



HAL
open science

Hygiénisation par technologie électrique de déchets alimentaires en vue de leur méthanisation

Xiaojun Liu

► **To cite this version:**

Xiaojun Liu. Hygiénisation par technologie électrique de déchets alimentaires en vue de leur méthanisation. Génie des procédés. Université de Bretagne Sud, 2019. Français. NNT : 2019LORIS602 . tel-02969649

HAL Id: tel-02969649

<https://theses.hal.science/tel-02969649>

Submitted on 16 Oct 2020

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

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

THÈSE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE BRETAGNE SUD
COMUE UNIVERSITÉ BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 602
Sciences pour l'Ingénieur
Spécialité : *Génie des Procédés et Bioprocédés*

Par

Xiaojun LIU

Hygiénisation par technologie électrique des déchets alimentaires en vue de leur méthanisation

Thèse présentée et soutenue à Pontivy, le 05 décembre 2019
Unité de recherche : Institut de Recherche Dupuy de Lôme - UMR CNRS 6027
Thèse N° : 539

Rapporteurs avant soutenance :

Mme Anne-Marie Pourcher Directrice de recherche, UR OPAALE, IRSTEA
M. Nicolas Louka Professeur, UR TVA, Univ. Saint-Joseph de Beyrouth, Liban

Composition du Jury :

Présidente : Mme Isabelle Kempf Directrice de recherche, UR MBA Laboratoire de Ploufragan, ANSES
Examineurs : M. Philippe Mandin Professeur, IRDL UMR CNRS 6027, Univ. Bretagne Sud
 Mme Caroline Le Maréchal Chargée de projet, UR HQPAP Laboratoire de Ploufragan, ANSES
 M. Mohamad Amr Chamaa Responsable R&D et Traitements de biomasse, SEM LIGER

Dir. de thèse : M. Jean-Louis Lanoisellé Professeur, IRDL UMR CNRS 6027, Univ. Bretagne Sud
Co-encadrant : M. Thomas Lendormi Maître de conférences, IRDL UMR CNRS 6027, Univ. Bretagne Sud

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein de l'Institut de Recherche Dupuy de Lôme UMR CNRS 6027 de l'Université Bretagne Sud dans l'équipe de Pontivy du Pôle de Recherche 4 « Systèmes énergétiques et procédés thermiques ». La thèse a été préparée à l'École Doctorale Sciences pour l'Ingénieur (ED SPI, Nantes, N° 602) de l'Université Bretagne Loire.

Je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères à mon directeur Pr Jean-Louis Lanoisellé et co-directeur de thèse Dr Thomas Lendormi de m'avoir offert cette opportunité de travailler avec eux. Je suis très reconnaissant pour leurs accompagnements scientifiques, de leur confiance et de leur préoccupation qu'ils ont portés tout au long du doctorat. Leurs expertises de recherche, conseils pédagogiques et qualités professionnelles m'ont appris beaucoup durant ces derniers trois ans.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Dr Anne-Marie Pourcher, directrice de recherche de l'Irstea à Rennes et Pr Nicolas Louka de l'Université Saint-Joseph à Beyrouth de m'avoir fait l'honneur de rapporter ce travail. Je souhaite également remercier Dr Isabelle Kempf, directrice de recherche de l'ANSES à Ploufragan, Pr Philippe Mandin de l'IRDL à Lorient (UBS), Dr Caroline Le Maréchal, chargée de projet de l'ANSES à Ploufragan et Dr Mohamad Amr Chamaa, responsable R&D de la SEM LIGER à Locminé d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je voudrais particulièrement remercier Pr Patrick Bourseau et Dr Kempf de m'avoir accompagné dans le comité de suivi individuel de thèse durant les premiers deux ans du travail.

Je tiens à adresser mes reconnaissances au Conseil régional de Bretagne et au Conseil départemental du Morbihan pour les soutiens financiers du projet. J'aimerais également remercier la Société d'Économie Mixte Locminé Innovation et Gestion des énergies renouvelables (SEM LIGER) et son équipe administrative son président Monsieur le Maire Grégoire Super, son directeur M. Marc Le Mercier, son responsable technique M. Joël Tanguy et son responsable R&D Dr Chamaa pour leurs contributions financières et techniques au déroulement de la thèse.

J'aimerais aussi remercier Mme Sylvie Simon la gestionnaire du PTR4 du laboratoire IRDL à Lorient, Mme Noluenn Chauvin et Mme Axelle Guitton les gestionnaires du pôle doctoral, Mme Beatrice Guern la gestionnaire de la mobilité internationale à Lorient pour leurs accompagnements et gestions administratifs au cours de la thèse.

Tous mes remerciements à Mme Magali Le Fellic pour ses apports microbiologiques à l'établissement du protocole expérimental et à M. Yves Lemée pour ses connaissances physiques et mécaniques contribuant au montage des systèmes de traitement CEP. Je remercie Pr Mandin et son équipe de recherche à Lorient, notamment M. Ludovic Kraboué de l'IUT de Lorient et M. Florent Struyven de la Faculté des Sciences pour leur contribution à la partie modélisation numérique du travail.

Je remercie chaleureusement tous les collègues du site universitaire de Pontivy. Grand merci à M. Patrick Bouin, Dr Virginie Boy, Dr Adeline Caylet, Mme Corinne Carayon, Mme Claire Conseil, M. Kristen-Tudy Donnart, Dr Lucie Dréviillon, Dr Anne Elain, Dr Jean El Achkar, Dr Marie Furic, Mme Gaëlle Deligeay, Mme Windy Flora Gamin, Mme Véronique Gautier, M. Patrick Laot, Mme Laëtitia Le Du Ropert, Mme Stéphanie Le Meur, Dr Pascal Morançais, Mme Servane Roze, Dr Claire Sabourin, Mme Tatiana Thomas, Mme Ikbel Souli et Mme Astrid van der Hecht. Merci aux autres collègues et stagiaires qui ont travaillé avec moi à Pontivy durant ces 3 ans. Je suis ravi de vous avoir croisés et vous souhaite plein de bonheur dans la vie.

J'adresse sans doute mes affections pour ma famille à Shanghai, notamment à mes parents Lin Liu et Li Ma (Mary), ma grand-mère Koudi Zhang, ma tante Jue Ma (Maggie) et son mari Xinglong Wu ainsi que ma petite cousine Tianxin Wu, pour leurs soutiens et préoccupations familiales. Un petit merci est également dédié à notre petit chien Coffee.

Mes sincères remerciements s'adressent à mes chers amis le futur Dr Ziyi Zheng à Umeå, Mme Yumeng An à Houston/Paris, M. Yichun Liu (Troy) à Los Angeles, Mme Mengjiao Zhang (Maggie) et M. Xiang Wang (Derek) à New York, M. Hongyang Song à Pékin/Hongkong, Mme Chang Liu, Dr Xinyu Du, M. Weiyao Gu, M. Yun Gao et M. Dingyuan Wang à Shanghai pour notre précieuse amitié de longue date peu importe l'endroit où on est. Merci pour leur encouragement continu durant toutes mes études en France.

Résumé

La législation (CE n°1069/2009) impose une étape d'hygiénisation (traitement thermique à température ≥ 70 °C pendant une durée ≥ 60 min sans interruption) avant méthanisation des sous-produits animaux. Ce traitement, consommateur d'énergie, réduit la rentabilité globale des installations de méthanisation. L'étude bibliographique montre que, en Europe, la consommation énergétique du procédé d'hygiénisation thermique représente 6 à 25% de l'énergie primaire générée par les unités de production de biogaz. Dans le cadre des travaux de thèse présentés, des solutions alternatives d'abattement microbien, notamment les électrotechnologies (ex. Champs Électriques Pulsés, CEP) ont été étudiées. Ces technologies sont essentiellement développées pour l'inactivation athermique des micro-organismes des denrées alimentaires.

Les souches *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ont été sélectionnées comme bactéries indicatrices. Une étude des cinétiques d'inactivation des indicateurs à différents paramètres électriques dans les procédés en batch et en continu a été réalisée. L'évaluation de l'efficacité du couplage des CEP et d'un chauffage ohmique, l'effet de la quantité d'énergie utilisée pour le traitement par CEP, la régénération cellulaire des bactéries endommagées et la modélisation cinétique et numérique du procédé sont également abordés. Les résultats obtenus confirment la capacité des CEP à hygiéniser les sous-produits animaux (*i.e.* une réduction de 5 log₁₀ d'*Ent. faecalis*) dans les systèmes en batch et en continu. Ainsi, le couplage du traitement par CEP et du chauffage ohmique peut significativement réduire la consommation énergétique du procédé.

Mots clés : Hygiénisation, Déchets alimentaires, Champs Électriques Pulsés, Sous-produits animaux, Méthanisation, Prétraitement

Abstract

The European Union regulation (CE n°1069/2009) imposes a step of hygienization (thermal treatment at temperature ≥ 70 °C for a treatment time ≥ 60 min without interruption) before anaerobic digestion of certain biowaste issued from the agricultural and food processing industries. This energy-consuming treatment reduces the profitability of biogas production facilities. The literature review shows that, in Europe, the energy consumption of the thermal hygienization process accounts for around 6 to 25% of the primary energy produced by biogas plants. In the present PhD thesis, the alternative solutions for the microbial pasteurization, namely the electro-technologies (*e.g.* pulsed electric field, PEF) were studied. These technologies are essentially developed for the athermal inactivation of pathogens in food products.

The bacterial strains *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were selected as indicator bacteria. A systematical study on the inactivation kinetics of the indicator bacteria treated at different electrical parameters in batch and continuous system was realized. The efficiency of the treatment coupling PEF and ohmic heating, the effect of the specific energy delivered by PEF, the recovery of the injured bacteria and the kinetic and numeric modeling of the process were investigated as well. Results confirm the ability of PEF to hygienize animal by-products (*i.e.* a reduction of 5 log₁₀ of *Ent. faecalis*) in batch and continuous system. The PEF treatment coupled with ohmic heating could significantly reduce the energy consumption of the process.

Keywords: Hygienization, Food-industry waste, Pulsed electric field, Animal by-products, Anaerobic digestion, Pretreatment

Production scientifique

Articles avec comité de lecture répertoriés par Web of Science® / Scopus®

- [1]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Overview of hygienization pretreatment for pasteurization and methane potential enhancement of biowaste: Challenges, state of the art and alternative technologies. *Journal of Cleaner Production*, 236: 117525. doi: 10.1016/j.jclepro.2019.06.356
- [2]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Magali Le Fellic, Yves Lemée, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Hygienization of mixed animal by-product using Pulsed Electric Field: inactivation kinetics modeling and recovery of indicator bacteria. *Chemical Engineering Journal*, 368: 1-9. doi: 10.1016/j.cej.2019.02.158
- [3]. Virginie Boy, **Xiaojun Liu**, Mohamad-Amr Chamaa, Yves Lemée, Claire Sabourin, Thomas Lendormi, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Air impingement drying of digestate: Experimental and modelling study. *Chemical Engineering Research and Design*, 146: 436-448. doi: 10.1016/j.cherd.2019.03.033
- [4]. **Xiaojun Liu**, Ikbel Souli, Mohamad-Amr Chamaa, Thomas Lendormi, Claire Sabourin, Yves Lemée, Virginie Boy, Nizar Chaira, Ali Ferchichi, Pascal Morançais, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Effect of thermal pretreatment at 70 °C for one hour (EU hygienization conditions) of various organic wastes on methane production under mesophilic anaerobic digestion. *AIMS Environmental Science*, 5(2): 117-129. doi: 10.3934/environsci.2018.2.117
- [5]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). A review of hygienization technology of biowastes for anaerobic digestion: effect on pathogen inactivation and methane production. *Chemical Engineering Transactions*, 70: 529-534. doi: 10.3303/CET1870089 (proceeding paper)
- [6]. Ikbel Souli, **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Nizar Chaira, Ali Ferchichi, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Evaluation of methane production of six varieties of date pulp waste

(*Phoenix dactylifera* L.). *Chemical Engineering Transactions*, 70: 1579-1584. doi: 10.3303/CET1870264 (proceeding paper)

Manuscrits d'articles préparés à soumettre aux revues internationales avec comité de lecture

- [1]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Magali Le Fellic, Yves Lemée, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Hygienization of mixed animal by-product in a continuous treatment chamber coupling pulsed electric field and ohmic heating: inactivation of indicator bacteria and kinetic modeling. *Waste Management*.
- [2]. **Xiaojun Liu**, Virginie Boy, Thomas Lendormi, Yves Lemée, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Valorization of common starfish (*Asterias rubens*) by air impingement drying and mesophilic anaerobic digestion: a preliminary study. *Waste and Biomass Valorization*.
- [3]. Ikbel Souli, **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Nizar Chaira, Ali Ferchichi, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Mesophilic anaerobic digestion of waste Tunisian date (*Phoenix dactylifera* L.): effect of biochemical composition of pulp and seeds from six varieties. *Waste and Biomass Valorization*.

Conférence invitée dans un congrès international

- [1]. Jean-Louis Lanoisellé, **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi. (2018). Pasteurisation et hygiénisation par champs électriques pulsés des produits et sous-produits des industries alimentaires. VIth International Meeting Oasis Agriculture and Sustainable Development. Zarzis, Tunisia.

Communications orales dans des congrès internationaux et nationaux

- [1]. **Xiaojun Liu**, Virginie Boy, Thomas Lendormi, Yves Lemée, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Valorization of common starfish (*Asterias rubens*) by air impingement drying and mesophilic anaerobic digestion: a preliminary study. SFGP 2019. Nantes, France.

- [2]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). A review of hygienization technology of biowastes for anaerobic digestion: thermal and emerging pasteurization. CHISA2018 & PRES18. Prague, Czech Republic.
- [3]. Pascal Morançais, James Desauté, **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Nathalie Bourgougnon, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Pulsed electric field assisted extraction of intracellular compounds from macroalgae. VIth International Meeting Oasis Agriculture and Sustainable Development. Zarzis, Tunisia.
- [4]. Ludovic Karaboué, Philippe Mandin, Yves Lemée, **Xiaojun Liu**, Jean-Louis Lanoisellé, Virginie Boy, Thomas Lendormi. (2017). Traitement par Champs Électriques Pulsés (CEP) des intrants de méthanisation. SFGP 2017. Nancy, France.

Communications par affiche dans des congrès internationaux et nationaux

- [1]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Intérêts des champs électriques pulsés pour la méthanisation : hygiénisation et production de biogaz. APIVALE 2019 Thème : Produits résiduaux organiques : Ingrédients clés de la bioéconomie circulaire ?. Rennes, France.
- [2]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Magali Le Fellic, Yves Lemée, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Inactivation of indicator bacteria in animal by-products by Pulsed Electric Field. VIth International Meeting Oasis Agriculture and Sustainable Development. Zarzis, Tunisia.
- [3]. Florent Struyven, **Xiaojun Liu**, Virginie Boy, Yves Lemée, Thomas Lendormi, Philippe Mandin, Jean-louis Lanoisellé. (2018). Numeric modeling of bacterial inactivation by Pulsed Electric Field in a continuous treatment system. VIth International Meeting Oasis Agriculture and Sustainable Development. Zarzis, Tunisia.
- [4]. Ikbel Souli, **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Nizar Chaira, Ali Ferchichi, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Méthanisation des noyaux de datte : effet de la composition chimique de six variétés et de différents prétraitements. Journée Recherche Innovation Biogaz Méthanisation 2018. Rennes, France.

- [5]. Ikbel Souli, **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Nizar Chaira, Ali Ferchichi, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Evaluation of methane production of six varieties of date pulp waste (*Phoenix Dactylifera*. L.). CHISA2018 & PRES18. Prague, République Tchèque.
- [6]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Virginie Boy, Jean-Louis Lanoisellé. (2017). What is the future of the hygienization of biowastes used for anaerobic digestion? 15th International Water Association World Conference on Anaerobic Digestion (IWA AD-15). Pékin, Chine.
- [7]. Ludovic Karaboué, Philippe Mandin, Yves Lemée, **Xiaojun Liu**, Jean-Louis Lanoisellé, Virginie Boy, Thomas Lendormi. (2017). Traitement par Champs Électriques Pulsés (CEP) des intrants de méthanisation. Congrès National de la Recherche en IUT 2017. Auxerre, France.

Table des matières

Remerciements	1
Résumé.....	3
Abstract	5
Production scientifique.....	7
Table des matières.....	11
Liste des tableaux	15
Liste des figures.....	17
Nomenclature	25
Introduction générale.....	33
Chapitre I Étude bibliographique	37
I.1 Déchets alimentaires et risque sanitaire.....	38
I.1.1 Définition et caractéristiques physico-chimiques des déchets alimentaires	38
I.1.2 Valorisation des déchets alimentaires.....	41
I.1.3 Digestion anaérobie - méthanisation	43
I.1.4 Risque sanitaire de la politique « retour au sol »	44
I.2 Hygiénisation thermique des déchets alimentaires.....	47
I.2.1 Réglementations européennes et mondiales	47
I.2.2 Hygiénisation avant, pendant et après la méthanisation.....	51
I.2.3 Consommation énergétique de l'hygiénisation thermique	52
I.2.4 Effet de la pré-hygiénisation thermique sur la production de méthane des intrants de méthanisation	54
I.3 Technologies alternatives non-thermiques.....	56
I.3.1 Technologies disponibles.....	56
I.3.2 Efficacité sur l'hygiénisation des intrants de méthanisation.....	57
I.3.3 Effet sur la production de méthane des intrants de méthanisation.....	60
I.4 Technologie alternative - Champs électriques pulsés (CEP).....	62
I.4.1 Mécanisme des CEP	62
I.4.2 Débactérisation par CEP.....	67
I.4.3 Commercialisation du procédé.....	77
I.5 Microorganismes indicateurs caractérisant l'efficacité du traitement	77
I.5.1 Critères de sélection.....	77
I.5.2 Enterococcus faecalis.....	79
I.5.3 Escherichia coli	81

I.6 Modélisation des courbes de destruction microbienne	82
I.6.1 Modélisation cinétique.....	82
I.6.2 Modélisation numérique	84
I.7 Conclusions.....	86
Chapitre II Matériels et méthodes.....	89
II.1 Caractérisation de la résistance des microorganismes indicateurs au traitement l'hygiénisation thermique.....	90
II.1.1 Préparation de suspension.....	90
II.1.2 Protocole expérimental.....	91
II.1.3 Dénombrement des bactéries cultivables par NPP.....	92
II.1.4 Modélisation cinétique et traitement statistique.....	94
II.2 Effet de l'hygiénisation thermique sur la production de méthane.....	97
II.2.1 Matrice des substrats	97
II.2.2 Prétraitement thermique	98
II.2.3 Évaluation du potentiel méthanogène	98
II.2.4 Modélisation des courbes de méthanisation et traitement statistique	99
II.3 Hygiénisation des SPAN par CEP en batch.....	100
II.3.1 Sous-produits animaux	100
II.3.2 Préparation de suspension.....	102
II.3.3 Système de CEP	102
II.3.4 Hygiénisation à l'aide des CEP.....	104
II.3.5 Modèles mathématiques	107
II.4 Étude expérimentale de l'hygiénisation des SPAN dans un procédé en continu couplant CEP et chauffage ohmique.....	109
II.4.1 Système de traitement par CEP en continu.....	109
II.4.2 Protocole du traitement par CEP en continu.....	117
II.5 Modélisation numérique du procédé d'hygiénisation par CEP des SPAN dans un procédé en continu.....	119
II.5.1 Discrétisation du système	119
II.5.2 Bilan de dynamique des fluides	121
II.5.3 Bilan électrique	121
II.5.4 Bilan de chaleur.....	122
II.5.5 Couplage des modèles	123
Chapitre III Hygiénisation thermique - effets sur inactivation microbienne et potentiel méthanogène.....	125
III.1 Caractérisation de la résistance des microorganismes indicateurs à la pasteurisation thermique.....	126
III.1.1 Cinétique de destruction des microorganismes indicateurs.....	126
III.1.2 Modélisation - modèle de Weibull primaire.....	129
III.1.3 Modélisation - modèle secondaire	130
III.1.4 Conclusions	131

III.2 Effet de l'hygiénisation thermique sur le potentiel méthanogène des biodéchets	132
.....	
III.2.1 Intensification du potentiel méthanogène.....	132
III.2.2 Discussion.....	137
III.2.3 Conclusions	138
III.3 Conclusions.....	139
Chapitre IV Hygiénisation des SPAN par CEP en batch	141
IV.1 Corrélation entre la conductivité électrique du milieu et la température.....	142
IV.2 Cinétiques de destruction des microorganismes indicateurs.....	143
IV.2.1 Effet de l'intensité du champ électrique et du temps de traitement.....	143
IV.2.2 Modélisation - Modèle de distribution Weibull primaire	147
IV.2.3 Modélisation - Modèle de Weibull couplé avec modèle secondaire	147
IV.3 Énergie délivrée par les CEP	151
IV.3.1 Intensité du champ électrique critique	151
IV.3.2 Effet de l'énergie délivrée par CEP	153
IV.4 Récupération et croissance des bactéries indicatrices endommagées.....	156
IV.5 Conclusions.....	157
Chapitre V Hygiénisation des SPAN par CEP en continu couplé avec un chauffage ohmique	159
V.1 Cinétiques de l'inactivation microbienne provoquées par CEP et chauffage ohmique.....	160
V.2 Effet du traitement CEP couplé ou non avec le chauffage ohmique.....	162
V.3 Modélisation cinétique.....	164
V.4 Effet de l'énergie délivrée	168
V.5 Dégradation des électrodes	170
V.6 Conclusions	174
Chapitre VI Étude préliminaire de la modélisation numérique du procédé en continu d'hygiénisation des sous-produits animaux par CEP	177
VI.1 Incertitudes et erreurs du modèle.....	178
VI.1.1 Aspect électrique	178
VI.1.2 Aspect thermique.....	179
VI.1.3 Erreurs du modèle.....	181
VI.2 Traitement par CEP en continu.....	182
VI.2.1 Répartition du champ électrique dans la chambre.....	182
VI.2.2 Vitesse de fluide	185
VI.2.3 Débit d'impulsions.....	188
VI.3 Intégration du modèle de Weibull	190
VI.4 Méthodologie d'optimisation du procédé	194

VI.5 Conclusion	195
Conclusion générales et perspectives	197
Annexes.....	203
Annexe-1 Résumé de l'abattement microbien par la digestion anaérobie	204
Annexe-2 Publications parues dans les revues internationales.....	208
Références.....	213

Liste des tableaux

Tableau I-1 Caractéristiques physico-chimiques de différents déchets alimentaires dans la littérature.....	40
Tableau I-2 Résumé de la durée et de la température de l'hygiénisation thermique règlementées.....	49
Tableau I-3 Critères de concentrations de microorganismes indicateurs réglementés par différentes autorités pour des digestats issus de la méthanisation de biodéchets.	51
Tableau I-4 Demande en énergie de l'hygiénisation thermique dans les unités de méthanisation en Europe.....	53
Tableau I-5 Synthèse bibliographique de l'efficacité de plusieurs technologies alternatives pour l'hygiénisation des biodéchets.....	59
Tableau I-6 Quelques exemples de microorganismes indicateurs recommandés pour la caractérisation le procédé hygiénisation dans les biodéchets [42,63,254].	79
Tableau I-7 Résumé des modèles cinétiques pour l'inactivation des microorganismes par champs électriques pulsés.....	83
Tableau II-1 Caractéristiques de l'inoculum et des 7 substrats étudiés.....	98
Tableau II-2 Caractéristiques du sous-produit animal (SPAN).....	101
Tableau II-3 Spécifications du générateur ITHPP [275].	111
Tableau III-1 Résumé de paramètres du modèle de Weibull primaire, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5 log10 (valeurs de 5-D) estimés par les modèles à différentes température pour <i>Ent. faecalis</i> et <i>E. coli</i>	129
Tableau III-2 Potentiels méthanogènes expérimentaux (BMP_{exp}) des substrats non-traités (O) et prétraités thermiquement (+). Les chiffres en gras indiquent la différence significative au sein du groupe selon le test Student ($p < 0,05$).	132
Tableau III-3 Dégradabilité anaérobie des substrats non-traités (O) et prétraités thermiquement (+). Les chiffres en gras indiquent la différence significative au sein du groupe selon le test Student ($p < 0,05$).	134
Tableau III-4 Résumé des résultats de la modélisation de production de méthane à l'aide du modèle de Gompertz modifié. "O" et "+" représentent respectivement des échantillons non prétraités et prétraités. Les données en gras indiquent la différence significative au sein du groupe ($p < 0,05$).	136

Tableau IV-1 Résumé de paramètres du modèle de Weibull primaire, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5,0 log ₁₀ (valeurs de 5-D) estimés par les modèles à différentes intensités du champ électrique pour <i>Ent. faecalis</i> et <i>E. coli</i> (moyenne ± écart-type).....	148
Tableau IV-2 Résumé de paramètres du modèle secondaire, paramètres du modèle de Weibull couplé avec le modèle secondaire, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5,0 log ₁₀ (valeurs de 5-D) estimés par les modèles couplés à différentes intensités du champ électrique pour <i>Ent. faecalis</i> et <i>E. coli</i> (moyenne ± écart-type).	150
Tableau IV-3 Résultat de la modélisation par modèle de Fermi.	152
Tableau V-1 Résumé de paramètres du modèle de Weibull, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5,0 log ₁₀ (valeurs de 5-D) estimés à différentes intensités du champ électrique pour <i>Ent. faecalis</i> et <i>E. coli</i> (moyenne ± écart-type) avec (+) ou sans (O) chauffage ohmique.....	166
Tableau V-2 Demi-réactions de réduction avec leurs potentiels standard par rapport à l'électrode standard à hydrogène. Tableau extrait de Roodenburg <i>et al.</i> , 2005 [189] avec autorisation de reproduction d' <i>Elsevier</i> , Copyright (2019).....	172
Tableau VI-1 Nombre d'impulsions reçues par un groupe de bactéries circulant dans une chambre de traitement.	186
Tableau VI-2 Nombre d'impulsions reçues par un groupe de bactéries en fonction du rayon et de la fréquence pour une vitesse moyenne d'écoulement de 0,01m·s ⁻¹	188

Liste des figures

Figure I-1 Résumé de technologies disponibles pour la valorisation des déchets alimentaires.	41
Figure I-2 Chaîne trophique de la méthanisation et ses différentes étapes (schéma adapté de Li <i>et al.</i> , 2019 [33]).	44
Figure I-3 Occurrence des agents pathogènes dans les déjections animales (données compilées à partir de [35,45–58]).	45
Figure I-4 Exemple de la concentration d'agents pathogènes dans les déjections animales (données extraites et remises en forme à partir de Hutchison <i>et al.</i> , 2004 [35]).	46
Figure I-5 Voie de transmission des agents pathogènes lors de la valorisation de biodéchets par digestion anaérobie.	47
Figure I-6 Résumé de l'effet de prétraitements thermiques modérés (< 100 °C) sur l'augmentation de la production de biogaz ou de méthane de biodéchets (données de la figure collectées de [7,15,71,96–108]).	54
Figure I-7 Représentation en boîte à moustaches et fonction de densité de probabilité d'une population qui suit une distribution normale $N(0, \sigma^2)$, figure adaptée de Wikipédia [110].	55
Figure I-8 Synthèse de diverses technologies alternatives liées à l'amélioration de la production du biogaz ou du méthane des biodéchets (données de la figure collectées de [106,111,124–126,133,134,136–183]).	61
Figure I-9 Changements dans une membrane cellulaire soumise à un champ électrique (figure adaptée de Barsotti et Cheftel, 1999 [185]).	63
Figure I-10 Schéma conceptuel des mécanismes d'électroperméabilisation à l'échelle moléculaire. Figure extraite de Kotnik <i>et al.</i> (2019) [188] avec autorisation de reproduction d' <i>Annual Reviews</i> , Copyright (2019).	64
Figure I-11 À gauche, schéma caractéristique illustrant les paramètres d'un traitement CEP. À droite, enregistrement lors d'un traitement réel. Rouge : tension de sortie ; Jaune : courant dans la charge de test (ITHPP, Thégra, France).	65
Figure I-12 Formes typiques des impulsions (en bas) en fonction de la configuration du circuit électrique (en haut). A) forme carrée, B) et C) formes exponentielles. Figure extraite de Roodenburg <i>et al.</i> (2005) [189] avec autorisation de reproduction d' <i>Elsevier</i> , Copyright (2019).	66
Figure I-13 Deux circuits électriques simplifiés pour la génération d'impulsions.	66

Figure I-14 Comparaison de cellules de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> et <i>Lactobacillus brevis</i> avant et après traitement par CEP. <i>Control</i> : sans traitement ; <i>HIPEF-treated</i> : avec traitement CEP à haute intensité. <i>SEM</i> : microscopie électronique à balayage ; <i>TEM</i> : microscopie électronique à transmission. Figures extraites d'Elez-Martínez <i>et al.</i> (2004 & 2005) [192,193] avec autorisation de reproduction d' <i>International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians</i> et d' <i>Elsevier</i> , Copyright (2019).....	67
Figure I-15 Champ électrique critique en fonction de la taille des cellules de micro-organismes. <i>A</i> à <i>E</i> : différentes formes de cellules et de leurs orientations dans le champ électrique. Figure extraite de Heinz <i>et al.</i> (2001) [210] avec autorisation de reproduction d' <i>Elsevier</i> , Copyright (2019).	69
Figure I-16 Abattement de cellules de A) <i>Salmonella Typhimurium</i> B) <i>Staphylococcus aureus</i> , endommagées après traitements par CEP à différentes intensités de champ et énergies spécifiques dans l'œuf entier liquide. 20 kV·cm ⁻¹ (◇); 25 kV·cm ⁻¹ (■); 30 kV·cm ⁻¹ (□); 35 kV·cm ⁻¹ (●); 40 kV·cm ⁻¹ (○); 45 kV·cm ⁻¹ (◆). Figure extraite de Monfort <i>et al.</i> (2010) [232] avec autorisation de reproduction d' <i>Elsevier</i> , Copyright (2019).....	73
Figure I-17 Spores de <i>Bacillus pumilus</i> a) intactes b) traitées par 10 000 impulsions à 7,5 kV·cm ⁻¹ , visualisées par microscope électronique à balayage. Barre d'échelle : 250 nm. Figure extraite de Pillet <i>et al.</i> (2016) [249] avec autorisation de reproduction sous licence CC BY 4.0.....	76
Figure I-18 Quatre facteurs principaux pour le choix des microorganismes indicateurs.....	78
Figure I-19 Photographie d' <i>Enterococcus faecalis</i> , visualisée par microscope électronique à balayage, extraite de Kristich <i>et al.</i> (2007) [256] avec autorisation de reproduction de l' <i>US National Academy of Sciences</i> , Copyright (2019).	80
Figure I-20 Famille des Streptocoques [257,258].....	80
Figure I-21 Photographie d' <i>Escherichia coli</i> , visualisée par microscope électronique à balayage, extraite d'Annous <i>et al.</i> (2009) [259] avec autorisation de reproduction de <i>John Wiley and Sons</i> , Copyright (2019).....	81
Figure I-22 Famille des <i>Enterobacteriaceae</i> [257,258].....	82
Figure I-23 Formes typiques de différents modèles : A) Modèle réactionnel d'ordre un [262], B) Modèles de Hülshager et Fermi [263], C) Modèle de distribution Weibull [260] et D) Modèle log-logistique [264]. Autorisations de reproduction d' <i>Elsevier</i> , de <i>John Wiley and Sons</i> et de <i>Springer Nature</i> , Copyright (2019).....	84

Figure I-24 Distribution du potentiel électrique (a) et de l'intensité du champ électrique au sein d'une chambre du traitement CEP (b). Figure extraite de Gerlach <i>et al.</i> (2008) [200] avec autorisation de reproduction d' <i>Elsevier</i> , Copyright (2019).....	86
Figure II-1 Schéma du tube capillaire micro-hématocrite sans héparine de sodium (Brand TM , Wertheim, Allemagne).	90
Figure II-2 Photo graphiques de tubes capillaires plongés dans un bain-marie chauffé à 60 °C par la plaque chauffante (Stuart Co., Stone, Royaume-Uni).	91
Figure II-3 Logiciel « BAM-MPN USFDA » développé par l'US FDA, le NPP étant 1,12 10 ⁶ NPP·mL ⁻¹ pour un résultat de 3/3, 3/3, 3/3, 3/3, 3/3, 2/3, 1/3, 0/3 et 0/3 (dilutions décimales allant de 10 ⁻¹ à 10 ⁻⁹ respectivement).....	94
Figure II-4 Capture d'écran de l'interface R studio [®] lors d'une modélisation de courbe d'abatement microbien par le modèle de Weibull.	97
Figure II-5 AMPTS II avec (a) Bain-Marie et réacteurs avec l'agitation (b) Unité de capture de CO ₂ (c) Compteur de méthane et (d) Acquisition et stockage des données (photographie extraite de Chamaa, 2017 [111]).	99
Figure II-6 Capture d'écran de l'interface R studio [®] lors d'une modélisation des courbes de production de méthane par le modèle de Gompertz modifié.....	100
Figure II-7 Photographies de culture de la flore mésophile aérobie totale du SPAN sur le milieu « standard plate count agar » (CM0463, Oxoid TM , Basingstoke, Royaume-Uni) pour deux dilutions.	101
Figure II-8 Schéma du système expérimental de traitement par CEP en batch.	103
Figure II-9 Cuves d'électroporation (VWR TM , Louvain, Belgique).....	103
Figure II-10 Photographie de cuve d'électroporation connectée au système.....	104
Figure II-11 Enregistrement d'une impulsion de durée 10 µs, extrait du manuel d'utilisation du system AHTPM2.5 (Effitech, Pau, France). Bleu : tension de sortie ; violet : courant dans la charge de test ; jaune : synchronisation des instruments de mesures.....	105
Figure II-12 Colonies de A) <i>Ent. faecalis</i> ATCC 19433 sur agar Slanetz & Bartley et B) <i>E. coli</i> sur TBX.	106
Figure II-13 Capture d'écran de l'interface R studio [®] lors d'une modélisation de courbe d'abatement microbien par le modèle de Weibull.	109
Figure II-14 Schéma du système expérimental de traitement par CEP en continu.	110
Figure II-15 A) Photographie du générateur 22,5 kV et B) schéma d'implantation 3D.....	110
Figure II-16 A) Interface du paramétrage du générateur pour une impulsion simple et B) impulsions en continu.....	112

Figure II-17 Enregistrement d'une impulsion de durée 10 μs à 6 250 V, données collectées par le logiciel PicoScope® 6 (Pico Technology Ltd., St Neots, Royaume-Uni).....	112
Figure II-18 A) Schéma 3-D et photographie (B) de la cellule en continu.....	113
Figure II-19 Plan de la cellule en continu.	114
Figure II-20 A) Dimensions de la rondelle en PTFE et B) Électrode démontée et C) Coupe longitudinale 3D de la cellule.	114
Figure II-21 Schéma descriptif de la réduction du nombre de bactéries par traitement CEP dans la cellule en continu.....	115
Figure II-22 Photographie de la cellule utilisée en continu équipée du système de refroidissement A) Ventilateurs sans buse d'air et B) Ventilateurs avec buses d'airs conçues et imprimées en 3-D au laboratoire.....	115
Figure II-23 A) Photographie du dissipateur de chaleur 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{W}^{-1}$ (Aavid, New Hampshire, États-Unis), B) Dissipateur de chaleur percé et C) Dissipateur de chaleur installé sur l'électrode à l'aide de la graisse thermique en silicone 5 $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ (RS, Beauvais, France).	116
Figure II-24 Dimensions du ventilateur SJ 019 (STEGO, Schwäbisch Hall, Allemagne). ..	117
Figure II-25 Schéma de localisation de la modélisation.	120
Figure II-26 Schéma décrivant les différentes grandeurs et lois utilisées.....	123
Figure III-1 Inactivation thermique de la souche <i>Ent. faecalis</i> ATCC 19433 à 55, 60, 65 et 70 $^{\circ}\text{C}$. A) Données complètes et B) Zoom sur les 5 premières minutes. Les points représentent les données expérimentales. Les courbes représentent les valeurs modélisées par le modèle de Weibull.	127
Figure III-2 Inactivation thermique de la souche <i>E. coli</i> ATCC 25922 à 55, 60, 65 et 70 $^{\circ}\text{C}$. A) Données complètes et B) Zoom sur les 2 premières minutes. Les points représentent les données expérimentales. Les courbes représentent les valeurs modélisées par le modèle de Weibull.....	128
Figure III-3 Paramètres du modèle de Weibull primaire en fonction de la température étudiée. A) Paramètre d'échelle $\ln(1/\alpha)$ vs. $1/T$ et B) Paramètre de forme β vs. T	130
Figure III-4 Distribution de la fraction microbienne vulnérable à 70 $^{\circ}\text{C}$ en fonction du temps de traitement, calculée à partir du modèle de Weibull couplé.....	131
Figure III-5 Production cumulative de méthane de substrats prétraités ou non prétraités. Les points marqués sont les moyennes expérimentales de production de méthane tous les 5 jours avec les écart type (dont les valeurs sont trop faibles pour être visibles dans certains cas). Les courbes sont les valeurs modélisées de Gompertz modifié pour les substrats prétraités (courbes pleines) ou non prétraités (courbes pointillées).	133

Figure IV-1 Conductivité électrique (σ , courbe en bleu) et résistance électrique (R , courbe en rouge) de la suspension des sous-produits animaux en fonction de la température (T).....	143
Figure IV-2 Inactivation assistée par CEP des bactéries indicatrices dans les sous-produits animaux (SPAN) en fonction du temps de traitement efficace des CEP (t_{CEP}) pour différentes intensités du champ électrique (E). A) <i>Ent. faecalis</i> et B) <i>E. coli</i> . Les symboles ouverts représentent la fraction de survie observée expérimentalement dans SPAN ; les barres d'erreur représentent les écarts-types ; les courbes en tirets représentent les résultats de la modélisation à l'aide du modèle de Weibull primaire ; les symboles remplis représentent la fraction survivante des bactéries indicatrices traitées aux champ électrique dans le bouillon nutritif ordinaire (BN).	145
Figure IV-3 Paramètres du modèle de Weibull primaire en fonction de l'intensité du champ électrique appliquée. A) Paramètre d'échelle $\ln(1/\alpha)$ vs. $1/E$ et B) Paramètre de forme β vs. E	149
Figure IV-4 Valeurs de fraction de survie observée de manière expérimentale par rapport aux valeurs prévues calculées à partir du modèle de Weibull primaire et du modèle de Weibull couplés avec le modèle secondaire pour A) <i>Ent. faecalis</i> et B) <i>E. coli</i>	151
Figure IV-5 Effet de l'intensité du champ électrique sur l'inactivation des bactéries indicatrices avec le même apport d'énergie ($350 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$).....	152
Figure IV-6 Répartition de la vulnérabilité en fonction de l'intensité du champ.....	153
Figure IV-7 Réductions décimales de A) <i>Ent. faecalis</i> et B) <i>E. coli</i> en fonction de l'intensité du champ électrique à trois niveaux d'énergie spécifique injectés par CEP (les courbes en pointillés correspondent aux résultats de la modélisation du modèle de Weibull utilisés comme courbes de tendance, aucune signification physique ne leurs est attribuée).....	154
Figure IV-8 Schéma indicatif de la différence entre les mesures électriques réelles (en bleu) et les valeurs prises en compte pour le calcul (en rouge). A) évolution de la tension électrique de sortie (U) durant une impulsion de $10 \mu\text{s}$ et B) évolution de l'intensité crête du courant électrique (I) durant un train de 25 impulsions.....	155
Figure IV-9 Récupération et croissance de bactéries non traitées et traitées par les CEP (à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour le $t_{CEP} = 15$ et 30 ms) dans le SPAN, incubées dans un bouillon nutritif ordinaire à $3 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 7 jours et dénombrées par les milieux sélectifs). « Intact » représente le stade initial avant l'exposition aux CEP.....	157
Figure V-1 Évolution de la température lors du traitement CEP pour différentes intensités du champ électrique A) <i>Ent. faecalis</i> B) <i>E. coli</i>	160

Figure V-2 Cinétiques de réduction de la souche A) <i>Ent. faecalis</i> et B) <i>E. coli</i> dans la suspension SPAN traité par couplage CEP et chauffage ohmique en fonction du temps effectif du traitement (t_{CEP}) et à différentes intensité du champ électrique (E). Les symboles ouverts représentent l'inactivation observée expérimentalement dans SPAN; les barres d'erreur représentent les écarts-types; les courbes en tirets représentent les résultats de la modélisation à l'aide du modèle de Weibull.....	161
Figure V-3 Évolution des températures lors des traitement CEP couplés ou non avec le chauffage ohmique (CO) à $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour A) <i>Ent. faecalis</i> et B) <i>E. coli</i>	163
Figure V-4 Cinétiques de réduction de la souche A) <i>Ent. faecalis</i> et B) <i>E. coli</i> dans la suspension SPAN traitée par CEP avec ou sans chauffage ohmique (CO) à $E = 30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Les symboles représentent l'inactivation observée expérimentalement dans SPAN; les barres d'erreur représentent les écarts-types; les courbes en tirets représentent les résultats de la modélisation à l'aide du modèle de Weibull.	164
Figure V-5 Régression linéaire et non-linéaire (modèle secondaire) du paramètre de l'échelle de Weibull α en fonction de l'intensité du champ électrique (E) pour <i>Ent. faecalis</i> (rouge) et <i>E. coli</i> (bleu). Courbes continues : modèle linéaire. Courbes pointillées : modèle non-linéaire.	167
Figure V-6 Inactivation de A) <i>Ent. faecalis</i> et B) <i>E. coli</i> en fonction de l'intensité du champ électrique à trois niveaux de l'apport d'énergie spécifique. Les barres d'erreurs sont représentées mais sont peu lisibles.....	169
Figure V-7 Photos des cathodes A) neuve et B) après service.	171
Figure V-8 Photos des anodes A) neuve et B) après service.	171
Figure V-9 Circuits électriques équivalents pour une interface électrode-électrolyte d'une cellule électrochimique pour (a) aucune réaction ; (b) réactions et limitation par le transfert de charge ; (c) réactions et limitation par la diffusion de masse. Figure extraite de Morren <i>et al.</i> , 2005 [293] avec autorisation de reproduction d' <i>Elsevier</i> , Copyright (2019).....	173
Figure VI-1 Schéma simplifié du système de traitement par CEP.	179
Figure VI-2 Modélisation de la température obtenue à la fin du traitement pour des impulsions de $4 \mu\text{s}$ et des trains d'impulsions de 4 s.	181
Figure VI-3 Identification des paramètres - Inventaire non exhaustif des erreurs.....	182
Figure VI-4 Distribution du champ électrique au sein de la chambre de traitement. La figure représente la partie zoomée de l'encart supérieur droit.....	183
Figure VI-5 Valeur du champ électrique en deux points de la chambre de traitement en fonction de la tension appliquée entre les électrodes.....	184

Figure VI-6 Variation du champ électrique pour une tension de 22 kV en fonction de la distance entre les électrodes et pour trois positions radiales (0, 1,75 et 3,5 mm)..... 185

Figure VI-7 Schéma simplifié décrivant l'amplitude du champ électrique subie par deux groupes de bactéries (groupe bleu ou vert) situés sur le même rayon, mais à des abscisses différentes. 187

Figure VI-8 La surface grisée représente la surface d'intégration de l'Équation VI-3. 188

Figure VI-9 Pourcentage cumulatif du débit d'impulsions reçues par les bactéries situées entre le centre d'écoulement ($r = 0$ mm) et la paroi ($r = 3,15$ mm)..... 189

Figure VI-10 Distribution du champ électrique pour une tension de 3 300 V. 191

Figure VI-11 Numérotation de mailles de modélisation. 193

Figure VI-12 Récapitulatif des différents paramètres à prendre en compte pour optimiser l'efficacité du traitement. L'indication $T < 100$ °C correspond à l'utilisation du modèle pour des bactéries sous forme végétative. 195

Nomenclature

Abréviations

ACV	Analyse du cycle de vie
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGV	Acides gras volatils
AMPTS II	<i>Automatic Methane Potential Test System II</i> (Bioprocess Control Co., Suède)
APOH	Bactéries acétogènes productrices obligées d'hydrogène
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BMP	Potentiel méthanogène (en anglais, <i>Bio-méthane potential</i>)
BN	Bouillon nutritif ordinaire
CE	Commission européenne
CEP	Champs électriques pulsés
CO	Chauffage ohmique
C/N	Rapport massique carbone / azote
DAgri	Déchets agricoles
DAlim	Déchets alimentaires
DAM	Digestion anaérobie mésophile
DAT	Digestion anaérobie thermophile
DCO	Demande chimique en oxygène
EnR	Énergie(s) renouvelable(s)
FMAT	Flore mésophile aérobie totale
G+	Bactérie à Gram positif
G-	Bactérie à Gram négatif

GES	Gaz à effet de serre
GRA	Gènes de résistance aux antibiotiques
HPH	Haute pression hydrostatique
HYG	Hygiénisation
kJ _e ou kJ _t	Kilojoule électrique ou thermique
MB	Matière brute
MO	Matière organique
MS	Matière sèche
MV	Matière volatile
MW	Micro-ondes (en anglais, <i>Microwave</i>)
NPP	Nombre le plus probable (en anglais, <i>Most probable number</i>)
n.d.	Non détecté
OM	Ordures ménagères
POM	Polyoxyméthylène
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
SEM	Microscopie électronique à balayage (en anglais, <i>Scanning electron microscope</i>)
SPAN	Sous-Produit Animaux
STEP	Station(s) d'épuration
TBX	Agar Tryptone Bile X-Glucuronide
TEM	Microscopie électronique à transmission (en anglais, <i>Transmission electron microscopy</i>)
TN	Azote total (en anglais, <i>Total nitrogen</i>)
TP	Phosphore total (en anglais, <i>Total phosphorus</i>)
UE	Union européenne
UFC	Unités formant de colonies

UK	Royaume-Uni
UK APHA	<i>Animal and Plant Health Agency</i> du Royaume-Uni
US DA	<i>Department of Agriculture</i> des États-Unis
US EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> des États-Unis
US FDA	<i>Food and Drug Administration</i> des États-Unis
USP	Ultrasons de puissance

Alphabets latins

<i>A</i>	Paramètre du modèle secondaire au Modèle de Weibull (μs^{-1} ou s^{-1})
<i>a</i>	Paramètre du Modèle ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ ou adimensionnelle)
<i>a_w</i>	Activité d'eau (–)
<i>B</i>	Paramètre du modèle secondaire au Modèle de Weibull ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ ou K^{-1})
<i>BMP_{exp}</i>	Potentiel méthanogène expérimental du substrat ($\text{Nm}^3 \text{CH}_4\cdot\text{kg DCO}^{-1}$ ou $\text{Nm}^3 \text{CH}_4\cdot\text{kg MV}^{-1}$)
<i>BMP₀</i>	Potentiel méthanogène du substrat ($\text{Nm}^3 \text{CH}_4\cdot\text{kg DCO}^{-1}$ ou $\text{Nm}^3 \text{CH}_4\cdot\text{kg MV}^{-1}$)
<i>BMP(t)</i>	Production cumulée de méthane à l'instant <i>t</i> ($\text{Nm}^3 \text{CH}_4\cdot\text{kg DCO}^{-1}$ ou $\text{Nm}^3 \text{CH}_4\cdot\text{kg MV}^{-1}$)
<i>c</i>	Nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre <i>m</i> et <i>M</i> , l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à <i>m</i> (–)
<i>C_{dl}</i>	Capacitance de solution (nF)
<i>C_p(T)</i>	Capacité thermique du fluide à la température <i>T</i> ($\text{J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$)
<i>D_T</i>	Temps de réduction décimale à la température <i>T</i> du Modèle premier ordre (s)
<i>d</i>	Distance entre deux électrodes de la cellule de traitement CEP (cm)
<i>d_c</i>	Longueur ou le diamètre caractéristique du microorganisme considéré (cm)

d_i	Diamètre intérieur (mm)
E	Intensité du champ électrique appliquée ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ ou $\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$)
\mathbf{E}	Vecteur de l'intensité du champ électrique, égale à $-\nabla\varphi$ ($\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$)
E_a	Énergie d'activation ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)
E_c	Intensité du champ électrique critique ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ ou $\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$)
E_{red}^0	Potentiels standard par rapport à l'électrode standard à hydrogène (V)
e	$\exp(1) = 2,7182818\dots$
F	Valeur de pasteurisation à la température de référence (min)
f	Fréquence de répétition (Hz)
\mathbf{f}	Résultante des forces volumétriques s'exerçant dans le fluide ($\text{N}\cdot\text{kg}^{-1}$)
h	Coefficient d'échange thermique par convection ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{K}^{-1}$)
I	Intensité du courant électrique (A)
i	Indice de sommation / multiplication (–)
\mathbf{J}	Vecteur de la densité du courant électrique ($\text{A}\cdot\text{m}^{-2}$)
j	Indice de sommation / multiplication (–)
$K(t)$	$K(t)$ est une fonction dépendant du temps t ($K(t) = 1$ au moment de l'impulsion et $= 0$ en absence de l'impulsion) (–)
k	Facteur de la forme de la cellule microbienne (–)
k_c	Paramètre des Modèles Fermi et Hülshager (–)
l	Longueur (mm)
\log_{10}	Réduction décimale (–)
M	Valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant si le nombre de bactéries dans un ou plusieurs échantillons est supérieur ou égal à M (UFC)

m	Valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m (UFC)
N	Nombre de trains appliqués (–)
N_0	Concentration en microorganisme cible initiale (UFC·mL ⁻¹ ou NPP·mL ⁻¹)
$N(t)$	Concentration en microorganisme cible à l'instant t (UFC·mL ⁻¹ ou NPP·mL ⁻¹)
$N(z_i, r_j)$	Concentration de bactéries survivantes sortant de l'anneau de coordonnées (z_i, r_j) (UFC·mL ⁻¹)
n	Nombre d'échantillons ou mesures / Nombre de cas pris en compte (–)
n_i	Nombre d'impulsions envoyées (–)
n_p	Nombre de paramètres du modèle utilisé (–)
p	Pression thermodynamique (Pa)
Q_{Biogaz}	Énergie primaire produite par le biogaz de l'usine (J)
Q_{HYG}	Chaleur requise par l'hygiénisation (J)
\dot{Q}_v	Débit volumique de fluide (mL·s ⁻¹)
$\dot{Q}_v(r)$	Débit volumique de particule sortant d'un anneau de rayon r (mL·s ⁻¹)
R	Résistance électrique (Ω)
R_{chambre}	Résistance électrique de la chambre (Ω)
$R_{\text{commutateur}}$	Résistance électrique du commutateur (Ω)
$R_{\text{gaz parfait}}$	Constante universelle des gaz parfaits (8,314 J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹)
R_{int}	Rayon intérieur (m)
R_m	Vitesse maximale de production de méthane (Nm ³ CH ₄ ·kg DCO ⁻¹ ·jour ⁻¹ ou Nm ³ CH ₄ ·kg MV ⁻¹ ·jour ⁻¹)
R_s	Résistance électrique de la solution (Ω)
R_{totale}	Résistance électrique totale (Ω)

$R_{transmission}$	Résistance électrique des lignes de transmission (Ω)
R^2	Coefficient de détermination (-)
R^2 ajusté	Coefficient de détermination (-)
$RMSE$	Erreur moyenne quadratique (en anglais, <i>Root Mean Squared Errors</i>)
r	Rayon considéré pour les calculs (m)
r_j	Rayon moyen de l'anneau j (m)
$S(t)$	Réduction décimale à l'instant t (\log_{10}) :
S_r	Section du passage de courant électrique (m^2)
$S_a(r_j)$	Section d'anneau de rayon intérieur r_j (m^2)
S_{tot}	Section de passage total (m^2)
SSE	Somme des erreurs au carré (en anglais, <i>Sum of Squared Errors</i>)
T	Température ($^{\circ}C$ ou K)
$T_{Méth}$	Température de la méthanisation ($^{\circ}C$)
T_{ref}	Température de référence ($^{\circ}C$)
T_s	Temps de séjour (ms)
t	Temps du traitement hygiénisation ou méthanisation (s, min, h ou jours)
t_c	Temps critique (s)
t_{CEP}	Temps effectif du traitement par CEP (ms ou μs)
$t_{CEP}(z, r)$	Temps effectif du traitement par CEP reçu par les bactéries de l'anneau de coordonnée (z, r) (ms ou μs)
t_s	Temps de séjour (s)
t_{tot}	Temps total réel de traitement CEP (s)
t_{train}	Temps réel de traitement par un train (s)
U	Tension électrique appliquée (V ou kV)
U_{ch}	Tension électrique reçue par la chambre du traitement (V ou kV)

U_m	Potentiel transmembranaire
V	Volume d'échantillon traité (mL)
V_{maille}	Volume d'une maille (m ³)
v	Vitesse de fluide (m·s ⁻¹)
\mathbf{v}	Vecteur de vitesse de fluide (m·s ⁻¹)
$v_z(r)$	Vitesse de fluide de fluide au rayon r (m·s ⁻¹)
\bar{v}_z	Vitesse de fluide moyenne (m·s ⁻¹)
W_{CEP}	Énergie spécifique envoyée par CEP (J·mL ⁻¹)
w	Paramètre du Modèle logistique (-)
\bar{y}	Moyenne des mesures
y_i	Valeur expérimentale de la mesure n° i
\hat{y}_i	Valeur estimée par le modèle de la mesure n° i
Z	Valeur Z (°C)
z	Abscisse à l'origine de l'anneau
$5-D$	Temps de traitement nécessaire pour une réduction microbienne de 5 log ₁₀ (ms ou s)

Alphabets grecs

α	Paramètre de l'échelle du Modèle Weibull (μs, ms ou s)
β	Paramètre de la forme du Modèle Weibull (-)
$\bar{\beta}$	Moyenne des paramètres de forme du Modèle Weibull (-)
$\beta_{0,1,2}$	Paramètre du Modèle réponse quadratique (-)
$\beta_{11,22,12}$	Paramètre du Modèle réponse quadratique (-)
δ	Paramètre du Modèle logistique (-)

θ	Orientation du champ électrique (°)
λ	Temps de la phase de latence (jour)
$\lambda_t(T)$	Conductivité thermique du fluide à la température T ($\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$)
$\mu(T)$	Viscosité du fluide à la température T ($\text{Pa}\cdot\text{s}$)
ρ	Masse volumique de fluide ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)
σ	Conductivité électrique ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ ou $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
$\sigma(T)$	Conductivité électrique du fluide à la température T ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$)
τ	Durée d'une seule impulsion (μs)
φ	Potentiel électrique (V)
φ_{pulse}	Potentiel électrique de l'impulsion (V)

Opérateurs mathématiques

Σ	Symbol somme
$\nabla\cdot$	Opérateur divergence
∇	Opérateur gradient
$(\nabla\mathbf{v})^T$	Transposition du gradient du vecteur vitesse

Introduction générale

Les sous-produits animaux (SPAN), tels que définis par le règlement de l'Union européenne CE N° 1069/2009, sont les produits d'origine animale ou ceux dérivés de procédés de transformation animale, qui ne sont pas destinés à la consommation humaine. Les SPAN incluent les sous-produits d'abattoir (carcasses d'animaux, sang et os, par exemple), les déchets provenant d'usines de traitement d'animaux (boues d'eaux usées d'abattoirs, par exemple), le lisier, *etc.* Ces types de déchets peuvent héberger de grandes variétés d'agents pathogènes infectieux tels que *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Cryptosporidium*, *Giardia*, des agents de l'encéphalopathie spongiforme bovine et des virus dangereux. Des études ont également montré que la transformation, la gestion et l'élimination inappropriées des SPAN étaient susceptibles d'entraîner des épidémies de maladies humaines et animales menaçant la santé publique.

La digestion anaérobie est l'une des technologies prometteuses qui permet de récupérer l'énergie de la biomasse à partir de déchets organiques dans les installations de production de biogaz. Elle utilise des bactéries méthanogènes, dans des conditions contrôlées, pour transformer la matière organique biodégradable en biogaz. Le règlement UE N° 142/2011 exige que seuls les sous-produits animaux classifiés des catégories II et III (par exemple fumier, guano non minéralisé, contenu du tube digestif et autres résidus animaux à risque modéré) puissent servir de substrats pour la production de biogaz, à condition qu'ils soient correctement hygiénisés avant méthanisation. Ce règlement propose une hygiénisation thermique à 70 °C pendant 1 heure sans interruption des sous-produits animaux de taille inférieure à 12 mm avant leur introduction dans les méthaniseurs. Le même règlement confère aux pays membres de l'UE le pouvoir d'adopter une technologie alternative à la pasteurisation thermique pour l'hygiénisation des SPAN, à condition que cette nouvelle approche permette de réduire d'au minimum 5 log₁₀ *Enterococcus faecalis* ou *Salmonella Senftenberg* et de réduire les virus thermorésistants d'au moins 3 log₁₀.

Les champs électriques pulsés (CEP) sont une technologie innovante qui a fait l'objet de nombreuses recherches dans l'industrie de transformation des aliments afin d'intensifier l'effet de transfert de masse (par exemple, séchage, extraction) et la destruction athermique des micro-organismes. Ils inactivent les microorganismes pathogènes en provoquant un effet d'électroporation irréversible sur leur membrane cellulaire. Cette technologie innovante s'avère être une bonne alternative ou un complément à la pasteurisation thermique traditionnelle en raison

de son temps de traitement court de l'ordre de quelques millisecondes et de son efficacité énergétique élevée.

Cette thèse de doctorat contribue à une initiative de recherche sur la faisabilité des CEP comme alternative à l'hygiénisation des SPAN et discute de sa conformité avec la réglementation européenne susmentionnée. Elle a été financée par le Conseil régional de Bretagne et le Conseil départemental du Morbihan. La Société d'Économie Mixte Locminé Innovation et Gestion des Énergies Renouvelables (SEM LIGER, Locminé) a contribué au financement des travaux de la thèse. Un investissement dans un générateur de champs électriques pulsés haute tension a pu être réalisé dans le cadre du CPER SMARTAGRI-APIVALE « Approche intégrée des filières de valorisation des effluents organiques » 2015 – 2020 financé par des fonds État, Région Bretagne, Pontivy Communauté et par le Fond Européen de Développement Régional (FEDER).

Dans le **Chapitre I**, une revue bibliographique a été réalisée. Elle concerne l'état de l'art du traitement des déchets de l'industrie alimentaire, avec un accent particulier sur le risque sanitaire et les différentes méthodes de valorisation des biodéchets. Un état des lieux des réglementations actuelles mondiales vis-à-vis de l'hygiénisation des déchets a été réalisé en considérant leurs impacts sur le potentiel méthanogène des biodéchets et sur la réduction des agents pathogènes. Différentes technologies alternatives pour la pasteurisation des biodéchets sont décrites. Les mécanismes des différentes technologies innovantes, dont les CEP, sont discutés. Certaines sections de ce chapitre ont été traduites en français de l'article de review en anglais paru dans la revue « *Journal of Cleaner Production*, 2019 ».

Le **Chapitre II** décrit les méthodologies et les matériels utilisés pour la réalisation de cette thèse. La méthodologie et les systèmes réalisant l'application de la pasteurisation thermique et électrique de bactéries indicatrices (*Enterococcus faecalis* ATCC 19433 et *Escherichia coli* ATCC 25922) ensemencées dans le mélange des SPAN sont détaillés. Les équations permettant de modéliser les cinétiques d'inactivation ainsi que des équations spécifiques concernant la modélisation numérique de l'hygiénisation électrique en continue sont présentées.

Le **Chapitre III** sert à l'étude de l'hygiénisation thermique. Dans la première partie, un protocole mis en œuvre pour obtenir les cinétiques de destruction des microorganismes par traitement thermique en milieu artificiel à différentes températures est décrit. Cette étude caractérisant la résistance des bactéries indicatrices à la chaleur permet d'approfondir les connaissances sur les microorganismes cibles. Ces données aideront à la compréhension, dans les chapitres suivants, du comportement des deux bactéries indicatrices lors du traitement électrique avec l'effet couplé ou non du chauffage ohmique. La deuxième partie présente les tests de

méthanisation réalisés afin d'étudier l'impact de l'hygiénisation thermique sur les cinétiques de la production de biogaz de différents biodéchets. L'effet de la pasteurisation thermique est comparé avec ceux de la thèse du Dr Mohamad Amr Chamaa concernant l'effet du prétraitement par CEP sur l'intensification du BMP des substrats organiques. La deuxième partie du chapitre a été traduite en français de l'article en anglais paru dans la revue « *AIMS Environmental Science*, 2018 ».

Dans le **Chapitre IV**, les souches *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ayant été sélectionnées comme bactéries indicatrices, une étude systématique est présentée. Elle concerne la cinétique d'inactivation de ces bactéries à différentes intensités du champ électrique, la modélisation cinétique à l'aide d'un modèle de Weibull, l'effet de l'apport énergétique des CEP et la récupération des bactéries endommagées. Ces travaux préliminaires ont été réalisés afin de déterminer la capacité des CEP à hygiéniser des SPAN en respectant le taux de réduction bactérienne exigé par l'UE. Ce chapitre a été traduit en français de l'article en anglais paru dans la revue « *Chemical Engineering Journal*, 2019 ».

Le **Chapitre V** est dédié à la mise en œuvre au sein du laboratoire d'un générateur de haute tension (22,5 kV) permettant une étude expérimentale, de l'hygiénisation dans un procédé en continu. Les cinétiques d'inactivation des deux bactéries indicatrices traitées par couplage des CEP et d'un chauffage ohmique ont été réalisées pour quatre intensités du champ électrique. Le comportement des bactéries indicatrices est comparé avec les études précédentes réalisées en batch. Une analyse de la consommation énergétique du procédé est également discutée. Ce chapitre a été traduit en français du manuscrit en anglais à soumettre à la revue « *Waste Management* ».

Le **Chapitre VI** traite du sujet de la modélisation numérique du procédé. Ce travail de recherche s'appuie sur une collaboration avec le Pr Philippe Mandin (IRDL-UBS, Lorient) et M. Florent Struyven, stagiaire en Master 2. Les différents modèles (électrique, thermique, dynamiques des fluides) développés à l'aide du logiciel FLUENT® permettent de simuler le traitement par CEP et d'effectuer des calculs paramétriques. Il s'agit ici d'une étude préliminaire permettant d'aborder, à l'échelle locale de la chambre de traitement, la compréhension des phénomènes multiphysiques impliqués dans l'hygiénisation par CEP.

Cette thèse se termine par une conclusion générale accompagnée des perspectives de recherche qui semblent les plus pertinentes.

Chapitre I Étude bibliographique

Chapitre I Étude bibliographique	37
I.1 Déchets alimentaires et risque sanitaire	38
I.1.1 Définition et caractéristiques physico-chimiques des déchets alimentaires	38
I.1.2 Valorisation des déchets alimentaires.....	41
I.1.3 Digestion anaérobie - méthanisation	43
I.1.4 Risque sanitaire de la politique « retour au sol »	44
I.2 Hygiénisation thermique des déchets alimentaires	47
I.2.1 Réglementations européennes et mondiales	47
I.2.2 Hygiénisation avant, pendant et après la méthanisation	51
I.2.3 Consommation énergétique de l'hygiénisation thermique	52
I.2.4 Effet de la pré-hygiénisation thermique sur la production de méthane des intrants de méthanisation	54
I.3 Technologies alternatives non-thermiques	56
I.3.1 Technologies disponibles.....	56
I.3.2 Efficacité sur l'hygiénisation des intrants de méthanisation.....	57
I.3.3 Effet sur la production de méthane des intrants de méthanisation	60
I.4 Technologie alternative - Champs électriques pulsés (CEP)	62
I.4.1 Mécanisme des CEP	62
I.4.2 Débactérisation par CEP	67
I.4.3 Commercialisation du procédé.....	77
I.5 Microorganismes indicateurs caractérisant l'efficacité du traitement	77
I.5.1 Critères de sélection.....	77
I.5.2 Enterococcus faecalis.....	79
I.5.3 Escherichia coli	81
I.6 Modélisation des courbes de destruction microbienne	82
I.6.1 Modélisation cinétique.....	82
I.6.2 Modélisation numérique	84
I.7 Conclusions	86

I.1 Déchets alimentaires et risque sanitaire

I.1.1 Définition et caractéristiques physico-chimiques des déchets alimentaires

Les déchets alimentaires sont des résidus issus des activités agro-alimentaires et/ou des restaurations collectives. Il s'agit par exemple des déchets des procédés industriels de transformations alimentaires (ex. déchets d'abattoir), des rejets fécaux des élevages d'animaux (ex. lisiers, fumiers et fientes), des résidus de la préparation et des restes de repas (ex. déchets des restaurations). En 2016, la production de déchets alimentaires d'origine animale et mixte au sein de l'Union Européenne (UE) a été estimée à la hauteur de 26,03 Gt, dont 4,36 Gt produits par la France. La même année, 13,83 Gt de matières fécales animales (lisier, fumier, *etc.*) ont également été générés en Europe [1]. En France, la production des effluents d'élevage peut atteindre 270 Mt chaque année. Les régions du Grand-Ouest (Pays de Loire, Bretagne et Normandie) contribuent pour presque un tiers de cette production importante [2]. Les déchets alimentaires sont chargés en matière organique (MO), en azote et en phosphore, qui peuvent entraîner la dégradation de la qualité environnementale de l'eau, de l'air et des sols.

Les propriétés physico-chimiques des déchets alimentaires peuvent être caractérisées par le pH, les teneurs en matière sèche (MS), matière volatile (MV), demande chimique en oxygène (DCO) et azote total (TN). Leur composition chimique se présente souvent sous forme d'hydrates de carbone (glucides), de protéines et de lipides. Le **Tableau I-1** résume les caractéristiques physico-chimiques de dix différents types de déchets alimentaires étudiés dans la littérature. Dans ce tableau, on constate qu'il existe une grande variation dans leur composition chimique en fonction des origines de production. Une différence importante peut également être constatée pour les déchets de même origine, par exemple pour les déchets d'abattoir et les effluents d'élevage. Ces grandes variations dépendent de la nature du déchet, des procédés de production, du mode de collecte, de la durée de stockage, *etc.*

Les déchets des fruits et légumes proviennent des différents maillons de la chaîne de production jusqu'à la consommation de ces végétaux. Ils ont souvent un pH acide et sont riches en fructose et hémicellulose (75%) [3].

Les déchets d'abattoir font partie des sous-produits animaux définis par le règlement CE N° 1069/2009 relatif aux sous-produits animaux (SPAN) [4]. On entend par déchets d'abattoir, des morceaux des carcasses animales abattus (ex. corps, cuirs et contenu de l'appareil digestif) et tout coproduits dérivés non destinés à la consommation humaine (ex. le sang issu de saignée, la graisse et les eaux résiduelles collectées à partir des processus d'abattoir). Les propriétés

physico-chimiques de ce type de déchets varient grandement en fonction des types d'animaux abattus et de la nature des déchets collectés.

Au cours du processus de fabrication de la bière, de nombreux déchets sont générés, tels que les grains brassés, le malt chaud et les résidus de brassage. Après fermentation par la levure, les déchets de brasserie sont souvent acides et contiennent une grande quantité de matière organique insoluble. La présence de résidus de levure peut apporter une forte teneur en azote et donc modifier le rapport C/N [5].

Les déchets laitiers sont des résidus générés lors de la transformation du lait en différents produits laitiers (fromage, yaourt, crème). Ils sont généralement dilués et chargés en azote, sucres, protéines et lipides.

Les résidus de restauration et d'alimentation animale sont des déchets liés à l'alimentation humaine et animale. Ce dernier présente une matière sèche pouvant atteindre 93% (cf. **Tableau I-1**). Ces déchets alimentaires sont couramment équilibrés en matières nutritionnelles.

Les mélanges grassex y compris d'huile sont issus d'industries agroalimentaires (ex. résidus des bacs à graisse et d'huile provenant de la séparation des eaux usées industrielles). Ils sont chargés de matière organique, principalement de lipides (représentant plus de 75% de la matière sèche). La forte acidité est également une caractéristique générale de ce type de déchet, en raison de la présence significative des acides gras à longue chaîne.

Les effluents d'élevage animal sont l'un des principaux déchets organiques issus des activités agroalimentaires. Ils sont généralement basiques ($\text{pH} > 7$), modérément chargés en matière organique et très riches en éléments nutritionnels (N, P, K, Ca, Mg, *etc.*). Ils représentent un autre type de sous-produits animaux (SPAN) réglementés par l'Union Européenne au niveau des contrôles sanitaires.

Tableau I-1 Caractéristiques physico-chimiques de différents déchets alimentaires dans la littérature.

Type de déchet	pH (-)	MS (%)	MV/MS (%)	DCO (g O ₂ ·kg MB ⁻¹)	TN (g N·kg MB ⁻¹)	C/N (-)	Glucides (% sur MS)	Protéines (% sur MS)	Lipides (% sur MS)	Références
Déchets des fruits et légumes	3,7 – 4,2	6,8 – 17,9	83,4 – 95,3	65 – 136	1,29 – 2,8	15,2 – 34,2	75	10,5 – 17,8	0,8 – 5,2	[3,6]
Déchets d'abattoir	6,9 – 7,1	2,0 – 28,3	56,3 – 93,6	332,2	0,2 – 2,6 (N-NH ₄ ⁺)	3 – 6	0 – 27,7	2,0 – 38,9	1,0 – 40,5	[6,7]
Déchets de brasserie	4,6 – 6,9	14,1 – 29,2	87,6 – 97,0	1 092 – 1 308	7,48 – 12,7	5,1 – 54,9	28,6	11,4 – 32,0	5,7 – 10,6	[5,6,8]
Déchets laitiers	4,5 – 11	0,1 – 7	84	28,5 – 128,3	0,9 – 1,2	11,4 – 13,6	3 – 80,9	1,40 – 33,5	0,1 – 11,6	[6,9,10]
Résidu d'alimentation animale	–	86 – 93	74,6 – 94,5	530,4	–	10 – 25	–	6,0 – 34,5	1,0 – 30,8	[6,9]
Déchets des restaurations	3,3 – 5,7	4,0 – 41,5	88,7 – 95,1	90,9 – 934	2,72 – 3,01	11,4 – 36,4	3,3 – 55,2	1,4 – 22,8	4,0 – 41,5	[6,9,11,12]
Graisse et huile	4,2 – 5,6	1,3 – 26,7	86,0 – 100	290 – 600	0,48 (N-NH ₄ ⁺)	22,1	0,8	10,2	75,4 – 100	[6,7,9]
Effluents bovins	7,8 – 9,2	9,8 – 20	55,7 – 94,0	68,5 – 274	1,7 – 5,3	16 – 25	16,5 – 64	5,7 – 21,8	2,6 – 16,1	[9,11,13–17]
Effluents porcins	7,3 – 7,7	9,55 – 29,2	80,3 – 86,8	28,2 – 105	6,66 – 10,5	6 – 14	38,2 – 47,6	14,9 – 24,0	10,1 – 14,5	[13,17,18]
Fientes volailles	7,3 – 7,4	7,0 – 38,5	58,7 – 74,0	104 – 201	6,81 – 13,1	3,9 – 15	0,48	1,2	4,3	[13,19–22]

MS - Matière sèche ; MV - Matière volatile ; MB - Matière brute; DCO - Demande chimique en oxygène ; TN - Azote total ; C/N - Rapport massique carbone sur azote

I.1.2 Valorisation des déchets alimentaires

Les déchets alimentaires sont considérés comme un gisement de matière organique (sucres, protéines, lipides, *etc.*) et d'éléments nutritionnels (N, P, K, Ca, Mg, *etc.*). En Europe, la politique intégrée des produits [23] et la stratégie de bio-économie pour l'Europe [24] encouragent la minimisation des déchets à toutes les étapes de la vie des produits. Le concept d'économie circulaire, en particulier « du berceau au berceau », a été étudiée pour l'écinnovation, visant à une société « zéro déchet ». Cette stratégie souligne que les déchets sont utilisés comme matières premières pour de nouveaux produits et applications. La grande quantité de déchets produits par l'industrie alimentaire constitue non seulement une perte importante de matières, mais aussi un grave problème de gestion, tant du point de vue économique qu'écologique. Une grande proportion de ces résidus alimentaires peut être valorisée dans d'autres systèmes de production, notamment dans les bioraffineries et le secteur énergétique.

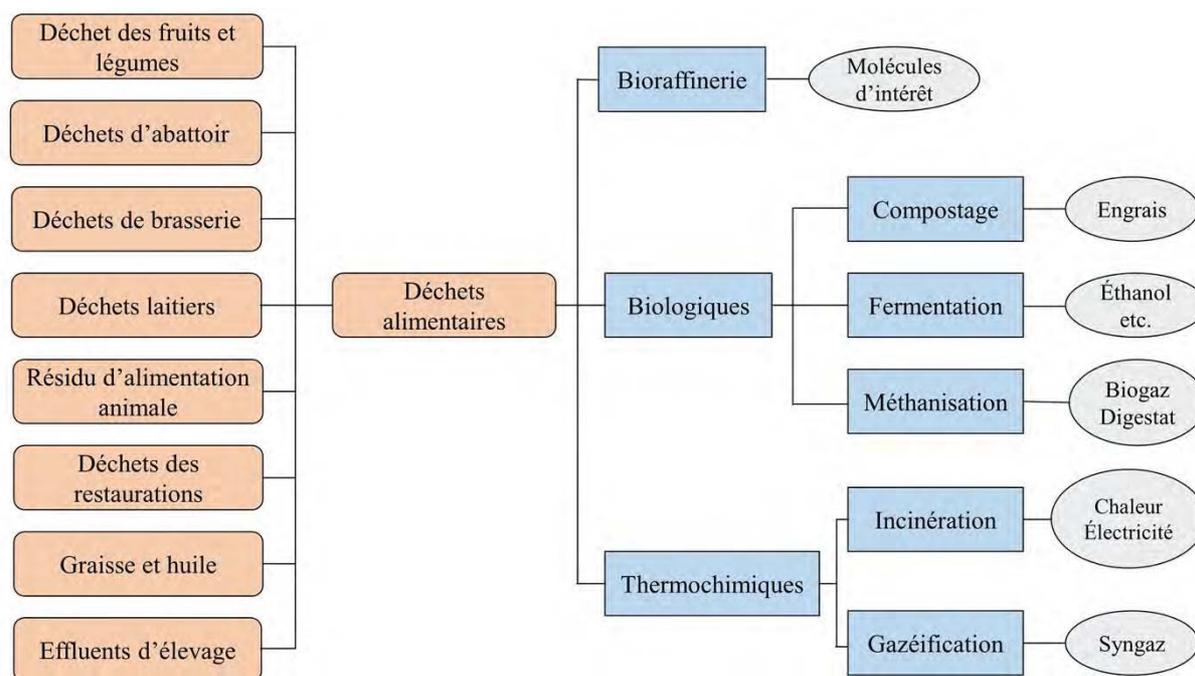


Figure I-1 Résumé de technologies disponibles pour la valorisation des déchets alimentaires.

La **Figure I-1** présente un résumé de technologies utilisées pour la valorisation des déchets alimentaires. L'extraction des molécules d'intérêt fait l'objet de la première étape de la valorisation matérielle des déchets alimentaires. Les déchets végétaux (légumes et fruits) contiennent une quantité importante de celluloses, antioxydants, polyphénols, biofibres, pectines, *etc.*, qui sont généralement des matières essentielles à l'industrie pharmaceutique et

nutraceutique. La gélatine, les protéines, les lipides, les enzymes ainsi que les produits lactiques (ex. lactulose, acide lactique) peuvent être potentiellement extraits et bioraffinés à partir des sous-produits animaux et laitiers mais sous de stricts contrôles sanitaires [25]. L'utilisation de certains déchets alimentaires (le pain par exemple) à des fins d'alimentation animale est également une option privilégiée à cet effet.

Le compostage, la fermentation, la digestion anaérobie (i.e. méthanisation), la gazéification et l'incinération constituent une autre voie du management des déchets alimentaires [26]. Il s'agit d'une valorisation finale des matières nutritionnelles ou d'une récupération de l'énergie biosourcée à partir des déchets organiques non valorisable par d'autres méthodes, comme des sous-produits animaux règlementés (ex. les fumiers et lisiers, des pailles, etc.).

Le compostage est une transformation aérobie de la matière organique des déchets alimentaires en produits fertilisants, qui peuvent être utilisés comme des engrais ou des amendements agricoles. Ce procédé biologique peut atteindre à la fois la stabilisation de la matière organique, le séchage du déchet, l'hygiénisation microbiologique, la production des matières fertilisantes ainsi que la minimisation de l'émission des gaz à effet de serre (GES) et de l'ammoniac (NH_3) [27,28].

La fermentation et la méthanisation font partie du traitement biologique des déchets organiques par voie anaérobie. La fermentation est réalisée par les activités métaboliques d'oxydo-réduction dans lesquelles l'oxygène n'est pas le seul accepteur ultime d'électrons. Les produits finaux des réactions fermentatives (ex. matière organique et CO_2) peuvent également recevoir les électrons émis par les processus. La fermentation des déchets alimentaires vise à la production d'acides gras volatils (ex. acide acétique), des alcools (ex. bio-éthanol) ou d'autres petites molécules d'intérêt (ex. acide lactique) [29]. La production de l'éthanol biosourcé à partir du maïs et de la paille est un exemple de valorisation énergétique des déchets agricoles par voie fermentative [30].

La digestion anaérobie (ou la méthanisation) est un processus complet de fermentation qui transforme la matière organique en biogaz. Le biogaz est composé principalement du biométhane (CH_4 , 50% – 70% v/v), dioxyde de carbone (CO_2 , 30% – 50% v/v) et de quelques traces (ex. NH_3 , N_2 , H_2S). C'est le méthane qui lui octroie ses vertus énergétiques renouvelables. Après raffinage, le biométhane peut être injecté dans le réseau du gaz naturel pour une valorisation matière ou énergétique ultérieure. De plus, la cogénération réalisée par un moteur

à gaz (ou une turbine) permet la production simultanée d'électricité et de chaleur sous forme d'énergie renouvelable au sein même des locaux de l'unité de méthanisation. Ce qui reste dans le digesteur est appelé digestat (résidu issu de la méthanisation riche en matière organique et en éléments minéraux, ex. N, P, *etc.*). Il est ensuite possible de le valoriser en tant que fertilisant pour les activités agricoles [6].

La gazéification et l'incinération sont des traitements thermochimiques des déchets organiques. La gazéification permet la décomposition des matières carbonées à 800 °C – 1 200 °C en présence d'une faible quantité d'oxygène pour produire du gaz de synthèse (appelé « syngaz »). Ce dernier est combustible grâce à ses composants monoxyde de carbone (CO) et dihydrogène (H₂). Il est utilisable en tant que carburant pour la production énergétique ou en tant que matière primaire pour la production de produits chimiques [31]. En ce qui concerne l'incinération, c'est une technologie largement développée et appliquée pour la récupération énergétique (chaleur et électricité) à partir de déchets organiques. Elle permet une réduction importante de volume de déchets. Par contre, cette technologie est de moins en moins privilégiée par plusieurs pays de l'UE à cause de ses émissions importantes de polluants toxiques comme les métaux lourds et les dioxines [31].

1.1.3 Digestion anaérobie - méthanisation

Face au défi du réchauffement climatique et à la demande croissante d'une consommation d'énergie plus propre, l'Union européenne s'est engagée à transférer ses besoins énergétiques totaux de 20% en énergies renouvelables d'ici 2020 [32]. En réponse à l'ambition de l'UE, la digestion anaérobie (méthanisation) est l'une des solutions possibles pour la valorisation des déchets alimentaires. Elle permet à la fois une valorisation matière des résidus et une production d'énergie renouvelable (EnR) à partir de la biomasse.

Le procédé de méthanisation est constitué de quatre étapes principales : hydrolyse, acidogénèse, acétogénèse et méthanogénèse (**Figure I-2**). Durant l'étape d'hydrolyse, la matière organique non-soluble est décomposée par les bactéries hydrolytiques qui transforment les substances complexes en monomères solubles (acides aminés, monosaccharides et acides gras à longue chaîne) à l'aide d'enzymes hydrolytiques extracellulaires. Durant l'étape d'acidogénèse, les monomères sont majoritairement dégradés en produits intermédiaires comme les acides gras volatils (AGV) (ex. acide propionique et acide butyrique) via des activités métaboliques fermentatives. Lors de la troisième étape (acétogénèse), les bactéries

acétogènes productrices obligées d'hydrogène (APOH) métabolisent les AGV en acide acétique en produisant H_2 et CO_2 . Il existe une petite quantité de bactéries homo-acétogènes qui consomment H_2 et CO_2 produits par les bactéries APOH pour synthétiser de l'acide acétique. Enfin, tous les produits finaux de l'étape acétogénèse sont convertis en biogaz (notamment en CH_4 et CO_2) par les microorganismes méthanogènes hydrogéntrophes et acétotrophes.

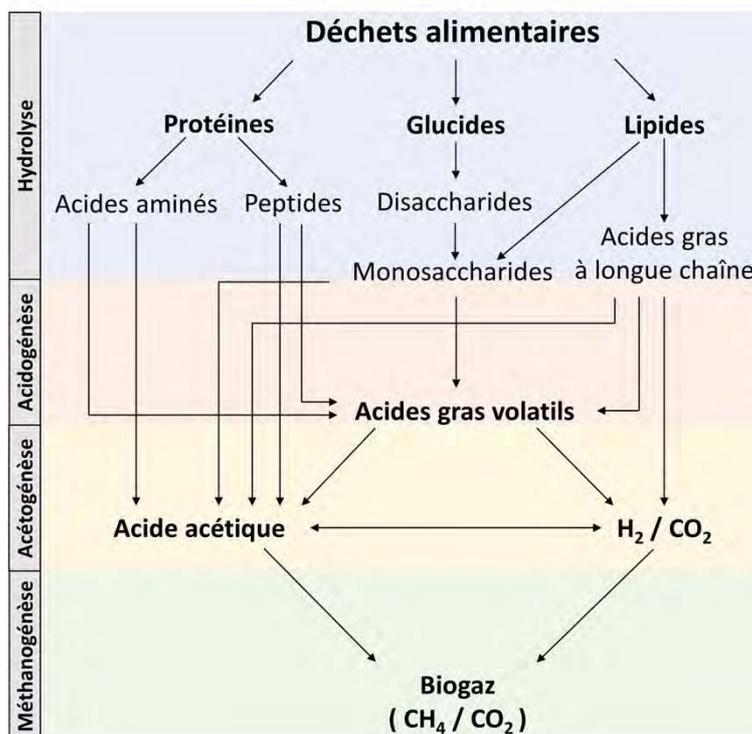


Figure I-2 Chaîne trophique de la méthanisation et ses différentes étapes (schéma adapté de Li *et al.*, 2019 [33]).

Comme évoqué dans la **Section I.1.2**, en plus du biogaz, il est obtenu également un deuxième produit le digestat anaérobie issu de méthaniseurs. Il est constitué de matières non-biodégradables (ex. lignine), de matières dégradables qui n'ont pas encore été converties en biogaz, de matières minérales (N, P, K, *etc.*) et d'eau. La politique du « retour au sol » permet que le digestat soit valorisé, après une séparation de phases et éventuellement un séchage [34], comme engrais (phase liquide) ou amendements agricoles (phase solide).

I.1.4 Risque sanitaire de la politique « retour au sol »

Les études des deux dernières décennies ont révélé la présence élevée de divers microorganismes pathogènes dans les biodéchets épandus sur le sol. Les coliformes fécaux,

Salmonella enterica, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, *Campylobacter* spp., *Cryptosporidium*, *Giardia*, Hépatite B / E, Norovirus et Rotavirus ont été identifiés dans les effluents d'élevages britanniques [35], le lisier porcin au cours de son traitement et de son stockage [36], les sols préalablement épandus avec des fumiers ou des lisiers [37,38], les boues de stations d'épuration [39], les déchets d'abattoirs [40] et le digestat anaérobie [41]. Ces microorganismes infectieux peuvent être transmis des déchets à l'environnement lors de l'épandage sur le sol et, par conséquent, entraîner la contamination des aliments et l'apparition de maladies humaines [42]. La propagation du gène de résistance aux antibiotiques (GRA) à partir de déchets alimentaires, sous-produits animaux en particulier, suscite également une attention croissante [43]. Des résultats récents montrent que le traitement conventionnel des déchets ne peut constituer un obstacle suffisant à l'élimination des GRA dans les déchets alimentaires [44].

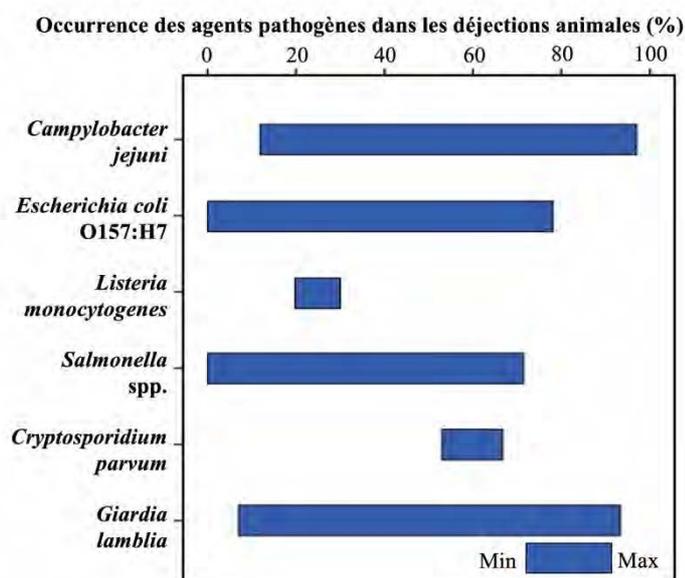


Figure I-3 Occurrence des agents pathogènes dans les déjections animales (données compilées à partir de [35,45–58]).

Les déchets biologiques contiennent une grande variété de microorganismes parmi lesquels on pourrait trouver presque toutes les espèces d'agents infectieux identifiés comme dangereux pour l'homme. La **Figure I-3** résume l'occurrence de six espèces d'agents pathogènes identifiés dans les déjections de bovins, de porcins et de volailles. Les plages de prévalences de *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia* dans ces déchets animaux s'étendent respectivement entre 11,9 et 97%, 0 et 78%, 19,8 et 30%, 0 et 71,4%, 53 et 66,7%

et 7 et 93,3%. On peut conclure de la figure qu'il est très probable que les déjections animales soient contaminées par divers agents pathogènes [59]. Au niveau mondial, des agents pathogènes peuvent être accumulés dans les sols lorsque de mauvaises pratiques d'épandage [60,61] ou d'hygiène dans les exploitations [62]. Le transport de déchets est également considéré comme une autre source potentielle de recontamination [63]. Bicudo et Goyal (2003) ont également souligné que les bactéries dérivées de déjections animales, qu'elles soient pathogènes ou non, peuvent être responsables de l'introduction de GRA dans l'environnement [64]. La santé publique peut donc être menacée si les biodéchets ne sont pas correctement traités et gérés [65].

Ce commentaire est encore renforcé par Hutchison *et al.* (2004) [35] qui ont comparé la concentration de certains agents pathogènes dans les déjections d'animaux britanniques (ovins, volailles, porcs et bovins). La **Figure I-4** donne la visualisation des résultats obtenus par leurs travaux. Il indique que les concentrations des cinq types d'agents pathogènes étudiés dans les effluents d'élevage animal sont généralement élevées, de l'ordre de 10^2 à 10^5 UFC·mL⁻¹. Cela constitue un défi majeur de santé publique pour la valorisation des déjections animales.

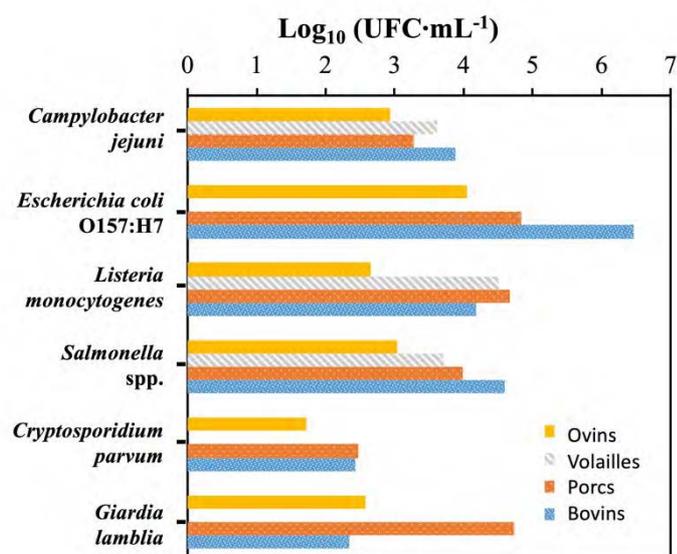


Figure I-4 Exemple de la concentration d'agents pathogènes dans les déjections animales (données extraites et remises en forme à partir de Hutchison *et al.*, 2004 [35]).

L'Agence de Protection Environnementale des États-Unis (US EPA) a révélé au public, pour la première fois en 2002, les interactions entre les agents pathogènes présents dans les boues d'épuration et les maladies des résidents vivant à proximité d'épandage. Leurs conclusions ont été présentées sous la forme d'une brève communication [66] et d'un article de

recherche [67], attirant ainsi de plus en plus l'attention des mondes médicaux, politiques et scientifiques sur cette question. Après un an, la réglementation américaine « US Environmental Protection Agency Part 503 » relative à la lutte contre les agents pathogènes dans les boues d'épuration est apparue [68]. Dans le même temps, l'UE a publié son premier règlement CE N° 1774/2002 sur les règles sanitaires relatives à l'hygiénisation obligatoire (stérilisation) des sous-produits animaux (SPAN) avant la digestion anaérobie, qui unifiait divers paramètres opérationnels proposés par les pays membres européens [69].

I.2 Hygiénisation thermique des déchets alimentaires

I.2.1 Réglementations européennes et mondiales

Afin de maîtriser le risque sanitaire dû aux déchets alimentaires, une étape d'hygiénisation est généralement requise avant la digestion anaérobie. Elle est dédiée à l'inactivation des agents pathogènes, comme illustré par la **Figure I-5**.

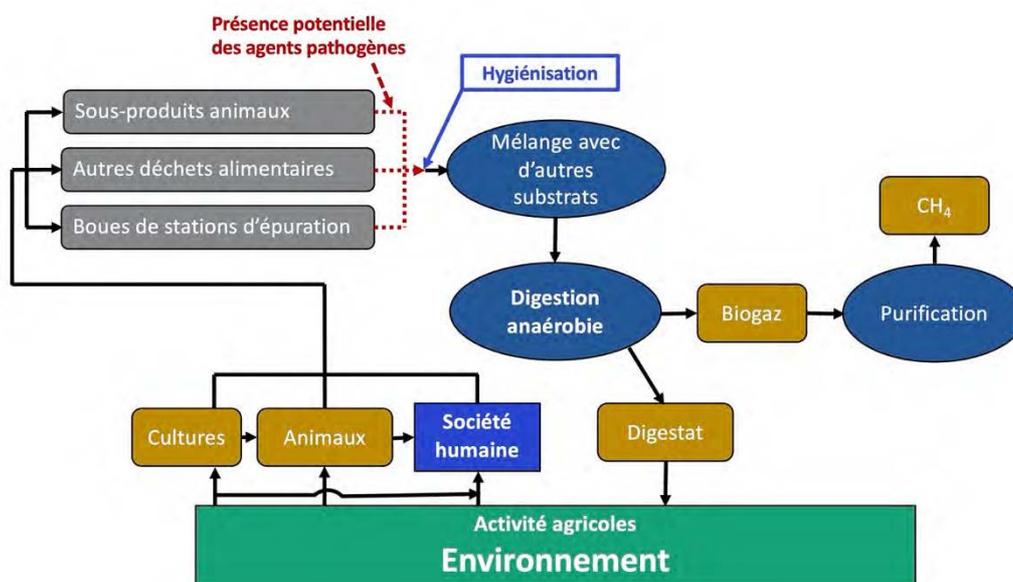


Figure I-5 Voie de transmission des agents pathogènes lors de la valorisation de biodéchets par digestion anaérobie.

Les biodéchets subissent généralement une étape de pasteurisation thermique à des fins sanitaires. Ce traitement thermique peut être séparé des principales unités de transformation ou y être intégré. Le **Tableau I-2** récapitule les paramètres opérationnels du processus d'hygiénisation réglementés par certains pays et leurs autorités pour différents déchets cibles.

Les types de biodéchets à hygiéniser et les paramètres opérationnels dépendent fortement des pays concernés.

Le règlement de la Commission européenne UE N° 142/2011 exige que les sous-produits animaux définis comme appartenant à la catégorie II ou III (comme les déchets d'abattoir et de bétail) soient d'abord mélangés et broyés pour atteindre une taille de particule inférieure à 12 mm, puis pasteurisés thermiquement à 70 °C pendant au moins 60 minutes avant d'entrer dans les digesteurs anaérobies [70]. Le règlement donne également aux pays membres de l'UE le pouvoir de choisir d'autres procédés que le traitement thermique pour hygiéniser les SPAN, uniquement si ces procédés peuvent permettre une réduction de 5 log₁₀ d'*Enterococcus faecalis* ou de *Salmonella Senftenberg* (775W, H₂S négatif) et une réduction de 3 log₁₀ des virus thermorésistants tels que le parvovirus. Par exemple, le Conseil Suédois de l'Agriculture a approuvé un traitement d'hygiénisation intégré dans des digesteurs thermophiles, maintenus à 52 °C, pendant une durée minimale de 10 h et un temps de séjour hydraulique minimum de 7 jours [71].

Aux États-Unis, l'US EPA (*United States Environmental Protection Agency*) précise que les boues d'épuration doivent être traitées thermiquement en appliquant différents barèmes temps-température en fonction de la suspension cible (par exemple, 30 min sont nécessaires pour un traitement à 70 °C des boues de stations d'épuration avec au moins 7% de solides). La grande variété de barème de traitement proposée par ces pays rend difficile la comparaison de l'efficacité de pasteurisation d'un procédé à l'autre. Par conséquent, le concept de valeur pasteurisatrice (valeur *F*) développé en génie alimentaire a été utilisé. Il est défini comme le temps de traitement requis à la température de référence pour obtenir la même efficacité de pasteurisation (taux de réduction des agents pathogènes cibles) que celui obtenu par une pasteurisation à une autre température, en supposant un profil d'inactivation log-linéaire du microorganisme de référence [72]. La valeur *F* est calculée en utilisant l'**Équation I-1**.

Tableau I-2 Résumé de la durée et de la température de l'hygiénisation thermique règlementées.

Autorités	Type de déchet	Paramètres opérationnels de l'hygiénisation thermique			Références
		HYG + DAM ^a	HYG + DAT ^b	HYG intégrée ^c	
UE	SPAN	70 °C, 1 h (60 min) ^d pour tous les procédés			[70]
Autriche & Allemagne	SPAN	70 °C, 1 h (60 min)	70 °C, 0,5 h (30 min)	55 °C, 24 h (10 min)	[73]
Danemark	SPAN	55 °C, 7,5 h (3,2 min)	55 °C, 5,5 h (2,4 min)	55 °C, 6,0 h (2,6 min)	[74]
		60 °C, 3,5 h (7,8 min)	60 °C, 2,5 h (5,6 min)	52 °C, 10 h (1,6 min)	
		65 °C, 1,5 h (17 min)	65 °C, 1,0 h (12 min)	–	
États-Unis	Biosolides	70 °C, 0,5 h (30 min)	70 °C, 0,5 h (30 min)	–	[68]
Irlande	SPAN	60 °C, 48 h, 2 fois (214 min) or 70 °C, 1 h (60 min)			[75]
Chine	Biosolides	–	–	55 °C, 5 jours (52 min)	[76]
Royaume-Uni	Déchet des restaurations	57 °C, 5,0 h (4,1 min)			[77]
Suède	SPAN	–	–	52 °C, 10 h (1,6 min)	[71]

^a HYG + DAM : L'hygiénisation et la digestion anaérobie mésophile sont opérées dans des unités séparées

^b HYG + DAT : L'hygiénisation et la digestion anaérobie thermophile sont opérées dans des unités séparées

^c HYG intégrée : L'hygiénisation est intégrée à la digestion anaérobie

^d Valeur F est présentée entre parenthèses, supposant $T_{ref} = 70$ °C et $Z = 7$ °C dans l'Équation I-1, impliquant l'inactivation thermique de la souche *Ent. faecalis*

SPAN : Sous-produits animaux

$$F = \int_0^t 10^{\frac{T - T_{ref}}{Z}} dt \quad \text{Équation I-1}$$

où F (min) est la valeur pasteurisatrice à la température de référence, T (°C) est la température de traitement, T_{ref} (°C) est la température de référence ($T_{ref} = 70$ °C dans notre cas), t (min) est le temps de traitement initial à T et Z (°C) est l'élévation de température requise pour une réduction de 1 log10 du temps de réduction décimale de l'agent pathogène ciblé (ici, la valeur Z est fixée à 7 °C pour la pasteurisation d'*Enterococcus faecalis*) [78].

En Suède, par exemple, l'hygiénisation thermophile opérée à 52 °C pendant 10 h a le même effet de destruction sur la souche *Ent. faecalis* que celle à 70 °C (T_{ref}) pendant 1,6 min (valeur F). Les valeurs F de l'efficacité de pasteurisation des paramètres d'hygiénisation correspondants apparaissent en italique et entre parenthèses dans le **Tableau I-2**. On peut constater que l'UE est plus prudente dans l'établissement des paramètres d'hygiénisation en comparaison à ses membres et à d'autres pays du monde. Il convient de noter que l'Irlande a proposé un procédé de paramétrage de la pasteurisation thermique qui semble extrêmement

prudent (60 °C pendant 2 fois 48 h) sur l'hygiénisation du SPAN, équivalent à une valeur F de 214 min à 70 °C [79].

Outre les paramètres opérationnels, les réglementations contrôlent généralement la concentration microbienne dans le produit final après méthanisation, notamment dans le digestat avant retour au sol. Le **Tableau I-3** donne plusieurs exemples de critères microbiens pour la valorisation du digestat dérivé de la méthanisation des SPAN, des boues d'épuration et de déchets agricoles réglementés respectivement par l'Union européenne, les États-Unis et l'état de Californie. *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp. et les œufs d'helminthes sont souvent choisis comme microorganismes indicateurs caractérisant la qualité du digestat.

Il faut tenir compte du fait que le processus de méthanisation, en lui-même, constitue une étape d'hygiénisation des déchets. Un certain nombre d'études ont montré que la méthanisation, en particulier thermophile, pouvait entraîner une réduction significative des agents infectieux ou des microorganismes indicateurs traditionnels, tels que les coliformes fécaux, *Salmonella* spp., *E. coli*, *Enterococcus* spp. dans les boues d'épuration [80], le lisier [81], les carcasses et le fumier de porc [82] et le lisier de ferme [83] (cf. **Annexe I**). Une synthèse récente est parue concernant cet aspect [84]. Cette réduction des agents pathogènes pourrait s'expliquer par les conditions de stress créées par la méthanisation pour la sélection des microorganismes méthanogènes. Cependant, *Campylobacter* spp. peut survivre pendant la digestion anaérobie mésophile du fumier bovin [83]. Certaines bactéries sporulantes, telles que *Bacillus* spp. et *Clostridium* spp., sont beaucoup plus résistantes au prétraitement par hygiénisation thermique [85] et au procédé thermophile [86]. La présence des virus infectieux dans le digestat est toujours négligée [84].

L'élimination des agents pathogènes résistants et des endospores bactériennes dans les déchets biologiques devrait, dans l'avenir, constituer un axe de recherche du domaine de l'hygiénisation.

Tableau I-3 Critères de concentrations de microorganismes indicateurs réglementés par différentes autorités pour des digestats issus de la méthanisation de biodéchets.

Indicateurs	n	c	m	M	Quantité de déchet considérée
UE - Règlement N° 142/2011– ANNEXE V - III.3.1 relatif aux sous-produits animaux [70]					
<i>Escherichia coli</i> ou <i>Enterococcaceae</i>	5	1	1000	5000	1 g
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0	0	25 g
US EPA - Règlement sous 40 CFR Part 503 – Section 4 relatif aux boues de STEP [68]					
Coliformes fécaux	–	–	1000	–	4 g MS
<i>Salmonella</i> spp.	–	–	3	–	4 g MS
Virus entérique	–	–	1	–	4 g MS
Œufs d'helminthes viables	–	–	1	–	4 g MS
Californie - Règlement Titre 14 – Section 17896.60 (b) relatif au digestat anaérobie [87]					
Coliformes fécaux	–	–	1000	–	4 g MS
<i>Salmonella</i> spp.	–	–	3	–	4 g MS

n = nombre d'échantillons à tester (–)

m = valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m (UFC)

M = valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant si le nombre de bactéries dans un ou plusieurs échantillons est supérieur ou égal à M (UFC)

c = nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M, l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m (–)

MS : Matière sèche ; STEP : Stations d'épuration

1.2.2 Hygiénisation avant, pendant et après la méthanisation

Les processus d'hygiénisation avant (pré-hygiénisation), pendant (inter-hygiénisation) ou après digestion anaérobie (post-hygiénisation) jouent un rôle important dans l'efficacité de réduction des agents pathogènes, la consommation énergétique et la qualité finale du digestat [88].

La plupart des réglementations imposent un processus de pré-hygiénisation des déchets avant la digestion anaérobie. D'une part, un apport d'énergie supplémentaire peut être nécessaire pour chauffer plusieurs substrats réglementés à une température souhaitée (par exemple, 70 °C en Europe). D'autre part, le substrat hygiénisé peut également préchauffer les digesteurs lorsqu'ils sont mélangés avec d'autres matières premières. Aucune autre étude n'est disponible concernant les bilans énergétiques associés. La pré-hygiénisation peut modifier la cinétique de

production de biogaz du substrat. En outre, en termes d'efficacité de réduction des agents pathogènes, elle inactive les agents pathogènes avant d'entrer dans les digesteurs, permettant ainsi une hygiénisation plus poussée pendant la digestion anaérobie. Elle empêche la multiplication des microorganismes inactivés, comme indiqué dans de très nombreuses publications scientifiques (cf. **Section I.2.1** et **Annexe 1**).

La post-hygiénisation qui suit le processus de digestion anaérobie peut paraître comme la plus efficace d'un point de vue économique [63] : elle nécessite moins d'énergie pour chauffer le digestat déjà chauffé à la température de digestion. Cependant, le chauffage de la totalité du digestat au lieu de celle des seuls intrants réglementés pourrait limiter son attrait. Astals *et al.* (2012) [89] ont réalisé un bilan énergétique de la post-hygiénisation et ont conclu qu'un excédent énergétique positif ne pouvait être atteint qu'avec la mise en place d'un système de récupération de chaleur. Keller (1983) [90] a constaté que le digestat post-hygiénisé était plus vulnérable à la repousse des agents pathogènes. L'auteur a expliqué ce phénomène par le fait que le post-traitement pourrait induire une dégradation supplémentaire des matières organiques favorisant la croissance bactérienne. Clements (1983) [91] a recommandé la pré-hygiénisation du substrat afin de minimiser les risques sanitaires des boues de STEP malgré la plus grande consommation énergétique. Enfin, la post-hygiénisation peut entraîner une perte excessive de NH_3 qui influe sur la qualité finale fertilisante du digestat [88].

L'inter-hygiénisation est peu étudiée. Elle permet l'hygiénisation du digestat entre le digesteur primaire et le post-digesteur avec un apport de chaleur inférieur à celui de la post-hygiénisation. Cependant, ce chauffage intermédiaire peut détruire les microorganismes méthanogènes présents dans le digestat et aurait donc une influence sur les performances de la post-digestion [88].

I.2.3 Consommation énergétique de l'hygiénisation thermique

L'hygiénisation thermique des biodéchets est souvent réalisée dans les unités de méthanisation, en utilisant la chaleur générée par la cogénération du biogaz produit localement. Le **Tableau I-4** résume la consommation de chaleur de l'hygiénisation thermique au regard de la production totale d'énergie de plusieurs unités de méthanisation en Europe. En règle générale, le procédé consomme 6 à 25% de la production d'énergie primaire locale, à l'exception de l'Irlande qui, comme indiqué dans la **Section I.2.1**, a proposé un procédé d'hygiénisation très stricte (60 °C pendant 48 h, 2 fois) et donc plus énergivore. Dans cet article [79], les auteurs

ont comparé la consommation énergétique des normes d'hygiénisation européenne et irlandaise d'une unité de production de biogaz située en Irlande. Ils estiment que, dans le cas du traitement avant la digestion anaérobie, 57% et 4 544% de la production énergétique du biogaz serait utilisée pour les paramètres de l'hygiénisation de l'UE et d'Irlande respectivement. Quant à la post-hygiénisation, elle nécessiterait environ 30% et 1 900%.

Tableau I-4 Demande en énergie de l'hygiénisation thermique dans les unités de méthanisation en Europe.

Pays	Capacité (kt-an ⁻¹)	Substrats	Paramètres HYG	T _{Métha}	$\frac{Q_{HYG}}{Q_{Biogaz}}$	Références
Suède*	20 – 60	Divers selon les installations	–	–	6 – 17%	[92]
Allemagne [†]	10 – 20	DAGri, OM	70 °C, 1 h	–	10 – 15%	[93]
Irlande [†]	10,8	Lisiers 70%, Légume 30%	70 °C, 1 h 60 °C, 48 h, 2 fois	40 °C 40 °C	30 – 57% 1 893 – 4 544%	[79]
Royaume-Uni*	5,1	Lisiers 50%, DAGri 50%	–	40 °C	17%	[94]
Suède [†]	25,2	OM 82%, SPAN 15%, DALim 3%	52 °C, 10 h	52 °C	9%	[71]
Suède [†]	28	DALim	72 °C, 1 h	52 °C	20%	[95]

* La consommation de chaleur globale de l'unité de méthanisation est prise en compte.

[†] La consommation de chaleur de l'hygiénisation est prise en compte.

DAGri : Déchets agricoles ; DALim : Déchets alimentaires ; OM : Ordures ménagères ; SPAN : Sous-produits animaux

HYG : Hygiénisation ; T_{Métha} : Température de la méthanisation

Q_{HYG} : Chaleur requise par l'hygiénisation ; Q_{Biogaz} : Énergie primaire produite par le biogaz de l'unité de méthanisation

La demande de chaleur du traitement peut varier en fonction de la taille de l'unité de méthanisation et la recette des intrants à hygiéniser. Les déchets les plus humides (tels que les boues et les déchets de restauration) nécessitent plus d'énergie pour atteindre la température souhaitée pour l'hygiénisation en raison de la capacité calorifique élevée de l'eau. La différence entre les exigences thermiques du processus d'hygiénisation dans les unités de méthanisation peut également être expliquée par les différentes méthodes de calcul utilisées. Certains documents sont basés sur l'aspect de l'audit énergétique au sein de l'unité, tandis que d'autres le sont sur les principes de l'analyse du cycle de vie (ACV). Différentes frontières du système sont donc considérées pour l'évaluation. Par exemple, certaines études prennent en compte l'efficacité énergétique primaire de la génération de chaleur pour l'hygiénisation, tandis que

d'autres non. De plus, les paramètres opératoires d'une unité de méthanisation peuvent différer considérablement d'une installation à une autre. La consommation d'énergie calculée dépend fortement des différentes hypothèses concernant le taux de récupération de chaleur, de l'efficacité des échanges thermiques et des conditions d'isolation [71].

I.2.4 Effet de la pré-hygiénisation thermique sur la production de méthane des intrants de méthanisation

L'hygiénisation thermique des biodéchets est généralement effectuée à une température inférieure à 100 °C pendant plusieurs heures. Ce traitement thermique modéré peut également servir d'étape de prétraitement des substrats avant leur transformation et influencer ainsi sur la production de biogaz. La **Figure I-6** résume les études concernant le prétraitement à température modérée (< 100 °C) en ce qui concerne l'amélioration de la production du méthane de 4 types de biodéchets, à savoir les déchets d'abattoir (n = 13), les boues d'épuration (n = 9), le lisier porcin (n = 1) et le lisier bovin (n = 4).

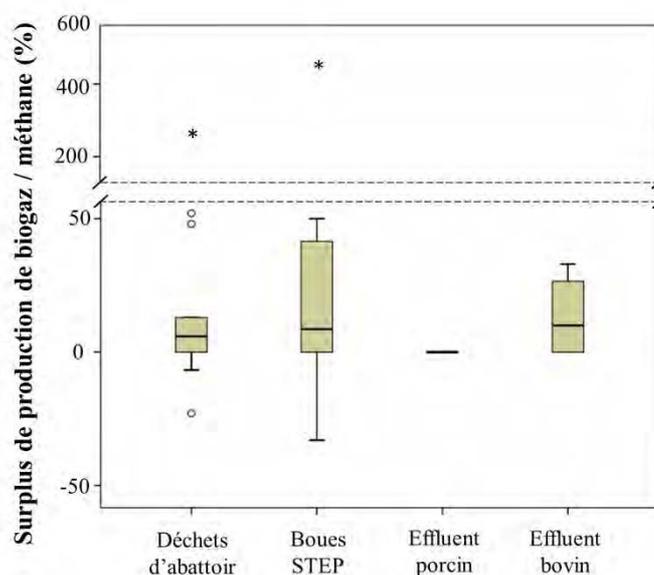


Figure I-6 Résumé de l'effet de prétraitements thermiques modérés (< 100 °C) sur l'augmentation de la production de biogaz ou de méthane de biodéchets (données de la figure collectées de [7,15,71,96–108]).

Le graphique est présenté sous forme de boîtes à moustaches qui impliquent les médianes, les 25^{ème} (Q1) et 75^{ème} centiles (Q3) comme l'illustre la **Figure I-7**. Pour une population qui suit une distribution normale $N(0, \sigma^2)$, la zone délimitée par les intervalles (les

moustaches) doit contenir 99,3% des observations. Les observations aberrantes (dont les valeurs atypiques ne se situent pas dans l'intervalle des moustaches [$Q1 - 1,5 \times IQR$; $Q3 + 1,5 \times IQR$]) sont marquées par des cercles évidés et les observations aberrantes extrêmes (dont les valeurs extrêmement atypiques dépassent trois fois la hauteur des boîtes IQR) sont marquées par des astérisques [109].

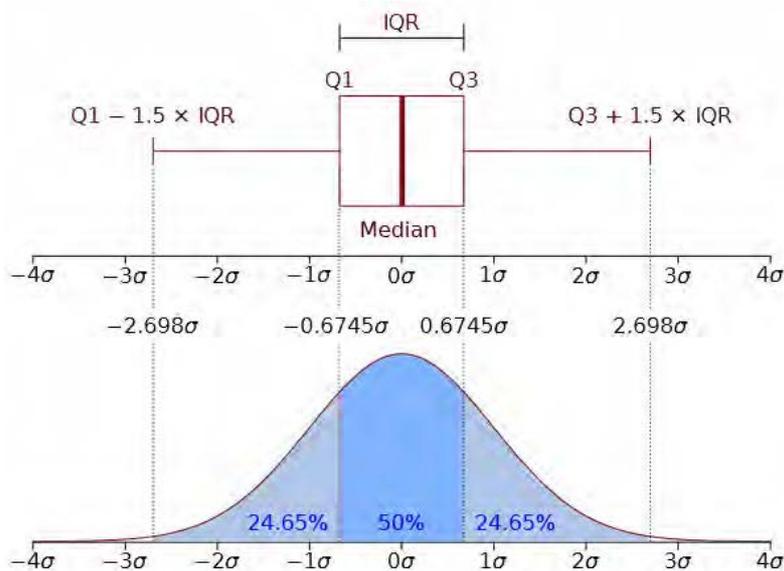


Figure I-7 Représentation en boîte à moustaches et fonction de densité de probabilité d'une population qui suit une distribution normale $N(0, \sigma^2)$, figure adaptée de Wikipédia [110].

L'augmentation du rendement en méthane induite par un prétraitement thermique léger varie dans la plupart des cas entre 0 et +50%, alors que plusieurs études rapportent un effet négatif et un effet extrêmement positif (entre +50 et +500%, marqués comme valeurs aberrantes ou atypiques). Le prétraitement thermique augmente la solubilisation de la DCO dans les substrats et convertit les substances chimiques complexes en substances plus simples (ex. transformation des acides gras à longue chaîne en acides gras volatils et transformation des protéines en acides aminés). Le traitement peut également entraîner une modification morphologique des particules de substrat, rendant le processus d'hydrolyse beaucoup plus facile [100]. En plus de l'effet d'hygiénisation, le traitement thermique pourrait également augmenter le surplus maximum de la production de méthane de certains biodéchets, tels que les abats de bovins, de porcs et de poulets [107], le digestat d'hydrolyse, les boues d'épuration municipales, le foie de porc et les déchets de tamisage d'abattoir [15,111].

I.3 Technologies alternatives non-thermiques

I.3.1 Technologies disponibles

I.3.1.1 Électrotechnologies

Les technologies électriques impliquent un ensemble de traitements sur les substrats cibles, notamment les champs électriques pulsés (CEP), les décharges à haute tension (plasmas froids) ou toute autre technologie électrique permettant la désintégration cellulaire. Ces technologies ont été largement étudiées pour l'ingénierie de procédés alimentaires depuis les années 1960 [112], dans un objectif de pasteurisation non thermique, de l'intensification des procédés d'extraction et de séchage des produits alimentaires. Les électrotechnologies les moins sévères visent principalement à désintégrer la membrane cellulaire des bactéries cibles en créant des pores permanents à partir desquels s'échappent le cytoplasme et les organites des microorganismes. Des études récentes montrent que les électrotechnologies peuvent également entraîner la formation de radicaux toxiques tels que les radicaux superoxydes (O_2^-) et hydroxyles ($\cdot OH$) exerçant un effet subléthal sur les microorganismes cibles [113].

I.3.1.2 Micro-ondes

L'irradiation par micro-ondes (MW) est un chauffage dit volumique des matériaux cibles par le réalignement oscillant des molécules dipolaires (l'eau dans la plupart des cas) induit par la pénétration des micro-ondes. La fréquence exploitée des MW est 0,9 ou 2,45 GHz. Ce sont principalement les molécules d'eau qui vibrent à ces deux fréquences [114]. En plus de l'aspect thermique, un effet athermal a également pu être observé lors du prétraitement par MW qui dénature les macromolécules comme les protéines et l'ADN en rompant leurs liaisons hydrogène [115]. Ces effets combinés favorisent l'hygiénisation / pasteurisation de la matière première des substrats.

I.3.1.3 Pressurisation

La pressurisation est un groupe de technologie non thermique utilisant une pression extrêmement élevée pour atteindre la pasteurisation de produits. La haute pression hydrostatique (HPH) est une technologie innovante qui permet d'atteindre une pression isostatique à 100 – 900 MPa dans un système liquide. Le temps de maintien des produits à haute pression mais aussi le nombre de cycles de montée / descente en pression sont des paramètres

importants du procédé. Ce traitement non thermique permet la pasteurisation des produits en provoquant une transition de phase des bicouches lipidiques des microorganismes [116]. Une autre forme de technique de pressurisation consiste à utiliser un gaz neutre sous pression (comme le CO₂) injecté dans un liquide confiné pour atteindre un niveau élevé de pressurisation (après dissolution du gaz dans le liquide).

1.3.1.4 Ultrasons de puissance

Les ultrasons de puissance (USP) ont été largement étudiés pour détruire les microorganismes dans les produits alimentaires. L'ultrasonication provoque des phénomènes de cavitation en émettant des ondes de choc soniques alternées (généralement à une fréquence de 20 à 100 kHz). Ces ondes ultrasonores donnent naissance à des bulles de gaz qui implosent, engendrant des températures et pressions très élevées dans la bulle, des chocs sphériques divergents dans son voisinage proche, et des jets liquides supersoniques au voisinage des parois solides. L'ensemble de ces phénomènes conduit à l'inactivation des microorganismes [117].

1.3.1.5 Traitement chimique

Le traitement chimique en tant que méthode de pasteurisation alternative implique le traitement par addition d'alcalin, d'acide, d'ozone et d'autres produits chimiques aux substrats. Il est souvent associé à d'autres approches pour améliorer l'efficacité de l'inactivation des microorganismes. Le prétraitement alcalin ou acide modifie le pH du milieu à un niveau extrême qui peut stresser les microorganismes ou inhiber leurs activités. Les variations de pH peuvent également provoquer différentes réactions physico-chimiques, telles que la coagulation des particules, la dégradation de la membrane cellulaire et la décomposition de la lignocellulose, *etc.* Le traitement à l'ozone crée une forte concentration de radicaux libres oxydants toxiques pour les activités bactériennes.

1.3.2 Efficacité sur l'hygiénisation des intrants de méthanisation

Pour remplacer l'hygiénisation thermique des biodéchets, une technologie alternative doit au moins avoir la même efficacité de débactérisation que celle obtenue par traitement thermique. En fait, les technologies proposées dans la **Section 1.3.1** peuvent atteindre des niveaux de destruction bactérienne satisfaisants selon les études dans le domaine de la

pasteurisation des aliments [112]. Cependant, peu d'articles scientifiques ont été publiés sur l'hygiénisation des biodéchets.

Le **Tableau I-5** présente une synthèse de la littérature sur l'application de plusieurs technologies d'hygiénisation émergentes (CEP, MW, USP, HPH et traitement chimique) à divers déchets biologiques à des fins d'inactivation des agents pathogènes. L'apport d'énergie nécessaire a été reporté ou calculé à partir de différents articles lorsque cela était possible.

Les coliformes fécaux, *Salmonella* spp. et *Escherichia coli* sont généralement choisies comme bactéries indicatrices pour caractériser l'efficacité d'hygiénisation des nouvelles technologies. L'essentiel des résultats de recherche disponibles est consacré à l'hygiénisation des boues d'épuration. Peu de connaissances sont accessibles pour les autres types de biodéchets (déchets d'abattoir, effluents d'animaux, déchets de l'industrie alimentaire, etc.). Le traitement par micro-ondes s'est avéré l'approche la plus efficace, compte tenu de la forte réduction des bactéries indicatrices. Cela pourrait être dû aux effets thermiques et athermiques couplés induits par l'irradiation des micro-ondes qui renforcent l'inactivation bactérienne. Les études sur les technologies électriques et la pressurisation pour l'hygiénisation des biodéchets sont rares et nécessitent davantage d'attention.

L'énergie électrique consommée par ces technologies varie de $3,6 \text{ kJ}_e \cdot \text{g MS}^{-1}$ à $11,4 \text{ kJ}_e \cdot \text{g MS}^{-1}$. En comparaison, Coultry *et al.* (2013) [79] indiquent un apport de chaleur de $5,23$ à $7,85 \text{ kJ}_t \cdot \text{g MS}^{-1}$ pour l'hygiénisation thermique à 70 °C pendant 60 min pour des matières sèches du substrat variant entre 10% et 15%. Grim *et al.* (2015) [71] rapportent une consommation de $2,2 \text{ kJ}_t \cdot \text{g MS}^{-1}$ pour l'hygiénisation thermophile intégrée à 52 °C pendant 10 h.

Tableau I-5 Synthèse bibliographique de l'efficacité de plusieurs technologies alternatives pour l'hygiénisation des biodéchets.

Technologie	Type de déchet	Paramètres opérationnels	Indicateurs	Réduction microbienne	Références
CEP	Boues activées	50 Hz, 0,6 – 1,2 kV·cm ⁻¹	<i>Salmonella</i> spp.	1,4 log10	[118]
MW	Boues primaires	7,27 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 85 °C	Coliformes fécaux	6,8 log10	[119]
	Boues activées	11,4 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 85 °C	Coliformes fécaux	6,5 log10	
	Boues de digestat	10,1 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 65 °C	Coliformes fécaux	5,6 log10	
	Boues STEP	0,4 – 1,2 kJ _e ·mL ⁻¹ , refroidies à 45 °C	Coliformes totaux	Destruction complète	[120]
	Boues primaires	4,86 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 65 °C	Coliformes fécaux	~5,6 log10	[121]
	Boues activées	7,60 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 65 °C		~5,4 log10	
	Boues de digestat	10,1 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 65 °C	Coliformes fécaux	~3,5 log10	
	Boues primaires	1 kW _e , 2450 MHz, 110 s	Coliformes fécaux	4,2 log10	[122]
	Boues activées		<i>Salmonella</i> spp.	2,0 log10	
	Boues activées	3,49 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 80 °C, 9 min	Coliformes fécaux	~2 log10	[123]
USP	Boues activées	20 kHz, 0,1 – 0,3 W _e ·mL ⁻¹ , 120 min	Coliformes totaux	3 log10	[124]
			Hétérotrophes	2,4 log10	
	Boues activées	5 – 27 kJ _e ·g MS ⁻¹	<i>Escherichia coli</i>	4 log10	[125]
	Boues activées	3,16 kJ _e ·g MS ⁻¹ , 20 kHz, 10 min	Coliformes fécaux	~1 log10	[123]
Pression	Boues STEP	2800 kPa CO ₂ , 23 h	<i>Escherichia coli</i>	Non effet	[126]
Chimique	Boues activées	35 – 157 g NaOH·kg MS ⁻¹ , 24 h	<i>Escherichia coli</i>	4 log10	[125]
	Boues épaissies	pH 10 – 12, 0 – 4 jours	Coliformes fécaux	2 – 4,5 log10	[127]
			<i>Salmonella</i> spp.	2 – 4 log10	
			Streptocoques fécaux	2 – 4 log10	

CEP : Champs électriques pulsés ; MW : Micro-ondes ; USP : Ultrasons puissants

SPAN : Sous-produits animaux ; Boues STEP : Boues de station d'épuration ; kJ_e ou kJ_t : kilojoules électriques ou thermiques ; MS : Matière sèche

Il convient de noter que la simple comparaison entre l'apport énergétique sous forme de chaleur de l'hygiénisation thermique et celui sous forme électrique des technologies alternatives n'est pas appropriée. En effet, ces procédés n'ont pas le même rendement de récupération de l'énergie primaire. En France, les énergies nucléaires, renouvelables et fossiles représentent respectivement 75%, 15% et 10% de la production totale d'électricité. L'efficacité énergétique de ces trois sources d'énergie est estimée à 33%, 100% et 38%, soit une efficacité énergétique moyenne nationale de 43,6%. En supposant 5% de perte d'énergie primaire lors de la distribution via le réseau électrique, le facteur de conversion de l'électricité en énergie primaire règlementé par l'arrêté français [128] est de 2,58 – 2,59, soit l'inverse de 38,6% (44,6% moins 5%). Ce facteur est de 3,34 aux États-Unis et de 2,60 en Allemagne selon la structure énergétique de chacun des pays considérés [129]. Cela signifie qu'en termes de consommation d'énergie, l'hygiénisation thermique est un moyen plus économe en énergie que les technologies alternatives qui consomment de l'énergie électrique. Cet avantage se réduira au fur et à mesure que l'électricité sera davantage produite par les énergies renouvelables. Ainsi, grâce au développement des sources d'énergies renouvelables, le facteur de conversion de la Suède a été réduit de 1,92 en 2005 [130] à 1,60 en 2018 [131].

La plupart des substrats étudiés pour les technologies alternatives sont des boues d'épuration dont la teneur en eau dépasse généralement 90%, tandis que les substrats à hygiéniser dans les unités de production de biogaz ont une teneur en eau inférieure à 85% (comme les déchets d'abattoir et le lisier). Cela implique que dans les installations de production de biogaz, l'application des technologies alternatives peut être intéressante lorsque les substrats contiennent moins d'eau. Il est constaté que la consommation d'énergie du prétraitement des boues de STEP dépend fortement de sa teneur en eau [132]. Des conclusions ne peuvent pas être précisément obtenues sans analyses quantitatives énergétiques, exergétiques, économiques et du cycle de vie.

1.3.3 Effet sur la production de méthane des intrants de méthanisation

Plusieurs synthèses bibliographiques concernent l'effet des technologies de prétraitement sur l'amélioration du potentiel méthanogène (BMP), sur l'amélioration de la déshydratation des boues d'épuration [133,134], sur la faisabilité énergétique [132], la stratégie de gestion des déchets [135] ainsi que les mécanismes détaillés du prétraitement de méthanisation [33]. Elles résument les avantages et les inconvénients de chaque technologie. Les résultats présentés, dans ces synthèses, sont complétés dans la présente section par les

données issues des travaux les plus récents. Les substrats concernés sont non seulement des boues d'épuration mais également d'autres biodéchets devant être hygiénisés tels que les déjections animales, les boues industrielles et les déchets d'abattoir, *etc.*

La **Figure I-8** illustre l'amélioration du rendement en biogaz / méthane des déchets biologiques induite par différentes technologies de prétraitement. Bien que l'efficacité du traitement dépende de l'origine des substrats et des paramètres opérationnels appliqués, la figure en forme de boîte à moustaches permet une comparaison de ces technologies et donne une idée générale des plages d'amélioration atteignable de la production de méthane. On peut résumer, à partir de la figure, que les médianes d'amélioration de la production du biogaz ou du méthane sont généralement inférieures à 50% pour la majorité des procédés d'hygiénisation alternatifs. Le nombre de documents utilisés pour la figure varie d'un procédé à l'autre : 12 pour les électrotechnologies, 10 pour les micro-ondes, 20 pour les ultrasons de puissance, 6 pour la haute pression hydrostatique et 7 pour le traitement alcalin couplé à un chauffage. Seules 2 études sont disponibles sur le traitement acide couplé à un chauffage. Ces dernières indiquent une augmentation de la production de méthane de 14,3% et 17,5%. La technologie d'oxydation (9 documents) a permis d'observer une valeur médiane supérieure, correspondant à un surplus de production de méthane de près de 100%.

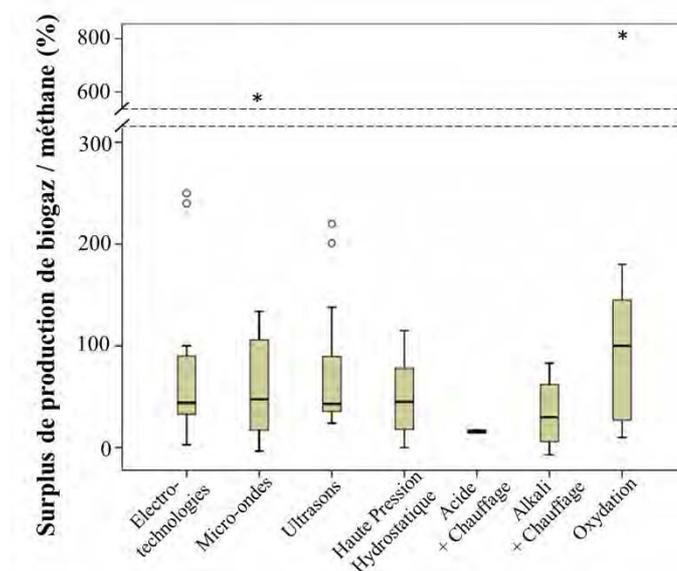


Figure I-8 Synthèse de diverses technologies alternatives liées à l'amélioration de la production du biogaz ou du méthane des biodéchets (données de la figure collectées de [106,111,124–126,133,134,136–183]).

En outre, plusieurs valeurs rapportées ont été identifiées comme valeurs aberrantes, ce qui indique qu'elles se situent au-delà des intervalles probables de 99,3% estimés par la méthode de la cartographie par boîte à moustaches. Ces valeurs sont marquées par les cercles évidés. Les valeurs aberrantes extrêmes (dont les valeurs dépassent trois fois la hauteur des boîtes) sont marquées par les astérisques.

I.4 Technologie alternative - Champs électriques pulsés (CEP)

I.4.1 Mécanisme des CEP

La technologie des champs électriques pulsés (CEP) est un traitement émergent utilisé comme un prétraitement des substrats pour l'intensification de procédés extractifs et la pasteurisation à froid. Ainsi, dès la fin du 19^{ème} siècle, les électrotechnologies ont été employées pour une pasteurisation des produits laitiers par chauffage ohmique. En 1949, le champ électrique a été adopté pour faciliter l'extraction du jus en augmentant la perméabilité des fruits. Depuis les années 1960, la technologie électrique a été systématiquement étudiée sous forme impulsionnelle (CEP) pour la débactérisation des produits alimentaires [112]. En vue de la maîtrise du procédé, Hülshager *et al.* (1983) [184] ont développé un premier modèle mathématique regroupant les paramètres importants du procédé de CEP pour estimer les cinétiques de destruction microbienne.

Le procédé de traitement par CEP consiste à soumettre un produit ayant une structure cellulaire (bactéries, tissus végétaux, *etc.*) avec des champs électriques dits modérés ($400 \text{ V} - 2500 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$) jusqu' à des champs de très intensité ($15 - 50 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$), de manière répétée (pulsée) et pendant un temps de traitement très court (de l'ordre de la microseconde). Cet effet entraîne l'augmentation du potentiel transmembranaire (U_m) de la membrane cellulaire [185], qui est connu pour y permettre la formation d'ouvertures nanométriques et faciliter, ainsi, les procédés d'extraction et de débactérisation. Ce descriptif a été enrichi par la théorie dit du « pore critique » décrite par Weaver et Chizmadzhev (1996) [186].

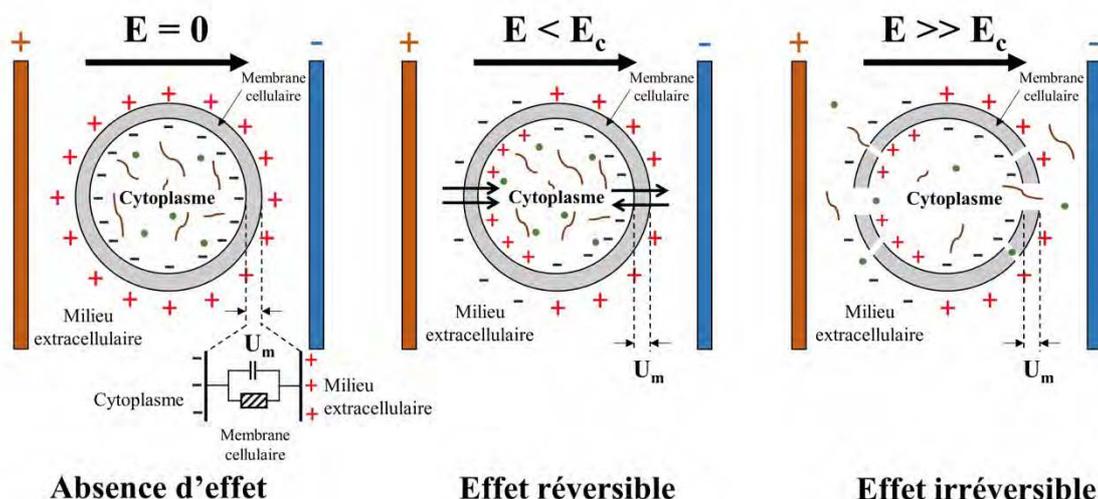


Figure I-9 Changements dans une membrane cellulaire soumise à un champ électrique (figure adaptée de Barsotti et Cheftel, 1999 [185]).

La **Figure I-9** illustre que ce potentiel transmembranaire est défini comme la différence de potentiel électrique entre les milieux intracellulaire et extracellulaire. La membrane, selon le modèle électromécanique, est considérée comme un condensateur ayant une faible constante diélectrique. Lorsqu'elle est exposée à un champ électrique, l'attraction entre les charges opposées des deux côtés de la membrane induit un amincissement de la membrane. Par suite, cet amincissement provoque à son tour l'attraction électrostatique. À un moment et pour un endroit donnés, l'électrocompression va dépasser le module élastique de la membrane. Une rupture locale de la membrane avec formation de pores a alors lieu. S'il dépasse une valeur critique ($U_c = 0,7 - 1,1$ V, qui dépend de la température, selon Zimmermann, 1986 [187]), une rupture permanente de la membrane cellulaire peut être obtenue par ces forces électrocompressives.

Le potentiel transmembranaire de la cellule sous CEP peut être calculé selon l'**Équation I-2**:

$$U_m = k \cdot d_c \cdot E \cdot \cos\theta \quad \text{Équation I-2}$$

où k (–) est le facteur de la forme de la cellule microbienne étudiée, d_c (cm) est la longueur ou le diamètre caractéristique du microorganisme considéré, E ($\text{kV} \cdot \text{cm}^{-1}$) est l'intensité du champ électrique appliquée et θ (rad) est l'orientation du champ électrique. À partir de cette équation, on constate : (i) que plus une cellule sera grande, plus elle est sensible aux CEP ; (ii) les pores ont tendance à se situer à l'équateur de la cellule ($\cos \theta = 1$).

La **Figure I-10** montre le phénomène d'électroperméabilisation à l'échelle de la molécule d'une cellule soumise aux champs électriques pulsés. La formation des pores par CEP au niveau de la membrane cellulaire est composée de 3 étapes [188] :

a) **Électroporation** : le champ électrique entraîne la formation de pores dans la bicouche lipidique, représentée ici en deux étapes.

- Dans un premier temps, les molécules d'eau pénètrent dans la bicouche et forment ainsi un pore hydrophobe instable ;
- Les têtes polaires des lipides adjacents se réorientent ensuite vers ces molécules d'eau en formant ainsi un pore hydrophile métastable.

b) **Modification chimique** : les réactions chimiques induites par CEP telles que la peroxydation déforment les queues des lipides membranaires et ainsi augmentent la perméabilité de la bicouche à l'eau, aux ions et aux petites molécules.

c) **Modulation des protéines membranaires** : un canal « *voltage-dépendant* » est formé grâce à la modulation de la fonction des protéines membranaires. Cela permet de renforcer l'électroperméabilisation en laissant passer les molécules plus grandes.

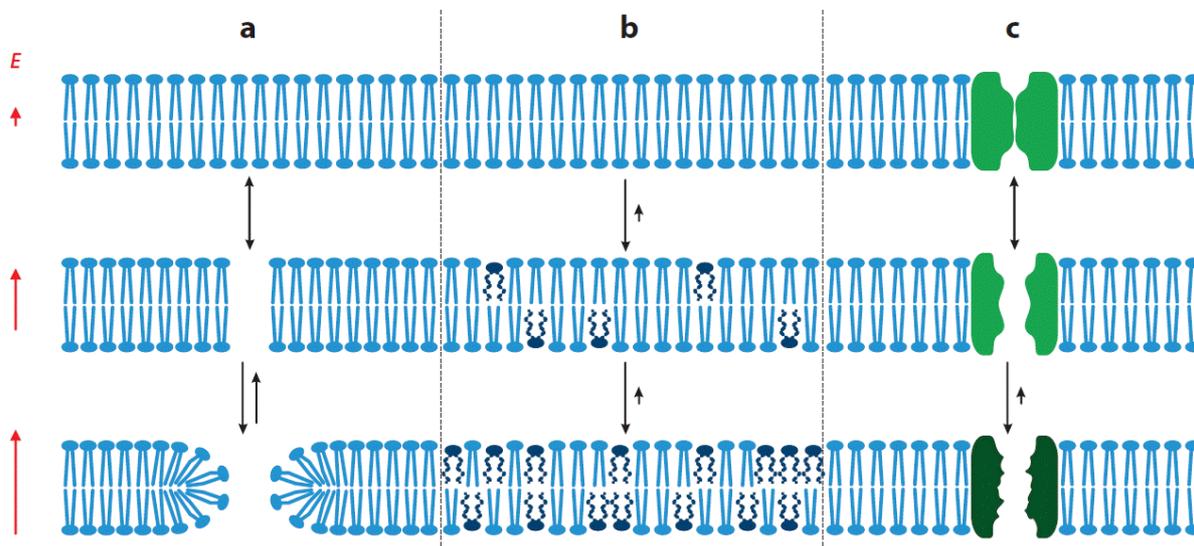


Figure I-10 Schéma conceptuel des mécanismes d'électroperméabilisation à l'échelle moléculaire. Figure extraite de Kotnik *et al.* (2019) [188] avec autorisation de reproduction d'*Annual Reviews*, Copyright (2019).

L'intensité du champ électrique externe (E) est un paramètre clé pour atteindre ce potentiel critique. Elle est définie par l'Équation I-3 :

$$E = U/d \quad \text{Équation I-3}$$

où U (kV) est la tension électrique appliquée et d (cm) est la distance entre deux électrodes de la cellule de traitement CEP.

Le traitement par CEP consiste en une application de tensions non continues (pulsées) comme le montre la Figure I-11. Un traitement CEP est également caractérisé par un temps effectif de traitement, calculé selon l'Équation I-4. C'est le temps effectif pendant lequel l'échantillon reçoit effectivement les impulsions de champs électriques :

$$t_{CEP} = N \cdot n_i \cdot \tau = N \cdot f \cdot t_{train} \cdot \tau = f \cdot t_{tot} \cdot \tau \quad \text{Équation I-4}$$

où t_{CEP} (ms ou μ s) est le temps effectif du traitement par CEP, N (-) est le nombre de trains appliqués, n_i (-) est le nombre d'impulsions envoyées par train, τ (μ s) est la durée d'une seule impulsion, f (Hz) est la fréquence de répétition, t_{train} (s) est le temps réel de traitement par un train et t_{tot} (s) est le temps réel total de traitement.

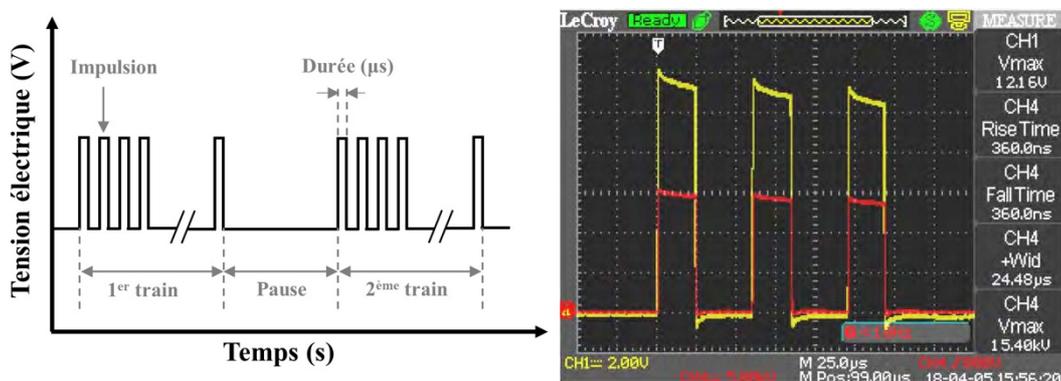


Figure I-11 À gauche, schéma caractéristique illustrant les paramètres d'un traitement CEP. À droite, enregistrement lors d'un traitement réel. Rouge : tension de sortie ; Jaune : courant dans la charge de test (ITHPP, Thégra, France).

En plus des paramètres électriques mentionnés ci-dessus, la forme des impulsions joue également un rôle important au niveau de l'efficacité du traitement. La Figure I-12 en donne deux exemples.

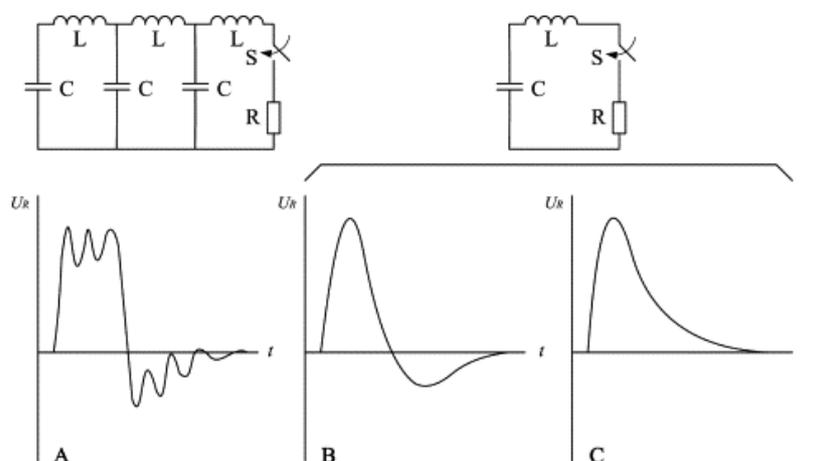


Figure I-12 Formes typiques des impulsions (en bas) en fonction de la configuration du circuit électrique (en haut). A) forme carrée, B) et C) formes exponentielles. Figure extraite de Roodenburg *et al.* (2005) [189] avec autorisation de reproduction d'Elsevier, Copyright (2019).

La forme de l'impulsion résulte de la conception des générateurs de CEP. Ils sont généralement composés d'un générateur électrique de haute tension, d'un sous-système pour la génération des impulsions envisagées et d'une chambre de traitement contenant les produits à traiter (**Figure I-13**). Les systèmes qui génèrent des impulsions exponentielles sont meilleur marché que ceux destinées aux impulsions carrées mais ces dernières permettent de délivrer une plus grande densité d'énergie [190].

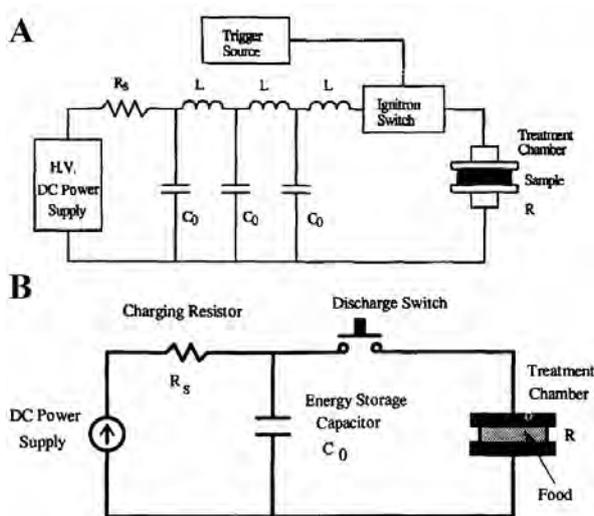


Figure I-13 Deux circuits électriques simplifiés pour la génération d'impulsions. A) formes carrée et B) formes exponentielle. Figures extraites de Zhang *et al.* (1995) [190] avec autorisation de reproduction d'Elsevier, Copyright (2019).

I.4.2 Débactérisation par CEP

I.4.2.1 Effet sur la flore microbienne

Dans la **Figure I-14**, sont présentées des photographies réalisées en microscopie électronique à transmission de cellules de *Saccharomyces cerevisiae* et *Lactobacillus brevis*, traitées ou non par CEP. On peut observer une séparation entre la membrane et la paroi cellulaire et une structure cytoplasmique dénaturée de la cellule traitée par CEP. Une fuite des matériels intracellulaires, due à la lyse cellulaire, a ainsi conduit à la mort du microorganisme.

De nombreux produits alimentaires ont été étudiés au niveau de la pasteurisation à froid réalisée par CEP, comme les jus de fruit, le concentré de tomate, la purée de fruit, la sauce spaghetti avec morceaux de viande, les yaourts, les confitures, les boissons, le vin, les œufs entiers, les sirops, les laits entier ou écrémé, la viande hachée, *etc.* Certains articles de synthèse ont compilé les effets des CEP sur l'inactivation de divers microorganismes dans différents produits.

Qin *et al.* (1995) [191] ont résumé l'impact des CEP sur l'inactivation de levure *Saccharomyces cerevisiae* dans le jus de pomme. Les auteurs y discutent, en particulier, de la consommation énergétique des CEP pour une réduction de 6 log₁₀ de *S. cerevisiae*.

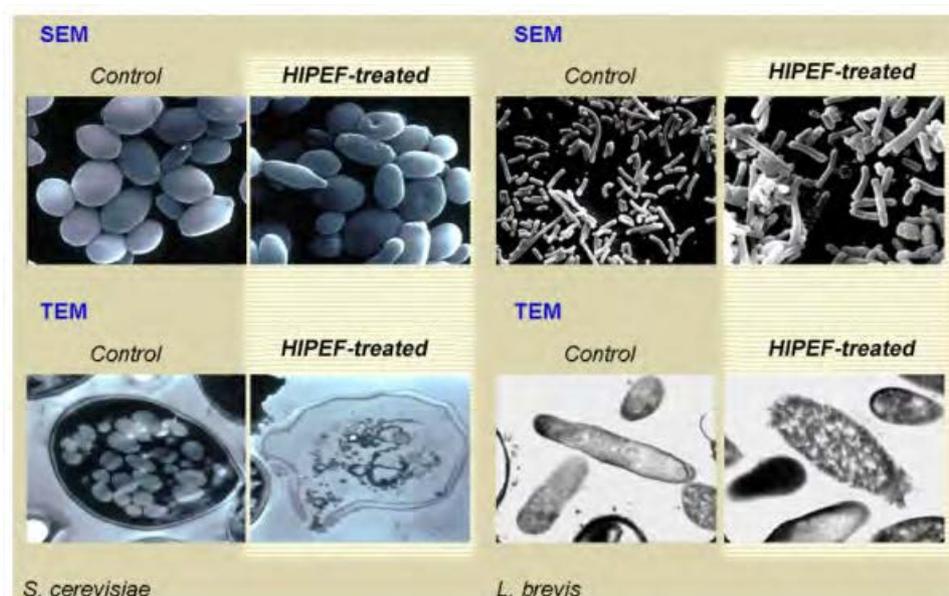


Figure I-14 Comparaison de cellules de *Saccharomyces cerevisiae* et *Lactobacillus brevis* avant et après traitement par CEP. *Control* : sans traitement ; *HIPEF-treated* : avec traitement CEP à haute intensité. *SEM* : microscopie électronique à balayage ; *TEM* : microscopie électronique à transmission. Figures extraites d'Elez-Martínez *et al.* (2004 & 2005) [192,193] avec autorisation de reproduction d'*International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians* et d'*Elsevier*, Copyright (2019).

Zhang *et al.* (1995) [190] et Barsotti & Cheftel (1999) [185] se sont focalisés, respectivement, sur le dimensionnement des systèmes de CEP et sur les aspects biologiques en liaison avec l'efficacité de l'inactivation des levures, des bactéries de type « Gram négatif » ou « Gram positif ». Leurs travaux ont porté sur les milieux de culture artificiels, les jus de fruit, le lait et les ovo-produits. Mosqueda-Melgar *et al.* (2008) [194] et Pan *et al.* (2017) [195] ont plus récemment complétés cette série d'études.

Jeyamkondan *et al.* (1999) [196] et Ho & Mittal (2000) [197] ont introduit des connaissances fondamentales liées au traitement CEP, notamment concernant le développement des matériels expérimentaux, de la conception de la chambre de traitement et de la modélisation des courbes de destruction microbienne.

Rastogi (2003) [198] a réalisé un état de l'art de la technologie CEP et évalué son potentiel pour d'autres procédés industriels comme le séchage, l'extraction, la déshydratation osmotique et la réhydratation des produits alimentaires.

Pour les produits alimentaires, le Département de l'Agriculture des États-Unis (US DA) [199] a établi et publié des critères relatifs aux méthodes alternatives équivalentes à la pasteurisation thermique, dont les CEP.

Gerlach *et al.* (2008) [200] et Huang & Wang (2009) [201] ont compilé les travaux sur la modélisation numérique de la distribution du champ électrique dans diverses chambres de traitement pour optimiser l'efficacité du traitement par CEP.

Wang *et al.* (2018) [113] ont rédigé une synthèse concernant l'effet sublétal des cellules traitées par CEP. Dans leur travail, les mécanismes protecteurs et métaboliques impliqués sont résumés. En outre, sont discutées en détail, certaines technologies, qui peuvent être combinées aux CEP pour renforcer l'effet de débactérisation.

D'autres synthèses traitent de la question de la pasteurisation à froid des produits laitiers, des végétaux, des œufs et de la viande [202–206]. Quelques ouvrages du génie alimentaire ont également regroupé des informations intéressantes sur l'utilisation de cette nouvelle technologie à des fins de débactérisation non thermique et de l'amélioration des procédés d'extraction [112,186,207–209].

I.4.2.2 Paramètres influençant l'efficacité de la pasteurisation assistée par CEP

✓ Paramètres microbiologiques

- Nature du microorganisme cible

La majorité des microorganismes n'est pas affectée par les CEP si l'intensité du champ électrique est faible ($E < 10 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) en considérant que cela ne conduit pas à un potentiel transmembranaire suffisant pour la lyse des cellules. Une intensité de champ électrique plus élevée ($E = 15 - 50 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) est nécessaire afin de réaliser la désinfection des produits. Ici, on introduit la notion d'un paramètre champ électrique critique (E_c). Il correspond à la valeur du champ électrique au-delà de laquelle on observe une destruction significative des microorganismes indicateurs.

La **Figure I-15** montre que ce champ critique théorique dépend de la souche microbienne, de la forme des cellules et de leurs tailles. On constate que les levures sont moins résistantes que les bactéries. De plus, les bactéries de type « Gram positif » (G+) sont plus résistantes aux CEP que celles de type « Gram négatif » (G-) [113]. La forme de la cellule bactérienne (sphères, bâtonnets) peut également avoir un impact sur le champ critique.

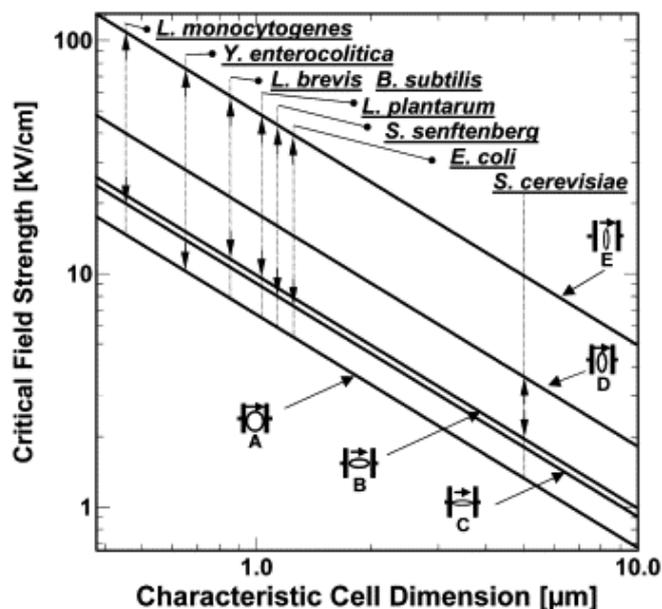


Figure I-15 Champ électrique critique en fonction de la taille des cellules de microorganismes. A à E : différentes formes de cellules et de leurs orientations dans le champ électrique. Figure extraite de Heinz *et al.* (2001) [210] avec autorisation de reproduction d'Elsevier, Copyright (2019).

- *Charge initiale*

Les résultats dans la littérature montrent l'effet contradictoire de la charge initiale sur le taux de l'inactivation des microorganismes cibles dans les produits alimentaires traités par CEP. Certaines études indiquent que l'inactivation microbienne ne dépend pas de la concentration initiale en microorganismes [211,212]. D'autres études concluent que l'inactivation microbienne est inversement corrélée à la concentration cellulaire initiale [213–216]. Les chercheurs émettent l'hypothèse d'un mécanisme de protection dû à la formation d'agrégats de cellules bactériennes. Les cellules microbiennes à l'intérieur des agrégats peuvent être protégées par les couches externes de cellules. L'intensité de champ électrique subit est donc hétérogène. Certaines cellules peuvent ne jamais être inactivées sous une certaine intensité de champ électrique, même si plus d'impulsions sont appliquées. Contrairement à leurs résultats, d'autres études [217,218] montrent que le taux d'inactivation de *L. brevis* et *S. cerevisiae* a été renforcé lorsque la charge initiale de bactéries a augmenté. L'hypothèse est, que selon la théorie du champ électrique critique proposée par Ziermann (1986) [187] (cf. **Section I.4.1**), la formation des agrégats conduit à un plus grand diamètre lors de l'exposition aux CEP, qui diminue le potentiel transmembranaire critique pour la destruction cellulaire.

- *Phase physiologique*

Les études trouvent que les bactéries en phase de croissance logarithmique sont plus sensibles au traitement CEP que celles en phase stationnaire [219–221]. Les microorganismes incubés à 4 °C sont moins tolérants aux CEP que ceux incubés à 35 °C, quelle que soit leur phase physiologique [220].

- ✓ **Paramètres électriques**

- *Intensité du champ électrique*

La réduction microbienne est renforcée lorsqu'on augmente l'intensité du champ électrique appliquée (E). Huang *et al.* (2013) [222] relatent que la réduction de la souche *S. cerevisiae* dans le vin de riz est de $\sim 1 \log_{10}$ pour $12 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ contre $\sim 4,5 \log_{10}$ pour $21 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Masood *et al.* (2018) obtiennent un taux d'inactivation de la souche *E. coli* de moins de $1 \log_{10}$ à $10 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ et plus de $5 \log_{10}$ à $20 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ dans un tampon citrique-phosphate [223].

- Temps effectif du traitement CEP

Le temps effectif de traitement CEP (t_{CEP}) est le produit du nombre d'impulsions et la durée d'impulsion comme le montre l'**Équation I-4** dans la précédente section. Ce paramètre permet de calculer le temps effectif pendant lequel l'échantillon reçoit les impulsions des champs électriques. Il est admis que le taux d'inactivation microbienne augmente lorsque le temps effectif est prolongé [222]. Par contre, cette corrélation n'est pas forcément linéaire [224].

- Durée d'impulsion (largeur d'impulsion)

La durée d'impulsion (τ , généralement entre 1 et 100 μs [225]) est définie comme le temps nécessaire pour réduire, lors du retour à 0, la tension appliquée à 37% de sa valeur de crête [190]. Pour même temps effectif de CEP, la durée unitaire des impulsions a un effet limité sur l'efficacité de l'inactivation des microorganismes [224]. Les études montrent qu'aucune influence significative ne peut être identifiée quand on augmente la durée d'impulsion pour l'inactivation de *Listeria innocua* dans du tampon phosphate ($\tau = 2, 3$ et $3,9 \mu\text{s}$) [226], pour *Yersinia enterocolitica* dans le tampon citrique-phosphate ($\tau = 1 - 15 \mu\text{s}$) [227] et pour *Lactobacillus plantarum* dans les boissons à base de lait et de jus d'orange ($\tau = 2,5 - 4 \mu\text{s}$) [228].

- Fréquence d'impulsion

Evrendilek et Zhang (2005) [229] ont étudié l'effet de différents intervalles entre deux impulsions (3, 5, 20, 80, 200, 500, 100 et 1 430 μs) sur l'inactivation d'*E. coli* O157 : H7. Ils ont trouvé que l'intervalle inter-impulsion de 20 μs était la meilleure condition pour l'inactivation de cet agent pathogène dans le jus de pomme et le lait écrémé, étant donné que, lorsque la durée entre deux impulsions est vraiment courte (haute fréquence), le fluide considéré comme un condensateur n'a pas eu le temps de se décharger et de se recharger. Il est également possible qu'aux faibles fréquences, l'intervalle de temps entre deux impulsions ait été tellement long que les cellules bactériennes n'aient pas été suffisamment stressées par les CEP.

Picart *et al.* (2002) [230] ont modifié la fréquence de répétition de 1,1 à 100 Hz et montrent que pour une même énergie délivrée ($900 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$), une réduction de $1,7 \log_{10}$ de *L. innocua* a été obtenue à 100 Hz contre $0,67 \log_{10}$ à 1,1 Hz.

- Forme des impulsions

Comme évoqué dans la **Section I.4.1**, il existe principalement deux formes d'impulsion : l'impulsion exponentielle et l'impulsion carrée. Zhang *et al.* (1995) [190] constatent que, d'une

part, pour le premier type, l'existence d'une longue « queue » avec un champ électrique effectif faible, génère un excès de chaleur dans les produits traités sans effet bactéricide. D'autre part, les impulsions carrées maintiennent une tension de crête plus longue que les impulsions exponentielles et sont donc énergétiquement plus efficaces. Une autre étude, des mêmes auteurs, constate que l'efficacité énergétique des générateurs est de 64% pour la forme exponentielle et de 91% pour la forme carrée [213].

○ *Énergie spécifique délivrée*

La loi d'Ohm (l'**Équation I-5**) établie la liaison de la résistance électrique (R), la tension électrique (U) et l'intensité du courant électrique (I).

$$R = U / I = d / (S_r \cdot \sigma) \quad \text{Équation I-5}$$

où d (m) est la distance entre deux électrodes, S_r (m²) est la section du passage de courant électrique et σ (S·m⁻¹) est la conductivité électrique.

L'énergie délivrée par CEP par rapport au volume d'échantillon traité est calculé selon les équations suivantes [213].

$$W_{CEP} = \int_0^{t_{CEP}} \frac{U \cdot I}{V} dt \quad \text{Équation I-6}$$

où W_{CEP} (J·mL⁻¹) est l'énergie spécifique envoyée par CEP et V (mL) est le volume d'échantillon traité.

On applique la loi d'Ohm (l'**Équation I-5**):

$$W_{CEP} = \int_0^{t_{CEP}} \frac{U^2}{R \cdot V} dt = \int_0^{t_{CEP}} \frac{U^2}{\frac{d}{S_r \cdot \sigma} \cdot V} dt = \int_0^{t_{CEP}} \frac{U^2 \cdot S_r \cdot \sigma}{d \cdot V} dt$$

$$W_{CEP} = \int_0^{t_{CEP}} \frac{U^2 \cdot S_r \cdot d \cdot \sigma}{d^2 \cdot V} dt \quad \text{Équation I-7}$$

Étant donné que l'intensité du champ électrique $E = U / d$ et que le volume d'échantillon traité $V = S_r \cdot d$, l'énergie spécifique délivrée par les CEP peut donc être calculée à partir de l'équation suivante (l'**Équation I-8**) :

$$W_{CEP} = \int_0^{t_{CEP}} E^2 \cdot \sigma dt \quad \text{Équation I-8}$$

Si l'on développe encore l'équation ci-dessus en remplaçant le temps effectif CEP (t_{CEP}) par l'Équation I-4, on obtient :

$$W_{CEP} = E^2 \cdot \sigma \cdot f \cdot t_{tot} \cdot \tau = E^2 \cdot \sigma \cdot N \cdot f \cdot t_{train} \cdot \tau \quad \text{Équation I-9}$$

où W_{CEP} ($J \cdot mL^{-1}$) est l'énergie spécifique envoyée par CEP, E ($V \cdot m^{-1}$) est l'intensité du champ électrique appliquée, σ ($S \cdot m^{-1}$) est la conductivité électrique, t_{tot} (s) est le temps total réel de traitement CEP, N (–) est le nombre de trains appliqués, τ (s) est la durée d'une seule impulsion, f (Hz) est la fréquence de répétition et t_{train} (s) est le temps réel de traitement par un train.

Cette énergie spécifique regroupe les paramètres opératoires d'un traitement CEP et permet d'évaluer la consommation d'énergie électrique du procédé. Il est recommandé que ce paramètre, accompagné de l'intensité du champ électrique appliquée, soit présenté avec les résultats obtenus afin que l'on puisse réaliser la comparaison des résultats entre travaux utilisant des paramètres et équipements différents [231].

La Figure I-16 donne un exemple de l'effet de l'énergie spécifique délivrée par CEP sur l'abattement des souches *Salmonella Typhimurium* et *Staphylococcus aureus* dans de l'œuf entier liquide. On constate que les microorganismes réagissent d'une façon différente au traitement CEP pour différentes énergies spécifiques.

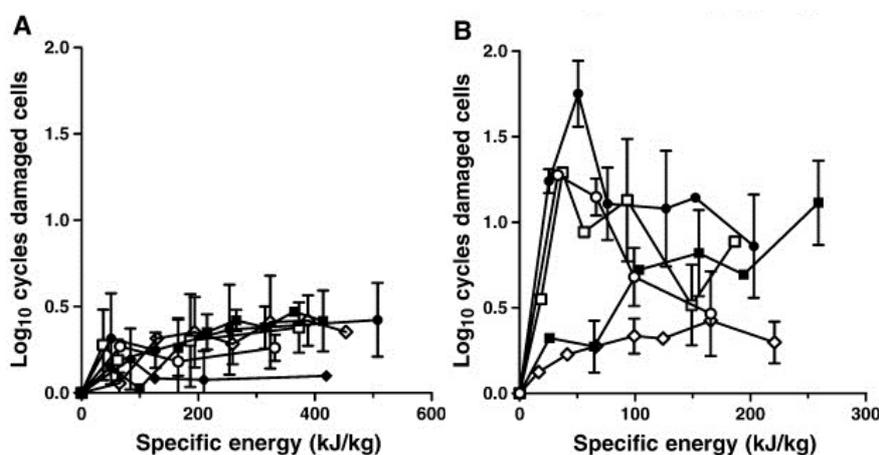


Figure I-16 Abattement de cellules de A) *Salmonella Typhimurium* B) *Staphylococcus aureus*, endommagées après traitements par CEP à différentes intensités de champ et énergies spécifiques dans l'œuf entier liquide. 20 $kV \cdot cm^{-1}$ (\diamond); 25 $kV \cdot cm^{-1}$ (\blacksquare); 30 $kV \cdot cm^{-1}$ (\square); 35 $kV \cdot cm^{-1}$ (\bullet); 40 $kV \cdot cm^{-1}$ (\circ); 45 $kV \cdot cm^{-1}$ (\blacklozenge). Figure extraite de Monfort *et al.* (2010) [232] avec autorisation de reproduction d'Elsevier, Copyright (2019).

✓ Paramètres physico-chimiques

- *Conductivité électrique, osmolarité et activité d'eau du milieu*

La conductivité électrique caractérise la capacité des charges électriques à se déplacer librement dans une solution d'électrolytes. Elle est un paramètre indirect de la teneur en ions présents dans un milieu. Une basse conductivité électrique correspond à une basse concentration en ions et conduit donc à un stress osmotique des microorganismes en suspension. D'après l'**Équation I-8**, il est admis que l'énergie spécifique délivrée par le procédé augmente quand on augmente la conductivité électrique du milieu.

L'osmolarité du milieu est la mesure directe de la pression osmotique d'une solution. Cela permet la caractérisation de la diffusion des solvants à travers la membrane cellulaire du microorganisme [231]. L'osmolarité d'un liquide cytoplasmique varie autour de 300 mOsm·L⁻¹ pour la plupart des êtres vivants. Une diminution de la pression osmotique externe (basse osmolarité du milieu) provoque un afflux d'eau et un gonflement ou même une lyse cellulaire, alors qu'une augmentation de la pression osmotique externe (haute osmolarité du milieu) provoque une déshydratation. Ces flux d'eau perturbent presque instantanément de nombreuses propriétés cellulaires [233].

L'activité d'eau (a_w) cytoplasmique est une fonction de la pression osmotique du milieu. La majorité de bactéries ne peuvent pas survivre pour des activités d'eau trop faibles [224]. Par contre, une activité d'eau relativement basse (ex. $a_w = 0,93 - 0,94$) confère un effet protecteur aux bactéries par rapport au traitement CEP [227,234]. La présence de substances chimiques non électrolytes comme saccharose, glycérol dans les produits à traiter peut réduire l'activité d'eau [235] et donc influencer sur la performance de la pasteurisation par CEP. Aronsson et Rönner (2001) expliquent ce phénomène par le rétrécissement des cellules induit à basse a_w ce qui provoquerait un épaississement de la membrane cellulaire, suivi par une perméabilité et une fluidité réduites de la membrane. La réduction de taille cellulaire aussi augmente le champ critique (E_c) qu'il faut atteindre par le traitement pour une inactivation significative des microorganismes cibles [234].

Le stress osmotique, qui impact l'état physiologique, diminue la résistance des bactéries au traitement CEP [236–238].

- *Composition chimique*

Comme évoqué dans le précédent paragraphe, la présence de certaines substances non-électrolytiques peut baisser l'activité d'eau et protéger des microorganismes de l'effet d'électroporation. La composition chimique des produits à traiter est donc un paramètre non négligeable pour évaluer l'efficacité de débactérisation par CEP. Il est prouvé que cet effet a été identifié pour le traitement des produits riches en protéines (ex. lait écrémé) [239], en lipides (ex. lait entier) [240] ou en polysaccharides (ex. gomme de xanthane) [237]. Par contre, des remarques contradictoires ont été rapportées : un effet protecteur non significatif pour l'inactivation d'*E. coli*, *L. monocytogenes*, *L. innocua* dans de la crème (émulsion d'huile dans l'eau), de l'ovalbumine et du lait écrémé [241–243]. Ces résultats contradictoires implique que lorsque l'on compare l'efficacité de pasteurisation par CEP issue de différentes publications, il faut tenir compte de tous les paramètres biotiques et abiotiques comme les microorganismes cibles, les conditions opératoires étudiées, la composition chimique des produits traités, *etc.* [231].

- *pH du milieu*

Différentes valeurs de pH peuvent provoquer le stress cellulaire des bactéries ce qui a un effet synergique avec les CEP sur l'inactivation microbienne. Il convient de noter que le pH du milieu de traitement détermine la survenue cellulaire de la lésion sublétales, qui varie en fonction du microorganisme étudié : les bactéries à Gram négatif présentent une résistance aux CEP plus élevée dans des conditions acides qu'à pH neutre. Ce phénomène peut être expliqué par la capacité de réparation des membranes cytoplasmiques endommagées. Dans les cellules à Gram positif, l'inverse est vrai : à pH neutre, une résistance renforcée aux CEP a été détectée. Ces résultats indiquent que le mécanisme d'inactivation microbienne pourrait ne pas être exactement le même, en fonction du microorganisme étudié et du pH du milieu de traitement [244].

- *Température du traitement*

Il est admis que la température du traitement joue un rôle important dans la pasteurisation par CEP, même pour les températures légèrement élevées (< 50 °C) auxquelles aucun effet de l'inactivation des microorganismes ne peut être obtenu par le traitement thermique conventionnel. Plusieurs travaux ont rapporté cet effet synergique. Huang *et al.* (2013) [245] ont testé l'effet de la température du vin de riz (25, 30 et 35 °C) sur l'inactivation de la levure *S. cerevisiae* et trouvé qu'une réduction de plus de 5,5 log₁₀ a été obtenue à 30 et

35 °C par rapport à 4,5 log10 à 25 °C après un traitement par CEP à $E = 21 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour $t_{CEP} = 180 \text{ }\mu\text{s}$. Dans l'étude de Walking-Ribeiro *et al.* (2011) [246], les auteurs ont constaté une réduction de 3,8 log10 à $E = 35 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour $t_{CEP} = 574 \text{ }\mu\text{s}$ dans la bière à 15 °C. Masood *et al.* (2018) [223] ont également rapporté l'effet synergique entre une température modérée et l'intensité du champ électrique dépassant le seuil critique (E_c) pour la destruction d'*E. coli* dans le tampon citrique-phosphate. La température peut influencer l'efficacité du traitement par modification des propriétés physico-chimiques du milieu (conductivité électrique, viscosité, *etc.*) et celles de la membrane cellulaire des microorganismes.

I.4.2.3 Effet sur l'inactivation des spores

Par définition, la pasteurisation thermique n'a aucun effet sur l'inactivation des spores bactériennes. Il en va de même pour les traitements par CEP qui ne sont pas supposés endommager les parois de spores. Néanmoins, quelques études présentent un effet positif, sur l'élimination de spores bactériennes, d'un traitement intensif par CEP (soit pendant un temps de traitement prolongé, soit pour une haute intensité du champ électrique, soit pour un traitement combiné avec une température élevée du milieu) [247–249]. La **Figure I-17** donne un exemple du dommage des spores conduit par un traitement de 10 000 impulsions. Le mécanisme physique à l'origine de ces observations reste à ce jour inexpliqué.

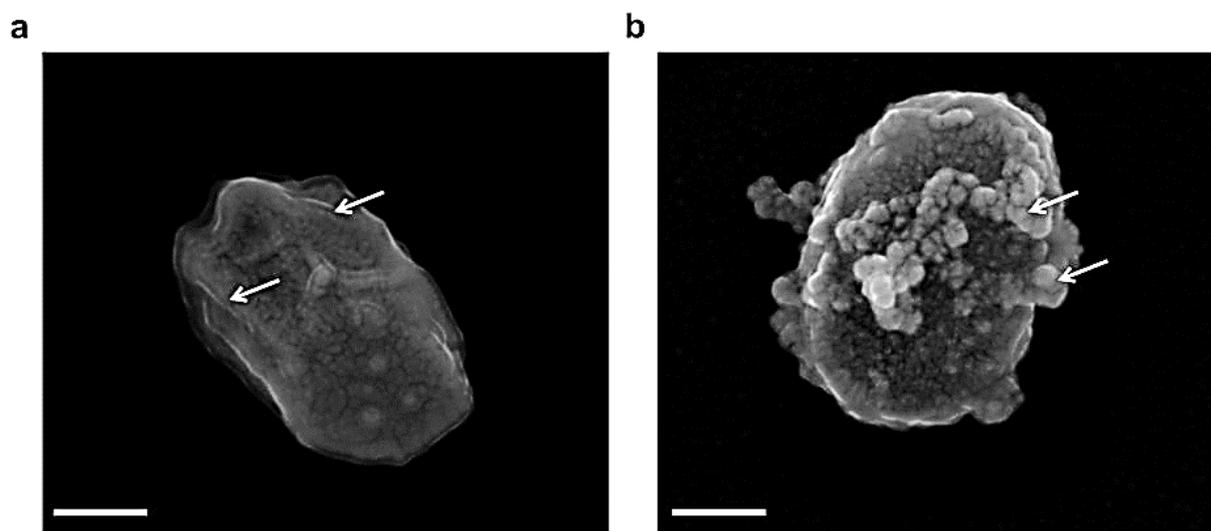


Figure I-17 Spores de *Bacillus pumilus* a) intactes b) traitées par 10 000 impulsions à $7,5 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, visualisées par microscope électronique à balayage. Barre d'échelle : 250 nm.

Figure extraite de Pillet *et al.* (2016) [249] avec autorisation de reproduction sous licence CC BY 4.0.

I.4.3 Commercialisation du procédé

L'adoption commerciale de la pasteurisation par CEP a commencé au début des années 2000. La société *Genesis Juice Corporation* a introduit pour la première fois un jus de fruit pasteurisé par CEP dans le marché américain en 2005, après l'accord de la *Food and Drug Administration* des États-Unis (US FDA) pour l'emploi de ce procédé alternatif à la place de la pasteurisation thermique pour leurs produits alimentaires. L'équipe de recherche de l'Université d'État de l'Ohio a participé à la conception et la fabrication du système de traitement par CEP à l'échelle industrielle (2000 L·h⁻¹) [250].

La société *Diversified Technologies, Inc.* a développé un système CEP à l'échelle pilote qui permettait de traiter 100 – 500 L·h⁻¹ de produits liquides en continu. Ce pilote a été fourni à plusieurs laboratoires en Europe, Australie et aux États-Unis pour les études de recherche et les projets de pré-production industrielle [250].

Une installation d'équipements CEP à grande échelle a été réalisée dans une station d'épuration aux États-Unis (*Mesa Northwest Water Reclamation Plant*, Arizona, USA). Le projet a été porté par la société *OpenCEL*[®] qui a développé une unité du traitement *Focused Pulsed* pour le prétraitement de boues activées avant méthanisation [152].

En Europe, la première commercialisation de la pasteurisation par CEP a été réalisée par l'entreprise *Hoogesteger* aux Pays-Bas. En 2012, ce leader européen du jus de fruit a intégré un système CEP dans son procédé de pasteurisation [251]. Cela a permis une extension de la durée de conservation jusqu'à 21 jours pour les jus de fruit. Ce projet a été réalisé par la société allemande *Elea Technology* à Quakenbrück [252]. En outre, il existe plusieurs installations à l'échelle pilote en Allemagne et en France pour l'intensification des procédés d'extraction à partir de marcs de raisin et de betteraves à sucre. Les CEP sont également utilisés dans d'autres industries de transformation des produits alimentaires comme la pomme de terre [253].

I.5 Microorganismes indicateurs caractérisant l'efficacité du traitement

I.5.1 Critères de sélection

Les biodéchets contiennent une grande variété de microorganismes, pathogènes ou non. Au cours du traitement d'hygiénisation, nous ne pouvons pas retracer l'évolution du dénombrement microbien de toutes les espèces de bactéries inactivées. Par conséquent, la

sélection de certains types de bactéries comme indicateurs est donc nécessaire pour caractériser l'efficacité de pasteurisation du procédé d'hygiénisation.

Il est crucial d'établir un critère sélectif pour un choix pertinent de la bactérie indicatrice. D'après la norme européenne UE N° 142/2011, il faut que le microorganisme indicateur soit :

- systématiquement présent en grand nombre dans les matières à étudier,
- ne pas être moins thermorésistant aux aspects létaux du procédé de conversion, sans toutefois y être beaucoup plus résistant que les agents pathogènes qu'il sert à contrôler,
- relativement facile à quantifier, à identifier et à confirmer.

L'étude de Sahlström (2003) [63] ajoute qu'un indicateur doit être non pathogène. Sobsey *et al.* (2006) [42] ont proposé que les indicateurs doivent présenter un temps de survie similaire aux agents pathogènes et soient distribués aléatoirement dans l'échantillon à étudier. (Figure I-18).

Le **Tableau I-6** présente plusieurs exemples de microorganismes indicateurs utilisées dans la caractérisation des biodéchets.

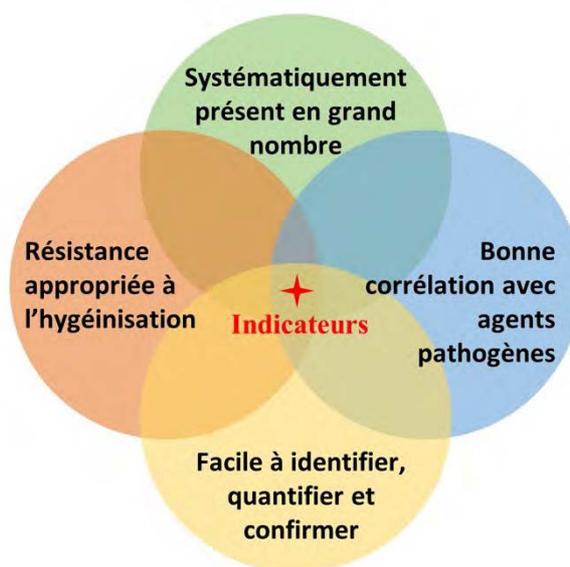


Figure I-18 Quatre facteurs principaux pour le choix des microorganismes indicateurs.

Tableau I-6 Quelques exemples de microorganismes indicateurs recommandés pour la caractérisation le procédé hygiénisation dans les biodéchets [42,63,254].

Organisme	Coloration de Gram	Commentaires
Coliformes fécaux ou thermo-tolérants	G-	Entérobactéries comprenant <i>E. coli</i>
<i>Escherichia coli</i>	G-	Représente plus de 90% des coliformes fécaux Indicateur de contamination fécale et d'efficacité de traitement
Entérocoques intestinaux	G+	Indicateurs de contamination fécale et d'efficacité de traitement Plus résistants aux procédés de traitement des effluents que <i>E. coli</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	G+	Bactérie formant des spores, utilisée comme indicateur d'efficacité de traitement. Plus résistante que les entérocoques aux procédés de traitement des effluents
Bactériophages (ex. coliphages)	-	Phages bactériens susceptibles de représenter le comportement de virus entériques lors du traitement des effluents

1.5.2 *Enterococcus faecalis*

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif pouvant se présenter séparément, par paires ou sous forme de chaînes courtes. *Enterococcus faecalis* (**Figure. I-19**), anciennement classée dans le système des streptocoques du groupe D (appelé *Streptococcus faecalis*, **Figure I-20**), est une espèce d'entérocoques commensale à Gram positif colonisant le tractus gastro-intestinal de l'homme et d'autres mammifères. Il appartient au même groupe que les souches *Ent. faecium*, *Ent. casseliflavus*, *Ent. mundtii* et *Ent. gallinarum* [255].

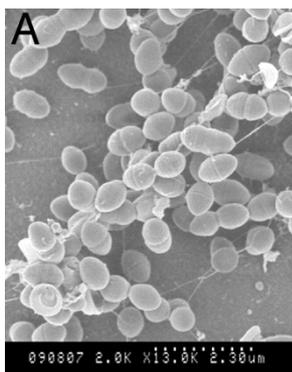


Figure I-19 Photographie d'*Enterococcus faecalis*, visualisée par microscope électronique à balayage, extraite de Kristich *et al.* (2007) [256] avec autorisation de reproduction de l'*US National Academy of Sciences*, Copyright (2019).

Ent. faecalis est un microorganisme non mobile qui fermente le glucose sans produire de gaz et qui est « catalase – » pour le peroxyde d'hydrogène. Il montre une croissance constante dans le bouillon nutritif, ce qui est cohérent avec le fait d'être un anaérobie facultatif. Les entérocoques survivent dans des environnements difficiles, notamment un pH extrêmement alcalin (pH = 9,6) et pour des concentrations en sel significatives. Ils sont plus résistants aux détergents, aux métaux lourds, à l'éthanol, aux azotures et à la dessiccation [255].

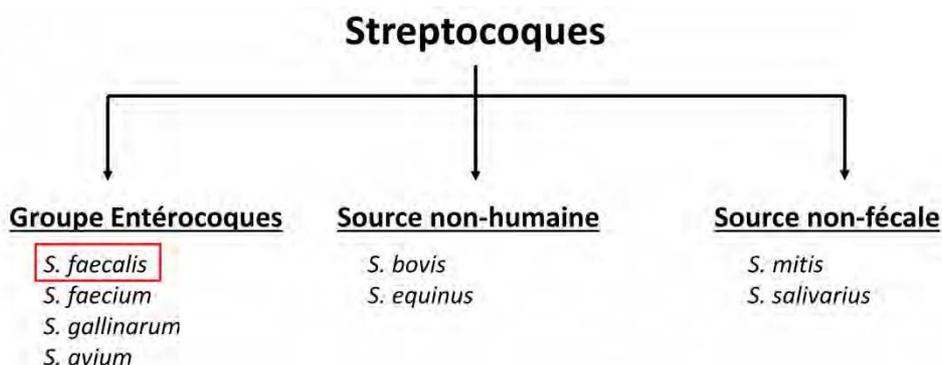


Figure I-20 Famille des Streptocoques [257,258].

Ent. faecalis a été largement étudié pour ses résistances à la pasteurisation thermique et non-thermique dans les produits alimentaires. Sa présence est corrélée significativement à *Listeria monocytogenes*. Comme évoqué dans la **Section I.2.1**, il a été retenu par la norme européenne UE N° 142/2011 comme le microorganisme indicateur pour caractériser l'efficacité d'un traitement alternatif autrement que l'hygiénisation thermique à 70 °C pendant une heure des sous-produits animaux.

I.5.3 *Escherichia coli*

E. coli (**Figure I-21**), est une bactérie coliforme du genre *Escherichia* qui est anaérobie facultative. On le trouve couramment dans l'intestin inférieur des organismes à sang chaud (endothermes) avec d'autres bactéries faisant partie de la famille *Enterobacteriaceae* (**Figure I-22**). La plupart des souches d'*E. coli* sont inoffensives, mais certains sérotypes (ex. *E. coli* O157:H7) peuvent provoquer de graves intoxications alimentaires chez leurs hôtes et sont parfois responsables de rappels de produits alimentaires. *E. coli* est expulsé dans l'environnement par les matières fécales.

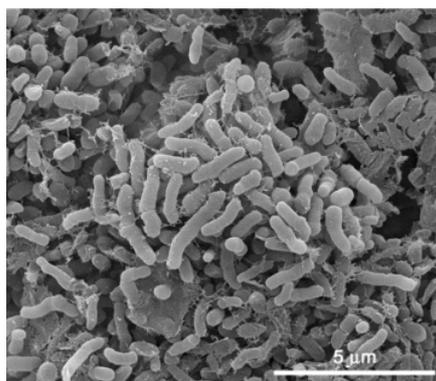


Figure I-21 Photographie d'*Escherichia coli*, visualisée par microscope électronique à balayage, extraite d'Annous *et al.* (2009) [259] avec autorisation de reproduction de *John Wiley and Sons*, Copyright (2019).

E. coli est le meilleur indicateur de contamination fécale pour les déchets humains et animaux. Dans les fèces humaines et animales, *E. coli* constitue 90 à 100% des organismes coliformes isolés. Dans les échantillons d'eaux usées et d'eaux contaminées, le pourcentage descend à 59% [258]. *E. coli* est fréquemment utilisée comme organisme modèle dans les études de microbiologie. Il a été l'un des premiers organismes à avoir son génome séquencé en 1997. Il est souvent utilisé comme bactérie indicatrice caractérisant la performance des procédés de débactérisation des produits alimentaires.

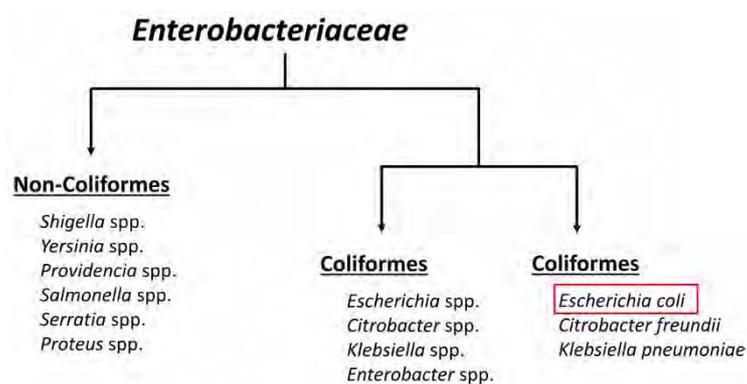


Figure I-22 Famille des *Enterobacteriaceae* [257,258].

I.6 Modélisation des courbes de destruction microbienne

I.6.1 Modélisation cinétique

La cinétique de destruction de microorganismes cibles se traduit par l'évolution de la réduction décimale de concentration microbienne en fonction du temps de traitement (l'Équation I-4) :

$$S(t) = \log_{10} \frac{N(t)}{N_0} \quad \text{Équation I-10}$$

où $S(t)$ (–) est la réduction décimale à l'instant t , $N(t)$ (UFC·mL⁻¹ ou NPP·mL⁻¹) est la concentration en microorganisme cible à l'instant t et N_0 (UFC·mL⁻¹ ou NPP·mL⁻¹) est la concentration en microorganismes cibles initiale.

Différents modèles mathématiques ont été développés dans la littérature pour une modélisation de la cinétique de destruction microbienne en fonction de l'allure des courbes et en s'appuyant sur différentes théories. Le **Tableau I-7** liste les six modèles principaux disponibles après une analyse bibliographique. Chaque modèle a ses propres particularités et contraintes d'application.

Le modèle réactionnel d'ordre un est utilisé pour une modélisation de courbes rectilignes (**Figure I-23 A**). Il suppose une population de microorganismes quasiment homogène du point de vue de sa résistance au traitement électrique [224].

Le modèle de Weibull (**Figure I-23 C**) considère une distribution du temps d'inactivation à l'échelle cellulaire. Cette répartition de la résistance cellulaire individuelle aux CEP conduit à différentes allures de cinétique de débactérisation [260].

Tableau I-7 Résumé des modèles cinétiques pour l'inactivation des microorganismes par champs électriques pulsés.

N°	Modèles	Paramètres	Équations
1	Modèle réactionnel d'ordre un	D_T	$\log_{10} N / N_0 = -t / D_T$
2	Modèle de Weibull	α, β	$\log_{10} N / N_0 = -(t / \alpha)^\beta / 2,303$
3	Modèle de Fermi	E_c, k_c	$N / N_0 = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{E - E_c}{k_c}\right)}$
4	Modèle de Hülshager	t_c, E_c, k_c	$N / N_0 = (t / t_c)^{-\frac{E - E_c}{k_c}}$
5	Modèle log-logistique	a, w, δ, λ	$\log_{10} N / N_0 = a + \frac{w - a}{1 + \exp\left(\frac{4 \delta (\lambda - \log t)}{w - a}\right)}$
6	Modèle de réponse quadratique (deux effets combinés)	$\beta_0, \beta_1, \beta_2,$ $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{12}$	$N / N_0 = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} x_i^2 + \beta_{12} x_1 x_2$

Les modèles de Hülshager et Fermi (**Figure I-23 B**) s'appuient sur la notion de champ électrique critique (E_c). Il s'agit d'une identification de cette valeur critique à partir de la modélisation mathématique de la courbe de destruction d'un microorganisme en fonction du champ électrique appliqué. En plus du champ électrique critique, Hülshager *et al.* (1983) [184] ont également proposé d'introduire un temps critique (t_c) qui est le temps effectif minimal pour que la bactérie puisse être affectée par le traitement électrique. Le modèle log-logistique (**Figure I-23 D**) permet, comme le modèle de Weibull, de caractériser les courbes avec épaulement mais peu d'informations physiques peuvent en être déduites [261]. Le sixième modèle (modèle de réponse quadratique) est issu de la méthodologie des plans d'expériences. Il permet de caractériser les effets linéaires, quadratiques et les interactions entre les paramètres opératoires du traitement par CEP [261].

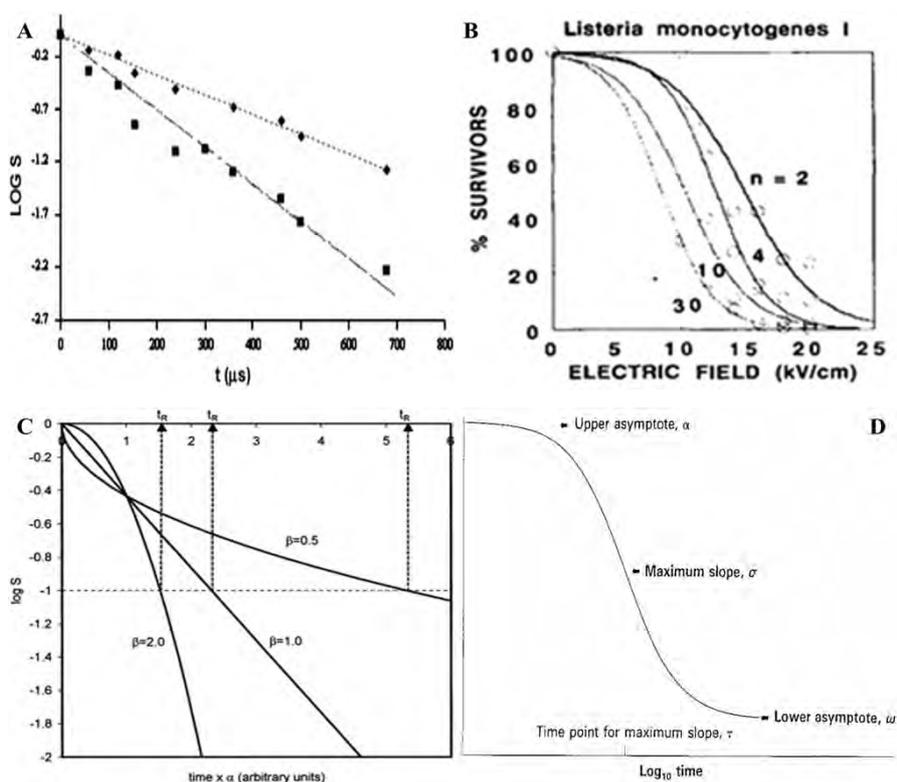


Figure I-23 Formes typiques de différents modèles : A) Modèle réactionnel d'ordre un [262], B) Modèles de Hulsheger et Fermi [263], C) Modèle de distribution Weibull [260] et D) Modèle log-logistique [264]. Autorisations de reproduction d'Elsevier, de John Wiley and Sons et de Springer Nature, Copyright (2019).

1.6.2 Modélisation numérique

En plus de ces modèles cinétiques, il existe aussi des études travaillant sur la modélisation dynamique et numérique du procédé de CEP au niveau de la chambre de traitement. Les phénomènes électro-hydrodynamiques se produisant dans la chambre de traitement des systèmes PEF peuvent être modélisés, classiquement, en appliquant les équations de conservation de masse, de quantité de mouvement, de chaleur et de charge.

La conservation de masse est gouvernée par l'équation de continuité en supposant que le produit traité dans la cellule CEP est un fluide Newtonien.

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{v}) = 0 \tag{Équation I-11}$$

où t (s) est le temps, \mathbf{v} ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) est le vecteur de vitesse, ρ ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) est la masse volumique du fluide traité par CEP et $\nabla \cdot$ est l'opérateur divergence.

L'aspect de mécanique de fluides est caractérisé par le bilan de conservation de quantité de mouvement d'un fluide incompressible (l'Équation I-12) en négligeant la force de gravité.

$$\rho \left[\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} \right] = -\nabla p + \nabla \{ \mu(T) [(\nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T)] \} \quad \text{Équation I-12}$$

où ∇ est l'opérateur gradient, p (Pa) est la pression thermodynamique, $\mu(T)$ (Pa·s) est la viscosité du fluide à la température T et $(\nabla \mathbf{v})^T$ est la transposition du gradient de vitesse.

L'équation qui gouverne le bilan thermique prenant en compte le chauffage ohmique apporté par l'envoi du courant électrique peut être décrite par l'Équation I-13.

$$\rho C_p(T) \left(\frac{\partial T}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla T \right) = \nabla \cdot [\lambda_t(T) \cdot \nabla T] + \sigma(T) E^2 \quad \text{Équation I-13}$$

où $C_p(T)$ (J·kg⁻¹·K⁻¹) est la capacité thermique du fluide à la température T , $\lambda_t(T)$ (W·m⁻¹·K⁻¹) est la conductivité thermique du fluide à la température T , $\sigma(T)$ (S·m⁻¹) est la conductivité électrique du fluide à la température T et E (V·m⁻¹) est l'intensité du champ électrique appliquée par le système CEP.

Le transfert électrique au sein de la cellule de traitement est caractérisé par l'équation de Laplace (l'Équation I-14)

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = \nabla \cdot [\sigma(T) \nabla \varphi] = \nabla \cdot [-\sigma(T) \mathbf{E}] = 0 \quad \text{Équation I-14}$$

où \mathbf{J} (A·m⁻²) est le vecteur de densité du courant électrique, φ (V) est le potentiel électrique et \mathbf{E} (V·m⁻¹) est le vecteur de l'intensité du champ électrique, égale à $-\nabla \varphi$.

Gerlach *et al.* (2008) [200] ont contribué à une synthèse sur la simulation numérique des CEP en prenant en compte les effets de la dynamique des fluides, les équations de transfert de chaleur et de l'électricité. La **Figure I-24** donne un exemple de la distribution du potentiel électrique et de l'intensité du champ électrique dans une chambre de traitement ayant un rayon de 2,2 mm et une longueur de 4,0 mm. Ces approches contribuent à l'optimisation de la conception des cellules de traitement CEP avec une meilleure efficacité de traitement.

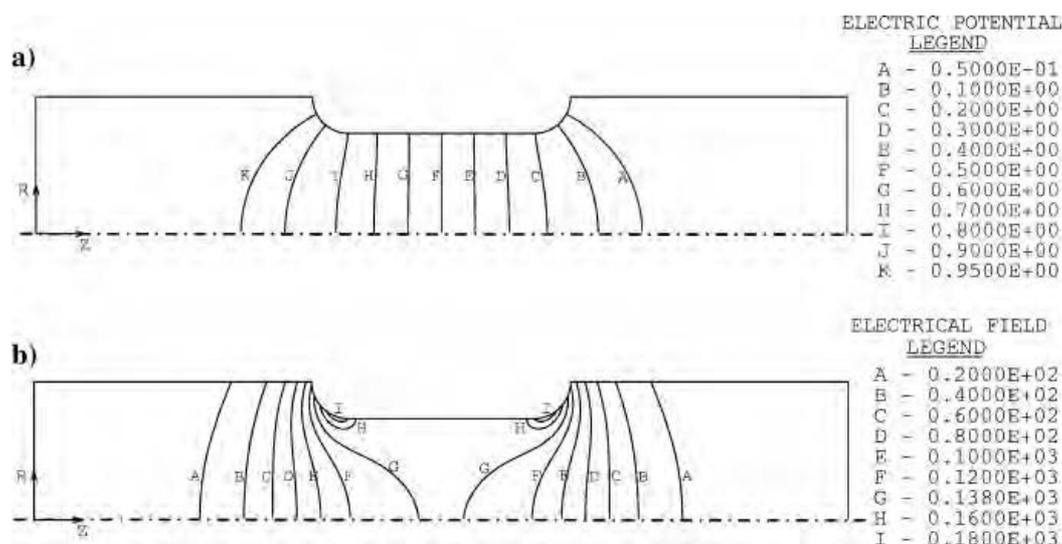


Figure I-24 Distribution du potentiel électrique (a) et de l'intensité du champ électrique au sein d'une chambre du traitement CEP (b). Figure extraite de Gerlach *et al.* (2008) [200] avec autorisation de reproduction d'*Elsevier*, Copyright (2019).

I.7 Conclusions

Les occurrences élevées d'agents pathogènes dans les biodéchets constituent une préoccupation croissante pour la santé publique. La relation entre l'application du digestat anaérobie sur le sol et l'infection humaine reste floue. Beaucoup de pays et autorités imposent une hygiénisation des déchets organiques. Les paramètres opérationnels et les types de déchets nécessitant hygiénisation varient selon les pays. Bien que l'hygiénisation apparaisse comme efficace vis-à-vis de la plupart des agents pathogènes, l'introduction de gènes résistants aux antibiotiques ainsi que la survie des spores bactériennes nécessitent des recherches plus poussées sur l'efficacité des traitements dans les installations de méthanisation et la dispersion dans l'environnement des contaminants biologiques.

Le présent chapitre a présenté les technologies de pré-hygiénisation thermique, électrique, mécanique et chimique en vue de la valorisation des biodéchets méthanisés. La pré-hygiénisation, thermique ou non thermique, a un effet sur la réduction des agents pathogènes (réduction élevée des bactéries) et sur le rendement en biogaz (augmentation de 0 à 50% du BMP dans la plupart des études).

Les analyses du bilan énergétique et des impacts environnementaux évaluent la faisabilité technique et économique des procédés d'hygiénisation disponibles. L'hygiénisation thermique représente 6 à 25% de l'énergie primaire totale produite par les installations de

production de biogaz en Europe. Ce bilan d'énergie dépend largement de la teneur en eau des intrants de méthanisation. De nombreux articles scientifiques traitent des boues d'épuration ayant de faibles concentrations de solides. Pour l'instant, les technologies innovantes, comme les champs électriques pulsés (CEP), n'ont pas été mises en œuvre pour étudier leur efficacité sur l'hygiénisation des déchets alimentaires, qui ont généralement une plus faible teneur en eau. Le traitement CEP est une technologie largement étudiée dans le domaine de la pasteurisation à froid des produits alimentaires. Les paramètres influençant l'efficacité du traitement et les avancements de ces dernières années ont été décrits dans ce chapitre. Une étude de la mise en place de l'hygiénisation des sous-produits animaux assistée par CEP a donc été menée dans le cadre de ce travail de thèse.

Le choix du microorganisme indicateur est crucial pour la caractérisation du procédé de débactérisation. *Ent. faecalis* et *E. coli* sont des microorganismes souvent utilisés à cet effet. Gram positif (G+) ou Gram négatif (G-), ces bactéries représentent deux groupes différents de résistance au stress induit par les CEP.

La modélisation de l'évolution du taux d'abattement microbien peut être réalisée par des modèles cinétiques empiriques ou par modélisation numérique. Le premier sert à la caractérisation de l'efficacité du traitement et le second est utile à l'optimisation des contacteurs (cellules et électrodes de traitement). Ils sont tous deux indispensables en vue de l'amélioration du procédé d'hygiénisation électrique.

Chapitre II Matériels et méthodes

Chapitre II Matériels et méthodes	89
II.1 Caractérisation de la résistance des microorganismes indicateurs au traitement l'hygiénisation thermique	90
II.1.1 Préparation de suspension.....	90
II.1.2 Protocole expérimental.....	91
II.1.3 Dénombrement des bactéries cultivables par NPP.....	92
II.1.4 Modélisation cinétique et traitement statistique.....	94
II.2 Effet de l'hygiénisation thermique sur la production de méthane	97
II.2.1 Matrice des substrats.....	97
II.2.2 Prétraitement thermique.....	98
II.2.3 Évaluation du potentiel méthanogène.....	98
II.2.4 Modélisation des courbes de méthanisation et traitement statistique.....	99
II.3 Hygiénisation des SPAN par CEP en batch	100
II.3.1 Sous-produits animaux.....	100
II.3.2 Préparation de suspension.....	102
II.3.3 Système de CEP.....	102
II.3.4 Hygiénisation à l'aide des CEP.....	104
II.3.5 Modèles mathématiques.....	107
II.4 Étude expérimentale de l'hygiénisation des SPAN dans un procédé en continu couplant CEP et chauffage ohmique	109
II.4.1 Système de traitement par CEP en continu.....	109
II.4.2 Protocole du traitement par CEP en continu.....	117
II.5 Modélisation numérique du procédé d'hygiénisation par CEP des SPAN dans un procédé en continu	119
II.5.1 Discrétisation du système.....	119
II.5.2 Bilan de dynamique des fluides.....	121
II.5.3 Bilan électrique.....	121
II.5.4 Bilan de chaleur.....	122
II.5.5 Couplage des modèles.....	123

II.1 Caractérisation de la résistance des microorganismes indicateurs au traitement l'hygiénisation thermique

II.1.1 Préparation de suspension

Des cultures pures d'*Enterococcus faecalis* ATCC 19433 (Institut Pasteur, France) et d'*Escherichia coli* ATCC 25922 (Institut Pasteur, France) ont été choisies comme bactéries indicatrices pour caractériser l'efficacité du traitement de l'hygiénisation assistée par CEP. *Ent. faecalis* ATCC 19433 (G+) a été sélectionné par le règlement de l'UE comme bactérie indicatrice pour valider une technologie alternative d'hygiénisation. C'est également un indicateur approprié pour cette étude, ni trop résistant ni trop fragile au traitement d'hygiénisation [63]. L'autre souche, *E. coli* ATCC 25922 (G-), a été sélectionnée parce qu'elle a été largement reconnue comme un bon indicateur de la contamination fécale dans les études environnementales [254].

Les souches *Ent. faecalis* et *E. coli* ont été cultivées dans le bouillon nutritif ordinaire (CM0001, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) à 37 ± 1 °C pendant 24 h et 20 h respectivement pour atteindre leur phase stationnaire pour laquelle ces deux souches sont les plus résistantes aux traitements d'hygiénisation [265–267].

Des tubes capillaires micro-hématocrites de 75 mm de longueur, 1,15 mm de diamètre intérieur de 0,2 mm d'épaisseur de verre ont été utilisés (**Figure II-1**). Les tubes capillaires ont été stérilisés par autoclave, remplis avec $24,3 \pm 0,8$ µL de suspension de bouillon nutritif incubé avec le microorganisme cible. Les deux extrémités de tube ont été scellées par micro-flamme au bec Bunsen. La population microbienne d'un tube capillaire variait de 10^6 à 10^7 UFC·mL⁻¹. Les tubes capillaires ont été préparés extemporanément pour les traitements thermiques.

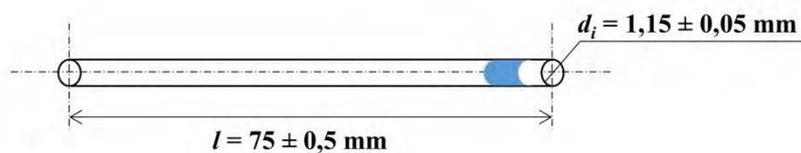


Figure II-1 Schéma du tube capillaire micro-hématocrite sans héparine de sodium (Brand™, Wertheim, Allemagne).

II.1.2 Protocole expérimental

Les tubes capillaires contenant la suspension bactérienne ont été soumis à différentes températures (55, 60, 65 et 70 °C) pendant différents temps de traitement. Ils ont été plongés simultanément dans un bain-marie maintenu à la température souhaitée par une plaque chauffante (Stuart Co., Stone, Royaume-Uni) (cf. **Figure II-2**). La modélisation par transfert thermique de travaux précédents [268,269] nous a conduit à évaluer le temps nécessaire pour que le milieu dans le tube atteigne la température envisagée soit 2,8 s. Ce court temps de montée peut donc être considéré comme négligeable par rapport aux temps de maintien en température pour l'établissement des cinétiques.

Les temps de traitement ont été prolongés pour assurer une destruction des bactéries indicatrices au moins équivalente à cinq réductions décimales (5 log₁₀). De nombreux intervalles de prélèvement ont été utilisés pour donner une cinétique d'inactivation bactérienne la plus précise possible. Après chaque pas de temps, trois tubes capillaires ont été retirés et refroidis par immersion dans l'eau glacée. Les tubes ont été rincés à l'alcool puis à l'eau distillée stérile. Les tubes capillaires ont ensuite été conservés dans l'eau glacée et utilisés pour le dénombrement des fractions cultivables du microorganisme cible dans les deux heures suivant les manipulations.

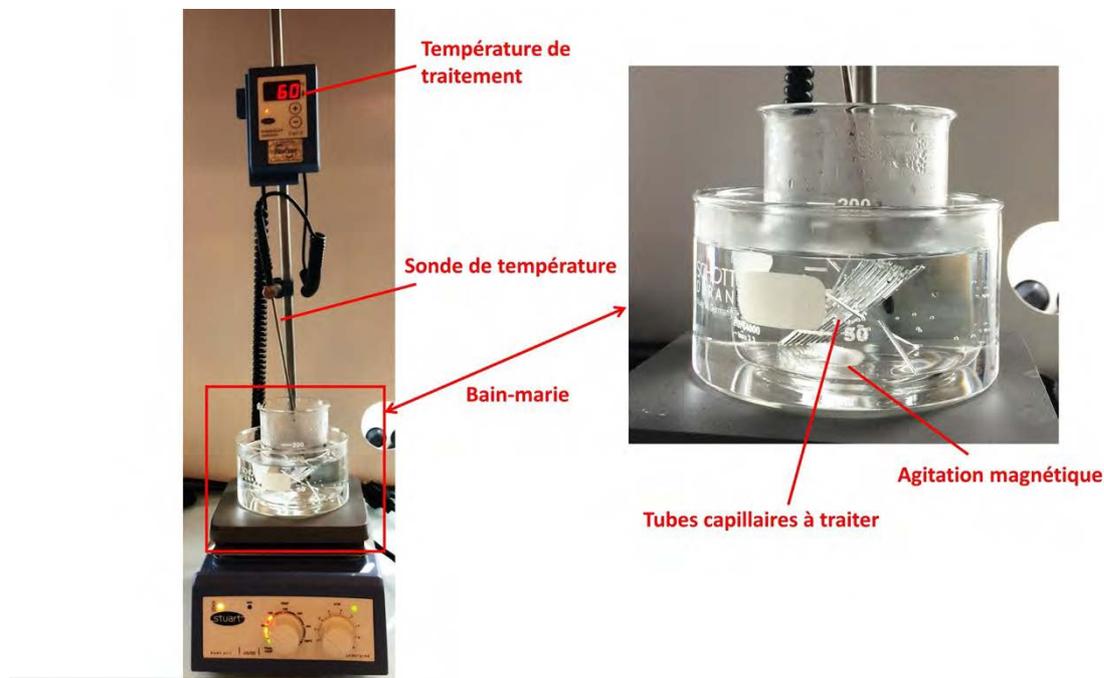


Figure II-2 Photographies de tubes capillaires plongés dans un bain-marie chauffé à 60 °C par la plaque chauffante (Stuart Co., Stone, Royaume-Uni).

II.1.3 Dénombrement des bactéries cultivables par NPP

II.1.3.1 Nombre le plus probable (NPP)

Les tests de dilution en série mesurent la concentration d'un microbe cible dans un échantillon à l'aide d'une estimation dénommée nombre le plus probable (NPP, en anglais *most probable number*, noté « MPN »), particulièrement utile pour les faibles concentrations (< 100 UFC·g⁻¹), en particulier dans le lait, l'eau et les sols, d'après *Food and Drug Administration* et *Department of Agriculture* des États-Unis (US FDA et US DA) [270,271]. Seuls les organismes cultivables sont dénombrés par le NPP. Il est possible que les bactéries d'un échantillon peuvent être agrégées ou sous forme de chaînes qui ne sont pas séparées par la préparation et la dilution. Le NPP est donc une estimation d'unités de croissance ou unités formant des colonies (UFC) et non un dénombrement de bactéries individuelles.

Les hypothèses suivantes sont nécessaires pour réaliser la méthode NPP :

- Les bactéries sont distribuées au hasard dans l'échantillon.
- Les bactéries sont séparées et non regroupées.
- Dans un tube (ou une plaque, *etc.*) dont l'inoculum ne contient qu'un seul microorganisme cultivable, une croissance ou un changement sont détectables.
- Chacun des tubes de l'échantillon est indépendant des autres.

Le principe de la méthode NPP consiste à diluer l'échantillon à un degré tel que la suspension dans les tubes contient parfois, mais pas toujours, des organismes viables. Le « résultat », c'est-à-dire le nombre total de tubes et le nombre de tubes avec croissance à chaque dilution, permet une estimation de la concentration initiale de bactéries dans l'échantillon original non dilué.

Le NPP est basé sur l'application de la théorie de la probabilité aux nombres de réponses de croissance positives observées dans une série de dilutions standards d'un échantillon, dans un nombre défini de tubes de milieu de culture. En fonction du type de milieu utilisé, une réponse positive de la croissance après incubation peut être indiquée par des observations telles que la production de gaz ou une turbidité dans des tubes de bouillon. L'échantillon doit être dilué de manière à ce que des dilutions les plus élevées de l'échantillon entraînent moins de réponses positives dans la série. Le nombre de dilutions d'échantillons à préparer est généralement basé sur une estimation de la population de l'échantillon.

Les résultats les plus fiables se produisent lorsque tous les tubes à la dilution inférieure sont positifs et que tous les tubes à la dilution supérieure sont négatifs. Des dilutions décimales en série sont souvent utilisées à 3, 5 ou 10 tubes par dilution. Lorsqu'un plus grand nombre de tubes est inoculé dans la série, les intervalles de confiance du NPP sont réduits et le résultat est plus précis. Pour les populations microbiennes particulièrement élevées, les valeurs obtenues par NPP ne sont généralement pas considérées comme aussi précises que les dénombrements réalisés sur boîtes. De nouveau, il convient de souligner que les valeurs de NPP ne sont que des estimations exprimées en $\text{NPP}\cdot\text{mL}^{-1}$ et que les dénombrements sur boîtes sont des comptages directs d'organismes vivants exprimés en $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$.

II.1.3.2 Dénombrement de la fraction survivante

Les tubes capillaires, sans traitement (témoins) ou après traitement, ont été cassés dans une microplaque stérile (PS-96 puits, Corning[®], États-Unis) pré-remplie de 216 μL de bouillon nutritif autoclavé (CM0001, Oxoid[™], Basingstoke, Royaume-Uni) par puits. Les dilutions en série ont été réalisées par micropipettes et cônes stériles (VWR[™], Pennsylvanie, US). Avant chaque dilution, les suspensions ont été agitées plusieurs fois grâce la micropipette afin d'obtenir des milieux homogènes. Les microplaques ont été ensuite placées dans une étuve et mises à incuber pendant 24 h à 37 °C. Des blancs (bouillon nutritif sans microorganismes dans les tubes capillaires et dans les microplaques) ont été faits en parallèle pour vérifier l'absence de contaminations potentielles.

Après 24 h d'incubation, les résultats (« trouble » ou « absence de trouble ») sont relevés puis saisis dans le logiciel développé par Dr Blodgett de l'US FDA (Division of Mathematics) [270]. La **Figure II-3** donne un exemple de l'estimation du NPP rendu par le logiciel.

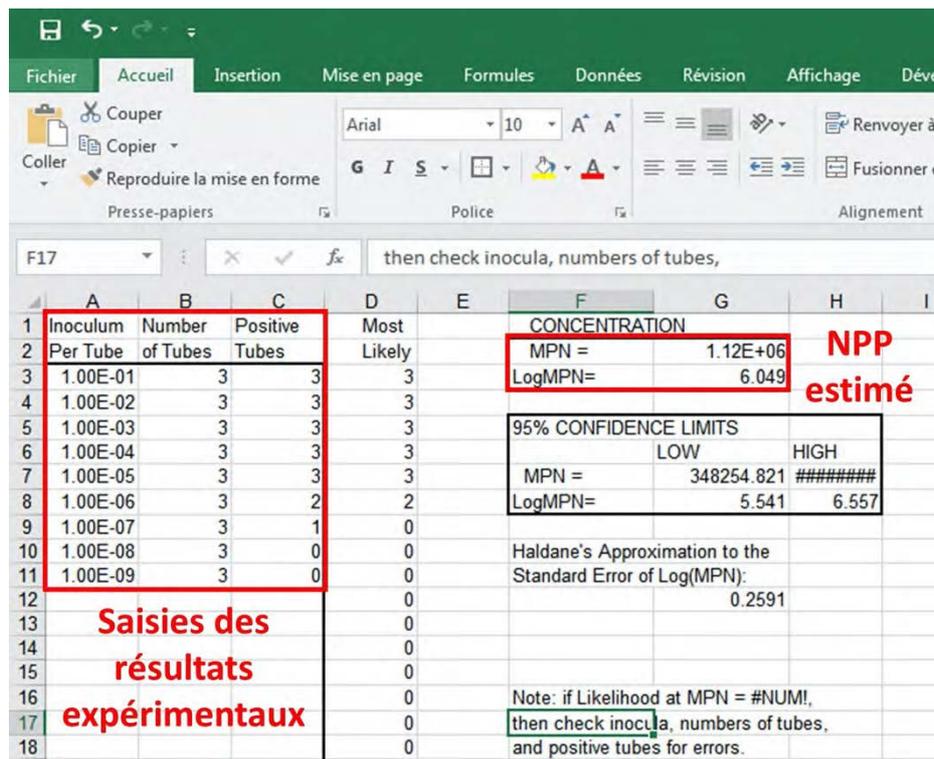


Figure II-3 Logiciel « BAM-MPN USFDA » développé par l'US FDA, le NPP étant $1,12 \cdot 10^6$ NPP·mL⁻¹ pour un résultat de 3/3, 3/3, 3/3, 3/3, 3/3, 2/3, 1/3, 0/3 et 0/3 (dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-9} respectivement).

II.1.4 Modélisation cinétique et traitement statistique

II.1.4.1 Modèle primaire - Modèle de Weibull

Les courbes d'inactivation des microorganismes indicateurs (taux d'abattement vs. temps de traitement) ont d'abord été modélisées par le modèle de distribution de Weibull, selon l'Équation II-1:

$$\log_{10} N(t) / N_0 = - (t / \alpha)^\beta / 2,303 \quad \text{Équation II-1}$$

où t (s ou min) est le temps du traitement thermique, $N(t)$ (NPP·mL⁻¹) est la concentration estimée en microorganisme cible cultivable à l'instant t , N_0 (NPP·mL⁻¹) est la concentration estimée en microorganisme cible initiale, α (s ou min) est le paramètre d'échelle du modèle de Weibull et β (-) est le paramètre de forme du modèle de Weibull.

II.1.4.2 Modèle de Weibull couplé avec modèle secondaire en fonction de la température

Un modèle secondaire décrivant la relation entre la température du traitement (T) et les paramètres du modèle de Weibull (α et β) a été développé. Il sert de modèle complémentaire à la distribution de Weibull afin de simuler la cinétique d'inactivation des bactéries indicatrices à l'aide d'une seule équation qui tient compte de la température étudiée.

Le paramètre d'échelle α a été supposé comme une fonction log-linéaire de l'inverse de la température étudiée, selon **Équation II-2**, adaptée de la loi d'Arrhenius :

$$\ln 1/\alpha = \ln A - B / T \quad \text{Équation II-2}$$

où T est la température du traitement étudiée (K), A (s^{-1}) et B (K) sont les paramètres du modèle secondaire en fonction de la nature du microorganisme cible.

Le paramètre de forme β est indépendant des conditions externes [260]. Par conséquent, les valeurs de β dans ce modèle secondaire ont été fixées à l'aide de la moyenne $\bar{\beta}$ des valeurs β extraites des quatre courbes d'inactivation de chaque bactérie indicatrice traitée à différentes températures (T).

En intégrant le modèle secondaire dans l'**Équation II-1**, un modèle couplé a été obtenu tel que présenté dans l'**Équation II-3**, utilisé pour prédire les courbes d'inactivation :

$$\log_{10} N(t) / N_0 = - [t \cdot A \cdot \exp(-B/T)]^{\bar{\beta}} / 2,303 \quad \text{Équation II-3}$$

où t (s ou min) est le temps du traitement thermique, $N(t)$ (NPP·mL⁻¹) est la concentration estimée en microorganisme cible cultivable à l'instant t , N_0 (NPP·mL⁻¹) est la concentration estimée en microorganisme cible initiale, A (s^{-1}) et B (K) sont les paramètres du modèle secondaire en fonction de la nature du microorganisme cible, T (K) est la température étudiée et $\bar{\beta}$ (-) est la moyenne des paramètres de forme β .

II.1.4.3 Calcul de valeur 5-D

La valeur du paramètre 5-D est proposée afin d'estimer le temps de traitement nécessaire pour obtenir une réduction de 5 log₁₀ du microorganisme indicateur cible [265]. Le 5-D d'*Ent. faecalis* est le temps nécessaire pour l'hygiénisation bactérienne du produit selon le règlement européen UE N° 142/2011 [70]. Les valeurs 5-D en fonction de la température du traitement et du microorganisme cible ont été calculées dans le **Chapitre III.1** selon l'équation suivante :

$$5-D = \alpha \cdot (5 \times 2,303)^{1/\beta} \quad \text{Équation II-4}$$

où α (s) est le paramètre d'échelle du modèle de Weibull et β (-) est le paramètre de forme du modèle de Weibull, les deux paramètres sont obtenus à l'aide des **Équations II-1** et **II-3**.

II.1.4.4 Évaluation de qualité de modélisation

La qualité de modélisation réalisée par le modèle de Weibull primaire et le modèle de Weibull couplé a été évaluée par le coefficient de détermination ajusté (R^2 ajusté), la somme des erreurs au carré (*Sum of Squared Errors*, *SSE*) et l'erreur moyenne quadratique (*Root Mean Squared Errors*, *RMSE*) [222], comme montrées par les **Équations II-5**, **II-6**, **II-7** et **II-8**. La modélisation a été traitée par R studio® (R Studio Inc., Massachusetts, États-Unis) et mise en forme par Microsoft Office 2016® (Microsoft, Washington, États-Unis). La **Figure II-4** présente un exemple de modélisation réalisée par R studio®.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad \text{Équation II-5}$$

$$R^2 \text{ ajusté} = 1 - (1 - R^2) \cdot \frac{n-1}{n-n_p-1} \quad \text{Équation II-6}$$

$$SSE = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad \text{Équation II-7}$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}} \quad \text{Équation II-8}$$

où R^2 est le coefficient de détermination, R^2 ajusté est le coefficient de détermination ajusté, i est l'indice de sommation, n est le nombre de mesures, n_p est le nombre de paramètres du modèle utilisé, y_i est la valeur expérimentale de la mesure n° i , \hat{y}_i est la valeur estimée par le modèle de la mesure n° i , \bar{y} est la moyenne des mesures, *SSE* est la somme des erreurs au carré et *RMSE* est l'erreur moyenne quadratique.

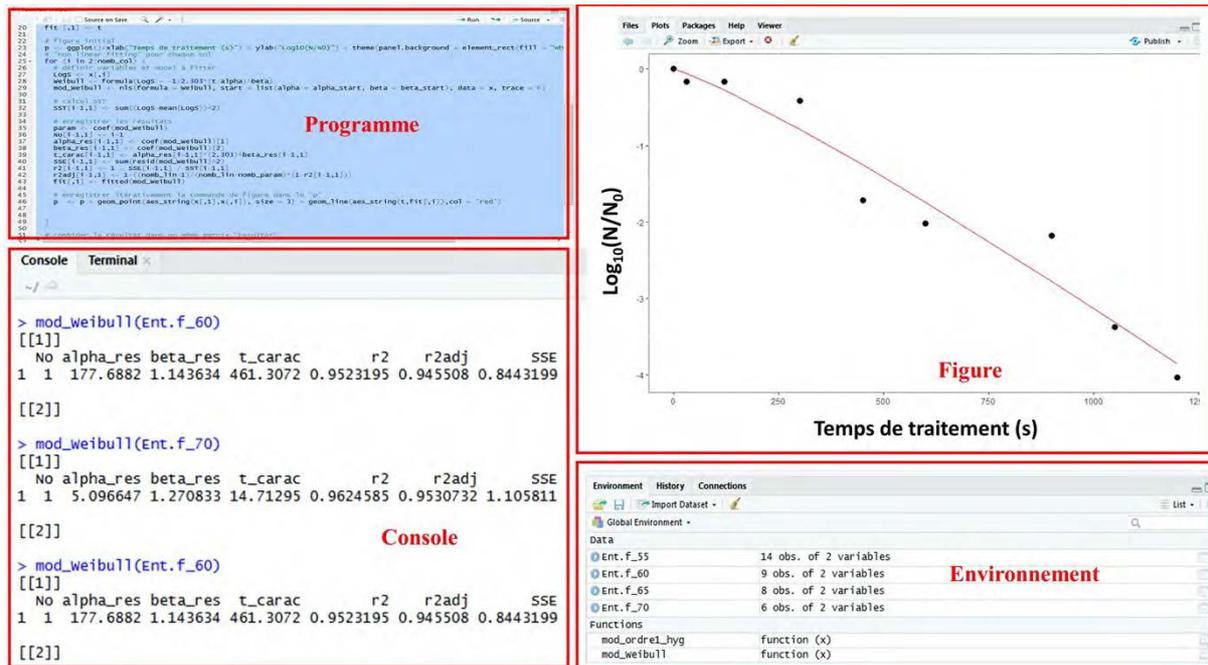


Figure II-4 Capture d'écran de l'interface R studio[®] lors d'une modélisation de courbe d'abattement microbien par le modèle de Weibull.

II.2 Effet de l'hygiénisation thermique sur la production de méthane

II.2.1 Matrice des substrats

L'inoculum frais et le digestat de la cuve d'hydrolyse ont été obtenus d'une unité de méthanisation (LIGER, Locminé, France) qui traite des déchets organiques agricoles et industriels mixtes par digestion anaérobie. Le lisier de bovins et le lisier de raclage (en « V ») de porcs ont été récupérés dans des fermes locales. Les boues de STEP de collectivités et les boues de STEP industrielles ont été collectées dans 2 stations d'épuration de différentes communes. Les boues et le refus de tamisage d'abattoir de porc ont été obtenus auprès d'une unité de transformation située en Bretagne (France).

L'inoculum de méthanisation a été filtré à travers un tamis de 800 μm . Tous les échantillons recueillis ont été homogénéisés séparément avec un mixeur de cuisine. Les matières sèches (MS) ont été mesurées dans une étuve à 105 °C. Les matières volatiles (MV) ont été déterminées en utilisant un four à moufle à 550 °C (calcination pendant 2 heures).

La demande chimique en oxygène (DCO) a été mesurée à l'aide du test Spectroquant[®] (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne) analogue à la norme US EPA 410.4, UK APHA 5220D

et ASTM D1252-06B. Tous les résultats caractéristiques de l'inoculum et des 7 déchets organiques testés sont présentés dans le **Tableau II-1**.

Tableau II-1 Caractéristiques de l'inoculum et des 7 substrats étudiés.

Échantillons	MS (%)	MV/MS (%)	DCO (g O ₂ :kg MB ⁻¹)
Inoculum	5,67 ± 0,03	70,5 ± 1,9	58,8 ± 3,4
Lisier de raclage	20,5 ± 0,6	55,7 ± 1,1	151 ± 1
Lisier bovin	11,2 ± 0,2	82,8 ± 1,4	134 ± 1
Boues STEP industrielles	11,1 ± 0,1	85,9 ± 0,5	138 ± 2
Digestat de cuve d'hydrolyse	10,4 ± 0,3	84,0 ± 0,5	149 ± 3
Boues d'abattoir	21,1 ± 0,1	86,3 ± 0,2	332 ± 12
Boues STEP des collectivités	11,9 ± 0,1	87,3 ± 2,0	144 ± 2
Refus de tamisage d'abattoir	26,7 ± 1,9	98,0 ± 0,9	334 ± 7

II.2.2 Prétraitement thermique

Le prétraitement thermique modéré (condition de l'hygiénisation européenne : 70 °C pendant 1 heure sans interruption) a été effectué en utilisant un agitateur à plaque chauffante (Stuart Co., Stone, Royaume-Uni) le jour même des manipulations. Les échantillons non liquides ont d'abord été dilués par de l'eau distillée avant le prétraitement pour faciliter l'agitation. Une fois prétraités, les substrats ont été laissés à température ambiante, puis ajoutés dans des digesteurs anaérobies remplis du digestat pour le test BMP.

II.2.3 Évaluation du potentiel méthanogène

Les tests BMP en batch de différents substrats prétraités ou non ont été réalisés en duplicat dans les bouteilles en verre de 0,5 L incubées à 37 °C à l'aide d'un « *Automatic Methane Potential Test System II* » (AMPTS II, Bioprocess Control Co., Lund, Suède).

Le biogaz produit dans chaque bouteille est bullé dans une unité d'absorption individuelle remplie de NaOH (3 M) afin de retenir les gaz acides tels que le CO₂ et le H₂S. Un compteur gaz a ensuite mesuré et enregistré le volume de CH₄ produit (**Figure II-5**). Dans cette étude, c'est la production de méthane qui est étudiée.

Le rapport initial Substrat / Inoculum (S/I) par rapport à la matière volatile a été maintenu entre 0,35 et 0,5. Au moins 2 bouteilles du contrôle remplies d'inoculum (blancs) ont été préparées pour chaque expérience de l'AMPTS II. Le pH initial et final était compris entre 7,5 et 8,3.

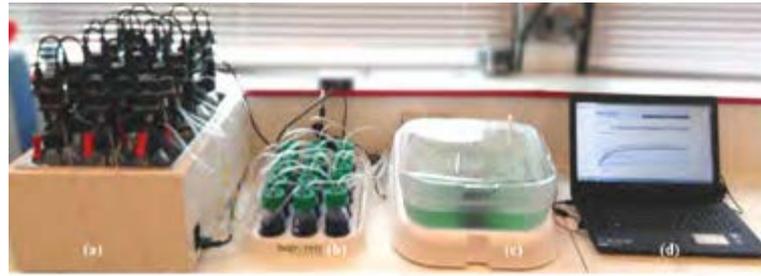


Figure II-5 AMPTS II avec (a) Bain-Marie et réacteurs avec l'agitation (b) Unité de capture de CO₂ (c) Compteur de méthane et (d) Acquisition et stockage des données (photographie extraite de Chamaa, 2017 [111]).

II.2.4 Modélisation des courbes de méthanisation et traitement statistique

Le modèle de Gompertz modifié [272] a été utilisé pour modéliser les courbes de production de méthane de différents substrats, à l'aide de R studio® (Massachusetts, États-Unis). Le modèle de Gompertz modifié présente de meilleures performances pour la modélisation des courbes de production du biogaz grâce à la prise en compte d'un temps de latence. C'est un modèle à 3 paramètres présenté dans l'Équation II-9.

$$BMP(t) = BMP_0 \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m \cdot e}{BMP_0} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad \text{Équation II-9}$$

où $BMP(t)$ (Nm³ CH₄·kg DCO⁻¹ ou Nm³ CH₄·kg MV⁻¹) est la production cumulée de méthane à l'instant t , BMP_0 (Nm³ CH₄·kg DCO⁻¹ ou Nm³ CH₄·kg MV⁻¹) est le potentiel méthanogène du substrat, R_m (Nm³ CH₄·kg DCO⁻¹·jour⁻¹ ou Nm³ CH₄·kg MV⁻¹·jour⁻¹) est la vitesse maximale de production de bio-méthane, λ (jour) est le temps de la phase de latence, e est exp(1) et t (jour) est le temps de digestion.

La qualité de la modélisation a été évaluée par le coefficient de détermination R^2 ajusté (Équation II-6) et la somme des erreurs au carré (SSE , Équation II-7). Les données obtenues d'AMPTS II ont d'abord été traitées par Microsoft Office 2016® (Microsoft, Washington, US) et les analyses statistiques (modélisation, test de Student et test de corrélation Pearson) ont été réalisées à l'aide de R studio®. Les tests de Student (t-test) et de corrélation Pearson ont été réalisés pour un niveau de significativité $\alpha = 0,05$. La Figure II-6 présente un exemple de la modélisation des courbes de méthanisation en utilisant R studio®.

Tableau II-2 Caractéristiques du sous-produit animal (SPAN).

Paramètres	moyenne ± écart-type ^a
Paramètres physico-chimiques	
pH (-)	6,75 ^b
Teneur en eau (%)	85,1 ± 0,1
MS (%)	14,9 ± 0,1
MV/MS (%)	94,5 ± 0,1
Conductivité électrique ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	14 000 ^b
Paramètres biochimiques	
DCO ($\text{g O}_2\cdot\text{kg MB}^{-1}$)	231 ± 1
TN ($\text{g N}\cdot\text{kg MB}^{-1}$)	6,02 ± 0,64
TP ($\text{g P}\cdot\text{kg MB}^{-1}$)	0,75 ± 0,01
Populations microbiennes	
FMAT ^c ($10^5 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$)	1,07 ± 0,09
<i>Enterococcus</i> spp. ($\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$)	n.d. ^d
<i>Escherichia coli</i> ($\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$)	n.d. ^d

^a déterminés en triplicat sauf pour le pH et la conductivité électrique

^b mesurés à 20 °C

^c FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale

^d n.d. signifie « non détecté »

Il convient de noter que le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale de ce mélange donne environ $1,07 \cdot 10^5 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ (**Figure II-7**) malgré l'hygiénisation thermique, alors qu'aucune colonie d'*Enterococcus* spp. ou d'*Escherichia coli* n'a été dénombré sur des milieux sélectifs.

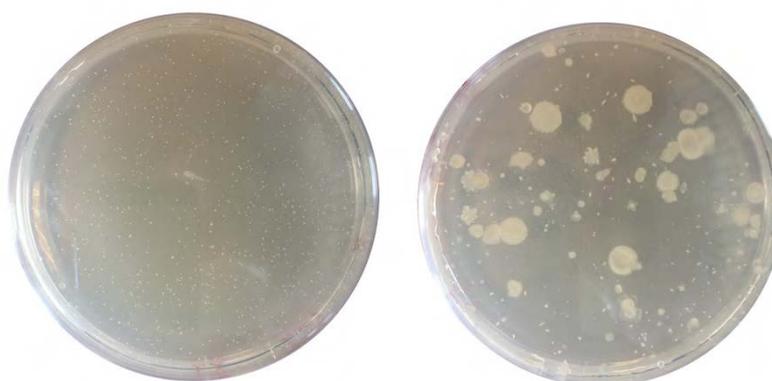


Figure II-7 Photographies de culture de la flore mésophile aérobie totale du SPAN sur le milieu « standard plate count agar » (CM0463, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) pour deux dilutions.

II.3.2 Préparation de suspension

Des cultures pures d'*Enterococcus faecalis* ATCC 19433 (Institut Pasteur, Paris, France) et d'*Escherichia coli* ATCC 25922 (Institut Pasteur, Paris, France) ont été choisies comme bactéries indicatrices pour caractériser l'efficacité du traitement de l'hygiénisation assistée par CEP.

Les souches *Ent. faecalis* et *E. coli* ont été cultivées dans le bouillon nutritif ordinaire (CM0001, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) à 37 ± 1 °C pendant 24 h et 20 h respectivement pour atteindre leur phase stationnaire [265–267]. Puis, 1 mL de bouillon de la culture pure incubée a été mélangé dans un tube de 9 mL de solution peptone-sel (CM0733, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni). On a ensuite ajouté 0,5 mL de la solution diluée et 0,5 mL de l'échantillon SPAN dans de l'eau distillée stérile pour ajuster la conductivité électrique finale à $2000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ et à un pH compris entre 6,8 et 7,2. Le dénombrement des suspensions initiales est de $\sim 5,0 \cdot 10^6$ et $\sim 1,0 \cdot 10^7$ UFC·mL⁻¹ respectivement pour *Ent. faecalis* et *E. coli*.

II.3.3 Système de CEP

Comme l'illustre la **Figure II-8**, le système de traitement CEP était composé d'un générateur d'impulsions (TGP 110, TTI Thurlby Thandar instrument, Bruz, France), d'un générateur d'énergie haute tension (SR2.5-P-600, Technix, Créteil, France), d'un modulateur (AHTPM2.5, Effitech, Pau, France), d'un module de mise à la terre et d'une chambre de traitement. Le système pouvait fournir des impulsions carrées monopolaires avec une tension maximale de 2,5 kV, une largeur d'impulsion de 1 à 100 μs et une fréquence de répétition comprise entre 24 et 240 Hz. Un oscilloscope (OX8022-20 MHz, Metcix, Paris, France) a été utilisé pour réguler la largeur d'impulsion et la fréquence de répétition.

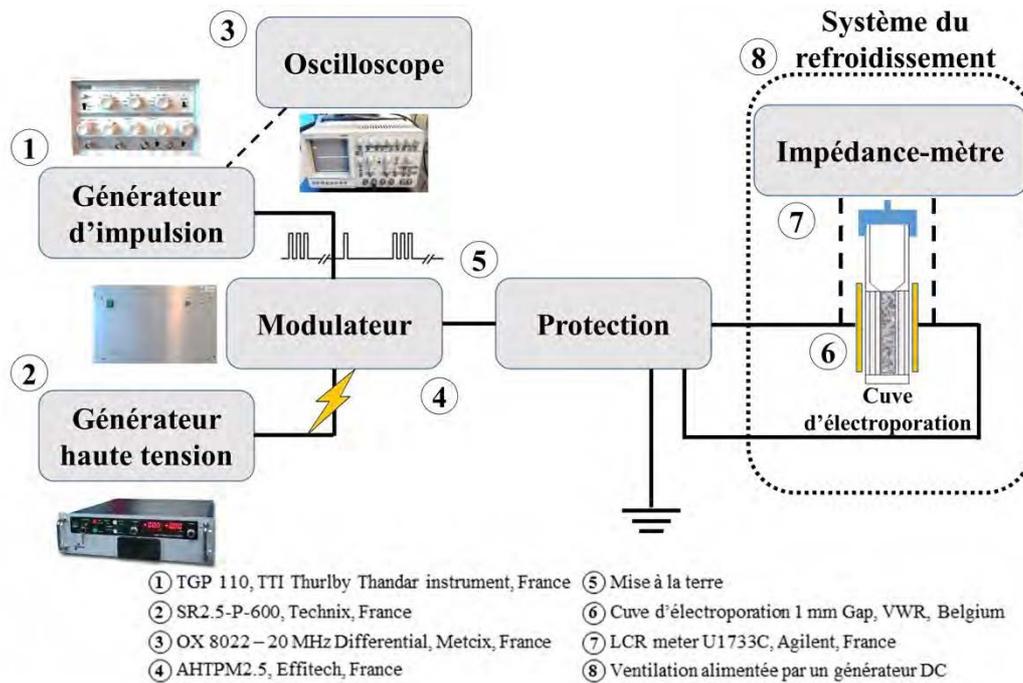


Figure II-8 Schéma du système expérimental de traitement par CEP en batch.

Des cuves d'électroporation stériles (1 mm Gap-90 μL , VWRTM, Louvain, Belgique, **Figure II-9**) ont été utilisées comme chambre de traitement [273,274], connectées au circuit électrique du système CEP (**Figure II-10**).

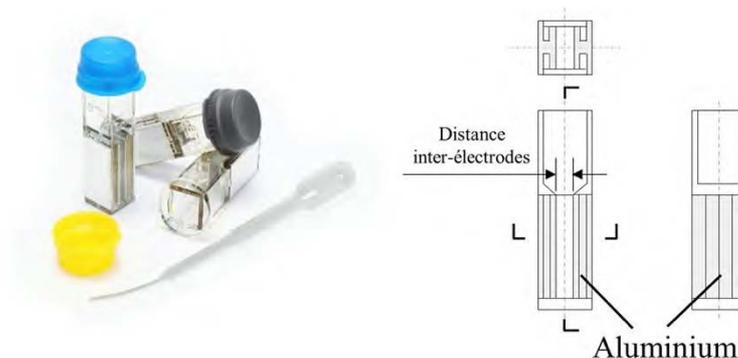


Figure II-9 Cuves d'électroporation (VWRTM, Louvain, Belgique).

La distance inter-électrodes permet d'obtenir un champ électrique compris entre 0 et $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ en fonction du paramétrage du générateur haute tension utilisé. Pour étudier l'efficacité du traitement par CEP en évitant l'élévation de température due au chauffage ohmique, une ventilation mécanique a été mise en place afin de refroidir la chambre.



Figure II-10 Photographie de cuve d'électroporation connectée au système.

II.3.4 Hygiénisation à l'aide des CEP

II.3.4.1 Traitement par CEP

Les cuves d'électroporation ont été remplies avec 90 μL de la suspension SPAN puis connectées au système CEP. La cinétique d'inactivation de la bactérie indicatrice cible à différentes intensités de champ électrique ($E = 10, 15, 20$ et $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) a été étudiée avec un temps de traitement effectif des CEP (t_{CEP}) allant jusqu'à 30 ms. Le t_{CEP} a été calculé en fonction de l'Équation I-4 ($t_{CEP} = N \cdot f \cdot t_{train} \cdot \tau$) où t_{CEP} (ms ou μs) est le temps effectif du traitement par CEP, N (–) est le nombre de trains appliqués, τ est la durée d'une seule impulsion fixée à 4 μs , f est la fréquence de répétition fixée à 40 Hz et t_{train} (s) est le temps réel de traitement pour un train. À l'aide du système de refroidissement et de l'application intermittente de CEP par des trains en série au cours d'un essai, la température de la suspension a été maintenue à une température inférieure à 45 °C afin de minimiser les dommages thermiques causés aux bactéries. La **Figure II-11** présente l'enregistrement d'une impulsion envoyée par le système.

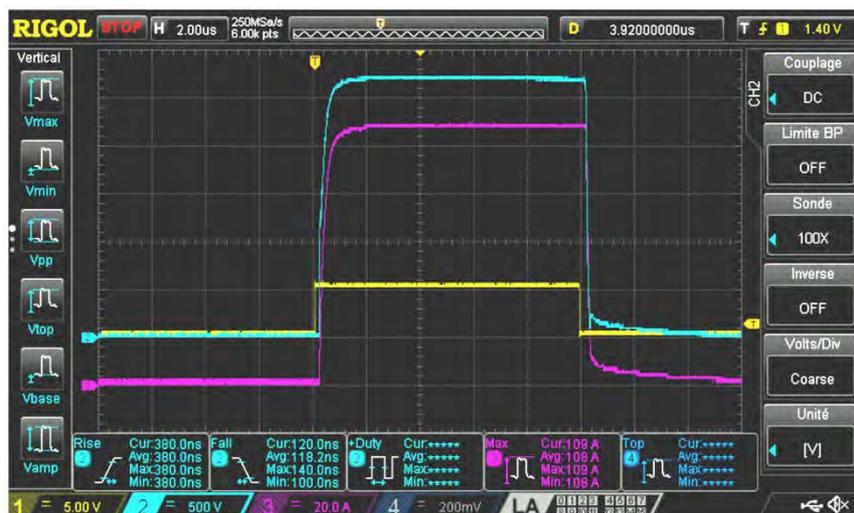


Figure II-11 Enregistrement d'une impulsion de durée 10 μ s, extrait du manuel d'utilisation du system AHTPM2.5 (Effitech, Pau, France). Bleu : tension de sortie ; violet : courant dans la charge de test ; jaune : synchronisation des instruments de mesures.

Pour étudier l'effet du milieu de suspension sur l'efficacité de la débactérisation par CEP, les réductions des deux bactéries indicatrices dans le bouillon nutritif ordinaire (BN, ajusté à la même conductivité électrique que celle de la suspension SPAN) ont été réalisées. Les échantillons en BN ont été traités par CEP à 10, 15, 20 et 25 $\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour un temps effectif du CEP (t_{CEP}) de seulement 30 ms.

II.3.4.2 Dénombrement des bactéries cultivables

Après chaque essai, l'échantillon traité a été rapidement refroidi dans de l'eau glacée. Les analyses microbiennes standards correspondantes ont été effectuées en triplicat par la méthode de dénombrement par étalement dans les 2 heures suivant le traitement. Selon Cunault *et al.* (2011) [85], les colonies d'*Ent. faecalis* ont été dénombrés en utilisant le milieu Slanetz & Bartley (CM0377, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) incubés à 37 °C pendant 48 h (**Figure II-12 A**). Les colonies d'*E. coli* ont été comptés en utilisant le milieu Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) (CM0945, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) incubés à 37 °C pendant 24 h (**Figure II-12 B**).

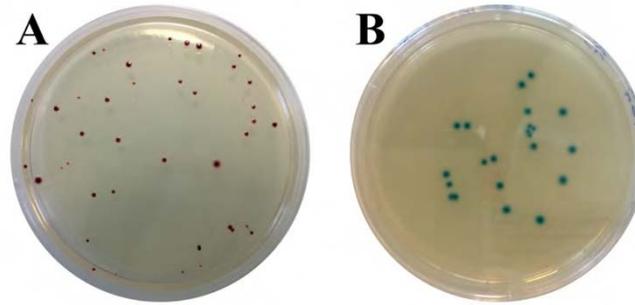


Figure II-12 Colonies de A) *Ent. faecalis* ATCC 19433 sur agar Slanetz & Bartley et B) *E. coli* sur TBX.

II.3.4.3 Énergie spécifique délivrée

Comme évoqué dans le **Chapitre I**, l'énergie spécifique délivrée par CEP peut être calculée à l'aide de l'**Équation I-9** ($W_{CEP} = E^2 \cdot \sigma \cdot f \cdot t_{tot} \cdot \tau = E^2 \cdot \sigma \cdot N \cdot f \cdot t_{train} \cdot \tau$). Trois niveaux d'apport énergétique ont été choisis (300, 1 000 et 3 000 J·mL⁻¹). Pour chaque niveau, les taux de survie ont été étudiés à 10, 15, 20 et 25 kV·cm⁻¹ pour différentes durées de traitement afin d'obtenir le même apport d'énergie spécifique.

II.3.4.4 Récupération des bactéries indicatrices endommagées

Les échantillons traités à 25 kV·cm⁻¹ par CEP pendant 15 à 30 ms ont permis la récupération des bactéries indicatrices endommagées par CEP dans le SPAN et ont été comparés à des échantillons non traités. Pour cela, 25 µL de suspension SPAN traitée ont été transférées dans une microplaque stérile (PS-96 puits, Corning®, US) avec 225 µL de bouillon nutritif. Le bouillon a été incubé à 3 °C et des dénombrements effectués durant 7 jours pour déterminer l'évolution de la fraction cultivable de *Ent. faecalis* et *E. coli*.

II.3.5 Modèles mathématiques

II.3.5.1 Modèle primaire – Modèle Weibull

Les courbes d'inactivation des indicateurs (taux d'abattement *vs.* t_{CEP}) ont d'abord été modélisées par le modèle de distribution de Weibull, en remplaçant t par t_{CEP} dans l'Équation II-1 :

$$\log_{10} N(t_{CEP}) / N_0 = - (t_{CEP} / \alpha)^\beta / 2,303 \quad \text{Équation II-10}$$

où t_{CEP} (μs) est le temps effectif du traitement CEP, $N(t_{CEP})$ ($\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$) est la concentration en microorganisme cible cultivable à l'instant t_{CEP} , N_0 ($\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$) est la concentration en microorganisme cible initiale, α (μs) est le paramètre d'échelle du modèle de Weibull et β (–) est le paramètre de forme du modèle de Weibull.

II.3.5.2 Modèle de Weibull couplé avec modèle secondaire en fonction du champ électrique

Un modèle secondaire décrivant la relation entre l'intensité du champ électrique (E) et les paramètres du modèle de Weibull (α et β) a été proposé. Il sert de modèle complémentaire à la distribution de Weibull afin de simuler la cinétique d'inactivation des bactéries indicatrices à l'aide d'une seule équation en fonction de l'intensité du champ électrique appliquée.

Le paramètre d'échelle α a été calculé selon Équation II-11 comme une fonction similaire à l'équation d'Arrhenius :

$$\ln 1 / \alpha = \ln A - B / E \quad \text{Équation II-11}$$

où E ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) est l'intensité du champ électrique étudiée, A (μs^{-1}) et B ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) sont les paramètres du modèle secondaire en fonction de la nature du microorganisme cible.

Le paramètre de forme β est indépendant des conditions externes [260]. Par conséquent, les valeurs de β dans ce modèle secondaire ont été fixées à l'aide de la moyenne $\bar{\beta}$ des valeurs β extraites des quatre courbes d'inactivation de chaque bactérie indicatrice traitée à différentes intensités du champ (E).

En intégrant le modèle secondaire dans l'**Équation II-10**, un modèle couplé a été obtenu puis utilisé pour prédire les courbes d'inactivation :

$$\log_{10} N(t_{CEP}) / N_0 = - [t_{CEP} \cdot A \cdot \exp(-B/E)]^{\bar{\beta}} / 2,303 \quad \text{Équation II-12}$$

où t_{CEP} (ms) est le temps effectif du traitement CEP, $N(t_{CEP})$ (UFC·mL⁻¹) est la concentration en microorganisme cible à l'instant t_{CEP} , N_0 (UFC·mL⁻¹) est la concentration en microorganisme cible initiale, A (μs⁻¹) et B (kV·cm⁻¹) sont les paramètres du modèle secondaire en fonction de la nature du microorganisme cible, E (kV·cm⁻¹) est l'intensité du champ électrique étudiée et $\bar{\beta}$ (-) est la moyenne des paramètres de forme.

II.3.5.3 Calcul de valeur 5-D

La valeur du paramètre 5-D est proposée, elle correspond au temps de traitement nécessaire pour obtenir une réduction de 5 log₁₀ du microorganisme indicateur cible, c'est-à-dire l'hygiénisation bactérienne du produit [265]. Les valeurs 5-D en fonction de l'intensité du champ électrique et du microorganisme cible ont été calculées selon l'équation suivante :

$$5-D = \alpha \cdot (5 \times 2,303)^{1/\beta} \quad \text{Équation II-13}$$

où α (μs) est le paramètre d'échelle du modèle de Weibull et β (-) est le paramètre de forme du modèle de Weibull, tous deux obtenus à l'aide des **Équations II-10** et **II-12**.

II.3.5.4 Évaluation de qualité de modélisation

La qualité de modélisation réalisée par le modèle de Weibull primaire et le modèle de Weibull couplé a été évaluée par le coefficient de détermination ajusté (R^2 ajusté), la somme des erreurs au carré (*Sum of Squared Errors*, SSE) et l'erreur moyenne quadratique (*Root Mean Squared Errors*, RMSE), comme cela est indiqué dans les **Équations II-5**, **II-6**, **II-7** et **II-8**. La modélisation a été réalisée avec R studio® (R Studio Inc., Massachusetts, États-Unis) et le résultat mis en forme avec Microsoft Office 2016® (Microsoft, Washington, États-Unis). La **Figure II-13** présente un exemple de modélisation réalisée par R studio®.

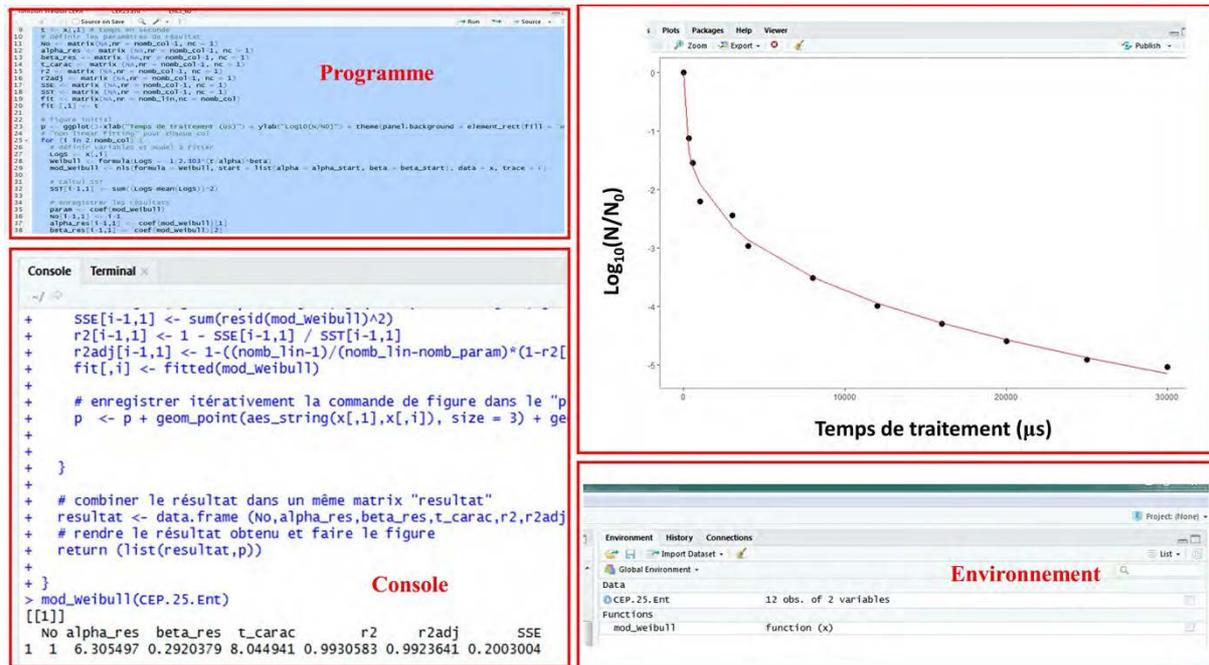


Figure II-13 Capture d'écran de l'interface R studio® lors d'une modélisation de courbe d'abattement microbien par le modèle de Weibull.

II.4 Étude expérimentale de l'hygiénisation des SPAN dans un procédé en continu couplant CEP et chauffage ohmique

II.4.1 Système de traitement par CEP en continu

Comme l'illustre la **Figure II-14**, le système de traitement par CEP en continu est composé d'un générateur haute tension pouvant atteindre une tension électrique au maximum 22,5 kV (MU-17-807-A-FR 22.5 kV, ITHPP, Thégra, France), une cellule permettant un traitement en continu, un ordinateur pour régler les paramètres et enregistrer des données, un système de refroidissement et un système d'alimentation de la suspension bactérienne (bouteille de suspension, plaque d'agitation magnétique, pompe péristaltique et mesure de température par thermomètre infrarouge).

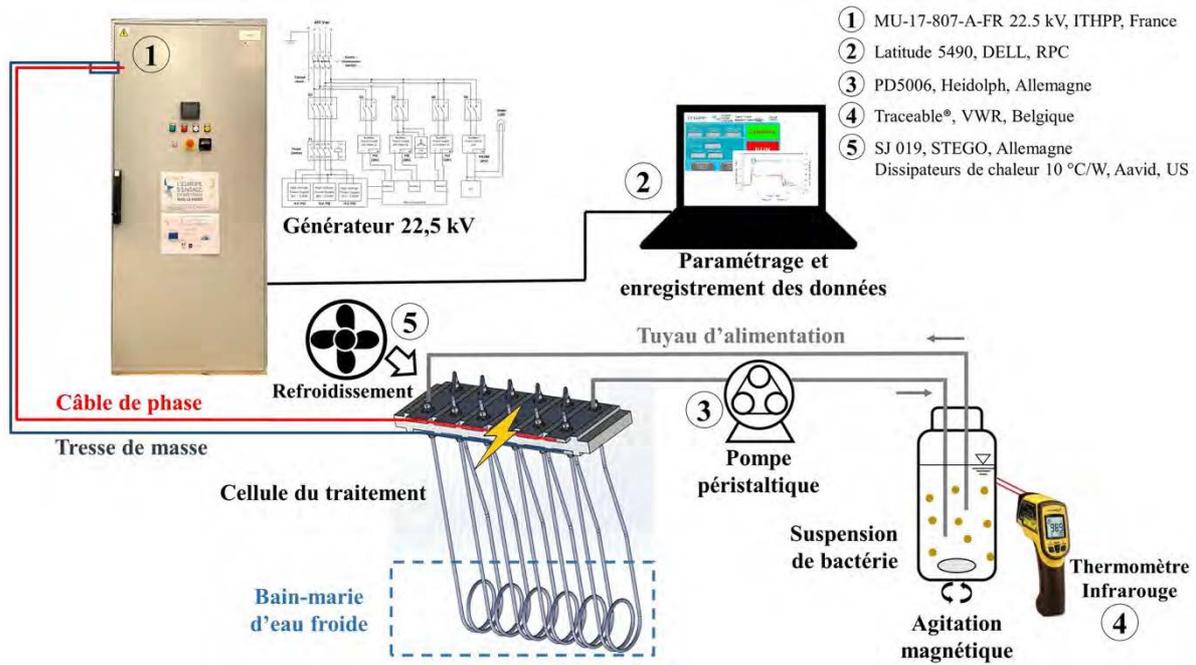


Figure II-14 Schéma du système expérimental de traitement par CEP en continu.

II.4.1.1 Générateur ITHPP MU-17-807-A-FR 22.5 kV

La structure du générateur (Figure II-15) repose sur le principe du générateur de Marx unipolaire positif. Le générateur est composé de 3 modules de puissance réalisés à l'aide d'interrupteurs à semi-conducteurs adaptés à une utilisation en régime impulsionnel [275]. La conception du générateur permet d'alimenter aussi bien des charges résistives que capacitives.

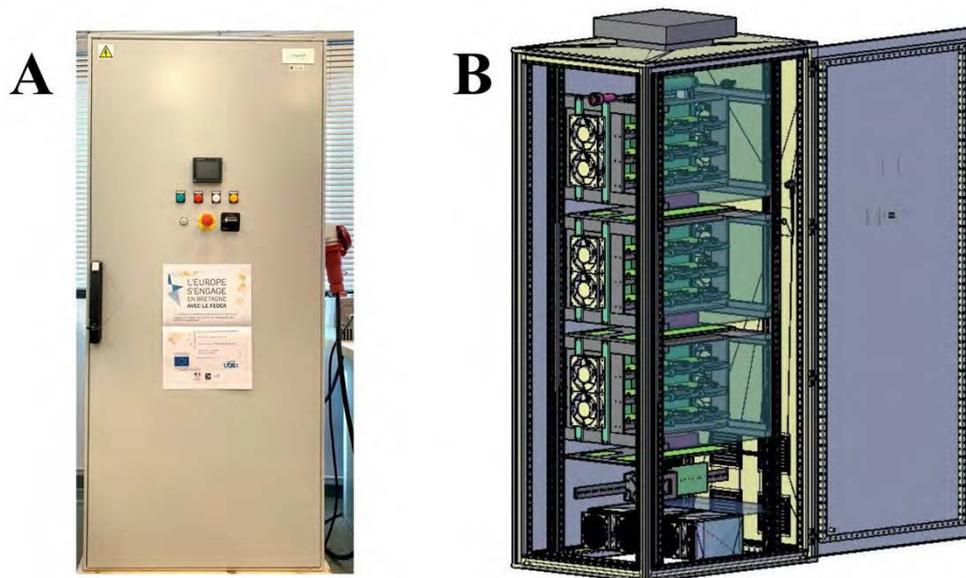


Figure II-15 A) Photographie du générateur 22,5 kV et B) schéma d'implantation 3D.

Les impulsions délivrées sont quasi-rectangulaires. La tension est programmable de 3,0 kV à 22,5 kV, et le courant peut aller jusqu'à 170 A. Le temps de montée peut atteindre 250 ns sous charge résistive. Le générateur est protégé contre les courts-circuits et les surcharges. La puissance maximale en sortie est de 10 kW. Le **Tableau II-3** rassemble les spécifications du générateur.

Tableau II-3 Spécifications du générateur ITHPP [275].

Paramètres	Commentaires
Entrée	
Tension	400 Vac triphasé avec neutre et terre
Sortie	
Tension maximale	22 500 V pulsé. Valeur efficace max = 500 V
Polarité des impulsions	Positive
Courant maximal	170 A pulsé, Valeur efficace max de 10 A
Puissance maximale en entrée	10 500 W
Fréquence maximale	200 Hz (limité par la puissance)
Temps de montée des impulsions	250 ns (selon le courant délivré et le type de charge)
Énergie stockée	1 520 J à 840 V de charge du banc de condensateurs
Largeur d'impulsions	Entre 2 μ s et 200 μ s (limité par la chute de tension)
Rendement énergétique	> 90%
Autres informations	
Protection	Protection rapide contre les courts-circuits en sortie Protection lente contre les surcharges Protection de puissance de sortie maximale Protection de température
Refroidissement	Convection forcée
Indice de protection (IP)	IP54
Température d'utilisation	-20 à +45 °C
Humidité	90%

Le système possède 4 modes opératoires :

- Impulsion seule – une seule impulsion est appliquée à la charge (**Figure II-16 A**)
- BURST – un seul train d'impulsion est appliqué à la charge
- Impulsions multiples – un nombre prédéfini d'impulsions est appliqué à la charge
- Mode continu – les impulsions sont appliquées continuellement (**Figure II-16 B**)

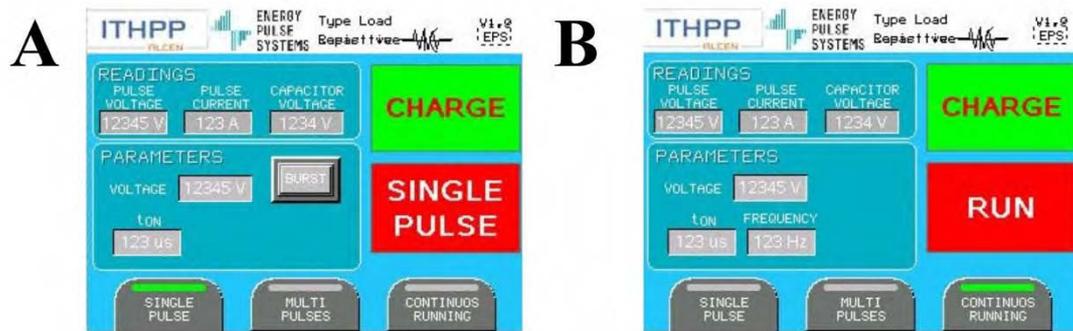


Figure II-16 A) Interface du paramétrage du générateur pour une impulsion simple et B) impulsions en continu.

Les sondes de la tension et du courant de sortie permettent la visualisation des formes d'ondes envoyées. La **Figure II-17** présente l'enregistrement d'une impulsion de durée $10 \mu\text{s}$ à $6\,250 \text{ V}$ à l'aide du logiciel oscilloscope PicoScope® 6 (Pico Technology Ltd., St Neots, Royaume-Uni).

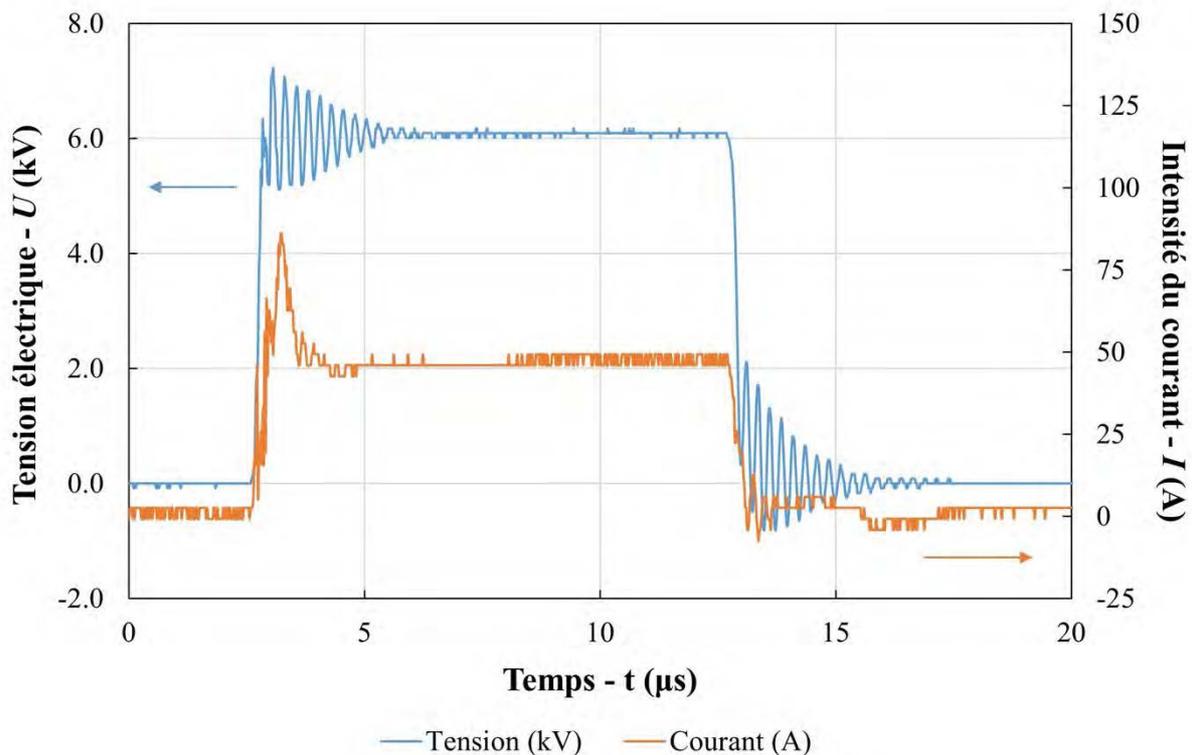


Figure II-17 Enregistrement d'une impulsion de durée $10 \mu\text{s}$ à $6\,250 \text{ V}$, données collectées par le logiciel PicoScope® 6 (Pico Technology Ltd., St Neots, Royaume-Uni).

II.4.1.2 Cellule du traitement par CEP en continu

Le banc d'essai (**Figure II-18**) est composé de 12 chambres reliées en série par des tubes flexibles Tygon® E-3603 de diamètre intérieur égale à 8 mm (Saint-Gobain, Charny, France). La circulation du fluide est assurée par une pompe péristaltique (PD5006, Heidolph, Schwabach, Allemagne). Le générateur de haute tension transmet le voltage en parallèle simultanément aux 12 chambres. Le polyoxyméthylène (POM) est le matériau constituant le corps principal de l'ensemble de l'unité de traitement.

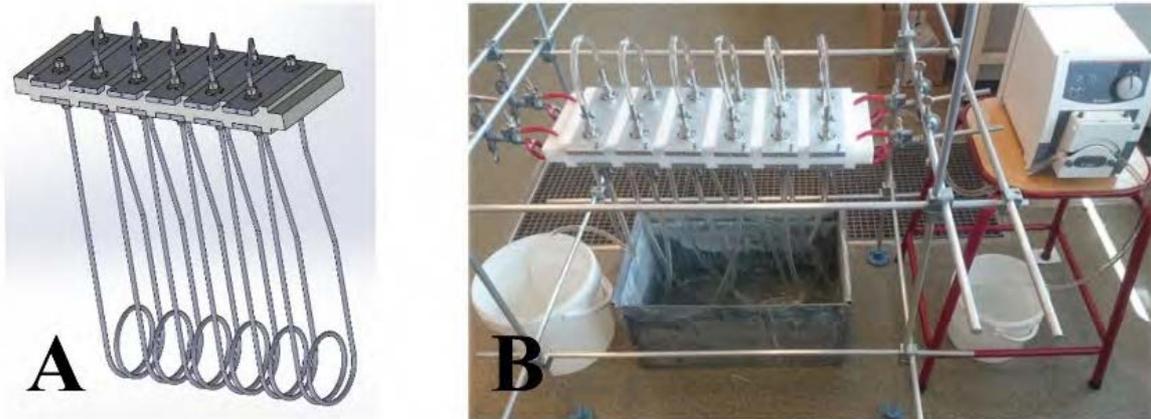


Figure II-18 A) Schéma 3-D et photographie (B) de la cellule en continu.

Chaque chambre est composée de 2 connexions mâles inox 316 pour tube de diamètre extérieur 8 mm - ISO mâle parallèle 1/2" (Swagelok, France) faisant office d'anode et cathode et isolées électriquement par une rondelle en polytétrafluoroéthylène (PTFE). Les dimensions de la cellule sont présentées sur la **Figure II-19**.

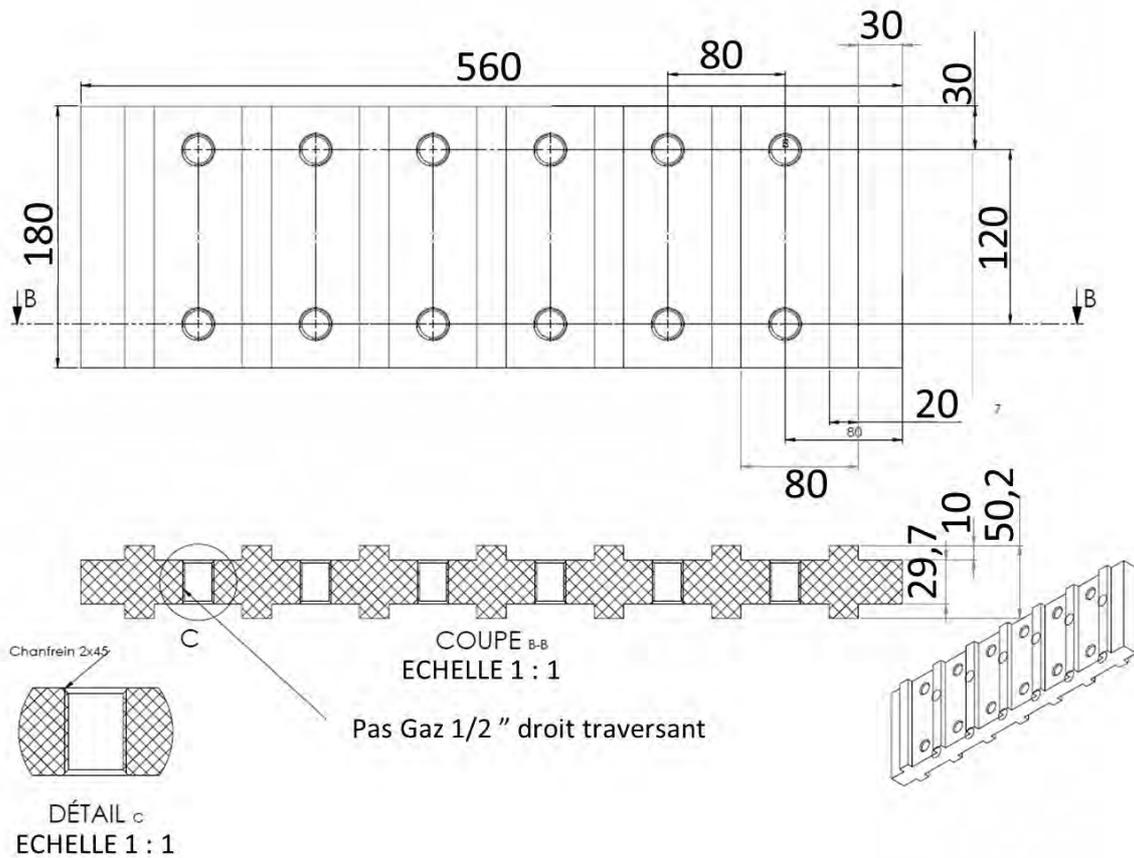


Figure II-19 Plan de la cellule en continu.

La zone soumise aux champs électriques pulsés mesure $2,58 \pm 0,04$ mm d'épaisseur (Figure II-20). Après chaque passage dans un réacteur le tube est refroidi par un passage dans l'air puis par une immersion dans de l'eau afin de limiter l'élévation de température par chauffage ohmique qui a un effet synergique sur la destruction des bactéries cibles (Figure II-21).

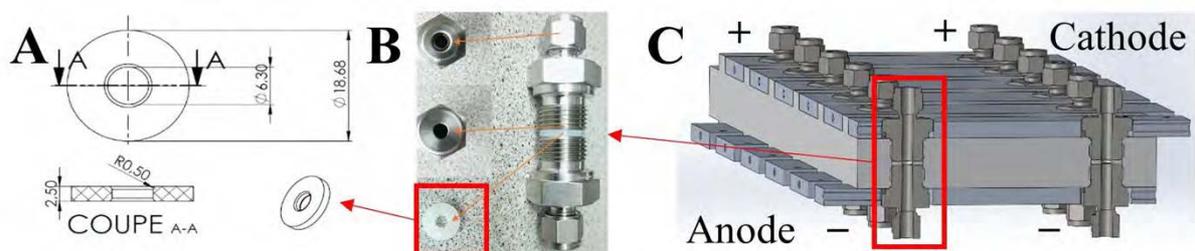


Figure II-20 A) Dimensions de la rondelle en PTFE et B) Électrode démontée et C) Coupe longitudinale 3D de la cellule.

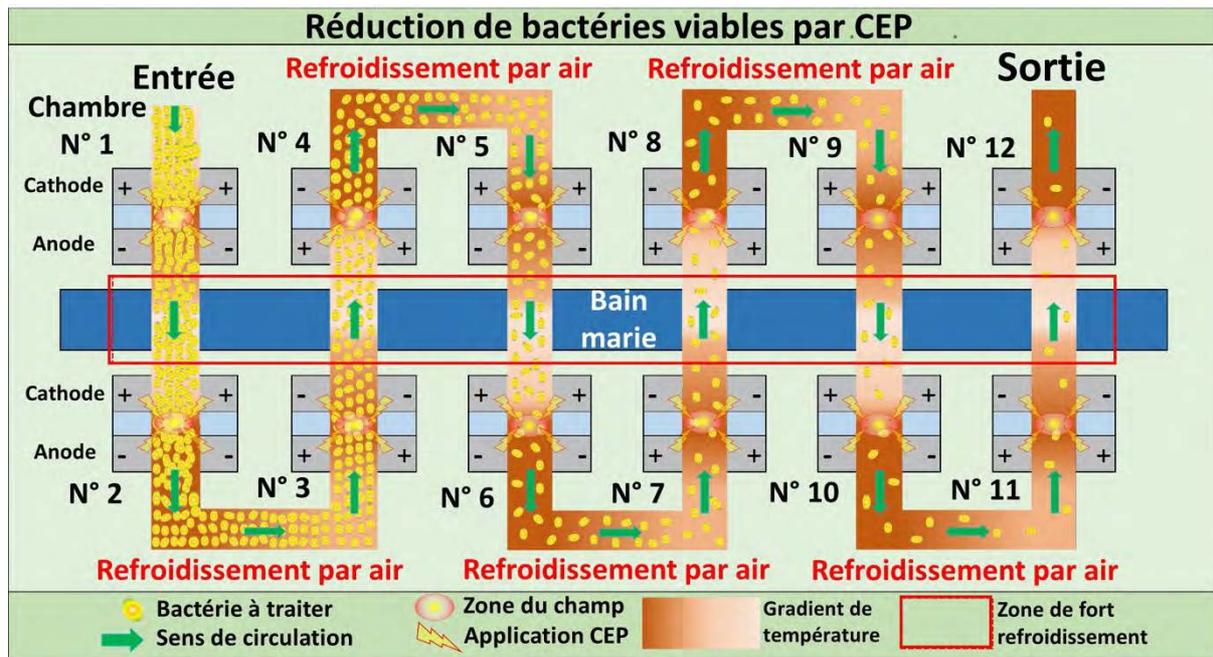


Figure II-21 Schéma descriptif de la réduction du nombre de bactéries par traitement CEP dans la cellule en continu.

II.4.1.3 Système de refroidissement

Le refroidissement par bain-marie d'eau froide est effectué toutes les deux chambres de traitement CEP par le passage du fluide dans un tube d'abord dans l'air ambiant puis dans l'eau glacée avant de repasser enfin dans une portion d'air ambiant. Afin de renforcer le refroidissement, des dissipateurs de chaleur ont été installés sur la surface des électrodes supérieures et inférieures (**Figure II-22**).

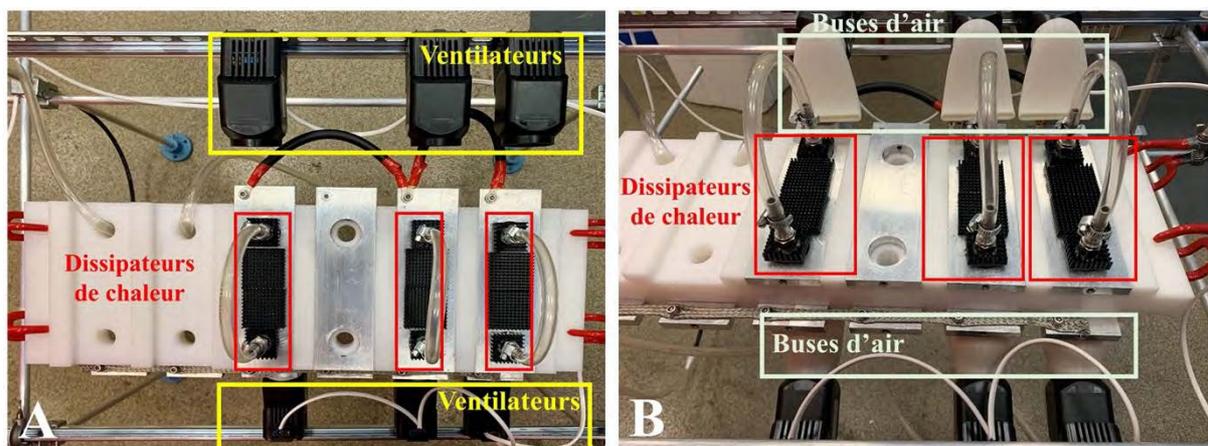


Figure II-22 Photographie de la cellule utilisée en continu équipée du système de refroidissement A) Ventilateurs sans buse d'air et B) Ventilateurs avec buses d'airs conçues et imprimées en 3-D au laboratoire.

Des dissipateurs de chaleur à ailettes de résistance $10\text{ °C}\cdot\text{W}^{-1}$ en aluminium (Aavid, New Hampshire, États-Unis) ont été utilisés. Ils ont été d'abord percés afin de pouvoir être installés sur la surface des électrodes en acier inoxydable (**Figure II-23**). De la graisse thermique en silicone $5\text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ (RS, Beauvais, France) a été utilisée pour établir la liaison thermique par conduction entre l'électrode et le dissipateur. D'autres dissipateurs non percés ont été collés sur la plaque métallique de la cellule pour intensifier la dissipation thermique des plaques métalliques.

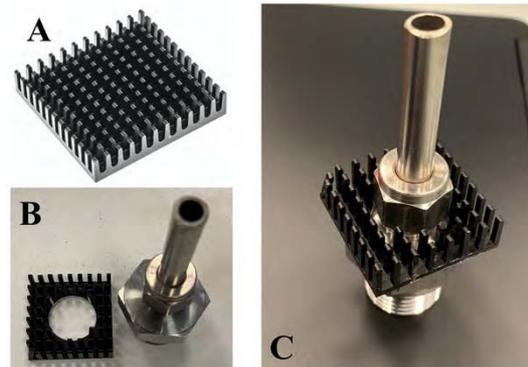


Figure II-23 A) Photographie du dissipateur de chaleur $10\text{ °C}\cdot\text{W}^{-1}$ (Aavid, New Hampshire, États-Unis), B) Dissipateur de chaleur percé et C) Dissipateur de chaleur installé sur l'électrode à l'aide de la graisse thermique en silicone $5\text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ (RS, Beauvais, France).

Afin que la chaleur soit dissipée le plus rapidement possible, le transfert thermique entre le dissipateur et l'air ambiant a été renforcé par six ventilateurs STEGOJET SJ 019 (STEGO, Schwäbisch Hall, Allemagne). Ils peuvent offrir un soufflage précis (flux d'air = $27,6\text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$) sur les points critiques et éviter ainsi l'accumulation de chaleur. La **Figure II-24** donne les dimensions d'un ventilateur. Ils ont été fixés sur deux rails DIN 35 mm. De plus, des buses d'air imprimés en 3-D par le FabLab du site universitaire de Pontivy (IUT de Lorient et Pontivy) ont été montées sur les ventilateurs. Cette pièce permet de diriger l'écoulement d'air vers les dissipateurs thermiques de façon plus précise en permettant de faciliter le refroidissement des électrodes.

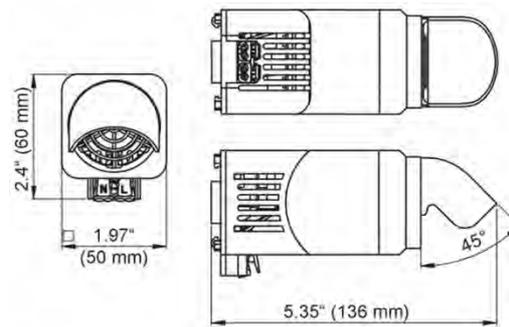


Figure II-24 Dimensions du ventilateur SJ 019 (STEGO, Schwäbisch Hall, Allemagne).

II.4.2 Protocole du traitement par CEP en continu

II.4.2.1 Préparation des suspensions de microorganismes

Le même mélange des sous-produits animaux mentionné dans la **Section II.3** a été utilisé pour réaliser les suspensions. Les mêmes souches indicatrices *Ent. faecalis* et *E. coli* ont été cultivées dans 100 mL de bouillon nutritif ordinaire (CM0001, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) à 37 ± 1 °C pendant 24 h et 20 h respectivement pour atteindre leur phase stationnaire. Ces 100 mL de bouillon de culture obtenus après incubation ont été ensuite ajoutés à 100 g de SPAN tamisé (800 μm) dans une bouteille de 1 800 mL d'eau déminéralisée stérile afin d'ajuster la conductivité électrique finale (σ) à $2\,000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (à température ambiante). Une population microbienne initiale allant de $5,0 \cdot 10^6$ à $2,5 \cdot 10^7$ UFC $\cdot\text{mL}^{-1}$ pour *Ent. faecalis* et *E. coli* a été obtenue par les dilutions en série.

La circulation de la suspension de SPAN en continu dans la cellule du traitement a été réalisée par la pompe péristaltique réglée à $400 \text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$ (soit une vitesse moyenne de $15 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ et un nombre de Reynolds de 3 000 au sein du tuyau Tygon®). Six chambres de traitement ont été utilisées afin d'obtenir un temps de séjour total du fluide de 31,2 ms dans l'installation.

La cellule du traitement et les différentes canalisations ont été désinfectées par une solution de P3-Oxonia Active™ (2% v/v, ECOLAB®, Minnesota, US) et ensuite rincées par de l'eau déminéralisée stérile avant et après chaque manipulation. Le P3-Oxonia Active™ est une solution contenant des peroxyacides (acide peracétique et peroxyde d'hydrogène) utilisée à des fins sanitaires dans les industries agroalimentaires (avec effets bactéricide, fongicide et sporicide). Dans les conditions habituelles d'emploi, il ne présente pas de comportement corrosif vis-à-vis de la plupart des matériaux utilisés (en particulier l'acier inoxydable).

II.4.2.2 Traitement couplant CEP et chauffage ohmique

Les cinétiques d'inactivation des bactéries indicatrices cibles à différentes intensités de champ électrique ($E = 15, 20, 25$ et $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) ont été étudiées avec un temps de traitement effectif des CEP (t_{CEP}) prolongé jusqu'à 1 ms. En conséquence, la tension délivrée par le générateur variait de 3 750 à 7 500 V pour des rondelles de PTFE de 2,5 mm d'épaisseur.

Ce traitement par CEP a été couplé avec du chauffage ohmique (CO) provoqué par le passage du courant électrique lors des impulsions. La température de la suspension dans la bouteille a été maintenue inférieure à 55 °C. Le couplage du traitement par CEP et CO permet d'étudier l'effet synergique de ces deux traitements. Les essais ont été divisés en plusieurs trains, le temps de traitement d'un train (t_{train}) étant fixé à 2,2 min (temps requis pour traiter 2 L de suspension), ce qui correspond à un temps effectif de traitement CEP t_{CEP} égal à 0,06 ms. Après chaque train, la température de la suspension dans la bouteille a été mesurée par un thermomètre infrarouge (Traceable®, VWR, Belgique). Un temps de repos entre 2 trains (10 min au maximum) pouvait être appliqué lorsque la température du milieu était légèrement au-dessus de 55 °C. Pendant le temps de repos, la circulation du fluide a été maintenue afin de refroidir l'ensemble de l'installation (les 6 chambres de traitement et les 2 litres de suspension) par le système de refroidissement composé d'un bain-marie rempli d'eau glacée et de six ventilateurs.

Afin d'étudier le simple effet du traitement CEP de son effet couplé avec le chauffage ohmique, des expériences de traitement CEP à $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ en maintenant une température inférieure à 35 °C ont été effectuées pour les deux microorganismes indicateurs.

II.4.2.3 Dénombrement des bactéries cultivables

Cinq millilitres de suspension traitée ont été prélevés dans la bouteille et mis dans l'eau glacée pour des analyses microbiologiques. Les suspensions prélevées ont été diluées en série par la solution peptone-sel (Maximum Recovery Diluent CM0733, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) en duplicat. Les colonies d'*Ent. faecalis* ont été dénombrées en utilisant le milieu Slanetz & Bartley (CM0377, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) incubés à 37 °C pendant 48 h. Les colonies d'*E. coli* ont été dénombrées en utilisant le milieu Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) (CM0945, Oxoid™, Basingstoke, Royaume-Uni) incubés à 37 °C pendant 24 h.

II.4.2.4 Modèles mathématiques

Le même modèle de Weibull (Équation II-10) utilisé pour la modélisation des cinétiques en batch a été utilisé pour les résultats obtenus par les traitements continus. Le détail lié au protocole de modélisation est fourni dans la Section II.3.5.

II.5 Modélisation numérique du procédé d'hygiénisation par CEP des SPAN dans un procédé en continu

II.5.1 Discrétisation du système

La modélisation de la destruction bactérienne en l'amont et l'aval de la chambre de traitement implique la prise en considération de 3 dispersions spatiales du groupe arrivant à un instant donné : dispersion dynamique, électrique et thermique.

1/ Dispersion dynamique : les bactéries proches des parois ont une vitesse plus faible et donc un temps de séjour dans la chambre plus important que celles près de l'axe de symétrie ;

2/ Dispersion électrique : l'intensité du champ électrique près des électrodes est beaucoup plus importante que loin des électrodes et près de l'axe ;

3/ Dispersion thermique : le chauffage par effet Joule est plus important dans les zones à grande intensité de champ électrique tout en étant sensible à la dispersion dynamique due au transfert convectif.

Pour utiliser le modèle de destruction bactérienne précédent, il est nécessaire de pouvoir évaluer les doses reçues par chaque bactérie d'un groupe de bactéries lors de leur passage dans la chambre de traitement. Certaines bactéries passent au ras la paroi et ont donc un temps de séjour important, qui plus est, dans des zones de forte intensité électrique et de haute température. Au contraire, les bactéries circulant près de l'axe de symétrie ont un faible temps de séjour et traversent des zones moins intenses électriquement et moins chaudes. Ainsi, chaque bactérie a une histoire en propre, essentiellement déterminée par sa position en section d'entrée de la chambre, au voisinage ou au loin de la paroi. Chaque bactérie va absorber une dose qui est égale à l'intensité du champ électrique E fois le temps effectif de traitement t_{CEP} qui est la fraction du temps de séjour correspondant à la fraction temporelle active du champ pulsé. En d'autres termes, l'histoire vécue par les bactéries est obtenue en calculant leur position à chaque instant entre l'entrée et la sortie de la chambre. Ensuite, il faut modéliser l'intensité du champ

électrique et du champ thermique en tout point de la chambre. On suppose que les bactéries sont des systèmes lagrangiens indéformables qui se déplacent avec le fluide : leur vitesse est donc tout simplement la vitesse de la ligne de courant sur laquelle elles sont situées en section d'entrée. L'écoulement est supposé laminaire en accord avec les valeurs expérimentales de débits et de diamètre. Les phénomènes de collision et d'agrégation sont supposés être négligeables. La position de chaque bactérie peut être déduite de la vitesse d'écoulement du fluide. À chaque instant et moyennant la connaissance des champs électrique et thermique en tout point de la chambre de traitement, on peut évaluer les doses reçues par toutes les bactéries du groupe malgré leurs dispersions spatiale et temporelle. On peut ainsi prédire l'effet létal obtenu par le procédé CEP.

L'étude a été réalisée en considérant une seule chambre de traitement. Le profil de la chambre est symétrique et cylindrique. La zone quadrillée en vert sur le schéma de la **Figure II-25** permet de décrire la distribution de vitesse de l'écoulement, du champ électrique et de la température. Dans ce travail, la chambre de traitement supposée axisymétrique est discrétisée en 450 (30×15) mailles rectangulaires respectivement pour les descriptions axiale et radiale. Ce maillage permet de déterminer toutes les informations Eulériennes locales de l'écoulement (composantes de vitesse axiale et radiale, pression relative, intensité du champ électrique, valeur de la température). Ces informations sont obtenues par calcul itératif (équations partielles non linéaires, problème multi-physique couplé fort) des équation bilans pour l'écoulement, le champ électrique et l'énergie. Les doses reçues par les bactéries cibles peuvent ainsi être calculées à partir de ces paramètres physiques, de la connaissance de la fraction temporelle d'activation du champ électro-pulsé et des modèles batch de Weibull (cinétiques de destruction microbienne établies en batch pour les traitements électrique et thermique).

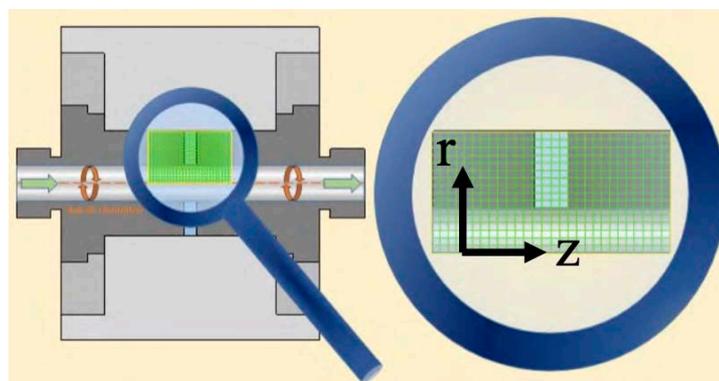


Figure II-25 Schéma de localisation de la modélisation.

II.5.2 Bilan de dynamique des fluides

Le flux de bactéries en suspension qui circule à l'intérieur de la chambre de traitement est gouverné par les équations de Navier-Stokes. Les propriétés équivalentes du fluide étudié sont supposées être similaires à celles de l'eau. La suspension étudiée est supposée être un fluide newtonien incompressible. L'expression des équations de continuité et de Navier-Stokes peut donc être grandement simplifiée. On obtient alors les **Équations II-14 et II-15**.

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0 \quad \text{Équation II-14}$$

$$\rho \left[\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} \right] = -\nabla p + \mu \nabla^2 \mathbf{v} + \rho \mathbf{f} \quad \text{Équation II-15}$$

où t (s) est le temps, \mathbf{v} ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) est le vecteur de vitesse, ∇ est l'opérateur *nabla*, p (Pa) est la pression relative thermodynamique, μ ($\text{Pa}\cdot\text{s}$) est la viscosité du fluide, ρ ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) est la masse volumique du fluide et \mathbf{f} ($\text{N}\cdot\text{kg}^{-1}$) est le vecteur résultante des forces volumétriques s'exerçant dans le fluide. On suppose que la force de gravité est négligeable, et qu'il n'existe pas d'autre force volumétriques pouvant influencer l'écoulement ($\mathbf{f} = 0$). Les équations de l'écoulement sous ces hypothèses sont résolues et mènent dans le cas d'un régime laminaire ($\text{Re} < 2\,100$), à l'écoulement dit de Poiseuille pour lequel une solution analytique existe. Le profil de vitesse est donc connu et est exprimé par l'**Équation II-16**.

$$v_z(r) = 2 \bar{v}_z \cdot \left[1 - \left(\frac{r}{R} \right)^2 \right] \quad \text{Équation II-16}$$

où $v_z(r)$ ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) est la composante suivant l'axe (Oz) du vecteur vitesse, r (m) le rayon considéré, R (m) est le rayon de la conduite et \bar{v}_z ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) est la vitesse moyenne du fluide dans la conduite, c'est-à-dire le débit divisé par la section du tuyau. La vitesse du fluide ne dépend donc que du rayon dans notre cas.

On suppose que les conditions aux limites sont telles que :

- à l'entrée : $v_z(r) = 2 \bar{v}_z \cdot \left[1 - \left(\frac{r}{R} \right)^2 \right]$ et $v_r = 0$
- à la sortie : $p = 0$ et $v_r = 0$
- absence de glissement aux parois

II.5.3 Bilan électrique

La chambre de traitement contenant la suspension de bactéries (conduite pleine) ne peut, à proprement parler, être considérée comme un milieu diélectrique pur. Les électrodes

métalliques en contact avec le liquide vont provoquer un transfert de charge à l'interface. Le milieu est donc à la fois faiblement conducteur ionique et diélectrique. Dans cette partie, on le supposera conducteur ohmique. La distribution du potentiel électrique est alors donnée par l'équation de Laplace (**Équation II-17**) :

$$\nabla \cdot [\mathbf{J}] = \nabla \cdot [\sigma(T) \mathbf{E}] = \nabla \cdot [-\sigma(T) \nabla \varphi] = 0 \quad \text{Équation II-17}$$

où \mathbf{J} ($\text{A}\cdot\text{m}^{-2}$) est la densité de courant locale, $\sigma(T)$ ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$) est la conductivité électrique du fluide à la température T , φ (V) est le potentiel électrique et \mathbf{E} ($\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$) est le vecteur de l'intensité du champ électrique, égale à $-\nabla\varphi$.

On suppose que les conditions limites sont telles que :

- à l'anode : $\varphi = \varphi_{\text{pulse}}$ (selon l'alternance du champ électro pulsé soit 0 lorsqu'il est inactif, soit 22,5 kV lorsqu'il est actif). La durée d'activité du potentiel imposé est notée τ (s) tandis que la période T (s) est égale à $1/f$ (fréquence CEP en Hz).
- à la cathode : $\varphi = 0$
- sur la face externe de l'isolant : densité du courant $\mathbf{J} = 0$
- à l'entrée et la sortie du fluide : densité du courant $\mathbf{J} = 0$

II.5.4 Bilan de chaleur

La température au sein du milieu est régie par l'équation de la chaleur (**Équation II-18**).

$$\rho C_p(T) \left(\frac{\partial T}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla T \right) = \nabla \cdot [\lambda_t(T) \cdot \nabla T] + \text{source} \quad \text{Équation II-18}$$

Le terme source est lié au chauffage par effet Joule. Il dépend d'un certain nombre de paramètres du procédé et des propriétés du produit comme montré par l'**Équation II-19**.

$$\text{source} = K(t) \cdot \sigma[T(r, z)] \cdot E(r, z)^2 \quad \text{Équation II-19}$$

où $K(t)$ (–) est une fonction dépendant du temps ($K(t) = 1$ au moment de l'impulsion et $= 0$ en absence de l'impulsion), $\sigma[T(r, z)]$ ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$) est la conductivité électrique du fluide à la température T de la maille (r, z) et $E(r, z)$ ($\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$) est l'intensité du champ électrique pour la maille (r, z) considérée à l'instant considéré.

Si on considère un CEP de haute fréquence, on s'intéresse alors à une valeur moyenne du terme source qui est liée à la proportion de temps d'activation τ (s) sur la période t (s) du champ électrique pulsé. La moyenne temporelle de $K(t)$ vaut $\tau \times f$.

II.5.5 Couplage des modèles

La **Figure II-26** présente le modèle numérique faisant intervenir simultanément 3 phénomènes physiques couplés : la mécanique des fluides, le champ électrique et le champ thermique, exprimés respectivement par les équations de Navier-Stokes, l'équation de Laplace et l'équation de la chaleur convecto-diffusive avec chauffage ohmique. Ces trois phénomènes physiques couplés ont été résolus à la fois en régime transitoire et permanent. L'aspect thermo-électro-bactériologique apparaît alors comme un post-traitement des solutions ainsi obtenues. Pour cela, le modèle expérimental de destruction bactérienne obtenu en batch (modèle de Weibull) a été utilisé.

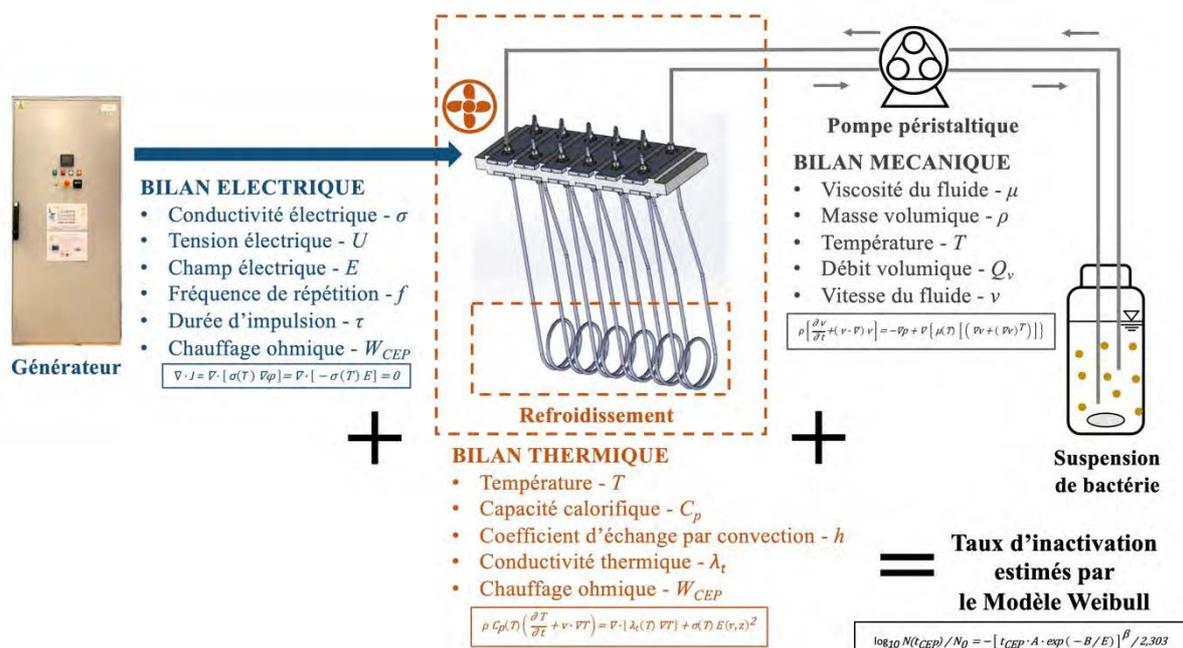


Figure II-26 Schéma décrivant les différentes grandeurs et lois utilisées.

La masse volumique ρ , la capacité thermique C_p , le coefficient de conductivité thermique λ_t et la viscosité de fluide μ , bien que dépendants rigoureusement de la température et de la composition locales, ont été supposés dans ce travail constants lors des simulations. On fait donc l'hypothèse d'un couplage faible entre la mécanique des fluides et la thermique. Par contre, l'évolution de la conductivité électrique en fonction de la température a été mesurée et prise en compte ce qui crée un couplage fort entre les champs électrique et thermique.

Chapitre III Hygiénisation thermique - effets sur inactivation microbienne et potentiel méthanogène

Chapitre III Hygiénisation thermique - effets sur inactivation microbienne et potentiel méthanogène..... 125

III.1 Caractérisation de la résistance des microorganismes indicateurs à la pasteurisation thermique..... 126

III.1.1 Cinétique de destruction des microorganismes indicateurs..... 126

III.1.2 Modélisation - modèle de Weibull primaire..... 129

III.1.3 Modélisation - modèle secondaire 130

III.1.4 Conclusions 131

III.2 Effet de l'hygiénisation thermique sur le potentiel méthanogène des biodéchets 132

III.2.1 Intensification du potentiel méthanogène..... 132

III.2.2 Discussion..... 137

III.2.3 Conclusions 138

III.3 Conclusions..... 139

Le **Chapitre III** sert à l'étude de l'hygiénisation thermique. Dans la première partie, un protocole a été mis en œuvre pour obtenir les cinétiques de destruction des microorganismes cibles par traitement thermique en milieu artificiel à différentes températures. Cette étude permet de caractériser la résistance des bactéries indicatrices à la chaleur. Cela permettra d'approfondir la connaissance sur les microorganismes cibles (*Ent. faecalis* et *E. coli*) et donc aidera la compréhension du comportement de ces deux souches bactériennes lors du traitement électrique qui provoque également des stress thermiques par chauffage ohmique.

Dans la deuxième partie du chapitre, des tests de méthanisation ont été réalisés afin d'étudier l'impact de l'hygiénisation thermique sur les cinétiques de la production de biogaz de différents déchets organiques. Ce résultat de la pasteurisation thermique est comparé avec la thèse du Dr Mohamad Amr Chamaa qui a traité du sujet de l'effet du prétraitement par CEP sur l'intensification du BMP des substrats organiques.

III.1 Caractérisation de la résistance des microorganismes indicateurs à la pasteurisation thermique

III.1.1 Cinétique de destruction des microorganismes indicateurs

Les cinétiques d'inactivation thermique des deux bactéries indicatrices ont été réalisées à 55, 60, 65 et 70 °C. La fraction cultivable a été dénombrée en utilisant la méthode NPP et les réductions décimales sont présentées en fonction du temps de traitement (t) dans la **Figure III-1** pour *Ent. faecalis* et dans la **Figure III-2** pour *E. coli*. Il est évident que la température de traitement (T) a joué un rôle important dans l'efficacité de la pasteurisation. Cependant, les deux bactéries indicatrices présentent un comportement différent lorsqu'elles sont exposées à un même stress thermique.

La bactérie Gram positive « G+ » *Ent. faecalis* est légèrement inactivée à 55 °C après un traitement de 1,0 h (0,24 log₁₀) et 1,5 h (1,28 log₁₀) alors qu'à 60 °C, un traitement de 20 min est suffisant pour obtenir une réduction de 4,0 log₁₀. Lorsque la température de pasteurisation passe de 65 °C à 70 °C, il ne faut que 150 s et 35 s pour une réduction de plus de 5 log₁₀.

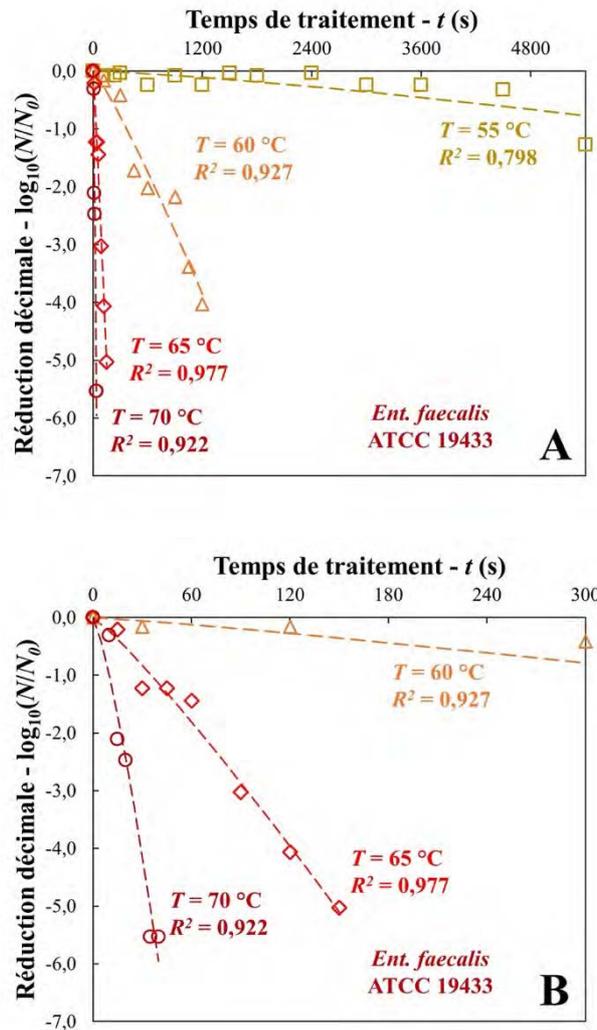


Figure III-1 Inactivation thermique de la souche *Ent. faecalis* ATCC 19433 à 55, 60, 65 et 70 °C. A) Données complètes et B) Zoom sur les 5 premières minutes. Les points représentent les données expérimentales. Les courbes représentent les valeurs modélisées par le modèle de Weibull.

En ce qui concerne *E. coli*, qui est une bactérie Gram négative « G- », elle est plus sensible à la chaleur et sa cinétique d'inactivation est totalement différente. Une pasteurisation à 55 °C peut aisément conduire à une réduction de 5 log₁₀ en 20 min. Lorsque la température augmente, la cinétique est nettement plus rapide : à 70 °C, moins de 10 s suffisent pour une réduction décimale supérieure à 6 log₁₀.

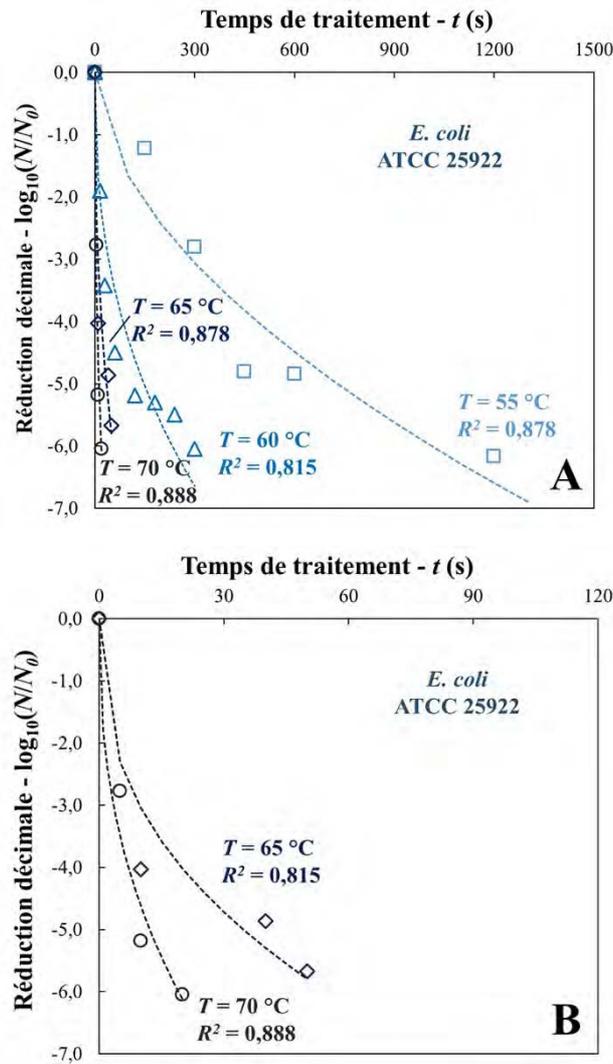


Figure III-2 Inactivation thermique de la souche *E. coli* ATCC 25922 à 55, 60, 65 et 70 °C. A) Données complètes et B) Zoom sur les 2 premières minutes. Les points représentent les données expérimentales. Les courbes représentent les valeurs modélisées par le modèle de Weibull.

Il convient de noter que la forme des courbes d'inactivation d'*Ent. faecalis* diffère de celle d'*E. coli*. *Ent. faecalis* présente une forme concave alors que pour *E. coli*, la forme est convexe. La forme concave peut être due au fait que les bactéries, initialement résistantes au stress thermique, accumulent les dommages thermiques sublétaux en début de traitement. Par la suite et, petit à petit, les bactéries ne sont plus en mesure de survivre à la pasteurisation.

Au contraire, la forme convexe pourrait être expliquée par la vulnérabilité de la majeure partie de la population d'*E. coli* à la pasteurisation thermique alors qu'une fraction des bactéries est plus résistante.

III.1.2 Modélisation - modèle de Weibull primaire

Les cinétiques de destruction ont été modélisées en utilisant le modèle de Weibull (**Équation II-1**). Ce modèle suppose une distribution non homogène au stress externe dans une population d'échantillons (population des indicateurs *Ent. faecalis* et *E. coli* dans notre cas). Les courbes modélisées sont présentées dans les **Figures III-1** et **III-2**. Le **Tableau III-1** résume également les valeurs des paramètres et la qualité de la modélisation du modèle utilisé. On constate que la modélisation des cinétiques de destruction microbienne est très satisfaisante. La modélisation des entérocoques est généralement meilleure que celle des coliformes.

Ce tableau donne également le temps pour atteindre la réduction bactérienne de 5 log₁₀ (*5-D*, cf. **Équation II-4**) qui correspond au critère de l'efficacité de pasteurisation fixé par l'UE. On constate que la valeur *5-D* d'*Ent. faecalis* est réduite d'un facteur 10 lorsqu'on augmente de 5 °C entre 55 °C et 65 °C alors qu'elle est réduite d'un facteur 5 entre 65 °C et 70 °C. Il est à noter que la souche *Ent. faecalis* présente une résistance plus importante par rapport au stress thermique. La pasteurisation à 55 °C n'a quasiment aucun effet sur l'inactivation de la souche « G+ ».

Tableau III-1 Résumé de paramètres du modèle de Weibull primaire, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5 log₁₀ (valeurs de *5-D*) estimés par les modèles à différentes température pour *Ent. faecalis* et *E. coli*.

Température <i>T</i> (°C)	Modèle de Weibull primaire					
	Valeurs α (s)	Valeurs β (-)	R^2 ajustés (-)	<i>SSE</i> (-)	<i>RMSE</i> (-)	Valeurs <i>5-D</i> estimées (s)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433						
55	3 463	1,300	0,798	0,214	0,124	22 689
60	177,7	1,144	0,927	0,844	0,306	1 505
65	17,06	1,134	0,977	0,377	0,217	147
70	5,097	1,271	0,922	1,11	0,429	34,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922						
55	8,902	0,5546	0,878	2,07	0,588	728
60	0,3277	0,4000	0,878	2,67	0,578	147
65	0,0769	0,4000	0,815	1,17	0,542	34,6
70	0,0300	0,4068	0,888	0,829	0,455	12,2

III.1.3 Modélisation - modèle secondaire

La relation entre les paramètres du modèle de Weibull et les températures de pasteurisation a été étudiée. Lors du tracé du $\ln(1/\alpha)$ en fonction de l'inverse de la température ($1/T$), une fonction linéaire décrite par l'équation d'Arrhenius (**Équation II-2**) a été établie avec de bonnes performances de modélisation. Cela implique la possibilité de calculer l'énergie d'activation pour la pasteurisation des deux bactéries indicatrices ($E_a = 411,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ et $348,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ pour *Ent. faecalis* et *E. coli* respectivement, soit $E_a = B \cdot R_{\text{gaz parfait}}$). La différence de l'énergie d'activation suggère la différence de résistance des bactéries étudiées vis-à-vis à l'hygiénisation thermique. Les valeurs de β , comme évoqué dans le **Chapitre II**, ne varient pas beaucoup en fonction de la température de traitement. Ainsi elles ont été moyennées ($\bar{\beta}$) et ont été fixées dans le modèle de Weibull secondaire à 1,121 pour *Ent. faecalis* et 0,4404 pour *E. coli*.

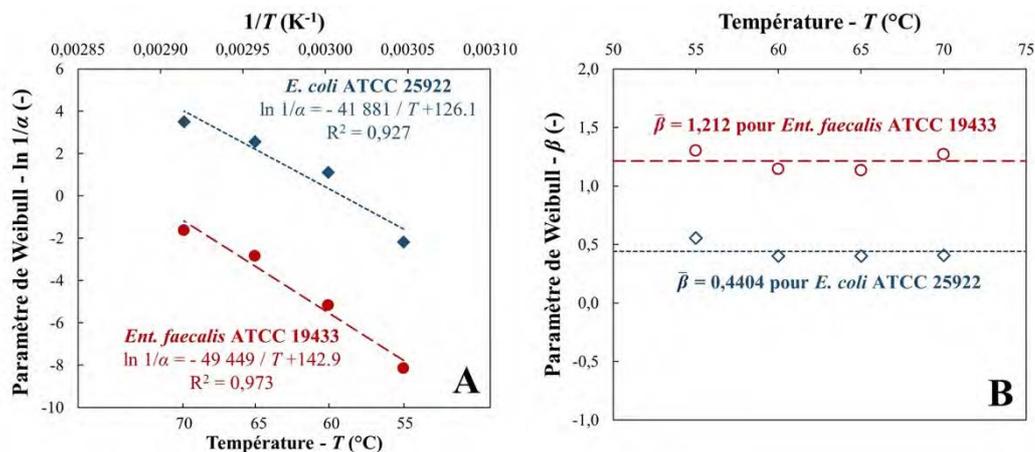


Figure III-3 Paramètres du modèle de Weibull primaire en fonction de la température étudiée. A) Paramètre d'échelle $\ln(1/\alpha)$ vs. $1/T$ et B) Paramètre de forme β vs. T .

La dérivée du taux d'inactivation des microorganismes cibles par rapport au temps de traitement a été calculée à partir du modèle de Weibull couplé (cf. **Équation II-3** du **Chapitre II**). Le résultat obtenu correspond à la répartition de la vulnérabilité des populations des deux indicateurs en fonction du temps de traitement. La **Figure III-4** montre cette distribution par rapport au temps pendant lequel les bactéries sont soumises à la pasteurisation à 70 °C. Dans cette figure, il est visible que la majorité de la souche *E. coli* (> 99%) est inactivée au bout d'une seconde. En revanche, la souche *Ent. faecalis* présente un comportement plus résistante à la chaleur. Le temps pour atteindre une réduction de 99% de la population, soit 2 \log_{10} , est de 11,7 s pour *Ent. faecalis* et de 0,55 s pour *E. coli*.

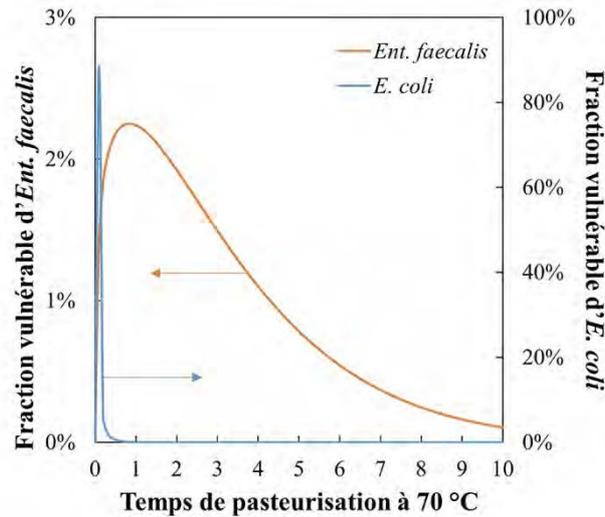


Figure III-4 Distribution de la fraction microbienne vulnérable à 70 °C en fonction du temps de traitement, calculée à partir du modèle de Weibull couplé.

III.1.4 Conclusions

Les deux bactéries indicatrices présentent des comportements différents par rapport au stress thermique. La souche bactérienne « G+ », *Ent. faecalis*, est plus résistante à la pasteurisation thermique que la souche « G- », *E. coli* [113]. Un traitement 55 °C pendant 1 heure n'a quasiment pas d'effet sur l'inactivation de l'entérocoque. Par contre, *E. coli* est significativement inactivé à cette température. La pasteurisation à 70 °C pendant 1 heure est largement suffisante pour l'élimination des indicateurs bactériens dans le milieu artificiel. Cela signifie que les paramètres d'hygiénisation thermique européens (70 °C, 1 h) sont fixés d'une façon très prudente par rapport aux pathogènes bactériens dans les sous-produits animaux.

III.2 Effet de l'hygiénisation thermique sur le potentiel méthanogène des biodéchets

III.2.1 Intensification du potentiel méthanogène

III.2.1.1 Cinétique de production de méthane

Dans cette partie, sept substrats différents (lisier de raclage porcin, lisier bovin, boues STEP industrielles, digestat de cuve d'hydrolyse, boues d'abattoir, boues STEP de collectivités et refus de tamisage d'abattoir) ont été étudiés pour l'effet de l'hygiénisation thermique sur leur potentiel méthanogène.

Les données de la production de méthane par jour acquises via AMPTS II ont été exportées pour un traitement statistique ultérieur. La production nette de méthane des échantillons a été calculée en retirant la production de méthane des bouteilles de digestat seul (essais blanc sans substrat). La **Figure III-5** donne les moyennes expérimentales de production de méthane et les valeurs modélisées de divers substrats testés, prétraités ou non.

Tableau III-2 Potentiels méthanogènes expérimentaux (BMP_{exp}) des substrats non-traités (O) et prétraités thermiquement (+). Les chiffres en gras indiquent la différence significative au sein du groupe selon le test Student ($p < 0,05$).

Prétraitement	BMP_{exp} (Nm ³ ·kg DCO ⁻¹)		BMP_{exp} (Nm ³ ·kg MV ⁻¹)	
	O	+	O	+
Lisier de raclage porcin	0,119 ± 0,002	0,118 ± 0,003	0,157 ± 0,003	0,156 ± 0,004
Lisier bovin	0,179 ± 0,009	0,183 ± 0,007	0,260 ± 0,013	0,265 ± 0,011
Boues de STEP industrielle	0,176 ± 0,002	0,169 ± 0,001	0,255 ± 0,003	0,245 ± 0,002
Digestat de cuve hydrolyse	0,283 ± 0,003	0,337 ± 0,002	0,481 ± 0,005	0,573 ± 0,003
Boues d'abattoir	0,296 ± 0,003	0,287 ± 0,000	0,539 ± 0,007	0,522 ± 0,000
Boues de collectivités	0,168 ± 0,007	0,187 ± 0,013	0,234 ± 0,010	0,260 ± 0,018
Refus de tamisage d'abattoir	0,198 ± 0,001	0,220 ± 0,001	0,253 ± 0,002	0,281 ± 0,001

Les valeurs de potentiels méthanogènes expérimentaux des substrats ont été déterminées. Dans la présente étude, la duplication des échantillons testés semble être suffisante pour réaliser le test de Student (test t), car les écarts-types au sein de chaque groupe ont été jugés relativement faibles.

Dans la **Figure III-5** aucune intensification du BMP n'est relevée pour les substrats de lisier de raclage porcin, lisier bovin, et boues de STEP industrielles. En revanche, les différences significatives ($p < 0,05$) entre les substrats prétraités et non-prétraités sont marquées pour les digestat de cuve d'hydrolyse (+19,1%), les boues d'abattoir (-3,0%), les boues de collectivités (+11,3%) et le refus de tamisage d'abattoir (+11,1%), comme montré par le **Tableau III-2**.

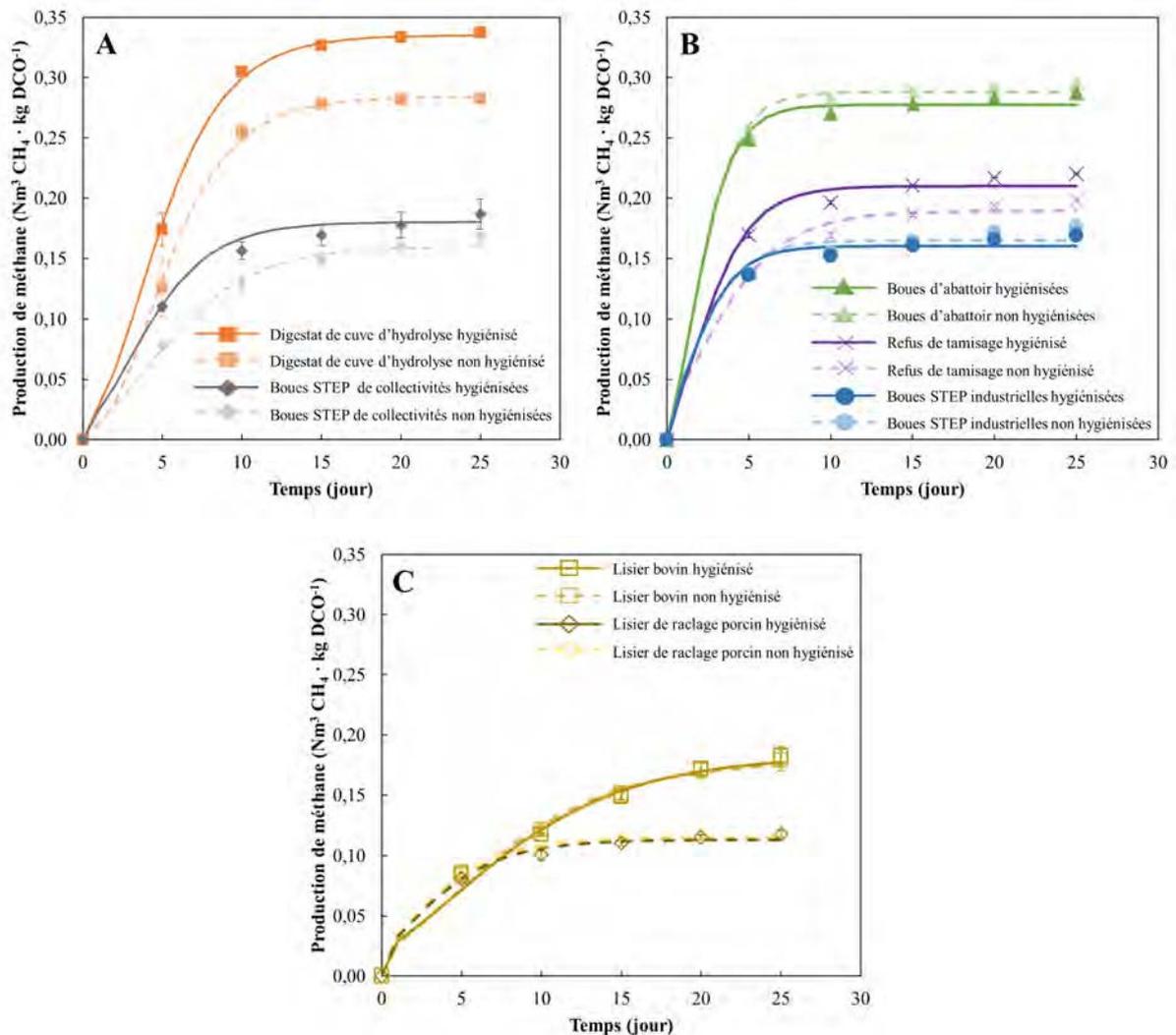


Figure III-5 Production cumulative de méthane de substrats prétraités ou non prétraités. Les points marqués sont les moyennes expérimentales de production de méthane tous les 5 jours avec les écart type (dont les valeurs sont trop faibles pour être visibles dans certains cas). Les courbes sont les valeurs modélisées de Gompertz modifié pour les substrats prétraités (courbes pleines) ou non prétraités (courbes pointillées).

III.2.1.2 Dégradabilité anaérobie

La biodégradabilité anaérobie des substrats a été calculée en utilisant l'Équation III-1 avec BMP_{exp} ($\text{Nm}^3 \text{CH}_4 \cdot \text{kg DCO}^{-1}$), la production de méthane mesurée expérimentalement et $0,35 \text{ Nm}^3 \text{CH}_4 \cdot \text{kg DCO}^{-1}$, la production de méthane maximale théorique garantissant la dégradabilité totale de la DCO des substrats [276].

$$\text{Dégradabilité (\%)} = \frac{BMP_{exp}}{0,35} \times 100 \quad \text{Équation III-1}$$

Tous les substrats ont atteint 95% du BMP_{exp} en 20 jours. La dégradabilité des échantillons est répertorié dans le **Tableau III-3**. La dégradabilité anaérobie des échantillons intacts varie considérablement (de 33,9% pour les lisiers de raclage porcin à 84,5% pour les boues d'abattoir). La dégradabilité anaérobie correspondante suit la même tendance que le BMP expérimental. Il convient de noter que la dégradabilité anaérobie des échantillons de digestat de cuve d'hydrolyse, les boues de collectivités et le refus de tamisage d'abattoir sont significativement améliorée par l'hygiénisation thermique.

Tableau III-3 Dégradabilité anaérobie des substrats non-traités (O) et prétraités thermiquement (+). Les chiffres en gras indiquent la différence significative au sein du groupe selon le test Student ($p < 0,05$).

Prétraitement	Dégradabilité anaérobie (%)	
	O	+
Lisier de raclage porcin	33,9 ± 0,7	33,7 ± 0,9
Lisier bovin	51,1 ± 2,6	52,2 ± 2,1
Boues de STEP industrielles	50,4 ± 0,5	48,3 ± 0,4
Digestat de cuve d'hydrolyse	80,7 ± 0,9	96,4 ± 0,6
Boues d'abattoir	84,5 ± 0,8	82,1 ± 0,1
Boues de collectivités	48,0 ± 1,9	53,8 ± 3,6
Refus de tamisage d'abattoir	56,7 ± 0,3	62,9 ± 0,0

III.2.1.3 Modélisation

Les cinétiques de production cumulative de méthane de divers substrats ont été modélisées par le model de Gompertz, présentées par les courbes dans le **Figure III-4**, pour identifier les paramètres cinétiques (BMP_0 , R_m et λ).

Le **Tableau III-4** récapitule les paramètres de modélisation cinétique du modèle de Gompertz modifié, accompagné des résultats du test statistique correspondant. De plus, la

constante de temps τ du modèle a été calculée. Cette constante de temps correspond au temps (jour) nécessaire pour que la production de méthane atteigne 63,2% du potentiel méthanogène modélisé (BMP_0), à savoir $1 - e^{-1}$.

En ce qui concerne la production maximale de méthane (BMP_0), une intensification significative induite par un prétraitement thermique ($p < 0,05$) a été observée pour le refus de tamisage d'abattoir (+11,1%), les boues de collectivités (+12,5%) et le digestat issu de cuve d'hydrolyse (+18,0%). La vitesse maximale de production de méthane R_m est augmentée par 64,0%, 50,0% et 13,5% par le prétraitement thermique pour les trois substrats mentionnés ci-dessus ($p < 0,05$), ce qui signifie que la production de méthane est accélérée par le prétraitement thermique.

Les valeurs négatives du temps de latence λ ne sont pas prises en compte car cela signifie que λ sert de paramètre mathématique auquel aucune signification physique ne peut être adressée. Cependant, un temps de latence positif correspond à la durée nécessaire pour que les micro-organismes s'acclimatent aux conditions de la digestion anaérobie en présence possible d'un inhibiteur [277]. La durée de la phase de latence est raccourcie pour le digestat provenant de la cuve d'hydrolyse et les boues de STEP de collectivités (de 48,6% et 62,2% respectivement, $p < 0,05$). La constante de temps pour ces trois substrats mentionnés a également été améliorée (diminution de la valeur) selon le test statistique, ce qui implique que le procédé de méthanisation est favorisé. Il est intéressant de noter que les cinétiques de méthanisation sont inhibées par un prétraitement thermique pour les boues issues d'abattoir en termes de potentiel méthane BMP_0 (-3,82%, $p < 0,05$). Les 2 autres paramètres cinétiques (BMP_0 et λ) n'ont pas été influencés. Aucune amélioration significative de la cinétique de digestion n'est obtenue pour le lisier bovin, le lisier de raclage et les boues de STEP industrielle.

Tableau III-4 Résumé des résultats de la modélisation de production de méthane à l'aide du modèle de Gompertz modifié. "O" et "+" représentent respectivement des échantillons non prétraités et prétraités. Les données en gras indiquent la différence significative au sein du groupe ($p < 0,05$).

Prétraitement	BMP_0		R_m		λ		$\tau = \lambda + \frac{BMP_0}{R_m \cdot e}$		R^2 ajustés	SSE
	(Nm ³ ·kg DCO ⁻¹)		(Nm ³ ·kg DCO ⁻¹ ·jour ⁻¹)		(jour)		(jour)			
	O	+	O	+	O	+	O	+	(-)	(10 ⁻⁴)
Lisier de raclage porcin	0,115 ± 0,003	0,113 ± 0,002	0,014 ± 0,000	0,014 ± 0,001	-1,36 ± 0,11	-1,43 ± 0,10	1,60 ± 0,02	1,66 ± 0,19	0,952 – 0,964	7,38 – 9,89
Lisier bovin	0,178 ± 0,008	0,183 ± 0,009	0,012 ± 0,000	0,011 ± 0,000	-0,985 ± 0,100	0,100 ± 0,049	4,10 ± 0,12	4,63 ± 0,37	0,981 – 0,988	7,97 – 12,8
Boues STEP indust. ^a	0,165 ± 0,000	0,160 ± 0,001	0,034 ± 0,001	0,037 ± 0,002	-0,512 ± 0,061	-0,336 ± 0,057	1,28 ± 0,02	1,27 ± 0,04	0,944 – 0,966	1,25 – 2,27
Digestat de cuve hyd. ^b	0,284 ± 0,001	0,335 ± 0,001	0,037 ± 0,000	0,042 ± 0,003	1,43 ± 0,62	0,733 ± 0,049	4,25 ± 0,64	3,65 ± 0,18	0,998 – 0,999	1,94 – 6,98
Boues d'abattoir	0,288 ± 0,002	0,277 ± 0,000	0,073 ± 0,001	0,074 ± 0,001	0,195 ± 0,022	0,162 ± 0,040	1,64 ± 0,06	1,54 ± 0,02	0,989 – 0,994	8,18 – 13,4
Boues de collectivités	0,160 ± 0,007	0,180 ± 0,011	0,016 ± 0,001	0,024 ± 0,000	0,386 ± 0,118	0,146 ± 0,011	3,98 ± 0,17	2,92 ± 0,13	0,991 – 0,995	3,21 – 5,61
Refus de tamisage	0,189 ± 0,001	0,210 ± 0,001	0,025 ± 0,002	0,041 ± 0,000	-0,807 ± 0,158	-0,082 ± 0,092	1,95 ± 0,06	1,81 ± 0,08	0,965 – 0,973	2,11 – 2,29

^a Boues de STEP industrielles^b Digestat de cuve d'hydrolyse

III.2.2 Discussion

L'effet positif de l'hygiénisation sur la production de méthane est obtenu pour les boues d'abattoir et le refus du tamisage, ainsi que pour les substrats moins complexes dérivés du traitement biologique, tels que le digestat provenant de la cuve d'hydrolyse et les boues de STEP. Cette observation a également été rapportée par Luste *et al.* (2009) [7], Luste et Luostarinen (2010) [100] pour l'hygiénisation des SPAN, en particulier des déchets de tamisage des abattoirs, et par Edström *et al.* (2003) [96], Gavala *et al.* (2003) [278] et Climent (2007) [97] pour des boues activées de STEP municipales prétraitées thermiquement à 70 °C.

L'augmentation du potentiel de méthane s'explique par le fait que les substrats prétraités présentent une DCO soluble supérieure à celle des échantillons non traités, ce qui indique une solubilisation des substances organiques qui transforme les composés chimiques complexes (par exemple les acides gras à longue chaîne et les protéines) en des produits plus simples (comme les AGV et les acides aminés) [7]. Cette DCO soluble est beaucoup plus accessible aux microorganismes et facilite donc les activités biologiques fermentatives dans les digesteurs anaérobies. En outre, il a également été signalé qu'une modification morphologique peut avoir lieu en termes de réduction de la taille des particules des échantillons. Cette transformation de particules favorise l'étape d'hydrolyse, phase limitante lors de la dégradation des matières organiques par voie anaérobie [100].

Un équilibre entre les processus mentionnés ci-dessus rend la production de méthane plus rapide ce qui réduit ainsi l'accumulation d'intermédiaires (ex. AGV) [279]. Tous ces facteurs ont permis d'accroître la production de méthane dans les déchets d'abattoir et les déchets de procédés biologiques en augmentant les matières organiques dégradables (pour les *BMP*), en facilitant l'accès des substrats aux microorganismes (la vitesse de production de méthane, R_m) et en évitant l'accumulation d'inhibiteurs (le temps de latence, λ).

Les études de Hejnfelt et Angelidaki (2009) [99] et de Luste *et al.* (2009) [7] montrent une réduction similaire du potentiel méthane des boues de traitement de la viande induites par un prétraitement thermique modéré. Dans leurs études, les substrats sont des déchets de l'industrie de la transformation de la viande riches en graisse, en soies de porcs et en sang. Cet effet négatif est peut-être dû à la formation de composés chimiques complexes toxiques pour le processus méthanogène pendant le prétraitement, généralement avec une concentration élevée en ammoniac et en lipides. Cependant, cette explication reste floue [135]. Dans notre cas, les boues d'abattoir ont déjà une biodégradabilité élevée (84,5%). La légère diminution de

dégradabilité après le prétraitement doux pourrait s'expliquer par le fait qu'elles ont déjà atteint la limite maximale de biodégradabilité et donc aucune amélioration ne peut avoir lieu.

Nous obtenons des résultats contradictoires concernant le lisier de bovins par rapport à Paavola *et al.* (2006) [280] et Luste et Luostarinen (2011) [102]. Ils ont atteint 0,180 – 0,290 Nm³ CH₄·kg MV⁻¹ pour les non traités et 0,210 – 0,340 Nm³ CH₄·kg MV⁻¹ pour les hygiénisés, soit une amélioration d'environ 20%, tandis que nous avons obtenu 0,157 Nm³ CH₄·kg MV⁻¹ pour le lisier de raclage et 0,260 Nm³ CH₄·kg MV⁻¹ pour le lisier de bovins ordinaire. Dans notre étude, aucune amélioration remarquable n'est constatée après l'hygiénisation thermique.

Il est à noter que le lisier de bovins et le lisier de raclage porcin dans la présente étude étaient plus concentrées que celles étudiées par les auteurs en termes des teneurs en MS et DCO. Cette différence pourrait être due au fait que, dans notre étude, le lisier de bovins a été collecté à l'état frais et a été placé dans des digesteurs juste après la détermination de la MS, la MV et la DCO. Bien que les deux études mentionnées ne spécifient pas leur protocole de collecte du lisier, il est courant que les échantillons testés puissent être collectés dans une installation de stockage de fumier des fermes où le contenu organique facilement biodégradable est réduit pendant le stockage et, par conséquent, la MS et la DCO des échantillons sont diminuées [281].

Ainsi, les matières organiques présentes dans nos échantillons ne sont pas facilement dégradables et le prétraitement thermique modéré pourrait avoir moins d'effet sur eux que le lisier de bovins frais contenant des matières organiques plus facilement dégradables. Il est également possible que nos substrats contiennent beaucoup plus de fibres de paille que d'autres études. Or, le prétraitement thermique à basse température n'a pratiquement aucun effet sur les composés ligno-cellulosiques contenus dans les fibres de paille [282].

La présence de matières organiques non biodégradables qui ne peuvent pas être thermiquement dissociées empêche l'intensification des BMP. C'est le cas de boues activées de STEP qui traitent les effluents issus des industries mixtes.

III.2.3 Conclusions

Sept déchets organiques différents ont été testés concernant l'impact de l'hygiénisation (servant de prétraitement thermique modéré) sur la cinétique de production de méthane. Les résultats montrent que le potentiel méthanogène des déchets issus de viande et des procédés biologiques est significativement amélioré. Le prétraitement thermique des déchets contenant

trop de lipides et d'ammoniac, tels que des boues d'abattoir, pourrait former des matières organiques toxiques et non biodégradables qui réduisent dans une certaine mesure le potentiel de méthane. Un prétraitement thermique doux à 70 °C pendant une heure a eu peu d'influence sur le BMP des substrats riches en composés complexes ligno-cellulosiques des substrats. Davantage d'études devraient être concentrées sur l'hygiénisation de différents types de substrats pour avoir une idée plus générale de l'impact de ce prétraitement sur, à la fois, la réduction des agents pathogènes et la production de méthane. Les études sur les modifications de la composition chimique des substrats après hygiénisation doivent également faire l'objet d'une étude particulière.

III.3 Conclusions

Dans le présent chapitre, les effets de l'hygiénisation thermique sur la pasteurisation des microorganismes indicateurs et l'intensification du potentiel méthanogène des biodéchets ont été relevés.

L'étude microbiologique montre que la souche *Ent. faecalis* est plus thermorésistante que la souche *E. coli*. Un traitement 55 °C pendant 1 heure n'a quasiment non effet sur l'inactivation de l'entérocoque. Par contre, la souche *E. coli* est significativement inactivée à cette température. La pasteurisation à 70 °C pendant 1 heure (condition européenne) est largement suffisante pour l'élimination des indicateurs bactériens dans le milieu artificiel. Cette caractérisation de la résistance thermique sert aussi de référence de température maximale permettant les prochaines études sur l'inactivation des microorganismes indicateurs par CEP en évitant les dommages excessifs induits par la chaleur.

Les tests BMP prouvent que l'effet de l'intensification du BMP induit par l'hygiénisation (prétraitement) thermique dépend des substrats étudiés. Des effets positifs, négatifs ou nuls peuvent être obtenues en fonction de la composition chimique des substrats (en raison, par exemple de présence de matière organique facilement dissociée et présence d'inhibiteurs comme l'ammoniac).

Une augmentation de BMP de 11% à 18% peut être obtenue pour les biodéchets (digestat de cuve d'hydrolyse, boues de stations d'épuration de collectivités, déchets d'abattoir). La présente étude complète la thèse de doctorat de M.A. Chamaa travaillant sur l'effet du prétraitement CEP sur l'intensification du BMP des biodéchets (où il avait été montré une

augmentation de 5% à 13% des BMP). L'effet sur le BMP induit par le prétraitement thermique et par les CEP est donc comparable. Dans les prochains chapitres, les effets du traitement par CEP sur l'inactivation des microorganismes cibles seront étudiés afin de pouvoir comparer l'efficacité globale d'hygiénisation par CEP par rapport à l'hygiénisation thermique utilisant les paramètres européens (70 °C, 1 h).

Chapitre IV Hygiénisation des SPAN par CEP en batch

Chapitre IV Hygiénisation des SPAN par CEP en batch	141
IV.1 Corrélation entre la conductivité électrique du milieu et la température.....	142
IV.2 Cinétiques de destruction des microorganismes indicateurs	143
IV.2.1 Effet de l'intensité du champ électrique et du temps de traitement.....	143
IV.2.2 Modélisation - Modèle de distribution Weibull primaire	147
IV.2.3 Modélisation - Modèle de Weibull couplé avec modèle secondaire	147
IV.3 Énergie délivrée par les CEP	151
IV.3.1 Intensité du champ électrique critique	151
IV.3.2 Effet de l'énergie délivrée par CEP	153
IV.4 Récupération et croissance des bactéries indicatrices endommagées.....	156
IV.5 Conclusions.....	157

Le **Chapitre IV** traite de l'hygiénisation des sous-produits animaux par CEP dans un procédé en batch décrit dans la **Section II.3**. Il s'agit des premiers essais CEP, à des fins sanitaires, mis en œuvre sur des déchets alimentaires destinés à être méthanisés.

Ce chapitre porte sur l'étude des cinétiques d'abattement des indicateurs microbiens et sur la modélisation correspondante. Les champs critiques des différentes bactéries indicatrices sont déterminés et l'effet de l'énergie injectée par CEP, du champ électrique et du temps effectif de traitement sur l'inactivation bactérienne sont présentés. Enfin, la récupération des bactéries indicatrices endommagées par CEP est aussi abordée en suivant la croissance bactérienne dans des conditions données. Cette étude permet d'avoir une meilleure compréhension de la faisabilité de mise en œuvre de cette technologie innovante pour l'hygiénisation des déchets alimentaires et de fournir des informations fondamentales pour le passage à plus grande échelle du procédé de traitement.

IV.1 Corrélation entre la conductivité électrique du milieu et la température

L'évolution de la conductivité électrique de suspension de sous-produits animaux (SPAN) en fonction de la température a été réalisée. Les impulsions électriques ont été envoyées aux cuves d'électroporation contenant la suspension SPAN. Ces impulsions entraînent l'augmentation de la température du milieu par chauffage ohmique. La mesure de la température après chaque traitement était réalisée à l'aide d'un thermocouple placé directement à l'intérieur de la cuve d'électroporation.

La **Figure IV-1** montre le résultat obtenu. Il convient de noter que la conductivité électrique (σ) du milieu est une fonction linéaire de la température dans la plage étudiée (courbe en bleu). Cela établit une fonction réciproque (courbe en rouge) entre la résistance électrique (R) de la cuve d'électroporation et la température (T).

Ces deux relations (σ vs. T et R vs. T) permettent la mesure indirecte de la température du milieu dans la cuve sans contact direct avec des thermomètres qui peuvent entraîner une contamination microbiologique des milieux lors des manipulations.

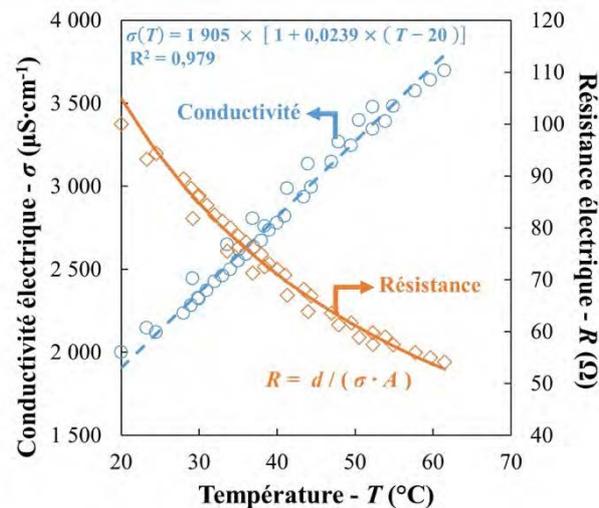


Figure IV-1 Conductivité électrique (σ , courbe en bleu) et résistance électrique (R , courbe en rouge) de la suspension des sous-produits animaux en fonction de la température (T).

IV.2 Cinétiques de destruction des microorganismes indicateurs

IV.2.1 Effet de l'intensité du champ électrique et du temps de traitement

La cinétique d'inactivation des deux bactéries indicatrices dans SPAN réalisée par CEP à 10, 15, 20 et 25 $\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ est présentée à la **Figure IV-2** avec des symboles ouverts. *Ent. faecalis* atteint une inactivation de $0,70 \pm 0,04$, $2,43 \pm 0,03$, $3,58 \pm 0,02$ et $5,02 \pm 0,03 \log_{10}$ aux 4 champs électriques étudiés alors que les réductions décimales pour *E. coli* sont respectivement de $2,15 \pm 0,16$, $2,74 \pm 0,08$, $3,47 \pm 0,18$ et $4,30 \pm 0,01 \log_{10}$.

À titre comparatif, les réductions des deux bactéries indicatrices dans le bouillon nutritif ordinaire (BN) provoquées par CEP à 10, 15, 20 et 25 $\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour $t_{\text{CEP}} = 30 \text{ ms}$ sont étudiées et présentées à la **Figure IV-2** avec des symboles pleins.

Les résultats montrent que, quel que soit le champ électrique étudié, nous obtenons une réduction supplémentaire dans BN par rapport aux SPAN. Les taux d'inactivation sont renforcés de 0,28 à 0,79 et de 0,18 à 0,74 \log_{10} respectivement pour *Ent. faecalis* et *E. coli*, quand ils sont exposés aux CEP dans bouillon artificiel plutôt que dans le milieu réel à $E = 25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Cela signifie que le milieu de suspension joue un rôle important dans les performances d'inactivation des agents pathogènes assistée par CEP.

Les deux bactéries indicatrices dans le bouillon nutritif semblent être plus vulnérables au traitement par CEP que dans SPAN. Cela implique un effet protecteur de SPAN pour la

survie des microorganismes lors de leur exposition aux CEP. Ce phénomène pourrait s'expliquer par la présence de lipides, de protéines et d'autres substances chimiques complexes présents dans SPAN qui protègent les microorganismes au stress lié au traitement CEP [283].

Un champ électrique faible ($10 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) a peu d'effet sur l'inactivation d'*Ent. faecalis* ($0,5 \log_{10}$) alors qu'*E. coli* est significativement inactivé ($2,15 \log_{10}$) à ce niveau. Pour les deux bactéries étudiées, une plus grande inactivation microbienne est observée lorsque l'intensité du champ est accrue.

D'une part, *Ent. faecalis* s'avère plus résistante au traitement CEP au cours des cinq premières millisecondes qu'*E. coli*, considérant que les courbes de destruction de cette dernière chutent plus rapidement. D'autre part, lorsque la durée de traitement effectif CEP (t_{CEP}) est prolongée, en particulier à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, la souche *Ent. faecalis* devient plus vulnérable qu'*E. coli* : la courbe de survie de la bactérie *E. coli* se stabilise avec une réduction d'environ $4,30 \log_{10}$ pendant la période de 20 à 30 ms, mais la courbe d'*Ent. faecalis* continue à baisser, dépassant ainsi une réduction de $5,0 \log_{10}$.

Les deux bactéries indicatrices présentent des comportements différents de leur cinétique d'inactivation induite par CEP. *Ent. faecalis*, comparé à *E. coli*, est plus résistant pendant les cinq premières millisecondes, quelle que soit l'intensité du champ testée.

Cela confirme les études précédentes concluant que les bactéries « G+ » sont généralement plus résistantes au traitement CEP que les bactéries « G- » en raison des compositions chimiques différentes de leur paroi et de leur membrane bactérienne [284,285]. Cependant, avec la prolongation de la durée du traitement, *Ent. faecalis* commence à être beaucoup plus vulnérable, montrant une réduction de $5,0 \log_{10}$ alors que la souche *E. coli* n'atteint que $4,3 \log_{10}$ à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Au niveau biologique, le mécanisme lié à cette observation reste flou. Wang *et al.* (2018) ont émis l'hypothèse que les mécanismes de protection d'un microorganisme spécifique contre l'exposition au champ électrique pouvaient dépendre de divers mécanismes biochimiques, tels que, par exemple, la réparation de la membrane cytoplasmique ou les modifications d'activités métaboliques [113].

De plus, García *et al.* (2006) [285] ont signalé la capacité de la bactérie *E. coli* à réparer sa membrane cellulaire endommagée par CEP par la synthèse de lipides durant l'exposition.

Cela pourrait être une explication possible du fait qu'*E. coli* a un taux d'inactivation élevé en début de traitement, mais se révèle progressivement plus résistant à la fin de celui-ci.

Concernant les courbes d'inactivation des deux bactéries indicatrices par CEP, la forme des courbes présente une forme convexe qui diffère de celles obtenues par traitement thermique. En effet, lors du traitement thermique la courbe obtenue pour *Ent. faecalis* a une forme concave et pour *E. coli* une forme convexe (cf. **Figure III-2**). Les formes convexes représentent une vulnérabilité plus importante des bactéries étudiées par rapport à l'hygiénisation par CEP.

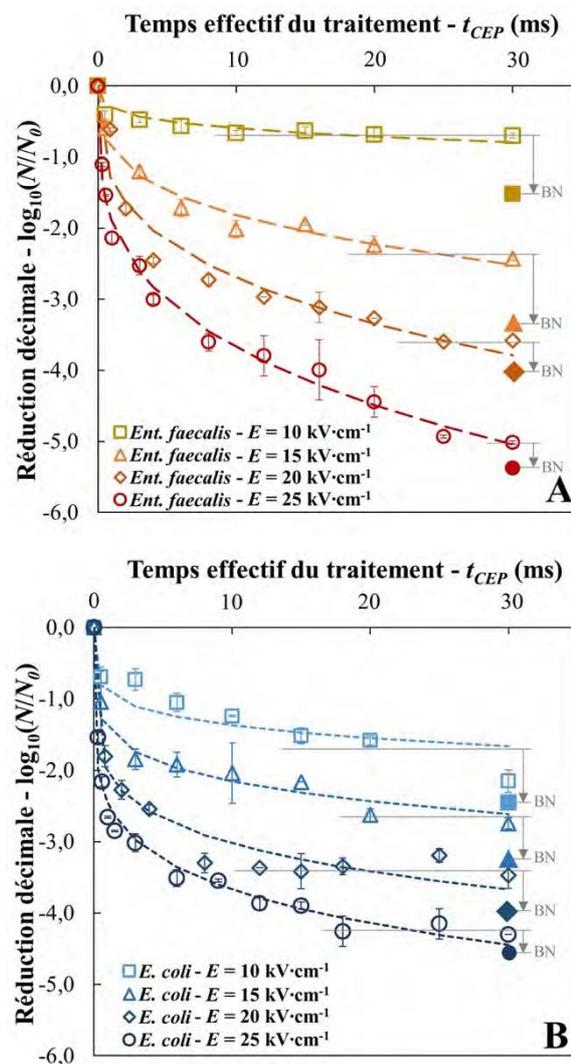


Figure IV-2 Inactivation assistée par CEP des bactéries indicatrices dans les sous-produits animaux (SPAN) en fonction du temps de traitement efficace des CEP (t_{CEP}) pour différentes intensités du champ électrique (E). A) *Ent. faecalis* et B) *E. coli*. Les symboles ouverts représentent la fraction de survie observée expérimentalement dans SPAN ; les barres d'erreur représentent les écarts-types ; les courbes en tirets représentent les résultats de la modélisation à l'aide du modèle de Weibull primaire ; les symboles remplis représentent la fraction survivante des bactéries indicatrices traitées aux champ électrique dans le bouillon nutritif ordinaire (BN).

L'inactivation microbienne s'avère fortement corrélée à l'intensité du champ électrique et à la durée du traitement. Selon les attendus de la norme européenne N° 142/2011, un traitement par CEP à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pendant plus de 30 ms en batch serait suffisant pour réaliser l'hygiénisation bactérienne du mélange de SPAN étudié (réduction de $5,0 \log_{10}$ de la souche *Ent. faecalis*). En fait, cette réduction est attribuée au seul effet d'électroporation induit par CEP, sans chauffage ohmique. Dans la pratique industrielle, la configuration avec chauffage ohmique est préférable dans un objectif d'amélioration de l'efficacité de la pasteurisation [286,287].

En outre, des études montrent que le couplage des traitements électrique et thermique a un effet synergique qui, en plus de l'inactivation des bactéries végétatives, pourrait réduire les spores bactériennes, forme résistante qui ne peut généralement pas être affectée par un champ électrique modéré ou par une pasteurisation thermique conventionnelle à 70 °C [248]. De plus, une étude antérieure montre que les spores de *Bacillus pumilus* peuvent être endommagées après 10 000 impulsions d'un champ électrique ($\tau = 5 \mu\text{s}$) à $7,5 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ [249]. Néanmoins, dans ces conditions de traitement modéré, la réduction de spores était de $0,7 \log_{10}$.

Outre l'effet de l'inactivation des agents pathogènes, les conditions d'hygiénisation de SPAN proposées par l'UE (70 °C pendant 60 min) se révèlent être une étape de prétraitement susceptible d'influencer la cinétique de production de biogaz dans les digesteurs anaérobies. Les études montrent que ce prétraitement thermique pourrait avoir des effets variables (positifs à négatifs) en fonction de la nature de la matière première [7,97,100]. De même, plusieurs études ont conclu que le prétraitement par CEP pourrait augmenter le potentiel méthanogène des substrats. Il a été signalé une augmentation du potentiel de méthane de 58% et 80% pour le fumier de porc [154,183] et de 10% pour le foie de porc [111]. Cela indique que l'application des CEP dans le domaine de la production de biogaz est prometteuse.

IV.2.2 Modélisation - Modèle de distribution Weibull primaire

Les courbes d'inactivation ont été ajustées au modèle de Weibull primaire, comme indiqué dans l'Équation II-10. Les résultats de la modélisation (valeurs des paramètres et qualité de la modélisation) sont résumés dans le Tableau IV-1.

Presque toutes les courbes sont parfaitement modélisées (R^2 élevé, faible SSE et RMSE), à l'exception de celles à $10 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour les deux bactéries indicatrices (R^2 ajusté = 0,777 – 0,781). Le paramètre d'échelle α dépend fortement de l'intensité du champ électrique alors que pour une bactérie donnée, β reste relativement constant. Cela correspond aux études précédentes où le paramètre d'échelle α est influencé par les conditions extérieures (telles que le pH, la température, le champ électrique) alors que le paramètre de forme β reste constant pour un microorganisme donné ou être faiblement corrélé au milieu environnant [288].

Les valeurs 5-D correspondantes sont indiquées dans le Tableau IV-1. Pour les deux bactéries indicatrices, les valeurs 5-D sont significativement réduites lorsque l'intensité du champ est augmentée par pallier de $5 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. La valeur 5-D est estimée à 29,24 et 58,77 ms respectivement pour la pasteurisation assistée par CEP d'*Ent. faecalis* et *E. coli* à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$.

IV.2.3 Modélisation - Modèle de Weibull couplé avec modèle secondaire

Les paramètres du modèle de Weibull primaire des quatre courbes d'inactivation et pour chaque bactérie indicatrice sont extraits afin de déterminer le modèle secondaire décrivant leur dépendance à l'intensité du champ électrique. Le paramètre $\ln(1/\alpha)$ est tracé en fonction de l'inverse de l'intensité du champ appliquée ($1/E$) pour les deux bactéries indicatrices (Figure IV-3 A).

Une régression linéaire utilisant l'Équation II-11 est réalisée et les résultats de la modélisation ont été présentés dans le Tableau IV-2. On constate que pour les deux souches, le modèle linéaire proposé modélise parfaitement les courbes avec un R^2 compris entre 0,988 et 0,991. En comparaison avec ce qui a été réalisé pour le traitement thermique en traçant $\ln(1/\alpha)$ vs. $1/T$ qui permettait d'extraire une énergie d'activation (Équation II-2), nous observons ici en traçant $\ln(1/\alpha)$ vs. $1/E$, selon Équation II-11, que le phénomène reste analogue à une loi de type Arrhenius. Les constantes A (μs^{-1}) et B ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) sont présentées dans le Tableau IV-2. Comme mentionné dans la section précédente, la variation de β est faible. En conséquence, la valeur de β dans le modèle secondaire est fixée à la moyenne ($\bar{\beta}$) des valeurs extraites du modèle de Weibull primaire pour chaque souche (Figure IV-3 B).

Tableau IV-1 Résumé de paramètres du modèle de Weibull primaire, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5,0 log₁₀ (valeurs de 5-D) estimés par les modèles à différentes intensités du champ électrique pour *Ent. faecalis* et *E. coli* (moyenne ± écart-type).

Champ électrique (kV·cm ⁻¹)	Modèle de Weibull primaire					Valeurs 5-D estimées (ms)
	Valeurs α (μ s)	Valeurs β (-)	R^2 ajustés (-)	SSE (-)	RMSE (-)	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433						
10	3 045 ± 160	0,2650 ± 0,0071	0,781 ± 0,148	0,055 ± 0,031	0,081 ± 0,024	31 400 ± 9 290
15	82,72 ± 23,82	0,2975 ± 0,0115	0,960 ± 0,031	0,129 ± 0,105	0,121 ± 0,054	301,3 ± 8,0
20	26,88 ± 6,081	0,3084 ± 0,0112	0,922 ± 0,007	0,753 ± 0,057	0,274 ± 0,010	73,73 ± 4,35
25	5,767 ± 0,735	0,2865 ± 0,0078	0,981 ± 0,014	0,388 ± 0,272	0,174 ± 0,065	29,24 ± 3,03
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922						
10	15,47 ± 1,33	0,1775 ± 0,0035	0,777 ± 0,041	0,496 ± 0,122	0,248 ± 0,031	14 882 ± 2 785
15	1,187 ± 0,547	0,1763 ± 0,0053	0,890 ± 0,115	0,334 ± 0,379	0,231 ± 0,164	1 187 ± 72
20	0,1601 ± 0,0874	0,1749 ± 0,0073	0,936 ± 0,001	0,518 ± 0,007	0,227 ± 0,002	176,4 ± 4,7
25	0,0489 ± 0,0029	0,1746 ± 0,0011	0,966 ± 0,008	0,484 ± 0,116	0,192 ± 0,023	58,77 ± 1,50

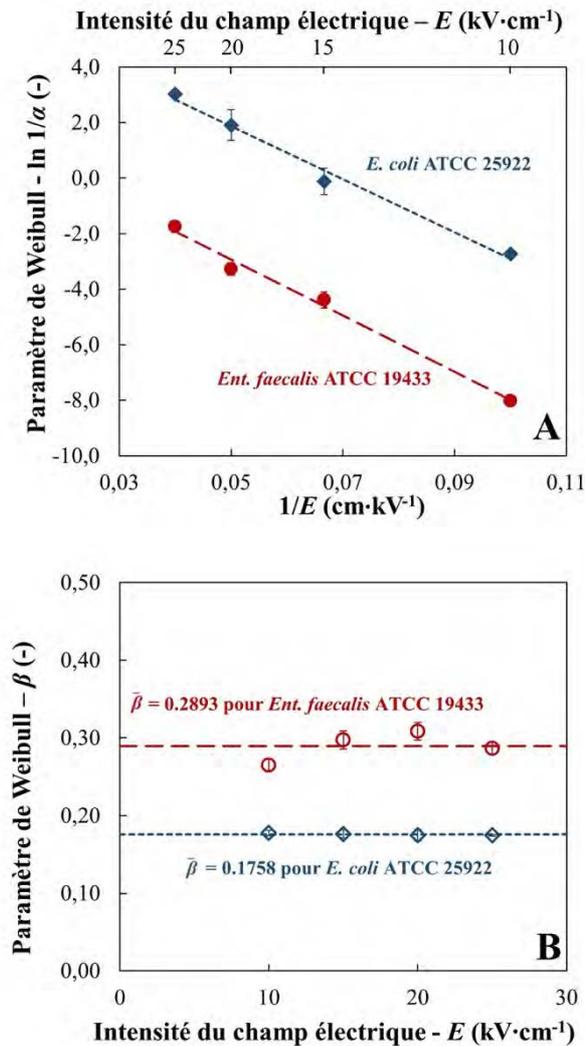


Figure IV-3 Paramètres du modèle de Weibull primaire en fonction de l'intensité du champ électrique appliquée. A) Paramètre d'échelle $\ln(1/\alpha)$ vs. $1/E$ et B) Paramètre de forme β vs. E .

Le modèle secondaire obtenu pour deux souches est ensuite intégré dans le modèle primaire de Weibull afin d'exercer un modèle général (Équation II-11) pouvant prédire la cinétique d'inactivation en utilisant une seule équation pour un microorganisme donné. La qualité de modélisation correspondante utilisant le modèle couplé est également présentée dans le **Tableau IV-2**.

Tableau IV-2 Résumé de paramètres du modèle secondaire, paramètres du modèle de Weibull couplé avec le modèle secondaire, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5,0 log10 (valeurs de 5-D) estimés par les modèles couplés à différentes intensités du champ électrique pour *Ent. faecalis* et *E. coli* (moyenne \pm écart-type).

Indicateur	Modèle secondaire			Modèle de Weibull couplé avec modèle secondaire						
	Valeurs <i>A</i> (μs^{-1})	Valeurs <i>B</i> ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$)	<i>R</i> ² (-)	Champ électrique <i>E</i> ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Valeurs α^a (μs)	Valeurs β (-)	<i>R</i> ² ajustés (-)	<i>SSE</i> (-)	<i>RMSE</i> (-)	Valeurs 5-D estimées (ms)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433										
	8,368	101,1	0,991	10	2 927	0,2893	0,734 \pm 0,095	0,074 \pm 0,025	0,096 \pm 0,017	13 639
				15	100,8	0,2893	0,902 \pm 0,056	0,365 \pm 0,227	0,208 \pm 0,068	470,0
				20	18,70	0,2893	0,927 \pm 0,005	0,282 \pm 0,005	0,282 \pm 0,005	87,15
				25	6,807	0,2893	0,976 \pm 0,006	0,529 \pm 0,111	0,209 \pm 0,022	31,72
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922										
	774,3	95,59	0,988	10	18,29	0,1758	0,763 \pm 0,030	0,525 \pm 0,100	0,256 \pm 0,024	19 911
				15	0,7561	0,1758	0,891 \pm 0,117	0,515 \pm 0,548	0,292 \pm 0,188	822,9
				20	0,1537	0,1758	0,981 \pm 0,002	0,521 \pm 0,012	0,228 \pm 0,002	167,3
				25	0,0591	0,1758	0,991 \pm 0,002	0,528 \pm 0,130	0,201 \pm 0,025	64,32

^a Le paramètre de Weibull α à différentes intensités du champ électrique a été calculé par le modèle secondaire.

Le R^2 ajusté varie de 0,734 à 0,976 et de 0,763 à 0,991 respectivement pour *Ent. faecalis* et *E. coli*, indiquant une performance acceptable à bonne de la modélisation. Cette conclusion est renforcée par la **Figure IV-4**, dans laquelle les résultats de modélisation du modèle primaire et du modèle couplé sont comparés aux valeurs expérimentales. Les résultats des deux méthodes de modélisation s'avèrent similaires, ce qui signifie que le modèle couplé permet de prédire de manière correcte la cinétique d'inactivation concernant l'hygiénisation assistée par CEP du mélange de sous-produits animaux étudié.

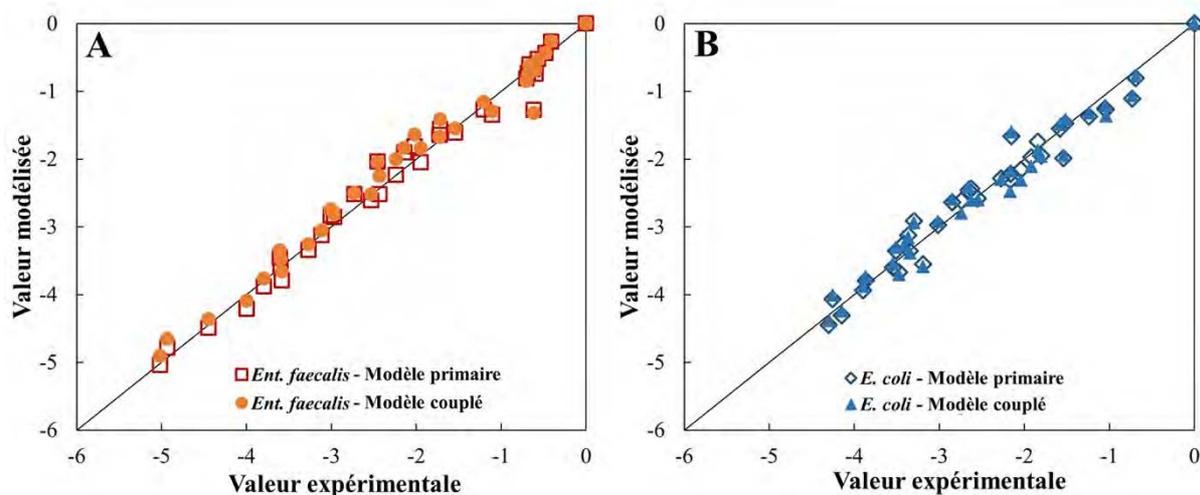


Figure IV-4 Valeurs de fraction de survie observée de manière expérimentale par rapport aux valeurs prévues calculées à partir du modèle de Weibull primaire et du modèle de Weibull couplés avec le modèle secondaire pour A) *Ent. faecalis* et B) *E. coli*.

IV.3 Énergie délivrée par les CEP

IV.3.1 Intensité du champ électrique critique

La présente section concerne la détermination de l'intensité du champ électrique critique à l'aide de la courbe de destruction microbienne au même niveau d'énergie.

La **Figure IV-5** illustre les comportements des deux bactéries indicatrices traitées à $350 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$ à différents champs électriques, dans le bouillon nutritif ou dans les sous-produits animaux. On peut en déduire que, pour les réductions décimales les plus importantes, les traitements par CEP sont moins efficaces dans les SPAN que dans le bouillon nutritif artificiel. Cela justifie les remarques de la **Section IV.2** qui indiquent que les sous-produits animaux confèrent un effet protecteur aux microorganismes vis-à-vis du traitement électrique.

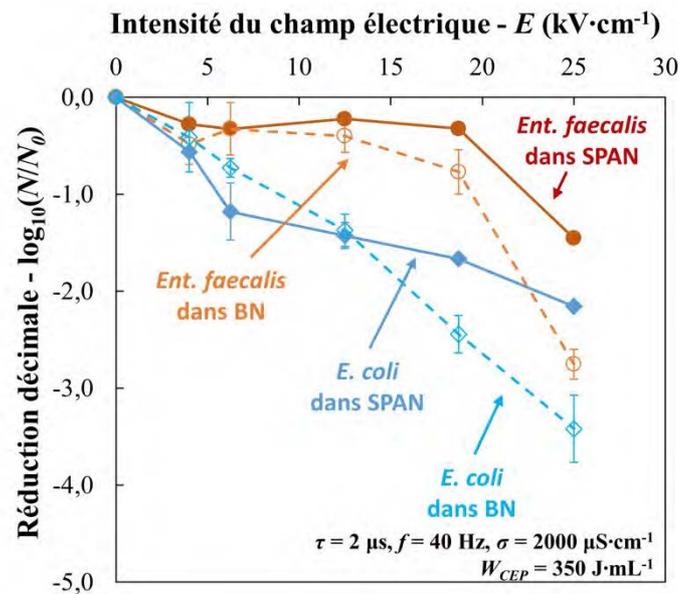


Figure IV-5 Effet de l'intensité du champ électrique sur l'inactivation des bactéries indicatrices avec le même apport d'énergie ($350 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Le modèle de Fermi (Équation IV-1) a été utilisé pour prévoir les valeurs de l'intensité du champ électrique critique des bactéries indicatrices. Le **Tableau IV-3** résume les résultats de modélisation. Les intensités du champ critique déterminées sont de $18,0$ et $1,0 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ respectivement pour *Ent. faecalis* et *E. coli*. Elles sont proches des valeurs de $16,5 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour *Ent. faecalis* et de $3,34 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour *E. coli* calculées par Heinz *et al.* (2001) (cf. **Section I.4.2.2**) [210].

$$\log_{10} N(E) / N_0 = -\log_{10} \left[1 + \exp \left(\frac{E - E_c}{a} \right) \right] \quad \text{Équation IV-1}$$

Tableau IV-3 Résultat de la modélisation par modèle de Fermi.

Souche	Modèle de Fermi		
	a ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$)	E_c ($\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$)	R^2
<i>Ent. faecalis</i>	2,12	18,0	0,81
<i>E. coli</i>	4,70	~ 1,0	0,84

La dérivée des courbes d'abattement bactérien modélisées montre la répartition de la fraction vulnérable aux CEP des deux bactéries indicatrices en fonction du champ électrique (**Figure IV-6**). On peut constater qu'il existe une fraction résistante aux CEP beaucoup plus

importante dans *Ent. faecalis* que *E. coli*. De plus, le mélange des sous-produits animaux présente un effet protecteur en comparaison du BN.

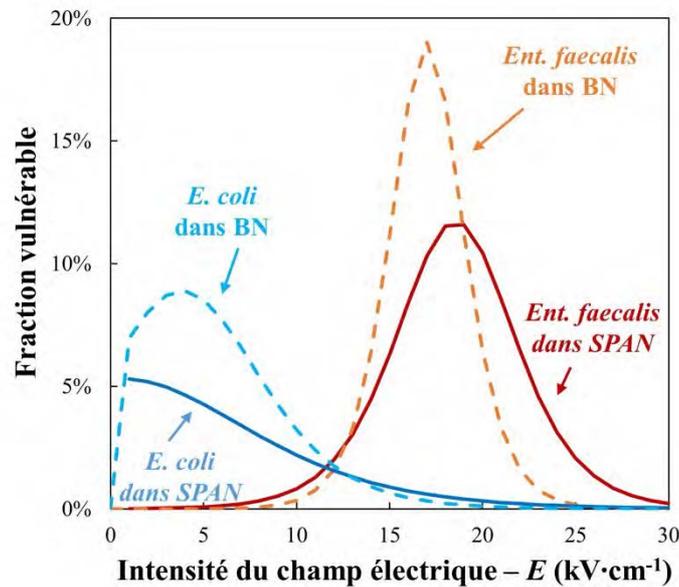


Figure IV-6 Répartition de la vulnérabilité en fonction de l'intensité du champ.

IV.3.2 Effet de l'énergie délivrée par CEP

Dans cette section, trois niveaux d'iso-énergie (300, 1 000 et 3 000 $\text{J}\cdot\text{mL}^{-1}$) ont été sélectionnés. Les taux de survie des deux bactéries indicatrices sont étudiés pour le même apport d'énergie mais traités avec une intensité de champ électrique différente, à savoir $E = 10, 15, 20$ et $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ (illustrée par la **Figure IV-7**). Les résultats montrent que, avec le même apport énergétique délivré par CEP, pour les deux souches, l'inactivation est renforcée lorsque le champ électrique est augmenté. Cela implique que l'intensité du champ électrique est l'un des paramètres clés de l'hygiénisation des SPAN par CEP.

Cependant, en ce qui concerne la souche *Ent. faecalis*, une exposition à $10 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ ne pourrait donner lieu qu'à une inactivation d'environ $0,5 \log_{10}$, quelle que soit la quantité d'énergie spécifique envoyée. Au contraire, une réduction allant de $0,73$ à $2,15 \log_{10}$ est obtenue pour *E. coli* lorsque l'énergie spécifique variait de 300 à $3\,000 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$ à la même intensité du champ électrique ($E = 10 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$). Ce phénomène est cohérent avec une étude récente indiquant qu'un effet létal concernant la rupture de la membrane microbienne pourrait être obtenu à une intensité de champ électrique supérieure à $15 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ et qu'une quantité importante de microorganismes pourraient survivre lorsqu'ils sont exposés à une intensité de champ modérée comprise entre 10 et $19 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ [113].

Il convient de noter que l'apport énergétique calculé dans la présente étude est généralement 10 fois supérieur à l'apport énergétique nécessaire à la pasteurisation par CEP de *Lactobacillus plantarum* dans un tampon phosphate à pH 4,5 [289] et d'*E. coli* dans du jus d'orange [290]. Grahl et Märkl (1996) ont rapporté que l'apport énergétique de la pasteurisation par CEP du lait contenant 1,5% de matière grasse atteignait $600 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$ pour une réduction de $6,0 \log_{10}$ d'*E. coli* à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ [240]. Une inactivation d'*E. coli* de $5,0 \log_{10}$ dans un tampon phosphate de sodium (pH 7) a été obtenue avec un envoi d'énergie supérieur à $1\ 100 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$ à $33,3 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ [243].

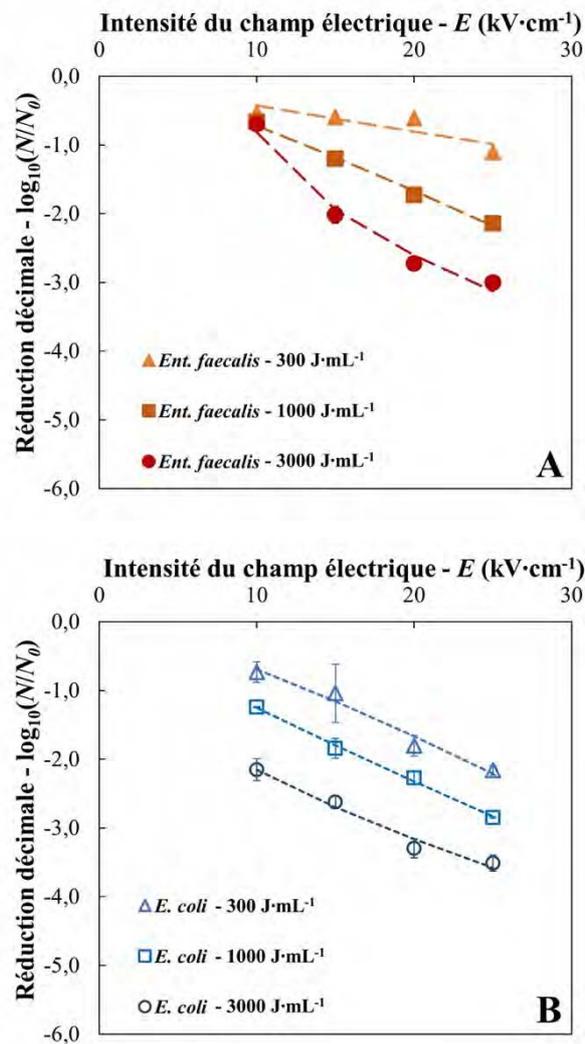


Figure IV-7 Réductions décimales de A) *Ent. faecalis* et B) *E. coli* en fonction de l'intensité du champ électrique à trois niveaux d'énergie spécifique injectés par CEP (les courbes en pointillés correspondent aux résultats de la modélisation du modèle de Weibull utilisés comme courbes de tendance, aucune signification physique ne leur est attribuée).

Plusieurs explications peuvent être données aux consommations énergétiques importantes que nous avons constatées. Premièrement, les microorganismes peuvent être soumis à un stress sévère dans un environnement à pH faible (jus de fruit, tampon pH 4,5) qui les rend plus vulnérables à l'exposition aux CEP. Inversement, le substrat à pH neutre (par exemple, le tampon phosphate pH 7) et les produits gras (par exemple, SPAN et le lait) pourraient conférer un effet protecteur aux microorganismes. Deuxièmement, l'apport d'énergie calculé est surestimé car il était effectué avec les valeurs de la tension électrique de sortie (U) réglée par la consigne du générateur haute tension et de l'intensité de courant électrique (I) maximale obtenue lors de la fin d'un train d'impulsions (cf. **Figure IV-8**). D'une part, la tension électrique réelle est légèrement inférieure à la tension de consigne. D'autre part, le courant électrique augmente durant le temps de traitement CEP en raison du chauffage ohmique qui diminue la résistance électrique du milieu. Ainsi, une mesure plus précise de la consommation électrique nécessiterait une mesure, impulsion après impulsion, de la tension et du courant dans la cellule de traitement.

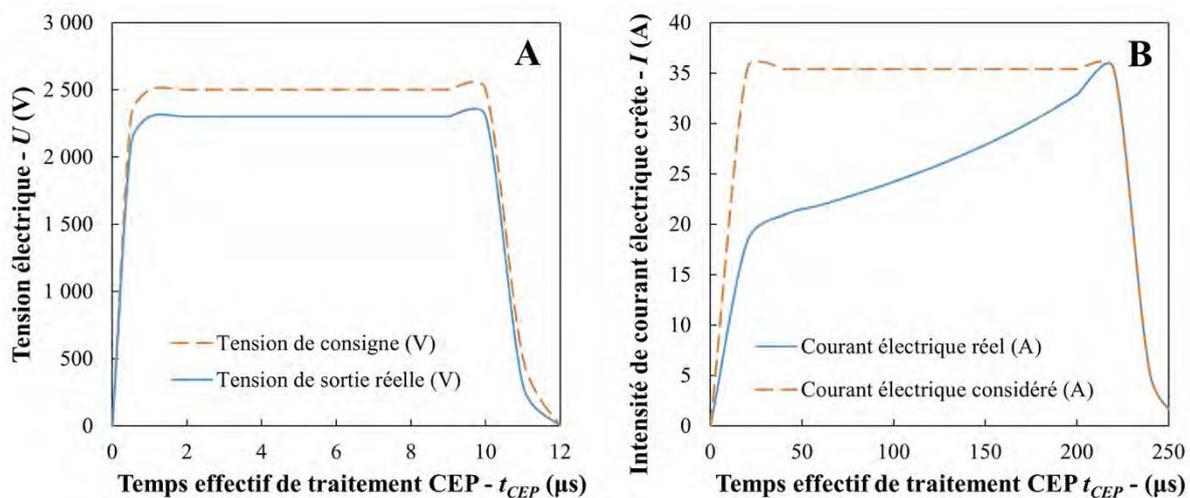


Figure IV-8 Schéma indicatif de la différence entre les mesures électriques réelles (en bleu) et les valeurs prises en compte pour le calcul (en rouge). A) évolution de la tension électrique de sortie (U) durant une impulsion de 10 μ s et B) évolution de l'intensité crête du courant électrique (I) durant un train de 25 impulsions.

IV.4 Récupération et croissance des bactéries indicatrices endommagées

Deux bactéries indicatrices incubées dans une suspension de bouillon nutritif-SPAN à 3 °C pendant 7 jours ont été examinées pour déterminer leur capacité de récupération après un traitement CEP de 25 kV·cm⁻¹ pendant $t_{CEP} = 15$ et 30 ms. Les résultats sont présentés sur la **Figure IV-9**. On y constate que les deux bactéries indicatrices présentent des comportements différents pendant le temps de récupération.

La souche *E. coli* endommagée voit sa population diminuée jusqu'à la limite de détection, respectivement, deux jours ($t_{CEP} = 15$ ms) et un jour ($t_{CEP} = 15$ ms) après l'exposition aux champs électriques. Une tendance à la diminution est également constatée au cours des 7 jours d'incubation : réduction de $2,41 \pm 0,04 \log_{10}$ des bactéries dénombrables. On conclue alors à l'absence probable de phénomènes de réparation durant cette période de 7 jours.

Au contraire, l'augmentation significative de la souche *Ent. faecalis* peut être observée pour tous les échantillons traités et non traités au cours des 7 jours qui suivent le traitement. Il est observé une régénération d'*Ent. faecalis* traité pendant 30 ms à partir du 3^{ème} jour avec une croissance de 0,64 log₁₀, soit un jour plus tard que l'échantillon traité pendant 15 ms (à partir du 2^{ème} jour avec une croissance de 0,31 log₁₀). Le septième jour après le stress par CEP, les entérocoques traités récupèrent respectivement de $1,69 \pm 0,23$ et $1,82 \pm 0,12 \log_{10}$ par rapport aux dénombrements initiaux. Une légère croissance ($0,52 \pm 0,14 \log_{10}$) est observée chez les entérocoques non traités après 7 jours d'incubation.

Les différentes courbes de récupération des deux bactéries indicatrices révèlent que la récupération bactérienne dépend fortement de la nature du microorganisme. La diminution de la souche *E. coli* non traitée suggère l'existence possible d'une compétition microbienne (cf. **Tableau II-2** avec présence d'une flore thermorésistante à $1,07 \cdot 10^5$ UFC·mL⁻¹ dans le SPAN) et des modifications de l'environnement (pH, composition chimique, carence possible en nutriments, ...) [291] qui empêchent la régénération d'*E. coli* dans les SPAN.

En outre, bien que la bactérie « G- » s'avèrent plus résistante pendant une durée de traitement plus longue (cf. **Figure IV-2 B**), les lésions induites par les CEP sont persistantes pendant la période de récupération. Cela entraîne une sur-mortalité bactérienne significative (1,5 à 2,0 log₁₀) au cours des deux jours qui suivent le traitement par CEP. Ce phénomène est plus rapide que la mortalité des échantillons non traités qui est de 1,19 log₁₀ après 2 jours d'incubation (et limitée à 2,41 log₁₀ après 7 jours d'incubation).

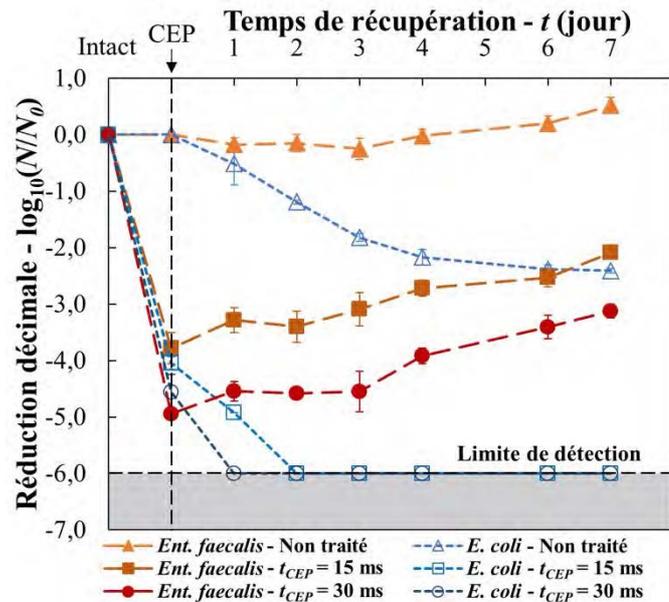


Figure IV-9 Récupération et croissance de bactéries non traitées et traitées par les CEP (à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour le $t_{CEP} = 15$ et 30 ms) dans le SPAN, incubées dans un bouillon nutritif ordinaire à $3 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 7 jours et dénombrées par les milieux sélectifs). « Intact » représente le stade initial avant l'exposition aux CEP.

En ce qui concerne *Ent. faecalis*, sa croissance lente indique une récupération / régénération de la bactérie après le stress lié au traitement CEP. Compte tenu de la tendance similaire des échantillons intacts, on pourrait en conclure que les conditions du traitement CEP ($E = 25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, $t_{CEP} = 30 \text{ ms}$, $f = 40 \text{ Hz}$) n'ont pas d'effet sur la fraction survivante des bactéries. Un traitement plus puissant est donc nécessaire pour éviter la régénération microbienne (un temps de traitement plus long et/ou une intensité de champ électrique plus élevée).

IV.5 Conclusions

La pasteurisation assistée par CEP à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pendant 30 ms peut permettre d'hygiéniser le mélange de SPAN avec une réduction de $5,0 \log_{10}$ d'*Ent. faecalis*. Ce traitement est donc susceptible d'être confronté au règlement européen UE N° 142/2011 afin de valider une technologie alternative d'hygiénisation bactérienne. Le modèle de Weibull couplé permet d'estimer la cinétique d'inactivation des deux bactéries indicatrices. En outre, l'étude sur la récupération bactérienne indique que les bactéries traitées présentent un comportement différent en terme de récupération après exposition au champ électrique. Les investigations

ultérieures doivent donc être axées sur l'optimisation de l'hygiénisation assistée par CEP des SPAN en termes de mode de traitement (ex. système continu, couplage avec chauffage ohmique) et de paramètres opérationnels (ex. intensité du champ électrique, consommation d'énergie). L'effet conjoint de cette technologie innovante sur l'efficacité de pasteurisation et sur l'amélioration du potentiel de méthane peut également être une perspective d'étude en conditions industrielles.

Chapitre V Hygiénisation des SPAN par CEP en continu couplé avec un chauffage ohmique

Chapitre V Hygiénisation des SPAN par CEP en continu couplé avec un chauffage ohmique	159
V.1 Cinétiques de l'inactivation microbienne provoquées par CEP et chauffage ohmique.....	160
V.2 Effet du traitement CEP couplé ou non avec le chauffage ohmique.....	162
V.3 Modélisation cinétique.....	164
V.4 Effet de l'énergie délivrée	168
V.5 Dégradation des électrodes	170
V.6 Conclusions	174

Dans ce chapitre, la cinétique d'inactivation des deux bactéries indicatrices traitées par couplage de CEP et chauffage ohmique ($T < 55\text{ °C}$) a été réalisée à quatre intensités de champ électrique ($E = 15, 20, 25$ et $30\text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$). Cette étude se base sur le protocole expérimental développé dans le **Chapitre IV** concernant l'hygiénisation des sous-produits animaux en batch mais en transposant les expérimentations à plus grande échelle et en mode de traitement continu. Le nouvel équipement présenté dans la **Section II.4** (générateur de plus haute tension $22,5\text{ kV}$, cellule de traitement en continu, *etc.*) a été utilisé pour la mise en place des manipulations.

V.1 Cinétiques de l'inactivation microbienne provoquées par CEP et chauffage ohmique

La **Figure V-1** représente l'évolution de la température de la suspension SPAN lors du traitement CEP qui provoque ainsi un chauffage ohmique de la suspension. La température maximale a été maintenue inférieure à 55 °C en effectuant des périodes de refroidissement (arrêt du traitement CEP et maintien de la circulation de la suspension).

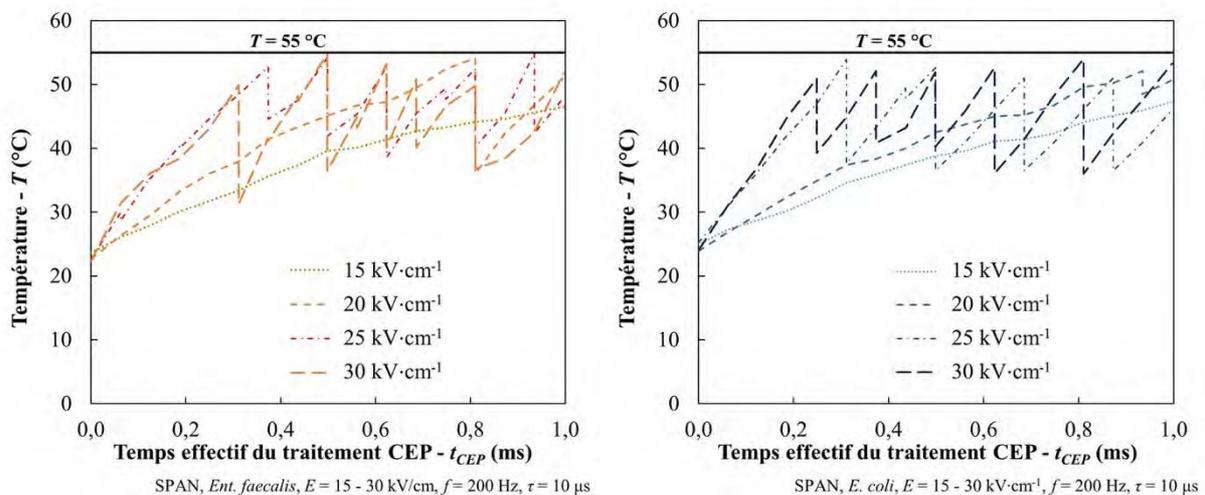


Figure V-1 Évolution de la température lors du traitement CEP pour différentes intensités du champ électrique A) *Ent. faecalis* B) *E. coli*.

La **Figure V-2** illustre l'évolution des fractions survivantes des bactéries indicatrices données en fonction du temps effectif de traitement (t_{CEP}) jusqu'à 1 ms.

La **Figure V-2 A** présente la cinétique d'*Ent. faecalis* étudié. Les réductions finales à $t_{CEP} = 1\text{ ms}$ atteignent 0,8, 3,1, 5,0 et 5,2 \log_{10} pour $E = 15, 20, 25$ et $30\text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, respectivement.

Il est clair que l'efficacité d'inactivation d'*Ent. faecalis* augmente avec l'intensité du champ appliqué (E) entre 15 et 25 $\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Cependant, les faibles différences observées entre les points obtenus à 25 et 30 $\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, montre que l'augmentation du champ ne conduit plus nécessairement à une efficacité plus favorable de la destruction bactérienne à partir de 25 $\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$.

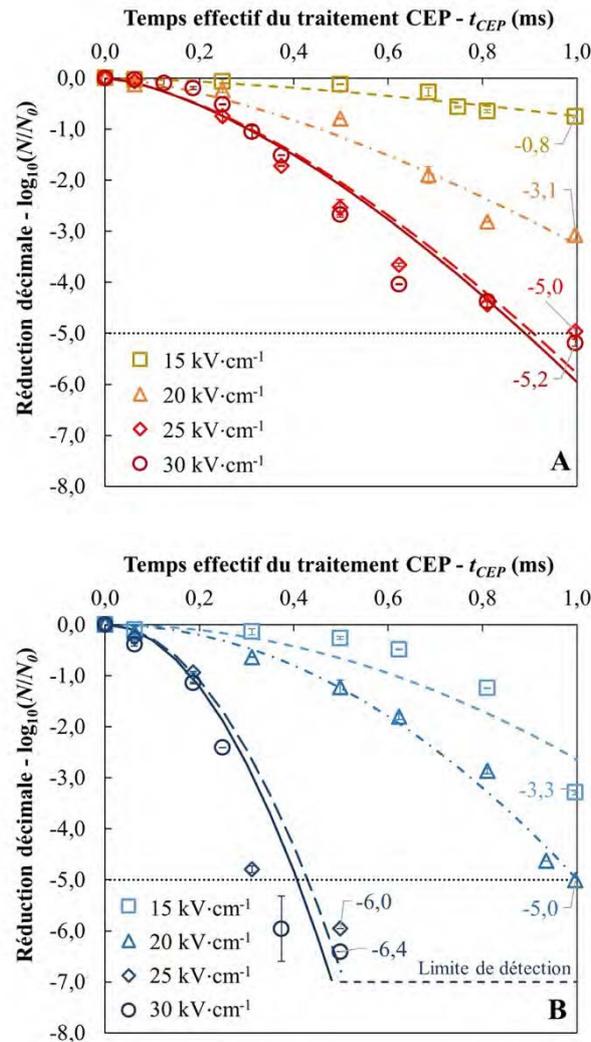


Figure V-2 Cinétiques de réduction de la souche A) *Ent. faecalis* et B) *E. coli* dans la suspension SPAN traité par couplage CEP et chauffage ohmique en fonction du temps effectif du traitement (t_{CEP}) et à différentes intensité du champ électrique (E). Les symboles ouverts représentent l'inactivation observée expérimentalement dans SPAN; les barres d'erreur représentent les écarts-types; les courbes en tirets représentent les résultats de la modélisation à l'aide du modèle de Weibull.

Il convient de noter que le traitement innovant associant les CEP et un chauffage ohmique permet d'hygiéniser la suspension SPAN étudiée (réduction de 5,0 \log_{10} d'*Ent.*

faecalis selon la réglementation européenne) lorsque l'intensité du champ électrique appliqué dépasse $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ avec un temps effectif de traitement supérieur à 1 ms. La même constatation s'applique également à la souche *E. coli* (**Figure V-2 B**) où le taux d'inactivation atteint 3,3, 5,0, 6,0 et 6,4 \log_{10} pour $E = 15, 20, 25$ et $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$.

La souche *E. coli* ATCC 25922 étudiée est donc plus vulnérable qu'*Ent. faecalis* ATCC 19433. En seulement 0,5 ms, la fraction cultivable d'*E. coli* est déjà inférieure à la limite de détection (réduction supérieure à $7,0 \log_{10}$) à 25 et $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ alors qu'*Ent. faecalis* ne peut être réduit que par un facteur de 10^3 ($\sim 3 \log_{10}$). Des études précédentes ont conclu que les bactéries à Gram positif « G+ » sont généralement plus tolérantes au stress CEP que les bactéries à Gram négatif « G- » [244,284], car les bactéries « G+ », comme *Ent. faecalis*, possèdent des couches plus épaisses de peptidoglycanes qui forment une paroi cellulaire plus rigide et plus résistante [208].

Des observations similaires sont formulées dans le **Chapitre IV** où la cinétique d'inactivation des mêmes souches dans la suspension SPAN traitée par CEP est évaluée dans un système en batch sans chauffage ohmique. Dans ce **Chapitre IV**, *Ent. faecalis* est plus résistant au traitement par CEP qu'*E. coli* pendant les cinq premières millisecondes du temps effectif de traitement. Cependant, sans chauffage ohmique, un traitement par CEP à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pendant plus de 30 ms est requis pour obtenir une réduction de $5,0 \log_{10}$ d'*Ent. faecalis*, contre 1 ms, dans le présent chapitre, où un chauffage ohmique est présent.

V.2 Effet du traitement CEP couplé ou non avec le chauffage ohmique

Afin d'examiner l'effet du traitement par CEP en continu et en dissociant le phénomène de chauffage ohmique, des expériences de traitement de suspension de SPAN à $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ ont été réalisées pour deux bactéries indicatrices étudiées.

La **Figure V-3** donne l'évolution de la température de la suspension SPAN traitée par CEP avec ou sans chauffage ohmique. La température maximale a été maintenue inférieure à $55 \text{ }^\circ\text{C}$ pour le traitement avec chauffage ohmique et inférieure à $35 \text{ }^\circ\text{C}$ pour le traitement considéré comme étant sans chauffage ohmique.

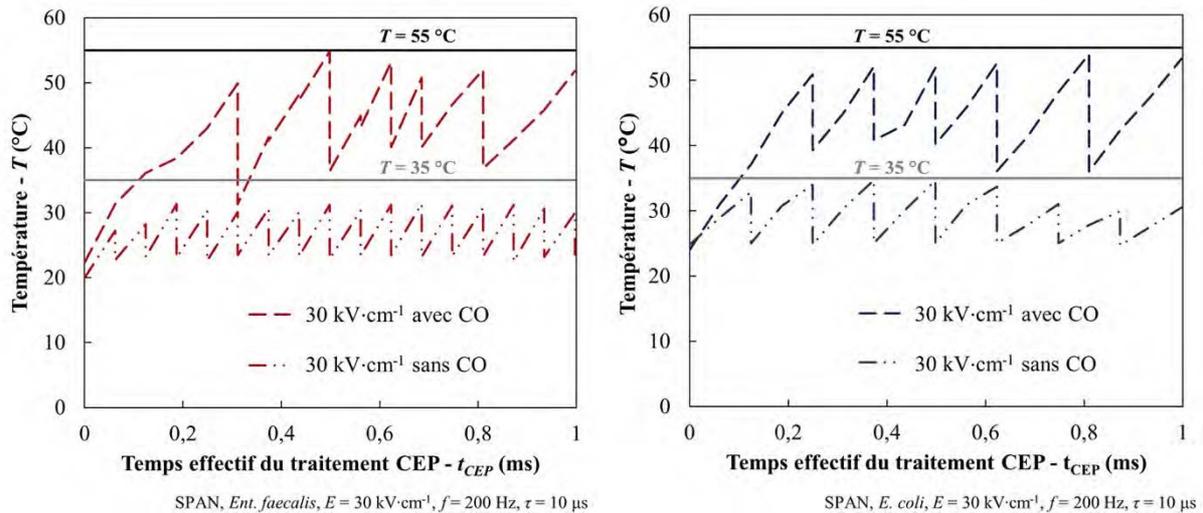


Figure V-3 Évolution des températures lors des traitements CEP couplés ou non avec le chauffage ohmique (CO) à $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour A) *Ent. faecalis* et B) *E. coli*.

La **Figure V-4** présente les courbes d'inactivation du traitement par CEP à $30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ avec ou sans chauffage ohmique.

On peut en conclure que sans chauffage ohmique, le traitement par CEP avec un temps de traitement court a une influence très limitée sur l'inactivation bactérienne. Des réductions de seulement 0,5 et 3,7 log₁₀ sont obtenues pour *Ent. faecalis* et *E. coli* respectivement. *A contrario*, la présence d'un chauffage ohmique améliore de manière significative l'inactivation des deux bactéries indicatrices (5,2 log₁₀ et > 7,0 log₁₀ respectivement) pour $t_{CEP} = 1 \text{ ms}$.

Il faut noter que les fractions survivantes des deux bactéries indicatrices arrivent à un plateau (0,5 log₁₀ pour *Ent. faecalis* après $t_{CEP} = 0,4 \text{ ms}$ et 3,7 log₁₀ pour *E. coli* après $t_{CEP} = 0,6 \text{ ms}$) où aucune inactivation supplémentaire ne peut être obtenue malgré une durée de traitement prolongée. Il est ainsi montré que l'effet combiné des CEP et du chauffage ohmique permet d'améliorer très significativement les performances de pasteurisation et atteindre l'hygiénisation du SPAN étudié.

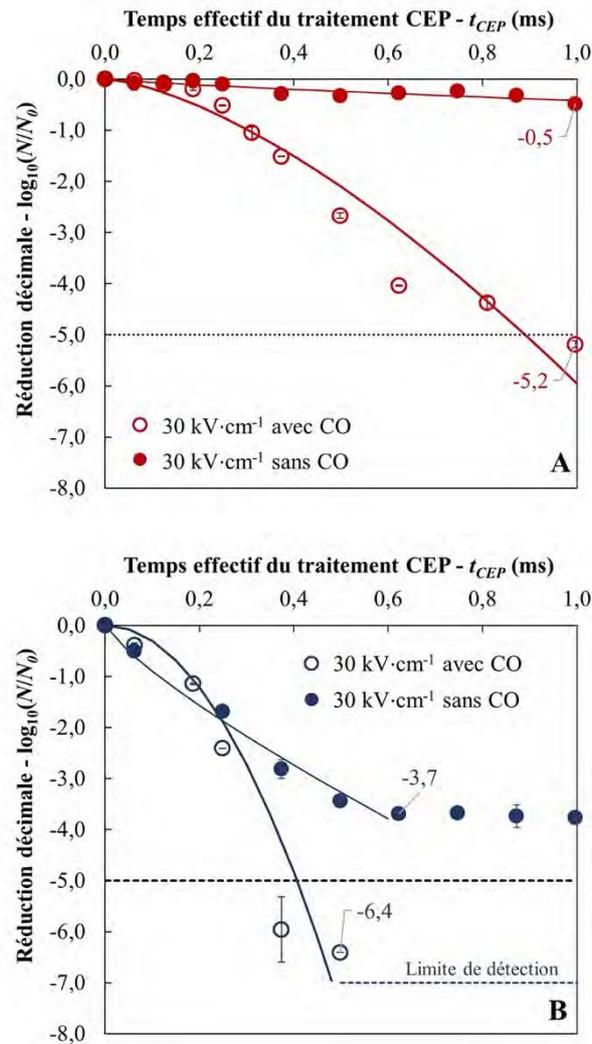


Figure V-4 Cinétiques de réduction de la souche A) *Ent. faecalis* et B) *E. coli* dans la suspension SPAN traitée par CEP avec ou sans chauffage ohmique (CO) à $E = 30 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Les symboles représentent l'inactivation observée expérimentalement dans SPAN; les barres d'erreur représentent les écarts-types; les courbes en tirets représentent les résultats de la modélisation à l'aide du modèle de Weibull.

V.3 Modélisation cinétique

Les cinétiques expérimentales ont été modélisées par le modèle de Weibull comme indiqué dans l'Équation II-10. Les courbes d'inactivation modélisées à chaque intensité de champ électrique pour les deux bactéries indicatrices avec ou sans chauffage ohmique sont illustrées dans les Figures V-2 et V-4.

Comme indiqué au Chapitre II, le paramètre de forme de Weibull β est lié aux comportements des bactéries étudiées et a peu de relation avec les conditions de traitement

externes. Par conséquent, lors de la modélisation des courbes dans la **Figure V-2**, nous avons fixé les valeurs de β pour les deux bactéries indicatrices aux valeurs $\bar{\beta}$, à savoir 1,50 pour *Ent. faecalis* et 2,00 pour *E. coli*. Ces deux valeurs ont été déterminées sur la base du compromis entre les premiers résultats de modélisation permettant d'obtenir la variation de β et la qualité de modélisation correspondante en fixant β (R^2 ajusté le plus proche de 1 que possible, *SSE* et *RMSE* les plus petits possibles).

Le **Tableau V-1** présente les résultats et la qualité de la modélisation des cinétiques d'abattement des deux bactéries indicatrices traitées par CEP avec ou sans chauffage ohmique. On peut en conclure qu'en fixant les valeurs de β , les performances de modélisation sont satisfaisantes au vu du R^2 ajusté et des faibles valeurs de *SSE* et *RMSE*.

Les valeurs 5-*D* calculées impliquent que, comme évoqué dans la **Section V.1**, le temps estimé nécessaire à l'hygiénisation bactérienne du SPAN étudié pourrait être réduit de 3,56 ms à 0,907 ms en augmentant l'intensité du champ de 15 à 25 kV·cm⁻¹. Cependant, une légère amélioration ne peut être constatée entre les valeurs 5-*D* des deux bactéries indicatrices lorsque l'intensité du champ appliqué est portée de 25 à 30 kV·cm⁻¹. La valeur 5-*D* pour *Ent. faecalis* (c'est-à-dire le temps d'hygiénisation) avec l'effet couplé du chauffage ohmique (0,890 ms) est 24,5 fois inférieur à celui sans chauffage ohmique (21,8 ms). Avec chauffage ohmique, la valeur 5-*D* pour *Ent. faecalis* (« G+ ») est 2 fois supérieure à la valeur 5-*D* d'*E. coli* (« G- »). Cela confirme la remarque précédente selon laquelle les bactéries « G+ » sont généralement plus résistantes aux CEP que les bactéries « G- ».

Le paramètre d'échelle de Weibull α en fonction de l'intensité du champ électrique appliquée a été tracé sur la **Figure V-5**, indiquant que la « vitesse de réaction » (l'efficacité de l'hygiénisation dans notre cas) est améliorée lors de l'application d'un champ plus élevé. La courbe d'*Ent. faecalis* n'est pas réellement une droite. Il aurait été possible d'obtenir une meilleure modélisation en utilisant une loi non linéaire. On note également qu'aucune amélioration de l'efficacité n'est obtenue lorsque l'intensité du champ augmente de 25 à 30 kV·cm⁻¹.

Tableau V-1 Résumé de paramètres du modèle de Weibull, paramètres caractérisant la qualité de la modélisation et valeurs du temps de réduction de 5,0 log₁₀ (valeurs de 5-D) estimés à différentes intensités du champ électrique pour *Ent. faecalis* et *E. coli* (moyenne ± écart-type) avec (+) ou sans (O) chauffage ohmique.

Champ électrique (kV·cm ⁻¹)	Chauffage ohmique	Modèle de Weibull					
		Valeurs α (ms)	Valeurs β (-)	R^2 ajustés (-)	SSE (-)	RMSE (-)	5-D (ms)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433							
15	+	0,698 ± 0,007	1,50	0,894 ± 0,033	0,069 ± 0,022	0,099 ± 0,016	3,56 ± 0,04
20	+	0,261 ± 0,004	1,50	0,957 ± 0,009	0,403 ± 0,011	0,272 ± 0,021	1,33 ± 0,02
25	+	0,178 ± 0,000	1,50	0,930 ± 0,004	1,86 ± 0,06	0,515 ± 0,009	0,907 ± 0,003
30	+	0,175 ± 0,001	1,50	0,937 ± 0,007	2,41 ± 0,17	0,491 ± 0,018	0,890 ± 0,005
30	O	1,04 ± 0,05	0,806 ± 0,045	0,735 ± 0,067	0,062 ± 0,019	0,083 ± 0,013	21,8 ± 2,6
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922							
15	+	0,405 ± 0,002	2,00	0,864 ± 0,001	1,13 ± 0,06	0,434 ± 0,011	1,38 ± 0,01
20	+	0,295 ± 0,001	2,00	0,988 ± 0,002	0,331 ± 0,058	0,217 ± 0,019	1,00 ± 0,00
25	+	0,126 ± 0,000	2,00	0,792 ± 0,046	5,51 ± 0,24	1,27 ± 0,16	0,429 ± 0,001
30	+	0,120 ± 0,002	2,00	0,873 ± 0,044	5,14 ± 2,31	1,00 ± 0,23	0,407 ± 0,007
30	O	0,041 ± 0,001	0,804 ± 0,016	0,979 ± 0,005	0,198 ± 0,057	0,221 ± 0,032	0,847 ± 0,024

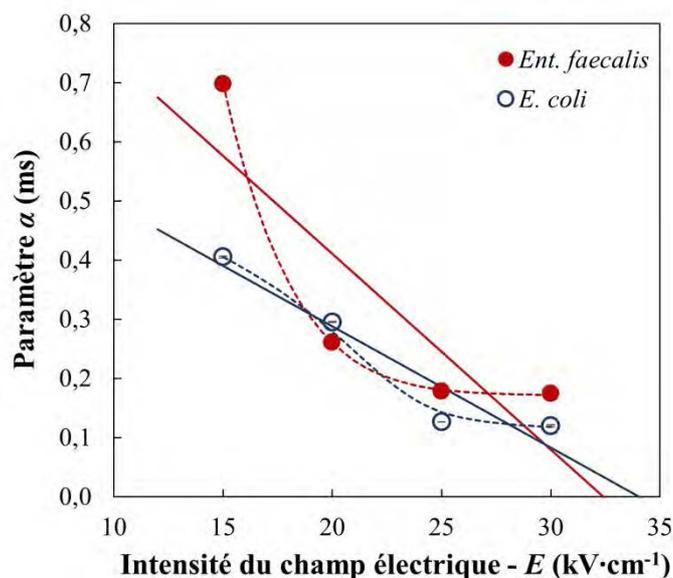


Figure V-5 Régression linéaire et non-linéaire (modèle secondaire) du paramètre de l'échelle de Weibull α en fonction de l'intensité du champ électrique (E) pour *Ent. faecalis* (rouge) et *E. coli* (bleu). Courbes continues : modèle linéaire. Courbes pointillées : modèle non-linéaire.

Un modèle supplémentaire ayant une forme non-linéaire (Gompertz) a été également utilisé pour la modélisation [292]. Un tel modèle permet de mieux représenter l'évolution de α en fonction du champ électrique E . En particulier, le plateau entre 25 et 30 $\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ est correctement pris en compte. Pour valider ce type de modèle, il serait nécessaire de disposer de plus de points que quatre (au moins huit).

Les équations de modèles sont montrées ci-dessous :

- Fonction linéaire :

$$\textit{Ent. faecalis} \quad \alpha = -0,033 \cdot E + 1,067 \quad R^2 = 0,729$$

$$\textit{E. coli} \quad \alpha = -0,020 \cdot E + 0,698 \quad R^2 = 0,911$$

- Fonction non-linéaire (Forme Gompertz) :

$$\textit{Ent. faecalis} \quad \alpha = 0,172 + 276 e^{-e^{-0,050 \cdot E + 1,08}} \quad R^2 = 0,999$$

$$\textit{E. coli} \quad \alpha = 0,114 + 0,530 e^{-e^{-0,239 \cdot E - 4,82}} \quad R^2 = 0,999$$

Bien que la modélisation ne soit pas entièrement satisfaisante en raison probablement d'un contrôle approximatif de la température de traitement et du maintien de la valeur $\bar{\beta}$ à une valeur fixée, une tendance d'évolution du paramètre α des deux bactéries indicatrices en fonction de l'intensité du champ étudiée est observée entre 15 et 25 kV·cm⁻¹ sur la figure. Le **Chapitre IV** a utilisé un modèle secondaire de type Arrhenius (équation log-linéaire) pour prédire les valeurs de α . Dans la présente étude, ce dernier complique l'équation et n'améliore pas la qualité de la modélisation (données non présentées).

V.4 Effet de l'énergie délivrée

Chaque point expérimental de la **Figure V-2** a sa propre consommation énergétique calculée à l'aide de l'**Équation I-9**. Trois niveaux similaires d'apport d'énergie délivrée par le traitement CEP avec chauffage ohmique ont été choisis. L'inactivation (représentée par les fractions survivantes) pour chaque niveau d'énergie est tracée en fonction de l'intensité du champ électrique appliqué (**Figure V-6**).

Nous pouvons dire à partir de l'**Équation I-9** que l'apport d'énergie (W_{CEP}) est une fonction quadratique de l'intensité du champ appliqué (E). Dans la **Figure V-6**, l'absence de points expérimentaux à 15 kV·cm⁻¹ et au niveau d'énergie le plus élevé (550 J·mL⁻¹ pour *Ent. faecalis* ou 567 J·mL⁻¹ pour *E. coli*) est due à l'impossibilité de réaliser expérimentalement la manipulation dans des durées raisonnables vis-à-vis du maintien du bon état physiologique des bactéries. D'après la **Figure V-6**, il est clair que les réductions microbiennes sont considérablement améliorées en augmentant l'apport d'énergie par CEP. Pour *Ent. faecalis* traité avec le même apport d'énergie, les ratios d'inactivation les meilleurs sont obtenus : à 25 kV·cm⁻¹ plutôt qu'à 30 kV·cm⁻¹ (0,7 – 3,6 log10 vs. 0,1 – 2,7 log10). Comme la courbe d'inactivation d'*Ent. faecalis* à 30 kV·cm⁻¹ est très proche de celle obtenue à 25 kV·cm⁻¹, il est évident que travailler à 25 kV·cm⁻¹ est préférable (consommation énergétique moindre qu'à 30 kV·cm⁻¹ pour obtenir un taux de survie similaire).

L'influence de l'intensité du champ électrique sur *E. coli* est plus remarquable en raison de la différenciation des courbes d'inactivation à différentes intensités du champ électrique (**Figure V-2 B**). On peut affirmer qu'*E. coli* est plus sensible au stress des CEP et que la montée de l'intensité de champ de 25 à 30 kV·cm⁻¹ ne cause pas de destruction microbienne supplémentaire.

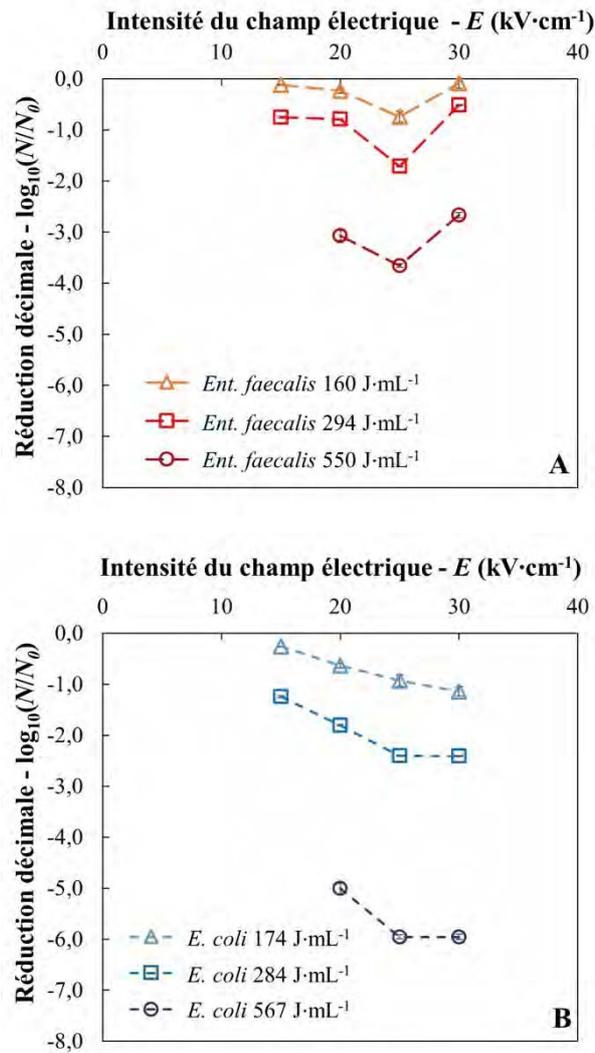


Figure V-6 Inactivation de A) *Ent. faecalis* et B) *E. coli* en fonction de l'intensité du champ électrique à trois niveaux de l'apport d'énergie spécifique. Les barres d'erreurs sont représentées mais sont peu lisibles.

Le **Chapitre IV** a constaté que la suspension de SPAN avait un effet protecteur sur les deux mêmes bactéries indicatrices étudiées sous stress CEP. On explique ce phénomène par la présence de certaines substances chimiques, telles que les lipides et les protéines, qui permettent aux micro-organismes de survivre pendant l'exposition aux CEP. En éliminant l'effet Joule à 25 kV·cm⁻¹, on a obtenu une réduction d'environ 3 log₁₀ d'*Ent. faecalis* et une réduction de 4 log₁₀ d'*E. coli* avec une consommation énergétique de 3 000 J·mL⁻¹, ce qui est trop énergivore en vue d'une application industrielle. Dans la présente étude, avec chauffage ohmique, des réductions d'environ 3,5 et 6,0 log₁₀ respectivement pour *Ent. faecalis* et *E. coli* sont obtenus avec une consommation d'énergie réduite à 550 – 560 J·mL⁻¹. L'efficacité de l'hygiénisation est ainsi largement améliorée.

L'énergie consommée pour une réduction de $5,0 \log_{10}$ d'*Ent. faecalis* dans le SPAN est de $831 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$ à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, combiné avec le chauffage ohmique. Cela correspond à une consommation électrique de $5,58 \text{ kJ}_{\text{électrique}}\cdot\text{g MS}^{-1}$ pour hygiéniser le SPAN étudié. D'une part, cette valeur est comparable aux consommations d'électricité ($3,60 - 11,4 \text{ kJ}_{\text{électrique}}\cdot\text{MS}^{-1}$) utilisées par d'autres technologies alternatives de pasteurisation non thermiques telles que les micro-ondes et les ultrasons (cf. **Chapitre I.3**). D'autre part, il n'est pas approprié de simplement comparer la consommation électrique des électrotechnologies avec la chaleur nécessaire à la pasteurisation thermique (entre $5,23$ et $7,85 \text{ kJ}_{\text{thermique}}\cdot\text{g MS}^{-1}$) car ils ne possèdent pas le même rendement de récupération de la production d'énergie primaire, comme expliqué dans le **Section I.3.2**.

Les électrotechnologies pourraient être privilégiées à condition que l'électricité soit significativement produite à partir d'énergies renouvelables. De plus, la chambre de traitement pourrait également être améliorée en permettant le fonctionnement en mode capacitif qui minimise le passage du courant électrique, réduisant ainsi la puissance électrique consommée par les générateurs de CEP. La minimisation du courant pourrait également réduire le coût économique de l'investissement sur l'équipement de CEP. En mode capacitif, bien que les CEP génèrent moins de chaleur par effet Joule, la valorisation de la chaleur perdue provenant des installations de cogénération du biogaz pourrait préchauffer les SPAN avant hygiénisation, ce qui permet d'exploiter la chaleur fatale au sein des usines de méthanisation.

Une recherche approfondie sur la modélisation numérique du système constitue également une perspective de recherche pour mieux comprendre les mécanismes et optimiser les paramètres opérationnels.

V.5 Dégradation des électrodes

Il est intéressant de noter qu'un problème pratique a été relevé lors des traitements électriques : la corrosion des électrodes dans les chambres de traitement.

Comme le montre la **Figure V-7**, après les expériences, la cathode (connectée à la phase du générateur) a été sévèrement attaquée par le courant électrique. Une zone de forte densité de courant a provoqué une fuite d'atomes métalliques issus de l'électrode en acier inoxydable à cause des réactions électrochimiques.

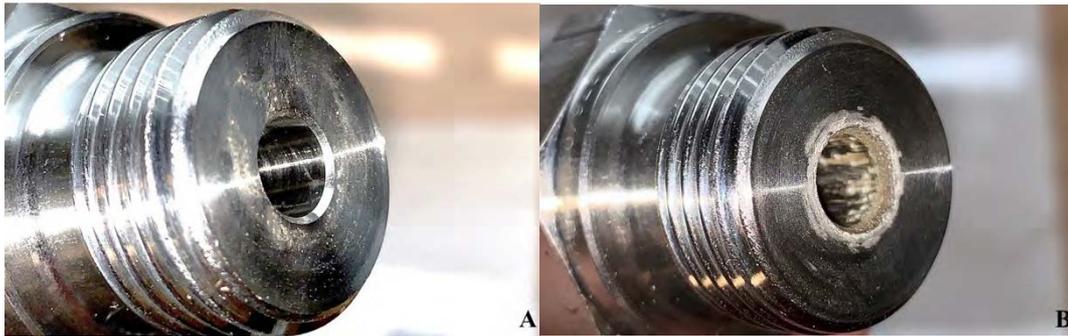


Figure V-7 Photos des cathodes A) neuve et B) après service.

La **Figure V-8** montre une couche d'éléments métalliques déposée à la surface de l'anode (reliée à la masse du générateur). Ce dépôt est plus concentré près des jonctions isolantes électrode/fluide.



Figure V-8 Photos des anodes A) neuve et B) après service.

Morren *et al.* (2003) [293] ont donné comme explication concernant cette dégradation des électrodes par la présence de réactions électrochimiques qui se produisent dans la couche limite entre la surface de l'électrode et la suspension liquide à traiter par CEP. Lorsqu'une électrode est placée dans un électrolyte (suspension SPAN dans notre cas), une double couche de charge se développe immédiatement, même si aucune tension externe n'est appliquée à l'électrode. Des réactions électrochimiques se produisent immédiatement et des électrons sont transférés entre l'électrode et l'électrolyte. Cela se traduit par la formation d'un champ électrique entre l'électrode et la couche d'ions qui peut provoquer d'autres réactions chimiques [293].

Lorsqu'aucune tension n'est appliquée, les deux réactions en compétition atteignent un équilibre pour lequel les charges échangées sont égales. Les courants traversent l'interface dans les deux sens, ce qui donne un courant net nul. Lorsque la tension appliquée est inférieure à une

certaine tension seuil, quasiment aucune réaction électrochimique ne se produit, à l'exception de certaines réactions de bas niveau dues aux courants d'échange. Lorsque la différence de potentiel appliquée à la cellule dépasse la tension seuil, deux demi-réactions électrochimiques indépendantes se produisent au niveau des deux électrodes comme montre le **Tableau V-2** [189,294–296].

Lorsqu'une tension est appliquée et que la tension seuil à laquelle les réactions démarrent n'est pas encore atteinte, le modèle prend la forme de la **Figure V-9 a** et seul un courant de charge non faradique circule dans le condensateur Cdl . Lorsque la tension seuil est atteinte, un courant faradique se produit par la résistance R_f dans la branche parallèle à Cdl et les schémas de la **Figure V-9 b** ou de la **Figure V-9 c** sont retenus, en fonction de la fréquence et de la tension appliquée.

Tableau V-2 Demi-réactions de réduction avec leurs potentiels standard par rapport à l'électrode standard à hydrogène. Tableau extrait de Roodenburg *et al.*, 2005 [189] avec autorisation de reproduction d'Elsevier, Copyright (2019).

E_{red}^0 (V)	Réactif		Produit	N° de réaction
1,36	$Cl_{2(g)} + 2 e^-$	\leftrightarrow	$2 Cl^-_{(aq)}$	1
1,23	$O_{2(g)} + 4 H^+_{(aq)} + 4 e^-$	\leftrightarrow	$2 H_2O_{(l)}$	2
0,77	$Fe^{3+}_{(aq)} + e^-$	\leftrightarrow	$Fe^{2+}_{(aq)}$	3
0	$2 H^+_{(aq)} + 2 e^-$	\leftrightarrow	$H_{2(g)}$	4
-0,04	$Fe^{3+}_{(aq)} + 3 e^-$	\leftrightarrow	$Fe_{(s)}$	5
-0,28	$Ni^{2+}_{(aq)} + 2 e^-$	\leftrightarrow	$Ni_{(s)}$	6
-0,41	$Cr^{3+}_{(aq)} + e^-$	\leftrightarrow	$Cr^{2+}_{(aq)}$	7
-0,44	$Fe^{2+}_{(aq)} + 2 e^-$	\leftrightarrow	$Fe_{(s)}$	8
-0,74	$Cr^{3+}_{(aq)} + 3 e^-$	\leftrightarrow	$Cr_{(s)}$	9
-0,83	$2 H_2O_{(l)} + 2 e^-$	\leftrightarrow	$H_{2(g)} + 2 OH^-_{(aq)}$	10
-0,91	$Cr^{2+}_{(aq)} + 2 e^-$	\leftrightarrow	$Cr_{(s)}$	11
-2,71	$Na^+_{(aq)} + e^-$	\leftrightarrow	$Na_{(s)}$	12

Les réactions dont le N° est grand oxydant plus facilement (\leftarrow). Les réactions dont le N° est petit réduisent plus facilement (\rightarrow).

Aux basses tensions et fréquences, le transfert de masse est l'étape limitante dans les réactions et la limitation par la diffusion massique devient importante [296]. Le modèle équivalent est alors celui du schéma de la **Figure V-9 c**, où le symbole W représente la limitation

de la diffusion de matière. Lorsque la fréquence ou la tension augmente et que la limitation de la diffusion n'est plus limitée, le modèle équivalent est celui de la **Figure V-9 b**. Le courant qui traverse R_f est alors dénommé faradique car il représente les réactions électrochimiques. Lorsque la fréquence augmente encore, la tension seuil n'est plus atteinte car le temps pour charger le condensateur à double couche Cdl est trop court. Le circuit équivalent prend alors la forme de la **Figure V-9 a** et seul le courant non faradique circule [189,293].

Ces études permettent de conclure que la durée des impulsions appliquées doit être inférieure à une valeur maximale calculée à partir des équations données afin d'empêcher la dégradation des électrodes. Une certaine quantité de charge est nécessaire pour atteindre la tension seuil. Par conséquent, après chaque impulsion, la charge accumulée dans la double couche (Cdl) doit être évacuée avant l'application d'une impulsion suivante, sinon la charge dans la double couche augmentera de manière cumulative. La décharge automatique peut être réalisée en appliquant des impulsions sinusoïdales ou bipolaires. Si l'on applique des impulsions unipolaires et que le temps entre deux impulsions est suffisamment long, la capacité de la double couche sera (partiellement) déchargée à la résistance de la solution R_s .

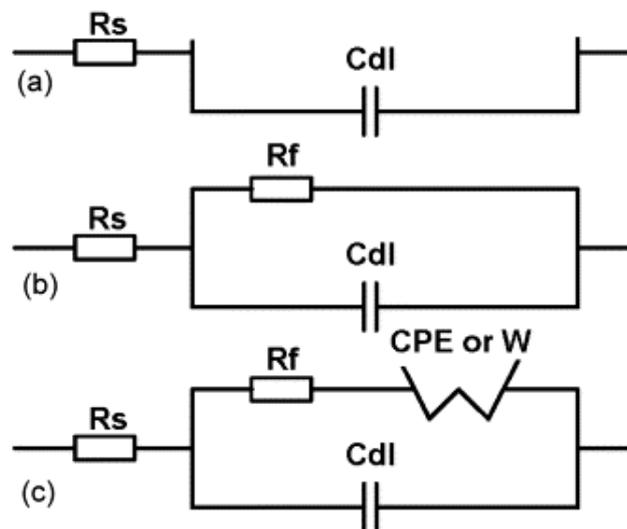


Figure V-9 Circuits électriques équivalents pour une interface électrode-électrolyte d'une cellule électrochimique pour (a) aucune réaction ; (b) réactions et limitation par le transfert de charge ; (c) réactions et limitation par la diffusion de masse. Figure extraite de Morren *et al.*, 2005 [293] avec autorisation de reproduction d'Elsevier, Copyright (2019).

Dans notre cas, le générateur de haute tension délivre des impulsions monopolaires qui, selon les remarques précédentes, vont inévitablement provoquer l'accumulation de charges

dans la double couche et donner ainsi naissance aux réactions électrochimiques qui dégradent les électrodes. La solution est de baisser la tension appliquée, diminuer la fréquence de répétition et d'utiliser des impulsions bipolaires. Notre générateur d'impulsions ne peut générer que des impulsions monopolaires et des tensions importantes sont nécessaires pour garantir l'efficacité d'inactivation bactérienne. En conséquence, il est difficile de trouver un compromis de configuration du générateur de CEP pour assurer à la fois les performances d'hygiénisation et la minimisation de la corrosion des électrodes. D'autre part, la température joue un rôle non négligeable lors de la corrosion. Ainsi, les températures élevées conduisent à des réactions électrochimiques plus importantes.

Comme évoqué dans la section précédente du chapitre, le traitement CEP fourni en mode capacitif constituerait une bonne alternative pour satisfaire les contraintes mentionnées. Le contact indirect des électrodes métalliques avec la suspension d'électrolyte pourrait réduire les fuites des ions métalliques provenant des électrodes. Cet aspect reste à approfondir pour une meilleure compréhension des phénomènes et l'optimisation du procédé.

V.6 Conclusions

Le traitement continu par CEP à $E > 25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, pour une durée effective de traitement (t_{CEP}) de 1 ms, combiné à un chauffage ohmique, peut réduire la population d'*Ent. faecalis* et d'*E. coli* de 5,0 log10 lorsqu'elles sont inoculées dans une suspension de sous-produits animaux. Une telle efficacité est conforme à la réglementation de l'UE pour valider un traitement bactéricide alternatif qui remplace la pasteurisation thermique à 70 °C pendant 60 min (hygiénisation).

L'effet combiné des CEP et du chauffage ohmique permet de diminuer de manière significative les valeurs 5-D estimées par le modèle de Weibull (0,8 ms) par rapport aux travaux antérieurs sur le traitement CEP sans chauffage ohmique. Que ce dernier soit réalisé en batch (30 ms) comme dans le **Chapitre IV** ou bien en continu (21,8 ms), comme dans ce chapitre. L'analyse de l'apport énergétique relève que $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ serait l'intensité du champ électrique optimale pour l'hygiénisation du mélange de sous-produits animaux étudié.

La corrosion des électrodes en acier inoxydable dans les chambres de traitement a été observée lors des manipulations. Ce phénomène s'explique par la présence de réactions électrochimiques au niveau de l'interface électrodes/suspension, ce qui est lié de manière

significative au paramétrage du traitement CEP (intensité du champ électrique, fréquence de répétition, largeur d'impulsion, forme mono-polaire ou bipolaire des impulsions délivrées).

Les perspectives d'études devraient porter sur l'amélioration du traitement CEP par l'optimisation de la chambre de traitement à l'aide de la modélisation numérique, la fourniture d'impulsions en mode capacitif et l'utilisation de la chaleur fatale générée par les installations de méthanisation dans le système de traitement.

Chapitre VI Étude préliminaire de la modélisation numérique du procédé en continu d'hygiénisation des sous-produits animaux par CEP

Chapitre VI Étude préliminaire de la modélisation numérique du procédé en continu d'hygiénisation des sous-produits animaux par CEP	177
VI.1 Incertitudes et erreurs du modèle.....	178
VI.1.1 Aspect électrique	178
VI.1.2 Aspect thermique.....	179
VI.1.3 Erreurs du modèle.....	181
VI.2 Traitement par CEP en continu.....	182
VI.2.1 Répartition du champ électrique dans la chambre.....	182
VI.2.2 Vitesse de fluide	185
VI.2.3 Débit d'impulsions.....	188
VI.3 Intégration du modèle de Weibull	190
VI.4 Méthodologie d'optimisation du procédé	194
VI.5 Conclusion	195

Le **Chapitre VI** présente la modélisation numérique du procédé par champ électro-pulsé. Ce travail de recherche s'appuie sur la collaboration avec le Pr Philippe Mandin (IRDL-UBS, Lorient) et M. Florent Struyven, étudiant en Master 2, actuellement doctorant en cotutelle UBS et Université de Canterbury (Christchurch, New Zealand).

Les différents phénomènes physiques (mécanique des fluides, électrique et thermique) impliquées dans le procédé par CEP sont résolues par le logiciel ANSYS-FLUENT®. Il a fallu par contre programmer des « *user defined functions* » (udf) en langage C pour prendre en considération les particularités du procédé : calculer le champ électrique à partir du champ de potentiel ; calculer le terme source de chauffage et surtout calculer les doses de champ électrique reçues pour toutes les bactéries qui suivent l'écoulement. Le logiciel permet aussi d'effectuer des calculs paramétriques. Cette étude préliminaire complète les essais expérimentaux décrits précédemment et met en évidence des hétérogénéités du traitement par CEP à l'échelle locale. Elle souligne ainsi l'importance d'une conception soignée de la chambre de traitement.

VI.1 Incertitudes et erreurs du modèle

Dans un premier temps, nous allons décrire d'un point de vue macroscopique, le comportement électrique et thermique du système.

VI.1.1 Aspect électrique

La **Figure VI-1** présente le circuit de décharge du système de traitement par CEP de façon simplifiée. Le circuit électrique considéré aux bornes du générateur de haute tension (constitué du générateur, de la résistance de charge et du condensateur) peut être défini par la somme des résistances dudit circuit, à savoir :

$$R_{totale} = R_{chambre} + R_{commutateur} + R_{transmission} \quad \text{Équation VI-1}$$

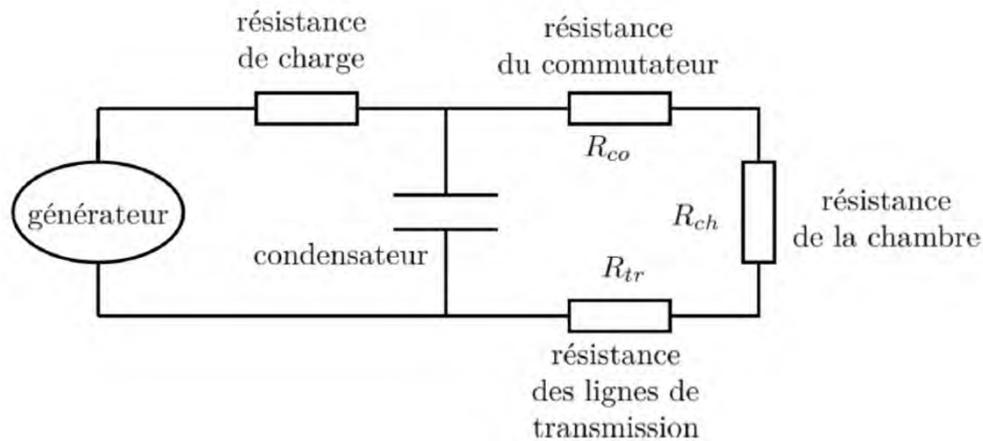


Figure VI-1 Schéma simplifié du système de traitement par CEP.

On en déduit que la tension électrique délivrée par le générateur U n'est pas celle reçue par la chambre de traitement $U_{chambre}$:

$$U_{chambre} = U \cdot \frac{R_{chambre}}{R_{totale}} \quad \text{Équation VI-2}$$

En plus des incertitudes de mesures sur la tension réellement considérée par la chambre de traitement, la résistance des lignes de transmission et celle du commutateur doivent être prises en compte pour calculer le terme source de chaleur.

VI.1.2 Aspect thermique

La validation du modèle thermique repose sur la mesure expérimentale de la température finale du produit constatée après l'envoi des impulsions du champ électrique. La **Figure VI-2** montre les résultats pour un traitement constitué d'une série de trains avec des impulsions de $4 \mu\text{s}$ pendant 4 s à 40 Hz (160 impulsions).

Chaque point est défini par la température en entrée et en sortie, expérimentale et modélisée après avoir fait subir à la chambre de traitement un train de 160 impulsions. L'ensemble des points représente un traitement complet. On constate d'abord que les températures finales sont légèrement supérieures aux températures initiales : les points expérimentaux sont positionnés au-dessus de la bissectrice représentée sur le graphique, ce qui met en évidence l'échauffement du produit par chauffage ohmique. Cependant, les températures modélisées (losanges et triangles) sont bien supérieures aux résultats expérimentaux (cercles vides).

Il existe plusieurs façons de modéliser la valeur moyenne de la température en sortie. La **Figure VI-2** présente 3 résultats issus de 3 hypothèses de modélisation différentes. Il semble d'abord qu'il soit nécessaire de prendre en compte une dissipation d'énergie par échange thermique (pertes) avec l'environnement de la chambre de traitement. Les 2 premiers modèles sont basés sur l'hypothèse qu'une part de chaleur est perdue et qu'elle est définie par un coefficient d'échange par convection $h = 50$ ou $200 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{K}^{-1}$. Les calculs avec un coefficient d'échange convectif h de 50 ou $200 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{K}^{-1}$ sont peu différents. Ces 2 valeurs correspondent à des niveaux d'échange surestimés, lorsqu'un système chaud se refroidit dans un air ambiant au repos et on s'attendrait, au contraire, à une sous-estimation de l'échauffement. La température de sortie modélisée est pourtant surestimée. Ce qui indique qu'il faut modéliser autrement la basse température de sortie constatée expérimentalement.

Il a été alors décidé, dans une troisième hypothèse de modélisation, de plutôt corriger la modélisation du terme source moyen d'échauffement qui était théoriquement proportionnel à $\tau \times f$. Tel quel, il semble que l'échauffement soit surestimé. Au contraire, la réduction du terme source de 50% (la puissance délivrée, cf. **Équation II-19**) permet d'obtenir des températures modélisées proches des résultats attendus. On identifie que pour être en accord avec la mesure constatée expérimentalement il faudrait un terme source d'échauffement égal à la moitié de l'estimation théorique. Cela implique que le champ électrique effectivement délivré dans la cellule pourrait être surévalué.

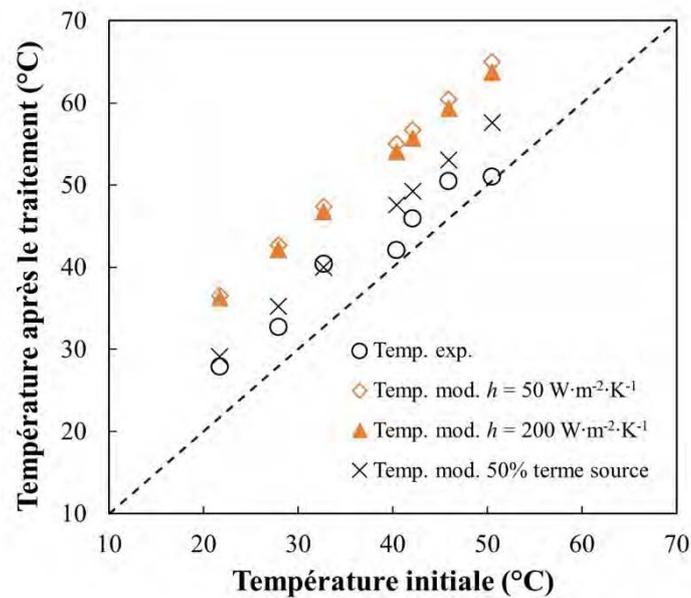


Figure VI-2 Modélisation de la température obtenue à la fin du traitement pour des impulsions de 4 μs et des un temps réel de traitement de 4 s ($f = 200 \text{ Hz}$).

VI.1.3 Erreurs du modèle

La **Figure VI-3** illustre l'analyse des erreurs possibles pouvant apparaître lors de la modélisation numérique du système. L'accumulation des différentes erreurs peut conduire à des performances dégradées de la modélisation. Dans ce chapitre « *Étude préliminaire de la modélisation numérique du procédé en continu d'hygiénisation des sous-produits animaux par CEP* », nous n'avons pas mené d'investigations destinées à réduire les erreurs décrites. En particulier, nous n'avons pas réalisé d'expérimentations suffisamment nombreuses pour valider le modèle. L'étude de sensibilité paramétrique de la réponse du modèle (comme pour le paramètre h ci-avant) n'est que partielle.

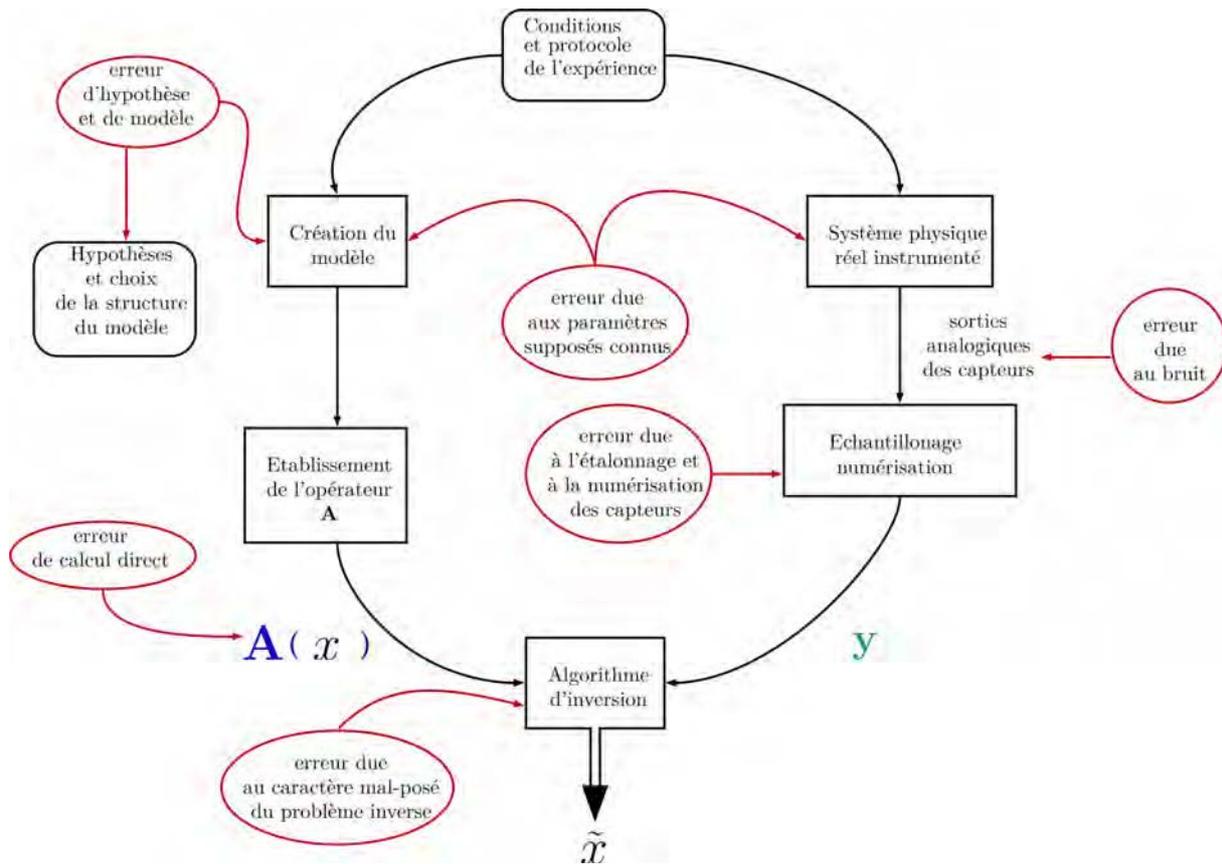


Figure VI-3 Identification des paramètres - Inventaire non exhaustif des erreurs.

VI.2 Traitement par CEP en continu

VI.2.1 Répartition du champ électrique dans la chambre

VI.2.1.1 Distribution du champ

La configuration de la chambre de traitement définit certaines des caractéristiques techniques du système de traitement CEP, telles que la distribution de l'intensité du champ électrique au sein de la chambre lors de l'alternance d'allumage du CEP. La **Figure VI-4** montre la distribution type du champ électrique au sein de la chambre de traitement. Le champ électrique atteint son intensité maximale au niveau des deux jonctions isolant électrode/fluide. À ce niveau, l'électrode présente une arête vive qui « concentre » le champ électrique (effet de pointe). Le champ devient plus uniforme lorsque l'on s'éloigne des parois de la tubulure d'écoulement.

La concentration de l'intensité du champ électrique aux interfaces électrodes/isolant n'est pas souhaitable, car elle provoque un traitement électrique non homogène du fluide et en même temps conduit à l'accumulation, par effet Joule, de la chaleur localisée dans la zone.

Cette observation numérique est à corrélérer à la corrosion des électrodes observée à cet endroit, comme mentionné dans le **Chapitre V**. Une configuration de la chambre de traitement permettant de distribuer le champ électrique de façon plus homogène pourra donc minimiser la dégradation des électrodes et limiter les points chauds au sein du fluide.

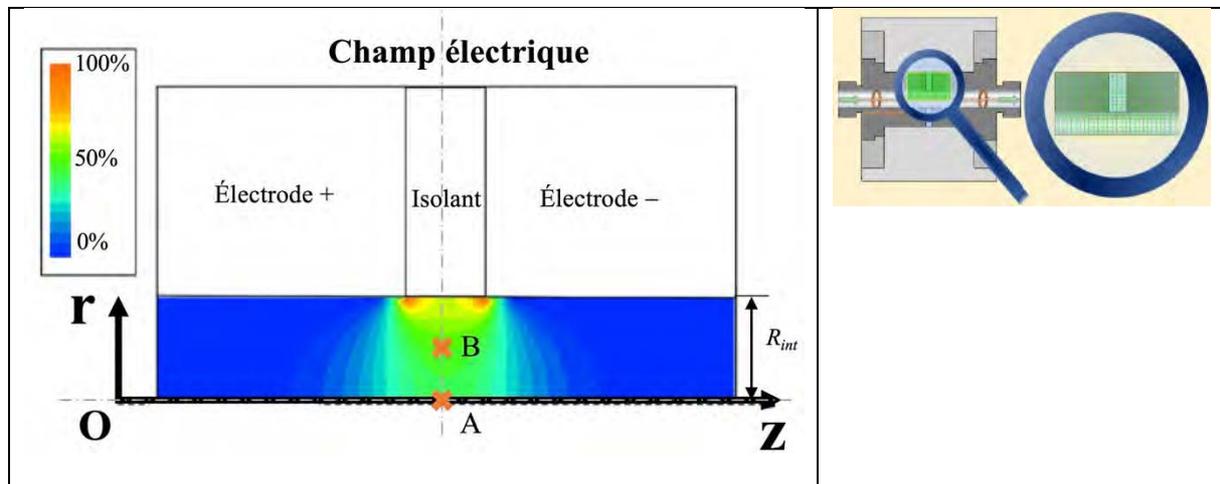


Figure VI-4 Distribution du champ électrique au sein de la chambre de traitement. La figure représente la partie zoomée de l'encart supérieur droit.

VI.2.1.2 Variation du champ électrique suivant l'axe (Oz)

La **Figure VI-5** décrit l'évolution de l'intensité du champ électrique en fonction de la tension électrique délivrée par le générateur en deux points A et B de la chambre de traitement (situés à la mi-distance entre la cathode et l'anode).

Le premier point A ($r = 0$ mm) est situé sur l'axe z et le deuxième point B ($r = 1,75$ mm) se trouve à mi-distance entre l'axe (Oz) et la paroi (**Figure VI-4**). Le champ électrique en ces deux points permet d'évaluer sa valeur dans le reste de la chambre. L'objectif est d'obtenir un champ électrique efficace dans la chambre. Il doit donc être supérieur au champ critique de la bactérie considérée.

Pour *Enterococcus faecalis*, le champ critique est de $16,51 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. En conséquence, si l'on veut que le liquide dans toute la section de la chambre de traitement soit effectivement traité par CEP, la tension aux bornes du générateur doit être au moins de 9 kV (soit une intensité du champ de consigne à $36 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$).

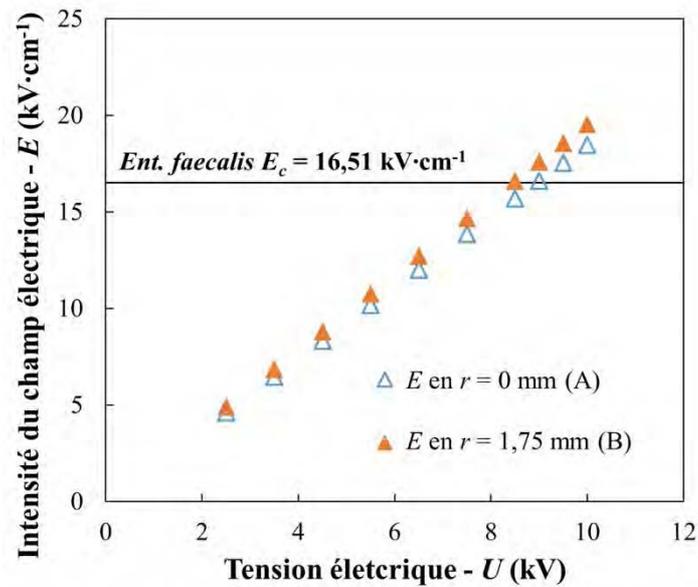


Figure VI-5 Valeur du champ électrique en deux points de la chambre de traitement en fonction de la tension appliquée entre les électrodes.

VI.2.1.3 Variation du champ électrique suivant l'axe (Oz)

L'un des moyens d'augmenter le nombre d'impulsions électriques reçu par les bactéries dans le fluide est d'élargir la distance inter-électrodes et donc d'augmenter le temps de séjour des bactéries à l'intérieur du champ électrique. Cependant, en augmentant cette distance on diminue le champ électrique. En conséquence, pour compenser cette perte du champ et atteindre le champ critique, il faut augmenter la tension délivrée par le générateur.

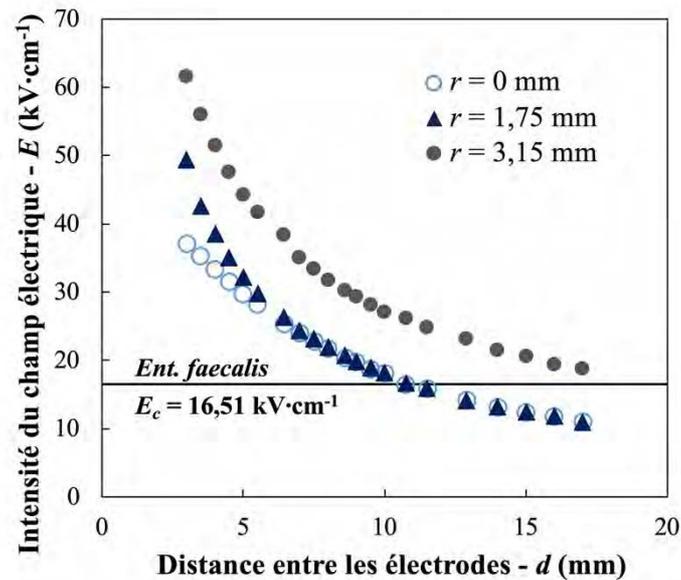


Figure VI-6 Variation du champ électrique pour une tension de 22 kV en fonction de la distance entre les électrodes et pour trois positions radiales (0, 1,75 et 3,15 mm).

En fixant une tension de 22 kV aux bornes du générateur et en faisant varier la distance entre les électrodes, on obtient les valeurs du champ électrique présentées sur la **Figure VI-6**. On constate qu'en augmentant la distance inter électrode actuelle de 2,5 mm jusqu'à 10,75 mm, on obtient un champ électrique au sein de la chambre de traitement supérieur au champ critique.

VI.2.2 Vitesse de fluide

Puisque le champ électrique délivré par le générateur de haute tension peut varier pendant la durée d'impulsion (cf. **Figures II-11** et **II-17**), le potentiel défini comme condition limite au niveau des électrodes est généralement une fonction du temps [200]. Par contre, il convient de noter que les échelles du temps de montée des impulsions (250 ns), de la largeur d'impulsion électrique ($\tau = 2 - 200 \mu\text{s}$) et de la durée « off » entre 2 impulsions ($1/f = 5 - 1\,000 \text{ ms}$) ont des ordres de grandeur très différents. La variation temporelle du champ électrique durant l'impulsion est ainsi négligeable ; elle sera supposée instantanée. La durée d'impulsion dite « on » ne représente qu'une très petite partie de la durée du traitement réel. Dans le cas où le temps de séjour des particules dans le volume de traitement (en millisecondes) est suffisamment grand par rapport à la durée effective du traitement CEP (en microsecondes), on peut supposer que le champ électrique est appliqué de manière instantané dans la chambre lors des alternances « on ». L'équation de Laplace permet de résoudre le

modèle sans tenir compte de la dépendance temporelle du potentiel électrique. Ainsi, une particule fluide (et donc une bactérie) pourra recevoir un nombre d'impulsions dont les tensions électriques sont stables dans le temps pendant son passage dans un volume de traitement donné.

La pompe péristaltique du banc expérimental permet d'assurer la circulation de la suspension SPAN avec un débit volumique moyen (\dot{Q}_v) compris entre 0 et 23,3 mL·s⁻¹ (84 L·h⁻¹). Le rayon au sein de la chambre de traitement étant de 3,15 mm, la vitesse maximale moyennée du fluide (\bar{v}_z) au sein de la chambre est de 0,74 m·s⁻¹. La plage de fréquence du générateur de haute tension (f) s'étend de 1 à 200 Hz. En conséquence, le temps entre 2 impulsions peut varier entre 5 ms et 1 s. La viscosité cinématique de la suspension à 20 °C est considérée comme égale à celle de l'eau soit 10⁻⁶ m²·s⁻¹. Comme le **Tableau VI-I** le montre, jusqu'à 10 mL·s⁻¹, l'écoulement peut être considéré laminaire et le profil de vitesse dans la chambre est bien décrit par la parabole de Poiseuille. Par contre, au-delà de 15 mL·s⁻¹, l'écoulement du fluide traité dans la chambre est en régime turbulent ($Re > 3\,000$) et nécessite une modélisation adaptée de la mécanique des fluides.

Tableau VI-1 Nombre d'impulsions reçues par un groupe de bactéries circulant dans une chambre de traitement.

Débit volumique (mL·s ⁻¹)	Vitesse moyenne (m·s ⁻¹)	Nb. de Reynolds (-)	Temps de séjour (ms)	Nb. d'impulsions à 200 Hz (-)
0,3	0,010	61	260	51,9
5	0,160	1 011	15,6	3,12
10	0,321	2 022	7,79	1,56
15	0,481	3 033	5,19	1,04
20	0,642	4 044	3,89	0,779
23	0,738	4 651	3,39	0,677

Pour des vitesses élevées du fluide, le temps de séjour n'est pas suffisant pour que le nombre d'impulsions soit significatif. Par conséquent, l'hypothèse de continuité n'est pas retenue. Nous nous sommes limités à l'étude des cas où l'écoulement est laminaire ou transitoire ($Re < 3\,000$).

La répartition du champ électrique selon l'axe du tube (Oz) décrit sur la **Figure VI-7** est représentatif de celui subi par des bactéries se déplaçant au voisinage de la paroi. La vitesse

d'écoulement du fluide y est lente et le champ électrique important. Il s'agit donc d'une situation favorable à l'inactivation des micro-organismes.

Comme montré sur la **Figure VI-7**, deux groupes de bactéries situées à une même position axiale, mais étant à deux positions radiales différentes suivant l'axe (Oz) au moment de l'impulsion ne vont pas recevoir la même « dose » électrique. Les 2 groupes ne vont d'ailleurs pas à la même vitesse. On étudie ainsi l'incidence du traitement sur deux groupes de bactéries qui sont entrées à des instants différents dans le champ. Plus la fréquence des impulsions est élevée et plus la vitesse d'écoulement du fluide dans la chambre de traitement est faible, plus la « dose » reçue par les bactéries situées sur un même rayon sera uniforme.

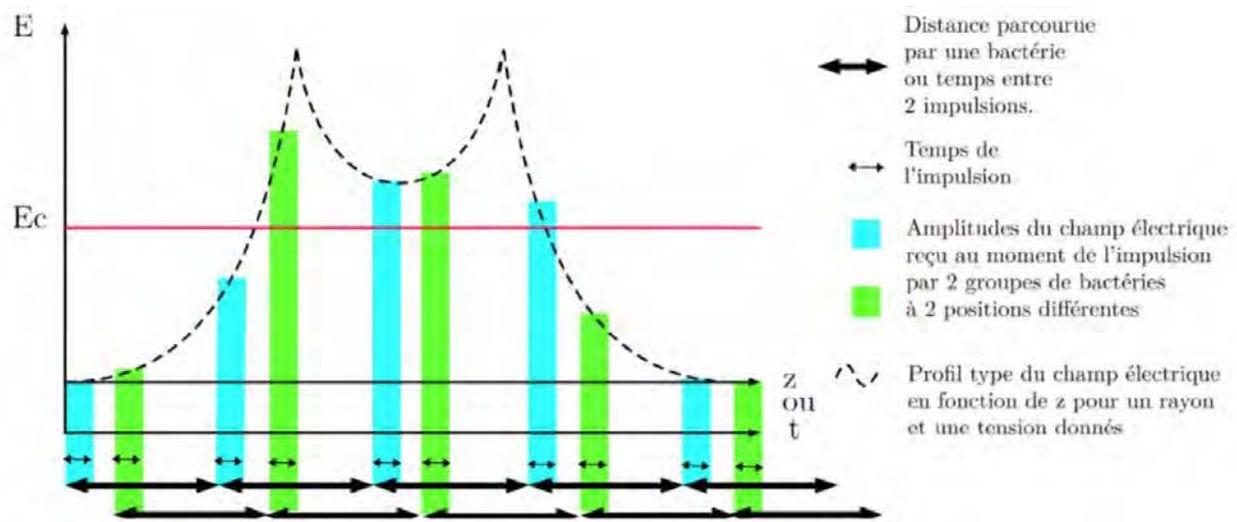


Figure VI-7 Schéma simplifié décrivant l'amplitude du champ électrique subie par deux groupes de bactéries (groupe bleu ou vert) situés sur le même rayon, mais à des abscisses différentes.

Les bactéries convectant près de l'axe de symétrie vont subir la dose la plus faible, car leur vitesse y est la plus élevée, et le champ électrique est le plus faible (**Tableau VI-2**). L'efficacité du traitement dépend du nombre d'impulsions électriques que vont subir les bactéries lors de leur passage dans la chambre de traitement. Autrement dit, plus la fréquence est élevée, plus le traitement sera efficace. Le nombre moyen de pulses reçus par les bactéries en fonction de la fréquence dans la chambre de traitement pour une vitesse moyenne de $0,01 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ et pour différents rayons sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI-2 Nombre d'impulsions reçues par un groupe de bactéries en fonction du rayon et de la fréquence pour une vitesse moyenne d'écoulement de $0,01\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.

Fréquence (Hz)	Rayon considéré (mm)			
	0	1	2	3
50	6	6	10	67
100	12	13	20	134
150	18	20	31	201
200	25	27	41	268

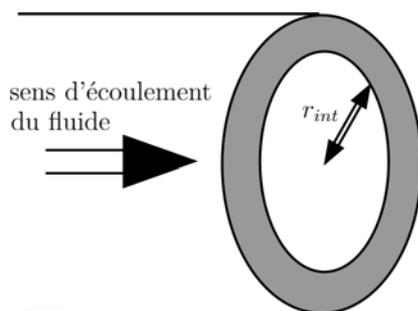
VI.2.3 Débit d'impulsions

Le débit volumique \dot{Q}_v traversant la chambre de traitement est exprimé par l'Équation VI-3.

$$\dot{Q}_v = \int_0^{R_{int}} v_z(r) \cdot 2 \pi \cdot r \, dr \quad \text{Équation VI-3}$$

où \dot{Q}_v ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) est le débit volumique de fluide, R_{int} ($3,15 \cdot 10^{-3} \text{ m}$) est le rayon intérieur de la rondelle PTFE servant d'isolant, $v_z(r)$ (m s^{-1}) est la vitesse moyenne de l'écoulement au rayon r en supposant la vitesse nulle dans l'axe (Or).

Dans un procédé en continu, le nombre d'impulsions reçues par le volume de liquide dans la chambre (q_{impl}) doit être mis en relation avec le débit (comme montré par la Figure VI-8). En multipliant l'Équation VI-3 par le nombre d'impulsions, on obtient l'Équation VI-4 :



$$q_{impl} = \int_0^{R_{int}} v_z(r) \cdot 2 \pi \cdot r \cdot q_{impl}(r) \, dr$$

$$\text{Équation VI-4}$$

Figure VI-8 La surface grisée représente la surface d'intégration de l'Équation VI-3.

Le graphique de la Figure VI-9 représente le rapport, en pourcentage, entre le débit d'impulsions et le débit maximal d'impulsions en fonction du rayon intérieur d'intégration ($q_{imp}(r)/q_{impl} \times 100$). Des bactéries se déplaçant au voisinage de l'axe de symétrie (Oz) (valeur

faible de r) vont recevoir peu d'impulsions. Par exemple, dans la **Figure VI-9**, la part des impulsions reçues par les bactéries traversant la chambre dans la section de rayon $r = 1$ mm ne représente que 10% du total des impulsions (surface indiquée en bleue). Comme montré précédemment, plus on s'éloigne de la paroi située à $r = 3,15$ mm de la chambre plus le champ électrique est faible. Il en ressort qu'il y a peu d'avantage à avoir un champ électrique supérieur au champ critique dans toute la section. Ainsi, une conception de cellule de traitement efficace passe par la multiplication du nombre de chambres de traitement avec mélangeage entre les chambres et non par une augmentation de la longueur des chambres. Dans le cadre d'un régime turbulent, cette conclusion est à nuancer car les bactéries peuvent se déplacer selon l'axe (Or).

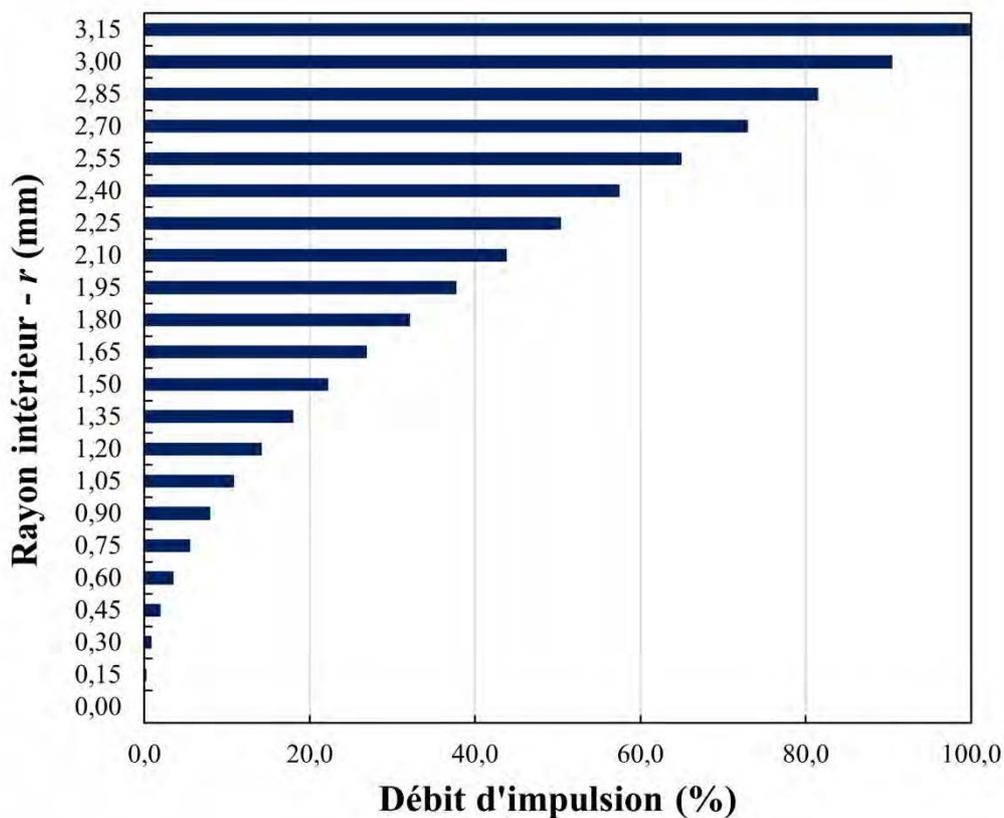


Figure VI-9 Pourcentage cumulé du débit d'impulsions reçues par les bactéries situées entre le centre d'écoulement ($r = 0$ mm) et la paroi ($r = 3,15$ mm).

VI.3 Intégration du modèle de Weibull

L'un des objectifs de la modélisation est d'être capable d'y intégrer la loi obtenue en réacteur batch de Weibull (cf. **Chapitre IV**). Cette loi, utilisée pour représenter les résultats obtenus en batch, peut permettre de calculer l'effet bactéricide d'un traitement continu.

L'une des principales difficultés pour obtenir un traitement efficace est que le champ électrique dans la chambre n'est pas homogène. Les bactéries reçoivent donc différentes doses électriques selon leur trajectoire dans la chambre. Pour évaluer l'hétérogénéité du traitement, l'une des solutions est de réaliser des expériences en batch, pour différentes intensités de champ électrique et températures, et caractériser l'abattement microbien en fonction du temps par un modèle de Weibull.

Pour l'étude présentée dans ce chapitre, réalisée simultanément aux expériences de traitement des SPAN par CEP en batch (**Chapitre IV**), seuls des résultats expérimentaux préliminaires ont pu être intégrés.

Ainsi, la simulation numérique reprend les paramètres de la loi de Weibull établie pour une durée d'impulsions de 1 μs , et une fréquence de 40 Hz. La vitesse moyenne du fluide considérée est de 0,01 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Le logiciel ANSYS-FLUENT® et son modèle DPM (Discrete Phase Melange) permet d'obtenir le nombre d'impulsions effectives reçues par chaque particule durant le traitement.

Le maillage est rectangulaire, et la surface de sortie est divisée en 16 mailles.

En partant de la loi de Weibull, on peut calculer la réduction décimale de l'espèce bactérienne considérée. La vitesse des particules permet de calculer le débit volumique équivalent $\dot{Q}_v(r)$ sortant d'un anneau dont la largeur est déterminée par la taille des cellules résultant du maillage. Le débit d'impulsions reçu et le temps effectif de traitement (t_{CEP}) sont fonctions du rayon intérieur (r).

Le graphique de la **Figure VI-10** permet de visualiser la distribution du champ électrique obtenu pour une tension de 3 300 V au sein de la chambre.

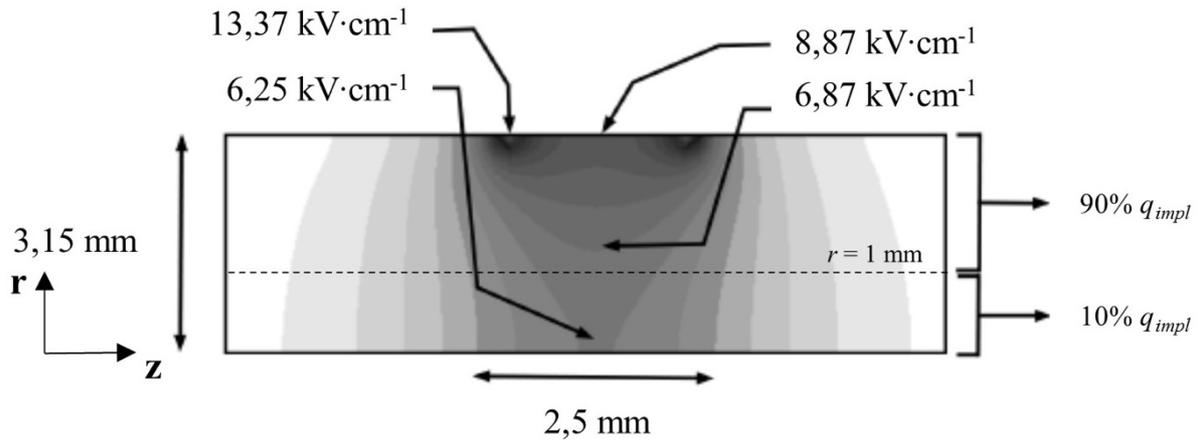


Figure VI-10 Distribution du champ électrique pour une tension de 3300 V.

Dans un premier temps, on écrit l'évolution du nombre de réduction décimale $\ln(N/N_0)$ en fonction du temps t_{CEP} en utilisant la loi de Weibull (on suppose que la concentration initiale des bactéries est homogène à l'entrée de la zone de traitement) :

$$\ln(N/N_0) = - (t_{CEP} / \alpha)^\beta \quad \text{Équation VI-5}$$

$$N(z_i, r_j) = N_0 \cdot \exp \left[- (t_{CEP}(z_i, r_j) / \alpha)^\beta \right] \quad \text{Équation VI-6}$$

avec $N(z_i, r_j)$ ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$) la concentration volumique de bactéries survivantes sortant de l'anneau de coordonnées (z_i, r_j) et N_0 ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$) la concentration de bactéries initiale. Les paramètres du modèle de Weibull α et β sont définis comme une fonction du champ électrique appliqué et de la nature de bactérie, comme décrit dans le **Chapitre IV**. L'effet de l'augmentation de température induite par le chauffage ohmique sur l'inactivation microbienne n'est pas intégré dans le modèle car son interaction synergique avec les paramètres électriques n'est pas encore identifiée. Seul l'effet du traitement par CEP en batch sur les deux microorganismes indicateurs, présenté dans le **Chapitre IV**, est pris en compte. Par contre, l'évolution de la conductivité électrique en fonction de la température est considérée lors du calcul de la distribution du champ électrique dans la cellule de traitement.

Le temps effectif de traitement CEP pour que les bactéries traversent un anneau de coordonnées (z_i, r_j) peut être calculé à partir du temps de séjour t_s :

$$t_{CEP}(z_i, r_j) = \tau \cdot f \cdot t_s(z_i, r_j) \quad \text{Équation VI-7}$$

avec $t_{CEP}(z_i, r_j)$ (s) le temps effectif de traitement CEP dans l'anneau de coordonnée (z_i, r_j) , τ (s) la durée d'impulsion, f (Hz) la fréquence de répétition et $t_s(z_i, r_j)$ (s) le temps de séjour de bactéries dans l'anneau de coordonnée (z_i, r_j) .

Le temps de séjour moyen est une fonction du débit volumique de fluide comme le montre l'**Équation VI-8** :

$$t_s(z_i, r_j) = V_{maille}(z_i, r_j) / \dot{Q}_v(r_j) \quad \text{Équation VI-8}$$

avec $V_{maille}(z_i, r_j)$ (m³) le volume de maille de coordonnée (z_i, r_j) et $\dot{Q}_v(r_j)$ (m³·s⁻¹) le débit volumique de fluide traversant l'anneau de rayon r_j calculé à partir de l'**Équation VI-3**.

Le nombre total de bactéries sortant des anneaux de rayon intérieur r_j de la zone de traitement (de z_1 à z_{30} comme montré par la **Figure VI-11**) est donc donné par les équations suivantes en sommant sur les 30 mailles de l'axe (Oz) :

$$N_{tot}(r_j) = N_0 \cdot \prod_{i=1}^{30} \exp \left[- \left(t_{CEP}(z_i, r_j) / \alpha \right)^\beta \right] \quad \text{Équation VI-9}$$

$$\frac{N_{tot}(r_j)}{N_0} = \prod_{i=1}^{30} \exp \left[- \left(t_{CEP}(z_i, r_j) / \alpha \right)^\beta \right] \quad \text{Équation VI-10}$$

En introduisant les relations des paramètres de Weibull α et β avec l'intensité de champ électrique définies en batch (**Équation II-14**) du **Chapitre II** ($\ln 1/\alpha = \ln A - B/E$ et la moyenne des valeurs de β , $\bar{\beta}$) dans l'**Équation VI-10**, on obtient :

$$\frac{N_{tot}(r_j)}{N_0} = \prod_{i=1}^{30} \exp \left\{ - \left[t_{CEP}(z_i, r_j) \cdot A \cdot \exp \left(-B/E(z_i, r_j) \right) \right]^{\bar{\beta}} \right\}$$

$$\text{Équation VI-11}$$

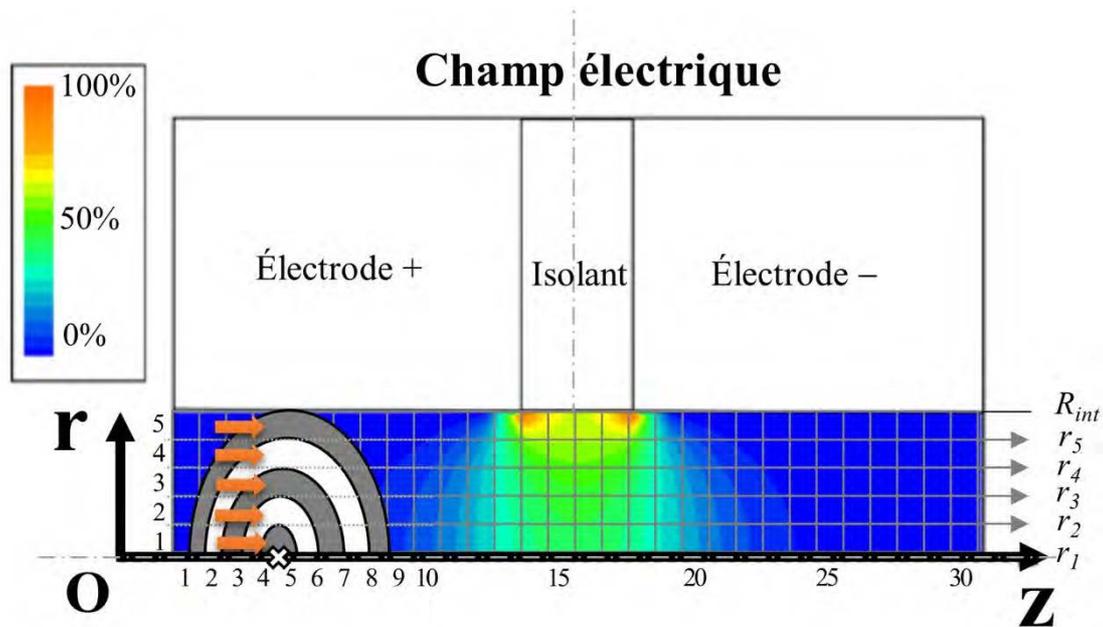


Figure VI-11 Numérotation de mailles de modélisation.

En intégrant les nombres totaux de bactéries sortant des anneaux des 5 rayons intérieurs (de r_1 à r_5 comme montré par la **Figure VI-II**), on obtient le taux d'inactivation microbienne correspondant (**Équation VI-12**).

$$\begin{aligned}
 \frac{N_{tot}}{N_0} &= \int_0^{R_{int}} \frac{N_{tot}(r_j)}{N_0} \cdot 2\pi r \, dr \\
 &= \sum_{j=1}^5 \frac{S_a(r_j)}{S_{tot}} \cdot \frac{N_{tot}(r_j)}{N_0} \\
 &= \sum_{j=1}^5 \frac{\pi (r_{j+1}^2 - r_j^2)}{\pi R_{int}^2} \cdot \frac{N_{tot}(r_j)}{N_0}
 \end{aligned}$$

Équation VI-12

En développant l'Équation VI-12 pour expliciter le calcul, il vient :

$$\begin{aligned} \frac{N_{tot}}{N_0} &= \frac{1}{\pi R_{int}^2} \left[\left(\frac{\pi R_{int}^2}{25} - 0 \right) \cdot \frac{N_{tot}(r_1=0)}{N_0} + \left(\frac{4\pi R_{int}^2}{25} - \frac{\pi R_{int}^2}{25} \right) \cdot \frac{N_{tot}(r_2=\frac{1}{5}R_{int})}{N_0} \right. \\ &+ \left(\frac{9\pi R_{int}^2}{25} - \frac{4\pi R_{int}^2}{25} \right) \cdot \frac{N_{tot}(r_3=\frac{2}{5}R_{int})}{N_0} + \left(\frac{16\pi R_{int}^2}{25} - \frac{9\pi R_{int}^2}{25} \right) \cdot \frac{N_{tot}(r_4=\frac{3}{5}R_{int})}{N_0} \\ &\left. + \left(\frac{25\pi R_{int}^2}{25} - \frac{16\pi R_{int}^2}{25} \right) \cdot \frac{N_{tot}(r_5=\frac{4}{5}R_{int})}{N_0} \right] \\ \frac{N_{tot}}{N_0} &= \frac{1}{25} \frac{N_{tot}(r_1=0)}{N_0} + \frac{3}{25} \frac{N_{tot}(r_2=\frac{1}{5}R_{int})}{N_0} + \frac{5}{25} \frac{N_{tot}(r_3=\frac{2}{5}R_{int})}{N_0} \\ &+ \frac{7}{25} \frac{N_{tot}(r_4=\frac{3}{5}R_{int})}{N_0} + \frac{9}{25} \frac{N_{tot}(r_5=\frac{4}{5}R_{int})}{N_0} \end{aligned}$$

Équation VI-13

L'équation ci-dessus pourra servir à la modélisation locale de l'abattement microbien en tenant compte de la distribution du champ électrique et de la vitesse du fluide au sein de la chambre de traitement. Elle pourra être encore développée en y rajoutant les modèles de destruction thermique des microorganismes cibles. Dans le cadre de cette thèse, les résultats obtenus par le modèle n'ont pas pu être confrontés à l'expérience. Dans le cadre de cette thèse, les résultats obtenus par le modèle n'ont pas pu être confrontés à l'expérience.

VI.4 Méthodologie d'optimisation du procédé

La démarche illustrée par la Figure VI-12 permet de rechercher le point de fonctionnement optimum du système du traitement continu par CEP. Pour maximiser les doses d'impulsions reçues par les bactéries, il faut prolonger le temps de séjour des bactéries dans la zone efficace de la chambre et augmenter la fréquence de répétition en même temps.

Au regard de l'étude précédente (cf. Chapitre V), il s'avère que, même pour un débit faible, le nombre d'impulsions efficaces reçues par les bactéries dans un traitement continu, sans d'autres effets accompagnant le traitement (ex. chauffage ohmique), est trop petit pour avoir un quelconque impact sur l'inactivation bactérienne.

Le générateur de haute tension (ITHPP) permet de délivrer les impulsions de tension de 22,5 kV aux bornes des électrodes. Il sera possible d'atteindre au sein de la chambre de traitement une valeur de champ électrique supérieur au champ critique d'*Enterococcus faecalis* ($16,51 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) même en multipliant par 3 ou 4 la distance inter-électrode actuelle. Cela permettra d'augmenter le temps de séjour et le nombre d'impulsions électriques reçues de ce même rapport.

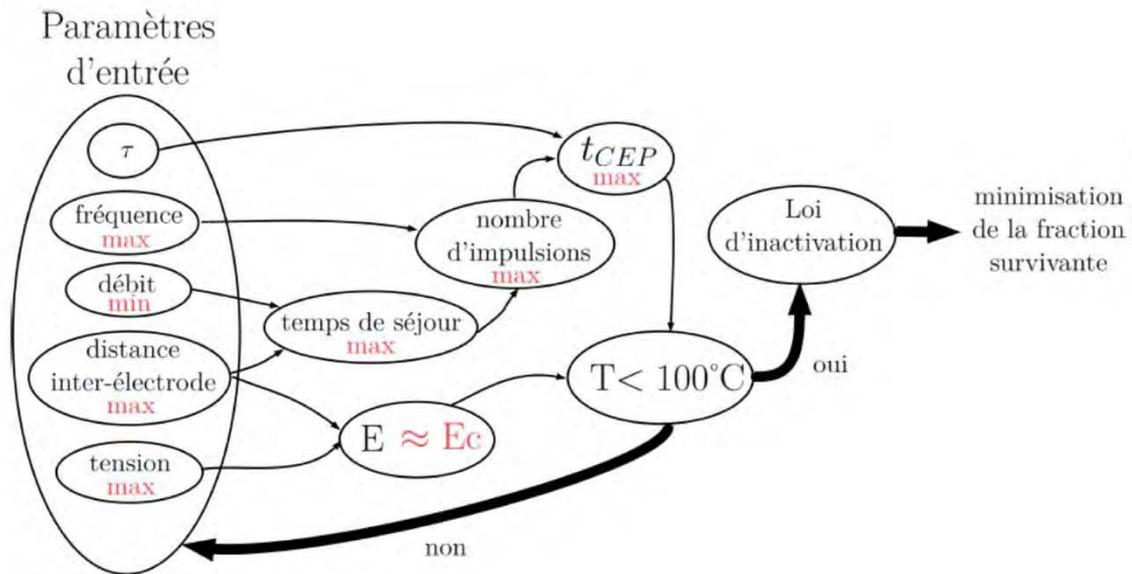


Figure VI-12 Récapitulatif des différents paramètres à prendre en compte pour optimiser l'efficacité du traitement. L'indication $T < 100^\circ\text{C}$ correspond à l'utilisation du modèle pour des bactéries sous forme végétative.

Par contre, la hausse de tension conduit à une consommation énergétique plus élevée dans un système électrique en mode résistif (où du courant électrique traverse la suspension dans la chambre). L'envoi des impulsions capacitives en configurant la chambre de traitement, comme évoqué dans le **Chapitre V**, pourra réduire ce passage du courant électrique et donc minimiser la consommation électrique. Ce procédé en mode capacitif n'a jamais été testé dans le cadre de cette thèse. L'étude de faisabilité de cette approche innovante s'appuiera également sur la modélisation numérique du système.

VI.5 Conclusion

Dans le présent chapitre, une étude préliminaire sur la modélisation numérique du traitement des sous-produits animaux dans un procédé en continu a été réalisée. La modélisation

permet de visualiser les profils des paramètres électriques (ex. champ électrique) et des paramètres mécaniques (ex. vitesse du fluide) lors du traitement par CEP. Un modèle numérique qui comprend les effets localisés de l'hydrodynamique, de la distribution du champ électrique et de la cinétique d'inactivation microbienne a été développé pour prévoir l'efficacité du traitement.

Cette étude préliminaire devra être améliorée en utilisant plus avant certaines fonctionnalités du logiciel ANSYS-FLUENT® puis validée par les résultats expérimentaux. L'un des objectifs est de concevoir des chambres de traitement afin de limiter certains phénomènes parasites tels que l'électrolyse de l'eau et la corrosion des électrodes. Un modèle robuste permettra également de dissocier le phénomène d'électroporation du phénomène de chauffage ohmique en déterminant leurs impacts respectifs sur l'inactivation bactérienne. Enfin, est attendu une évaluation de la consommation énergétique du système.

Conclusion générales et perspectives

L'hygiénisation permet l'abattement des pathogènes présents dans les biodéchets pour minimiser la dissémination des contaminants microbiologiques lors de l'épandage. Cette thèse s'appuie sur la mise en œuvre d'un procédé de traitement par Champs Électriques Pulsés (CEP), une approche alternative à l'hygiénisation thermique traditionnelle, afin d'hygiéniser les sous-produits animaux (SPAN) destinés à être méthanisés.

L'analyse bibliographique des travaux réalisés a montré qu'en Europe, la consommation énergétique du procédé d'hygiénisation thermique représente 6 à 25% de l'énergie primaire générée par les unités de production de biogaz. Cette consommation réduit l'intérêt énergétique, écologique et économique des installations de méthanisation. Pour les industries alimentaires, il existe plusieurs technologies de pasteurisation non-thermique dont les CEP. On constate que les gains potentiels, écologiques et économiques, des procédés innovants dépendent du mix énergétique du pays concerné, de la valorisation possible de la chaleur fatale du site de production de biogaz et de la teneur en eau des substrats de méthanisation.

Durant les travaux de thèse du Dr M. A. Chamaa (menée par la même équipe de recherche), il a été montré que le prétraitement par CEP pouvait conduire à une augmentation du potentiel méthanogène (BMP) des intrants de méthanisation de +5,2 à +12,5%. Dans la présente thèse, il a été souligné que l'effet de l'hygiénisation sur l'amélioration du BMP dépendait des substrats étudiés et de leur composition chimique. Cette variabilité s'explique par la présence de matière organique sensible à ce prétraitement thermique doux et par la concentration en inhibiteurs de méthanisation tels que NH_3 . Une augmentation du BMP de +11 à +18% peut être obtenue pour les déchets issus des procédés biologiques (ex. digestat de cuve d'hydrolyse, boues de stations d'épuration de collectivités, déchets d'abattoir). Ainsi, l'effet sur les BMP des deux traitements évoqués (thermique et électrique) est comparable.

En ce qui concerne l'abattement des bactéries indicatrices par traitement thermique, l'étude microbiologique montre que la souche *Ent. faecalis* est plus thermorésistante que la souche *E. coli*. Un traitement thermique à 55 °C pendant 1 h n'a quasiment aucun effet sur l'inactivation de l'entérocoque. Par contre, *E. coli* est significativement inactivé à cette température. L'hygiénisation à 70 °C pendant 1 h (conditions fixées par l'Union européenne) est largement suffisante pour l'élimination des indicateurs étudiés dans le produit.

Afin de comparer la réduction des bactéries indicatrices obtenue par traitement électrique, deux systèmes de CEP ont été mis en place. Le premier est réalisé en batch et le second, en continu.

Dans le procédé batch, l'hygiénisation assistée par CEP à $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pendant $t_{\text{CEP}} = 30 \text{ ms}$ permet d'hygiéniser le mélange de SPAN avec une réduction de $5 \log_{10}$ d'*Ent. faecalis*, conformément à la norme européenne pour une technologie alternative d'hygiénisation. Le modèle de Weibull intégrant un modèle secondaire estime en toute sécurité la cinétique d'inactivation des deux bactéries indicatrices. En outre, l'étude sur la récupération bactérienne a indiqué que les deux bactéries traitées par CEP présentaient un comportement différent. La souche entérocoque a pu se régénérer à partir du deuxième jour après le traitement alors que la souche *E. coli* endommagée ne s'est pas régénérée.

Le traitement en continu par CEP à $E \geq 25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour une durée de traitement effective (t_{CEP}) de 1 ms, combiné à un chauffage ohmique, a permis de réduire de $5 \log_{10}$ d'*Ent. faecalis* et *E. coli* inoculés dans la suspension de SPAN. Cette réduction est conforme à la réglementation de l'UE pour valider un traitement bactéricide alternatif qui remplace l'hygiénisation à $70 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 60 min. L'effet combiné des CEP et du chauffage ohmique permet de diminuer de manière significative les valeurs $5\text{-}D$ (0,8 ms) par rapport aux valeurs obtenues par traitement CEP en batch sans chauffage ohmique (30 ms). Le traitement dans le même système expérimental en continu par CEP sans chauffage ohmique est également moins efficace ($5\text{-}D = 21,8 \text{ ms}$). L'analyse de l'apport d'énergie a révélé que $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ serait l'intensité du champ électrique optimale pour l'hygiénisation des sous-produits animaux. Une corrosion des électrodes en acier inoxydable dans les chambres de traitement a été observée lors de manipulations. Ce phénomène s'explique par la présence de réactions électrochimiques au niveau de l'interface électrodes/suspension. Son amplitude dépend, significativement, du paramétrage du traitement CEP (ex. intensité du champ électrique, fréquence de répétition, largeur d'impulsion, forme mono-polaire ou bipolaire des impulsions délivrées).

L'étude préliminaire sur la modélisation numérique du traitement des sous-produits animaux dans un procédé en continu a été réalisée. Il permet d'estimer les distributions des champs électriques, thermiques et de vitesse. C'est une démarche importante en vue de l'amélioration de la configuration des cellules du traitement pour optimiser le procédé.

En ce qui concerne les perspectives des travaux réalisés, voici quelques points importants à aborder.

1) Optimisation du procédé en continu

Comme évoqué dans le **Chapitre V**, le procédé d'hygiénisation en continu mis en place au cours de la thèse a une consommation énergétique comparable à d'autres technologies alternatives mais n'est pas toujours rentable par rapport à l'hygiénisation thermique. Le protocole reste donc à améliorer via une optimisation de la conception des cellules de traitement CEP. Les impulsions fournies en mode résistif entraînent le passage d'un courant électrique important à travers une suspension conductrice (les sous-produits animaux dans notre cas) ce qui conduit à augmenter la puissance électrique requise par le système, d'après la loi de Joule. Par contre, le mode capacitif utilisable avec le générateur de haute tension (22,5 kV, ITHPP) permet de minimiser le passage du courant électrique dans la suspension qui est considérée alors comme un condensateur. Ce changement du mode de délivrance des impulsions réduirait ainsi l'énergie consommée par le générateur.

L'optimisation du procédé se traduit également par une optimisation de la configuration de la cellule de traitement au niveau de sa géométrie, de son dimensionnement et du choix des matériaux. Cette optimisation pourra être réalisée à partir des travaux de modélisation numérique *in situ* développés dans le **Chapitre VI**, et permettra une visualisation préliminaire de la distribution des paramètres importants (ex. champ électrique, température, vitesse de fluide, *etc.*) au sein de la chambre de traitement configurée avant la fabrication de prototype. L'intégration de l'impression 3-D dans la fabrication des cellules est aussi à privilégier afin de pouvoir vérifier rapidement au laboratoire la validité des choix réalisés.

2) Couplage avec d'autres traitements innovants

Le **Chapitre V** prouve que le couplage des CEP avec le chauffage ohmique est intéressant pour son efficacité d'abattement microbien et sa consommation énergétique basse.

Cet essai innovant ouvre la vision sur l'hygiénisation par l'intégration des diverses technologies thermique / non-thermique (ultrasons, haute pression, UV, microonde, *etc.*) dans le procédé d'hygiénisation des sous-produits animaux.

L'effet synergique du prétraitement thermique et des CEP peut être réalisé soit directement par le chauffage ohmique généré par les électrotechnologies, soit en valorisant la chaleur fatale des installations de production de biogaz ou encore en traitant directement les

digestats chauds issus de méthaniseurs mésophiles ou thermophiles dans le but d'assurer un processus d'hygiénisation plus robuste. Comme indiqué dans le **Chapitre I**, la récupération de la chaleur produite par le biogaz (combustion, cogénération, *etc.*) pour chauffer les réacteurs est la solution la plus efficace pour maximiser l'intérêt économique et environnemental des unités de méthanisation.

3) Mise à échelle industrielle

Le traitement d'hygiénisation électrique développé dans la présente thèse reste toujours à l'échelle laboratoire. La mise à l'échelle pilote (voir industrielle) est l'ambition finale du projet ce qui nécessite une vision et une analyse plus globale de tous les processus de la méthanisation. Il a été montré que l'hygiénisation, réalisée en amont des bioréacteurs, n'est pas seulement un procédé d'abattement des pathogènes, mais aussi un processus influant sur la production de méthane des entrants. L'analyse des bilans économiques et énergétiques doit prendre en compte à la fois l'efficacité de l'hygiénisation et l'effet sur les BMP. Une analyse de cycle de vie (ACV) devra aussi être réalisée afin d'examiner le procédé d'une façon plus approfondie.

4) Émergence d'autres formes de contaminants biologiques et évolutions réglementaires potentielles du type de déchets à hygiéniser

Les agents pathogènes potentiellement présents sur la filière de la valorisation des déchets peuvent être résumés en pathogènes zoonoses, phyto-pathogènes et champignons thermotolérants [59]. Les règlements européens ne contrôlent que les teneurs en indicateurs de pathogènes (*Escherichia coli*, *Enterococcaceae*, *Salmonella* spp., coliformes, virus thermorésistants, œufs d'helminthes, *etc.*) dans les effluents. Ce contrôle sanitaire ne couvre pas tous les espèces de microorganismes pathogènes potentiellement présentes. L'efficacité de la destruction d'autres pathogènes par hygiénisation thermique ou alternative reste floue.

De plus, il est généralement admis que l'effet de ces traitements sur l'élimination des formes bactériennes résistantes à la chaleur et aux CEP est limité. Avec les préoccupations croissantes concernant les risques sanitaires liés aux spores, il conviendra certainement de renforcer le traitement d'hygiénisation afin tendre vers la stérilisation des intrants potentiellement contaminés.

L'introduction des gènes de résistance aux antibiotiques (GRA) dans l'environnement à travers l'épandage des déchets biologiques est devenue un sujet largement discuté dans le

monde scientifique [38,297]. Les études récentes [44,298] relèvent que le traitement traditionnel a peu d'effet sur l'inactivation des GRA dans les déchets alimentaires. Des études sur une élimination des GRA par hygiénisation et méthanisation pourront être envisagées.

La réglementation concernant l'hygiénisation des biodéchets sera probablement de plus en plus stricte. En Europe, les sous-produits animaux doivent être hygiénisés, tandis qu'aux États-Unis, seules les boues d'épuration sont concernées. Il existe une forte possibilité que la liste de produits nécessitant une hygiénisation soit élargie pour couvrir plus de biodéchets potentiellement dangereux pour l'environnement et l'être humain. Les évolutions réglementaires doivent donc être également prises en compte pour le développement de nouvelles technologies d'hygiénisation.

Annexes

ANNEXES	203
Annexe-1 Résumé de l'abattement microbien par la digestion anaérobie	204
Annexe-2 Publications parues dans les revues internationales.....	208

Annexe-1 Résumé de l'abattement microbien par la digestion anaérobie

Substrats	Procédé de méthanisation	Échelle d'expérience	Microorganismes indicateurs	Observations	Références		
Lisier de bovins	DAM ^a à 35 °C pendant 10 – 28 j	Laboratoire en batch	<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	4 log10	[299]		
	DAT ^b à 53 – 55 °C pendant < 3 h	Laboratoire en batch	<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	4 log10			
Lisier de porcins et bovins	DAM à 35 °C pendant 13 j	Laboratoire en continu	<i>Salmonella typhimurium</i>	~ 4 log10	[300]		
	DAM à 35 °C pendant 9 j	Laboratoire en continu	<i>Escherichia coli</i> serovar. O8	~ 3,7 log10			
	DAM à 35 °C pendant 2 j	Laboratoire en continu	<i>Staphylococcus aureus</i>	~ 5 log10			
	DAM à 35 °C pendant 8 j	Laboratoire en continu	<i>Enterococcus faecalis</i>	3,6 log10			
Fiente de poulets	DAM à 35 °C	–	Coliformes fécaux et <i>Salmonella</i>	50% inactivation	[301]		
	DAT à 50 °C	–	Coliformes fécaux et <i>Salmonella</i>	Inactivation complète			
	DAM	–	<i>Eimeria tenella</i> ova	1 – 2 log10			
	DAT	–	<i>Eimeria tenella</i> ova	3 log10			
Fumiers animaux	DAT pendant 24 h	Unité de méthanisation	<i>Salmonella</i> et <i>Ascaris suum</i> eggs	Inactivation complète	[302]		
Racines de salades	DAM à 35 °C pendant 2 semaines	Laboratoire en batch	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	Non effet	[303]		
	DAT à 55°C pendant 2 semaines	Laboratoire en batch	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	3 log10			
Fumiers animaux	DAM pendant 140 j	Échelle industrielle avec digesteur agité en continu	<i>Escherichia coli</i>	0,33 log10	[304]		
			<i>Salmonella typhimurium</i>	0,73 log10			
			<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,39 log10			
			<i>Listeria monocytogenes</i>	0,88 log10			
			<i>Campylobacter jejuni</i>	0,05 log10			
			Entérocoques fécaux	4 log10	[305]		
			<i>Bovine enterovirus</i>	4 log10			
Fumiers animaux	DAM à 35 °C pendant ~ 35 j	Laboratoire en batch	<i>Porcine parvovirus</i>	Non effet			
			<i>Porcine parvovirus</i>	4 log10			
			<i>Bovine enterovirus</i>	4 log10			
			Entérocoques fécaux	4 log10			
			DAT à 55°C pendant 3.8 h	Laboratoire en batch	<i>Porcine parvovirus</i>	4 log10	
			DAT à 55°C pendant 2.3 h	Laboratoire en batch	<i>Bovine enterovirus</i>	4 log10	
DAT à 55°C pendant 148 h	Laboratoire en batch	Entérocoques fécaux	4 log10				
Boues STEP	DAM	Quelques STEP	Entérocoques fécaux	1 – 1,5 log10	[306]		
Boues STEP	DAM	STEP	<i>Listeria monocytogenes</i>	Sensible à la condition	[307]		

Substrats	Procédé de méthanisation	Échelle d'expérience	Microorganismes indicateurs	Observations	Références
Ordures ménagères	Phase solide DAT à 52 °C pendant 12 h	Laboratoire en batch	<i>Ralstonia solanacearum</i>	8 log10	[308]
Déchets verts	DAM pendant 21 j	Réacteur 300 L en batch	<i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>asparagi</i> <i>Ralstonia solanacearum</i> <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Sclerotium cepivorum</i> Enterobacteriaceae	2,9 log10 6 log10 7 log10 Non effet 3 log10	[309]
Biosolides	DAT pendant 0.5 – 6 h	Laboratoire en batch	<i>Ascaris suum</i> ova	~ 4 log10	[310]
	DAT pendant 0.03 – 2 h	Laboratoire en batch	Poliovirus	~ 6 log10	
Biosolides	DAT	Réacteur en continu	<i>Salmonella</i> spp. Entérocoques fécaux Somatic et coliphages <i>Ascaris suum</i> ova Poliovirus	3,68 – 4,89 log10 0 – 2,36 log10 > 2 log10 2,07 – 5,76 log10	
Biosolides	DAT	Échelle industrielle	Indicateurs microbiens pour biosolides	Conforme au critère de Class A	[311]
Boues primaires et biosolides	DAT	Digesteur en 2 étapes en batch à l'échelle industrielle	Indicateurs microbiens pour biosolides	Conforme au critère de Class A	[312]
Fumiers	DAM à 35 °C pendant months	Digesteur anaérobie agité en continu de 5 L	<i>Salmonella</i> spp.	Inactivation complète	[280]
	DAT à 55 °C pendant months	Digesteur anaérobie agité en continu de 5 L	<i>Salmonella</i> spp.	Inactivation complète	
Ordures ménagère	DAM à 35 °C and DAT à 55 °C	Digesteur anaérobie agité en semi-continu de 45 L	Champignons	2 – 7 log10	[313]
Biosolides	DAT	5-phases digesteur	Indicateurs microbiens pour biosolides	Conforme au critère de Class A	
Ordures ménagère et sous-produits animaux	DAM chargée en NH ₃	Réacteur en semi-continu	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	6 log10 > 5 log10	[314]

Substrats	Procédé de méthanisation	Échelle d'expérience	Microorganismes indicateurs	Observations	Références
Biodéchets	DAT pendant 24 h	Unité de méthanisation de 750 t	Quatres pathogènes bactériens	Inactivation complète	[315]
Sous-produits animaux	DAM ou DAT	Quelques usines de méthanisation	<i>Bacillus</i> spp. <i>Clostridium</i> spp.	Légère réduction Non effet	[86]
Lisiers porcins	DA ^c psychrophile pendant 1 an	Réacteur à l'échelle de ferme	Coliformes totaux <i>Salmonella</i> spp. <i>Campylobacter</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Enterococcus</i> spp.	6 log ₁₀ 3 log ₁₀ 3 log ₁₀ 4 log ₁₀ Non effet significatif Non effet significatif	[316]
Fumiers de vaches	DA à 25, 37 et 52.5 °C pendant 60, 40 et 4 j	Laboratoire en batch	<i>Escherichia coli</i>	~ 7,4 et 8 log ₁₀	[317]
Boues STEP	DAM ou DAT	Laboratoire en batch	Coliformes totaux <i>Escherichia coli</i> Spores de <i>Clostridium perfringens</i> <i>Salmonella</i> spp.	1,9 – 6,3 log ₁₀ 1,69 – 5,38 log ₁₀ 0,48 – 0,93 log ₁₀ Inactivation complète	[318]
Déchets alimentaires	2-étapes de méthanisation (DAT + DAM)	Laboratoire en batch	<i>Escherichia coli</i> <i>Clostridium perfringens</i> Coliphage	6,4 log ₁₀ Regénérer à 4 log ₁₀ Non effet significatif 1,4 log ₁₀	[319]
Boues STEP	DA à 35 ou 55 °C pendant 60 j	Laboratoire en batch	Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> spp. Helminths ova	5,13 log ₁₀ ou 5,09 log ₁₀ Inactivation complète Inactivation complète	[80]
Lisiers de porcins	DAM à 35 °C	Laboratoire en batch	<i>Ascaris suum</i> ova	65% survie après 16 j et inactivation après 24 j	[320]
Fumiers et lisiers de vaches	DAM pendant 11 mois DAM pendant 11 mois DA à 24 °C	Digesteur à l'échelle de ferme Unité de méthanisation Laboratoire en batch	<i>Mycobacterium avium</i> <i>Mycobacterium avium</i> <i>Escherichia coli</i>	88% inactivation Inactivation complète Inactivation complète	[321]

Substrats	Procédé de méthanisation	Échelle d'expérience	Microorganismes indicateurs	Observations	Références
Carcasses et fumiers de porcins	DAM à 37 °C	Laboratoire en batch	<i>Escherichia coli</i>	Inactivation complète	[82]
			<i>Salmonella Senftenberg</i>	Inactivation complète	
			Phage PhiX-174	1,8 log10 après 30 j	
			Phage MS2 and PCV2	Inactivation complète et 3 log10 après 30 j	
Lisiers	DAM à 37 °C pendant 28 j	Laboratoire en batch	Coliformes totaux	> 3 log10	[81]
			<i>Escherichia coli</i>	> 3 log10	
			Entérocoques	> 2 log10	
Digestat anaérobie	MAD à 38 °C pendant > 30 j	Usine de méthanisation	<i>Campylobacter</i> spp.	98.7% réduction	[83]
			<i>Bacillus</i> spp.	25.3% – 38.9% réduction	

^a DAM : Digestion anaérobie mésophile

^b DAT : Digestion anaérobie thermophile

^c DA : Digestion anaérobie

Annexe-2 Publications parues dans les revues internationales

- [1]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Overview of hygienization pretreatment for pasteurization and methane potential enhancement of biowaste: Challenges, state of the art and alternative technologies. *Journal of Cleaner Production*, 236: 117525. doi: 10.1016/j.jclepro.2019.06.356
- [2]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Magali Le Fellic, Yves Lemée, Jean-Louis Lanoisellé. (2019). Hygienization of mixed animal by-product using Pulsed Electric Field: inactivation kinetics modeling and recovery of indicator bacteria. *Chemical Engineering Journal*, 368: 1-9. doi: 10.1016/j.cej.2019.02.158
- [3]. **Xiaojun Liu**, Ikbel Souli, Mohamad-Amr Chamaa, Thomas Lendormi, Claire Sabourin, Yves Lemée, Virginie Boy, Nizar Chaira, Ali Ferchichi, Pascal Morançais, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). Effect of thermal pretreatment at 70 °C for one hour (EU hygienization conditions) of various organic wastes on methane production under mesophilic anaerobic digestion. *AIMS Environmental Science*, 5(2): 117-129. doi: 10.3934/environsci.2018.2.117
- [4]. **Xiaojun Liu**, Thomas Lendormi, Jean-Louis Lanoisellé. (2018). A review of hygienization technology of biowastes for anaerobic digestion: effect on pathogen inactivation and methane production. *Chemical Engineering Transactions*, 70: 529-534. doi: 10.3303/CET1870089 (proceeding paper)



Overview of hygienization pretreatment for pasteurization and methane potential enhancement of biowaste: Challenges, state of the art and alternative technologies

Xiaojun Liu^{*,*}, Thomas Lendormi^{*}, Jean-Louis Lanoisellé

Univ. Bretagne Sud, UMR CNRS G027, IRDL, F-56300, Pontivy, France



ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 January 2019

Received in revised form

28 June 2019

Accepted 30 June 2019

Available online 11 July 2019

Handling Editor: Prof. Jiri Jaromir Klemes

Keywords:

Biowaste

Hygienization

Anaerobic digestion

Methane potential enhancement

Thermal pasteurization

Non-thermal pasteurization

ABSTRACT

Hygienization reduces the public health risks involved in the application of biowaste to agricultural land. Recent advances in the hygienization of treated biowaste have not been reviewed to date. In many countries, the process involves using low temperature thermal pasteurization. Thermal hygienization accounts for between 6% and 25% of primary energy production in European biogas plants. Hygienization pretreatment can also influence the production of biogas by the treated substrates (from a slight negative effect to a biogas yield surplus of 50% in most cases). Alternative athermal pasteurization technologies (including electro-technology, microwave, pressurization, ultrasound and chemical treatment) have been shown to be capable of considerably reducing the number of bacteria and increasing the methane yield. The performance of these alternatives varies greatly and depends on the type of biowaste, the operational parameters studied, energy input and the method of interpreting the experimental results. Analyses of energy and exergy efficiency, of environmental impacts and of economic feasibility show that thermal hygienization may be the most energy efficient and economical approach when it exploits the wasted heat recovered from other processes. The present study also revealed that the research focus has been confined to the sewage sludge. Studies on the other biowaste, including animal by-products, are needed.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The term biowaste covers a wide range of organic waste produced by human-based biological activities, livestock farming and food-processing industries, including municipal solid waste (MSW), sewage sludge and waste activated sludge (WAS) and animal by-products (ABP) such as animal slurry, animal manure and slaughterhouse waste. Valorization of these kinds of biowaste to recover material and produce energy (Mihai and Ingraio, 2018), accompanied by efficient waste management, is attracting increasing attention (Yong et al., 2016). Anaerobic digestion (AD), one of the promising approaches to the production of biogas, is an efficient source of renewable energy for the co-generation of heat and electricity (Miltner et al., 2017). Bio-methane is also an

important raw material for the chemical synthesis industry, and enables a reduction in global greenhouse gas emissions (Xu et al., 2018). Aside from biogas, the solid residue, or digestate, that remains in the anaerobic digester, is rich in nutritional and mineral components. The “return-to-soil” policy for treated waste as fertilizer or soil amendment through application to agricultural land means that waste can be fully exploited (Das et al., 2019).

However, studies in the last two decades revealed the presence of large numbers of various pathogenic microorganisms in biowaste destined for land application. Fecal coliforms, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* spp., *Cryptosporidium*, *Giardia*, Hepatitis B/E, Norovirus and Rotavirus were the main microorganisms found in British livestock manures (Hutchison et al., 2004), in swine manure during treatment and storage (Ziemer et al., 2010), animal manure-amended soil (Jaffrezic et al., 2011), land-applied biosolids (Grant et al., 2012), slaughterhouse waste (Franke-Whittle and Insam, 2013), anaerobic digestate (Maynaud et al., 2016) and swine waste (Sui et al., 2019). These infectious microorganisms can be transmitted from waste to the environment during application on

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: xiaojun.liu92@gmail.com, xiaojun.liu@univ-ubs.fr (X. Liu), thomas.lendormi@univ-ubs.fr (T. Lendormi).

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.356>

0959-6526/© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Hygienization of mixed animal by-product using Pulsed Electric Field: Inactivation kinetics modeling and recovery of indicator bacteria

Xiaojun Liu^{*}, Thomas Lendormi, Magali Le Fellic, Yves Lemée, Jean-Louis Lanoisellé^{*}

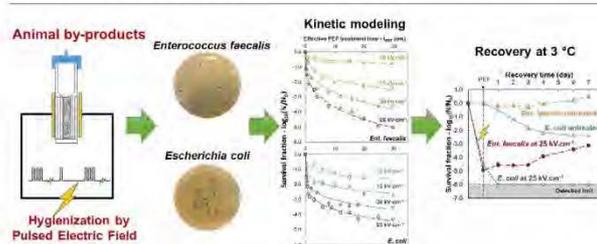
Univ. Bretagne Sud, UMR CNRS 6027, IRDL, F-56300 Pontivy, France



HIGHLIGHTS

- Transfer of innovative food pasteurization technology to animal waste hygienization.
- PEF can achieve the hygienization of animal by-product, conforming to EU regulation.
- PEF treatment at $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ can give a 5-log₁₀ reduction of *Ent. faecalis*.
- Survival kinetics of indicators can be estimated by coupled Weibull model.
- Recovery of PEF-injured indicator bacteria in ABP depends on their species.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Keywords:
Hygienization
Animal by-product
Pulsed Electric Field
Indicator bacteria
Weibull model

ABSTRACT

The hygienization of animal by-products (ABP) assisted by Pulsed Electric Field (PEF) was studied as a transfer of the innovative athermal pasteurization technology developed in food engineering to replace the conventional thermal hygienization process. The strains *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were selected as indicator bacteria. A systematical investigation was carried out concerning the inactivation kinetics of the indicator bacteria at different electric field strength (10, 15, 20 and $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$), the kinetic modeling using coupled Weibull model, the effect of PEF energy input and the recovery of PEF-injured bacteria at $3 \text{ }^\circ\text{C}$ for 7 days. Results show that a PEF treatment at $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ for an effective time over 30 ms would be sufficient to achieve a 5-log₁₀ reduction of *Ent. faecalis*. It complies with the EU regulation No. 142/2011 to validate an alternative hygienization technology other than thermal pasteurization. The Weibull model coupled with a secondary model proved efficient to estimate the survival kinetic curves of two indicator bacteria treated by PEF. The injured *E. coli* could not regenerate after PEF exposure while *Ent. faecalis* could get self-recovery. This preliminary work confirms that PEF was able to give the hygienization of ABP in terms of the bacterial reduction requirement of EU.

1. Introduction

Animal by-products (ABP), as defined by the regulation of European Council No. 1069/2009, are the products of animal origin or those derived from animal transformation processes, which are not intended for human consumption [1]. ABP include slaughterhouse by-products

(e.g. animal carcasses, blood and bones), waste from animal processing plants (e.g. wastewater sludge from slaughterhouses), animal slurry, etc. In 2014, all 28 member countries of the European Union (EU) generated 23.26 Mt of animal and mixed food waste. Besides, the production of animal faeces, urine and manure reached 12.83 Mt in the same year in EU [2]. These kinds of waste may harbor large varieties of

^{*} Corresponding authors.

E-mail addresses: xiaojun.liu92@gmail.com (X. Liu), jean-louis.lanoiselle@univ-ubs.fr (J.-L. Lanoisellé).

<https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.158>

Received 16 November 2018; Received in revised form 19 February 2019; Accepted 21 February 2019

Available online 22 February 2019

1385-8947/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.



AIMS Environmental Science, 5(2): 117–129

DOI: 10.3934/environsci.2018.2.117

Received: 12 March 2018

Accepted: 23 April 2018

Published: 03 May 2018

<http://www.aimspress.com/journal/environmental>

Research article

Effect of thermal pretreatment at 70 °C for one hour (EU hygienization conditions) of various organic wastes on methane production under mesophilic anaerobic digestion

Xiaojun Liu¹, Ikbel Souli², Mohamad-Amr Chamaa¹, Thomas Lendormi^{1*}, Claire Sabourin³, Yves Lemée¹, Virginie Boy¹, Nizar Chaira⁴, Ali Ferchichi⁵, Pascal Morançais⁶ and Jean-Louis Lanoisellé¹

¹ Univ. Bretagne Sud, UMR CNRS 6027, IRDL, F-56300 Pontivy, France

² Faculty of Sciences of Tunis, University of Tunis El Manar, Tunis, Tunisia

³ IUT de Lorient & Pontivy, Department of Chemical Engineering, F-56300 Pontivy, France

⁴ Aridlands and Oases Cropping Laboratory, Medenine, Tunisia

⁵ Rural Laboratory, National Institute of Agronomic of Tunisia, 1082, Tunis, Tunisia

⁶ Univ. Bretagne Sud, EA 3884, LBCM, IUEM, F-56100 Lorient, France

* **Correspondence:** Email: thomas.lendormi@univ-ubs.fr; Tel: +330297276772.

Abstract: The impact of hygienization as mild thermal pretreatment on the methane production of various organic wastes was investigated, including digestate issued from hydrolysis tank, thickened sludge from a municipal wastewater treatment plant (MWWTP sludge) and from a mixed domestic-industrial wastewater treatment plant (D-I WWTP sludge), sludge from a meat-processing plant (MP sludge), sieving rejection from a pork slaughterhouse, pork liver, cattle slurry, cattle scraping slurry and date seeds. They were thermally pretreated at 70 °C for one hour and subsequently put into AD digesters incubated at 37 °C for individual methane potential test. The modified Gompertz model was employed to evaluate the kinetic parameters of methane production curves ($R^2 = 0.944\text{--}0.999$). The results were compared with the untreated samples. Significant enhancement of methane potentials induced by thermal treatment ($p < 0.05$) was observed when it comes to the pork liver (+8.6%), the slaughterhouse sieving rejection (+11.1%), the thickened MWWTP sludge (+12.5%) and the digestate issued from hydrolysis tank (+18.0%). The maximum methane production rates of the 4 substrates mentioned above were increased by thermal pretreatment as well (from 13.5% to 64%, $p < 0.05$). The lag time of the methane production was shortened for the digestate from hydrolysis tank and the MWWTP sludge (by 48.6% and 62.2% respectively, $p < 0.05$). No significant enhancement was obtained for the cattle slurry, the cattle scraping slurry and the D-I WWTP sludge. Additionally, the maximum methane production rate and the methane potential were reduced by thermal pretreatment for the MP sludge and the date seeds respectively ($p < 0.05$). In this paper, possible mechanisms were discussed to explain the different methane production behaviors of substrates after the mild thermal pretreatment.

Keywords: mesophilic anaerobic digestion; hygienization; mild thermal pretreatment; experimental study; modified Gompertz model



CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS

VOL. 70, 2018

Guest Editors: Timothy G. Walmsley, Petar S. Varbanov, Rongxin Su, Jiří J. Klemesš
Copyright © 2018, AIDIC Servizi S.r.l.
ISBN 978-88-95608-67-9; ISSN 2283-9216



The Italian Association
of Chemical Engineering
Online at www.aidic.it/cet

A Review of Hygienization Technology of Biowastes for Anaerobic Digestion: Effect on Pathogen Inactivation and Methane Production

Xiaojun Liu, Thomas Lendormi*, Jean-Louis Lanoisellé

Univ. Bretagne Sud, UMR CNRS 6027, IRDL, F-56300 Pontivy, France
thomas.lendormi@univ-ubs.fr

This work reviews the application of the hygienization-related technology to the inactivation of pathogens in biowastes prior to anaerobic digestion. First, the paper focused on the existing thermal pasteurization from the perspectives of the worldwide regulations and its energy consumption in biogas plants. In addition, the study attention was attributed to the emerging alternative pasteurization technologies (i.e. Pulsed Electric Fields, High Hydrostatic Pressure, Power Ultrasound, Microwaves and chemical pretreatment). These technologies have been developed and well-studied for food-processing industries. Finally, the effect of these technologies, either traditional thermal treatment or emerging non-thermal treatment, on the methane potential of biowastes was discussed.

1. Introduction

Thermal pasteurization has been a major solution to the pathogen inactivation in the food-processing industries (Brennan and Grandison, 2012). This thermal technology has also been borrowed by numerous countries for the purpose of the hygienization (HYG) of certain biowastes that present a potential source of biological risks to public and animal health, which covers a variety of municipal solid wastes (MSW), agricultural waste (AW), animal by-products (ABP) and waste activated sludge (WAS). It is a common practice that the biowastes, rich in organic matters, are treated via biological transformation like composting and anaerobic digestion (AD). Anaerobic digestion is a transformation of organic matters, under anaerobic conditions and by means of fermentative microbiological activities, into biogas that serves as a source of renewable energy in a biogas plant (BGP) (Guarino et al., 2016). The thermal hygienization of bio-wastes before entering AD units remains unclear concerning its treatment efficiency, energy consumption and the impact on the biogas yield of the biowastes treated. The major interest of BGPs is the maximization of the energy recovery of biogas from the wastes to make financial profits and to reduce carbon footprint. Therefore, the heat dedicated to the thermal hygienization may bring negative effect when realizing these economic and environmental goals.

However, many non-thermal pathogen inactivation technologies other than thermal pasteurization have been developed for food-processing industries in recent decades, chiefly for the conservation of food quality and the reduction of energy consumption during the treatment. Electrical pretreatment causes the electroporation on the cellular membrane of microorganisms that are inactivated after a number of pulses during very short time (Zhang et al., 1995). High Hydrostatic Pressure (HHP) can induce a phase transition of the lipid bilayers of pathogens under the intensive pressurization (Martin et al., 2002). Power Ultrasound (PUS) creates cavitation to shock and kill bacteria (Piyasena et al., 2003). Microwaves (MW) give rise to a volume heating of the products and bring about the thermal pretreatment (Tyagi and Lo, 2013). Acid or alkali pretreatment stresses the pathogens by modifying their living conditions. These pretreatment technologies could be a future research focus for the hygienization of biowastes (van Fana et al., 2017). This paper contributes to a comprehensive review of the existing thermal pasteurization from the perspectives of the worldwide regulations and its energy consumption. The work also reviews the application of the emerging alternative pasteurization technologies on the biowastes. Besides, the effect of these technologies on the methane potential of the biowastes was discussed.

Références

- [1] Eurostat, Total amount of waste generated by households and businesses, by waste category, (2019). <https://ec.europa.eu/eurostat/web/environment/waste/database> (accessed August 24, 2018).
- [2] FranceAgriMer, L'observatoire national des ressources en biomasse - Évaluation des ressources disponibles en France, Établissement national des produits de l'agriculture et de la mer, Montreuil-sous-Bois, France, 2012..
- [3] C. Ji, C.-X. Kong, Z.-L. Mei, J. Li, A Review of the Anaerobic Digestion of Fruit and Vegetable Waste, *Appl Biochem Biotechnol.* 183 (2017) 906–922. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2472-x>.
- [4] Union Européenne, Règlement (CE) No 1069/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 21 octobre 2009 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et abrogeant le règlement (CE) no 1774/2002 (règlement relatif aux sous-produits animaux), *Journal Officiel de l'Union Européenne.* 52 (2009). https://doi.org/10.3000/17252555.L_2009.300.eng.
- [5] T.R. dos S. Mathias, V.M.F. Alexandre, M.C. Cammarota, P.P.M. de Mello, E.F.C. Sérvulo, Characterization and determination of brewer's solid wastes composition, *Journal of the Institute of Brewing.* 121 (2015) 400–404. <https://doi.org/10.1002/jib.229>.
- [6] F. Xu, Y. Li, X. Ge, L. Yang, Y. Li, Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities, *Bioresource Technology.* 247 (2018) 1047–1058. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.020>.
- [7] S. Luste, S. Luostarinen, M. Sillanpää, Effect of pre-treatments on hydrolysis and methane production potentials of by-products from meat-processing industry, *Journal of Hazardous Materials.* 164 (2009) 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.08.002>.
- [8] E.O. Uzodinma, A.U. Ofoefule, J.I. Eze, N.D. Onwuka, Biogas Production from blends of Agro-industrial wastes, *Trends Appl. Sci. Res.* 2 (2007) 554–558.
- [9] R.A. Labatut, L.T. Angenent, N.R. Scott, Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates, *Bioresource Technology.* 102 (2011) 2255–2264. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.035>.
- [10] B. Farizoglu, B. Keskinler, E. Yildiz, A. Nuhoglu, Simultaneous removal of C, N, P from cheese whey by jet loop membrane bioreactor (JLMBR), *Journal of Hazardous Materials.* 146 (2007) 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.051>.
- [11] R. Li, S. Chen, X. Li, J. Saifullah Lar, Y. He, B. Zhu, Anaerobic Codigestion of Kitchen Waste with Cattle Manure for Biogas Production, *Energy Fuels.* 23 (2009) 2225–2228. <https://doi.org/10.1021/ef8008772>.
- [12] D.-H. Kim, S.-H. Kim, H.-W. Kim, M.-S. Kim, H.-S. Shin, Sewage sludge addition to food waste synergistically enhances hydrogen fermentation performance, *Bioresource Technology.* 102 (2011) 8501–8506. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.089>.
- [13] D. Divya, L.R. Gopinath, P. Merlin Christy, A review on current aspects and diverse prospects for enhancing biogas production in sustainable means, *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 42 (2015) 690–699. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.055>.
- [14] C. Zhang, G. Xiao, L. Peng, H. Su, T. Tan, The anaerobic co-digestion of food waste and cattle manure, *Bioresource Technology.* 129 (2013) 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.138>.

- [15] X. Liu, I. Souli, M.-A. Chamaa, T. Lendormi, C. Sabourin, Y. Lemée, V. Boy, N. Chaira, A. Ferchichi, P. Morançais, J.-L. Lanoisellé, Effect of thermal pretreatment at 70 °C for one hour (EU hygienization conditions) of various organic wastes on methane production under mesophilic anaerobic digestion, *AIMS Environmental Science*. 5 (2018) 117–129. <https://doi.org/10.3934/environsci.2018.2.117>.
- [16] X. Li, L. Li, M. Zheng, G. Fu, J.S. Lar, Anaerobic Co-Digestion of Cattle Manure with Corn Stover Pretreated by Sodium Hydroxide for Efficient Biogas Production, *Energy Fuels*. 23 (2009) 4635–4639. <https://doi.org/10.1021/ef900384p>.
- [17] H.B. Møller, S.G. Sommer, B.K. Ahring, Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure, *Biomass and Bioenergy*. 26 (2004) 485–495. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2003.08.008>.
- [18] L. Masse, D.I. Massé, Y. Pellerin, The effect of pH on the separation of manure nutrients with reverse osmosis membranes, *Journal of Membrane Science*. 325 (2008) 914–919. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.09.017>.
- [19] C. Laguë, H. Landry, M. Roberge, Engineering of land application systems for livestock manure: A review, *Canadian Biosystems Engineering*. 47 (2005) e6.
- [20] J. Gelegenis, D. Georgakakis, I. Angelidaki, V. Mavris, Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure, *Renewable Energy*. 32 (2007) 2147–2160. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2006.11.015>.
- [21] J.E. Ruiz-Espinoza, J.M. Méndez-Contreras, A. Alvarado-Lassman, S.A. Martínez-Delgado, Effect of low temperature thermal pre-treatment on the solubilization of organic matter, pathogen inactivation and mesophilic anaerobic digestion of poultry sludge, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 47 (2012) 1795–1802. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.689237>.
- [22] S. Borowski, J. Domański, L. Weatherley, Anaerobic co-digestion of swine and poultry manure with municipal sewage sludge, *Waste Management*. 34 (2014) 513–521. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.10.022>.
- [23] Commission européenne, Politique intégrée des produits: Développement d'une réflexion environnementale axée sur le cycle de vie, (2003). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:52003DC0302&from=EN> (accessed May 13, 2019).
- [24] Commission européenne, Innovating for sustainable growth A bioeconomy for Europe, (2012). <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/1f0d8515-8dc0-4435-ba53-9570e47dbd51> (accessed May 13, 2019).
- [25] N. Mirabella, V. Castellani, S. Sala, Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review, *Journal of Cleaner Production*. 65 (2014) 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>.
- [26] T. Vandermeersch, R.A.F. Alvarenga, P. Ragaert, J. Dewulf, Environmental sustainability assessment of food waste valorization options, *Resources, Conservation and Recycling*. 87 (2014) 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.03.008>.
- [27] Z. Li, H. Lu, L. Ren, L. He, Experimental and modeling approaches for food waste composting: A review, *Chemosphere*. 93 (2013) 1247–1257. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.064>.
- [28] A. Cerda, A. Artola, X. Font, R. Barrena, T. Gea, A. Sánchez, Composting of food wastes: Status and challenges, *Bioresource Technology*. 248 (2018) 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.133>.
- [29] S. Wainaina, I.S. Horváth, M.J. Taherzadeh, Biochemicals from food waste and recalcitrant biomass via syngas fermentation: A review, *Bioresource Technology*. 248 (2018) 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.075>.

- [30] Y. Zhao, A. Damgaard, T.H. Christensen, Bioethanol from corn stover – a review and technical assessment of alternative biotechnologies, *Progress in Energy and Combustion Science*. 67 (2018) 275–291. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2018.03.004>.
- [31] T.P.T. Pham, R. Kaushik, G.K. Parshetti, R. Mahmood, R. Balasubramanian, Food waste-to-energy conversion technologies: Current status and future directions, *Waste Management*. 38 (2015) 399–408. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.12.004>.
- [32] Union Européenne, Directive 2009/28/CE du Parlement Européen et du Conseil du 23 avril 2009 relative à la promotion de l'utilisation de l'énergie produite à partir de sources renouvelables et modifiant puis abrogeant les directives 2001/77/CE et 2003/30/CE, *Journal Officiel de l'Union Européenne*. (2009) L 140.
- [33] Y. Li, Y. Chen, J. Wu, Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review, *Applied Energy*. 240 (2019) 120–137. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.01.243>.
- [34] V. Boy, X. Liu, M.-A. Chamaa, Y. Lemée, C. Sabourin, T. Lendormi, J.-L. Lanoisellé, Air impingement drying of digestate: Experimental and modelling study, *Chemical Engineering Research and Design*. 146 (2019) 436–448. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.03.033>.
- [35] M. I. Hutchison, L. d. Walters, S. m. Avery, B. a. Syngé, A. Moore, Levels of zoonotic agents in British livestock manures, *Letters in Applied Microbiology*. 39 (2004) 207–214. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01564.x>.
- [36] C.J. Ziemer, J.M. Bonner, D. Cole, J. Vinjé, V. Constantini, S. Goyal, M. Gramer, R. Mackie, X.J. Meng, G. Myers, L.J. Saif, Fate and transport of zoonotic, bacterial, viral, and parasitic pathogens during swine manure treatment, storage, and land application, *Journal of Animal Science*. 88 (2010) E84–E94. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2331>.
- [37] A. Jaffrezic, E. Jardé, A.-M. Pourcher, M. Gourmelon, M.-P. Caprais, D. Heddadj, P. Cottinet, M. Bilal, M. Derrien, R. Marti, S. Mieszkin, Microbial and Chemical Markers: Runoff Transfer in Animal Manure–Amended Soils, *Journal of Environmental Quality*. 40 (2011) 959–968. <https://doi.org/10.2134/jeq2010.0355>.
- [38] Q. Sui, J. Zhang, M. Chen, R. Wang, Y. Wang, Y. Wei, Fate of microbial pollutants and evolution of antibiotic resistance in three types of soil amended with swine slurry, *Environmental Pollution*. 245 (2019) 353–362. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.003>.
- [39] E.J. Grant, D.A. Rouch, M. Deighton, S.R. Smith, Pathogen Risks in land-applied biosolids, *AWA Water*. 39 (2012) 72–78.
- [40] I.H. Franke-Whittle, H. Insam, Treatment alternatives of slaughterhouse wastes, and their effect on the inactivation of different pathogens: A review, *Critical Reviews in Microbiology*. 39 (2013) 139–151. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.694410>.
- [41] G. Maynaud, A.-M. Pourcher, C. Ziebal, A. Cuny, C. Druilhe, J.-P. Steyer, N. Wéry, Persistence and Potential Viable but Non-culturable State of Pathogenic Bacteria during Storage of Digestates from Agricultural Biogas Plants, *Front. Microbiol.* 7 (2016). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01469>.
- [42] M.D. Sobsey, L.A. Khatib, V.R. Hill, E. Alocilja, S. Pillai, Pathogens in animal wastes and the impacts of waste management practices on their survival, transport and fate, *Animal Agriculture and the Environment: National Center for Manure and Animal Waste Management White Papers*. (2006) 609–666.
- [43] C. Chen, C.A. Pankow, M. Oh, L.S. Heath, L. Zhang, P. Du, K. Xia, A. Pruden, Effect of antibiotic use and composting on antibiotic resistance gene abundance and resistome risks of soils receiving manure-derived amendments, *Environment International*. 128 (2019) 233–243. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.043>.

- [44] P. He, Z. Yu, L. Shao, Y. Zhou, F. Lü, Fate of antibiotics and antibiotic-resistance genes in a full-scale restaurant food waste treatment plant: Implications of the roles beyond heavy metals and mobile genetic elements, *Journal of Environmental Sciences*. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.04.004>.
- [45] J. Quilez, C. Sanchez-Acedo, E. Del Cacho, A. Clavel, A.C. Causape, Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain), *Veterinary Parasitology*. 66 (1996) 139–146.
- [46] A. Busato, D. Hofer, T. Lentze, C. Gaillard, A. Burnens, Prevalence and infection risks of zoonotic enteropathogenic bacteria in Swiss cow-calf farms, *Veterinary Microbiology*. 69 (1999) 251–263. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(99\)00119-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(99)00119-4).
- [47] M. Watabe, J.R. Rao, T.A. Stewart, J. Xu, B.C. Millar, L. Xiao, C.J. Lowery, J.S.G. Dooley, J.E. Moore, Prevalence of bacterial faecal pathogens in separated and unseparated stored pig slurry, *Letters in Applied Microbiology*. 36 (2003) 208–212. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01293.x>.
- [48] J.M. Schouten, A.W. Van de Giessen, K. Frankena, M.C.M. De Jong, E.A.M. Graat, *Escherichia coli* O157 prevalence in Dutch poultry, pig finishing and veal herds and risk factors in Dutch veal herds, *Preventive Veterinary Medicine*. 70 (2005) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.12.010>.
- [49] J.A. Castro-Hermida, C. Carro-Corral, M. González-Warleta, M. Mezo, Prevalence and intensity of infection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Galicia (NW Spain), *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 53 (2006) 244–246. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2006.00946.x>.
- [50] G.J. Gunn, I.J. McKendrick, H.E. Ternent, F. Thomson-Carter, G. Foster, B.A. Syngé, An investigation of factors associated with the prevalence of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 shedding in Scottish beef cattle, *The Veterinary Journal*. 174 (2007) 554–564. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.08.024>.
- [51] J.I. Esteban, B. Oporto, G. Aduriz, R.A. Juste, A. Hurtado, A survey of food-borne pathogens in free-range poultry farms, *International Journal of Food Microbiology*. 123 (2008) 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.012>.
- [52] C. Hölzel, J. Bauer, *Salmonella* spp. in bavarian liquid pig manure: Occurrence and relevance for the distribution of antibiotic resistance, *Zoonoses and Public Health*. 55 (2008) 133–138.
- [53] A.-M. Pourcher, P. Fravallo, P. Dabert, Impact du traitement biologique du lisier de porcs sur les germes d'intérêt sanitaire: exemple de 17 élevages bretons, *Journées de La Rech Porcine*. 40 (2008) 19–24.
- [54] R. Reinoso, E. Becares, The occurrence of intestinal parasites in swine slurry and their removal in activated sludge plants, *Bioresource Technology*. 99 (2008) 6661–6665. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.056>.
- [55] A. Huneau-Salaün, M. Chemaly, S. Le Bouquin, F. Lalande, I. Petetin, S. Rouxel, V. Michel, P. Fravallo, N. Rose, Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* contamination in 519 French laying hen flocks at the end of the laying period, *Preventive Veterinary Medicine*. 89 (2009) 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.01.006>.
- [56] M.J. Vilar, F.J. Pena, I. Perez, F.J. Diéguez, M.L. Sanjuán, J.L. Rodríguez-Otero, E. Yus, Presence of *Listeria*, *Arcobacter*, and *Campylobacter* spp. in dairy farms in Spain., *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*. 123 (2010) 58–62.
- [57] C. Cunault, Développement d'une méthode d'hygiénisation thermique des effluents au moyen d'échangeurs de chaleur (application au lisier porcin), Université Rennes 1, 2012. <http://www.theses.fr/2012REN1S016> (accessed November 16, 2016).

- [58] A.-M. Pourcher, C. Druilhe, C. Le Maréchal, E. Repérant, C. Ziebal, L. Martin, L. Derongs, E. Boscher, S. Michel-Leroux, S. Rouxel, L. Heurtevent, T. Poëzévara, C. Houdayer, B. Nagard, F. Barbut, M. Denis, Devenir des bactéries indicatrices d'efficacité de traitement et de bactéries pathogènes au cours de la méthanisation mésophile des effluents d'élevages, in: Rennes, 2018.
- [59] N. Wéry, A.-M. Pourcher, J.G. Fuchs, Devenir des pathogènes lors du compostage, in: Compostage et Compostes : Avancées Scientifi Ques et Techniques, Amaury de Guardia, Lavoisier, Paris, France, 2018.
- [60] J. Santamaría, G.A. Toranzos, Enteric pathogens and soil: a short review, *Int Microbiol.* 6 (2003) 5–9. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0096-1>.
- [61] J. Martinez, P. Dabert, S. Barrington, C. Burton, Livestock waste treatment systems for environmental quality, food safety, and sustainability, *Bioresource Technology.* 100 (2009) 5527–5536. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.038>.
- [62] C.P. Gerba, J.E. Smith, Sources of Pathogenic Microorganisms and Their Fate during Land Application of Wastes, *Journal of Environmental Quality.* 34 (2005) 42–48. <https://doi.org/10.2134/jeq2005.0042>.
- [63] L. Sahlström, A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants, *Bioresource Technology.* 87 (2003) 161–166. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00168-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00168-2).
- [64] J.R. Bicudo, S.M. Goyal, Pathogens and manure management systems: A review, *Environmental Technology.* 24 (2003) 115–130. <https://doi.org/10.1080/09593330309385542>.
- [65] A. Lowman, M.A. McDonald, S. Wing, N. Muhammad, Land Application of Treated Sewage Sludge: Community Health and Environmental Justice, *Environ Health Perspect.* 121 (2013) 537–542. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205470>.
- [66] D. Lewis, D. Gattie, Pathogen risks from applying sewage sludge to land, *Environmental Science & Technology.* (2002) 286A–293A.
- [67] D.L. Lewis, D.K. Gattie, M.E. Novak, S. Sanchez, C. Pumphrey, Interactions of pathogens and irritant chemicals in land-applied sewage sludges (biosolids), *BMC Public Health.* 2 (2002) 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-2-11>.
- [68] US EPA, Environmental regulation and technology control of pathogens and vector attraction in sewage sludge, 2003. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-625-r-92-013.pdf> (accessed November 29, 2016).
- [69] Union Européenne, Règlement (CE) No 1774/2002 du Parlement Européen et du Conseil du 3 octobre 2002 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine, *Official Journal of the European Communities.* 45 (2002).
- [70] Union Européenne, Règlement (UE) No 142/2011 de la Commission du 25 février 2011 portant application du règlement (CE) n o 1069/2009 du parlement européen et du conseil établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et portant application de la Directive 97/78/CE du Conseil en ce qui concerne certains échantillons et articles exemptés des contrôles vétérinaires effectués aux frontières en vertu de cette directive, *Journal Officiel de l'Union Européenne.* 54 (2011).
- [71] J. Grim, P. Malmros, A. Schnürer, Å. Nordberg, Comparison of pasteurization and integrated thermophilic sanitation at a full-scale biogas plant – Heat demand and biogas production, *Energy.* 79 (2015) 419–427. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2014.11.028>.
- [72] C.O. Ball, Thermal process time for canned food, the National Research Council of the National Academy of Sciences, Washinton, D. C., the United States, 1923.

- [73] T. Amon, J. Boxberger, Organic wastes for codigestion in agricultural biogas plants: guidelines and legal conditions in Austria, in: Stuttgart, Germany, 1999: pp. 86–94.
- [74] H.J. Bendixen, Hygienic Safety—Results of scientific investigations in Denmark (Sanitation requirements in Danish biogas plants), in: IEA BioEnergy Workshop: Hygienic and Environmental Aspects of AD: Legislation and Experiences in Europe, 1999.
- [75] DAFF of Ireland, Conditions for approval and operation of biogas plants treating animal by-products in Ireland, 2008.
http://www.seai.ie/Renewables/Bioenergy/Conditions_for_approval_and_operation_of_biogas_plants_treating_ABP_in_Ireland.pdf.
- [76] Ministry of Health of China, Hygienic requirements for harmless disposal of night soil, 2013. <http://www.moh.gov.cn/ewebeditor/uploadfile/2014/10/20141029143013588.pdf>.
- [77] UK Animal & Plant Health Agency, Animal by-products (Enforcement) Regulations. <https://www.gov.uk/guidance/using-animal-by-products-at-compost-and-biogas-sites#when-you-can-meet-uk-standards>.
- [78] S. Sörqvist, Heat Resistance in Liquids of *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp, *Acta Veterinaria Scandinavica*. 44 (2003) 1. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-1>.
- [79] J. Coultry, E. Walsh, K.P. McDonnell, Energy and economic implications of anaerobic digestion pasteurisation regulations in Ireland, *Energy*. 60 (2013) 125–128.
<https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.07.059>.
- [80] B. Scaglia, G. D’Imporzano, G. Garuti, M. Negri, F. Adani, Sanitation ability of anaerobic digestion performed at different temperature on sewage sludge, *Science of The Total Environment*. 466-467 (2014) 888–897.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.114>.
- [81] S. Nolan, N.R. Waters, F. Brennan, A. Auer, O. Fenton, K. Richards, D.J. Bolton, L. Pritchard, V. O’Flaherty, F. Abram, Toward Assessing Farm-Based Anaerobic Digestate Public Health Risks: Comparative Investigation With Slurry, Effect of Pasteurization Treatments, and Use of Miniature Bioreactors as Proxies for Pathogen Spiking Trials, *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2 (2018). <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00041>.
- [82] D.C. Tápparo, A. Viancelli, A.C. do Amaral, G. Fongaro, R.L.R. Steinmetz, M.E. Magri, C.R.M. Barardi, A. Kunz, Sanitary effectiveness and biogas yield by anaerobic co-digestion of swine carcasses and manure, *Environmental Technology*. 0 (2018) 1–9.
<https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1508256>.
- [83] G. Qi, Z. Pan, Y. Yamamoto, F.J. Andriamanohiarisoamanana, T. Yamashiro, M. Iwasaki, I. Ihara, S. Tangtaweewipat, K. Umetsu, The survival of pathogenic bacteria and plant growth promoting bacteria during mesophilic anaerobic digestion in full-scale biogas plants, *Animal Science Journal*. 90 (2019) 297–303. <https://doi.org/10.1111/asj.13137>.
- [84] Q. Zhao, Y. Liu, Is anaerobic digestion a reliable barrier for deactivation of pathogens in biosludge?, *Science of The Total Environment*. 668 (2019) 893–902.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.063>.
- [85] C. Cunault, A.M. Pourcher, C.H. Burton, Using temperature and time criteria to control the effectiveness of continuous thermal sanitation of piggery effluent in terms of set microbial indicators, *Journal of Applied Microbiology*. 111 (2011) 1492–1504.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05144.x>.
- [86] E. Bagge, M. Persson, K.-E. Johansson, Diversity of spore-forming bacteria in cattle manure, slaughterhouse waste and samples from biogas plants, *Journal of Applied Microbiology*. 109 (2010) 1549–1565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04790.x>.

- [87] California State, US, In-Vessel Digestion Operations and Facilities Regulatory Requirements, 2016.
[https://govt.westlaw.com/calregs/Document/I7123187490BF4359BD4B57F6E3416FC1?viewType=FullText&originationContext=documenttoc&transitionType=DocumentItem&contextData=\(sc.Default\)&bhcp=1#co_anchor_IB0A8BCFE3C5245EBADE8A7567C418515](https://govt.westlaw.com/calregs/Document/I7123187490BF4359BD4B57F6E3416FC1?viewType=FullText&originationContext=documenttoc&transitionType=DocumentItem&contextData=(sc.Default)&bhcp=1#co_anchor_IB0A8BCFE3C5245EBADE8A7567C418515).
- [88] A. Haumont, F. Lafoux, G. Vrignaud, Les enjeux sanitaires de la méthanisation, in: Rennes, France, 2019.
- [89] S. Astals, C. Venegas, M. Peces, J. Jofre, F. Lucena, J. Mata-Alvarez, Balancing hygienization and anaerobic digestion of raw sewage sludge, *Water Research*. 46 (2012) 6218–6227. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.07.035>.
- [90] U. Keller, Experiences and development of sludge pasteurization in Altenrhein, in: *Disinfection of Sewage Sludge: Technical, Economic and Microbiological Aspects*, Springer Science & Business Media, Berlin, Germany, 1983: pp. 57–60.
- [91] R.P.L. Clements, Sludge hygienization by means of pasteurisation prior to digestion, in: *Disinfection of Sewage Sludge: Technical, Economic and Microbiological Aspects*, Springer Science & Business Media, Berlin, Germany, 1983: pp. 37–52.
- [92] M. Berglund, P. Börjesson, Assessment of energy performance in the life-cycle of biogas production, *Biomass and Bioenergy*. 30 (2006) 254–266. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2005.11.011>.
- [93] M. Pöschl, S. Ward, P. Owende, Evaluation of energy efficiency of various biogas production and utilization pathways, *Applied Energy*. 87 (2010) 3305–3321. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.05.011>.
- [94] A. Whiting, A. Azapagic, Life cycle environmental impacts of generating electricity and heat from biogas produced by anaerobic digestion, *Energy*. 70 (2014) 181–193. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2014.03.103>.
- [95] E. Lindkvist, M.T. Johansson, J. Rosenqvist, Methodology for Analysing Energy Demand in Biogas Production Plants—A Comparative Study of Two Biogas Plants, *Energies*. 10 (2017) 1822. <https://doi.org/10.3390/en10111822>.
- [96] M. Edström, A. Nordberg, L. Thyselius, Anaerobic Treatment of Animal Byproducts from Slaughterhouses at Laboratory and Pilot Scale, *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 109 (2003) 127–138. <https://doi.org/10.1385/ABAB:109:1-3:127>.
- [97] M. Climent, I. Ferrer, M. del M. Baeza, A. Artola, F. Vázquez, X. Font, Effects of thermal and mechanical pretreatments of secondary sludge on biogas production under thermophilic conditions, *Chemical Engineering Journal*. 133 (2007) 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.02.020>.
- [98] I. Ferrer, S. Ponsá, F. Vázquez, X. Font, Increasing biogas production by thermal (70°C) sludge pre-treatment prior to thermophilic anaerobic digestion, *Biochemical Engineering Journal*. 42 (2008) 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.06.020>.
- [99] A. Hejnfelt, I. Angelidaki, Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products, *Biomass and Bioenergy*. 33 (2009) 1046–1054. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.03.004>.
- [100] S. Luste, S. Luostarinen, Anaerobic co-digestion of meat-processing by-products and sewage sludge – Effect of hygienization and organic loading rate, *Bioresource Technology*. 101 (2010) 2657–2664. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.071>.
- [101] R. Rafique, T.G. Poulsen, A.-S. Nizami, Z.-Z. Asam, J.D. Murphy, G. Kiely, Effect of thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatments to enhance methane production, *Energy*. 35 (2010) 4556–4561. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.07.011>.
- [102] S. Luste, S. Luostarinen, Enhanced methane production from ultrasound pre-treated and hygienized dairy cattle slurry, *Waste Management*. 31 (2011) 2174–2179. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.04.012>.

- [103] A. Rodríguez-Abalde, B. Fernández, G. Silvestre, X. Flotats, Effects of thermal pre-treatments on solid slaughterhouse waste methane potential, *Waste Management*. 31 (2011) 1488–1493. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.02.014>.
- [104] S. Luste, H. Heinonen-Tanski, S. Luostarinen, Co-digestion of dairy cattle slurry and industrial meat-processing by-products – Effect of ultrasound and hygienization pre-treatments, *Bioresource Technology*. 104 (2012) 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.003>.
- [105] Y. Yan, H. Chen, W. Xu, Q. He, Q. Zhou, Enhancement of biochemical methane potential from excess sludge with low organic content by mild thermal pretreatment, *Biochemical Engineering Journal*. 70 (2013) 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.10.011>.
- [106] P. Vergine, J. Zábranská, R. Canziani, Low temperature microwave and conventional heating pre-treatments to improve sludge anaerobic biodegradability, *Water Science and Technology*. 69 (2014) 518–524. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.735>.
- [107] A. Ware, N. Power, What is the effect of mandatory pasteurisation on the biogas transformation of solid slaughterhouse wastes?, *Waste Management*. 48 (2016) 503–512. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.10.013>.
- [108] L. Nazari, Z. Yuan, D. Santoro, S. Sarathy, D. Ho, D. Batstone, C. (Charles) Xu, M.B. Ray, Low-temperature thermal pre-treatment of municipal wastewater sludge: Process optimization and effects on solubilization and anaerobic degradation, *Water Research*. 113 (2017) 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.055>.
- [109] M. Le Guen, La boîte à moustaches de TUKEY, un outil pour initier à la statistique, *Statistiquement Votre - SFDS*. (2001) 1–3.
- [110] Wikipedia, Box plot, Wikipedia. (2019). https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Box_plot&oldid=913780992.
- [111] M.A. Chamaa, Couplage de la méthanisation et des électrotechnologies : intensification de la production de biogaz et du séchage du digestat, phdthesis, Université Bretagne Sud (Université Bretagne Loire), 2017. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01763674/document> (accessed April 27, 2018).
- [112] J.G. Brennan, A.S. Grandison, *Food Processing Handbook*, John Wiley & Sons, New Jersey, the United States, 2012. 10.1002/9783527634361.
- [113] M.-S. Wang, L.-H. Wang, A.E.-D.A. Bekhit, J. Yang, Z.-P. Hou, Y.-Z. Wang, Q.-Z. Dai, X.-A. Zeng, A review of sublethal effects of pulsed electric field on cells in food processing, *Journal of Food Engineering*. 223 (2018) 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.035>.
- [114] V.K. Tyagi, S.-L. Lo, Microwave irradiation: A sustainable way for sludge treatment and resource recovery, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 18 (2013) 288–305. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.10.032>.
- [115] I. Toreci, K.J. Kennedy, R.L. Droste, Evaluation of continuous mesophilic anaerobic sludge digestion after high temperature microwave pretreatment, *Water Research*. 43 (2009) 1273–1284. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.12.022>.
- [116] M.F.S. Martín, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Food Processing by High Hydrostatic Pressure, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42 (2002) 627–645. <https://doi.org/10.1080/20024091054274>.
- [117] P. Piyasena, E. Mohareb, R.C. McKellar, Inactivation of microbes using ultrasound: a review, *International Journal of Food Microbiology*. 87 (2003) 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8).
- [118] C. Keles, G.T. Icemer, S. Ozen, Inactivation of *Salmonella* spp. by low-frequency electric fields in sewage sludge, *Int. J. Civil Environ Eng*. 10 (2010) 13–18.

- [119] S.M. Hong, J.K. Park, Y.. Lee, Mechanisms of microwave irradiation involved in the destruction of fecal coliforms from biosolids, *Water Research*. 38 (2004) 1615–1625. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.12.011>.
- [120] D.I. Martin, I. Margaritescu, E. Cirstea, I. Togoe, D. Ighigeanu, M.R. Nemtanu, C. Oproiu, N. Iacob, Application of accelerated electron beam and microwave irradiation to biological waste treatment, *Vacuum*. 77 (2005) 501–506. <https://doi.org/10.1016/j.vacuum.2004.09.019>.
- [121] S.M. Hong, J.K. Park, N. Teeradej, Y.O. Lee, Y.K. Cho, C.H. Park, Pretreatment of Sludge with Microwaves for Pathogen Destruction and Improved Anaerobic Digestion Performance, *Water Environment Research*. 78 (2006) 76–83. <https://doi.org/10.2175/106143005X84549>.
- [122] S.A. Pino-Jelcic, S.M. Hong, J.K. Park, Enhanced Anaerobic Biodegradability and Inactivation of Fecal Coliforms and Salmonella spp. in Wastewater Sludge by Using Microwaves, *Water Environment Research*. 78 (2006) 209–216. <https://doi.org/10.2175/106143005X90498>.
- [123] D. Akgul, M.A. Cella, C. Eskicioglu, Influences of low-energy input microwave and ultrasonic pretreatments on single-stage and temperature-phased anaerobic digestion (TPAD) of municipal wastewater sludge, *Energy*. 123 (2017) 271–282. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.01.152>.
- [124] C.P. Chu, D.J. Lee, B.-V. Chang, C.S. You, J.H. Tay, “Weak” ultrasonic pre-treatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids, *Water Research*. 36 (2002) 2681–2688. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00515-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00515-2).
- [125] M. Ruiz-Hernando, J. Martín-Díaz, J. Labanda, J. Mata-Alvarez, J. Llorens, F. Lucena, S. Astals, Effect of ultrasound, low-temperature thermal and alkali pre-treatments on waste activated sludge rheology, hygienization and methane potential, *Water Research*. 61 (2014) 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.012>.
- [126] M. Mushtaq, C.J. Banks, S. Heaven, Evaluation of pressurised carbon dioxide pre-treatment aimed at improving the sanitisation and anaerobic digestibility of co-settled sewage sludge, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. (2018) 1–8. <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1516082>.
- [127] F. Yin, L. Zifu, S. Mayiani, Dong, Performance of alkaline pretreatment on pathogens inactivation and sludge solubilization, *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*. 10 (2017) 216–223. <https://doi.org/10.25165/ijabe.v10i2.2600>.
- [128] République Française, Arrêté du 8 février 2012 modifiant l’arrêté du 15 septembre 2006 relatif au diagnostic de performance énergétique pour les bâtiments existants proposés à la vente en France métropolitaine, *Journal Officiel de la République Française*. (2012) 4710.
- [129] A.H.C. dos Santos, M.T.W. Fagá, E.M. dos Santos, The risks of an energy efficiency policy for buildings based solely on the consumption evaluation of final energy, *International Journal of Electrical Power & Energy Systems*. 44 (2013) 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijepes.2012.07.017>.
- [130] P. Thollander, P. Rohdin, B. Moshfegh, M. Karlsson, M. Söderström, L. Trygg, Energy in Swedish industry 2020 – current status, policy instruments, and policy implications, *Journal of Cleaner Production*. 51 (2013) 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.01.021>.
- [131] International Energy Agency, Energy Policies of IEA Countries - Sweden 2019 Review, Paris, France, 2019. https://www.connaissancedesenergies.org/sites/default/files/pdf-actualites/Energy_Policies_of_IEA_Countries_Sweden_2019_Review.pdf.
- [132] R. Cano, S.I. Pérez-Elvira, F. Fdz-Polanco, Energy feasibility study of sludge pretreatments: A review, *Applied Energy*. 149 (2015) 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.03.132>.

- [133] H. Carrère, C. Dumas, A. Battimelli, D.J. Batstone, J.P. Delgenès, J.P. Steyer, I. Ferrer, Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: A review, *Journal of Hazardous Materials*. 183 (2010) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.06.129>.
- [134] G. Zhen, X. Lu, H. Kato, Y. Zhao, Y.-Y. Li, Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application and future perspectives, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 69 (2017) 559–577. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.187>.
- [135] H. Carrere, G. Antonopoulou, R. Affes, F. Passos, A. Battimelli, G. Lyberatos, I. Ferrer, Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application, *Bioresource Technology*. 199 (2016) 386–397. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.007>.
- [136] A. Tiehm, K. Nickel, U. Neis, The use of ultrasound to accelerate the anaerobic digestion of sewage sludge, *Water Science and Technology*. 36 (1997) 121–128. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00676-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00676-8).
- [137] M. Engelhart, M. Kruger, J. Kopp, N. Dichtl, eds., Effects of disintegration on anaerobic degradation of sewage excess sludge in downflow stationary fixed film digesters, in: IWA Publishing, Barcelona, Spain, 1999: pp. 171–180. <https://www.tib.eu/en/search/id/BLCP%3ACN034397089/Effects-of-disintegration-on-anaerobic-degradation/>.
- [138] Q. Wang, M. Kuninobu, K. Kakimoto, H. I.-Ogawa, Y. Kato, Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by ultrasonic pretreatment, *Bioresource Technology*. 68 (1999) 309–313. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00155-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00155-2).
- [139] M. Weemaes, H. Grootaerd, F. Simoens, W. Verstraete, Anaerobic digestion of ozonized biosolids, *Water Research*. 34 (2000) 2330–2336. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00373-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00373-5).
- [140] T.I. Onyeche, O. Schläfer, H. Bormann, C. Schröder, M. Sievers, Ultrasonic cell disruption of stabilised sludge with subsequent anaerobic digestion, *Ultrasonics*. 40 (2002) 31–35. [https://doi.org/10.1016/S0041-624X\(02\)00087-2](https://doi.org/10.1016/S0041-624X(02)00087-2).
- [141] I.T. Yeom, K.R. Lee, K.H. Ahn, S.H. Lee, Effects of ozone treatment on the biodegradability of sludge from municipal wastewater treatment plants, *Water Sci. Technol.* 46 (2002) 421–425.
- [142] M. Barjenbruch, O. Kopplow, Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge, *Advances in Environmental Research*. 7 (2003) 715–720. [https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(02\)00032-1](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(02)00032-1).
- [143] R. Goel, T. Tokutomi, H. Yasui, T. Noike, Optimal process configuration for anaerobic digestion with ozonation, *Water Sci. Technol.* 48 (2003) 85–96. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.694410>.
- [144] J.B. Bien, G. Malina, J.D. Bien, L. Wolny, Enhancing anaerobic fermentation of sewage sludge for increasing biogas generation, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 39 (2004) 939–949. <https://doi.org/10.1081/ESE-120028404>.
- [145] A. Valo, H. Carrère, J.P. Delgenès, Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 79 (2004) 1197–1203. <https://doi.org/10.1002/jctb.1106>.
- [146] C. Bougrier, H. Carrère, J.P. Delgenès, Solubilisation of waste-activated sludge by ultrasonic treatment, *Chemical Engineering Journal*. 106 (2005) 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2004.11.013>.
- [147] H. Choi, S.-W. Jeong, Y. Chung, Enhanced anaerobic gas production of waste activated sludge pretreated by pulse power technique, *Bioresource Technology*. 97 (2006) 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.023>.

- [148] C. Bougrier, A. Battimelli, J.-P. Delgenes, H. Carrere, Combined Ozone Pretreatment and Anaerobic Digestion for the Reduction of Biological Sludge Production in Wastewater Treatment, *Ozone: Science & Engineering*. 29 (2007) 201–206. <https://doi.org/10.1080/01919510701296754>.
- [149] R. Xie, Y. Xing, Y.A. Ghani, K. Ooi, S. Ng, Full-scale demonstration of an ultrasonic disintegration technology in enhancing anaerobic digestion of mixed primary and thickened secondary sewage sludge, *J. Environ. Eng. Sci.* 6 (2007) 533–541. <https://doi.org/10.1139/S07-013>.
- [150] C.M. Braguglia, G. Mininni, A. Gianico, Is sonication effective to improve biogas production and solids reduction in excess sludge digestion?, *Water Science and Technology*. 57 (2008) 479–483. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.003>.
- [151] M. Carlsson, A. Lagerkvist, H. Ecke, Electroporation for enhanced methane yield from municipal solid waste, in: *ORBIT 2008: Moving Organic Waste Recycling Towards Resource Management and Biobased Economy*, Wageningen, The Netherlands, 2008. <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:1011235/FULLTEXT01.pdf>.
- [152] B.E. Rittmann, H. Lee, H. Zhang, J. Alder, J.E. Banaszak, R. Lopez, Full-scale application of focused-pulsed pre-treatment for improving biosolids digestion and conversion to methane, *Water Science and Technology*. 58 (2008) 1895–1901. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.547>.
- [153] Y. Lin, D. Wang, S. Wu, C. Wang, Alkali pretreatment enhances biogas production in the anaerobic digestion of pulp and paper sludge, *Journal of Hazardous Materials*. 170 (2009) 366–373. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.086>.
- [154] M.B. Salerno, H.-S. Lee, P. Parameswaran, B.E. Rittmann, Using a Pulsed Electric Field as a Pretreatment for Improved Biosolids Digestion and Methanogenesis, *Water Environment Research*. 81 (2009) 831–839. <https://doi.org/10.2175/106143009X407366>.
- [155] M.R. Salsabil, A. Prorot, M. Casellas, C. Dagot, Pre-treatment of activated sludge: Effect of sonication on aerobic and anaerobic digestibility, *Chemical Engineering Journal*. 148 (2009) 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.09.003>.
- [156] G. Erden, A. Filibeli, Ultrasonic pre-treatment of biological sludge: consequences for disintegration, anaerobic biodegradability, and filterability, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 85 (2010) 145–150. <https://doi.org/10.1002/jctb.2298>.
- [157] X. Yang, X. Wang, L. Wang, Transferring of components and energy output in industrial sewage sludge disposal by thermal pretreatment and two-phase anaerobic process, *Bioresource Technology*. 101 (2010) 2580–2584. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.055>.
- [158] S. Beszédes, Z. László, Z.H. Horváth, G. Szabó, C. Hodúr, Comparison of the effects of microwave irradiation with different intensities on the biodegradability of sludge from the dairy- and meat-industry, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 814–821. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.121>.
- [159] C.M. Braguglia, A. Gianico, G. Mininni, Laboratory-scale ultrasound pre-treated digestion of sludge: Heat and energy balance, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 7567–7573. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.05.025>.
- [160] N.M.G. Coelho, R.L. Droste, K.J. Kennedy, Evaluation of continuous mesophilic, thermophilic and temperature phased anaerobic digestion of microwaved activated sludge, *Water Research*. 45 (2011) 2822–2834. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.02.032>.
- [161] D.C. Devlin, S.R.R. Esteves, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 4076–4082. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.043>.

- [162] I.-S. Lee, B.E. Rittmann, Effect of low solids retention time and focused pulsed pre-treatment on anaerobic digestion of waste activated sludge, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 2542–2548. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.082>.
- [163] H. Li, C. Li, W. Liu, S. Zou, Optimized alkaline pretreatment of sludge before anaerobic digestion, *Bioresource Technology*. 123 (2012) 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.017>.
- [164] L. Shao, X. Wang, H. Xu, P. He, Enhanced anaerobic digestion and sludge dewaterability by alkaline pretreatment and its mechanism, *Journal of Environmental Sciences*. 24 (2012) 1731–1738. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)61031-0](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(11)61031-0).
- [165] S. Zhang, P. Zhang, G. Zhang, J. Fan, Y. Zhang, Enhancement of anaerobic sludge digestion by high-pressure homogenization, *Bioresource Technology*. 118 (2012) 496–501. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.089>.
- [166] L. Appels, S. Houtmeyers, J. Degève, J. Van Impe, R. Dewil, Influence of microwave pre-treatment on sludge solubilization and pilot scale semi-continuous anaerobic digestion, *Bioresource Technology*. 128 (2013) 598–603. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.007>.
- [167] C.-J. Cheng, P.K.A. Hong, Anaerobic digestion of activated sludge after pressure-assisted ozonation, *Bioresource Technology*. 142 (2013) 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.058>.
- [168] R. Uma Rani, S. Adish Kumar, S. Kaliappan, I. Yeom, J. Rajesh Banu, Impacts of microwave pretreatments on the semi-continuous anaerobic digestion of dairy waste activated sludge, *Waste Management*. 33 (2013) 1119–1127. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.01.016>.
- [169] I. Zawieja, L. Wolny, Ultrasonic disintegration of sewage sludge to increase biogas generation, *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*. 27 (2013) 491–497.
- [170] A. Cesaro, S. Velten, V. Belgiorno, K. Kuchta, Enhanced anaerobic digestion by ultrasonic pretreatment of organic residues for energy production, *Journal of Cleaner Production*. 74 (2014) 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.03.030>.
- [171] S. Houtmeyers, J. Degève, K. Willems, R. Dewil, L. Appels, Comparing the influence of low power ultrasonic and microwave pre-treatments on the solubilisation and semi-continuous anaerobic digestion of waste activated sludge, *Bioresource Technology*. 171 (2014) 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.029>.
- [172] A.K. Wahidunnabi, C. Eskicioglu, High pressure homogenization and two-phased anaerobic digestion for enhanced biogas conversion from municipal waste sludge, *Water Research*. 66 (2014) 430–446. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.045>.
- [173] W. Wonglertarak, B. Wichitsathian, Alkaline Pretreatment of Waste Activated Sludge in Anaerobic Digestion, *Journal of Clean Energy Technologies*. (2014) 118–121. <https://doi.org/10.7763/JOCET.2014.V2.104>.
- [174] A.V. Ebenezer, P. Arulazhagan, S. Adish Kumar, I.-T. Yeom, J. Rajesh Banu, Effect of deflocculation on the efficiency of low-energy microwave pretreatment and anaerobic biodegradation of waste activated sludge, *Applied Energy*. 145 (2015) 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.01.133>.
- [175] D. Ki, P. Parameswaran, S.C. Popat, B.E. Rittmann, C.I. Torres, Effects of pre-fermentation and pulsed-electric-field treatment of primary sludge in microbial electrochemical cells, *Bioresource Technology*. 195 (2015) 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.128>.
- [176] M.Á. Martín, I. González, A. Serrano, J.Á. Siles, Evaluation of the improvement of sonication pre-treatment in the anaerobic digestion of sewage sludge, *Journal of Environmental Management*. 147 (2015) 330–337. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.09.022>.

- [177] V. Riau, M.A. De la Rubia, M. Pérez, Upgrading the temperature-phased anaerobic digestion of waste activated sludge by ultrasonic pretreatment, *Chemical Engineering Journal*. 259 (2015) 672–681. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.08.032>.
- [178] X. Zhou, Q. Wang, G. Jiang, Enhancing methane production from waste activated sludge using a novel indigenous iron activated peroxidation pre-treatment process, *Bioresource Technology*. 182 (2015) 267–271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.132>.
- [179] S. Pilli, S. Yan, R.D. Tyagi, R.Y. Surampalli, Anaerobic digestion of ultrasonicated sludge at different solids concentrations - Computation of mass-energy balance and greenhouse gas emissions, *Journal of Environmental Management*. 166 (2016) 374–386. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.10.041>.
- [180] A. Serrano, J.A. Siles, M.A. Martín, A.F. Chica, F.S. Estévez-Pastor, E. Toro-Baptista, Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge through microwave pre-treatment, *Journal of Environmental Management*. 177 (2016) 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.03.048>.
- [181] L. Zou, C. Ma, J. Liu, M. Li, M. Ye, G. Qian, Pretreatment of food waste with high voltage pulse discharge towards methane production enhancement, *Bioresource Technology*. 222 (2016) 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.104>.
- [182] S.M. Safavi, R. Unnthorsson, Methane yield enhancement via electroporation of organic waste, *Waste Management*. 66 (2017) 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.02.032>.
- [183] S.M. Safavi, R. Unnthorsson, Enhanced methane production from pig slurry with pulsed electric field pre-treatment, *Environmental Technology*. 39 (2018) 479–489. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1304455>.
- [184] H. Hülshager, J. Potel, E.-G. Niemann, Electric field effects on bacteria and yeast cells, *Radiation and Environmental Biophysics*. 22 (1983) 149–162.
- [185] L. Barsotti, J.C. Cheftel, Food processing by pulsed electric fields. II. Biological aspects, *Food Reviews International*. 15 (1999) 181–213. <https://doi.org/10.1080/87559129909541186>.
- [186] J.C. Weaver, Y.A. Chizmadzhev, Theory of electroporation: A review, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 41 (1996) 135–160. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05062-3](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05062-3).
- [187] U. Zimmermann, Electrical breakdown, electroporation and electrofusion, in: *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Volume 105, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1986: pp. 175–256. <https://doi.org/10.1007/BFb0034499>.
- [188] T. Kotnik, L. Rems, M. Tarek, D. Miklavčič, Membrane Electroporation and Electroporation: Mechanisms and Models, *Annual Review of Biophysics*. 48 (2019) null. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-052118-115451>.
- [189] B. Roodenburg, J. Morren, H.E. (Iekje) Berg, S.W.H. de Haan, Metal release in a stainless steel Pulsed Electric Field (PEF) system: Part I. Effect of different pulse shapes; theory and experimental method, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 6 (2005) 327–336. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.04.006>.
- [190] Q. Zhang, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization, *Journal of Food Engineering*. 25 (1995) 261–281. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)00030-D](https://doi.org/10.1016/0260-8774(94)00030-D).
- [191] B.-L. Qin, F.-J. Chang, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Nonthermal inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in apple juice using pulsed electric fields, *LWT - Food Science and Technology*. 28 (1995) 564–568. [https://doi.org/10.1016/0023-6438\(95\)90002-0](https://doi.org/10.1016/0023-6438(95)90002-0).

- [192] P. Elez-Martínez, J. Escolà-Hernández, R.C. Soliva-Fortuny, O. Martín-Belloso, Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* suspended in orange juice using high-intensity pulsed electric fields, *J. Food Prot.* 67 (2004) 2596–2602.
- [193] P. Elez-Martínez, J. Escolà-Hernández, R.C. Soliva-Fortuny, O. Martín-Belloso, Inactivation of *Lactobacillus brevis* in orange juice by high-intensity pulsed electric fields, *Food Microbiology.* 22 (2005) 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.09.005>.
- [194] J. Mosqueda-Melgar, P. Elez-Martínez, R.M. Raybaudi-Massilia, O. Martín-Belloso, Effects of Pulsed Electric Fields on Pathogenic Microorganisms of Major Concern in Fluid Foods: A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 48 (2008) 747–759. <https://doi.org/10.1080/10408390701691000>.
- [195] Y. Pan, D.-W. Sun, Z. Han, Applications of electromagnetic fields for nonthermal inactivation of microorganisms in foods: An overview, *Trends in Food Science & Technology.* 64 (2017) 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.014>.
- [196] S. Jeyamkondan, D.S. Jayas, R.A. Holley, Pulsed Electric Field Processing of Foods: A Review, *Journal of Food Protection.* 62 (1999) 1088–1096. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.9.1088>.
- [197] S. Ho, G.S. Mittal, High Voltage Pulsed Electrical Field for Liquid Food Pasteurization, *Food Reviews International.* 16 (2000) 395–434. <https://doi.org/10.1081/FRI-100102317>.
- [198] N.K. Rastogi, Application of high-intensity pulsed electrical fields in food processing, *Food Rev. Int.* 19 (2003) 229–251. <https://doi.org/10.1081/FRI-120023478>.
- [199] US Department of Agriculture, Requisite Scientific Parameters for Establishing the Equivalence of Alternative Methods of Pasteurization, *Journal of Food Protection.* 69 (2006) 1190–1216. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.5.1190>.
- [200] D. Gerlach, N. Alleborn, A. Baars, A. Delgado, J. Moritz, D. Knorr, Numerical simulations of pulsed electric fields for food preservation: A review, *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 9 (2008) 408–417. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.02.001>.
- [201] K. Huang, J. Wang, Designs of pulsed electric fields treatment chambers for liquid foods pasteurization process: A review, *Journal of Food Engineering.* 95 (2009) 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.013>.
- [202] F. Sampedro, M. Rodrigo, A. Martinez, D. Rodrigo, G.V. Barbosa-Canovas, Quality and safety aspects of PEF application in milk and milk products, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45 (2005) 25–47. <https://doi.org/10.1080/10408690590900135>.
- [203] J.H. Chen, Y. Ren, J. Seow, T. Liu, W.S. Bang, H.G. Yuk, Intervention technologies for ensuring microbiological safety of meat: current and future trends, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 11 (2012) 119–132.
- [204] I. Odriozola-Serrano, I. Aguiló-Aguayo, R. Soliva-Fortuny, O. Martín-Belloso, Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents of plant-based foods, *Trends in Food Science & Technology.* 29 (2013) 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.003>.
- [205] P. Sharma, I. Oey, D.W. Everett, Effect of pulsed electric field processing on the functional properties of bovine milk, *Trends in Food Science & Technology.* 35 (2014) 87–101. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.11.004>.
- [206] K. Yogesh, Pulsed electric field processing of egg products: a review, *Journal of Food Science and Technology.* 53 (2016) 934–945.
- [207] F. Lebovka, N. Vorobiev, E. Chemat, Enhancing extraction processes in the food industry, CRC Press, 2011. <http://www.crcnetbase.com/doi/pdf/10.1201/b11241-1> (accessed January 26, 2017).

- [208] J.M. Jay, M.J. Loessner, D.A. Golden, *Modern food microbiology*, Springer Science & Business Media, Berlin, Germany, 2012.
https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=qv_jBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR18&dq=Jay+JM.+1986.+Modern+Food+microbiology&ots=NZL8mqLbfj&sig=hE750blihi6c4AUSsjPraskLpXY (accessed January 27, 2017).
- [209] E. Vorobiev, N. Lebovka, *Electrotechnologies for extraction from food plants and biomaterials*, 2016. <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-0-387-79374-0.pdf> (accessed November 16, 2016).
- [210] V. Heinz, I. Alvarez, A. Angersbach, D. Knorr, Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields—basic concepts for process design, *Trends in Food Science & Technology*. 12 (2001) 103–111. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00064-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00064-4).
- [211] I. Álvarez, J. Raso, A. Palop, F.J. Sala, Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields, *International Journal of Food Microbiology*. 55 (2000) 143–146. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00173-2).
- [212] G.V. Barbosa-Cánovas, U.R. Pothakamury, P.M. Marcela Gongora-Nieto, B.G. Swanson, *Preservation of Foods with Pulsed Electric Fields*, Academic Press, San Diego, 1999.
- [213] Q. Zhang, A. Monsalve-González, B.-L. Qin, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in apple juice by square-wave and exponential-decay Pulsed Electric Fields, *Journal of Food Process Engineering*. 17 (1994) 469–478. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1994.tb00350.x>.
- [214] Q. Zhang, A. Monsalve-González, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Inactivation of *E. Coli* and *S. Cerevisiae* by Pulsed Electric Fields under controlled temperature conditions, *Transactions of the ASAE*. 37 (1994) 581–587. <https://doi.org/10.13031/2013.28116>.
- [215] S. Damar, F. Bozoglu, M. Hizal, A. Bayındırlı, Inactivation and injury of *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* by pulsed electric fields, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 18 (2002) 1–6. <https://doi.org/10.1023/A:1013900222139>.
- [216] G. Donsi, G. Ferrari, G. Pataro, Inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields in a batch treatment chamber: The effect of electric field unevenness and initial cell concentration, *Journal of Food Engineering*. 78 (2007) 784–792. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.027>.
- [217] S. Jayaram, G.S.P. Castle, A. Margaritis, Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* cells by the application of high voltage pulses, *Biotechnology and Bioengineering*. 40 (1992) 1412–1420. <https://doi.org/10.1002/bit.260401116>.
- [218] P. Molinari, A.M.R. Pilosof, R.J. Jagus, Effect of growth phase and inoculum size on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in fruit juices, by pulsed electric fields, *Food Research International*. 37 (2004) 793–798. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.03.010>.
- [219] H.-E. Jacob, W. Förster, H. Berg, Microbiological implications of electric field effects II. Inactivation of yeast cells and repair of their cell envelope, *Zeitschrift Für Allgemeine Mikrobiologie*. 21 (1981) 225–233. <https://doi.org/10.1002/jobm.19810210308>.
- [220] I. Álvarez, R. Pagán, J. Raso, S. Condón, Environmental factors influencing the inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields, *Letters in Applied Microbiology*. 35 (2002) 489–493. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01221.x>.
- [221] M. Somolinos, D. García, P. Mañas, S. Condón, R. Pagán, Effect of environmental factors and cell physiological state on Pulsed Electric Fields resistance and repair capacity of various strains of *Escherichia coli*, *International Journal of Food Microbiology*. 124 (2008) 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.021>.

- [222] K. Huang, L. Yu, D. Liu, L. Gai, J. Wang, Modeling of yeast inactivation of PEF-treated Chinese rice wine: Effects of electric field intensity, treatment time and initial temperature, *Food Research International*. 54 (2013) 456–467. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.046>.
- [223] H. Masood, P.J. Cullen, N.A. Lee, F.J. Trujillo, Reactor modelling of treatment chamber for the inactivation of *Escherichia coli* by radio frequency electric field – mechanistic versus empirical approaches, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 93 (2018) 3512–3525. <https://doi.org/10.1002/jctb.5712>.
- [224] H. El Zakhem, Inactivation des suspensions microbiennes de *Saccharomyces cerevisiae* et d'*Escherichia coli* par champs électriques pulsés modérés, Université de Technologie de Compiègne, 2006. <http://www.theses.fr/2006COMP1641> (accessed November 16, 2016).
- [225] B. Gómez, P.E.S. Munekata, M. Gavahian, F.J. Barba, F.J. Martí-Quijal, T. Bolumar, P.C.B. Campagnol, I. Tomasevic, J.M. Lorenzo, Application of pulsed electric fields in meat and fish processing industries: An overview, *Food Research International*. 123 (2019) 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.047>.
- [226] P.C. Wouters, N. Dutreux, J.P.P.M. Smelt, H.L.M. Lelieveld, Effects of Pulsed Electric Fields on Inactivation Kinetics of *Listeria innocua*, *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (1999) 5364–5371.
- [227] I. Álvarez, J. Raso, F.J. Sala, S. Condón, Inactivation of *Yersinia enterocolitica* by pulsed electric fields, *Food Microbiology*. 20 (2003) 691–700. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00033-9](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00033-9).
- [228] F. Sampedro, A. Rivas, D. Rodrigo, A. Martínez, M. Rodrigo, Pulsed electric fields inactivation of *Lactobacillus plantarum* in an orange juice–milk based beverage: Effect of process parameters, *Journal of Food Engineering*. 80 (2007) 931–938. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.08.013>.
- [229] G.A. Evrendilek, Q.H. Zhang, Effects of pulse polarity and pulse delaying time on pulsed electric fields-induced pasteurization of *E. coli* O157:H7, *Journal of Food Engineering*. 68 (2005) 271–276. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.06.001>.
- [230] L. Picart, E. Dumay, J.C. Cheftel, Inactivation of *Listeria innocua* in dairy fluids by pulsed electric fields: influence of electric parameters and food composition, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 3 (2002) 357–369. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(02\)00055-3](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(02)00055-3).
- [231] J. Raso, W. Frey, G. Ferrari, G. Pataro, D. Knorr, J. Teissie, D. Miklavčič, Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 37 (2016) 312–321. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.003>.
- [232] S. Monfort, E. Gayán, G. Saldaña, E. Puértolas, S. Condón, J. Raso, I. Álvarez, Inactivation of *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* by pulsed electric fields in liquid whole egg, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 11 (2010) 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.11.007>.
- [233] J.M. Wood, Bacterial responses to osmotic challenges, *The Journal of General Physiology*. 145 (2015) 381–388. <https://doi.org/10.1085/jgp.201411296>.
- [234] K. Aronsson, U. Rönner, Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2 (2001) 105–112. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(01\)00030-3](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(01)00030-3).
- [235] J. Chirife, C.F. Fontan, E.A. Benmergui, The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods IV. a_w Prediction in aqueous non electrolyte solutions, *International Journal of Food Science & Technology*. 15 (1980) 59–70. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb00919.x>.

- [236] S. Jayaram, G.S.P. Castle, A. Margaritis, The effects of high field DC pulse and liquid medium conductivity on survivability of *Lactobacillus brevis*, *Appl Microbiol Biotechnol.* 40 (1993) 117–122. <https://doi.org/10.1007/BF00170439>.
- [237] S.Y. Ho, G.S. Mittal, J.D. Cross, M.W. Griffiths, Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* by High Voltage Electric Pulses, *Journal of Food Science.* 60 (1995) 1337–1340. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04586.x>.
- [238] H. Vega-Mercado, U.R. Pothakamury, F.-J. Chang, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields hurdles, *Food Research International.* 29 (1996) 117–121. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(96\)00015-4](https://doi.org/10.1016/0963-9969(96)00015-4).
- [239] O. Martín, B.L. Qin, F.J. Chang, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Inactivation of *Escherichia coli* in skim milk by high intensity pulsed electric fields, *Journal of Food Process Engineering.* 20 (1997) 317–336. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1997.tb00425.x>.
- [240] T. Grahl, H. Märkl, Killing of microorganisms by pulsed electric fields, *Applied Microbiology and Biotechnology.* 45 (1996) 148–157.
- [241] L.D. Reina, Z.T. Jin, Q.H. Zhang, A.E. Yousef, Inactivation of *Listeria monocytogenes* in Milk by Pulsed Electric Field, *Journal of Food Protection.* 61 (1998) 1203–1206. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.9.1203>.
- [242] N. Dutreux, S. Notermans, T. Wijtzes, M.M. Góngora-Nieto, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson, Pulsed electric fields inactivation of attached and free-living *Escherichia coli* and *Listeria innocua* under several conditions, *International Journal of Food Microbiology.* 54 (2000) 91–98. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00175-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00175-0).
- [243] P. Mañas, L. Barsotti, J.C. Cheftel, Microbial inactivation by pulsed electric fields in a batch treatment chamber: effects of some electrical parameters and food constituents, *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 2 (2001) 239–249. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(01\)00041-8](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(01)00041-8).
- [244] D. García, N. Gómez, P. Mañas, J. Raso, R. Pagán, Pulsed electric fields cause bacterial envelopes permeabilization depending on the treatment intensity, the treatment medium pH and the microorganism investigated, *International Journal of Food Microbiology.* 113 (2007) 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.07.007>.
- [245] Y.W. Huang, M.Q. Chen, L. Jia, Assessment on thermal behavior of municipal sewage sludge thin-layer during hot air forced convective drying, *Applied Thermal Engineering.* 96 (2016) 209–216.
- [246] M. Walkling-Ribeiro, O. Rodríguez-González, S.H. Jayaram, M.W. Griffiths, Processing temperature, alcohol and carbonation levels and their impact on pulsed electric fields (PEF) mitigation of selected characteristic microorganisms in beer, *Food Research International.* 44 (2011) 2524–2533. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.046>.
- [247] X. Qiu, Y.T. Lee, P.T. Yung, A bacterial spore model of pulsed electric fields on spore morphology change revealed by simulation and SEM, in: Chicago, US, 2014: pp. 6822–6825. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2014.6945195>.
- [248] C. Siemer, S. Toepfl, V. Heinz, Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by pulsed electric fields (PEF) in combination with thermal energy – I. Influence of process- and product parameters, *Food Control.* 39 (2014) 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.025>.
- [249] F. Pillet, C. Formosa-Dague, H. Baaziz, E. Dague, M.-P. Rols, Cell wall as a target for bacteria inactivation by pulsed electric fields, *Scientific Reports.* 6 (2016) 19778. <https://doi.org/10.1038/srep19778>.

- [250] M.A. Kempkes, Pulsed electric field (PEF) systems for commercial food and juice processing, in: *Case Studies in Novel Food Processing Technologies*, Elsevier, 2010: pp. 73–102. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845695514500046> (accessed March 27, 2018).
- [251] Hoogesteger, Cold Pressed, (2018). <https://www.hoogesteger.nl/en/cold-pressed> (accessed October 31, 2018).
- [252] Elea Technology, Hoogesteger extends shelf life of fresh juice with ELEA PEF since 2012, (2017). <http://elea-technology.de/hoogesteger-extends-shelf-life-of-fresh-juice-with-elea-pef-since-2012/> (accessed October 31, 2018).
- [253] Elea Technology, Elea - Applications, (2019). <https://elea-technology.de/applications/> (accessed September 20, 2019).
- [254] P. Tallon, B. Magajna, C. Lofranco, K.T. Leung, Microbial Indicators of Faecal Contamination in Water: A Current Perspective, *Water Air Soil Pollut.* 166 (2005) 139–166. <https://doi.org/10.1007/s11270-005-7905-4>.
- [255] C.H. Stuart, S.A. Schwartz, T.J. Beeson, C.B. Owatz, *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment, *Journal of Endodontics.* 32 (2006) 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.10.049>.
- [256] C.J. Kristich, C.L. Wells, G.M. Dunny, A eukaryotic-type Ser/Thr kinase in *Enterococcus faecalis* mediates antimicrobial resistance and intestinal persistence, *PNAS.* 104 (2007) 3508–3513. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608742104>.
- [257] N. Krieg, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, 1984. <http://www.springer.com/series/4157> (accessed May 24, 2019).
- [258] HACH Co., *The Use of Indicator Organisms to Assess Public Water Safety : Technical Information Series—Booklet No. 13*, (2000). <https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7639982206> (accessed May 24, 2019).
- [259] B.A. Annous, P.M. Fratamico, J.L. Smith, Quorum Sensing in Biofilms: Why Bacteria Behave the Way They Do, *Journal of Food Science.* 74 (2009) R24–R37. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.01022.x>.
- [260] M.A.J.S. van Boekel, On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells, *International Journal of Food Microbiology.* 74 (2002) 139–159. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00742-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00742-5).
- [261] K. Huang, H. Tian, L. Gai, J. Wang, A review of kinetic models for inactivating microorganisms and enzymes by pulsed electric field processing, *Journal of Food Engineering.* 111 (2012) 191–207. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.02.007>.
- [262] M.C.P. Pérez, D.R. Aliaga, C.F. Bernat, M.R. Enguidanos, A.M. López, Inactivation of *Enterobacter sakazakii* by pulsed electric field in buffered peptone water and infant formula milk, *International Dairy Journal.* 17 (2007) 1441–1449. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.04.007>.
- [263] M. Peleg, A model of microbial survival after exposure to pulsed electric fields, *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 67 (1995) 93–99. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740670115>.
- [264] M.B. Cole, K.W. Davies, G. Munro, C.D. Holyoak, D.C. Kilsby, A vitalistic model to describe the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Journal of Industrial Microbiology.* 12 (1993) 232–239. <https://doi.org/10.1007/BF01584195>.
- [265] C.A. Magnus, W.M. Ingledew, A.R. McCurdy, Thermal Resistance of Streptococci Isolated from Pasteurized Ham, *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal.* 19 (1986) 62–67. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(86\)71418-1](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(86)71418-1).
- [266] S. Koseki, K. Yamamoto, Recovery of *Escherichia coli* ATCC 25922 in phosphate buffered saline after treatment with high hydrostatic pressure, *International Journal of Food Microbiology.* 110 (2006) 108–111. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.039>.

- [267] S. Alkhafaji, M. Farid, Modelling the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922 using pulsed electric field, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 9 (2008) 448–454. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.02.003>.
- [268] G. Abraham, E. Debray, Y. Candau, G. Piar, Mathematical model of thermal destruction of *Bacillus stearothermophilus* spores, *Applied and Environmental Microbiology*. 56 (1990) 3073–3080.
- [269] G. Le Jean, G. Abraham, E. Debray, Y. Candau, G. Piar, Kinetics of thermal destruction of *Bacillus stearothermophilus* spores using a two reaction model, *Food Microbiology*. 11 (1994) 229–241. <https://doi.org/10.1006/fmic.1994.1026>.
- [270] C. for F.S. and A. US FDA, Laboratory Methods - Bacteriological Analytical Manual (BAM), (2017). <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (accessed April 28, 2017).
- [271] US DA, Laboratory Guidebook - Most Probable Number Procedure and Tables, (2014). <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/8872ec11-d6a3-4fcf-86df-4d87e57780f5/MLG-Appendix-2.pdf?MOD=AJPERES> (accessed May 29, 2019).
- [272] A.M. Gibson, N. Bratchell, T.A. Roberts, The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry, *Journal of Applied Bacteriology*. 62 (1987) 479–490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1987.tb02680.x>.
- [273] H. El Zakhem, J.-L. Lanoisellé, N.I. Lebovka, M. Nonus, E. Vorobiev, The early stages of *Saccharomyces cerevisiae* yeast suspensions damage in moderate pulsed electric fields, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 47 (2006) 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2005.12.010>.
- [274] H. El Zakhem, J.-L. Lanoisellé, N.I. Lebovka, M. Nonus, E. Vorobiev, Behavior of yeast cells in aqueous suspension affected by pulsed electric field, *Journal of Colloid and Interface Science*. 300 (2006) 553–563. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.04.055>.
- [275] ITHPP ALCEN, MU-17-807-A-FR MANUEL GENERATEUR 22.5KV, (2018).
- [276] G.F. Parkin, W.F. Owen, Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges, *Journal of Environmental Engineering*. 112 (1986) 867–920.
- [277] G.K. Kafle, L. Chen, Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (BMP) using different statistical models, *Waste Management*. 48 (2016) 492–502.
- [278] H.N. Gavala, U. Yenal, I.V. Skiadas, P. Westermann, B.K. Ahring, Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. Effect of pre-treatment at elevated temperature, *Water Research*. 37 (2003) 4561–4572. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00401-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00401-9).
- [279] E. Salminen, J. Rintala, Anaerobic digestion of organic solid poultry slaughterhouse waste – a review, *Bioresource Technology*. 83 (2002) 13–26. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00199-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00199-7).
- [280] T. Paavola, E. Syväsalo, J. Rintala, Co-digestion of manure and biowaste according to the EC Animal By-Products Regulation and Finnish national regulations, *Water Science and Technology*. 53 (2006) 223–231. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.253>.
- [281] P. Quideau, P. Levasseur, A. Charpiot, T. Lendormi, F. Guiziou, Intérêts conjugués d’une évacuation rapide des déjections animales et de leur méthanisation, *Innovations Agronomiques*. 34 (2014) 309–320.
- [282] J.H. El Achkar, T. Lendormi, D. Salameh, N. Louka, R.G. Maroun, J.-L. Lanoiselle, Z. Hobaika, Influence of pretreatment conditions on lignocellulosic fractions and methane production from grape pomace, *Bioresour. Technol.* 247 (2018) 881–889. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.182>.

- [283] H. Jaeger, A. Schulz, N. Karapetkov, D. Knorr, Protective effect of milk constituents and sublethal injuries limiting process effectiveness during PEF inactivation of *Lb. rhamnosus*, *International Journal of Food Microbiology*. 134 (2009) 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.06.007>.
- [284] P. Sharma, P. Bremer, I. Oey, D.W. Everett, Bacterial inactivation in whole milk using pulsed electric field processing, *International Dairy Journal*. 35 (2014) 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.10.005>.
- [285] D. García, P. Mañas, N. Gómez, J. Raso, R. Pagán, Biosynthetic requirements for the repair of sublethal membrane damage in *Escherichia coli* cells after pulsed electric fields, *Journal of Applied Microbiology*. 100 (2006) 428–435. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02795.x>.
- [286] M. Sakr, S. Liu, A comprehensive review on applications of ohmic heating (OH), *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 39 (2014) 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.061>.
- [287] A. Goullieux, J.-P. Pain, Chapter 22 - Ohmic Heating, in: D.-W. Sun (Ed.), *Emerging Technologies for Food Processing (Second Edition)*, Academic Press, San Diego, 2014: pp. 399–426. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012411479100022X>.
- [288] M. Peleg, M. d. Normand, M. g. Corradini, Generating microbial survival curves during thermal processing in real time, *Journal of Applied Microbiology*. 98 (2005) 406–417. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02487.x>.
- [289] P.C. Wouters, I. Alvarez, J. Raso, Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing, *Trends in Food Science & Technology*. 12 (2001) 112–121. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00067-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00067-X).
- [290] F. Sampedro, A. McAloon, W. Yee, X. Fan, H.Q. Zhang, D.J. Geveke, Cost analysis of commercial pasteurization of orange juice by pulsed electric fields, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 17 (2013) 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.10.002>.
- [291] M.R. Clavero, L.R. Beuchat, Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in broth and processed salami as influenced by pH, water activity, and temperature and suitability of media for its recovery., *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (1996) 2735–2740.
- [292] N. Gómez, D. García, I. Álvarez, S. Condón, J. Raso, Modelling inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields in media of different pH, *International Journal of Food Microbiology*. 103 (2005) 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.033>.
- [293] J. Morren, B. Roodenburg, S.W.H. de Haan, Electrochemical reactions and electrode corrosion in pulsed electric field (PEF) treatment chambers, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 4 (2003) 285–295. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(03\)00041-9](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00041-9).
- [294] A.H. Bushnell, R.W. Clark, J.E. Dunn, S.W. Lloyd, Prevention of electrochemical and electrophoretic effects in high-strength-electric-field pumpable-food-product treatment systems, 1995.
- [295] C. Amatore, M. Berthou, S. Hébert, Fundamental principles of electrochemical ohmic heating of solutions, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 457 (1998) 191–203. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(98\)00306-4](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(98)00306-4).
- [296] D. Borkholder, Cell based biosensors using microelectrodes, PhD Thesis, Stanford University, 1998. <https://digitalarchive.rit.edu/xmlui/handle/1850/5746> (accessed August 27, 2019).

- [297] E.M. Wellington, A.B. Boxall, P. Cross, E.J. Feil, W.H. Gaze, P.M. Hawkey, A.S. Johnson-Rollings, D.L. Jones, N.M. Lee, W. Otten, C.M. Thomas, A.P. Williams, The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria, *The Lancet Infectious Diseases*. 13 (2013) 155–165. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70317-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70317-1).
- [298] P. He, Y. Zhou, L. Shao, J. Huang, Z. Yang, F. Lü, The discrepant mobility of antibiotic resistant genes: Evidence from their spatial distribution in sewage sludge flocs, *Science of The Total Environment*. 697 (2019) 134176. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134176>.
- [299] J.E. Olsen, J.B. Jørgensen, P. Nansen, On the reduction of *Mycobacterium paratuberculosis* in bovine slurry subjected to batch mesophilic or thermophilic anaerobic digestion, *Agricultural Wastes*. 13 (1985) 273–280.
- [300] J.E. Olsen, H.E. Larsen, Bacterial decimation times in anaerobic digestions of animal slurries, *Biological Wastes*. 21 (1987) 153–168. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(87\)90121-2](https://doi.org/10.1016/0269-7483(87)90121-2).
- [301] J.C.H. Shih, Ecological benefits of anaerobic digestion, *Poultry Science*. 66 (1987) 946–950. <https://doi.org/10.3382/ps.0660946>.
- [302] L.P. Forshell, Survival of *Salmonellas* and *Ascaris suum* eggs in a thermophilic biogas plant., in: *Environment and Animal Health: Proceedings of the 6th International Congress on Animal Hygiene 14-17 June 1988, Skara, Sweden. Volume II., Sveriges Lantbruksuniversitet, Skara, 1988: pp. 612–618.* <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19910869549> (accessed October 8, 2018).
- [303] H. Engeli, W. Edelmann, J. Fuchs, K. Rottermann, Survival of Plant Pathogens and Weed Seeds during Anaerobic Digestion, *Water Science and Technology*. 27 (1993) 69–76. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0079>.
- [304] T.E. Kearney, M.J. Larkin, J.P. Frost, P.N. Levett, Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste, *Journal of Applied Bacteriology*. 75 (1993) 215–219. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb02768.x>.
- [305] B. Lund, V.F. Jensen, P. Have, B. Ahring, Inactivation of virus during anaerobic digestion of manure in laboratory scale biogas reactors, *Antonie van Leeuwenhoek*. 69 (1996) 25–31. <https://doi.org/10.1007/BF00641608>.
- [306] S.-E. Jepsen, M. Krause, H. Grüttner, Reduction of fecal streptococcus and salmonella by selected treatment methods for sludge and organic waste, *Water Science and Technology*. 36 (1997) 203–210. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00684-7](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00684-7).
- [307] G. De Luca, F. Zanetti, P. Fateh-Moghadm, S. Stampi, Occurrence of *Listeria monocytogenes* in sewage sludge., *Zentralbl Hyg Umweltmed*. 201 (1998) 269–277.
- [308] J. Ryckeboer, S. Cops, J. Coosemans, The Fate of Plant Pathogens and Seeds During Anaerobic Digestion and Aerobic Composting of Source Separated Household Wastes, *Compost Science & Utilization*. 10 (2002) 204–216. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2002.10702082>.
- [309] A.J. Termorshuizen, D. Volker, W.J. Blok, E. ten Brummeler, B.J. Hartog, J.D. Janse, W. Knol, M. Wenneker, Survival of human and plant pathogens during anaerobic mesophilic digestion of vegetable, fruit, and garden waste, *European Journal of Soil Biology*. 39 (2003) 165–171. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(03\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(03)00032-3).
- [310] M.D. Aitken, M.D. Sobsey, K.E. Blauth, M. Shehee, P.L. Crunk, G.W. Walters, Inactivation of *Ascaris suum* and Poliovirus in Biosolids under Thermophilic Anaerobic Digestion Conditions, *Environmental Science & Technology*. 39 (2005) 5804–5809. <https://doi.org/10.1021/es048004h>.

- [311] R. Iranpour, H.H.J. Cox, S. Oh, S. Fan, R.J. Kearney, V. Abkian, R.T. Haug, Thermophilic-Anaerobic Digestion to Produce Class A Biosolids: Initial Full-Scale Studies at Hyperion Treatment Plant, *Water Environment Research*. 78 (2006) 170–180.
- [312] R. Iranpour, H.H.J. Cox, S. Fan, V. Abkian, T. Minamide, R.J. Kearney, R.T. Haug, Full-Scale Class A Biosolids Production by Two-Stage Continuous-Batch Thermophilic Anaerobic Digestion at the Hyperion Treatment Plant, Los Angeles, California, *Water Environment Research*. 78 (2006) 2244–2252.
- [313] A. Schnürer, J. Schnürer, Fungal survival during anaerobic digestion of organic household waste, *Waste Management*. 26 (2006) 1205–1211.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.09.007>.
- [314] R. Iranpour, H.H.J. Cox, Evaluation of thermophilic anaerobic digestion processes for full-scale Class A biosolids disinfection at hyperion treatment plant, *Biotechnology and Bioengineering*. 97 (2007) 19–39. <https://doi.org/10.1002/bit.21176>.
- [315] A.O. Wagner, G. Gstraunthaler, P. Illmer, Survival of bacterial pathogens during the thermophilic anaerobic digestion of biowaste: Laboratory experiments and in situ validation, *Anaerobe*. 14 (2008) 181–183. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2008.03.004>.
- [316] D. Massé, Y. Gilbert, E. Topp, Pathogen removal in farm-scale psychrophilic anaerobic digesters processing swine manure, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 641–646. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.020>.
- [317] P.K. Pandey, M.L. Soupir, Escherichia coli inactivation kinetics in anaerobic digestion of dairy manure under moderate, mesophilic and thermophilic temperatures, *AMB Expr*. 1 (2011) 18. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-1-18>.
- [318] E. Lloret, M.J. Salar, J. Blaya, J.A. Pascual, Two-stage mesophilic anaerobic–thermophilic digestion for sludge sanitation to obtain advanced treated sludge, *Chemical Engineering Journal*. 230 (2013) 59–63. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.06.066>.
- [319] B.D. Rounsefell, C.A. O’Sullivan, N. Chinivasagam, D. Batstone, W.P. Clarke, Fate of pathogen indicators in a domestic blend of food waste and wastewater through a two-stage anaerobic digestion system, *Water Sci Technol*. 67 (2013) 366–373. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.573>.
- [320] N.D. Manser, I. Wald, S.J. Ergas, R. Izurieta, J.R. Mihelcic, Assessing the Fate of Ascaris suum Ova during Mesophilic Anaerobic Digestion, *Environ. Sci. Technol*. 49 (2015) 3128–3135. <https://doi.org/10.1021/es505807a>.
- [321] Mazzone P., Corneli S., Di Paolo A., Maresca C., Felici A., Biagetti M., Ciullo M., Sebastiani C., Pezzotti G., Leo S., Ricchi M., Arrigoni N., Survival of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in the intermediate and final digestion products of biogas plants, *Journal of Applied Microbiology*. 125 (2018) 36–44. <https://doi.org/10.1111/jam.13762>.

Titre : Hygiénisation par technologie électrique de déchets alimentaires en vue de leur méthanisation

Mots clés : Hygiénisation, Déchets alimentaires, Champs Électriques Pulsés, Sous-produits animaux, Méthanisation, Prétraitement

Résumé : La législation (CE n°1069/2009) impose une étape d'hygiénisation (traitement thermique à température ≥ 70 °C pendant une durée ≥ 60 min sans interruption) avant méthanisation des sous-produits animaux. Ce traitement, consommateur d'énergie, réduit la rentabilité globale des installations de méthanisation. L'étude bibliographique montre que, en Europe, la consommation énergétique du procédé d'hygiénisation thermique représente 6 à 25% de l'énergie primaire générée par les unités de production de biogaz. Dans le cadre des travaux de thèse présentés, des solutions alternatives d'abattement microbien, notamment les électro-technologies (ex. Champs Électriques Pulsés, CEP) ont été étudiées. Ces technologies sont essentiellement développées pour l'inactivation athermique des micro-organismes des denrées alimentaires.

Les souches *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ont été sélectionnées comme bactéries indicatrices. Une étude des cinétiques d'inactivation des indicateurs à différents paramètres électriques dans les procédés en batch et en continu a été réalisée. L'évaluation de l'efficacité du couplage des CEP et d'un chauffage ohmique, l'effet de la quantité d'énergie utilisée pour le traitement par CEP, la régénération cellulaire des bactéries endommagées et la modélisation cinétique et numérique du procédé sont également abordés. Les résultats obtenus confirment la capacité des CEP à hygiéniser les sous-produits animaux (*i.e.* une réduction de 5 log₁₀ d'*Ent. faecalis*) dans les systèmes en batch et en continu. Ainsi, le couplage du traitement par CEP et du chauffage ohmique peut significativement réduire la consommation énergétique du procédé.

Title: Hygienization of food-industry waste for anaerobic digestion by electro-technology

Keywords: Hygienization, Food-industry waste, Pulsed electric field, Animal by-products, Anaerobic digestion, Pretreatment

Abstract: The European Union regulation (CE n°1069/2009) imposes a step of hygienization (thermal treatment at temperature ≥ 70 °C for a treatment time ≥ 60 min without interruption) before anaerobic digestion of certain biowaste issued from the agricultural and food processing industries. This energy-consuming treatment reduces the profitability of biogas production facilities. The literature review shows that, in Europe, the energy consumption of the thermal hygienization process accounts for around 6 to 25% of the primary energy produced by biogas plants. In the present PhD thesis, the alternative solutions for the microbial pasteurization, namely the electro-technologies (*e.g.* pulsed electric field, PEF) were studied. These technologies are essentially developed for the athermal inactivation of pathogens in food products.

The bacterial strains *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were selected as indicator bacteria. A systematical study on the inactivation kinetics of the indicator bacteria treated at different electric parameters in batch and continuous system was realized. The efficiency of the treatment coupling PEF and ohmic heating, the effect of the specific energy delivered by PEF, the recovery of the injured bacteria and the kinetic and numeric modeling of the process were investigated as well. Results confirm the ability of PEF to hygienize animal by-products (*i.e.* a reduction of 5 log₁₀ of *Ent. faecalis*) in batch and continuous system. The PEF treatment coupled with ohmic heating could significantly reduce the energy consumption of the process.