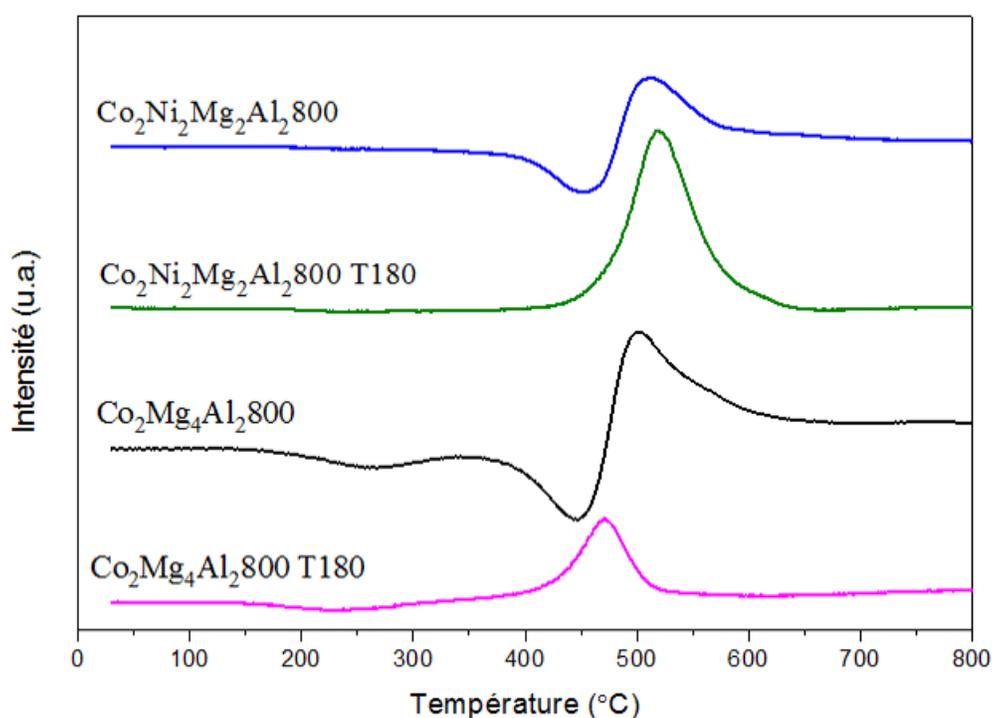


Figure 3. 33: Profils OTP des $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane en présence du toluène

La figure 3.34 montre les courbes ATD obtenues pour le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et le $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane en présence du toluène. Les résultats sont en corrélation avec les caractérisations précédentes montrant une diminution remarquable du pic ATD après le reformage à sec du méthane pour le $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ en présence de 180 ppm de

toluène. En fait, cette perte de masse correspond au départ des espèces carbonées facilement oxydables [33] [34]. Cette diminution est moins prononcée dans le cas du $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$.

En effet, les auteurs qui ont étudié l'effet des hydrocarbures sur le reformage du méthane attribuent la diminution du rendement des catalyseurs à l'adsorption des contaminants sur leurs sites actifs modifiant ainsi leurs propriétés catalytiques et accélérant de même le dépôt de carbone [53] [58]. D'autres auteurs ont ajouté à ces causes, le frittage des particules métalliques [56] conduisant à une désactivation progressive du catalyseur. Dans notre cas, nous pouvons attribuer la diminution de l'activité du $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ en présence de 180 ppm de toluène au frittage des particules, puisque la quantité de carbone obtenue est faible.

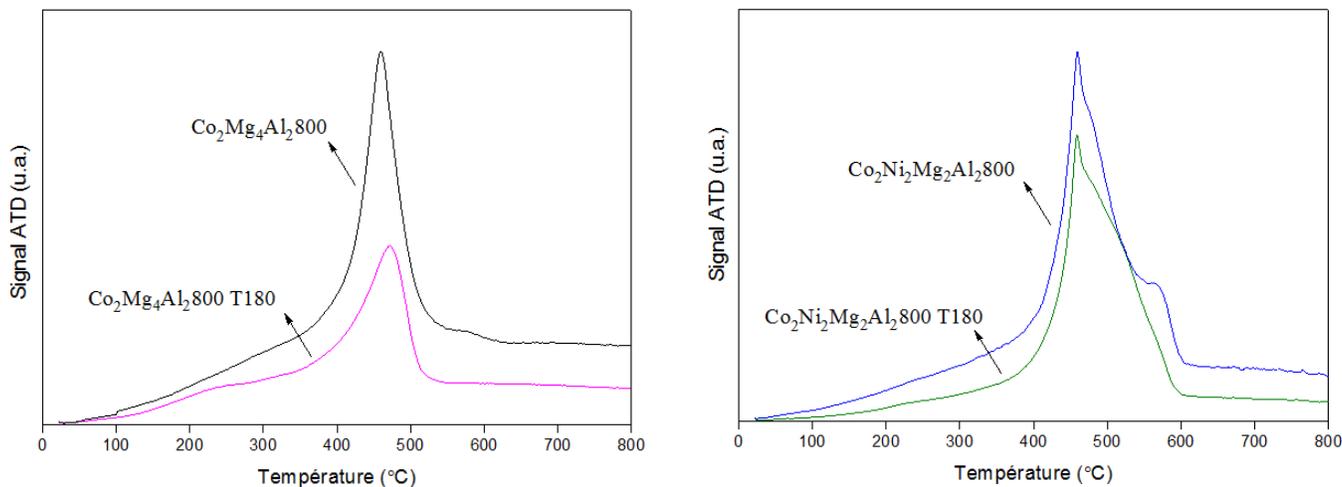


Figure 3. 34: Analyses thermiques différentielles (ATD) des $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ après reformage à sec du méthane en absence et en présence du toluène

4. Conclusion

Dans ce chapitre, l'activité catalytique des solides calcinés à base de Co et de Ni a été étudiée dans la réaction de reformage à sec du méthane.

L'oxyde $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ s'est avéré être le plus actif parmi les oxydes étudiés, probablement en raison de la stœchiométrie du Co et du Ni dans cet oxyde qui est la plus favorable à la formation d'un alliage Co-Ni connu pour sa réactivité dans la réaction de reformage à sec du méthane.

Les catalyseurs où la teneur molaire du Co est supérieure à celle du Ni, notamment $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$, ont montré une plus grande résistance au dépôt de carbone avec de plus faibles taux de conversion des réactifs.

Le carbone formé sur les catalyseurs avec un rapport molaire Co élevé peut être éliminé, dans une atmosphère oxydante, à des températures plus basses que le carbone formé sur les autres catalyseurs vu que le Co augmente significativement la résistance du catalyseur au dépôt de carbone.

Un test de vieillissement de quinze cycles effectué sur $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ met en évidence que la désactivation progressive du catalyseur n'est pas uniquement due au dépôt de carbone mais également au frittage irréversible des particules de métal.

Le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ montre une stabilité pendant 20 heures de reformage à sec du méthane. Cette bonne activité est attribuée à un cycle périodique de dépôt et d'élimination du carbone et à la forte interaction entre Ni et Co, empêchant ainsi la désactivation du catalyseur.

En présence de toluène, la conversion du CH_4 diminue suite à la formation de carbone sur la surface du catalyseur due à des réactions de craquage des hydrocarbures en plus des réactions secondaires ayant lieu lors du reformage. Une compétition entre le toluène et le méthane vis-à-vis de la réaction avec le CO_2 ne peut être exclue. Le frittage des particules est également responsable de la désactivation du catalyseur $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ en présence du toluène.

Références bibliographiques

- [1] M. Goula, N. Charisiou, K. Papageridis, A. Delimitis, E. Pachatouridou, E. Iliopoulou, Nickel on alumina catalysts for the production of hydrogen rich mixtures via the biogas dry reforming reaction: Influence of the synthesis method, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2015) 9183–9200.
- [2] E. Dahdah, J. Abou Rached, S. Aouad, C. Gennequin, H.L. Tidahy, J. Estephane, A. Aboukaïs, E. Abi Aad, CO₂ reforming of methane over Ni_xMg_{6-x}Al₂ catalysts: Effect of lanthanum doping on catalytic activity and stability, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 12808–12817.
- [3] H. Long, Y. Xu, X. Zhang, S. Hu, S. Shang, Y. Yin, X. Dai, Ni-Co/Mg-Al catalyst derived from hydrotalcite-like compound prepared by plasma for dry reforming of methane, *Journal of Energy Chemistry*. 22 (2013) 733–739.
- [4] S. Mao, Z. Tan, L. Zhang, Q. Huang, Plasma-assisted biogas reforming to syngas at room temperature condition, *Journal of the Energy Institute*. In Press, Corrected Proof (2017).
- [5] S.I. Garcés-Polo, J. Villarroel-Rocha, K. Sapag, S.A. Korili, A. Gil, Adsorption of CO₂ on mixed oxides derived from hydrotalcites at several temperatures and high pressures, *Chemical Engineering Journal*. 332 (2017) 24–32.
- [6] A. Machocki, T. Ioannides, E. Papadopoulou, B. Banach, Hydrogen-rich gas generation from alcohols over cobalt-based catalysts for fuel cell feeding, *Fuel Processing Technology*. 148 (2016) 341–349.
- [7] A. Al-Fatesh, Suppression of carbon formation in CH₄-CO₂ reforming by addition of Sr into bimetallic Ni-Co/c-Al₂O₃ catalyst, *Journal of King Saud University – Engineering Sciences*. 27 (2015) 101–107.
- [8] K. Sato, N. Abe, T. Kawagoe, S. Miyahara, K. Honda, K. Nagaoka, Supported Ni catalysts prepared from hydrotalcite-like compounds for the production of hydrogen by ammonia decomposition, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 6610–6617.
- [9] R. Dębek, M. Motak, M.E. Galvez, T. Grzybek, P. Da Costa, Promotion effect of zirconia on Mg(Ni,Al)O mixed oxides derived from hydrotalcites in CO₂ methane reforming, *Applied Catalysis B: Environmental*. In Press, Corrected Proof (2017).
- [10] S. Bepari, S. Basu, N.C. Pradhan, A.K. Dalai, Steam reforming of ethanol over cerium-promoted Ni-Mg-Al hydrotalcite catalysts, *Catalysis Today*. 291 (2017) 47–57.
- [11] C. Gennequin, M. Safariamin, S. Siffert, A. Aboukaïs, E. Abi-Aad, CO₂ reforming of CH₄ over Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite like precursors, *Catalysis Today*. 176 (2011) 139–143.
- [12] A. Djaidja, S. Libs, A. Kiennemann, A. Barama, Characterization and activity in dry reforming of methane on NiMg/Al and Ni/MgO catalysts, *Catalysis Today*. 113 (2006) 194–200.
- [13] R. Dębek, K. Zubek, M. Motak, M.E. Galvez, P. Da Costa, T. Grzybek, Ni-Al hydrotalcite-like material as the catalyst precursors for the dry reforming of methane at low temperature, *Comptes Rendus Chimie*. 18 (2015) 1205–1210.

- [14] O.W. Perez-Lopez, A. Senger, N.R. Marcilio, M.A. Lansarin, Effect of composition and thermal pretreatment on properties of Ni–Mg–Al catalysts for CO₂ reforming of methane, *Applied Catalysis A: General*. 303 (2006) 234–244.
- [15] A.H. Fakeeha, A.S. Alfatish, M.A. Soliman, A.A. Ibrahim, Effect of changing CH₄ /CO₂ ratio on hydrogen production by dry reforming reaction, 16th World Hydrogen Energy Conference 2006, WHEC 2006. 1 (2006) 245-256.
- [16] M. Wisniewski, A. Boréave, P. Gélín, Catalytic CO₂ reforming of methane over Ir/Ce_{0.9}Gd_{0.1}O_{2-x}, *Catalysis Communications*. 6 (2005) 596–600.
- [17] S.J. Hassani Rad, M. Haghighi, A. Alizadeh Eslami, F. Rahmani, N. Rahemi, Sol–gel vs. impregnation preparation of MgO and CeO₂ doped Ni/Al₂O₃ nanocatalysts used in dry reforming of methane: Effect of process conditions, synthesis method and support composition, *International Journal of Hydrogen Energy*. 41 (2016) 5335–5350.
- [18] Y. Kathiraser, U. Oemar, E.T. Saw, Z. Li, S. Kawi, Kinetic and mechanistic aspects for CO₂ reforming of methane over Ni based catalysts, *Chemical Engineering Journal*. 278 (2015) 62–78.
- [19] M. Nawfal, C. Gennequin, M. Labaki, B. Nsouli, A. Aboukaïs, E. Abi-Aad, Hydrogen production by methane steam reforming over Ru supported on Ni–Mg–Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2015) 1269–1277.
- [20] I. Luisetto, S. Tuti, E.D. Bartolomeo, Co and Ni supported on CeO₂ as selective bimetallic catalyst for dry reforming of methane, *International Journal of Hydrogen Energy*. 37 (2012) 15992–15999.
- [21] Q. Wang, W. Ren, X. Yuan, R. Mu, Z. Song, X. Wang, Ni catalysts derived from Mg-Al layered double hydroxides for hydrogen production from landfill gas conversion, *International Journal of Hydrogen Energy*. 37 (2012) 11488–11494.
- [22] M. Sharifi, M. Haghighi, F. Rahmani, S. Karimipour, Syngas production via dry reforming of CH₄ over Co- and Cu-promoted Ni/Al₂O₃–ZrO₂ nanocatalysts synthesized via sequential impregnation and sol–gel methods, *Journal of Natural Gas Science and Engineering*. 21 (2014) 993–1004.
- [23] J. Zhang, H. Wang, A.K. Dalai, Development of stable bimetallic catalysts for carbon dioxide reforming of methane, *Journal of Catalysis*. 249 (2007) 300–310.
- [24] M. Phongaksorn, S. Tungkamani, N. Dharmasaroja, T. Sornchamni, R. Chuvaree, N. Kanjanabat, N. Siri-Nguan, Elucidation of the influence of Ni-Co catalytic properties on dry methane reforming performance, *Chemical Engineering Transactions*. 43 (2015) 925–930.
- [25] K. Takanabe, K.I. Nagaoka, K. Aika, Improved resistance against coke deposition of titania supported cobalt and nickel bimetallic catalysts for carbon dioxide reforming of methane, *Catalysis Letters*. 102 (2005) 153–157.
- [26] H. Arbag, S. Yasyerli, N. Yasyerli, G. Dogu, T. Dogu, Enhancement of catalytic performance of Ni based mesoporous alumina by Co incorporation in conversion of biogas to synthesis gas, *Applied Catalysis B: Environmental*. 198 (2016) 254–265.

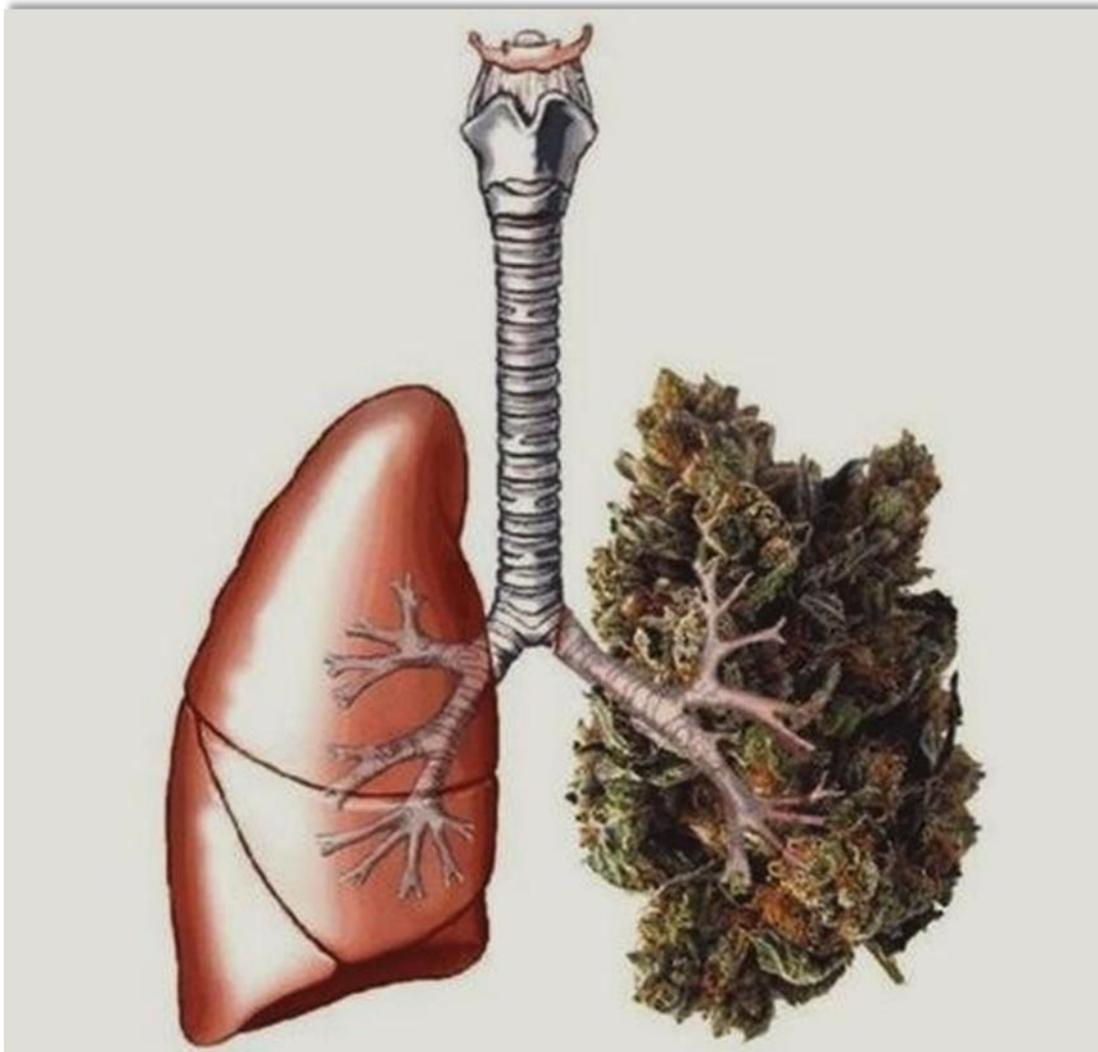
- [27] S.M. Sidik, S. Triwahyono, A.A. Jalil, Z.A. Majid, N. Salamun, N.B. Talib, T.A.T. Abdullah, CO₂ reforming of CH₄ over Ni–Co/MSN for syngas production: Role of Co as a binder and optimization using RSM, *Chemical Engineering Journal*. 295 (2016) 1–10.
- [28] M. Arnold, Reduction and monitoring of biogas trace compounds, *VTT Research Notes*. 2496 (2009) 74.
- [29] M. Abdollahifar, M. Haghghi, A.A. Babaluo, S.K. Talkhoncheg, Sono-synthesis and characterization of bimetallic Ni–Co/Al₂O₃–MgO nanocatalyst: Effects of metal content on catalytic properties and activity for hydrogen production via CO₂ reforming of CH₄, *Ultrasonics - Sonochemistry*. 31 (2016) 173–183.
- [30] P. Tan, Z. Gao, C. Shen, Y. Du, X. Li, W. Huang, Ni-Mg-Al solid basic layered double oxide catalysts prepared using surfactant-assisted coprecipitation method for CO₂ reforming of CH₄, *Chinese Journal of Catalysis*. 35 (2014) 1955–1971.
- [31] J. Estephane, S. Aouad, S. Hany, B. El Khoury, C. Gennequin, H. El Zakhem, J. El Nakat, A. Aboukaïs, E.A. Aad, CO₂ reforming of methane over Ni-Co/ZSM5 catalysts. Aging and carbon deposition study, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2015) 9201–9208.
- [32] A.F. Lucrédio, J.M. Assaf, E.M. Assaf, Reforming of a model sulfur-free biogas on Ni catalysts supported on Mg(Al)O derived from hydrotalcite precursors: Effect of La and Rh addition, *Biomass and Bioenergy*. 60 (2014) 8–17.
- [33] Y. Zhang, W. Wang, Z. Wang, X. Zhou, Z. Wang, C.-J. Liu, Steam reforming of methane over Ni/SiO₂ catalyst with enhanced coke resistance at low steam to methane ratio, *Catalysis Today*. 256 (2015) 130–136.
- [34] G. Nahar, D. Mote, V. Dupont, Hydrogen production from reforming of biogas: Review of technological advances and an Indian perspective, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 76 (2017) 1032–1052.
- [35] J. Zhang, F. Li, Coke-resistant Ni@SiO₂ catalyst for dry reforming of methane, *Applied Catalysis B: Environmental*. 176–177 (2015) 513–521.
- [36] X. Yu, N. Wang, W. Chu, M. Liu, Carbon dioxide reforming of methane for syngas production over La-promoted NiMgAl catalysts derived from hydrotalcites, *Chemical Engineering Journal*. 209 (2012) 623–632.
- [37] L. Chmielarz, P. Kuśtrowski, A. Rafalska-Łasocha, R. Dziembaj, Influence of Cu, Co and Ni cations incorporated in brucite-type layers on thermal behaviour of hydrotalcites and reducibility of the derived mixed oxide systems, *Thermochimica Acta*. 395 (2002) 225–236.
- [38] P. Arnoldy, J.A. Moulijn, Temperature-programmed reduction of CoO/Al₂O₃ catalysts, *Journal of Catalysis*. 93 (1985) 38–54.
- [39] C.B. Grzona, I.D. Lick, E.R. Castellón, M.I. Ponzi, E.N. Ponzi, Cobalt and KNO₃ supported on alumina catalysts for diesel soot combustion, *Materials Chemistry and Physics*. 123 (2010) 557–562.

- [40] V.R. Choudhary, B.S. Uphade, A.S. Mamman, Oxidative conversion of methane to syngas over nickel supported on commercial low surface area porous catalyst carriers precoated with alkaline and rare earth oxides, *Journal of Catalysis*. 172 (1997) 281–293.
- [41] A.F. Lucrédio, G. Jerkiewickz, E.M. Assaf, Nickel catalysts promoted with cerium and lanthanum to reduce carbon formation in partial oxidation of methane reactions, *Applied Catalysis A: General*. 333 (2007) 90–95.
- [42] J. Abou Rached, Production d'hydrogène par reformage catalytique du toluène sur des oxydes mixtes Ni-Mg-Al. Effet de l'ajout de cérium ou de lanthane, Thèse de doctorat en cotutelle, Université du Littoral Côte d'Opale et University of Balamand. (2017).
- [43] A. Rakib, Valorisation du méthane en hydrogène par reformage catalytique, Thèse de doctorat de l'Université du Littoral Côte d'Opale. (2012).
- [44] M. Nawfal, Valorisation catalytique du biogaz pour une énergie propre et renouvelable, Thèse de doctorat de l'Université du Littoral Côte d'Opale. (2015).
- [45] L. Wang, D. Li, H. Watanabe, M. Tamura, Y. Nakagawa, K. Tomishige, Catalytic performance and characterization of Co/Mg/Al catalysts prepared from hydrotalcite-like precursors for the steam gasification of biomass, *Applied Catalysis B: Environmental*. 150–151 (2013) 82–92.
- [46] A. Tsyganok, T. Tsunoda, S. Hamakawa, Dry reforming of methane over catalysts derived from nickel-containing Mg-Al layered double hydroxides, *Journal Catalysis*. 213 (2003) 191–203.
- [47] S. Takenaka, E. Kato, Y. Tomikubo, K. Otsuka, Structural change of Ni species during the methane decomposition and the subsequent gasification of deposited carbon with CO₂ over supported Ni catalysts, *Journal of Catalysis*. 219 (2003) 176–185.
- [48] D. Homsí, S. Aouad, C. Gennequin, A. Aboukaïs, E. Abi-Aad, A highly reactive and stable Ru/Co_{6-x}Mg_xAl₂ catalyst for hydrogen production via methane steam reforming, *International Journal of Hydrogen Energy*. 39 (2014) 10101–10107.
- [49] A. Serrano-Lotina, A.J. Martín, M.A. Folgado, L. Daza, Dry reforming of methane to syngas over La-promoted hydrotalcite clay-derived catalysts, *International Journal of Hydrogen Energy*. 37 (2012) 12342–12350.
- [50] A. Serrano-Lotina, L. Rodríguez, G. Muñoz, L. Daza, Biogas reforming on La-promoted NiMgAl catalysts derived from hydrotalcite-like precursors, *Journal of Power Sources*. 196 (2011) 4404–4410.
- [51] J.-M. Wei, B.-Q. Xu, J.-L. Li, Z.-X. Cheng, Q.-M. Zhu, Highly active and stable Ni/ZrO₂ catalyst for syngas production by CO₂ reforming of methane, *Applied Catalysis A: General*. 196 (2000) L167–L172.
- [52] S. A. Chattanathan, S.I Adhikari, M. McVey, O. Fasina, Hydrogen production from biogas reforming and the effect of H₂S on CH₄ conversion, *International Journal of Hydrogen Energy*. 39 (2014) 19905–19911.
- [53] V. Chiodo, S. Maisano, G. Zafarana, F. Urbani, Effect of pollutants on biogas steam reforming, *International Journal of Hydrogen Energy*. 42 (2017) 1622–1628.

- [54] S. Appari, V.M. Janardhanan, R. Bauri, S. Jayanti, O. Deutschmann, A detailed kinetic model for biogas steam reforming on Ni and catalyst deactivation due to sulfur poisoning, *Applied Catalysis A: General*. 471 (2014) 118–125.
- [55] W.S. Jablonski, S.M. Villano, A.M. Dean, A comparison of H₂S, SO₂, and COS poisoning on Ni/YSZ and Ni/K₂O-CaAl₂O₄ during methane steam and dry reforming, *Applied Catalysis A: General*. 502 (2015) 399–409
- [56] D. Laprune, C. Theodoridi, A. Tuel, D. Farrusseng, F.C. Meunier, Effect of polyaromatic tars on the activity for methane steam reforming of nickel particles embedded in silicalite-1, *Applied Catalysis B: Environmental*. 204 (2017) 515–524.
- [57] V.L. Dagle, R. Dagle, L. Kovarik, A. Genc, Y.-G. Wang, M. Bowden, H. Wan, M. Flake, V.-A. Glezakou, D.L. King, R. Rousseau, Steam reforming of hydrocarbons from biomass-derived syngas over MgAl₂O₄-supported transition metals and bimetallic IrNi catalysts, *Applied Catalysis B: Environmental*. 184 (2016) 142–152.
- [58] M. Benito, I. Ortiz, L. Rodríguez, G. Muñoz, Ni–Co bimetallic catalyst for hydrogen production in sewage treatment plants: Biogas reforming and tars removal, *International Journal of Hydrogen Energy*. 40 (2015) 14456–14468.

CHAPITRE IV

EFFET TOXICOLOGIQUE DU BIOGAZ



Sommaire

CHAPITRE IV	164
EFFET TOXICOLOGIQUE DU BIOGAZ	164
A. Etude bibliographique.....	167
1. Biogaz et santé humaine	167
2. Mécanismes toxicologiques.....	169
2.1. Stress oxydant.....	170
2.2. Inflammation	172
2.3. Génotoxicité	173
2.4. Apoptose.....	175
3. Biogaz et cellules.....	176
4. Choix des voies toxicologiques et des gènes à étudier	178
4.1. Stress oxydant.....	178
4.2. Métabolisation des composés organiques	179
4.3. Inflammation	180
4.4. Cycle cellulaire.....	181
4.5. Génotoxicité	183
5. Exposition des cellules par le modèle Vitrocell®	184
B. Matériels et méthodes	187
1. Matériels chimiques.....	187
1.1. Gaz testés.....	187
1.2. Réactifs et consommables	188
3. Méthodes	191
3.1. Culture cellulaire	191
3.2. Système Vitrocell®	193
4. Exposition.....	194
4.1. Conditions d'exposition aux mélanges gazeux	194
4.2. Exposition avec sac Tedlar.....	196
4.3. Récupération des cellules et du surnageant.....	197
5. Expression génique par RT-qPCR.....	197
5.1. Principe.....	197
5.2. Protocole expérimental.....	200
5.2.1. Extraction des ARN, des ADN, et des protéines	200
5.2.2. Dosage de la qualité des ARN (analyse en électrophorèse sur puce).....	201

5.2.3. Rétro-transcription des ARN messagers (ARNm).....	202
5.2.4. PCR.....	202
5.3. Quantification relative.....	203
C. Résultats et discussion.....	205
1. Exposition des cellules aux biogaz bruts et propre pendant différentes durées	206
2. Exposition des cellules aux biogaz brut et propre avec différentes concentrations	211
3. Conclusion.....	213
Références bibliographiques.....	215

Ce dernier chapitre aborde l'aspect toxicologique du biogaz issu de la biométhanisation des déchets ménagers. Dans un premier temps, une étude bibliographique sur l'effet des composants du biogaz sur la santé humaine sera effectuée. Cette étude sera suivie d'une description des mécanismes toxicologiques les plus importants, tout en précisant le rôle des gènes principaux impliqués. La partie expérimentale sera ensuite divisée entre la préparation et l'exposition des cellules pulmonaires aux mélanges gazeux en question. Enfin, les résultats seront analysés puis interprétés.

A. Etude bibliographique

1. Biogaz et santé humaine

Le biogaz brut produit par la biométhanisation de déchets ménagers contient de nombreux composés chimiques dangereux, soit sous forme de traces, soit en quantité significative. De façon globale, ces gaz contiennent comme composant principal du méthane (CH_4), du dioxyde de carbone (CO_2), de l'hydrogène sulfuré (H_2S) et de l'eau. Ils comportent aussi des quantités variables d'azote (N_2), d'oxygène (O_2), d'ammoniac (NH_3) et de composés organiques volatils (COV) comme les BTEX (Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylène) et les terpènes présents à l'état de traces (Cf. partie I.A.3.1). L'analyse du biogaz brut impose de prendre en compte les risques sanitaires. L'aspect toxicité est un point sensible. En effet, plusieurs accidents sont survenus dans des centres de méthanisation. Parmi ceux-ci le plus grave provoqua le décès de quatre personnes sur un site de méthanisation à Rhadereistedt en Allemagne [1]. La cause principale de l'accident était une fuite de produits toxiques en particulier H_2S et probablement NH_3 .

Dans ce qui suit, les dangers des composants chimiques du biogaz brut pour la santé humaine sont résumés.

Les principaux risques liés au biogaz sont l'inflammabilité du méthane et son explosion en cas de fuite. Le mélange méthane-air est en effet dangereux lorsque la concentration du méthane dans l'air varie entre 5 et 15 % en volume. Ce danger est d'autant plus grand que le méthane est un gaz inodore et incolore, donc non détectable par les sens humains. Le dégagement en grande quantité du méthane, ainsi que des gaz inertes, dioxyde de carbone et azote, conduit à une dilution de l'air, donc à une diminution de la concentration en oxygène. Si

cette diminution est importante, il existe alors un risque d'asphyxie; sachant que la teneur minimale réglementaire en oxygène dans un lieu de travail est de 19 % [2–4].

Concernant le dioxyde de carbone, les premiers effets sanitaires apparaissent lors de l'inhalation d'une atmosphère contenant 2 % de CO₂, avec une augmentation de l'amplitude respiratoire. À partir de 4 %, la fréquence respiratoire s'accélère et la respiration devient pénible. Le coma et la mort peuvent avoir lieu à des concentrations de 20 % [5].

Les mercaptans qui sont les composés organiques soufrés sont souvent toxiques. Ils induisent des nausées, des vomissements et des diarrhées, une irritation pulmonaire se traduisant par une douleur thoracique et des toux, puis une dépression respiratoire [6]. Les risques d'intoxication avec le biogaz brut se rapportent surtout à la présence d'hydrogène sulfuré reconnaissable à son odeur d'œuf pourri. Compte-tenu de son taux assez important dans le mélange, de l'ordre d'une centaine de ppm, le sulfure d'hydrogène peut avoir des effets délétères irréversibles sur la santé humaine. A partir de 0,008 ppm, son dégagement est facilement détectable à l'odorat. À plus haute concentration, il provoque des nausées, des maux de tête et des vomissements. Entre 50 et 150 ppm, le nerf olfactif se paralyse d'où le risque d'intervenir dans des atmosphères chargées en H₂S sans être alertés par son odeur caractéristique. Dès que la concentration atteint 300 ppm, un œdème pulmonaire peut survenir et une perte de connaissance rapide peut être provoquée à des concentrations supérieures à 500 ppm. Au-delà de 1000 ppm, le sulfure d'hydrogène affecte le système nerveux central et provoque la mort [1] [2]. Il est à rappeler qu'au niveau français, l'exposition professionnelle à l'H₂S est réglementée. La Valeur Limite d'Exposition Professionnelle (VLEP) recommandée est de 5 ppm pendant 8 heures et la Valeur Limite à Court Terme (VLCT) est de 10 ppm pendant 15 minutes [7].

Parmi les composés azotés, l'ammoniac est connu pour sa capacité neurotoxique très puissante. Bien que sécrété par le corps humain notamment au cours du métabolisme des acides aminés, l'ammoniac est toxique en cas de concentration élevée dans le sang [8]. La VLEP est de 10 ppm pendant 8 heures et la VLCT est de 14 ppm pendant 15 minutes [9].

Parmi les COV, les BTEX sont connus pour leur toxicité. Certains d'entre eux sont d'ailleurs classés dans la catégorie 1 par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) ce qui signifie qu'ils sont considérés comme cancérigènes avérés chez l'homme. Lors

d'intoxications par inhalation de toluène, des taux de 100 ppm pendant 8 heures entraînent de la fatigue, des céphalées et des vertiges. Une faiblesse musculaire s'ajoute à 200 ppm, et une confusion mentale à 400 ppm. À 500 ppm, apparaissent des nausées et à 600 ppm, un vertige est ressenti [10]. Dans le cas du benzène, des doses de 50 à 100 ppm provoquent des céphalées, des symptômes plus accentués sont ressentis à 500 ppm. Des teneurs de 3 000 ppm pendant 30 à 60 minutes entraînent une tolérance, et une exposition de 20 000 ppm conduit à la mort en 5 à 15 minutes [11]. L'exposition à des vapeurs d'éthylbenzène cause une irritation transitoire des yeux pour une concentration de 200 ppm. Lorsque la concentration augmente, une irritation de la muqueuse nasale et du tractus respiratoire supérieur a lieu. A partir de 5 000 ppm, des signes de dépression du système nerveux central (fatigue, incoordination motrice) apparaissent [12]. Pour le xylène, les symptômes les plus fréquents sont d'abord des céphalées pour des concentrations de l'ordre de 200 ppm, puis une sensation de vertiges accompagnée de nausées et, enfin, lors d'exposition à de très fortes concentrations, un coma [13].

Des taux élevés de terpènes ne sont pas à exclure dans notre étude. Il est difficile de déterminer la toxicité des terpènes car les études publiées jusqu'à présent les présentent comme des agents anticancéreux. Classés en catégorie 3 par le CIRC, ils sont évalués comme étant « non classables pour leur cancérogénicité pour l'homme ». En cas d'expositions aiguës, l'inhalation du limonène peut, par exemple, causer des irritations des voies aérodigestives supérieures et, à fortes concentrations, des céphalées, des nausées, des vomissements voire des coma [14].

Pour mieux comprendre les risques sanitaires liés à l'exposition aux biogaz brut, il est nécessaire de connaître les différents mécanismes toxicologiques existants, avant de s'intéresser aux mécanismes d'action potentiellement impactés par les substances composant les biogaz.

2. Mécanismes toxicologiques

La toxicité d'une substance est sa capacité à provoquer un effet délétère sur un organisme vivant. Quatre mécanismes toxicologiques différents sont étudiés dans le présent travail: le stress oxydant qui est le déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans le corps et ses défenses antioxydantes ; la réponse inflammatoire, qui permet la défense immunitaire du corps contre les dommages causés par des agents agressifs ; les atteintes génotoxiques, qui correspondent aux toxicités exercées, directement ou indirectement, sur le

matériel génétique des cellules ; et enfin l'apoptose définie par la mort cellulaire programmée qui est essentielle pour l'élimination des cellules endommagées, ce qui permet la survie de l'organisme.

2.1. Stress oxydant

Le dioxygène (O_2), indispensable à la vie, est nécessaire pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons existant dans les mitochondries des cellules. Entre 1 et 3% de l'apport pulmonaire de l'oxygène chez les humains subit une réduction conduisant à la production d'eau [15]. L' O_2 est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leurs orbitaux externes deux électrons non appariés. La réduction de l'oxygène en eau nécessite l'apport de 4 électrons qui peuvent s'additionner un par un, successivement sur O_2 , en formant les espèces réactives oxygénées [16]. Ce sont de petites substances chimiques possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche de valence. Elles peuvent être ou non des radicaux comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$, le radical hydroxyle HO^{\cdot} (Figure 4.1).

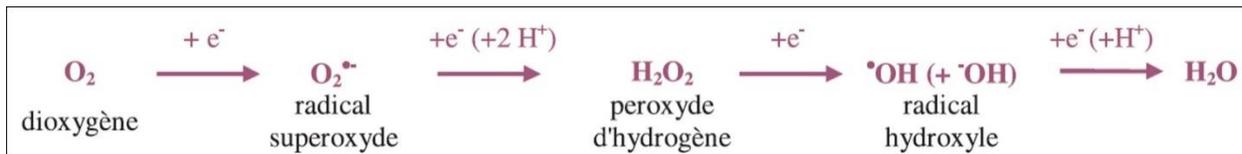


Figure 4. 1: Etapes de réduction monoélectronique de l'oxygène produisant les ERO [17]

Les ERO étant continuellement générées dans les cellules aérobies, un ensemble complexe de défenses antioxydantes évolue avec le métabolisme cellulaire afin de prévenir leurs conséquences délétères. Deux sources d'antioxydants existent : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes (vitamines C, E); l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase SOD, glutathione peroxydase GPX, catalase CAT), de protéines (ferritine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs (endonucléases). A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes [16]. Ces systèmes antioxydants agissent en synergie pour protéger les cellules des dommages oxydatifs. Selon le type, les antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant les ERO, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant les métaux de transition libres ou en dégradant les produits d'oxydation dans les cellules.

Un déséquilibre entre la production des ERO et les défenses antioxydantes peut conduire à des altérations cellulaires, c'est le stress oxydant [18][19]. Ce déséquilibre est généralement dû à une défaillance des systèmes de défense antioxydants, et/ou à une surproduction d'ERO.

Les ERO peuvent être d'origine endogène, tels que les sous-produits du métabolisme normal de l'oxygène comme la chaîne respiratoire mitochondriale. Il existe également des facteurs exogènes amenant à la production d'ERO et donc à une induction du stress oxydant : expositions prolongées au soleil et aux radiations, contacts avec des agents cancérigènes, tabagisme, prise de médicaments, consommation excessive d'alcool, exposition aux polluants atmosphériques gazeux et particuliers [20].

Les ERO non éliminées par les systèmes antioxydants sont alors capables d'interagir avec différentes macromolécules cellulaires, conduisant à des lésions des acides nucléiques, des protéines, et des lipides [15] [21]. Sous l'effet direct des ERO, les molécules biologiques cibles peuvent être soit oxydées sur des sites spécifiques, soit clivées, ou au contraire polymérisées. Une des atteintes cellulaires les plus caractéristiques du stress oxydant est la peroxydation lipidique, qui désigne l'attaque des lipides insaturés des membranes par des radicaux libres. Les métabolites formés constituent de puissants inducteurs de la réponse inflammatoire. L'altération des phospholipides membranaires induit la diminution de la fluidité et de la résistance des membranes cellulaires, voire des lésions membranaires conduisant à la mort cellulaire [22]. D'autre part, le stress oxydant sur les protéines se traduit par l'altération de leurs chaînes d'acides aminés, le clivage radicalaire de leurs peptides et leurs réactions avec les intermédiaires issus de la peroxydation lipidique. Généralement, les protéines perdent leur fonction biologique (enzyme, récepteur) deviennent plus sensibles à l'action des protéases, et très hydrophobes [21]. Enfin, les macromolécules telles que les acides nucléiques représentent des cibles potentielles des ERO. L'ADN constitue ainsi une cible privilégiée pour les ERO, surtout celui mitochondrial, du fait de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de la chaîne respiratoire mitochondriale, l'une des principales sources des ERO cellulaires. Les dommages à l'ADN induits par les ERO regroupent soit des mutations ponctuelles dans le génome, soit une impossibilité de la réplication de l'ADN qui aboutira à l'apoptose [23].

Le stress oxydatif provoque par conséquent deux types de réactions importantes, l'inflammation et les mutations géniques. Il cause des phénomènes de prolifération tumorale, et joue également un rôle important dans certains cancers et maladies [21].

2.2. Inflammation

L'inflammation est une réaction de défense immunitaire du corps aux dommages causés par des agents agresseurs. Son but est de neutraliser, combattre ou éliminer cet agent et de réparer les tissus affectés [24]. Les causes de l'inflammation sont multiples. Elles peuvent être endogènes tels que les allergies, anomalie de la réponse immunitaire, ou exogènes, telles que les produits chimiques (xénobiotique), les agents physiques (radiation, chaleur, froid) et les agents infectieux (virus, bactérie, champignons).

L'inflammation aiguë est une réaction immédiate à l'agent agresseur, et qui dure entre quelques jours et plusieurs semaines. Au contraire, l'inflammation chronique n'a aucune tendance à la guérison spontanée et évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années [24].

La réaction inflammatoire consiste en différents événements bien orchestrés dans lesquels des cellules, des vaisseaux et de nombreux médiateurs biochimiques, agissent pour préserver l'homéostasie du tissu [25]. Ainsi, lors d'une agression, les cellules immunitaires détectent la présence du pathogène et libèrent des médiateurs de l'inflammation dans le milieu extracellulaire. Les effets combinés de ces médiateurs permettent le recrutement de cellules circulantes, l'élimination du pathogène et la réparation de la lésion.

Plusieurs types de médiateurs interviennent dans l'inflammation. Ces médiateurs peuvent être plasmatiques ou cellulaires. Parmi les médiateurs cellulaires, les cytokines sont les plus importantes. Les cytokines (du grec cyto = cellules et kinos = mouvement) sont des glycoprotéines de faibles poids moléculaire (8 à 50 kDa) libérées par les cellules et qui interviennent dans leur communication. Ces médiateurs régulent l'intensité et la durée de la réponse immunitaire en participant aux divers processus physiologiques tels que la prolifération, la différenciation, l'activation cellulaire et l'apoptose, ainsi qu'en régulant la sécrétion des autres cytokines [25] [26]. Les cytokines comprennent les interleukines sécrétées par une large variété de tissus et de cellules telles que les leucocytes, celles sécrétées par les lymphocytes sont nommées les lymphokines et celles sécrétées par les monocytes ou les macrophages sont

nommées les monokines. Le mode d'action des cytokines peut être autocrine (action sur les cellules sécrétrices elles-mêmes), paracrine (action sur des cellules voisines) ou endocrine quand les cytokines empruntent les systèmes circulatoires pour agir à distance [27].

2.3. Génotoxicité

La génotoxicité s'exerce, de manière directe ou indirecte, sur le matériel génétique des cellules [28]. L'ADN est la macromolécule biologique porteuse de notre information génétique. L'ADN est un polymère de bases désoxyribonucléiques, appelées nucléotides. Chaque nucléotide est constitué d'un groupement phosphate lié à un sucre, le désoxyribose, lui-même lié à une base azotée (adénine A, thymine T, cytosine C, guanine G). La répétition sucre-phosphate forme le squelette de l'ADN. L'ADN peut être répliqué (copié au travers des générations cellulaires successives), transcrit en ARN messager qui sera traduit en protéines, et réparé en cas de besoin.

En fait, l'ADN est soumis à de multiples attaques inévitables, du milieu intracellulaire et de l'environnement [29]. Les sources exogènes de lésions de l'ADN sont d'origines multiples : rayonnement UV, radiations ionisantes, virus ou encore agents chimiques. En ce qui concerne les sources endogènes, le stress oxydant s'avère être le principal facteur induisant des lésions de l'ADN [30]. Ces attaques sont susceptibles de conduire à des lésions du génome et de compromettre son intégrité physique ou fonctionnelle.

La génotoxicité directe se traduit par une interaction physique entre l'agent génotoxique et l'ADN. Les actions génotoxiques directes peuvent toucher différentes régions du nucléotide, conduisant à des modifications ou des suppressions au niveau des bases, à des cassures simple ou double-brin, à des pontages basiques intra-brin et à des pontages entre l'ADN et d'autres macromolécules intracellulaires qui ont été la cible d'espèces oxydantes [31]. Suite à ces pontages, des intermédiaires réactifs issus de l'oxydation des lipides ou des protéines peuvent former des adduits à l'ADN [32].

La figure 4.2 présente les différents types de lésions primaires de l'ADN.

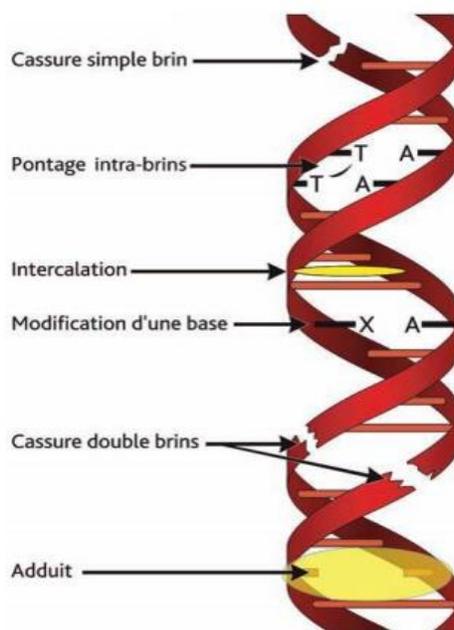


Figure 4. 2: Différents types de lésions primaires de l'ADN

Les conséquences de ces lésions de l'ADN sont multiples et le plus souvent délétères [33]. A court terme, elles peuvent mener à la mort cellulaire par apoptose si la quantité de lésions est trop importante pour être réparée. Si la réparation est possible, le cycle cellulaire est arrêté afin de permettre cette réparation de l'ADN lésé. La suppression des lésions est indispensable à l'intégrité du génome et à la survie de la cellule avant qu'elles ne soient engagées dans la réplication ou la transcription. La plupart des lésions génotoxiques sont réparées et ne sont jamais exprimées sous la forme de mutations. En cas de non-réparation et d'accumulation, les lésions engendrent des mutations au niveau des gènes (une à quelques paires de bases), des chromosomes ou du génome (bras de chromosomes entiers). Ces mutations peuvent entraîner la mort de la cellule ou l'apparition de tumeurs [33].

Les agents génotoxiques indirects induisent principalement des mutations chromosomiques en agissant, non pas sur l'ADN, mais sur les différents systèmes intracellulaires impliqués dans la disjonction, la ségrégation et la migration des chromatides au cours de la division cellulaire (fuseau mitotique). Les agents génotoxiques indirects peuvent également exercer leur action délétère en se liant, par exemple, à des protéines impliquées dans le maintien de l'intégrité du génome telles que les enzymes de réparation de l'ADN, les protéines impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire [34].

La figure 4.3 montre les effets des agents toxiques directs et indirects sur l'ADN.

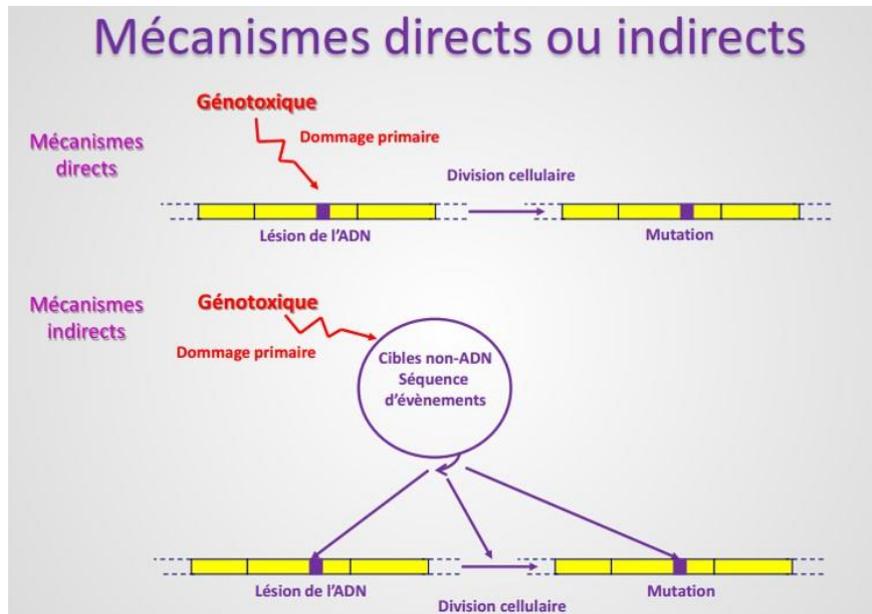


Figure 4. 3: Effets des agents toxiques directs et indirects sur l'ADN

2.4. Apoptose

L'apoptose (du grec, apo pour éloignement et ptose pour chute) est une forme de mort cellulaire, hautement régulée et ordonnée en différentes étapes. Cette mort est indispensable à la survie de notre organisme; elle élimine les cellules endommagées ou néfastes maintenant ainsi son intégrité [29]. Ce processus de mort programmée permet à l'organisme d'éliminer les cellules cibles sans provoquer l'inflammation du tissu. L'apoptose se déclenche sous l'influence de différents facteurs comme le stress oxydatif, les lésions de l'ADN, le facteur de nécrose tumorale (TNF) [35]. Elle peut être déclenchée par deux voies différentes : par la surface des cellules via les récepteurs de mort (voie extrinsèque) ou par la mitochondrie au travers de signaux internes (voie intrinsèque) [35].

L'apoptose se manifeste suivant un enchaînement de phénomènes complexes correspondant à une rétraction progressive de la cellule. Cette séquence comprend le bourgeonnement de la membrane plasmique, la condensation du noyau et du cytoplasme, suivie de leur découpage aboutissant à la formation de fragments cellulaires appelés corps apoptotiques. Ces derniers seront ensuite phagocytés par des macrophages ou par les cellules normales du voisinage.

L'intégrité de l'organisme sera menacée si un déséquilibre entre la mort et la croissance cellulaire a lieu. Une inhibition de l'apoptose va laisser proliférer des cellules néfastes, et peut

contribuer à la formation de cancers. Au contraire, une stimulation de l'apoptose peut conduire l'organisme à se retourner contre lui-même comme dans le cas du SIDA où une apoptose accrue des lymphocytes T4 est déclenchée.

3. Biogaz et cellules

Vu la multiplicité de ses composants, il est difficile de se prononcer simplement sur l'aspect toxicologique du biogaz. Ses deux composés majeurs, le CH₄ et le CO₂ sont deux gaz asphyxiants mais non toxiques au niveau métabolique. Alors que d'autres composés comme l'H₂S, les NO_x et certains COV sont bien connus pour leurs effets toxiques chez l'homme. Afin de comprendre au mieux les conséquences que ces composés pourraient entraîner dans le fonctionnement des cellules, des recherches monographiques sur la toxicité de chaque composé ont été effectuées.

Le sulfure d'hydrogène est depuis longtemps connu pour ses propriétés toxiques. Eghbal et al. [36] ont étudié la toxicité du sulfure d'hydrogène, en dissolvant du NaHS dans un tampon (pH = 7,4) afin d'exposer des hépatocytes. Le sulfure d'hydrogène s'échappe ainsi en tant que gaz des solutions dans lesquelles les cellules ont été suspendues. Ils ont mis en évidence que l'activation métabolique de H₂S contribue à la formation des ERO, suite à l'inhibition du cytochrome oxydase impliqué dans la chaîne respiratoire mitochondriale, ce qui perturbe le transport d'électrons. Certains électrons échappent de la chaîne pour réduire l'oxygène moléculaire (O₂) et former du superoxyde (O₂^{•-}) puis du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) [37–40]. L'exposition à des taux élevés de H₂S entraîne la formation des ERO et provoque ainsi un stress oxydatif. Attene-Ramos et al. [41] ont prouvé que H₂S est génotoxique après exposition de cellules intestinales humaines à ce gaz. Le gaz perturbe l'expression des gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire, affectant la prolifération cellulaire. H₂S a été impliqué aussi dans la promotion de l'inflammation, en induisant la synthèse de cytokines pro-inflammatoires IL-8 après une exposition de 4 heures. Hoffmsan et al. [42] ont démontré que le H₂S est mutagène puisqu'un clivage de l'ADN à brin simple est initié, dans les conditions physiologiques, par une autoxydation de H₂S pour générer du superoxyde, du peroxyde d'hydrogène et, finalement, le radical hydroxyle, l'agent endommageant l'ADN. Ils signalent en plus que la production des ERO (spécifiquement H₂O₂) peut expliquer la capacité du H₂S à activer les facteurs de transcription tels que Nrf2 impliqué dans le stress oxydant. Baskar et al. [43] ont traité des

fibroblastes pulmonaires humains avec le NaHS ce qui a induit une augmentation de micronoyaux suggérant des dommages à l'ADN et l'arrêt du cycle cellulaire (phase G1). Selon eux, l'action génotoxique de H₂S entraîne la cellule vers la mort apoptotique déclenchée par la stabilisation de P53.

En ce qui concerne les COV, Pariselli et al. [44] ont étudié l'exposition des cellules pulmonaires épithéliales (A549) à de faibles concentrations de toxiques pour évaluer leurs effets biologiques. Ils ont exposé les cellules à des teneurs variant de 0,1 à 0,6 ppmv de toluène et de 0,1 à 0,3 ppmv de benzène dans l'air. Une réponse inflammatoire a été induite suite à l'exposition à ces composés aromatiques, avec une augmentation de la libération d'IL-8. De plus, Fischader et al. [45] ont exposé des cellules épithéliales de poumon humain (A549) à des COV (1 ng/m³ - 100 g/m³) en phase gazeuse. Après 20 heures d'exposition, la libération des molécules pro-inflammatoires a été analysée, et plus précisément la protéine chimiotactile monocytaire-1 (MCP-1) et l'interleukine-8 (IL-8). L'exposition des cellules A549 au chlorobenzène, au styrène ou au *m*-xylène a augmenté la production de MCP-1 dans la marge de concentration 1 à 25000 µg/m³, des concentrations plus élevées ont augmenté la sécrétion d'IL-8. L'exposition à des mélanges de composés aromatiques a provoqué des effets biologiques comparables, mais à plus faibles concentrations, à ceux des composés seuls sur MCP-1 et IL-8.

Gmowski et al. [46] ont évalué la toxicité de quelques terpènes (α -pinène, Δ^3 -carène) dans des cellules pulmonaires A549 humaines. Après une heure d'exposition, aucun effet cytotoxique ni génotoxique n'a été observé pour les mélanges de terpènes. Alors l' α -pinène et le Δ^3 -carène n'ont pas induit d'effets toxiques, même à de fortes concentrations d'exposition allant respectivement jusqu'à 1800 mg/m³ et 600 mg/m³. Anderson et al. [47] ont également utilisé des cellules A549 pour étudier les effets indésirables suite aux expositions au limonène (20 ppm). Des durées d'exposition d'une heure et de quatre heures ont été réalisées. Pour une heure d'exposition, le limonène a entraîné des augmentations significatives de l'IL-8 et du MCP-1 24 heures après l'exposition. Pour l'exposition pendant quatre heures, des augmentations statistiquement significatives de l'IL-8, 12 heures après exposition et du MCP-1, 12 et 24 heures après exposition, ont été observés.

Enfin, par rapport aux composés azotés, Walker et al. [8] ont noté l'augmentation de la production d'espèces réactives d'oxygène par des astrocytes (cellules du système nerveux

central) suite à leur exposition à l'ammoniac. Ces résultats sont expliqués par l'augmentation de la production de la chaîne respiratoire, et par la perméabilité de la membrane mitochondriale, médiée par l'augmentation de Ca^{2+} intracellulaire, qui entraîne un gonflement mitochondrial et une rupture de la membrane mitochondriale externe. César et al. [48] ont indiqué que le NO_2 est un gaz toxique qui déclenche des processus inflammatoires dans tout le système respiratoire, du nez aux alvéoles pulmonaires. Demetriou et al. [49] ont lié la libération des marqueurs d'inflammation par les cellules épithéliales bronchiques à l'exposition à la pollution de l'air ambiant contenant des NO_x . Par contre, Mostafavi et al. [50] ont rapporté une association inverse entre l'exposition à long terme au NO_x et quelques marqueurs inflammatoires, tels que l'IL-8, chez un grand nombre d'individus.

4. Choix des voies toxicologiques et des gènes à étudier

Grâce à l'étude bibliographique menée précédemment, plusieurs voies et gènes ont été choisis pour étudier la toxicité du biogaz brut et valorisé.

4.1. Stress oxydant

Au niveau du stress oxydant, nous abordons en premier lieu Nrf2.

NFE2L2 (Nuclear factor erythroid 2-like 2), couramment connu sous le nom de Nrf2, est un facteur de transcription sensible au potentiel redox et qui joue un rôle essentiel de protection contre le stress oxydant induit par les polluants et les toxiques environnementaux [51]. Il est exprimé de manière ubiquitaire dans les poumons chez l'homme, principalement par les cellules épithéliales et les macrophages alvéolaires [52] [53]. Nrf2 est activé en réponse au stress oxydatif et son activation pourrait donc être utilisée comme indicateur de génération des ERO qui dépassent les systèmes de défense antioxydants existants [18]. Lorsque l'équilibre redox est perturbé par une molécule oxydante, les processus antioxydants permettent de restaurer l'homéostasie redox de la cellule, par le facteur de transcription nucléaire Nrf2. Ce dernier réside principalement dans le cytoplasme où il interagit avec la protéine cytosolique Keap1 (protéine 1 associée à l'ECH Kelch-like) [54]. Le stress oxydant stimule la protéine Keap1 et entraîne l'activation et la libération de Nrf2 du complexe Keap1-Nrf2. Nrf2 activé est alors transloqué dans le noyau et forme un complexe avec des petites protéines Maf (c-jun, c-fos,) (Figure 4.4). Cet hétérodimère interagit avec l'élément de réponse antioxydant (ARE) présent dans les régions promotrices (régulatrices) des gènes cytoprotecteurs [55]. L'interaction de Nrf2 avec ARE induit

l'expression des gènes antioxydants tels que l'hème oxygénase-1 (HO-1), la NADPH quinone oxydoréductase-1 (NQO-1), l'époxyde hydrolase-1 (EPHX-1) et les glutathion-S-transférases (GST) [52]. Nrf2 est impliquée dans la protection contre des maladies respiratoires comme l'asthme, la fibrose et les agressions pulmonaires aiguës et la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) [18] [53].

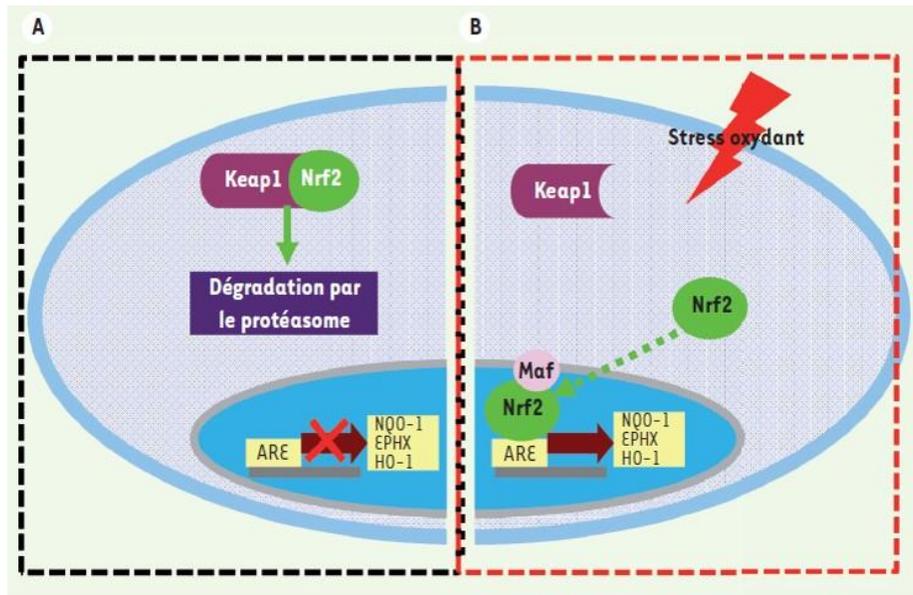


Figure 4. 4: Voie de signalisation de Nrf2 et transcription du gène antioxydant HO-1
A. En conditions basales, Keap1 se lie au Nrf2 qui est ainsi dégradé par le protéasome. B. En réponse au stress oxydant, Nrf2 est libéré de Keap1 et migre dans le noyau où il s'hétérodimérise avec d'autres facteurs de transcription comme les protéines Maf pour induire la transcription des gènes dépendants d'ARE, en particulier HO-1, ce qui rétablit ainsi l'équilibre pro-oxydants/antioxydants [53]

Dans ce travail, le gène antioxydant HO-1, transcrit par la voie de signalisation du Nrf2 sera aussi étudié [56] [57]. Cette enzyme constitue un bon marqueur du stress oxydant [58–60]. Dans le poumon, HO-1 est exprimé dans différents types de cellules, y compris les pneumocytes de type II (cellules tapissant l'intérieur des alvéoles pulmonaires) et les macrophages alvéolaires. L'expression HO-1 est régulée dans plusieurs maladies pulmonaires, y compris le syndrome de détresse respiratoire aiguë, la bronchopneumopathie chronique obstructive et l'asthme [61].

4.2. Métabolisation des composés organiques

Au niveau de la biotransformation des composés organiques, nous étudions le CYP1A1.

Cette enzyme est généralement exprimée dans les poumons, par l'intermédiaire des cellules bronchiales épithéliales [62–66]. L'induction de l'expression de CYP1A1 est médiée par

un récepteur nucléaire spécifique, le récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR) (Figure 4.5). L'AhR non lié réside dans le cytoplasme, formant un complexe de protéines cytosoliques, qui consiste en une protéine XAP2, deux protéines de choc thermique Hsp-90 et une co-chaperonne p23 à interaction Hsp-90. Les ligands exogènes, plus spécifiquement les composés organiques, se lient directement, après leur entrée dans la cellule, au complexe AhR-protéines, et l'ensemble se transloque dans le noyau [67]. Les protéines liées s'y dissocient et l'AhR s'hétérodimérise avec une autre protéine, le translocateur nucléaire d'AhR (ARNT, AhR Nuclear Translocator) [68]. Cet hétérodimère se lie à des séquences régulatrices appelées éléments de réponse xénobiotiques (XRE) et active l'expression des gènes tel que CYP1A1 [69] [70]. L'expression des gènes cibles dépend presque totalement de l'activité AhR qui est induite par sa liaison aux XRE. L'inhibition de la fonction AhR est effectuée par le répresseur de l'AhR (AhRR). Ainsi, la liaison du complexe AhR / ARNT à XRE est inhibée par le dimère ARNT / AhRR, qui arrête la transcription initiée aux XRE [71].

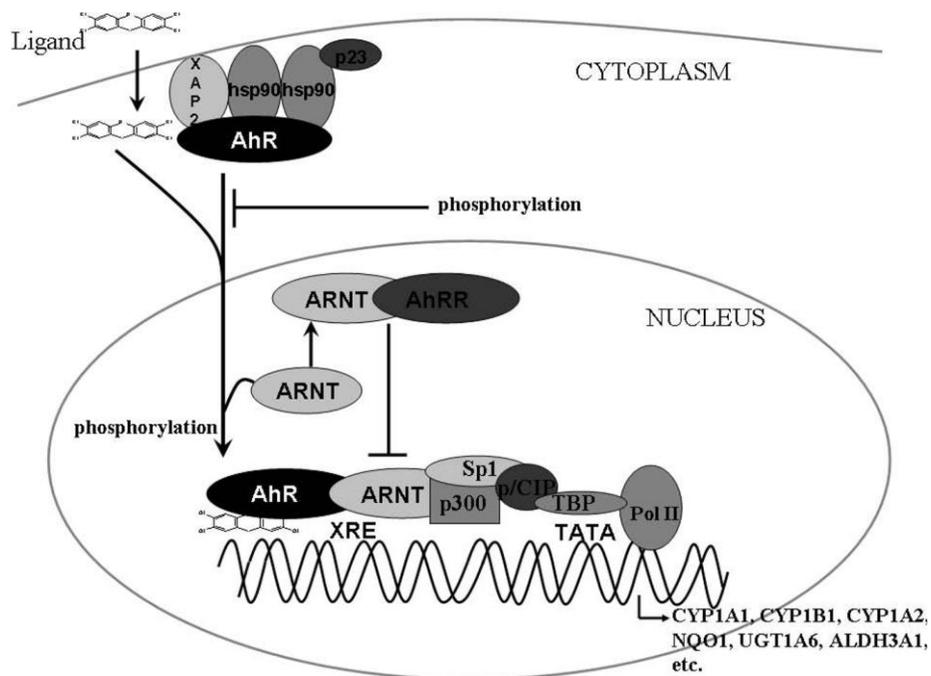


Figure 4. 5: Voie de signalisation du CYP1A1 [67]

4.3. Inflammation

Au niveau inflammatoire, une des cytokines mesurées est l'IL-8, vu son rôle dans les inflammations aiguës des voies respiratoires [44] [72].

IL-8, ou CXCL8 en nomenclature internationale, est produite par de nombreuses cellules stimulées (monocytes, macrophages, cellules épithéliales...) et possède un pouvoir chimiotactique vis-à-vis des cellules circulantes, plus particulièrement les neutrophiles, par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique (IL-8 R) [72] [73]. Les molécules impliquées dans la signalisation cellulaire, comme le facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et IL-1 β , stimulent les cellules (monocytes, macrophages, cellules endothéliales) pour produire IL-8 [74]. IL-8 stimule à son tour les neutrophiles circulants vers un foyer inflammatoire. Une fois ces derniers arrivés au site de l'inflammation, IL-8 les stimule davantage pour effectuer la phagocytose, augmentant ainsi l'efficacité de la réparation des tissus [75]. En effet, IL-8 stimule la production des radicaux libres par les neutrophiles, et stimule la dégranulation de ces cellules (exocytose de vésicules cytoplasmiques présentes dans les cellules) qui libèrent leur contenu intracellulaire, causant des dommages au tissu-hôte et aboutissant à des états d'inflammation aiguë [73] [76]. IL-8 intervient dans les pathogénèses liées à l'inflammation des voies respiratoires surtout l'asthme sévère, la mucoviscidose et la BPCO [72] [75].

Une deuxième chimiokine a été mesurée lors de ce travail, il s'agit de MCP-1.

La protéine chimioattractive monocytaire-1 (MCP-1) est fortement exprimée dans les poumons lors des troubles inflammatoires pulmonaires [77]. MCP-1 est produit par de nombreux types de cellules, y compris les cellules épithéliales, endothéliales, fibroblastes, soit constitutivement, soit après induction par le stress oxydatif via NF- κ B, par des cytokines (IL-1 β , IL-4, IL-13) ou par des facteurs de croissance (TNF- α) [78]. MCP-1 est ainsi un facteur inévitable dans le recrutement de cellules inflammatoires, telles que les neutrophiles, les macrophages et les lymphocytes [79] [80]. Il est sécrété dans le système lymphatique pour recruter les cellules immunitaires, du compartiment vasculaire vers l'espace broncho-alvéolaire [81] [82].

4.4. Cycle cellulaire

Pour l'étude du cycle cellulaire, les gènes c-jun et c-fos ont été choisis.

c-jun et c-fos apparaissent parmi les premiers facteurs de transcription, dont la principale mission est de contrôler la division cellulaire. Ces gènes sont impliqués dans la synthèse des protéines responsables de la transition de l'état quiescent G0 à l'état préparatoire de la division cellulaire G1 dans le cycle cellulaire (Figure 4.6).

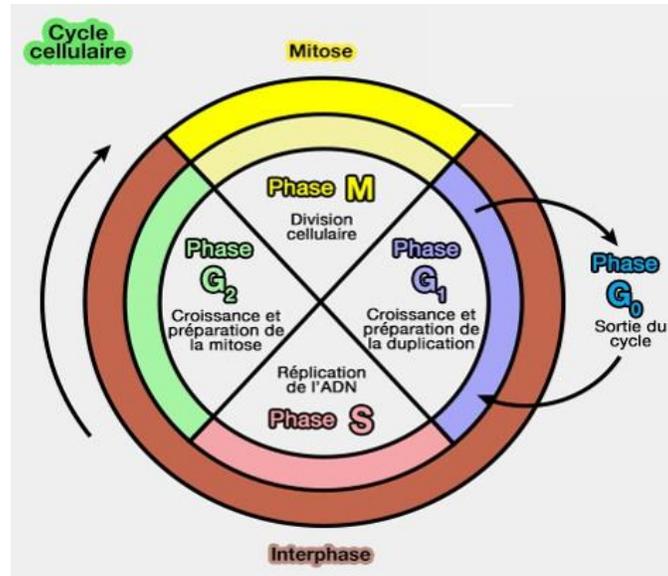


Figure 4. 6: Schéma représentatif du cycle cellulaire

c-jun et c-fos sont soumis à une régulation par divers stimuli, qui comprennent le stress, les facteurs de croissance, les cytokines pro-inflammatoires, les irradiations ultraviolettes ou H_2O_2 [83]. Au repos, l'oncogène Ras (dont l'expression favorise la survenue d'un cancer), est présent à la face cytoplasmique de la membrane plasmique sous une forme inactive. Suite aux stimuli, des signaux intracellulaires sont déclenchés par l'activation du facteur de croissance épidermique transmembranaire, l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor). Cette activation induit une liaison entre les protéines adaptatrices Grb et Sos par transfert de phosphate. Ainsi la protéine RAS prend une forme active liée au GTP et phosphoryle les protéines de la famille Raf. A son tour, Raf active par phosphorylation les MEK. Ces derniers activent, par double phosphorylation, les ERK, ce qui entraîne leur translocation au niveau du noyau et la transcription des gènes c-jun et c-fos. L'activation de c-jun et c-fos induit celle de leurs cibles que sont la cycline D1 et le cdk6, ayant un rôle majeur dans l'initiation du cycle cellulaire en G1 [84] (Figure 4.7). Une surexpression de c-jun et c-fos dans les cellules épithéliales pulmonaires conduit à une augmentation de la prolifération cellulaire, ce qui constitue un événement critique dans la pathogenèse d'un certain nombre de troubles respiratoires et de maladies, tels que l'asthme et le cancer [85].

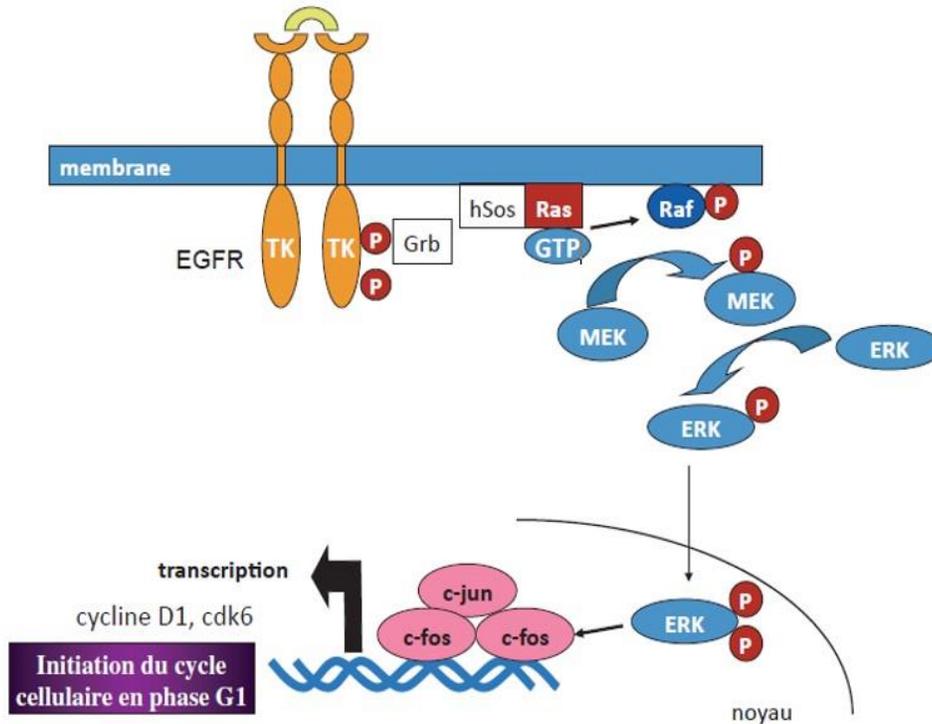


Figure 4. 7: Voie de signalisation de c-jun et c-fos [84]

4.5. Génotoxicité

Parmi les protéines impliquées dans la réponse aux dommages à l'ADN, nous retrouvons la protéine P53, souvent qualifiée de « gardien du génome », qui a pour rôle essentiel la restauration de l'ADN endommagé [86].

Cette protéine, codée par le gène TP53, est capable d'induire l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose, ce qui permet de conserver l'intégrité du génome en réponse au stress cellulaire et aux dommages causés à l'ADN [87]. L'expression de P53 est contrôlée en permanence par la protéine MDM2 qui, dans les conditions normales, se fixe à P53, afin d'inhiber son activité transcriptionnelle et favoriser sa dégradation [88]. Cependant, lorsque le génome subit des altérations, la dissociation du complexe MDM2-P53 est facilitée, ce qui conduit à l'accumulation de P53 [89]. Par exemple, le stress cellulaire induit p14ARF, qui inhibe MDM2, ce qui diminue le niveau cellulaire de P53. En outre, les lésions de l'ADN et les agents chimiothérapeutiques activent les protéines kinases, telles que l'ATM (Ataxia Telangectasia Mutated) et l'ATR (Ataxia Telangectasia and Rad3-related protein), qui, par l'intermédiaire de la protéine kinase dépendante de l'ADN (ADN-PK) et de la caséine kinase II (CKII), respectivement, phosphorylent l'extrémité amino-terminale de P53 pour prévenir la liaison au MDM2, et la

terminaison carboxyle de P53 pour améliorer sa liaison à l'ADN [90]. Lorsque les dommages causés sont trop importants, le niveau cellulaire de P53 augmente et la transcription de ses gènes cibles est activée. P21 et 14-3-3 σ favorisent l'arrêt de la croissance cellulaire aux points de contrôle des dégâts de l'ADN G1 et G2 en inhibant l'activité de la protéine kinase dépendante de la cycline (CDK). FAS, BAX et P53AIP favorisent la voie apoptotique si la cellule est incapable de prendre en charge les lésions et la réparation n'est plus possible [90], alors que GADD45 favorise la réparation de l'ADN [91]. La fonction apoptotique de P53 est essentielle pour la suppression des tumeurs [92]. En effet, dans 50% des tumeurs humaines, la résistance des cellules tumorales à la mort est causée par la perte de fonctionnalité de la protéine P53 [93] [94]. L'une des étapes les plus précoces de la cancérogenèse bronchique est en effet l'inactivation du gène suppresseur de tumeur P53, conférant aux cellules tumorales un avantage prolifératif [94]. La figure 4.8 présente la voie de signalisation du P53.

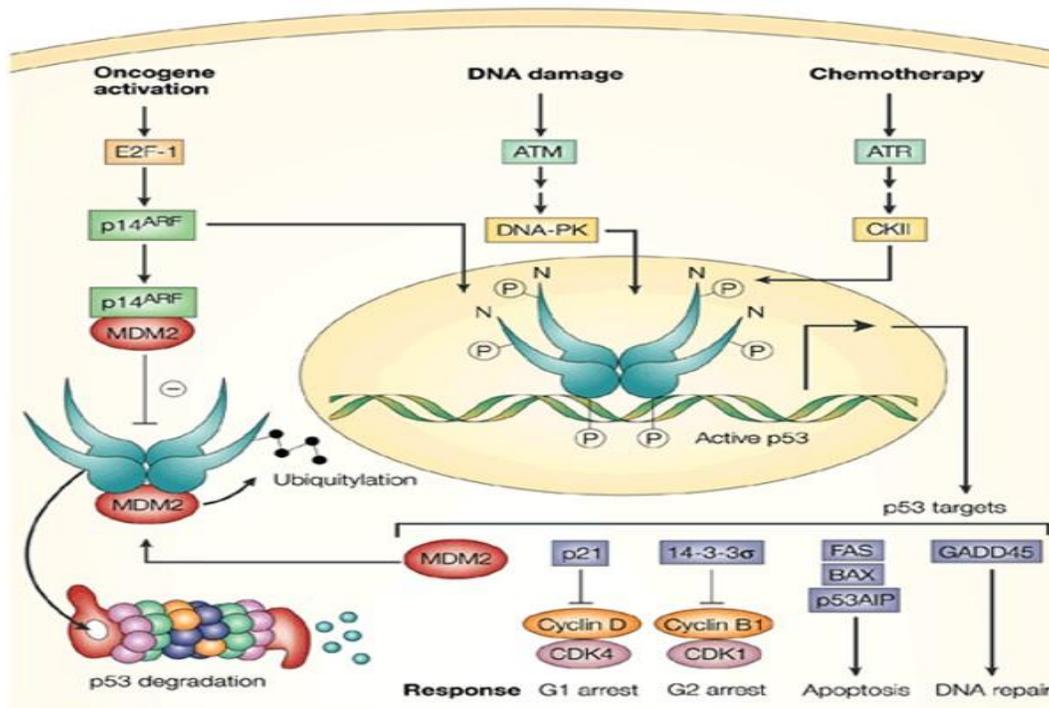


Figure 4. 8: Voie de signalisation du P53 [91]

5. Exposition des cellules par le modèle Vitrocell®

Le système le plus exposé aux mélanges gazeux chez l'homme est l'appareil respiratoire car tous les échanges gazeux ont lieu à ce niveau. Le poumon constitue l'interface la plus importante entre le milieu extérieur et l'organisme. Par conséquent, cet appareil est une cible

privilégiée pour les différents agents toxiques et les polluants gazeux et au niveau duquel un effet toxique pourrait se signaler même en cas d'exposition de courte durée. Pour étudier l'effet toxique du biogaz brut nous avons donc choisi d'exposer des cellules pulmonaires humaines.

Dans la littérature, deux types de méthodes d'exposition de culture cellulaire sont présentés : les cellules peuvent être soit immergées dans le milieu de croissance (Figure 4.9.A), soit le milieu est fourni sous les cellules et les cellules exposées à leur niveau apical (Figure 4.9.B) [95].

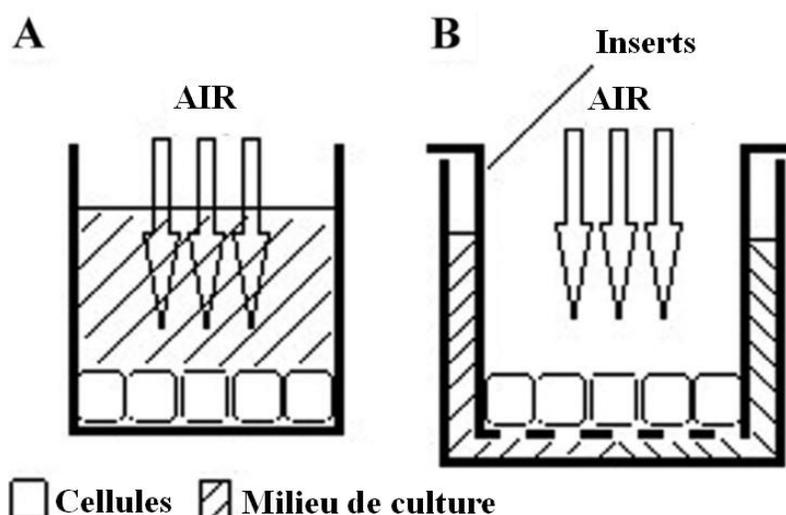


Figure 4. 9: Méthodes d'exposition à la culture cellulaire

Dans un système d'exposition submergé, les cellules sont placées sous la surface du milieu de croissance. Cette méthode simplifie la procédure expérimentale et elle est moins coûteuse que le système incorporant des inserts [96]. Cependant, ce système peut générer des inexactitudes dans l'évaluation de la toxicité des mélanges gazeux car il permet des interactions entre le composé étudié et les composants du milieu de croissance. Dans ce cas, la vraie concentration du composé étudié, qui entre en contact avec les cellules, est difficile à évaluer. Alors, le système de culture de cellules d'immersion ne peut être utilisé que pour des composés solubles dans le milieu [2].

Selon Rasmussen [97], les méthodes d'exposition *in vitro* aux mélanges gazeux doivent avoir un contact aussi proche que possible entre les cellules et les composés d'essai pour éviter des interactions entre eux et pour réaliser le contact direct des cellules et du gaz. De même, une atmosphère humidifiée doit être maintenue afin d'éviter le dessèchement des cellules. Ces

exigences sont assurées par les systèmes d'exposition ALI (Air-Liquid Interface). Bien que ces systèmes soient coûteux en termes d'équipement et de temps de traitement, ils ont l'avantage remarquable d'éliminer toute interaction entre les composés gazeux et les composants du milieu de croissance [98] [99] vu que les cellules sont nourries et hydratées par le milieu de culture du côté basolatéral [100].

Nous avons utilisé le système Vitrocell® pour étudier l'impact *in vitro* du biogaz au niveau de cellules pulmonaires humaines. Ce système est une exposition ALI unique présentant de nombreux avantages par rapport à d'autres techniques d'exposition [101]. Tout d'abord, le système Vitrocell® permet de cultiver des cellules sur des membranes perméables en présence d'un milieu de culture et de les exposer directement à un flux de gaz continu et dynamique à l'interface air-liquide [102]. Pour ce faire, les cellules sont cultivées sur les membranes poreuses des inserts. De plus, ce système d'exposition est thermostaté et chauffé à 37 °C par un bain d'eau simulant la température du corps humain. Il peut ainsi fonctionner indépendamment des incubateurs de culture cellulaire. Les cellules cibles sont exposées aux xénobiotiques gazeux du côté apical, en conservant une concentration constante tout au long de l'exposition [103]. Cette méthode d'exposition directe et continue stimule la sécrétion de mucus (cellules épithéliales bronchiques), ou la sécrétion de surfactant (cellules épithéliales alvéolaires) [104]. Ces deux substances protègent les cellules contre le dessèchement et fournissent des conditions relativement proches de celles présentes dans les voies respiratoires, tant que le temps d'exposition ne dépasse pas 6 heures [105] [106]. Vu toutes ces particularités, la transférabilité des résultats du système Vitrocell® est plus fiable que la méthode classique *in vitro* d'exposition au gaz [44].

Les modules d'exposition et les inserts doivent être inertes vis-à-vis du toxique étudié. Ainsi l'aluminium, le verre borosilicaté et le polytéraphthalate d'éthylène composent le module d'exposition afin de minimiser la possibilité de réaction entre le mélange gazeux et les matériaux des modules. D'autre part, le débit d'air de dilution (L/min) et le débit d'échantillonnage du module (mL/min/puits) peuvent être réglés indépendamment, ce qui permet de créer la configuration d'exposition requise [107].

B. Matériels et méthodes

1. Matériels chimiques

1.1. Gaz testés

Après avoir déterminé la composition chimique réelle du biogaz issu de la bio-méthanisation en France et au Liban, leurs risques potentiels pour la santé humaine sont évalués. D'autre part, ayant développé de nouveaux systèmes catalytiques actifs pour la valorisation énergétique des déchets, via les réactions de reformage du biogaz, une étude en continu du degré de toxicité des gaz formés est réalisée. Dans ce travail, des expositions directes aux cellules du biogaz issu de la bio-méthanisation en France et au Liban sont opérées. La composition majeure des différents mélanges gazeux est rappelée dans le tableau 4.1.

Tableau 4. 1: Composition des différents mélanges gazeux étudiés

	Composé chimique	Biogaz Français	Biogaz Libanais	Biogaz propre
Gaz majoritaires (%)	CH ₄	50	45	20
	CO ₂	43	38	20
	Air (O ₂ + N ₂)	1	13	
	H ₂			
	CO			
	H ₂ O	5	3	
	Ar			60
Impuretés (ppm)	NH ₃	214,8	-	
	NO	38,3	-	
	NO ₂	6	-	
	H ₂ S	196	68,1	
	Méthyl-SH	75	25,5	
	α-pinène	120,2	5,1 ppb	
	3 carène	131,2	0,8 ppb	
	β-pinène	30,9	12,5 ppb	
	Limonène	207,9	111,3 ppb	
	γ terpinène	6,3	1,4 ppb	
	Benzène	0,1	0,7 ppb	
	Toluène	0,8	6,7 ppb	
	Ethylbenzène	0,5	9,5 ppb	
m & p xylène	0,8	16 ppb		
o xylène	0,8	4,3 ppb		

1.2. Réactifs et consommables

Pour réaliser les expositions des cellules aux différents mélanges gazeux, la culture cellulaire et les dosages toxicologiques, plusieurs matériels ont été utilisés.

La liste des réactifs consommables durant la culture cellulaire est la suivante :

- Les cellules exposées sont les BEAS-2B obtenues via Sigma-Aldrich.
- Le milieu de culture contenant tous les composants indispensables pour la multiplication des cellules est le LHC-9 fourni par Fisher Scientific. Les milieux exempts de sérum LHC sont les produits les plus employés pour la culture des cellules épithéliales bronchiques.
- La trypsine, avec 0,5% de PVP (polyvinylpyrrolidone), effectue une digestion enzymatique des protéines d'adhésion qui permettent l'accrochement des cellules à leur support de culture et forment des jonctions entre les cellules créant un tapis cellulaire. Le PVP ajouté reste localisé à l'extérieur des cellules, et agit en déshydratant partiellement les cellules, ce qui permet d'empêcher la cristallisation intracellulaire de se produire. La trypsine est concentrée et doit être diluée dans une solution saline tamponnée, habituellement de type PBS (Phosphate Buffered Saline).
- Les flacons de culture T75 utilisés possèdent une surface de 75 cm², Corning® CellBind® Surface cell culture flasks de VWR (Figure 4.10). Ces flacons à surface traitée permettent une adhérence, une croissance et une différenciation optimales des cellules, et sont alors idéals pour la culture cellulaire. Ils sont fabriqués à partir de polystyrène vierge optiquement clair et sont stérilisés par irradiation gamma. Leurs bouchons ventilés, contenant une membrane non-mouillable de 0,2 µm scellée au capuchon, assurent un échange de gaz stérile et constant tout en minimisant le risque de contamination. Le col incliné permet un versement plus facile et un meilleur accès au flacon pour le pipetage.



Figure 4. 10: Flacon de culture T75 Corning® CellBind®

- Les inserts de type Transwell® (Corning) fourni par VWR sont des inserts en polyester de 24 mm de diamètre adaptés aux modules d'exposition Vitrocell® (Figure 4.11). Ces inserts ont la particularité d'être dotés d'une membrane traitée pour une croissance et une fixation optimales des cellules. Cette membrane possède des pores de 0,4 µm ce qui permet aux cellules d'être en contact avec le milieu de culture.



Figure 4. 11: Inserts Transwell® dans une plaque 6 puits

L'extraction des ARN, des ADN et des protéines est réalisée selon le kit Nucleospin Triprep de Macherey-Nagel. Les réactifs et consommables sont listés ci-dessous :

- Le tampon de lyse RP1 est utilisé pour décoller les cellules des flacons dans lesquelles elles étaient exposées. Il est supplémenté de l'agent réducteur dithiothréitol (DTT) qui élimine les débris membranaires après la lyse.
- Le filtre NucleoSpin® à anneau violet, placé dans un tube de 2 mL, réduit la viscosité du mélange. Le lysat traversant ce filtre contient les protéines, les ADN et les ARN et élimine le lysat.
- L'éthanol 70 % précipite les acides nucléiques afin de séparer l'ARN et l'ADN des protéines.

- Le tampon de lavage de l'ADN avec l'éthanol 50 % élimine les sels chaotropiques du milieu et prépare la membrane des cellules à l'éluion de l'ADN.
- Le tampon d'éluion de l'ADN est utilisé pour séparer l'ARN de l'ADN à travers des colonnes bleues : l'ARN reste sur les colonnes alors que l'ADN sera récupéré dans des eppendorfs de 1,5 mL.
- La rDNase et le tampon de réaction pour la rDNase sont ajoutés pour digérer les résidus d'ADN.
- Le tampon de lavage RA2 neutralise la DNase et l'inactive.
- Le tampon de lavage RA3 élimine les sels et les métabolites restants dans le milieu et qui peuvent bloquer les réactions de biologie moléculaire.
- L'eau sans RNase permet l'éluion de l'ARN dans des conditions hydrophiles.
- Le précipitateur de protéines est utilisé pour la précipitation des protéines.
- L'éthanol 50 % est ajouté pour laver les protéines.
- Le tampon de dissolution des protéines avec l'agent réducteur TCEP (Tris(2-carboxyéthyl) phosphine hydrochloride) sont utilisés pour dénaturer et dissoudre les protéines, en empêchant leur oxydation.

La rétro-transcription des ARNm, RT, est opérée suivant le kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription fourni par Fisher Scientific. Les réactifs et consommables sont les suivants : le tampon RT, les RT amorces aléatoires, le mélange contenant des désoxyriboNucléotides TriPhosphates (dNTP), l'enzyme Reverse Transcriptase, l'inhibiteur RNase et l'eau sans nucléase.

La mesure de l'expression des gènes d'intérêt est réalisée à l'aide du TaqMan® Gene Expression Assay fourni par Fisher Scientific. La réaction de polymérisation en chaîne, PCR, qui sera détaillée plus tard (Cf. partie IV.B.5), se déroule dans un mélange réactionnel contenant une Taq polymérase de TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix et des amorces, courtes séquences nucléotidiques encadrant celles des gènes étudiés (séquence d'intérêt) (TaqMan® Gene Expression Assay).

2. Matériels biologiques (Cellules BEAS-2B)

Le matériel biologique utilisé afin d'évaluer l'effet des toxiques potentiellement présents dans les mélanges gazeux de ce travail est la lignée cellulaire BEAS-2B dérivée du poumon

humain décrite pour la première fois en 1988 [108]. Ces cellules épithéliales bronchiques normales obtenues à partir de l'autopsie d'un individu non cancéreux sont isolées puis transformées suite à une infection par le virus hybride Adénovirus 12-SV40. Elles sont obtenues auprès de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC, Wiltshire, UK référence 95102433). Les BEAS-2B sont considérées comme étant un modèle pertinent pour la toxicologie *in vitro* vu leur phénotype non cancéreux et leurs mécanismes de réponse normaux [98]. De nombreux tests de la toxicité des substances inhalables comme les polluants [99], les produits du tabac [109] et les nanomatériaux [110] ont été effectués en utilisant ces cellules, ce qui permet de valider le choix de ce modèle.

La figure 4.12 suivante montre des cellules BEAS-2B en culture dans les flacons T75 et dans les inserts observées au microscope optique inversé.

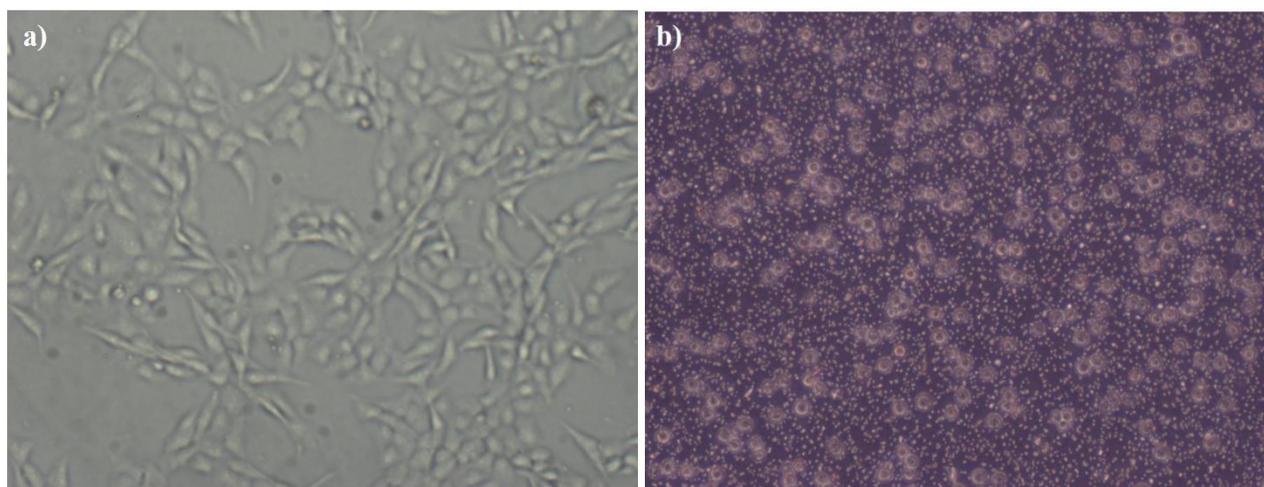


Figure 4. 12: Cellules BEAS-2B en culture observées au microscope optique inversé a) dans les flacons T75, b) dans les inserts (les petits points sont les pores des membranes des inserts)

3. Méthodes

3.1. Culture cellulaire

Toutes les manipulations de culture cellulaire sont réalisées sous atmosphère stérile sous Poste de Sécurité Microbiologique, de même tout le matériel utilisé est commercialisé de manière stérile. La lignée cellulaire BEAS-2B est commercialisée sous forme d'ampoules congelées qu'il faut remettre en culture dans le milieu LHC-9, contenant tous les éléments nutritifs nécessaires pour ces cellules. Lors de la décongélation des cellules, l'action du DMSO, agent de cryoprotection nécessaire pour minimiser et empêcher les détériorations associées à la

congélation lente est inhibée par dilution avec le LHC-9 et centrifugation (300 g ; 4 °C ; 5 min). Les cellules présentes dans le culot seront ensuiteensemencées dans des flacons de culture (T75) CellBind® contenant du milieu de culture défini LHC-9. Les cultures de cellules sont placées dans un incubateur (T = 37 °C ; CO₂ = 5 % ; humidité = 100 %).

Les BEAS-2B ont un temps de dédoublement de 24 h. Une fois la confluence atteinte, les cellules peuvent se différencier. Pour cela, des repiquages successifs ont été faits (72 h), afin d'obtenir à partir d'une même ampoule de cellules mères, un nombre suffisant de cellules en phase exponentielle de croissance pour pouvoir appliquer l'ensemble des protocoles d'exposition.

Pour les repiquages, un rinçage des boîtes T75 CellBind® est fait avec du PBS. Mais vu le pouvoir adhérent des cellules BEAS-2B, un protocole de décollement est nécessaire. La trypsine, avec 0,5 % de PVP, est utilisée pour inhiber les protéines responsables de l'adhérence des cellules aux parois des flacons. Son action est rapide: il suffit de 5 min à 37 °C pour un décollement quasi-total des cellules, une agitation sèche des boîtes permet d'obtenir un décollement total. La trypsine est ensuite inhibée par le milieu de culture LHC-9 car elle pourrait attaquer les membranes cellulaires et endommager les cellules. Ensuite, la suspension cellulaire de chaque boîte T75 est récupérée dans un tube conique. Une centrifugation de cette suspension à 300 g et 4 °C pendant 5 min empêche totalement l'action de la trypsine et décante les cellules. Le surnageant est ensuite retiré et du LHC-9 est ajouté au culot cellulaire. Après homogénéisation, un comptage des cellules à l'aide du compteur Cellometer® est réalisé afin de prélever le volume nécessaire pour avoir le nombre de cellules voulu. Enfin, les cellules sont remises en culture, à 37 °C sous atmosphère contenant 5 % de CO₂ et 100 % d'humidité, dans de nouvelles boîtes T75 CellBind® dans du LHC-9.

Pour être exposées dans le système Vitrocell®, les cellules doivent être cultivées sur des inserts Transwell® de type plaque 6 puits. La durée d'incubation avant l'exposition et le nombre de cellules nécessaires dans chaque insert ont été optimisés suite aux travaux de Persoz et al [111]. En effet, le repiquage cellulaire est un processus stressant pour les cellules, ce qui peut perturber leur réponse au toxique étudié et la mise en évidence des mécanismes de toxicité potentiels. Dans leurs expériences d'exposition au formaldéhyde, des cellules BEAS-2B ont été cultivées sur inserts à différentes concentrations et durant différents temps d'incubation avant exposition. Après exposition, les inserts contenant les cellules ont été placés dans une autre

plaque avec du milieu de culture des deux côtés et incubés à 37 °C. Dans le présent travail, nous avons choisi de procéder au repiquage 72 heures avant l'exposition, afin d'exposer des cellules jointives et métaboliquement actives. Le protocole de décollement décrit dans le paragraphe précédent est appliqué. Après le comptage cellulaire, un volume adéquat est prélevé pour chaque exposition, prenant en compte les différentes conditions, le nombre d'inserts à préparer et le nombre de cellules (85 000) à atteindre dans chaque insert le jour de l'exposition. Pour cela, 1 mL de milieu de culture LHC-9 est mis en-dessous de chaque insert, les volumes prélevés de la suspension cellulaire et du milieu de culture sont ajoutés jusqu'à avoir 1 mL de volume total au-dessus des inserts. Les cellules sont cultivées dans l'incubateur jusqu'au jour de l'exposition.

3.2. Système Vitrocell®

Le Vitrocell® (Vitrocell Systems GmbH, Allemagne) est un système direct et dynamique simulant l'exposition in-vivo des cellules à des mélanges gazeux, des aérosols ou même à des particules atmosphériques. Ce modèle a la particularité unique de permettre cette exposition à l'interface Air-Liquide [95].

Le système utilisé est composé de trois modules 6/3 CF Inox (Figure 4.13) thermorégulés à 37 °C en utilisant un bain d'eau. Chaque module consiste en trois inserts Transwell® exposés en parallèle à des mélanges gazeux. Les cellules sont fixées sur les membranes poreuses des inserts, et sont en contact à la fois avec le milieu de culture liquide et avec le mélange gazeux auquel elles sont exposées. Dans chaque module, le flux gazeux très lent arrive directement au-dessus du tapis cellulaire et permet ainsi l'exposition de toutes les cellules au toxique (Figure 4.14).

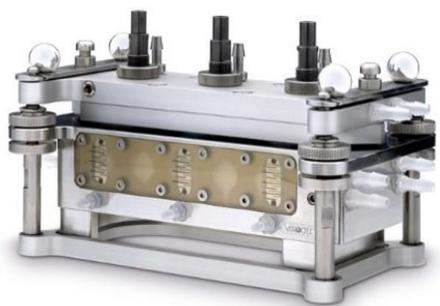


Figure 4.13: Module Vitrocell® 6/3 CF

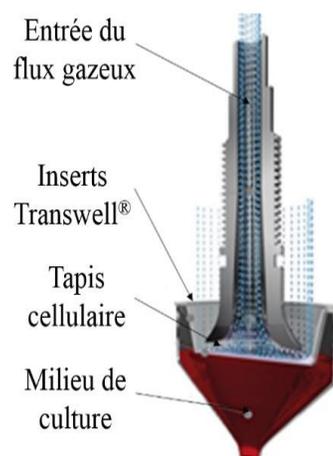


Figure 4.14: Flux du mélange gazeux à l'intérieur du module Vitrocell®

Le système Vitrocell® permet une approche réaliste des conditions *in-vivo* au niveau du contact des cellules. En effet, dans les poumons les cellules ne sont pas complètement submergées et sont encore moins en suspension dans du milieu. Les cellules pulmonaires, formant l'épithélium tapissant la cavité interne des poumons, sont nourries du côté basolatéral par le sang. Dans le système Vitrocell®, le milieu de culture concoure à cet objectif et il est disposé sous la membrane de l'insert de culture afin de nourrir les cellules du côté basolatéral (Figure 4.14). Par conséquent, les conditions *in vitro* sont d'une similitude extrême avec les conditions *in-vivo* et représentent au mieux la situation dans la cavité pulmonaire.

L'ensemble du système Vitrocell® utilisé est thermostaté et maintenu à 37 °C grâce à un bain-marie assurant une circulation d'eau chaude à travers les modules, pouvant être reliés ensemble ou chauffés indépendamment. De même, l'aspiration des gaz est réalisée à l'aide d'une pompe.

4. Exposition

4.1. Conditions d'exposition aux mélanges gazeux

Pour étudier la toxicité des mélanges gazeux, deux méthodes sont envisageables :

- Soit l'exposition au mélange pur ou dilué dans un intervalle de temps court pour traiter la toxicité aigüe. Cette toxicité résulte de l'exposition unique et massive à un produit entraînant des effets nocifs pouvant conduire à la mort.
- Soit des expositions répétées aux mélanges gazeux dilués pour une période de temps relativement longue pour traiter l'aspect chronique de la toxicité. La toxicité chronique est en effet le résultat de l'exposition prolongée à un xénobiotique toxique, à plus ou moins faible dose, dont les effets néfastes et les mécanismes tardifs ne se feront sentir qu'à partir de quelques mois à quelques années d'exposition.

Dans ce travail, l'objectif est d'explorer la toxicité aigüe des mélanges gazeux décrits dans le tableau 4.1. L'étude de la toxicité chronique n'est en effet pas actuellement réalisable dans des cultures cellulaires. Seules des expositions répétées sont applicables en utilisant des modèles complexes d'épithélium bronchique reconstitués de type Mucilair®. L'utilisation de ces derniers reste encore toutefois à valider. C'est pourquoi nous avons choisi de recourir à un modèle simple mais maîtrisé que sont les lignées en monoculture.

Afin d'évaluer la toxicité des mélanges gazeux, nous avons fait varier les deux paramètres majeurs que sont la durée et la concentration d'exposition. Dans un premier temps, les cellules BEAS-2B ont été exposées à chaque mélange gazeux pendant une durée variable :

- 1) 60 minutes d'exposition au mélange gazeux
- 2) 30 minutes d'exposition au mélange gazeux suivie de 30 minutes d'exposition à l'air purifié
- 3) 15 minutes d'exposition au mélange gazeux suivie de 45 minutes d'exposition à l'air purifié
- 4) 60 minutes d'exposition à l'air purifié

Dans un second temps, nous avons exposé les cellules durant une heure, mais à des concentrations croissantes de mélange gazeux : 10, 20 et 40 %, afin de s'approcher de niveaux d'exposition plus réalistes.

La figure 4.15 présente la chronologie des manipulations des cellules en inserts, depuis l'ensemencement des cellules jusqu'à leur récupération et congélation.

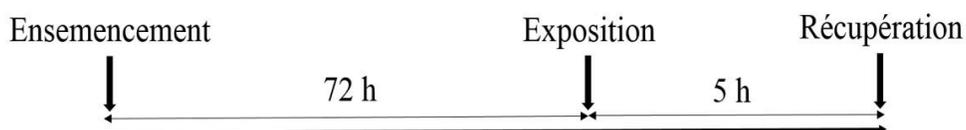


Figure 4. 15: Chronologie des manipulations des cellules en inserts

Les cellules sont mises en culture,ensemencées sur les inserts de culture Transwell® et incubées pendant 72 h. Le jour de l'exposition, 17 mL de milieu de culture LHC-9, sont mis dans chaque compartiment des modules Vitrocell® pour nourrir les cellules du côté basolatéral. Le surnageant de culture cellulaire est retiré des inserts et ces derniers sont placés dans les modules Vitrocell® pour procéder à l'exposition des cellules BEAS-2B au mélange gazeux. Un certain nombre de cellules estensemencé et incubé pendant 72 heures sans subir une exposition. D'autres subissent une exposition à l'air pur. L'ensemble de ces cellules sert de contrôle négatif. Afin de permettre aux cellules de mettre en place des mécanismes de réponse à la toxicité de gaz, à la fin de l'heure d'exposition, une période de récupération de 5 heures est mise en place. Les cellules sont ainsi placées dans l'incubateur après ajout de milieu LHC-9 au niveau apical.

Les mélanges gazeux sont aspirés grâce au système de pompe, et sont envoyés dans l'ensemble des modules à un flux restreint de 5 mL/ min/ insert. Ce réglage des flux a été préalablement réalisé en utilisant un débitmètre. Afin d'éviter un stress thermique aux cellules exposées, la température du mélange gazeux a été stabilisée pour atteindre 37 °C au niveau des cellules.

4.2. Exposition avec sac Tedlar

Afin d'étudier l'effet toxicologique du biogaz réel, des prélèvements ont été effectués auprès d'un centre de bio-méthanisation français et d'un autre libanais. Des sacs Tedlar d'une capacité de 5 L sont remplis directement en sortie de bio-méthaniseur sur les deux sites (détaillé dans le chapitre 1). Pour exposer les cellules au biogaz réel, ces sacs sont directement branchés aux modules Vitrocell®, de même pour l'air purifié venant du réseau du laboratoire, comme l'indique la figure 4.16. Les expositions sont opérées dans les mêmes conditions citées avant.

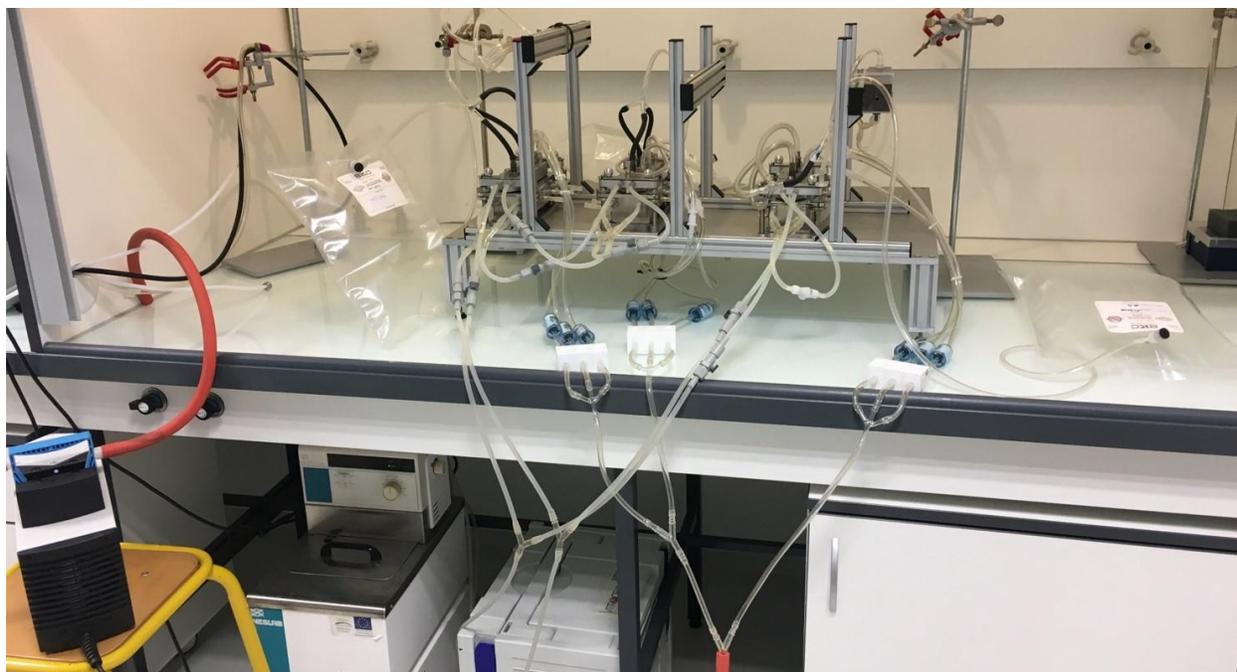


Figure 4. 16: Modules Vitrocell® en cours d'exposition avec les sacs Tedlar contenant le biogaz

4.3. Récupération des cellules et du surnageant

À la fin de chaque exposition, 750 μL de milieu de culture LHC-9 sont ajoutés en-dessous et au-dessus des inserts, puis les cellules sont incubées de nouveau pendant 5 h. Après ces 5 h, les deux milieux sont bien mélangés et homogénéisés pour être récupérés dans des eppendorfs. Les inserts sont ensuite lavés avec du PBS puis sont conservés à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en attente des tests toxicologiques qui seront menés sur les cellules BEAS-2B fixés sur les inserts.

5. Expression génique par RT-qPCR

5.1. Principe

Depuis son invention par K. Mullis en 1983 [105], la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est devenue la technique la plus utilisée pour la détection de l'ADN et de l'ARN. Son principe repose sur une réplication *in vitro* de séquences spécifiques d'ADN et cela par l'intermédiaire d'une ADN polymérase. Cette méthode permet de générer, à des dizaines de milliards d'exemplaires, un fragment d'ADN particulier (ADN d'intérêt) à partir d'une simple copie d'une séquence particulière d'acides nucléiques (amplicon). La réaction, se déroule dans un mélange réactionnel contenant l'extrait d'ADN d'intérêt, des courtes séquences nucléotidiques encadrant la séquence d'intérêt (amorces), une taq polymérase, du magnésium et

les quatre désoxyriboNucléotides Triphosphates en excès dans une solution tampon. Chaque cycle d'amplification se déroule en trois étapes : la dénaturation de l'ADN double brin par chauffage, l'hybridation des amorces et la synthèse de la séquence complémentaire au brin matrice. Ce cycle est répété n fois. Si la matrice de départ est l'ARN, une étape de transcription inverse sera indispensable, étape durant laquelle une ADN polymérase ARN-dépendante synthétise, à l'aide des dNTP, un brin d'ADN complémentaire (ADNc) de l'ARNm. La PCR classique précédée par une étape de transcription inverse est appelée réaction de polymérisation en chaîne-transcriptase inverse (RT-PCR).

La PCR en temps réel est une PCR durant laquelle la quantité d'ADN présente à tout instant dans la réaction est suivie à l'aide de la fluorescence [112]. Un reporter fluorescent est détecté et quantifié pendant le processus d'amplification. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction. La PCR en temps réel permet donc le suivi de la production des amplicons durant chaque cycle, à l'opposé de la PCR quantitative conventionnelle où les amplicons sont détectés seulement en fin du processus. Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à l'ADN double brin et les sondes fluorescentes. Pour cette dernière catégorie, il existe présentement quatre technologies principales : hydrolyse de sondes (technologie TaqMan®), hybridation de deux sondes (HybProbes), balises moléculaires (Molecular Beacons) et amorces scorpion (Scorpion primers) [113]. Ces technologies de détection ont une sensibilité équivalente [106], mais elles présentent des différences au niveau de la spécificité [114].

Dans ce travail, nous avons choisi la technologie TaqMan® car elle est optimisée pour un très grand nombre de gènes. Cette technologie est basée sur l'activité 5'-exonucléasique de la Taq polymérase. Cette enzyme peut hydrolyser une sonde hybridée à la séquence cible sur l'amplicon durant l'étape d'élongation de la PCR. Un fluorochrome émetteur (reporter) est fixé à l'extrémité 5' de la sonde d'hybridation et son émission fluorescente est inhibée par un second fluorochrome suppresseur (quencher) présent à l'extrémité 3'. Une fois stimulé, le fluorochrome émetteur transfère son énergie au fluorochrome suppresseur voisin qui dissipe cette énergie sous forme de chaleur plutôt que d'émettre de la fluorescence. Vu que l'activité 5'-exonucléasique de la Taq polymérase est spécifique à l'ADN double brin, les sondes libres en solution demeurent intactes et aucune fluorescence n'est émise. Lors de l'étape d'hybridation, la sonde et les amorces se fixent à leurs séquences complémentaires respectives. A l'étape suivante, la taq

polymérase débute l'élargissement du nouveau brin d'ADN à partir de l'amorce jusqu'à ce qu'elle rencontre sur son passage la sonde hybridée sur l'ADN cible. Elle l'hydrolyse par son activité 5'-exonucléasique, ce qui libère le reporter, permettant ainsi l'émission de sa fluorescence qui augmentera à chaque cycle proportionnellement au taux d'hydrolyse de la sonde, et par conséquent au nombre de copies polymérisées durant chaque cycle de PCR. La figure 4.17 résume le principe de la PCR en temps réel avec la détection par une sonde fluorescente.

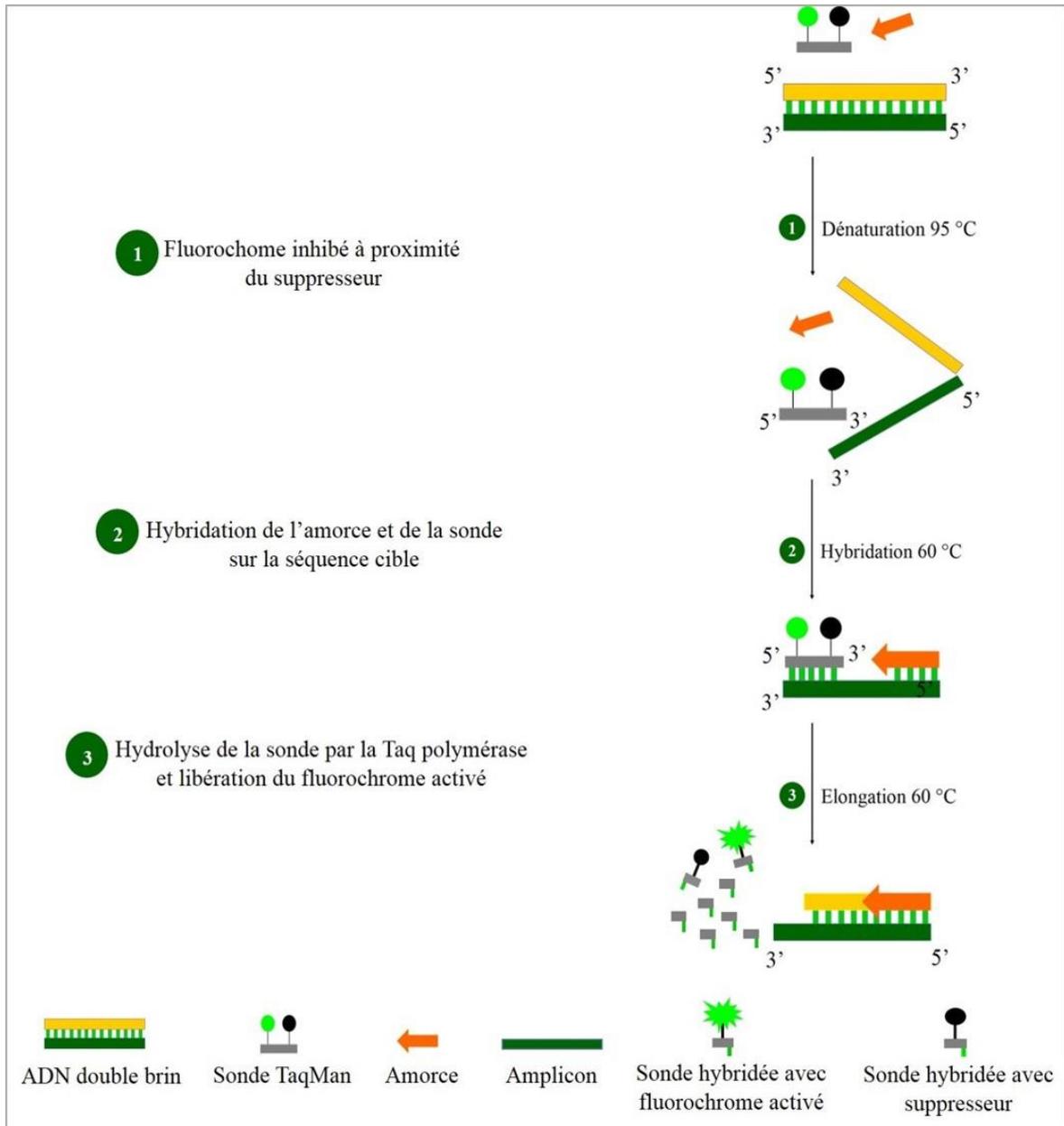


Figure 4. 17: Principe de la PCR en temps réel avec détection par une sonde fluorescente (technologie TaqMan®)

5.2. Protocole expérimental

Afin de caractériser l'impact de l'exposition de la lignée cellulaire BEAS-2B au biogaz, l'induction de l'expression des gènes suivants IL-8, MCP-1, Nrf2, HO-1, CYP1A1, c-fos, c-jun et TP53 a été évaluée par RT-PCR en temps réel.

5.2.1. Extraction des ARN, des ADN, et des protéines

Suite à l'exposition des BEAS-2B, cultivées dans les inserts Transwell[®], aux différents mélanges gazeux étudiés, les cellules sont stockées à -80 °C. Après leur décongélation, l'extraction des ARN, des ADN et des protéines est réalisée à l'aide du kit Nucleospin Triprep. Nous avons choisi de focaliser l'étude sur la réponse cellulaire via l'expression de certains gènes impliqués dans les voies majeures du contrôle de l'homéostasie cellulaire et de la réponse aux toxiques : stress oxydant, inflammation, métabolisation des hydrocarbures et génotoxicité. Par conséquent, seuls les ARN seront analysés dans ce travail, mais l'ADN et les protéines sont disponibles et peuvent faire l'objet d'études complémentaires afin d'améliorer la connaissance des atteintes cellulaires.

Une première étape de lyse des cellules est importante. 350 µL du tampon de lyse RP1 est mis dans chaque insert, les cellules sont grattées à l'aide d'un grattoir stérile et 10 µL de l'agent réducteur dithiothréitol DTT est rajouté. Ensuite, les échantillons sont homogénéisés et transférés dans les filtres NucleoSpin[®] à anneau violet pour réduire la viscosité du mélange. Une centrifugation pendant 1 min est indispensable puis 350 µL d'éthanol 70 % est additionné au filtrat pour ajuster les conditions de liaison de l'ARN et de l'ADN et précipiter l'acide nucléique. De nouveau, une homogénéisation est recommandée pour transférer le mélange aux tubes à colonnes bleues. Après une centrifugation de 30 s, les colonnes bleues sont placées dans de nouveaux eppendorfs 0,5 mL, et l'éluat restant dans les tubes initiaux servira à la purification des protéines qui sera décrite à la fin de ce paragraphe. 500 µL de tampon de lavage de l'ADN (Buffer DNA Wash) est versé sur les colonnes bleues pour éliminer les sels chaotropiques du milieu et préparer la membrane des cellules à l'éluion de l'ADN. Une centrifugation durant 1 min est faite puis les colonnes sont laissées ouvertes à température ambiante pendant 3 min. Elles sont par la suite transférées dans des eppendorfs pour la récupération de l'ADN. 100 µL de tampon d'éluion de l'ADN (Buffer DNA Elute) est utilisé pour séparer l'ARN de l'ADN à travers des colonnes bleues. Une incubation pendant 1 min à température ambiante suivie d'une

centrifugation 1 min est réalisée. L'ARN reste sur les colonnes alors que l'ADN sera récupéré dans des eppendorfs 1,5 mL et stocké à -20 °C.

Un volume de 95 µL de la rDNase et le tampon de réaction pour la rDNase (Reaction buffer for rDNase) est ensuite ajouté pour digérer les résidus d'ADN qui pourraient perturber les analyses en PCR. Les colonnes bleues sont ensuite laissées 15 min à température ambiante. Un premier rinçage du mélange avec 200 µL de tampon de lavage RA2 (Wash Buffer RA2) neutralise la DNase et l'inactive. Un deuxième rinçage avec 600 µL du tampon de lavage RA3 (Wash Buffer RA3) élimine les sels et les métabolites restants dans le milieu et qui peuvent bloquer les réactions de biologie moléculaire. Ces deux rinçages sont suivis par une centrifugation de 30 s. Un dernier rinçage au RA3 avec une centrifugation pendant 20 min sont réalisés. Enfin, les colonnes bleues sont transmises dans des eppendorfs pour la récupération des ARN, dans lesquels 60 µL d'eau sans RNase (RNase-free H₂O) est ajoutée. Elle permet l'élution de l'ARN dans des conditions hydrophiles avant stockage des ARN à -20 °C.

Pour les protéines, un ajout de 450 µL du précipitateur de protéines (Protein Precipitator, PP) est effectué sur l'éluat restant dans les tubes initiaux. Le mélange est bien homogénéisé et transféré dans des eppendorfs pour la récupération des protéines. Ces derniers sont laissés 10 min à température ambiante puis ils sont centrifugés pendant 5 min. Le lavage des protéines est achevé par 500 µL d'éthanol 50 %. Une nouvelle centrifugation pendant 1 min est indispensable. L'éthanol est retiré des tubes qui sont mis à l'envers pendant 5 à 10 min pour sécher. Enfin, 100 µL de tampon de dissolution des protéines (Protein Solving Buffer, PSB) avec l'agent réducteur TCEP (Tris(2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride) sont utilisés pour dénaturer et dissoudre les protéines, en empêchant leur oxydation. Une incubation pendant 3 min à 95 °C est réalisée. Puis les eppendorfs contenant les protéines sont stockés à -80 °C.

Dans le cadre de ce travail, chaque module, contenant trois inserts, a subi la même condition d'exposition. Après extraction des ARN, des ADN et des protéines, chacun de ces inserts est scindé en deux réplicats. Donc, à la fin des extractions, il y aura 6 tubes d'ARN pour chaque condition d'exposition (0A, 0A, 0B, 0B, 0C, 0C).

5.2.2. Dosage de la qualité des ARN (analyse en électrophorèse sur puce)

La molécule d'ARN peut être rapidement dégradée. En conséquence, des fragments plus courts d'ARN sont formés dans les échantillons, ce qui peut compromettre les résultats de la mesure de l'expression génique. Le niveau d'intégrité de l'ARN (RNA Integrity Number, RIN)

est un algorithme permettant d'attribuer des valeurs d'intégrité aux ARN pour déterminer leur qualité.

Afin d'évaluer le degré de dégradation, une méthode électrophorétique qui sépare les échantillons en fonction de la taille des molécules est appliquée. Le bioanalyseur Agilent 2100 est utilisé avec les kits RNA 6000 Nanochip. Douze échantillons peuvent être traités par puce tout en consommant de très petites quantités de chaque échantillon. Les molécules d'ARN sont colorées et détectées par fluorescence. Les données sont archivées sous forme d'électrophorégramme montrant les niveaux variables d'intégrité de l'ARN, ainsi que sous forme de tableau.

5.2.3. Rétro-transcription des ARN messagers (ARNm)

La rétro-transcription des ARNm obtenus après extraction, est mise en œuvre à l'aide du kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits fourni par Applied Biosystems. Elle transcrit alors les ARNm en leurs ADNc : la Taq polymérase synthétise le second brin de l'ADNc, ce qui assure l'amplification de l'ADN double brin formé lors de la PCR.

10 μL de chaque ARN extrait est mis en suspension dans un volume final de 20 μL de mélange réactionnel : 2 μL du tampon RT (RT Buffer), 2 μL des RT amorces aléatoires (RT Random Primers), 0,8 μL du mélange réactionnel dNTP (dNTP Mix), 1 μL des désoxyriboNucléotides TriPhosphates, (Multiscribe Reverse Transcriptase), 1 μL de l'inhibiteur RNase (RNase inhibitor) dilué au vingtième, et 3,2 μL d'eau sans nucléase (Nuclease-free water).

Le mélange est ensuite porté dans un thermocycleur 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) permettant de réaliser la réaction RT suivant le programme : 10 min à 25 °C, une incubation pendant 120 min à 37 °C, 5 min à 85 °C, une dénaturation de l'enzyme à 95 °C pendant 5 min et un arrêt de la réaction avec diminution de la température.

5.2.4. PCR

L'expression des gènes d'intérêt est réalisée suivant le protocole du kit TaqMan® Gene Expression Assay. La mesure de l'expression des gènes d'intérêt est réalisée par PCR à l'aide du kit TaqMan® Gene Expression Assay. L'appareil de PCR en temps réel utilisé est de type 7500 Fast Real-Time PCR. Les ADNc de chaque échantillon ayant subi la RT sont dilués au tiers. Ensuite, ils sont déposés dans trois plaques de 96 puits chacune (1 μL /puits) correspondant aux

huit gènes étudiés et à un neuvième gène de référence, l'ARN 18S (Hs99999901_s1). Les références des amorces choisies sont présentées dans le tableau 4.2.

Tableau 4. 2: Les références des amorces choisies

Gène	Référence
IL-8	Hs00174103_m1
MCP-1	Hs00234140_m1
Nrf2	Hs00975961_g1
HMOX-1	Hs01110250_m1
CYP1A1	Hs01054797_s1
c-fos	Hs04194186_s1
c-jun	Hs01103582_s1
TP53	Hs01034249_m1

La réaction de polymérisation en chaîne, se déroule dans un mélange réactionnel contenant, en plus de l'échantillon, 5 μ L de Taq polymérase ((TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix 2X), 3,5 μ L de l'eau sans RNase (RNase-free H₂O) et 0,5 μ L de chaque amorce d'intérêt (TaqMan® Gene Expression Assay). Ces derniers sont utilisés pour réaliser les réplifications qui assureront la multiplication spécifique de la séquence cible. Des blancs constitués du mélange réactionnel sans échantillon ont été ajoutés. Les plaques sont couvertes par un film adhésif et centrifugées brièvement avant la PCR. Elles sont soumises, par la suite, à des cycles de température dans le thermocycleur 7500 Fast Real-Time PCR System. L'appareil permet la programmation de la durée et de la succession des cycles de paliers de température suivants :

- activation de l'enzyme pendant 20 s à 95 °C
- dénaturation des brins d'ADN pendant 3 s à 95 °C
- hybridation des amorces et des sondes suivie de l'élongation (30 s à 60°C)

Le cycle « dénaturation, hybridation, élongation » est répété 40 fois ce qui aboutit théoriquement à 2⁴⁰ copies du fragment d'ADN originel.

- arrêt de la réaction (stop reaction) pendant 10 min à 99 °C.

5.3. Quantification relative

La quantité d'ARN initialement présente dans les cellules est déterminée par la RT-qPCR. Les données de fluorescence émises par un fluorochrome sont collectées à chaque cycle

de la PCR et représentent la quantité de produits (ADN) amplifiés à cet instant. Cette quantification permet de fixer un seuil pour lequel le signal fluorescent est significativement supérieur au bruit de fond. Ce seuil est nommé Cycle seuil ou Cycle Threshold (Ct). Il est dépendant de la quantité initiale de copies d'ARNm. Plus cette quantité est élevée, moins il faudra de cycles pour atteindre le seuil de fluorescence fixé, et par conséquent un Ct plus petit. Ce concept de Ct est à la base de la précision et de la reproductibilité de la technique.

L'évaluation des résultats peut se faire par une quantification absolue ou relative. Dans ce travail, la quantification relative est utilisée. Elle évalue les changements dans l'expression génique d'un échantillon donné par rapport à un autre échantillon de référence (échantillon témoin non exposé-18S 0min). Les Ct de chaque échantillon (contrôles négatifs – cellules incubées non exposées et cellules exposées à l'air pur-, différents mélanges gazeux) sont décrits par les médianes des trois inserts. Puis elles sont comparées à l'ARN 18S pour normaliser les résultats par rapport à la quantité de cellules de départ. Pour ce faire, la formule suivante est appliquée: $\Delta Ct = Ct_{\text{cible}} - Ct_{18s}$. L'abondance de l'ARNm étudié dans l'échantillon traité par rapport au témoin est calculée selon la méthode du $\Delta\Delta Ct$: $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{expo}} - \Delta Ct_{\text{témoin}}$ selon la méthode décrite par Livak et Schmittgen [115]. La quantification relative (Q_R) pour un échantillon est déterminée par la formule suivante : $Q_R = 2^{-\Delta\Delta Ct}$. Pour des valeurs de Q_R supérieure à 2, le gène est considéré significativement induit, alors qu'il est significativement inhibé si cette valeur Q_R est inférieure à 0,5.

C. Résultats et discussion

Après avoir exposé la lignée cellulaire épithéliale bronchique humaine BEAS-2B aux biogaz brut et valorisé, nous aborderons les résultats de l'étude toxicologique. L'attention est portée sur la capacité de ces mélanges gazeux à induire une réponse inflammatoire, par l'étude de l'induction génique et la sécrétion des cytokines inflammatoires, IL-8, MCP-1, et un stress oxydant, via l'induction de l'expression génique des enzymes Nrf2, HO-1, CYP1A1, et la génotoxicité via l'induction des gènes c-jun, c-fos et TP53. Il est important de préciser ici que l'exposition cellulaire à des concentrations élevées est utile pour la compréhension des mécanismes de toxicité activés par les toxiques étudiés. Cette compréhension des effets du biogaz sur la santé nécessitera ensuite la prise en compte de données toxicologiques et épidémiologiques. Les données toxicologiques font appel aux expériences *in vitro*, aux expositions *in vivo* d'animaux, ou aux expositions contrôlées chez l'homme. Tout comme l'approche épidémiologique, les approches toxicologiques ont des avantages et des limites. Les études toxicologiques sont donc des moyens d'aborder les différents impacts sur la santé sous ses aspects fondamentaux et aident à la compréhension des mécanismes de toxicité. Elles permettent ainsi de déterminer des biomarqueurs d'exposition ou d'effet qui pourront être validés dans des modèles plus complexes avant l'utilisation des plus pertinents d'entre eux dans les domaines sanitaires et médicaux. En aucun cas, les études expérimentales ne permettent, à elles seules, de conclure dans un sens positif ou négatif à un impact précis et quantifiable sur la santé humaine.

Avant de décrire et discuter les résultats, il est à noter que dans ce travail nous avons choisi de nous intéresser à l'activité transcriptionnelle des cellules, c'est-à-dire à leur capacité d'induction génique pour produire des ARNm, aboutissant *in fine* à la traduction de protéines capables de répondre à l'agression subie par la cellule lors de l'exposition aux toxiques. Les gènes étudiés sont impliqués dans les voies majeures du contrôle de l'homéostasie cellulaire et de la réponse aux toxiques : stress oxydant, inflammation, métabolisation des hydrocarbures et génotoxicité. Le choix de ces gènes s'est basé sur une recherche bibliographique importante permettant d'identifier l'importance relative de tel ou tel mécanisme de défense, plutôt que d'approfondir spécifiquement l'un d'entre eux. Ceci pourrait en revanche constituer une perspective.

Plusieurs avantages expliquent le recours à l'étude des ARNm. Tout d'abord, les gènes étudiés pour leur implication dans certaines voies cellulaires majeures sont connus pour leur inductibilité. Cette inductibilité est, pour certains d'entre eux, dépendante de l'intensité de l'agression subie, c'est-à-dire la durée ou la concentration d'exposition. Deuxièmement, l'expression génique est un phénomène par nature précoce, car il conditionne l'ensemble de la réaction cellulaire. Il nous est donc possible de la mesurer *in vitro* après un temps court, puisque les cellules sont étudiées seulement 6 heures après le début de l'exposition. Enfin, cette étude est de relativement haut débit grâce à l'optimisation des sondes Taqman® utilisées pour la quantification des ARNm, tout en ne nécessitant qu'une faible quantité de cellules. En effet, l'exposition sur insert ne permet pas de disposer de plus de 500 000 cellules par condition d'exposition et par réplicat.

1. Exposition des cellules aux biogaz bruts et propre pendant différentes durées

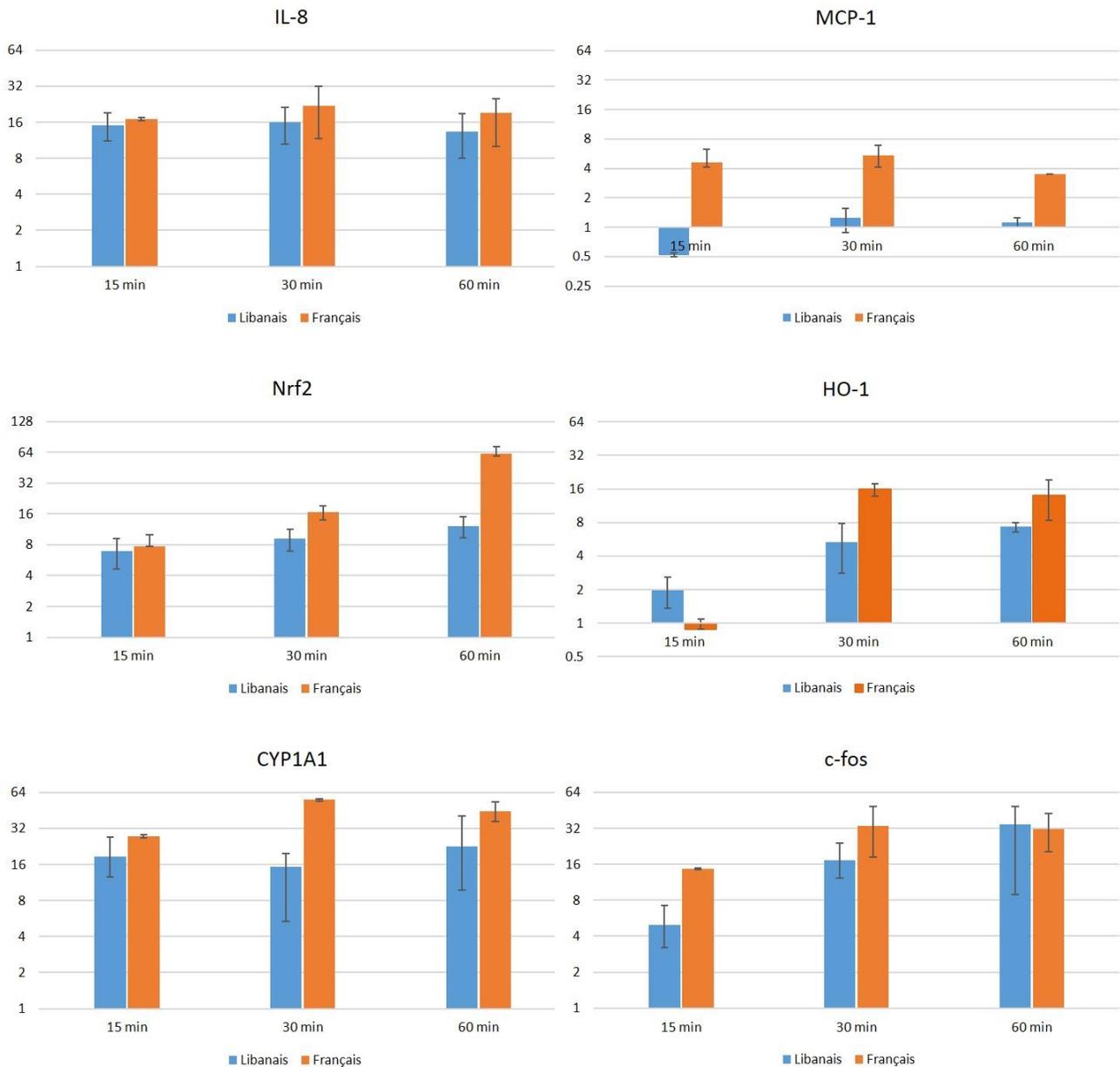
Les cellules BEAS-2B sont exposées pendant 15, 30 et 60 min aux échantillons du biogaz français, libanais et au biogaz propre synthétisé au laboratoire. Des cellules témoins sont exposées seulement à l'air purifié pendant 60 min.

Pour les cellules exposées au biogaz propre synthétisé au laboratoire, l'intégrité de l'ARN déterminée par analyse en électrophorèse sur puce est de mauvaise qualité et l'obtention des résultats était impossible (**annexe**). Ce biogaz est formé de 20% de CH₄, 20 % de CO₂ et de 60% d'Ar (Tableau 4.1). La perte d'intégrité de l'ARN pourrait être alors due à l'absence totale d'oxygène, donnant à ce mélange la propriété asphyxiante et entraînant une nécrose des cellules.

Les résultats présentés dans la figure 4.18 montrent l'expression des gènes choisis après exposition des cellules BEAS-2B au biogaz français et libanais. Les résultats sont décrits par les moyennes et les écarts types de 6 réplicas témoins et de 6 réplicas de cellules exposées. Ils sont exprimés en logarithme à base de 2, ce qui permet de mettre facilement en évidence si le gène est induit ($Q_R > 2$) ou inhibé ($Q_R < 0,5$).

Une induction significative de l'expression de tous les gènes dosés est observée dans les cellules BEAS-2B après leur exposition pendant 15, 30 et 60 min aux deux biogaz français et libanais ($Q_R \geq 2$), à l'exception du MCP-1 dans le cas du biogaz libanais. L'induction de

l'expression des gènes étudiés, IL-8, MCP-1, Nrf2, HO-1, CYP1A1, c-jun, c-fos et TP53, montre que les cellules sont affectées par l'exposition aux biogaz. Il ne semble pas y avoir de différence significative de la réponse cellulaire en fonction du temps pour IL-8, MCP-1, HO-1 et CYP1A1. En revanche, des différences selon la durée d'exposition apparaissent pour les gènes suivants : Nrf2 et c-jun pour le biogaz français, TP53 pour le biogaz libanais et c-fos pour les deux biogaz testés. Ainsi, nous constatons généralement une augmentation de l'induction génique en fonction du temps d'exposition aux biogaz, et donc de la dose de toxique reçue.



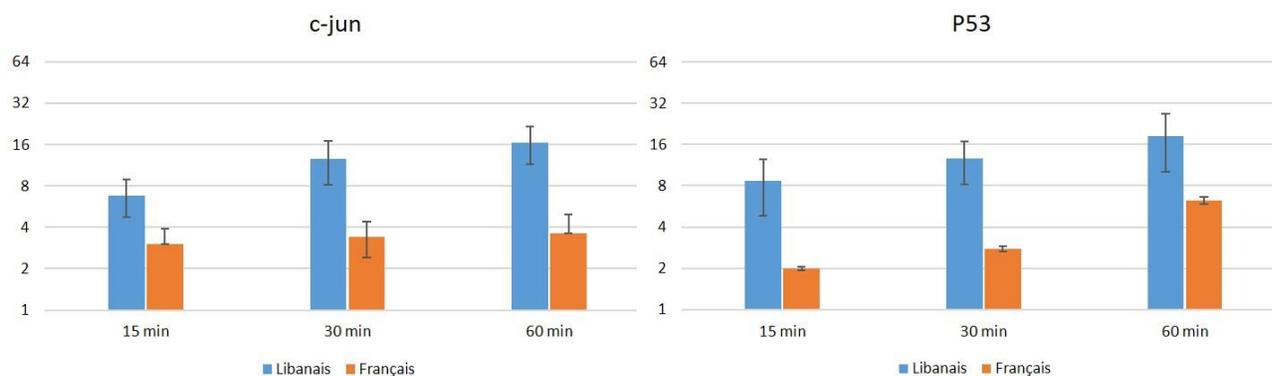


Figure 4. 18: Expression relative des gènes IL-8, MCP-1, Nrf2, HO-1, CYP1A1, c-fos, c-jun et TP53, après exposition des cellules BEAS-2B pendant 15, 30 et 60 min aux échantillons de biogaz français et libanais. La valeur de 1 correspond à l'expression génique des cellules exposées à l'air pur pendant 60 minutes.

Concernant les cytokines pro-inflammatoires, nous remarquons l'induction d'IL-8 et de MCP-1 surtout avec le biogaz français. En effet, ceci peut être dû à la plus grande concentration des impuretés dans ce biogaz, surtout, l'H₂S, le toluène, le benzène et le limonène.

Plusieurs auteurs ont noté l'induction d'IL-8 et de MCP-1 suite à l'exposition des cellules à des composés qui sont présents dans le biogaz. Par exemple, Attene-Ramos et al. [41] ont montré qu'H₂S était impliqué dans la synthèse d'IL-8 après une exposition des cellules intestinales épithéliales pendant 4 heures. D'autre part, des cellules pulmonaires épithéliales exposées au toluène et au benzène avec des rapports de mélange variant de 0,1 à 0,6 ppmv dans l'air ou à chaque gaz seul, produisent une réponse inflammatoire en libérant de l'IL-8 [44]. En outre, après 20 heures d'exposition à des COV tels que le *m*-xylène (1 ng/m³ - 100 g/m³), des cellules épithéliales pulmonaires humaines en culture (A549) ont sécrété du MCP-1 et de l'IL-8. Des mélanges de composés aromatiques (*m*-xylène, styrène, chlorobenzène) ont provoqué des effets comparables à ceux des composés simples sur MCP-1 et IL-8 avec un déplacement vers des plages de concentration plus faibles [45]. De même, l'exposition de la lignée cellulaire épithéliale A549 par Anderson et al. [47] à 20 ppm de limonène, pendant une heure a entraîné une augmentation de la production des cytokines inflammatoires, IL-8 et MCP-1, 24 heures après l'exposition. De même, pour une exposition pendant quatre heures, des augmentations statistiquement significatives de l'IL-8, 12 heures après l'exposition, et du MCP-1, 12 et 24 heures après l'exposition, ont été observées. D'autres auteurs ont mis en évidence l'induction des processus inflammatoires par des composés azotés. César et al. [48] ont indiqué que le NO₂ était

un gaz toxique capable de déclencher des processus inflammatoires dans l'ensemble du système respiratoire, depuis le nez jusqu'aux alvéoles pulmonaires. En outre, Demetriou et al. [49] ont lié la libération des marqueurs d'inflammation par les cellules épithéliales bronchiques à l'exposition à la pollution de l'air ambiant contenant des NO_x. Ceci nous permet de lier aussi l'induction de l'IL-8 et du MCP-1, cytokines pro-inflammatoires, à la présence des composés azotés dans le biogaz français, tels que le NH₃, le NO et NO₂.

Par rapport aux espèces réactives de l'oxygène (ERO), tous les gènes mesurés sont aussi bien induits surtout suite à l'exposition des BEAS-2B au biogaz français, à l'exception du HO-1 qui ne donne aucune réponse significative lors de l'exposition pendant 15 min à ce biogaz. De nombreux auteurs mettent en évidence la formation des ERO suite à l'exposition des cellules à l'H₂S [36] [37] [39–41] [116]. Ils montrent que la toxicité induite par H₂S est due à l'inhibition du cytochrome oxydase mitochondriale ce qui entraîne la formation des ERO et provoque un stress oxydatif. Aucun de ces auteurs n'a mesuré l'induction des gènes. Pourtant, certains ont mesuré une augmentation de la formation des ERO tels que le H₂O₂ et le HO[•] suite à l'exposition à H₂S. Enfin, Hoffmsan et al. [42] ont démontré qu'H₂S active les facteurs de transcription tels que Nrf2. Des études antérieures ont prouvé que la signalisation Nrf2/HO-1 était un principal capteur cellulaire du stress oxydatif [117]. Et comme décrit dans le paragraphe IV.A.4, Nrf2 activé est transloqué dans le noyau pour interagir avec l'élément de réponse antioxydant, l'ARE, ce qui induit l'expression du gène antioxydant HO-1 [52] [55]. Ceci peut expliquer l'induction retardée du HO-1 par rapport à Nrf2, avec un niveau d'expression inférieur à ce dernier. De même, Feltens et al. [80] ont montré que l'expression de plusieurs marqueurs du stress oxydatif comme l'HO-1 est régulée par la présence des COV comme le chlorobenzène.

Certains auteurs ont décrit des expositions aux fumées d'encens. Celles-ci contiennent plusieurs composés auxquels nous nous intéressons, tels que les gaz CO₂, CO, NO₂, les COV comprenant le benzène, le toluène et les xylènes, ainsi que les HAP [118–121]. Au niveau cellulaire, la fumée d'encens augmente le stress oxydatif cellulaire et induit l'expression du gène CYP1A1 dans les tissus pulmonaires [119–121].

Par ailleurs, Walker et al. [8] ont noté l'augmentation de la production d'ERO par des astrocytes (cellules du système nerveux central) suite à leur exposition à l'ammoniac, composé présent dans le biogaz français.

En étudiant l'effet génotoxique des biogaz, nous observons une augmentation significative durée-dépendante de la transcription de c-jun et de c-fos pour le biogaz libanais, du TP53 pour les deux biogaz testés. D'abord, il est bien connu que les réponses inflammatoires et le stress oxydatif peuvent entraîner des dommages à l'ADN et par conséquent activer l'expression de la protéine P53 pour permettre la réparation de l'ADN [122]. Par conséquent, il peut y avoir une corrélation entre la production des cytokines pro-inflammatoires IL-8 et MCP-1 ou la production de ROS identifiée par les gènes Nrf2, HO-1 et CYP1A1 et l'expression de la protéine P53 dans les cellules BEAS-2B. Ceci est évident par l'induction de l'expression des trois gènes mesurés. Concernant TP53, le composé du biogaz qui induit principalement son induction est l'H₂S; en fait, Baskar et al. [43] ont proposé que l'action génotoxique du H₂S entraîne la cellule vers la mort apoptotique déclenchée par la stabilisation de P53. Cependant, dans notre cas l'ARNm de TP53 n'est pas stabilisé, mais augmente avec la durée d'exposition ce qui indique que la mort apoptotique des BEAS-2B exposées au biogaz n'est pas encore totalement déclenchée.

En outre, les deux enzymes c-jun et c-fos sont soumis à une régulation par divers stimuli, qui comprennent le stress oxydant et les cytokines pro-inflammatoires [83]. Alors leur expression devrait être plus importante dans les cellules exposées au biogaz français que dans celles exposées au biogaz libanais, vu que la réponse inflammatoire et le stress oxydant sont plus prononcés suite à l'exposition des cellules épithéliales BEAS-2B au biogaz français contenant une plus grande concentration en impuretés que celui libanais. Néanmoins, ceci est seulement observé avec c-fos montrant dans le cas du biogaz libanais le plus haut niveau d'expression pendant les durées d'exposition 15 et 30 min, alors qu'à 60 min les inductions de c-fos avec les deux biogaz sont similaires. Enfin, d'après la voie de signalisation de ces deux enzymes décrite dans le paragraphe IV.A.4, nous nous attendions à des inductions similaires. Alors que cette tendance est peu marquée avec le biogaz libanais, elle ne l'est pas du tout avec le biogaz français.

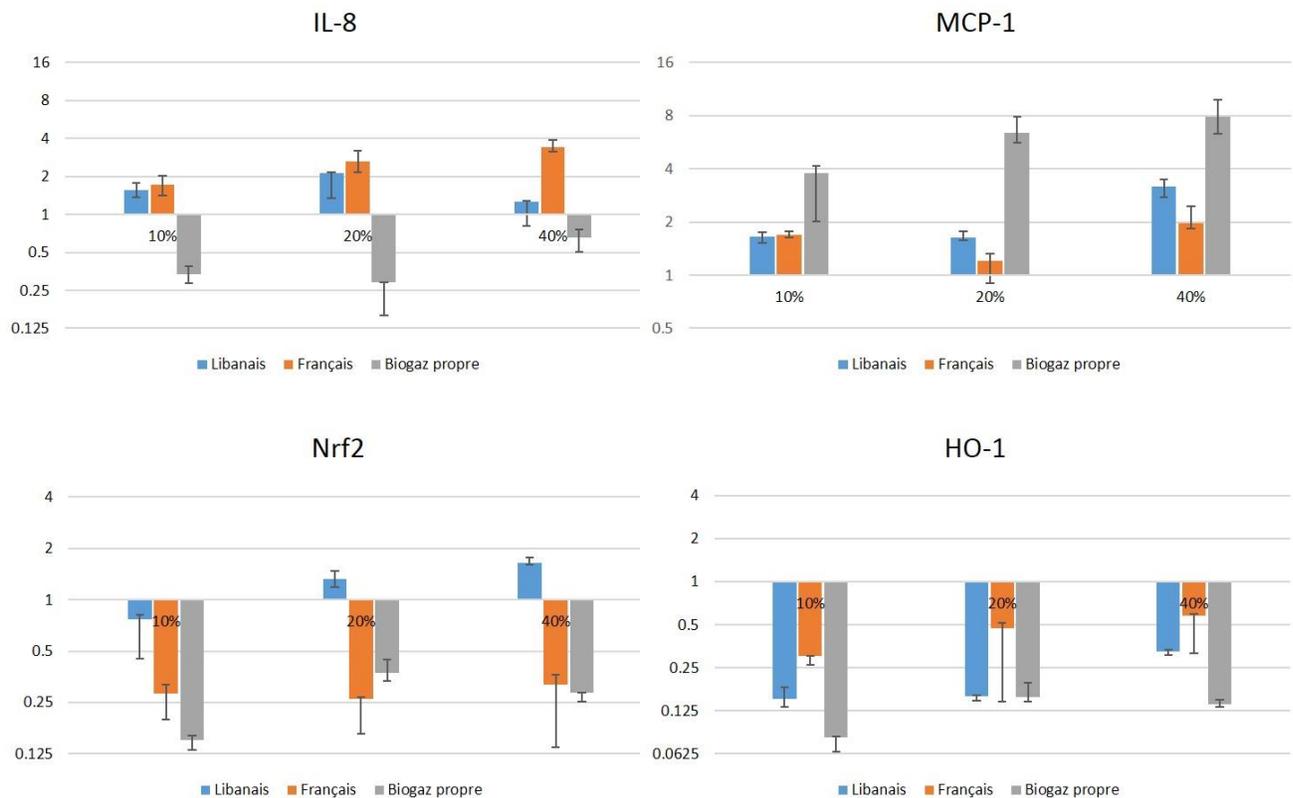
Nous pouvons conclure par l'étude de l'induction génique et la sécrétion des cytokines inflammatoires, IL-8, MCP-1, et par l'induction de l'expression génique des enzymes Nrf2, HO-1, CYP1A1, que la réponse inflammatoire et le stress oxydant sont plus significatifs après l'exposition des BEAS-2B au biogaz français, reliant ce résultat principalement à la plus grande concentration d'impuretés détectée dans ce biogaz, plus précisément, l'H₂S, le NH₃, le NO₂, le

limonène, le toluène et le benzène. Par contre, par l'étude de la génotoxicité via l'induction de c-jun, c-fos et TP53, la même tendance était observée avec c-fos, alors que pour c-jun et TP53 les résultats étaient inattendus.

2. Exposition des cellules aux biogaz brut et propre avec différentes concentrations

Après avoir exposé les cellules BEAS-2B aux biogaz bruts pendant différentes durées, il est nécessaire d'exposer ces cellules au biogaz dilué afin de s'approcher de niveaux d'exposition plus réalistes. Ainsi, des expositions des cellules aux biogaz français, libanais et propre avec des dilutions de 10, 20 et 40 % sont réalisées. Des cellules témoins sont exposées seulement à l'air purifié pendant 60 min.

Les résultats de l'expression des gènes choisis après exposition des cellules BEAS-2B aux divers biogaz sont présentés dans la figure 4.19.



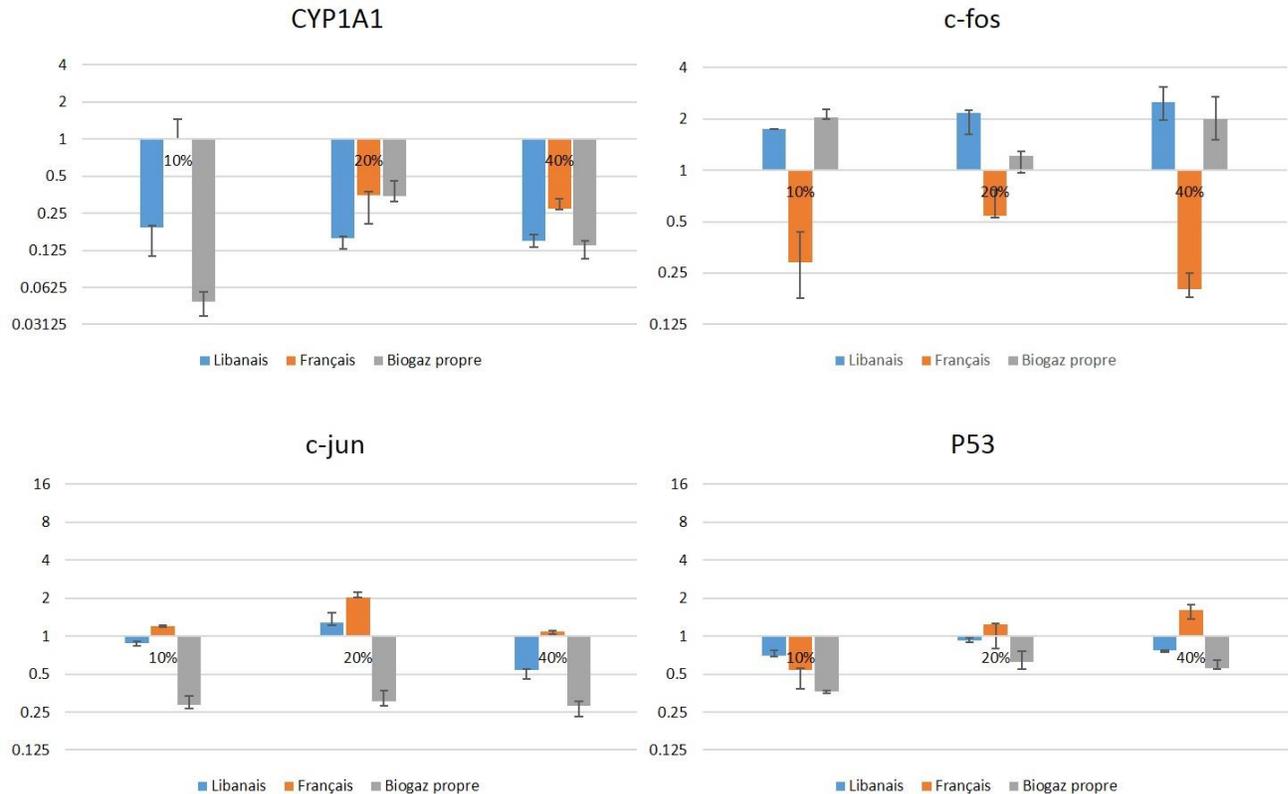


Figure 4. 19: Expression relative des gènes IL-8, MCP-1, Nrf2, HO-1, CYP1A1, c-fos, c-jun et TP53, après exposition des cellules BEAS-2B pendant 60 min aux échantillons de biogaz français, libanais et propre dilués à 10, 20 et 40 %. La valeur de 1 correspond à l'expression génique des cellules exposées à l'air pur pendant 60 minutes.

Une inhibition significative ($Q_R < 0,5$) de l'expression de la plupart des gènes dosés ou des réponses non significatives sont observées ($0,5 < Q_R < 2$) à l'exception de l'IL-8 (20 % biogaz libanais et français et 40 % biogaz français), du MCP-1 (10, 20, 40 % biogaz propre et 40% biogaz libanais et français), et du c-fos (10 et 40 % biogaz propre et 20 et 40% biogaz libanais). Nous remarquons que ces résultats ne nous permettent pas d'identifier des relations dose-réponse.

Rares sont les études montrant l'inhibition des gènes lors de l'exposition à des produits comparables aux nôtres. Shirato et al. [123] ont étudié la toxicité induite par un produit contenant du soufre et de l'azote, le thioacétamide (C_2H_5NS), sur des souris qui sont déficientes de l'enzyme superoxyde SOD1. Ces souris, qui ont été soumises à un stress oxydatif (déficience de SOD1), présentaient une baisse de l'activité CYP2E1, entraînant une diminution dans la production d'espèces réactives d'oxygène. De plus, Alfaro-Moreno et al. [124] ont montré une

inhibition de l'IL-8 suite à l'exposition d'une lignée cellulaire des voies respiratoires aux particules atmosphériques (contenant des particules de combustion et des composants biologiques). Également, Nakayama Wong et al. [125] ont étudié l'effet des particules atmosphériques contenant des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur des cellules épithéliales bronchiques humaines, et ont montré une inhibition sélective de l'inflammation et des gènes du stress oxydant suggérant des interactions supplémentaires avec les voies du métabolisme des xénobiotiques.

3. Conclusion

Les expositions des cellules épithéliales BEAS-2B au biogaz brut prélevé des centres de biométhanisation français et libanais, ont montré la capacité des impuretés présentes dans ces biogaz à induire une réponse inflammatoire via l'induction des cytokines Il-8 et MCP-1, un stress oxydant par l'induction du Nrf2, HO-1 et CYP1A1 et une réponse génotoxique révélée par l'induction du c-fos, c-jun et TP53, dès 15 min d'exposition.

Il faut noter qu'après dilution, la réponse biologique à l'exposition au biogaz est significativement diminuée, voire inhibée dans certaines conditions. Cette inhibition passe par une répression génique. Celle-ci pourrait être causée par la réponse cellulaire au stress oxydant. En effet, il est connu qu'une concentration trop élevée en ERO est capable de diminuer le métabolisme des xénobiotiques. Des mécanismes épigénétiques, tels que la transcription de micro ARN pourrait constituer le mécanisme de régulation impliqué. Nos résultats indiqueraient qu'une dilution du biogaz dans de l'air réduirait fortement sa toxicité.

Quelle que soit leur provenance, les biogaz ont entraîné une réponse biologique de la part des cellules exposées même pour des durées courtes, de l'ordre d'un quart d'heure. Certains mécanismes de toxicité tels que l'induction d'une réponse inflammatoire forte associée à la survenue d'un stress oxydant sont clairement activés. Il pourrait être intéressant d'approfondir d'une part la mise en place de ces mécanismes de défense cellulaire. Nous proposons par exemple de mesurer le niveau d'induction génique d'autres marqueurs, tels que d'autres cytokines, ou des enzymes anti-oxydantes. Il pourrait également se révéler pertinent de quantifier le taux protéique des acteurs majeurs de cette réponse. Ainsi, par une mesure immuno-enzymatique de type ELISA, nous pourrions confirmer si l'induction génique est suivie d'une traduction des protéines correspondantes.

Dans un deuxième temps, en raison des impuretés présentes dans le biogaz, il pourrait être intéressant de rechercher la toxicité seule de ces composés, puis en mélange binaire ou plus complexe, afin de déterminer la part potentielle de toxicité de ces composés dans la toxicité globale du biogaz mesurée dans nos travaux. En effet, si nous constatons que les impuretés constituent une difficulté dans le cadre du reformage à sec du biogaz, nous ne savons pas si ces composés mineurs sont nocifs pour l'homme.

Références bibliographiques

- [1] Explosions, accidents, les faits marquants - Vivre à Lamorlaye, http://www.vivrealamorlaye.fr/sites/methanisation/archives/archives_explosions.htm (accessed July 30, 2017).
- [2] J. Broz, Etude comparative des dangers et des risques liés au biogaz et au gaz naturel, Rapport d'étude, Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. (2006).
- [3] C. Couturier, I. Meiffren, B. Dumas., L. Galtier, Gérer le gaz de décharge - Techniques et Recommandations, Rapport de guides et cahiers techniques, Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME). (2001).
- [4] J.Y. Jo, Y.S. Kwon, J.W. Lee, J.S. Park, B.H. Rho, W.-I. Choi, Acute Respiratory Distress Due to Methane Inhalation, *Tuberculosis and Respiratory Diseases*. 74 (2013) 120–123.
- [5] Dioxyde de carbone (FT 238) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_238 (accessed July 30, 2017).
- [6] Méthanethiol, Ethanethiol et 1-Butanethiol (FT 190) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_190 (accessed July 28, 2017).
- [7] Sulfure d'hydrogène (FT 32) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_32 (accessed July 28, 2017).
- [8] V. Walker, Ammonia metabolism and hyperammonemic disorders, *Advances in Clinical Chemistry*. 67 (2014) 73–150.
- [9] Ammoniac et solutions aqueuses (FT 16) - Fiche toxicologique - INRS. http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_16 (accessed August 2, 2017).
- [10] Toluène (FT 74) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_74 (accessed July 28, 2017).
- [11] Benzène (FT 49) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_49 (accessed July 28, 2017).
- [12] Ethylbenzène (FT 266) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_266 (accessed July 28, 2017).
- [13] Xylènes (FT 77) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_77 (accessed July 28, 2017).

- [14] Dipentène ou d,l-Limonène (FT 227) - Fiche toxicologique - INRS, http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_227 (accessed July 28, 2017).
- [15] A. Rahal, A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty, K. Dhama, Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay, *BioMed Research International*. 2014 (2014) 761264.
- [16] V.I. Lushchak, Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification, *Chemico-Biological Interactions*. 224 (2014) 164–175.
- [17] M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, D. Jore, Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?, *L'actualité Chimique*. (2003).
- [18] J. Frijhoff, P.G. Winyard, N. Zarkovic, S.S. Davies, R. Stocker, D. Cheng, A.R. Knight, E.L. Taylor, J. Oettrich, T. Ruskovska, A.C. Gasparovic, A. Cuadrado, D. Weber, H.E. Poulsen, T. Grune, H.H.H.W. Schmidt, P. Ghezzi, Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress, *Antioxidants & Redox Signaling*. 23 (2015) 1144–1170.
- [19] H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones, Oxidative Stress, *Annual Review of Biochemistry*. 86 (2017) 715-748.
- [20] J.A. Araujo, Particulate air pollution, systemic oxidative stress, inflammation, and atherosclerosis, *Air Quality, Atmosphere, & Health*. 4 (2010) 79–93.
- [21] M. Schieber, N.S. Chandel, ROS function in redox signaling and oxidative stress, *Current Biology: CB*. 24 (2014) R453-462.
- [22] A. Ayala, M. F. Muñoz, Sandro Argüelles, Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014 (2014) e360438.
- [23] Y. Mikhed, A. Daiber, S. Steven, Mitochondrial Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Damage and Their Role in Age-Related Vascular Dysfunction, *International Journal of Molecular Sciences*. 16 (2015) 15918–15953
- [24] U. Weiss, Inflammation, *Nature*. 454 (2008) 427–427.
- [25] M. Gualtieri, F. Ledoux, A. Verdin, S. Billet, P. J. Martin and D. Courcot, Chapter 12 : Particulate Matter Physico-Chemical Characterization and in vitro Toxicological Effects, in: *Airborne Particles: Origin, Emissions and Health Impacts*. (2017).
- [26] Medical Definition of Cytokine, *MedicineNet*. <http://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=11937> (accessed March 21, 2017).
- [27] J.-M. Zhang, J. An, Cytokines, Inflammation and Pain, *International Anesthesiology Clinics*. 45 (2007) 27–37.
- [28] R. Srivastava, N. Mishra, U. M. Singh, R. Srivastava, Genotoxicity: mechanisms and its impact on human diseases, *Octa Journal of Biosciences*. 4 (2016) 67-70.
- [29] W.P. Roos, A.D. Thomas, B. Kaina, DNA damage and the balance between survival and death in cancer biology, *Nature Reviews Cancer*. 16 (2016) 20–33.

- [30] N.R. Shah, M. Mahmoudi, The role of DNA damage and repair in atherosclerosis: A review, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 86 (2015) 147–157.
- [31] M. Dizdaroglu, P. Jaruga, Mechanisms of free radical-induced damage to DNA, *Free Radical Research*. 46 (2012) 382–419.
- [32] J.E. Klaunig, Z. Wang, X. Pu, S. Zhou, Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis, *Toxicology and Applied Pharmacology*. 254 (2011) 86–99.
- [33] D.H. Phillips, V.M. Arlt, Genotoxicity: damage to DNA and its consequences, *EXS*. 99 (2009) 87–110.
- [34] L. Gonzalez, M. Kirsch-Volders, Biomonitoring of genotoxic effects for human exposure to nanomaterials: The challenge ahead, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 768 (2016) 14–26.
- [35] A. Ashkenazi, W.J. Fairbrother, J.D. Levenson, A.J. Souers, From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors, *Nature Reviews Drug Discovery*. 16 (2017) 273–284.
- [36] M.A. Eghbal, P.S. Pennefather, P.J. O'Brien, H₂S cytotoxicity mechanism involves reactive oxygen species formation and mitochondrial depolarisation, *Toxicology*. 203 (2004) 69–76.
- [37] A. Saeedi, A. Najibi, A. Mohammadi-Bardbori, Effects of long-term exposure to hydrogen sulfide on human red blood cells, *The International Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 6 (2015) 20–25.
- [38] D.H. Truong, M.A. Eghbal, W. Hindmarsh, S.H. Roth, P.J. O'Brien, Molecular Mechanisms of Hydrogen Sulfide Toxicity, *Drug Metabolism Reviews*. 38 (2006) 733–744.
- [39] F. Bouillaud, F. Blachier, Mitochondria and sulfide: a very old story of poisoning, feeding, and signaling?, *Antioxidants & Redox Signaling*. 15 (2011) 379–391.
- [40] S.J. Chan, P.T.-H. Wong, Hydrogen sulfide in stroke: Protective or deleterious?, *Neurochemistry International*. 105 (2017) 1–10.
- [41] M.S. Attene-Ramos, G.M. Nava, M.G. Muellner, E.D. Wagner, M.J. Plewa, H.R. Gaskins, DNA damage and toxicogenomic analyses of hydrogen sulfide in human intestinal epithelial FHs 74 Int cells, *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 51 (2010) 304–314.
- [42] M. Hoffman, A. Rajapakse, X. Shen, K.S. Gates, Generation of DNA-damaging reactive oxygen species via the autoxidation of hydrogen sulfide under physiologically relevant conditions: chemistry relevant to both the genotoxic and cell signaling properties of H₂S, *Chemical Research in Toxicology*. 25 (2012) 1609–1615.
- [43] R. Baskar, L. Li, P.K. Moore, Hydrogen sulfide-induces DNA damage and changes in apoptotic gene expression in human lung fibroblast cells, *FASEB Journal*. 21 (2007) 247–255.
- [44] F. Pariselli, M.G. Sacco, D. Rembges, An optimized method for in vitro exposure of human derived lung cells to volatile chemicals, *Experimental and Toxicologic Pathology*. 61 (2009) 33–39.

- [45] G. Fischäder, C. Röder-Stolinski, G. Wichmann, K. Nieber, I. Lehmann, Release of MCP-1 and IL-8 from lung epithelial cells exposed to volatile organic compounds, *Toxicology in Vitro*. 22 (2008) 359–366.
- [46] R. Gminski, T. Tang, V. Mersch-Sundermann, Cytotoxicity and genotoxicity in human lung epithelial A549 cells caused by airborne volatile organic compounds emitted from pine wood and oriented strand boards, *Toxicology Letters*. 196 (2010) 33–41.
- [47] S.E. Anderson, S.S. Khurshid, B.J. Meade, E. Lukomska, J.R. Wells, Toxicological analysis of limonene reaction products using an in vitro exposure system, *Toxicology in Vitro*. 27 (2013) 721–730.
- [48] A.C.G. César, J.A. Carvalho, L.F.C. Nascimento, Association between NO_x exposure and deaths caused by respiratory diseases in a medium-sized Brazilian city, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 48 (2015) 1130–1135.
- [49] C.A. Demetriou, O. Raaschou-Nielsen, S. Loft, P. Møller, R. Vermeulen, D. Palli, M. Chadeau-Hyam, W.W. Xun, P. Vineis, Biomarkers of ambient air pollution and lung cancer: a systematic review, *Occupational and Environmental Medicine*. 69 (2012) 619–627.
- [50] N. Mostafavi, J. Vlaanderen, M. Chadeau-Hyam, R. Beelen, L. Modig, D. Palli, I.A. Bergdahl, P. Vineis, G. Hoek, S.A. Kyrtopoulos, R. Vermeulen, Inflammatory markers in relation to long-term air pollution, *Environment International*. 81 (2015) 1–7.
- [51] Q. Ma, Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 53 (2013) 401–426.
- [52] B. Podder, H.-Y. Song, Y.-S. Kim, Naringenin exerts cytoprotective effect against paraquat-induced toxicity in human bronchial epithelial BEAS-2B cells through NRF2 activation, *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24 (2014) 605–613.
- [53] A. Boutten, D. Goven, É. Artaud-Macari, M. Bonay, La voie Nrf2 en pathologie respiratoire, *médecine/sciences*. 27 (2011) 966–972.
- [54] J. Wu, J. Ren, S. Yao, J. Wang, L. Huang, P. Zhou, D. Yun, Q. Xu, S. Wu, Z. Wang, P. Qiu, Novel antioxidants' synthesis and their anti-oxidative activity through activating Nrf2 signaling pathway, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 27 (2017) 1616–1619.
- [55] S.K. Niture, A.K. Jaiswal, Nrf2 Protein Up-regulates Antiapoptotic Protein Bcl-2 and Prevents Cellular Apoptosis, *The Journal of Biological Chemistry*. 287 (2012) 9873–9886.
- [56] D. Elgrabli, W. Dachraoui, H. de Marmier, C. Ménard-Moyon, D. Bégin, S. Bégin-Colin, A. Bianco, D. Alloyeau, F. Gazeau, Intracellular degradation of functionalized carbon nanotube/iron oxide hybrids is modulated by iron via Nrf2 pathway, *Scientific Reports*. 7 (2017) 40997.
- [57] N. Ade, F. Leon, M. Pallardy, J.-L. Peiffer, S. Kerdine-Romer, M.-H. Tissier, P.-A. Bonnet, I. Fabre, J.-C. Ourlin, HMOX1 and NQO1 genes are upregulated in response to contact sensitizers in dendritic cells and THP-1 cell line: role of the Keap1/Nrf2 pathway, *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*. 107 (2009) 451–460.

- [58] S. Lyoumi, F. Tamion, A. Leplingard, C. Beaumont, H. Puy, J.-P. Lebreton, Rôles protecteurs de l'hème oxygénase et des catabolites de l'hème, *Hématologie*. 13 (2007) 251–264.
- [59] N.R. Kitteringham, A. Abdullah, J. Walsh, L. Randle, R.E. Jenkins, R. Sison, C.E.P. Goldring, H. Powell, C. Sanderson, S. Williams, L. Higgins, M. Yamamoto, J. Hayes, B.K. Park, Proteomic analysis of Nrf2 deficient transgenic mice reveals cellular defence and lipid metabolism as primary Nrf2-dependent pathways in the liver, *Journal of Proteomics*. 73 (2010) 1612–1631.
- [60] L. Wang, B. Zhao, Y. Chen, L. Ma, E.-Z. Chen, E.-Q. Mao, Inflammation and Edema in the Lung and Kidney of Hemorrhagic Shock Rats Are Alleviated by Biliary Tract External Drainage via the Heme Oxygenase-1 Pathway, *Inflammation*. 38 (2015) 2242–2251.
- [61] L.E. Fredenburgh, M.A. Perrella, S.A. Mitsialis, The Role of Heme Oxygenase-1 in Pulmonary Disease, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 36 (2007) 158–165.
- [62] A.A. Walsh, G.D. Szklarz, E.E. Scott, Human cytochrome P450 1A1 structure and utility in understanding drug and xenobiotic metabolism, *The Journal of Biological Chemistry*. 288 (2013) 12932–12943.
- [63] V.M. Arlt, A.M. Kraus, R.W. Godschalk, Y. Rizzo-Vasquez, I. Mrizova, C.A. Roufosse, C. Corbin, Q. Shi, E. Frei, M. Stiborova, F.-J. Van Schooten, D.H. Phillips, D. Spina, Pulmonary Inflammation Impacts on CYP1A1-Mediated Respiratory Tract DNA Damage Induced by the Carcinogenic Air Pollutant Benzo[a]pyrene, *Toxicological Sciences*. 146 (2015) 213–225.
- [64] S.U. Vorrink, P.L. Severson, M.V. Kulak, B.W. Futscher, F.E. Domann, Hypoxia perturbs aryl hydrocarbon receptor signaling and CYP1A1 expression induced by PCB 126 in human skin and liver-derived cell lines, *Toxicology and Applied Pharmacology*. 274 (2014) 408–416.
- [65] A.G. Hussein, H.F. Pasha, H.M. El-Shahat, D.M. Gad, M.M. Toam, CYP1A1 gene polymorphisms and smoking status as modifier factors for lung cancer risk, *Gene*. 541 (2014) 26–30.
- [66] A.I. Totlandsdal, F.R. Cassee, P. Schwarze, M. Refsnes, M. Låg, Diesel exhaust particles induce CYP1A1 and pro-inflammatory responses via differential pathways in human bronchial epithelial cells, *Particle and Fibre Toxicology*. 7 (2010) 41.
- [67] V.P. Androutsopoulos, A.M. Tsatsakis, D.A. Spandidos, Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention, *BMC Cancer*. 9 (2009) 187.
- [68] P.-H. Villard, F. Barlesi, M. Armand, T.-M.-A. Dao, J.-M. Pascussi, F. Fouchier, S. Champion, C. Dufour, C. Giniès, A. Khalil, M.-J. Amiot, Y. Barra, E. Seree, CYP1A1 Induction in the Colon by Serum: Involvement of the PPAR α Pathway and Evidence for a New Specific Human PPRe α Site, *PLoS ONE*. 6 (2011) e14629.

- [69] X. Tekpli, S. Zienolddiny, V. Skaug, L. Stangeland, A. Haugen, S. Mollerup, DNA methylation of the CYP1A1 enhancer is associated with smoking-induced genetic alterations in human lung, *International Journal of Cancer*. 131 (2012) 1509–1516.
- [70] H. Chavan, P. Krishnamurthy, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) mediate transcriptional activation of the ATP binding cassette transporter ABCB6 gene via the aryl hydrocarbon receptor (AhR), *The Journal of Biological Chemistry*. 287 (2012) 32054–32068.
- [71] F. Arenas-Huertero, E. Apátiga-Vega, G. Miguel-Pérez, D. Villeda-Cuevas and J. Trillo-Tinoco, Molecular Markers Associated with the Biological Response to Aromatic Hydrocarbons from Urban Air in Humans, in: *Air Pollution - New Developments*, INTECH. (2011).
- [72] N. Mukaida, Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL8 in pulmonary diseases, *American Journal of Physiology, Lung Cellular and Molecular Physiology*. 284 (2003) 566–577.
- [73] R.C. Russo, C.C. Garcia, M.M. Teixeira, F.A. Amaral, The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases, *Expert Review of Clinical Immunology*. 10 (2014) 593–619.
- [74] T.J. Standiford, S.L. Kunkel, M.A. Basha, S.W. Chensue, J.P. Lynch, G.B. Toews, J. Westwick, R.M. Strieter, Interleukin-8 gene expression by a pulmonary epithelial cell line. A model for cytokine networks in the lung, *Journal of Clinical Investigation*. 86 (1990) 1945–1953.
- [75] K. Jundi, C.M. Greene, Transcription of Interleukin-8: How Altered Regulation Can Affect Cystic Fibrosis Lung Disease, *Biomolecules*. 5 (2015) 1386–1398.
- [76] C.E. Kendal-Wright, D. Hubbard, J. Gowin-Brown, G.D. Bryant-Greenwood, Stretch and inflammation-induced Pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF/Visfatin) and Interleukin-8 in amniotic epithelial cells, *Placenta*. 31 (2010) 665–674.
- [77] C.E. Rose, S.-S.J. Sung, S.M. Fu, Significant involvement of CCL2 (MCP-1) in inflammatory disorders of the lung, *Microcirculation*. 10 (2003) 273–288.
- [78] R. Paine, M.W. Rolfe, T.J. Standiford, M.D. Burdick, B.J. Rollins, R.M. Strieter, MCP-1 expression by rat type II alveolar epithelial cells in primary culture, *The Journal of Immunology*. 150 (1993) 4561–4570.
- [79] A.M. Stowe, B.K. Wacker, P.D. Cravens, J.L. Perfater, M.K. Li, R. Hu, A.B. Freie, O. Stüve, J.M. Gidday, CCL2 upregulation triggers hypoxic preconditioning-induced protection from stroke, *Journal of Neuroinflammation*. 9 (2012) 33.
- [80] R. Feltens, I. Mögel, C. Röder-Stolinski, J.-C. Simon, G. Herberth, I. Lehmann, Chlorobenzene induces oxidative stress in human lung epithelial cells in vitro, *Toxicology and Applied Pharmacology*. 242 (2010) 100–108.
- [81] W.K. Ip, C.K. Wong, C.W.K. Lam, Interleukin (IL)-4 and IL-13 up-regulate monocyte chemoattractant protein-1 expression in human bronchial epithelial cells: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase, extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Janus kinase-

- 2 but not c-Jun NH2-terminal kinase 1/2 signalling pathways, *Clinical and Experimental Immunology*. 145 (2006) 162–172.
- [82] S.L. Deshmane, S. Kremlev, S. Amini, B.E. Sawaya, Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview, *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 29 (2009) 313–326.
- [83] Ö. Uluçkan, J. Guinea-Viniegra, M. Jimenez, E.F. Wagner, Signalling in inflammatory skin disease by AP-1 (Fos/Jun), *Clinical and Experimental Rheumatology*. 33 (2015) 44–49.
- [84] A. Lièvre, P. Laurent-Pulg, La voie de signalisation RAS/MAPK, *Cancéro Digest*. 2 (2010) 38–42.
- [85] C. Timblin, K. BeruBe, A. Churg, K. Driscoll, T. Gordon, D. Hemenway, E. Walsh, A.B. Cummins, P. Vacek, B. Mossman, Ambient Particulate Matter Causes Activation of the c-jun Kinase/Stress-activated Protein Kinase Cascade and DNA Synthesis in Lung Epithelial Cells, *Cancer Research*. 58 (1998) 4543–4547.
- [86] V. Turinetto, P. Porcedda, V. Minieri, L. Orlando, E. Lantelme, L. Accomasso, A. Amoroso, M. De Marchi, L. Zannini, D. Delia, C. Giachino, A novel defect in mitochondrial p53 accumulation following DNA damage confers apoptosis resistance in Ataxia Telangiectasia and Nijmegen Breakage Syndrome T-cells, *DNA Repair*. 9 (2010) 1200–1208.
- [87] Y.-H. Liu, G.-H. Liu, J.-J. Mei, J. Wang, The preventive effects of hyperoside on lung cancer in vitro by inducing apoptosis and inhibiting proliferation through Caspase-3 and P53 signaling pathway, *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 83 (2016) 381–391.
- [88] V. Pant, G. Lozano, Limiting the power of p53 through the ubiquitin proteasome pathway, *Genes & Development*. 28 (2014) 1739–1751.
- [89] S.-H. Heo, J. Kwak, K.L. Jang, All-trans retinoic acid induces p53-dependent apoptosis in human hepatocytes by activating p14 expression via promoter hypomethylation, *Cancer Letters*. 362 (2015) 139–148.
- [90] L.F. Barbosa, F.M. Cerqueira, A.F.A. Macedo, C.C.M. Garcia, J.P.F. Angeli, R.I. Schumacher, M.C. Sogayar, O. Augusto, M.T. Carri, P. Di Mascio, M.H.G. Medeiros, Increased SOD1 association with chromatin, DNA damage, p53 activation, and apoptosis in a cellular model of SOD1-linked ALS, *Biochimica Et Biophysica Acta*. 1802 (2010) 462–471.
- [91] A.N. Bullock, A.R. Fersht, Rescuing the function of mutant p53, *Nature Reviews Cancer*. 1 (2001) 68–76.
- [92] S. Haupt, M. Berger, Z. Goldberg, Y. Haupt, Apoptosis - the p53 network, *Journal of Cell Science*. 116 (2003) 4077–4085.
- [93] M. Nakano, Y. Taura, M. Inoue, Protein Expression of Mdm2 and p53 in Hyperplastic and Neoplastic Lesions of the Canine Circumanal Gland, *Journal of Comparative Pathology*. 132 (2005) 27–32.
- [94] N. Buyukpinarbasili, Z. Gucin, Y.E. Ersoy, A. İlbak, H. Kadioglu, M. Muslumanoglu, p53 expression and relationship with MDM2 amplification in breast carcinomas, *Annals of Diagnostic Pathology*. 21 (2016) 29–34.

- [95] G. Gałęzowska, M. Chraniuk, L. Wolska, In vitro assays as a tool for determination of VOCs toxic effect on respiratory system: A critical review, *Trends in Analytical Chemistry*. 77 (2016) 14–22.
- [96] D. Norbäck, E. Björnsson, C. Janson, J. Widström, G. Boman, Asthmatic symptoms and volatile organic compounds, formaldehyde, and carbon dioxide in dwellings, *Occupational and Environmental Medicine*. 52 (1995) 388–395.
- [97] R.E. Rasmussen, In vitro systems for exposure of lung cells to NO₂ and O₃, *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 13 (1984) 397–411.
- [98] H. Sun, H. A. Clancy, T. Kluz, J. Zavadil, M. Costa, Comparison of Gene Expression Profiles in Chromate Transformed BEAS-2B Cells, *PLOS ONE*. 6 (2011) e17982.
- [99] M. Låg, J. Øvrevik, A.I. Totlandsdal, E.M. Lilleaas, A. Thormodsæter, J.A. Holme, P.E. Schwarze, M. Refsnes, Air pollution-related metals induce differential cytokine responses in bronchial epithelial cells, *Toxicology in Vitro*. 36 (2016) 53–65.
- [100] M. Aufderheide, J.W. Knebel, D. Ritter, Novel approaches for studying pulmonary toxicity in vitro, *Toxicology Letters*. 140–141 (2003) 205–211.
- [101] M. Al Zallouha, Y. Landkocz, J. Brunet, R. Cousin, E. Genty, D. Courcot, S. Siffert, P. Shirali, S. Billet, Usefulness of toxicological validation of VOCs catalytic degradation by air-liquid interface exposure system, *Environmental Research*. 152 (2017) 328–335.
- [102] M. Aufderheide, U. Mohr, CULTEX — a new system and technique for the cultivation and exposure of cells at the air/liquid interface, *Experimental and Toxicologic Pathology*. 51 (1999) 489–490.
- [103] C. Schmalz, H.G. Wunderlich, R. Heinze, F.H. Frimmel, C. Zwiener, T. Grummt, Application of an optimized system for the well-defined exposure of human lung cells to trichloramine and indoor pool air, *Journal of Water and Health*. 9 (2011) 586–596.
- [104] S.E. Anderson, L.G. Jackson, J. Franko, J.R. Wells, Evaluation of Dicarbonyls Generated in a Simulated Indoor Air Environment Using an In Vitro Exposure System, *Toxicological Sciences*. 115 (2010) 453–461.
- [105] K. Mullis, F. Faloon, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn, H. Erlich, Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction, *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 51 (1986) 263–273.
- [106] C.T. Wittwer, M.G. Herrmann, A.A. Moss, R.P. Rasmussen, Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification, *BioTechniques*. 22 (1997) 130–131, 134–138.
- [107] D. Thorne, J. Adamson, A review of in vitro cigarette smoke exposure systems, *Experimental and Toxicologic Pathology*. 65 (2013) 1183–1193.
- [108] R.R. Reddel, Y. Ke, B.I. Gerwin, M.G. McMenamin, J.F. Lechner, R.T. Su, D.E. Brash, J.B. Park, J.S. Rhim, C.C. Harris, Transformation of human bronchial epithelial cells by infection with SV40 or adenovirus-12 SV40 hybrid virus, or transfection via strontium phosphate coprecipitation with a plasmid containing SV40 early region genes, *Cancer Research*. 48 (1988) 1904–1909.

- [109] X.-X. Lin, X.-F. Yang, J.-X. Jiang, S.-J. Zhang, Y. Guan, Y.-N. Liu, Y.-H. Sun, Q.-M. Xie, Cigarette smoke extract-induced BEAS-2B cell apoptosis and anti-oxidative Nrf-2 up-regulation are mediated by ROS-stimulated p38 activation, *Toxicology Mechanisms and Methods*. 24 (2014) 575–583.
- [110] M. Biola-Clier, D. Beal, S. Caillat, S. Libert, L. Armand, N. Herlin-Boime, S. Sauvaigo, T. Douki, M. Carriere, Comparison of the DNA damage response in BEAS-2B and A549 cells exposed to titanium dioxide nanoparticles, *Mutagenesis*. 32 (2017) 161–172.
- [111] C. Persoz, S. Achard, I. Momas, N. Seta, Inflammatory response modulation of airway epithelial cells exposed to formaldehyde, *Toxicology Letters*. 211 (2012) 159–163.
- [112] E. Poitras, A. Houde, La PCR en temps réel : principes et applications, *Reviews in Biology and Biotechnology*. 2 (2002) 2–11.
- [113] K.B.A. Saeed, N.S. Ahmad, Real-Time Polymerase Chain Reaction: Applications in Diagnostic Microbiology, *International Journal of Medical Students*. 1 (2013) 28–36.
- [114] S.A. Bustin, Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems, *Journal of Molecular Endocrinology*. 29 (2002) 23–39.
- [115] K. J. Livak, T. D. Schmittgen, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method, *Methods (San Diego, Calif.)*. 25 (2001) 402–408.
- [116] D.H. Truong, M.A. Eghbal, W. Hindmarsh, S.H. Roth, P.J. O'Brien, Molecular Mechanisms of Hydrogen Sulfide Toxicity, *Drug Metabolism Reviews*. 38 (2006) 733–744.
- [117] Z. Liu, C. Yang, X. Meng, Z. Li, C. Lv, P. Cao, Neuroprotection of edaravone on the hippocampus of kainate-induced epilepsy rats through Nrf2/HO-1 pathway, *Neurochemistry International*. In Press, Corrected Proof (2017).
- [118] T. Hussain, O.S. Al-Attas, N.M. Al-Daghri, A.A. Mohammed, E. De Rosas, S. Ibrahim, B. Vinodson, M.G. Ansari, K.I.A. El-Din, Induction of CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, increased oxidative stress and inflammation in the lung and liver tissues of rats exposed to incense smoke, *Molecular and Cellular Biochemistry*. 391 (2014) 127–136.
- [119] C.-C. Chen, H. Lee, Genotoxicity and DNA adduct formation of incense smoke condensates: comparison with environmental tobacco smoke condensates, *Mutation Research/Genetic Toxicology*. 367 (1996) 105–114.
- [120] P. Navasumrit, M. Arayasiri, O.M.T. Hiang, M. Leechawengwongs, J. Promvijit, S. Choonvisase, S. Chantchaemsai, N. Nakngam, C. Mahidol, M. Ruchirawat, Potential health effects of exposure to carcinogenic compounds in incense smoke in temple workers, *Chemico-Biological Interactions*. 173 (2008) 19–31.
- [121] R. Cohen, K.G. Sexton, K.B. Yeatts, Hazard assessment of United Arab Emirates (UAE) incense smoke, *Science of The Total Environment*. 458–460 (2013) 176–186.
- [122] F. Yang, S. Jin, Y. Xu, Y. Lu, Comparisons of IL-8, ROS and p53 responses in human lung epithelial cells exposed to two extracts of PM2.5 collected from an e-waste recycling area, China, *Environmental Research Letters*. 6 (2011) 024013.

- [123] T. Shirato, T. Homma, J. Lee, T. Kurahashi, J. Fujii, Oxidative stress caused by a SOD1 deficiency ameliorates thioacetamide-triggered cell death via CYP2E1 inhibition but stimulates liver steatosis, *Archives of Toxicology*. 91 (2017) 1319–1333.
- [124] E. Alfaro-Moreno, V. Torres, J. Miranda, L. Martínez, C. García-Cuellar, T.S. Nawrot, B. Vanaudenaerde, P. Hoet, P. Ramírez-López, I. Rosas, B. Nemery, A.R. Osornio-Vargas, Induction of IL-6 and inhibition of IL-8 secretion in the human airway cell line Calu-3 by urban particulate matter collected with a modified method of PM sampling, *Environmental Research*. 109 (2009) 528–535.
- [125] L.S. Nakayama Wong, H.H. Aung, M.W. Lamé, T.C. Wegesser, D.W. Wilson, Fine particulate matter from urban ambient and wildfire sources from California's San Joaquin Valley initiate differential inflammatory, oxidative stress, and xenobiotic responses in human bronchial epithelial cells, *Toxicology in Vitro*. 25 (2011) 1895–1905.

CONCLUSION GENERALE ET **PERSPECTIVES**

Ce travail comporte trois volets :

- le prélèvement et l'analyse d'un biogaz réel produit par un centre de biométhanisation
- la synthèse, la caractérisation et l'évaluation des performances de systèmes catalytiques qui permettraient une valorisation efficace du biogaz, via le reformage à sec.
- l'effet toxicologique du biogaz sur le plan sanitaire.

L'étude analytique des échantillons de biogaz, prélevé durant des campagnes de mesure et d'échantillonnage réalisées au sein d'unités de biométhanisation situées au Nord de la France et au Sud du Liban, a été effectuée. Cette étude a révélé la nature et la concentration des différents composés du biogaz produit. Les résultats obtenus dans les deux centres français et libanais sont typiques du biogaz émis de déchets municipaux contenant des déchets ménagers et organiques. Les concentrations volumiques des principaux composants du biogaz, issus des deux centres de biométhanisation sélectionnés, sont proches dû à l'emploi du procédé Valorga convenable à la fois pour le traitement des déchets ménagers triés à la source (cas français) ou même triés mécaniquement à l'arrivée au centre (cas libanais). Le CH₄ et le CO₂ ont présenté les teneurs les plus élevées, étant les composés majoritaires du biogaz. De plus, la teneur des composés soufrés et des BTEX est plus faible pour le biométhaniseur libanais suite au traitement du biogaz par une tour de désulfurisation puis dans un filtre de charbon actif. En outre, la plus faible concentration en terpènes obtenue dans le biogaz libanais est due à la plus faible proportion de déchets verts traités dans ce cas. En revanche, les charges riches en déchets verts, introduites dans le digesteur français, résultent en des concentrations élevées de limonène et de cymène. En outre, la présence de protéines entraîne des concentrations non négligeables de H₂S dans le biogaz des deux centres.

Dans la partie catalyse, différents oxydes $\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mg}_z\text{Al}_2\text{O}_9$ ($x + y + z = 6$, avec x , y et z les rapports molaires) ont été préparés par voie hydrotalcite et calcinés à 800 °C. L'analyse par diffraction de rayons X (DRX), analyses thermiques différentielle et gravimétrique (ATD/ATG), et spectroscopie IR des échantillons avant calcination a confirmé l'obtention de la structure hydrotalcite suite à notre synthèse quel que soit le degré de substitution du Mg par le Co et/ou le Ni. Les diffractogrammes de rayons X des oxydes calcinés ont révélé la destruction de cette structure et l'obtention d'oxydes simples et mixtes. La mesure des aires spécifiques par la méthode BET

montre l'augmentation de la surface spécifique après calcination des solides séchés, suite à l'élimination de l'eau et des anions en interfeuillet et à la transformation des ions carbonate CO_3^{2-} en CO_2 , développant ainsi une structure poreuse. L'étude de ces oxydes par réduction en température programmée (RTP) montre que les espèces de Ni existent plutôt sous forme d'oxydes mixtes alors que celles de Co peuvent exister sous forme d'oxydes simples facilement réductibles et d'oxydes mixtes plus résistants à la réduction. De plus, l'étude des oxydes par désorption du CO_2 en température programmée (DTP- CO_2) a décelé l'existence, en général, de deux types de sites basiques. Cette basicité diminue lorsque la teneur en Ni augmente.

Les performances catalytiques des oxydes calcinés ont été testées vis-à-vis de la réaction de reformage à sec du méthane. L'oxyde $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ s'est avéré être le plus actif parmi les oxydes étudiés, probablement en raison de la stœchiométrie du Co et du Ni dans cet oxyde qui est la plus favorable à la formation d'un alliage Co-Ni connu pour sa réactivité dans la réaction de reformage à sec du méthane. Parallèlement, les catalyseurs où la teneur molaire du Co est supérieure à celle du Ni, notamment $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ et $\text{Co}_3\text{Ni}_1\text{Mg}_2\text{Al}_2800$, ont montré une plus grande résistance au dépôt de carbone mais de plus faibles taux de conversion des réactifs. Le carbone formé sur les catalyseurs à teneur élevée en Co peut être plus facilement éliminé, comparé aux autres catalyseurs. Ceci confirme la plus grande résistance au dépôt de carbone associée au Co.

Un test de vieillissement effectué sur $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ met en évidence que la désactivation progressive du catalyseur n'est pas uniquement due au dépôt de carbone mais également au frittage irréversible des particules de métal. En outre, le $\text{Co}_2\text{Ni}_2\text{Mg}_2\text{Al}_2800$ montre une stabilité pendant 20 heures de reformage à sec du méthane, grâce à un cycle périodique de dépôt et d'élimination du carbone et à la forte interaction entre Ni et Co, empêchant ainsi la désactivation du catalyseur.

Finalement, la réaction de reformage à sec en présence de toluène, montre une diminution de la conversion du CH_4 suite à la formation de carbone sur la surface du catalyseur due à des réactions de craquage des hydrocarbures qui ont lieu en plus des réactions secondaires. Le frittage des particules est également responsable de la désactivation du catalyseur $\text{Co}_2\text{Mg}_4\text{Al}_2800$ en présence du toluène.

Concernant l'aspect toxicologique, des expositions des cellules épithéliales BEAS-2B au biogaz brut prélevé des centres de biométhanisation français et libanais ont été effectuées. Les

résultats ont montré la capacité des impuretés présentes dans ce biogaz à induire une réponse inflammatoire via l'induction des cytokines Il-8 et MCP-1, un stress oxydant par l'induction du Nrf2, HO-1 et CYP1A1 et une réponse génotoxique révélée par l'induction du c-fos, c-jun et TP53, dès 15 min d'exposition. Cependant, la dilution des biogaz réels et du biogaz propre induit la diminution voire l'inhibition de la réponse biologique, indiquant qu'une dilution du biogaz dans de l'air réduirait fortement sa toxicité. Par ailleurs, le reformage à sec a réduit la toxicité du biogaz propre.

Les perspectives à ce travail sont nombreuses.

Concernant les études analytiques sur le biogaz, il serait intéressant d'effectuer un échantillonnage auprès du centre de biométhanisation au Liban durant l'hiver, pour comparer l'effet de la saison sur la composition du biogaz au Liban. Ces analyses permettent en quelque sorte de faire évoluer ce processus au Liban, pays qui commence à faire des progrès dans le domaine de l'énergie propre.

De plus, il s'avère important de tester les performances des catalyseurs étudiés sous un mélange plus proche des conditions réelles en prenant en considération l'effet de plusieurs impuretés existantes dans le biogaz sur l'efficacité catalytique. Il serait également intéressant d'évaluer la stabilité des catalyseurs de la série étudiée dans de telles conditions et de les caractériser suite à ce vieillissement.

Finalement, il pourrait être intéressant d'approfondir la mise en place des mécanismes de défense cellulaire en mesurant le niveau d'induction génique d'autres marqueurs. Egalement, la quantification du taux protéique des acteurs majeurs de cette réponse serait importante. Ainsi, par une mesure immuno-enzymatique de type ELISA, nous pourrions confirmer si l'induction génique est suivie d'une traduction des protéines correspondantes. Dans un deuxième temps, il faudrait rechercher la toxicité de chaque impureté du biogaz, puis en mélange binaire ou plus complexe, afin de déterminer la part potentielle de toxicité de ces composés dans la toxicité globale du biogaz mesurée dans nos travaux.

ANNEXE

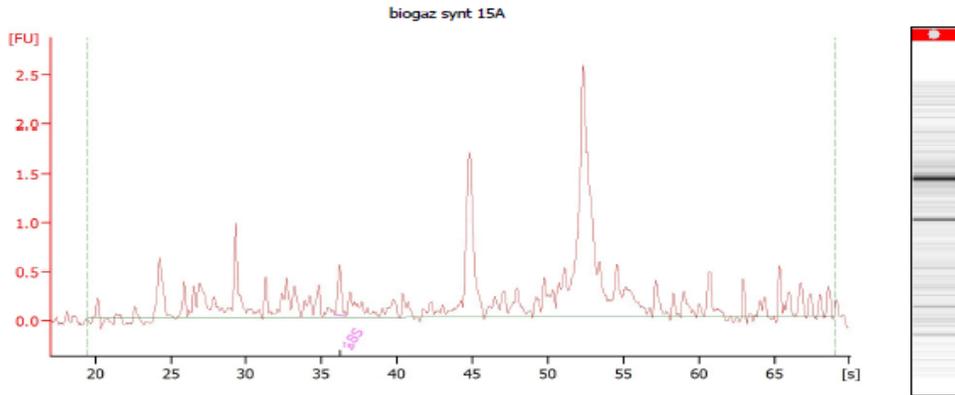
Intégrité de l'ARN des cellules exposées au biogaz propre synthétisé au laboratoire

2100 expert_Eukaryote Total RNA Nano_DE13806152_2017-02-15_17-23-18.xad

Page 10 of 18

Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: C:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE13806152_2017-02-15_17-23-18.xad
 Created: 15/2/2017 5:23:17 PM
 Modified: 15/2/2017 5:47:06 PM

Electropherogram Summary Continued ...



Overall Results for sample 6 : biogaz synt 15A

RNA Area: 20.4
 RNA Concentration: 147 ng/µl
 rRNA Ratio [28s / 18s]: 0.0
 RNA Integrity Number (RIN): N/A (B.02.08)
 Result Flagging Color:
 Result Flagging Label: RIN N/A

Fragment table for sample 6 : biogaz synt 15A

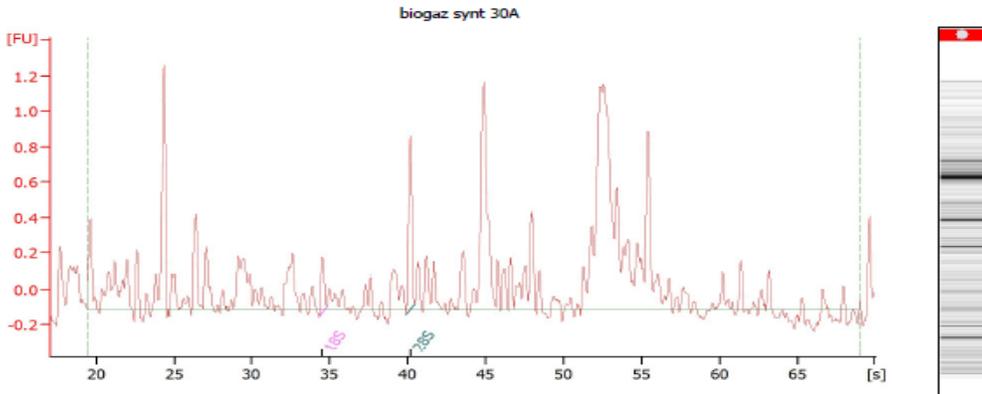
Name	Start Size [nt]	End Size [nt]	Area	% of total Area
18S	1,453	1,616	0.5	2.2

2100 expert_Eukaryote Total RNA Nano_DE13806152_2017-02-15_17-23-18.xad

Page 11 of 1

Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: C:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE13806152_2017-02-15_17-23-18.xad
 Created: 15/2/2017 5:23:17 P
 Modified: 15/2/2017 5:47:06 P

Electropherogram Summary Continued ...



Overall Results for sample 7 : biogaz synt 30A

RNA Area: 16.7
 RNA Concentration: 120 ng/µl
 rRNA Ratio [28s / 18s]: 2.7
 RNA Integrity Number (RIN): N/A (B.02.08)
 Result Flagging Color:
 Result Flagging Label: RIN N/A

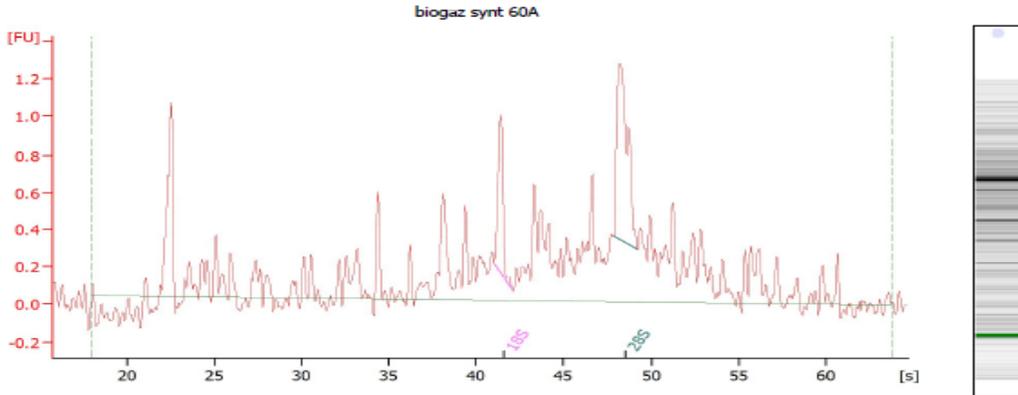
Fragment table for sample 7 : biogaz synt 30A

Name	Start Size [nt]	End Size [nt]	Area	% of total Area
18S	1,135	1,238	0.2	1.3
28S	2,542	2,759	0.6	3.6

Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: C:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE13806152_2017-02-15_17-23-18.xad

Created: 15/2/2017 5:23
 Modified: 15/2/2017 5:47

Electropherogram Summary Continued ...



Overall Results for sample 8 : biogaz synt 60A

RNA Area:	15.4	RNA Integrity Number (RIN):	4.9 (B.02.08)
RNA Concentration:	111 ng/ul	Result Flagging Color:	
rRNA Ratio [28s / 18s]:	2.3	Result Flagging Label:	RIN: 4.90

Fragment table for sample 8 : biogaz synt 60A

Name	Start Size [nt]	End Size [nt]	Area	% of total Area
18S	2,986	3,405	0.6	3.9
28S	5,680	6,208	1.4	8.8

ACTIVITE SCIENTIFIQUE

Le travail de cette thèse est valorisé sous forme de publications et de communications orales ou par affiche.

Pnblications

- **Syngas production by the CO₂ reforming of CH₄ over Ni-Co-Mg-Al catalysts obtained from hydrotalcite precursors**

Carole Tanios, Sandy Bsaibes, Cédric Gennequin, Madona Labaki, Fabrice Cazier, Sylvain Billet, Haingomalala Lucette Tidahy, Bilal Nsouli, Antoine Aboukaïs, Edmond Abi-Aad
International Journal of Hydrogen Energy. 42 (2017) 12818-12828
DOI: 10.1016/j.ijhydene.2017.01.120

- **H₂ production by dry reforming of biogas over Ni-Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route**

Carole Tanios, Cédric Gennequin, Haingomalala Lucette Tidahy, Fabrice Cazier, Madona Labaki, Bilal Nsouli, Antoine Aboukaïs, Edmond Abi-Aad
2016 7th International Renewable Energy Congress (IREC)
DOI: 10.1109/IREC.2016.7478866

- **Preparation and characterization of Ni-Co-Mg-Al mixed oxides derived from layered double hydroxides and their performance in the dry reforming of methane**

Carole Tanios, Sandy Bsaibes, Mira Nawfal, Cédric Gennequin, Madona Labaki, Fabrice Cazier, Sylvain Billet, Haingomalala Lucette Tidahy, Bilal Nsouli, Antoine Aboukaïs, Edmond Abi-Aad
2016 3rd International Conference on Renewable Energies for Developing Countries (REDEC)
DOI: 10.1109/REDEC.2016.7577544

Communications orales

- **The 7th International Renewable Energy Congress, IREC (22-24 mars 2016, Hammamet, Tunisia):**

Carole Tanios, Madona Labaki, Cédric Gennequin, Haingomalala Lucette Tidahy, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli and Edmond Abi-Aad
« H₂ production by dry reforming of biogas over Ni-Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route »

- **The International Conference on Renewable Energies for Developing Countries, REDEC (13-15 juillet 2016, Zouk Mosbeh, Lebanon):**

Carole Tanios, Sandy Bsaibes, Mira Nawfal, Madona Labaki, Cédric Gennequin, Haingomalala Lucette Tidahy, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli and Edmond Abi-Aad

« Preparation and characterization of Ni-Co-Mg-Al mixed oxides derived from layered double hydroxides and their performance in the dry reforming of methane»

- **The 23th International Scientific Conference of the Lebanese Association for the Advancement of Science, LAAS (6-7 avril 2017, Fanar, Liban):**

Carole Tanios, Madona Labaki, Cédric Gennequin, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli, and Edmond Abi-Aad

«Catalytic reforming of CH₄ by CO₂: effect of ruthenium addition and of the insertion of divalent cations (Ni, Co, Mn) in the hydrotalcite structure»

- **The Renewable Energy Sources- Research and Business, RESRB (19-21 juin 2017, Wroclaw, Pologne):**

Carole Tanios, Moises Romolos Cesario, Cédric Gennequin, Madona Labaki, Fabrice Cazier, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli, Edmond Abi-Aad

« Syngas production by means of biogas recovery in the presence of mixed Ni-Co-Mg-Al »

Prix de la meilleure présentation orale

Communications par affiche

- **Eleventh International Symposium on Heterogeneous Catalysis, ISHC (6-9 septembre 2015, Varna, Bulgaria):**

Carole Tanios, Sirena Bassil, Madona Labaki, Cédric Gennequin, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli and Edmond Abi-Aad

« Effect of ruthenium addition and of the substitution of divalent cations on the catalytic performances towards CH₄ reforming by CO₂ of Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route »

- **Journées Franco-libanaises 3, JFL3 (29-30 octobre 2015, Hadath, Liban):**

« Hydrogen production from methane reforming by carbon dioxide over Ni-Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route and carbon deposition after test»

Carole Tanios, Madona Labaki, Cédric Gennequin, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli et Edmond Abi-Aad

- **The 22th International Scientific Conference of the Lebanese Association for the Advancement of Science, LAAS (Kaslik, Lebanon, 14-15 avril 2016):**

« Hydrogen production from methane reforming by carbon dioxide over Ni-Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route and carbon deposition after test »

Carole Tanios, Mira Nawfal, Madona Labaki, Cédric Gennequin, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli and Edmond Abi-Aad

- **Journées Jeunes Chercheurs Condorcet 2017, JJCC (19-20 janvier 2017, Amiens, France):**

« Hydrogen production from methane reforming by carbon dioxide over Ni-Co-Mg-Al mixed oxides prepared via hydrotalcite route and carbon deposition after test »

Carole Tanios, Madona Labaki, Cédric Gennequin, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli, and Edmond Abi-Aad

- **Troisième Colloque Internationale Francophone en Environnement et Santé, CES (23-25 octobre 2017, Dunkerque, France):**

« Evaluation de la toxicité du biogaz issu de déchets ménagers »

Carole Tanios, Sylvain Billet, Cédric Gennequin, Madona Labaki, Fabrice Cazier, Antoine Aboukaïs, Bilal Nsouli et Edmond Abi-Aad