



HAL
open science

Production de molécules plateformes pour la valorisation des déchets organiques solides : étude de processus physiques et biologiques impactant la qualité du mélange d'acides organiques

Laura Digan

► To cite this version:

Laura Digan. Production de molécules plateformes pour la valorisation des déchets organiques solides : étude de processus physiques et biologiques impactant la qualité du mélange d'acides organiques. Biotechnologie. INSA de Toulouse, 2019. Français. NNT : 2019ISAT0051 . tel-03904158

HAL Id: tel-03904158

<https://theses.hal.science/tel-03904158>

Submitted on 16 Dec 2022

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

En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Institut National des Sciences Appliquées de
Toulouse

Présentée et soutenue par

Laura DIGAN

Le 8 octobre 2019

Production de molécules plateformes pour la valorisation des déchets organiques solides: étude de processus physiques et biologiques impactant la qualité du mélange d'acides organiques

Ecole doctorale : **MEGEP - Mécanique, Energétique, Génie civil, Procédés**

Spécialité : **Génie des Procédés et de l'Environnement**

Unité de recherche :

LISBP - Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés

Thèse dirigée par

Etienne PAUL et Claire DUMAS

Jury

M. Jean-Philippe DELGENES, Rapporteur

M. Hassen BENBELKACEM, Rapporteur

M. Pierre FONTANILLE, Examineur

M. Eric TRABLY, Examineur

Mme Hélène ROUX DE BALMANN, Examinatrice

M. Etienne PAUL, Directeur de thèse

Mme Claire DUMAS, Co-directrice de thèse

Production de molécules plateformes pour la valorisation des déchets organiques solides : étude de processus physiques et biologiques impactant la qualité du mélange d'acides organiques

La valorisation des ordures ménagères résiduelles par fermentation acidogène permet de produire des composés à forte valeur ajoutée tels que des acides organiques. Le réacteur à lit percolant est pertinent au vu de la teneur en solides élevée du substrat. Cependant, le lit de déchets est un milieu poreux complexe et hétérogène. L'objectif de cette thèse est de comprendre les processus de la fermentation acidogène. Les aspects chimiques et biologiques ont été étudiés via l'effet de plusieurs paramètres (inoculation et acclimatation des micro-organismes, pH, teneur en solides). Une caractérisation physique et hydrodynamique a aussi été réalisée pour évaluer la répartition de l'eau au sein du milieu poreux. Un modèle à double porosité amélioré a ainsi été proposé pour représenter les écoulements et évaluer les transferts d'eau entre les compartiments du milieu. La maîtrise de la recirculation et du contrôle du pH sont des perspectives d'étude pour la mise en œuvre optimale de ce procédé.

Mots clés : fermentation acidogène anaérobie, ordures ménagères résiduelles, plateforme AGV, réacteur à lit percolant, modèle à double porosité.

Production of platform molecules for solid wastes valorisation: understanding physical and biological processes impacting the quality of the organic acids mixture

The recovery of household solid waste by acidogenic fermentation makes it possible to produce compounds with high added value such as organic acids. The leach-bed reactor is relevant due to the high total solids content of the substrate. However, the waste bed is a complex and heterogeneous porous medium. The aim of this thesis is to understand the processes of acidogenic fermentation. The chemical and biological aspects were studied through the effect of several parameters (inoculation and acclimation of microorganisms, pH). A physical and hydrodynamic characterisation was also performed to assess the distribution of water in the porous medium. An improved dual porosity model was proposed to reproduce the water flow and to estimate the water transfers between the compartments of the medium. The management of recirculation and the control of pH in the waste bed are perspectives of study for the optimal implementation of this process.

Keywords: anaerobic acidogenic fermentation, household solid waste, VFA platform, leach-bed reactor, dual-porosity model.

Résumé

La consommation de ressources pétrolières, épuisables et non renouvelables, conduit à rechercher de nouvelles voies de production pour l'industrie chimique. De plus, la production d'Ordures Ménagères Résiduelles (OMR) continue d'augmenter à l'échelle mondiale. La fermentation acidogène des OMR permet de répondre au double objectif de traiter ces déchets et réduire leur quantité tout en produisant des molécules plateformes biosourcées (acides organiques) d'intérêt pour la chimie.

La teneur en solides élevée des OMR et le souci de limiter les coûts de procédé justifient le choix du réacteur à lit percolant ou LBR : il s'agit d'un procédé de fermentation discontinue en voie solide dans lequel une phase liquide est recirculée au sein d'un lit statique de déchets solides. De plus, la mise en œuvre de la fermentation en culture mixte vise à apporter de la diversité microbienne, donc de la robustesse face aux variations de conditions environnementales, et permet de s'affranchir de la nécessité de stériliser le milieu. Par souci de reproductibilité, le principal substrat d'étude a été une reconstitution d'OMR.

La première partie de ce travail concerne la compréhension des processus biologiques et chimiques et de leur interaction, au cours de la fermentation acidogène en réacteur batchs séquentiels. L'impact de différents facteurs sur l'hydrolyse et la production de métabolites ont été étudiés : l'ajout d'un inoculum exogène au départ, l'acclimatation de la population microbienne initialement présente vis-à-vis des conditions environnementales, le pH. Il a ainsi été confirmé que le pH joue un rôle clé dans la solubilisation du substrat, la production de métabolites et le spectre de produits. L'analyse de l'évolution des communautés microbiennes a permis de corrélérer la sélection de certaines familles de bactéries aux performances observées. La fermentation a pu être effectuée avec l'utilisation unique du consortium microbien indigène et l'ajout d'un inoculum extérieur n'a pas contribué à améliorer les performances atteintes. En revanche, la réutilisation de communautés microbiennes, acclimatées aux conditions opératoires par les batchs séquentiels, a été déterminante pour augmenter les productions de métabolites. Ces conclusions ont été comparées à des résultats obtenus à forte teneur en solides.

La teneur en solides a une influence considérable sur la réaction de fermentation. Toutefois, sa seule considération n'est pas suffisante car le lit de déchets solides constitue un milieu poreux multiphasique complexe au sein duquel la répartition de l'eau et les phénomènes de transfert sont aussi essentiels. La seconde partie de ce travail visait donc à caractériser le lit de déchets en LBR sur le plan physique et hydrodynamique, en conditions abiotiques. Pour cela, des OMR reconstituées, mais aussi réelles, ont été utilisées. En réalisant des cycles de percolation et drainage avant et après compaction des lits de déchets, la structure des massifs et la distribution de l'eau dans les compartiments ont été déterminées. L'application d'un modèle à double porosité classique pour représenter ces cycles a mis en évidence l'existence d'une fraction d'eau immobile dans la macroporosité. Aussi, un modèle amélioré a été proposé pour reproduire de manière plus adéquate ces dynamiques d'écoulement d'eau dans le

massif. Des coefficients de transfert d'eau entre les compartiments ont alors pu être estimés via ce nouveau modèle.

Les travaux pluridisciplinaires menés au sein de cette thèse se sont intéressés à deux aspects complémentaires de la fermentation acidogène en LBR et apportent aussi de nouvelles perspectives. Par exemple, la stratégie de recirculation, le contrôle de pH au sein de ce milieu complexe, mais aussi la validation sur des déchets réels sont autant de sujets à explorer afin de pouvoir mettre en œuvre la production optimale et reproductible des molécules plateformes par le procédé étudié, en accord avec les utilisations postérieures visées.

Mots clés : fermentation acidogène anaérobie, ordures ménagères résiduelles, plateforme AGV, réacteur à lit percolant, modèle à double porosité.

Abstract

The consumption of exhaustible and non-renewable petroleum resources leads to the search for new production routes for the chemical industry. In addition, the global production of Household Solid Waste (HSW) is expected to keep growing. Among a variety of recovery methods, acidogenic fermentation of HSW makes it possible to meet two objectives: treating this waste and reducing its quantity while producing biobased platform molecules of interest for chemical industry such as organic acids.

The leach-bed reactor or LBR was chosen due to the high total solids content of HSW and the process cost efficiency. The technology consists of a discontinuous solid-state fermentation process in which a liquid phase is recirculated within a static solid waste bed. Moreover, the use of a mixed culture in fermentation aims to provide microbial diversity, and thus the robustness to face changes in environmental conditions. This strategy also eliminates the need to sterilise the environment. Finally, in this work, the main substrate studied was a reconstitution of HSW.

The first part of this work concerns the understanding of the biological and chemical processes and their interaction, during the acidogenic fermentation in sequential batch reactors. The impact of different factors on the hydrolysis of the complex solid substrate and the production of metabolites was studied: the pH, the addition of an exogenous inoculum at start-up and the acclimation of the initial microbial population to the environmental conditions. It was confirmed that pH plays a key role in substrate solubilisation, metabolites production and product spectrum. The analysis of the evolution of microbial communities was assessed, which allowed to correlate the selection of certain families of bacteria with the performances observed. Furthermore, it was feasible to carry out acidogenic fermentation with the unique use of the indigenous microbial consortium and the addition of an external inoculum did not contribute to improve the performances. On the other hand, reusing the microbial communities, acclimated to the operating conditions through the sequential batches, was decisive for increasing the production of metabolites. These conclusions were also compared to results of supplementary experiments obtained at high total solids content.

The total solids content has a considerable influence on the fermentation reactions. However, its sole consideration is insufficient because the solid waste bed constitutes a complex multiphase porous medium in which the distribution of water and transfer processes are also essential. Thus, the second part of this work aimed at characterising the physical and hydrodynamic features of the waste bed in a LBR under abiotic conditions. For this, reconstituted HSW as well as real HSW were used. By performing several percolation and drainage cycles, before and after compaction of the waste beds, their physical structure and the distribution of water in their compartments were determined. The application of a classical dual porosity model to represent these cycles helped to demonstrate the existence of a static water fraction in the macroporosity. An improved dual porosity model was proposed to reproduce more

adequately the water flow dynamics in the waste bed. Water transfer coefficients between the compartments were then estimated using this new model.

The multidisciplinary work carried out in this thesis, focused on two complementary aspects of acidogenic fermentation in a LBR and also brought new perspectives. For instance, the recirculation strategy, the pH control within this complex medium as well as the validation on real waste are all topics to further study in order to implement the optimal and reproducible production of platform molecules by this process, in accordance with the subsequent targeted uses.

Keywords: anaerobic acidogenic fermentation, household solid waste, VFA platform, leach-bed reactor, dual-porosity model.

Productions scientifiques

Publications dans des revues internationales avec comité de lecture

Digan, L., P. Horgue, G. Debenest, S. Dubos, S. Pommier, E. Paul, C. Dumas. 2019. 'An improved hydrodynamic model for percolation and drainage dynamics for household and agricultural waste beds'. *Waste Management* 98 (October) : 69-80. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.027>. (Présentée dans la Troisième Partie, Chapitre 3).

Digan, L., C. Petrognani, E. Mengelle, S. Dubos, M. Bounouba, C. Pagès, R. Escudié, E. Trably, E. Paul, C. Dumas. Influence of the nature of inoculum on batch acidogenic fermentation of household solid wastes: study at different pHs (A soumettre. Présentée dans la Troisième Partie, Chapitre 1).

Digan, L., C. Petrognani, E. Mengelle, S. Dubos, M. Bounouba, C. Pagès, R. Escudié, E. Trably, E. Paul, C. Dumas. Does the nature of inoculum have the same effect on batch acidogenic fermentation of household solid wastes whatever the total solids content ? (A soumettre. Présentée dans la Troisième Partie, Chapitre 2).

Communications orales internationales

Digan, L., P. Horgue, S. Pommier, E. Paul, C. Dumas. 2016. 'Hydraulic and chemical characterization of household wastes leach bed reactor for VFA production'. 6th International Symposium on Energy from Biomass and Waste (Venice 2016), 14 – 16 Novembre 2016, Venise (Italie). (Présentation par L. Digan).

Digan, L., S. Dubos, E. Mengelle, E. Paul, C. Pagès, E. Trably, H. Roux de Balmann, C. Dumas. 2018. 'Acidogenic batch fermentation of household solid waste : bacterial enrichment at controlled pH'. 7th International Conference on Engineering for Waste and Biomass Valorisation (WasteEng 18), 2 – 5 Juillet 2018, Prague (République Tchèque). (Présentation par E. Paul).

Communications sur poster

Digan, L., E. Paul, H. Roux de Balmann, C. Dumas. 2017. 'Process coupling fermentation and extraction for the valorization of urban residues into organic chemical building blocks'. 16^{ème} Congrès de la Société Française de Génie des Procédés (SFGP 2017), 11 – 13 Juillet 2017, Nancy (France).

Digan, L., S. Dubos, E. Mengelle, P. Horgue, G. Debenest, E. Paul, C. Dumas. 2018. 'Solid wastes fermentation to platform molecules in leach-bed reactors: comprehension and modelling of physical processes'. 6th International Congress on Green Process Engineering (GPE 2018), 3 – 6 Juin 2018, Toulouse (France).

Digan, L., S. Dubos, E. Mengelle, E. Paul, C. Pagès, E. Trably, C. Dumas. 'Acidogenic batch fermentation of household solid waste: bacterial enrichment at controlled pH'. 16th IWA World Conference on Anaerobic Digestion (AD16), 23 – 27 Juin 2019, Delft (Pays-Bas).

Nomenclature

3BCAR : Bioénergies, Biomolécules, matériaux Biosourcés du Carbone renouvelable

3Rs : « Reduce, Reuse, Recycle »

4Rs : « Reduce, Reuse, Recycle, Recover »

A : Section de la colonne de percolation

ABE : Fermentation acétone-éthanol-butanol

ADEME : Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie

ADM1: Anaerobic Digestion Model n°1

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ADP Adénosine Diphosphate

AET : fermentation acétate-éthanol

AGLC : Acides Gras Longues Chaînes

AGV : Acides Gras Volatils

aHSW-1, 2 : OMR reconstituées ou artificielles 1, 2

ANOVA: ANalysis Of VAriance

ATP : Adénosine Triphosphate

a_w : Activité de l'eau / Water activity

B1, B2, B3 : Batches 1, 2, 3

BES : Sodium 2-bromethanesulfonate

BMP : Potentiel méthanogène / Biological Methane Potential,

BTF : Fermentation butyrate

$C_{Alim(i)}$: Concentration en soluté i dans l'alimentation

Cat. : Catégorie

C_i : Concentration de l'espèce chimique i

CL : Niveau de compaction / Compaction level

CM : Fumier bovin/ Cow manure

CNTP : Conditions Normales de Température et de Pression

CoA : Coenzyme A

COD : Chemical Oxygen Demand

COT : Carbone Organique Total

CSTR : Completely Stirred Tank Reactor

$C_{th,C(i)}$; $C_{th,D(i)}$: plateaux de concentration théoriques du soluté i lors des phases de chargement (C) et de déchargement (D) en soluté

DCO : Demande Chimique en Oxygène

DCOs : Demande Chimique en Oxygène soluble

DMA : Déchets Ménagers et Assimilés

ELA : Emballages Liquides Alimentaires

Fd_{ox} , Fd_{red} : Ferrédoxine oxydée, réduite / Oxidized, reduced form of ferredoxin

FF-aHSW-2 : fraction fermentescible des OMR reconstituées aHSW-2

FFHSW : Fermentable Fraction of residual Household Solid Wastes

FFOMR : Fraction Fermentescible des Ordures Ménagères Résiduelles

FID : Détecteur à ionisation de flamme/ Flame ionisation detector

FP, FPH₂ : Flavoprotéines oxydées et réduites

G : phase gaz

g : Accélération de pesanteur

GC : Chromatographie en phase gazeuse / Gas Chromatography

HB : HydroxyButyrate
HPLC : Chromatographie liquide à haute performance / High Performance Liquid Chromatography
HSW : Household Solid Waste
HV : Hydroxyvalérate

I : inhibiteur, concentration en inhibiteur
IMFT : Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse
IN : réacteurs « références » n'ayant pas reçu initialement d'inoculum extérieur
IN+EXT : réacteurs inoculés initialement avec un inoculum extérieur
INSA : Institut National des Sciences Appliquées

K : Perméabilité intrinsèque ou absolue
 k_d : Constante de décès cellulaire d'ordre 1
 K_h : Constante de vitesse d'hydrolyse
 k_h : Constante de vitesse d'hydrolyse spécifique
 K_i : Constante d'inhibition pour l'inhibiteur I
 K_i : Perméabilité ou conductivité hydraulique apparente de la phase i
 K_M : Conductivité hydraulique intrinsèque ou absolue (telle que définie dans le modèle à double porosité amélioré)
 $k_{r,L}$: Perméabilité ou conductivité hydraulique relative
 K_s : Constante de saturation pour le substrat S
 K_x : Constante de saturation pour la biomasse microbienne

L : Phase liquide
L/S : Ratio liquide-solide
LBE : Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement
LBR : Réacteur à lit percolant / Leach Bed Reactor
LGC : Laboratoire de Génie Chimique
LISBP : Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés
LTECV : Loi relative à la Transition Energétique pour la Croissance Verte
LTF : Fermentation lactate

Macro : Macropores, macroporosité
MAF : Fermentation acides mixtes
 m_B : Masse de déchet brut
MB : Matière Brute
micro : Micropores, microporosité
MM : (Teneur en) Matières Minérales
MODECOM : Campagne nationale de caractérisation des déchets ménagers et assimilés
MS : (Teneur en) Matières Sèches
 m_s : Masse de déchet sec
MSW : Municipal Solid Waste
MV : (Teneur en) Matières Volatiles

NAD⁺, NADH, NADH₂ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide sous formes oxydée et réduites
NC: Non Contrôlé (pH)
N-NH₄ : Azote ammoniacal
N-orga : Azote organique
NT/TN : Azote Total/Total Nitrogen
NTK/TKN : Azote Total Kjeldahl/Total Kjeldahl Nitrogen

OFMSW : Organic Fraction of Municipal Solid Waste
OHPA : Obligate Hydrogen Producing Acetogenic bacteria / Bactéries acétogènes productrices obligées d'hydrogène
OM : Ordures Ménagères
OMR : Ordures Ménagères Résiduelles

p : Coefficient de Brooks et Corey ; Probabilité de l'ANOVA
p_c : Pression capillaire
p_{CO₂} : Pression partielle en CO₂
PE : PolyEthylène
PET : PolyEthylène Téréphtalate
p_{H₂} : Pression partielle en H₂
PHA : PolyHydroxyAlcanoate, PolyHydroxyAlkanoate
p_i : Pression de la phase i
PID : Proportional-Integral-Derivative
PLA : Acide polylactique/ PolyLactic Acid
PLS-DA : Partial Least Square-Discriminant Analysis
PP : PolyPropylène
PTF : Fermentation propionate
PVC : Polychlorure de vinyle / PolyVinyl Chloride

q_i : Terme source pour la phase i
Q_L : Débit d'eau appliqué
q_{Macro,res} : Terme d'échange d'eau entre macroporosité mobile et macroporosité réservoir
q_{micro} : Terme d'échange d'eau entre macroporosité mobile et microporosité

R_d : Rétention dynamique
RECOVER : pRocEss COupling fermentation and separation for solid WastE valoRization
rHSW-1 : OMR réelles 1
RM : Raw Matter
R_s : Rétention statique
r_s : vitesse d'hydrolyse du substrat S

S : Substrat, concentration ou quantité de substrat (en biologie)
S/X : Ratio substrat-inoculum
S₀ : Concentration ou quantité initiale de substrat
S₀/X₀ : Ratio substrat-inoculum initial, initial substrate to inoculum ratio
SBR : Sequential Batch Reactor
sCOD : Soluble Chemical Oxygen Demand
S_i : Saturation des pores par la phase i
S_{Macro} : Saturation de la macroporosité, ou de la macroporosité mobile
S_{Macro,res} : Saturation de la macroporosité réservoir
S_{micro} : Saturation de la microporosité
S_{surf} : Aire de la matière organique solide

t : Temps
T₀ : Temps initial
T₁, T₂, T₃ : temps finaux des batches 1, 2, 3
TCD : Détecteur à conductivité thermique / Thermal Conductivity Detector
THERMOMIC : Projet de modélisation thermodynamique des croissances et des dynamiques microbiennes
TS : Total Solids (content)
TVFA(s) : Totals Volatile Fatty Acids

UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket
U_i : Vitesse superficielle de la phase i
U_{water} : Vitesse de l'eau mobile

V : Volume de milieu réactionnel, volume of the reactor medium
V_{Alim} : Volume initial de liquide dans le bac d'alimentation
VFA(s) : Volatile Fatty Acid(s)
V_{pores} : Volume de pores (remplis d'eau ou d'air)
V_S : Volume de solide sec / Dry solids volume

VS : Volatile Solids (content)

V_{total} : Volume total du massif, du déchet brut (pores vides, solide et eau)

W : Teneur en eau

W_C : Teneur en eau critique

WS : Paille de blé / Wheat Straw

X : Biomasse microbienne, concentration ou quantité de biomasse microbienne

X_0 : Concentration ou quantité initiale de biomasse microbienne

Y_m : Rendement en métabolites / Metabolite yield

$Y_{X/S}$: Rendement de croissance de la biomasse microbienne sur le substrat S

α_{micro} : Coefficient d'échange d'eau entre macroporosité mobile et microporosité

$\alpha_{res,charge}$: Coefficient d'échange d'eau entre macroporosité mobile et macroporosité réservoir, en charge (remplissage)

$\alpha_{res,discharge}$: Coefficient d'échange d'eau entre macroporosité mobile et macroporosité réservoir, en décharge (vidange)

Δt : Intervalle de temps

ϵ : Porosité totale du massif

ϵ_{Macro} : Fraction volumique de la macroporosité mobile

$\epsilon_{Macro,res}$: Fraction volumique de la macroporosité réservoir

ϵ_{micro} : Fraction volumique de la microporosité

μ_i : Viscosité dynamique de la phase i

μ_{max} : Taux spécifique de croissance maximal

v_{max} : Vitesse maximale d'hydrolyse

ρ : Densité de la matière organique solide

ρ_B : Masse volumique ou densité du déchet brut

ρ_i : Masse volumique ou densité de la phase i

ρ_S : Masse volumique ou densité du déchet sec

ρ_{SP} : Masse volumique ou densité des particules de solide sec / Dry solids particle density

ϕ : Rayon adimensionnel de particule (rayon de la particule à l'instant t rapporté à son rayon initial).

ϕ_{Macro} : Fraction volumique de la macroporosité totale

ϕ_{micro} : Fraction volumique de la microporosité

ϕ_S : Fraction volumique du solide sec

Sommaire

Résumé	iii
Abstract	v
Productions scientifiques	vii
Nomenclature	ix
Liste des tableaux	xix
Liste des figures	xxi
Introduction générale.....	1
Première partie : Étude bibliographique.....	9
1. Les déchets ménagers et les ordures ménagères résiduelles en France	11
1.1. Définitions préliminaires	11
1.2. Composition	12
1.3. Traitement et valorisation des OMR	16
1.3.1. Etat actuel du traitement.....	16
1.3.2. La plateforme AGV : une autre voie de valorisation des OMR ?	18
1.4. Conclusions	21
2. La fermentation acidogène en culture mixte	22
2.1. Généralités	22
2.2. Processus biologiques impliqués	23
2.2.1. Hydrolyse.....	23
2.3. Acidogenèse	25
2.3.2. Acétogenèse.....	28
2.3.3. Méthanogenèse.....	30
2.3.4. Autres réactions en conditions anaérobies	30
2.4. Aspects cinétiques.....	31
2.5. Conclusions	33
3. Procédés de digestion de la matière	34
3.1. Caractéristiques des procédés de digestion anaérobie	34
3.1.1. Voie solide, voie humide.....	34

3.1.2. Procédés continus, discontinus, semi-continus, séquentiels	37
3.1.3. Procédés mésophiles, thermophiles	37
3.1.4. Procédés agités et statiques	38
3.1.5. Procédés en une ou plusieurs étapes	39
3.2. Procédés pour la fermentation acidogène des ordures ménagères résiduelles	40
3.2.1. Procédés existants	40
3.2.2. Réacteur à lit percolant pour la fermentation acidogène en voie sèche	41
3.3. Conclusions	43
4. Paramètres influençant les processus biologiques et chimiques de production d'AGV	43
4.1. Qualité du substrat	43
4.2. Inoculation : origine et prétraitement de l'inoculum, taux d'inoculation	46
4.3. pH et concentration en AGV	47
4.4. Température	49
4.5. Pression partielle en dihydrogène	51
4.6. Conclusions	51
5. Caractéristiques physiques, hydrostatiques et hydrodynamiques en réacteur à lit percolant.....	52
5.1. Description d'un massif de déchets dans un réacteur à lit percolant : milieu poreux	52
5.1.1. Théorie des écoulements multiphasiques en milieux poreux.....	53
5.1.2. Modèle à double porosité : description générale.....	54
5.2. Caractéristiques physiques du massif de déchets et méthodes de mesure	56
5.2.1. Les masses volumiques et densités.....	56
5.2.2. La porosité.....	57
5.2.3. La granulométrie.....	57
5.2.4. La compressibilité	57
5.3. Caractéristiques hydrostatiques et hydrodynamiques du massif de déchets	58
5.3.1. La teneur en eau, la distribution de l'eau, la capacité au champ	58
5.3.2. La perméabilité et la conductivité hydraulique	59
5.4. Conclusions	60
6. Mise en œuvre de la fermentation acidogène en réacteur à lit percolant.....	60
6.1. Immersion et/ou percolation	60

6.2. Volume, fréquence, mode de recirculation.....	61
6.3. Dilution et remplacement du lixiviat.....	64
6.4. Contrôle du pH.....	64
6.5. Conclusions	65
7. Bilan, objectifs et réalisation.....	66
Deuxième partie : Matériels et méthodes	71
1. Reconstitution d'ordures ménagères résiduelles et comparaison à une OMR réelle	73
1.1. Reconstitution des OMR.....	73
1.1.1. Première reconstitution d'OMR	73
1.1.2. Deuxième reconstitution d'OMR.....	74
1.2. OMR réelle.....	78
1.3. Caractérisation chimique	78
1.3.1. Caractérisation directe.....	78
1.3.2. Tests de lixiviations	80
1.3.3. Tests de mesure du potentiel méthanogène	81
2. Etude des processus biologiques et chimiques durant la fermentation acidogène	82
2.1. Substrat et inoculum	82
2.1.1. Substrat	82
2.1.2. Inoculum	84
2.2. Fermentations en série à faible teneur en matières sèches à pH contrôlé et non contrôlé	84
2.2.1. Dispositif expérimental	84
2.2.2. Mise en œuvre et suivi	86
2.2.3. Méthodes d'analyses chimiques et microbiologiques	87
2.3. Fermentations en série à forte teneur en matières sèches à pH non contrôlé	89
2.3.1. Dispositif expérimental	89
2.3.2. Mise en œuvre et suivi	89
2.3.3. Méthodes analytiques et microbiologiques	91
3. Etude de l'hydrodynamique en réacteur à lit percolant.....	92
3.1. Substrats.....	92
3.2. Essais de percolation et drainage en circuit ouvert.....	92

3.2.1. Dispositif expérimental	92
3.2.2. Mise en œuvre	94
3.2.3. Suivi	96
3.2.4. Exploitation des données	96
3.3. Transfert de soluté en circuit fermé	98
3.3.1. Conditions de réalisation de l'expérience	98
3.3.2. Dispositif expérimental	99
3.3.3. Mise en œuvre	99
3.3.4. Suivi et méthodes analytiques	100
3.3.5. Exploitation des données	101
Troisième partie : Résultats et discussions	103
Chapitre 1 : Étude à différents pHs de l'influence de la nature de l'inoculum sur la fermentation acidogène de la fraction fermentescible des OMR.....	105
1. Avant-propos du Chapitre 1	107
2. Influence of the nature of inoculum on batch acidogenic fermentation of household solid wastes: study at different pHs	107
2.1. Introduction	107
2.2. Materials and methods	109
2.2.1. Summary of the protocol	109
2.2.2. Calculations and statistical analyses	110
2.3. Results	112
2.3.1. Substrate degradation and metabolites yield	112
2.3.2. Metabolites distribution	113
2.3.3. Microbial populations	116
2.4. Discussion	119
2.4.1. Fermentation performances related to pH and to microbial communities	119
2.4.2. Addition of an external inoculum and acclimation of microbial communities ..	124
2.4.3. Industrial interest and perspectives	125
2.5. Supplementary material	126
3. Conclusion du Chapitre 1	128

Chapitre 2 : Étude à différentes teneurs en solides de l'influence de la nature de l'inoculum sur la fermentation acidogène de la fraction fermentescible des OMR..... 129

1. Avant-propos du Chapitre 2	131
2. Does the nature of inoculum have the same effect on batch acidogenic fermentation of household solid wastes whatever the total solids contents?.....	131
2.1. Introduction	131
2.2. Materials and methods	135
2.2.1. Summary of the protocol implemented.....	135
2.2.2. Calculations and data analysis	136
2.3. Results	137
2.3.1. pH values and metabolites yields	137
2.3.2. Productivity of VFAs	139
2.3.3. Distribution of metabolites	140
2.3.4. Microbial communities structure	142
2.4. Discussion	144
2.4.1. Does the total solids content modify the effect of the inoculation?	144
2.4.2. Effect of the total solids content on fermentation performances	145
2.5. Conclusions and perspectives	151
2.6. Supplementary material.....	152
3. Conclusion du Chapitre 2	153

Chapitre 3 : Compréhension des processus hydrodynamiques en réacteur à lit percolant 155

1. Avant-propos du Chapitre 3	157
2. An improved hydrodynamic model for percolation and drainage dynamics for household and agricultural waste beds.....	157
2.1. Graphical abstract.....	158
2.2. Highlights	159
2.3. Introduction	159
2.4. Summary of the experimental materials and methods	161
2.5. Results and discussion.....	163
2.5.1. HSW leach beds structure.....	163
2.5.2. Leach-bed behaviour towards water	165

2.5.3. Modelling water behaviour in waste leach-beds.....	168
2.5.4. Perspectives of application.....	178
2.6. Conclusions	179
2.7. Supplementary material.....	179
3. Complément sur le transfert de soluté au sein d'un lit de déchets	182
4. Conclusion du Chapitre 3.....	185
Conclusion générale	187
1. Contexte et bibliographie.....	189
2. Mise en œuvre et principaux résultats	191
3. Perspectives	197
Références bibliographiques	201

Liste des tableaux

Tableau 1. Bilan de la collecte des déchets ménagers par le service public en 2007. Les masses représentent des poids humides (adapté de ADEME et al., 2010).....	12
Tableau 2. Composition complète des OMR sans et avec ventilation des éléments fins (ADEME et al. 2010). Les pourcentages sont donnés en poids humide.	14
Tableau 3. Caractéristiques chimiques des OMR françaises déterminées lors des campagnes de 1993 et de 2007 (ADEME et al. 2010).	16
Tableau 4. Traitement des Ordures Ménagères Résiduelles en France en 2013 (ADEME 2017).	18
Tableau 5. Estimations des prix de ventes et des tailles de marchés pour les composés intermédiaires de la digestion anaérobie (Bastidas-Oyanedel et al. 2015).	20
Tableau 6. Exemples de bactéries hydrolytiques de la digestion anaérobie en conditions mésophiles (Moletta 2008).	24
Tableau 7. Exemples de réactions métaboliques de l'acidogenèse du glucose (Zhou et al. 2018; Motte et al. 2013; Batstone et al. 2002a).	26
Tableau 8. Exemples de bactéries acidogènes selon les produits formés (Li, Park, and Zhu 2011)...	28
Tableau 9. Exemples de réactions métaboliques d'acétogenèse (Thauer, Jungermann, and Decker 1977; Batstone et al. 2002a; Moletta 2008; Carlei 2013).....	29
Tableau 10. Exemples de genres de bactéries acétogènes (Moletta 2008).	30
Tableau 11. Quelques réactions de la méthanogenèse (Moletta 2008).....	30
Tableau 12. Exemples de modèles cinétiques pour l'hydrolyse (tiré de He et al. (2007)).	31
Tableau 13. Exemples de constantes d'hydrolyse de 1 ^{er} ordre pour plusieurs types de substrats (tirés de Vavilin et al. (2008)).....	32
Tableau 14. Gammes de valeurs des paramètres de cinétique microbienne pour les étapes d'acidogenèse, d'acétogenèse et de méthanogenèse en conditions mésophiles (Garcia-Heras 2003).	33
Tableau 15. Sensibilité des micro-organismes impliqués dans la digestion anaérobie (adapté de Moletta 2008).	40
Tableau 16. Exemples de procédés à une ou deux étapes étudiés dans la littérature.....	40
Tableau 17. Caractéristiques de 5 échantillons de déchets municipaux solides (données issues de Buffiere et al. (2008)).....	43
Tableau 18. Conditions de percolation en LBR : quelques exemples d'études.	63
Tableau 19. Composition finale des OMR reconstituées (aHSW-2).	76
Tableau 20. Conditions initiales de réalisation des lixiviations.	81
Tableau 21. Composition du substrat FF-aHSW-2.....	83
Tableau 22. Résumé de la méthodologie utilisée pour les essais de percolation-drainage.	94
Tableau 23. Fréquence des prélèvements lors de l'essai de transfert de solutés.	101
Tableau 24. Total and volatile solids contents of the artificial FFHSW used as substrate in the fermentation at pH 4.5, 5.5 and 6.5.....	110

Tableau 25. Fermentation yields obtained in different studies. The authors worked in batch mode in mesophilic conditions (30 to 37°C). pH was controlled during the whole process except from the study of Paillet (2017).....	121
Tableau 26. Biological COD solubilisation, reported to total substrate COD, to total biodegradable COD and to biodegradable substrate COD measured at end of batch time.....	122
Tableau 27. Studies on the effect of the TS content on soluble metabolites production in literature. The yields were calculated from provided data.....	134
Tableau 28. Total and volatile solids contents of the artificial FFHSW used as substrate in the fermentation at TS 5%, 15% and 20%.....	135
Tableau 29. Lag phase duration (days), exponential phase and overall VFA productivities (mgCOD/gCODsubstrate/day) for IN and IN+EXT conditions.....	140
Tableau 30. Parameters calculated with the proposed model for HSW.....	173
Tableau 31. Parameters calculated with the proposed model for CM and WS.....	178
Tableau 32. Bilans matières sur l'acétate et le sodium lors de l'expérience de recirculation. L'erreur relative est calculée par rapport à la concentration théorique calculée.....	184
Tableau S1. Characteristics of the solid waste beds at compaction level 0.....	179
Tableau S2. Structure of the waste beds at compaction level 0.....	180
Tableau S3. Volumes of macropores transformed into micropores during the compaction step (CL2).	180

Liste des figures

Figure 1. Prévisions de production de déchets solides pour 2030 et 2050 par région du monde, en millions de tonnes par an (a) et en kilogramme par habitant et par jour (b) (Kaza et al. 2018)....	4
Figure 2. Hiérarchie de la gestion des déchets (Hoorweg and Bhada-Tata 2012).	5
Figure 3. Les ordures ménagères résiduelles au sein des déchets municipaux (adapté de ADEME et al. (2010) et Andrieu et al. (2012)).	11
Figure 4. Évolution du traitement des déchets municipaux en France de 2000 à 2016. Les données de l'année 2016 sont provisoires (p) (ADEME 2019).....	17
Figure 5. La plateforme AGV étendue : de nombreux procédés pour la conversion des AGV (adapté de Kim, Lim, et Chang (2018)).	21
Figure 6. Les étapes de la digestion anaérobie (adapté de Gujer et Zehnder (1983); Pavlostathis et Giraldo-Gomez (1991); Batstone et al. (2002a)).....	23
Figure 7. Voies métaboliques de la fermentation acidogène à partir du glucose (Zhou et al. 2018). Les fermentations sont de type acétate-éthanol (AET), acétone-éthanol-butanol (ABE), propionate (PTF), butyrate (BTF), acides mixtes (MAF) ou lactate (LTF).	25
Figure 8. Exemple de réaction de Stickland entre l'alanine et la glycine (Batstone et al. 2002a).....	27
Figure 9. Définition des bornes de la digestion anaérobie en voie sèche (adapté de Motte, 2013). ...	34
Figure 10. Technologies de digesteurs en voie sèche développées par Dranco (A), Kompogas (B) et Valorga (C) (Bolzonella et al. 2006).	36
Figure 11. Schéma de principe de la technologie Bekon (BEKON 2016).	36
Figure 12. Influence de la température sur la durée de fermentation (Deublein and Steinhauser 2009).	38
Figure 13. Schéma d'un réacteur à lit percolant ou Leach Bed Reactor (LBR) (adapté de Lissens et al. 2001).	42
Figure 14. Evolution du rendement de production d'AGV (a) et de la répartition des AGV (b) à partir de protéine de soja et amidon de maïs, en fonction du ratio C/N initial (X. Liu et al. 2008).	45
Figure 15. Influence du pH sur les rendements des produits majoritaires (a) et minoritaires (b) lors de la fermentation de glucose (Temudo, Kleerebezem, and van Loosdrecht 2007).	48
Figure 16. Effet de la température sur la solubilisation de DCO et la production d'AGV (données de Jiang et al. (2013)).	50
Figure 17. Evolution des énergies libres standards des réactions de transformation de l'hydrogène et de consommation de l'acide acétique en fonction des pressions partielles en hydrogène. Données pour : 25 mM d'acide acétique, 10 mM d'éthanol et d'acide propionique, butyrique et lactique, 5 mM de sulfates, 20 mM de bicarbonate et 0.7 atm de pression partielle en méthane (Motte 2013).	51
Figure 18. Représentation schématique d'un milieu à double porosité.....	55
Figure 19. Représentation d'une isotherme de sorption typique de substrats alimentaires ou biologiques (type II) (García-Bernet et al. 2011).	59
Figure 20. Représentation d'une courbe de séchage (García-Bernet et al. 2011).	59

Figure 21. Thématiques d'étude ciblées dans la thèse.	68
Figure 22. Première reconstitution d'OMR (aHSW-1) avec des billes de polystyrène.	74
Figure 23. Deuxième reconstitution d'OMR (aHSW-2) sans billes de polystyrène.	75
Figure 24. Ordures Ménagères Résiduelles réelles (rHSW-1).	78
Figure 25. Dispositif d'agitation à retournement pour les tests de lixiviation.	80
Figure 26. Préparation du substrat FF-aHSW-2. A : Éléments de la catégorie "Déchets putrescibles" mélangés ; B : Déchets putrescibles mélangés avec de l'eau du robinet ; C : FF-aHSW-2 finale avec les papiers et cartons.	83
Figure 27. A : Schéma d'un réacteur équipé pour les expériences à faible teneur en matières sèches. En l'absence de contrôle de pH, la pompe péristaltique est à l'arrêt. B : Photo d'un réacteur vu de face. C : Photo d'un réacteur vu de dessus.	85
Figure 28. Déroulement des expériences de fermentations en série à faible teneur en solides.	86
Figure 29. Déroulement des expériences de fermentation en série à forte teneur en solide.	90
Figure 30. A : Schéma du dispositif expérimental de caractérisation hydrodynamique. B : Photo du dispositif expérimental de percolation et drainage. C : Disposition des aiguilles dans le système d'injection.	93
Figure 31. Courbe de l'eau injectée retenue dans le massif au cours d'un cycle de percolation-drainage à débit constant.	97
Figure 32. Dispositif expérimental de transfert de solutés.	100
Figure 33. Soluble and gas COD production yields at the end of the batches (B1, B2, B3) for reference (IN) and inoculated (IN+EXT) reactors. Soluble COD is divided into soluble metabolites and other unattributed COD.	113
Figure 34. Metabolites distribution at each pH, based on their concentrations reported to soluble COD concentration (in gCOD.L ⁻¹) at the end of the batches (B1, B2, B3) for reference (IN) and inoculated (IN+EXT) reactors.	115
Figure 35. Bacterial communities at family rank in IN and IN+EXT reactors (duplicates 1 and 2) at initial time (T0) and at the end of B1 (T1), B2 (T2) and B3 (T3) at each pH. Only families with relative abundance superior to 5% were taken into account.	117
Figure 36. PLS-DA of reactors at pH 4.5, 5.5 and 6.5 at initial time (T0) and at the end of B1 (T1), B2 (T2) and B3 (T3), based on bacterial communities at family rank. Only families with relative abundance superior to 5% were taken into account.	118
Figure 37. Definition of the phases for productivity calculation.	137
Figure 38. Final metabolites yields and initial and final pH values for each batch (B1, B2 and B3) and TS condition. In the metabolites yields, the category "Others" includes all metabolites which are not VFAs.	138
Figure 39. Metabolites distribution at the end of the batches (B1, B2 and B3) at each TS condition for IN and IN+EXT cases. The fraction of each product was calculated with respect to the total metabolites concentration (in gCOD/L). Metabolites with a COD fraction below 3% were gathered in the category "Others".	141

Figure 40. Evolution of the microbial communities during the experiment in the IN and IN+EXT conditions. The relative abundances were calculated after each batch (B1, B2 and B3) at family rank. Families with relative abundance lower than 5% were gathered in the “Others” category.	143
Figure 41. Soluble metabolites production observed in literature and in the present study. The yields were calculated from the data provided by authors.	147
Figure 42. PLS-DA of IN and IN+EXT reactors (duplicates 1 and 2) at the end of each batch (T1, T2, T3) at 5, 15 and 20%TS, based on the bacterial communities at family rank and on the main metabolites produced. Only families with relative abundance superior to 5% were taken into account.	150
Figure 43. Graphical abstract of the article entitled: “An improved hydrodynamic model for percolation and drainage dynamics for household and agricultural waste beds”.....	158
Figure 44. Distribution of the different volumetric fractions in the waste beds at initial state (CL 0), after the first (CL 1) and second (CL 2) percolation– drainage series. The values in percentage are the volume fractions of each element (ratio of volume of the element and volume of the bed).	164
Figure 45. Typical evolution of total water content over a percolation-drainage series. Total water is decomposed in static water and dynamic water.	166
Figure 46. Evolution of microsaturation as a function of the cumulated contact time during percolation series for the CL 1 (A) and CL 2 (B) configurations.	167
Figure 47. Hydraulic conductivity K_L represented as a function of macropores saturation during percolation series for CL 1 (A) and CL 2 (B) configurations.	168
Figure 48. An example of dynamic water modelling with classical porous medium model.....	169
Figure 49. Experimental drainage curves for rHSW-CL 1. Initial time corresponds to the moment when injection is stopped.....	172
Figure 50. Decomposition of dynamic water into mobile and reservoir waters. The decomposition is shown for the rHSW-CL1 case.....	173
Figure 51. Measured and simulated evolution of dynamic water content over time during percolation-drainage series for rHSW and aHSW. Dynamic water is plotted for all the different percolation flow rates.	175
Figure 52. Comparison of the simplified and improved models prediction errors for the aHSW-CL1 case.	176
Figure 53. Measured and simulated evolution of dynamic water content over time during percolation-drainage series for CM and WS. Dynamic water is plotted for all the different percolation flow rates.....	177
Figure 54. Évolution de la concentration en Acétate (A) et de la concentration en Sodium (B) en fonction du temps lors de l’expérience de recirculation en circuit fermé. Les symboles « losanges » correspondent à la phase de recirculation de traceur (chargement, C), les symboles « ronds » correspondent à la phase de recirculation d’eau distillée (déchargement, D). Les lignes continues représentent les plateaux théoriques calculés pour les phases de chargement et de déchargement.	183

Figure 55. Récapitulatif des résultats d'étude des performances de la fermentation acidogène.....	194
Figure 56. Schéma du dispositif expérimental d'étude de la fermentation acidogène en LBR.....	197
Figure S1. Initial metabolites production rates calculated at 0.2 day (smoothed data).....	126
Figure S2. Maximum metabolites production rates observed during batches (smoothed data).	127
Figure S3. Microbial communities of the pre-treated external inoculum. The relative abundances were calculated at the Family rank and Families with relative abundance under 5% are gathered in the "Others" category.	127
Figure S4. Evolution of the VFA concentrations over time during the successive batches.	152
Figure S5. Distribution of the different fractions in the waste beds at initial state (CL 0), after the first (CL 0*) and second (CL 2) percolation – drainage series. The values in percentage are the volume fractions of each element (ratio of volume of the element and volume of the bed).	181
Figure S6. Evolution of microsaturation as a function of the cumulated contact time, during the first (A) and second (B) percolation series.....	181
Figure S7. Hydraulic conductivity K_L represented as a function of macropores saturation during the first (A) and second (B) percolation series.....	182

Introduction générale

Depuis la fin du XX^{ème} siècle, les questions liées à l'environnement et à la gestion des ressources font partie des préoccupations à l'échelle mondiale. L'un des premiers lancements d'alertes est issu de la publication du rapport intitulé « The Limits to Growth » par le Club de Rome en 1972, expliquant que les ressources dont nous disposons ne sont pas illimitées et que la croissance (économique et démographique) infinie met en péril le monde dans lequel nous vivons, du fait de la surexploitation des systèmes naturels et de la pollution générée (Meadows et al. 1972). Quelques années plus tard, en 1987, la notion de développement durable a fait son apparition dans le rapport Brundtland. Dans ce rapport officiellement intitulé « Our Common Future », le développement durable est défini comme « le développement qui répond aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures à répondre aux leurs ». Ainsi, pour que nos descendants puissent subvenir à leurs besoins comme nos prédécesseurs et nous-même, le concept d'un développement durable allie une utilisation raisonnée des ressources disponibles à une préservation de l'environnement dans lequel nous vivons, de la planète qui nous héberge.

Aujourd'hui, les modèles économiques sont basés sur de grandes quantités de matière et d'énergie peu onéreuses et facilement accessibles, et sont principalement linéaires : extraire, fabriquer, consommer, jeter (The Ellen MacArthur Foundation 2015). Cependant, la pression sur la consommation des ressources, en particulier fossiles, est grandissante. Les scientifiques ont d'ores et déjà alerté sur l'épuisement probable et imminent de ces ressources, particulièrement le pétrole (Bentley 2002; Sorrell et al. 2010). L'un des plus grands défis de ce siècle sera donc de répondre aux besoins de tous en énergie et en matériaux, tout en réduisant la dépendance aux ressources fossiles qui ne cessent de s'amenuiser puisque non renouvelables. A cela s'ajoute l'augmentation de la génération de déchets, fruit de l'urbanisation, du développement économique et de l'augmentation des populations. En effet, les pays et les villes sont de plus en plus peuplés, l'offre de produits et de services progresse continuellement, le commerce et les échanges mondiaux se développent. Il en découle des quantités croissantes de déchets générés qui doivent être gérés, traités, éliminés (Kaza et al. 2018). Aussi, les prévisions montrent que la génération de déchets solides continuera de croître dans les prochaines décennies, et ce, dans toutes les régions du monde (**Figure 1**).

Fort heureusement, on assiste ces dernières années à un regain d'intérêt pour le développement durable, la préservation et la protection de l'environnement à l'échelle mondiale. Cette prise de conscience inclut de nombreux aspects, et en particulier, les questions de gestion et de traitement des déchets sont remises au goût du jour. De plus en plus, l'idée de migrer vers un modèle d'économie circulaire gagne du terrain. Le schéma d'une économie en boucle a été présenté vers la fin des années 1970, mais le terme d'économie circulaire semble avoir été évoqué pour la première fois quelque vingt ans plus tard, en 1989, dans le livre « Economics of Natural Resources and the Environment ». Depuis, le concept d'économie circulaire fait l'objet d'études et de recherches de plus en plus nombreuses (Geissdoerfer et al. 2017). Dans le même sens, il existe aujourd'hui une hiérarchie de la gestion des déchets, largement acceptée et reprise dans le monde, comme le montre la **Figure 2**. Cette hiérarchie, connue comme les 3Rs (« Reduce, Reuse, Recycle »), a été d'abord proposée dans les années 1970 et a évolué vers les 4Rs avec l'ajout du terme « Recover » (Hoornweg and Bhada-Tata 2012). La

hiérarchie proposée inciterait donc à la limitation de la production de déchets à la source (Reduce), puis à la réutilisation en l'état des objets usagés (Reuse), à leur démantèlement pour une seconde vie des matériaux d'origine (Recycle), et enfin à leur transformation pour obtenir de nouveaux composés (Recover). Ce dernier point offre, en matière de valorisation des déchets, une multitude de possibilités que la recherche ne cesse de faire progresser.

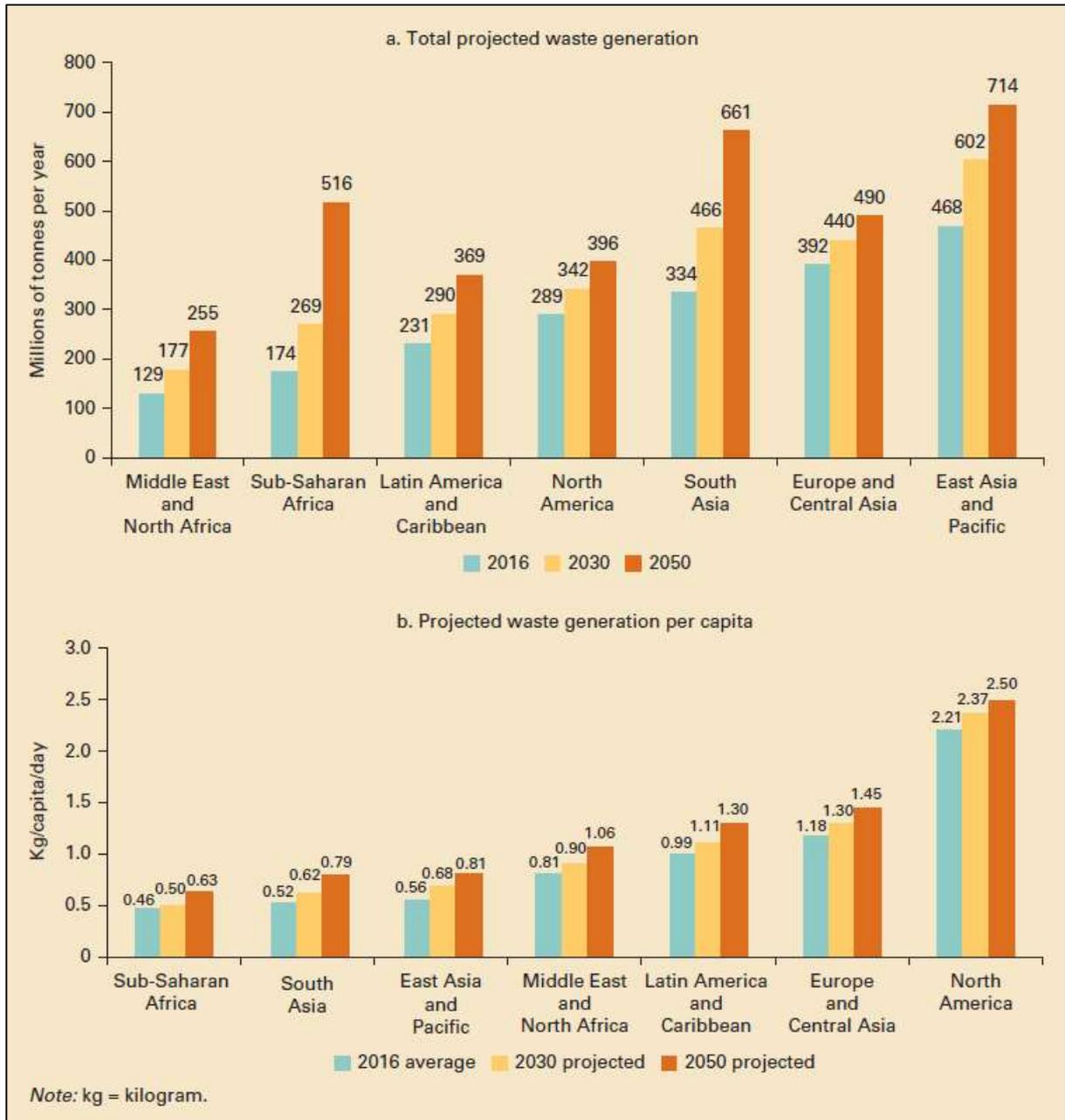


Figure 1. Prévisions de production de déchets solides pour 2030 et 2050 par région du monde, en millions de tonnes par an (a) et en kilogramme par habitant et par jour (b) (Kaza et al. 2018).

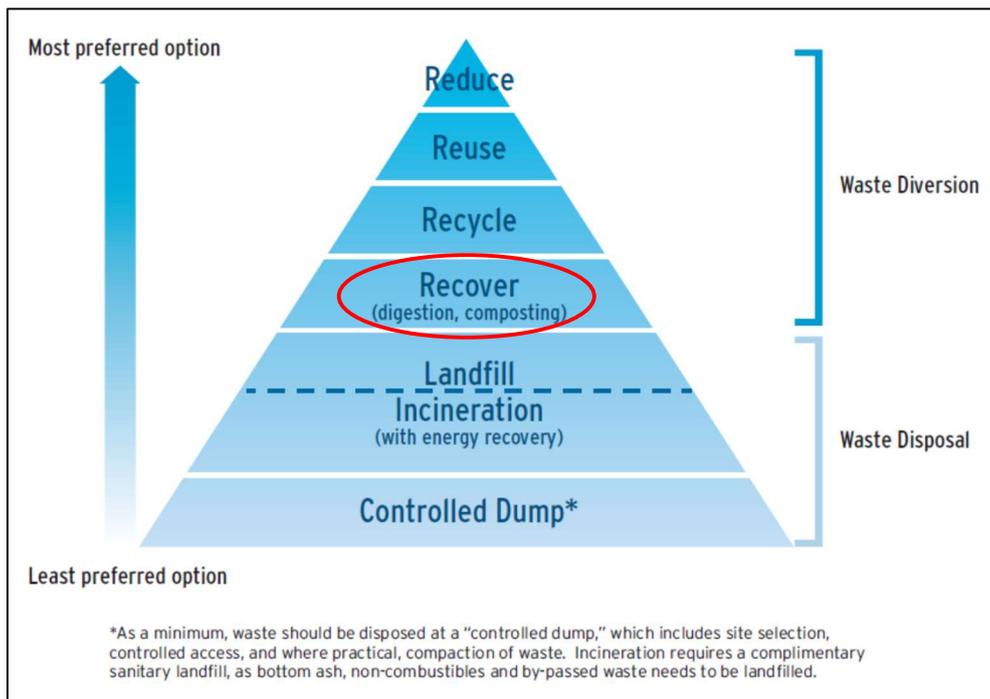


Figure 2. Hiérarchie de la gestion des déchets (Hoornweg and Bhada-Tata 2012).

En France, la Loi relative à la Transition Énergétique pour la Croissance Verte (LTECV) a été adoptée en 2015. Le concept de transition énergétique fait référence à la transformation progressive du modèle de croissance actuel : il s'agit de « préparer l'après pétrole et instaurer un modèle énergétique robuste et durable face aux enjeux d'approvisionnement en énergie, à l'évolution des prix, à l'épuisement des ressources et aux impératifs de la protection de l'environnement » (Ministère de la Transition écologique et solidaire 2016). La loi définit la transition d'une économie linéaire vers une économie circulaire comme un objectif national et comme un pilier du développement durable. En matière de gestion des déchets, la LTECV est totalement basée sur la hiérarchie des 4Rs. Ainsi, elle énonce clairement des objectifs de réduction et de valorisation de déchets ménagers et assimilés (DMA) et ordures ménagères résiduelles (OMR), parmi lesquels :

- Réduction de 10% des quantités de DMA, et stabilisation des quantités de déchets d'activités économiques produits en 2020 par rapport à 2010 ;
- Réduction de 50% de la quantité de déchets mis en décharge à l'horizon 2025 et découplage progressif de la croissance économique et de la consommation matières premières ;
- Augmentation de la valorisation matière des OMR, notamment organique, en orientant vers ces filières de valorisation, respectivement, 55% en 2020 et 65% en 2025 (pourcentages massiques) des déchets non dangereux non inertes ;
- Développement et généralisation du tri à la source des déchets organiques avant 2025, pour que chaque citoyen ait à sa disposition une solution lui permettant de ne pas jeter ses biodéchets dans les OMR, afin que ceux-ci ne soient plus éliminés, mais valorisés.

La valorisation des OMR, qui sont la fraction majoritaire des DMA, constitue donc bien un enjeu majeur à l'échelle nationale. Le compostage et la méthanisation sont des voies de valorisation déjà bien connues, en accord avec la stratégie des 4Rs. Mais la fermentation acidogène est également une solution envisageable : cette voie permet de produire un mélange de composés organiques solubles, plus particulièrement des acides gras volatils (AGV), par l'intermédiaire de cultures mixtes de bactéries, en conditions anaérobies. La production d'AGV présente un avantage économique par rapport au méthane. En effet, les AGV constituent des molécules « plateformes » en ce sens qu'il s'agit d'intermédiaires de la chimie qui peuvent être transformés via des procédés bio-, electro-, thermochimiques, avec *in fine*, une large gamme d'applications possibles comme la fabrication de solvants, carburants et polymères (Aglar et al. 2011; Tamis et al. 2015). Cette approche de bioraffinerie permet donc la production de composés et matériaux biosourcés, et s'inscrit parfaitement dans le contexte d'une économie circulaire.

Comme pour tous les procédés, il est toutefois nécessaire que la mise en œuvre de la fermentation acidogène soit rentable. Cela passe par la maximisation de la productivité et des rendements de productions, et par le contrôle du spectre de produits obtenus, qui sont fortement dépendants des conditions opératoires. Aussi, l'optimisation du procédé de production d'AGV passe par l'étude de l'influence des paramètres de procédé sur la fermentation acidogène et la compréhension des mécanismes associés. Ce dernier point constitue l'objectif de cette thèse et le présent manuscrit retranscrit les travaux menés dans ce cadre.

La première partie de ce manuscrit concerne une revue de la littérature permettant d'approfondir le contexte scientifique du sujet, d'identifier des verrous et manques pour ainsi dégager des pistes de travail. La seconde partie décrit l'ensemble des matériels et méthodes utilisés pour la réalisation de ces travaux. La troisième partie est divisée en trois chapitres et présente les résultats obtenus sous forme de publications scientifiques soumises ou à soumettre. Enfin, une partie conclusive dresse un bilan du travail réalisé et suggère quelques perspectives d'étude et de développement.

Cette thèse réalisée au LISBP de l'INSA de Toulouse, a été financée par une bourse du Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. Les principaux travaux ont été effectués dans le cadre du projet RECOWER (pRocEss COupling fermentation and separation for solid WastE valoRization) financé par l'Institut Carnot 3BCAR¹, en collaboration étroite avec le LBE de Narbonne, le LGC de Toulouse et l'IMFT.

¹L'institut Carnot 3BCAR mobilise deux leviers essentiels à l'émergence de la Bioéconomie : les biotechnologies et la chimie verte, rassemblant des approches multidisciplinaires depuis les biomasses végétales, la bioraffinerie, jusqu'aux propriétés fonctionnelles. L'économie circulaire est appréhendée par la valorisation des coproduits, les usages en cascade et l'écoconception.

Première partie :
Étude bibliographique

1. Les déchets ménagers et les ordures ménagères résiduelles en France

1.1. Définitions préliminaires

L'étude se focalise sur la valorisation des ordures ménagères résiduelles. En ce sens, il est nécessaire de définir ce que représente ce gisement par rapport aux déchets municipaux. La **Figure 3** montre la décomposition des déchets municipaux en France. Ceux-ci regroupent l'ensemble des déchets dont la gestion relève de la compétence de la collectivité. Ils sont composés des déchets issus des espaces « publics » (espaces verts, marchés, voiries, assainissement) et des déchets ménagers et assimilés (DMA). Les DMA sont les déchets issus de l'activité domestique quotidienne des ménages et les déchets des activités économiques collectés dans les mêmes conditions que ceux-ci. Ces déchets sont ceux provenant de la collecte traditionnelle des ordures ménagères résiduelles (OMR), des collectes sélectives, des déchetteries, des collectes d'encombrants et des collectes de déchets verts (ADEME et al. 2010). Les OMR, appelées aussi « poubelle grise », constituent la partie des ordures ménagères (OM) qui restent en mélange après les collectes sélectives ; elles contiennent entre autres une importante fraction fermentescible (FFOMR).

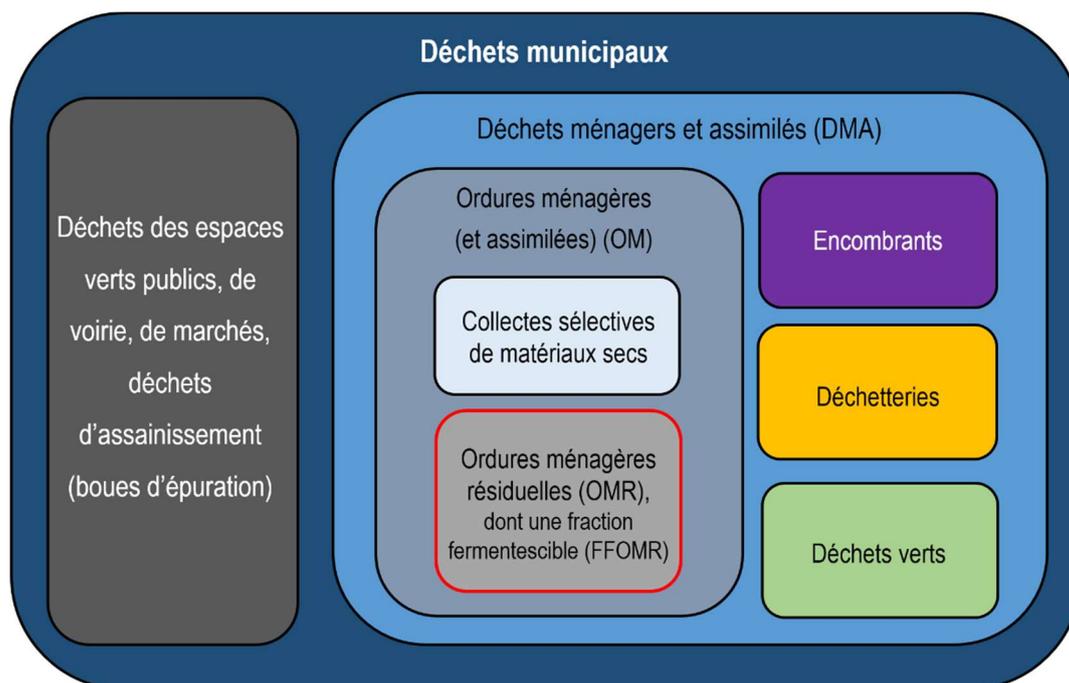


Figure 3. Les ordures ménagères résiduelles au sein des déchets municipaux (adapté de ADEME et al. (2010) et Andrieu et al. (2012)).

1.2. Composition

Un bilan des collectes de DMA dressé par l'ADEME pour l'année 2007 est présenté dans le **Tableau 1** et détaille les différents flux de déchets qu'ils contiennent. Selon ces données, on peut constater que les OMR représentent plus de la moitié des DMA et plus de 80% des OM collectés. On peut donc s'intéresser plus précisément à la composition des OMR.

Tableau 1. Bilan de la collecte des déchets ménagers par le service public en 2007. Les masses représentent des poids humides (adapté de ADEME et al., 2010).

Type de collecte	Masse collectée (Mt)	Performance ¹ (kg/habitant/an)	Pourcentage (%)
Ordures ménagères résiduelles	20.10	316	53.2%
Collectes sélectives (matériaux secs, verre et biodéchets)	4.74	75	12.5%
Total ordures ménagères	24.84	391	65.8%
Biodéchets et/ou déchets verts	1.13	18	3.0%
Encombrants	0.98	15	2.6%
Déchetterie	10.82	170	28.6%
Total déchets ménagers	37.77	594	100.0%

Dans cette même étude de l'ADEME, une campagne de caractérisation des OM au niveau national (MODECOM) a été réalisée dans le but de réactualiser la connaissance du gisement et de la composition de ces ordures, et ainsi de pouvoir adapter la politique de gestion des déchets (ADEME et al. 2010). Cette campagne a été effectuée en tirant au sort 100 communes du territoire national, et en analysant sur des circuits de collecte les flux OMR des ménages et collectivités et les flux de collectes sélectives. La caractérisation des OMR a permis d'obtenir une composition moyenne de ce flux à l'échelle nationale. 13 catégories, incluant chacune des sous-catégories, ont été définies.

Le **Tableau 2** donne la composition moyenne des OMR en 2007 en France, sans et avec ventilation de éléments fins. Sans considérer les éléments fins, la fraction majoritaire des OMR est celle des déchets putrescibles, qui représente près d'un tiers de ce gisement. Par rapport aux OM, cette fraction est augmentée d'environ 5% car certains éléments (verre, papiers, cartons notamment) sont séparés via les collectes sélectives. La catégorie « déchets putrescibles » des OMR est composée à près de 75%, de déchets alimentaires. La seconde catégorie la plus importante des OMR est celle des

¹ La population considérée pour l'année 2007 est de 63578000 habitants (départements d'Outre-mer compris).

éléments fins. Cette catégorie comporte 68% de déchets putrescibles et 21% d'incombustibles non classés (ADEME et al. 2010). Ainsi après ventilation des éléments fins, les OMR contiennent 40% de déchets putrescibles, auxquels s'ajoutent 15% de papiers et cartons. Dans la même étude, les caractéristiques chimiques des OMR françaises ont été déterminées, certaines données sont résumées dans le **Tableau 3**. En 2007, ces OMR possédaient des teneurs en eau et en matières organique légèrement plus élevées qu'en 1993. Avec 65.8% de matière organique totale, il est confirmé que la fraction organique des OMR représente une part importante de ce gisement.

A titre comparatif, Hoornweg et Bhada-Tata (2012) ont estimé qu'à l'échelle mondiale, les déchets municipaux solides sont composés à 46% de matières organiques (incluant restes alimentaires, déchets de cour et de jardin, bois) et à 17% de papiers et cartons. Ainsi, la large part de matières organiques contenue dans ce type de déchets n'est pas seulement observée en France mais plus généralement à l'échelle mondiale. De ce fait, indépendamment de la zone géographique considérée, le gisement OMR présente un intérêt potentiel pour une valorisation par voie biologique.

Tableau 2. Composition complète des OMR sans et avec ventilation des éléments fins (ADEME et al. 2010). Les pourcentages sont donnés en poids humide.

Catégories	Sous-catégories	Composition sous-catégorie (%)	Composition cat. sans ventilation des fines (%)	Composition cat. avec ventilation des fines (%)
1-Déchets putrescibles	Déchets alimentaires (restes de cuisine)	22.82%	30.93%	39.6%
	Produits alimentaires (sous emballage)	2.19%		
	Autres putrescibles	1.20%		
	Déchets de jardin	4.72%		
2-Papiers	Emballage papiers	1.19%	10.33%	10.5%
	Journaux, magazines et revues	2.97%		
	Imprimés publicitaires	3.00%		
	Papiers bureautiques	2.20%		
	Autres papiers	0.97%		
3-Cartons	Emballages cartons plats	3.10%	5.69%	5.7%
	Emballages cartons ondulés	2.43%		
	Autres cartons	0.17%		
4-Composites	Composites ELA	0.51%	1.69%	1.7%
	Autres emballages composites	0.87%		
	Petits appareils électroménagers	0.30%		
5-Textiles	Textiles	2.32%	2.32%	2.3%
6-Textiles sanitaires	Textiles sanitaires fraction hygiénique	6.15%	10.50%	10.6%
	Textiles sanitaires fraction papiers souillés	4.34%		
7-Plastiques	Films polyoléfines (PE/PP)	4.25%	11.43%	11.7%
	Bouteilles et flacons en PET	0.76%		
	Bouteilles et flacons en polyoléfines	0.64%		
	Autres emballages plastiques	3.58%		
	Autres plastiques	2.20%		

Catégories	Sous-catégories	Composition sous-catégorie (%)	Composition cat. sans ventilation des fines (%)	Composition cat. avec ventilation des fines (%)
8-Combustibles non classés	Emballages en bois	0.36%	2.44%	2.6%
	Autres combustibles	2.08%		
9-Verre	Emballages en verre incolore	2.59%	5.75%	6.3%
	Emballage en verre de couleur	2.84%		
	Autres verres	0.32%		
10-Métaux	Emballages métaux ferreux	1.72%	2.87%	3.0%
	Emballages aluminium	0.38%		
	Autres métaux ferreux	0.49%		
	Autres métaux	0.27%		
11-Incombustibles non classés	Emballages incombustibles	0.11%	2.57%	5.3%
	Autres incombustibles	2.46%		
12-Déchets ménagers spéciaux	Produits chimiques	0.42%	0.81%	0.8%
	Tubes fluorescents et ampoules basse consommation	0.01%		
	Piles et accumulateurs	0.04%		
	Autres déchets ménagers spéciaux	0.34%		
13- Fines <20 mm	Fines <20 mm	12.67%	12.67%	0.0%

Tableau 3. Caractéristiques chimiques des OMR françaises déterminées lors des campagnes de 1993 et de 2007 (ADEME et al. 2010).

Caractéristique	Année 2007	Année 1993
Taux d'humidité	36.7 %	35.0 %
Matière organique totale	65.8 %	59.2 %
Carbone organique	34.9 %	33.4 %
Azote Kjeldahl	1.1 %	ND
Azote organique	0.71 %	0.73 %
Azote ammoniacal	0.014 %	ND

1.3. Traitement et valorisation des OMR

1.3.1. Etat actuel du traitement

L'évolution du traitement des déchets municipaux (hors refus) entre 2002 et 2016 en France est représentée dans la **Figure 4**. Différentes technologies sont utilisées : la mise en décharge (stockage) et l'incinération (avec ou sans récupération d'énergie), le tri avant recyclage, le compostage et la méthanisation. Les modes de traitement évoluent très nettement vers une réduction de la mise en décharge (-39% depuis 2010) et la part de déchets incinérés continue d'augmenter (+24% depuis 2010). Les installations d'incinération et de stockage sont aussi de plus en plus équipées pour permettre la récupération d'énergie sous forme d'électricité, de chaleur ou de gaz (ADEME 2019). Mais on assiste vraisemblablement à une augmentation des traitements (et des installations) visant à valoriser la matière : le recyclage et le compostage ont en effet augmenté de 127 et 103% respectivement, depuis 2010. Le traitement par méthanisation a aussi augmenté depuis 2010, passant de 0.1 à 0.9 Mt (+800%). Toutefois, la valorisation par voie biologique (compostage et méthanisation) reste encore minoritaire, représentant seulement 18% des traitements en 2016.

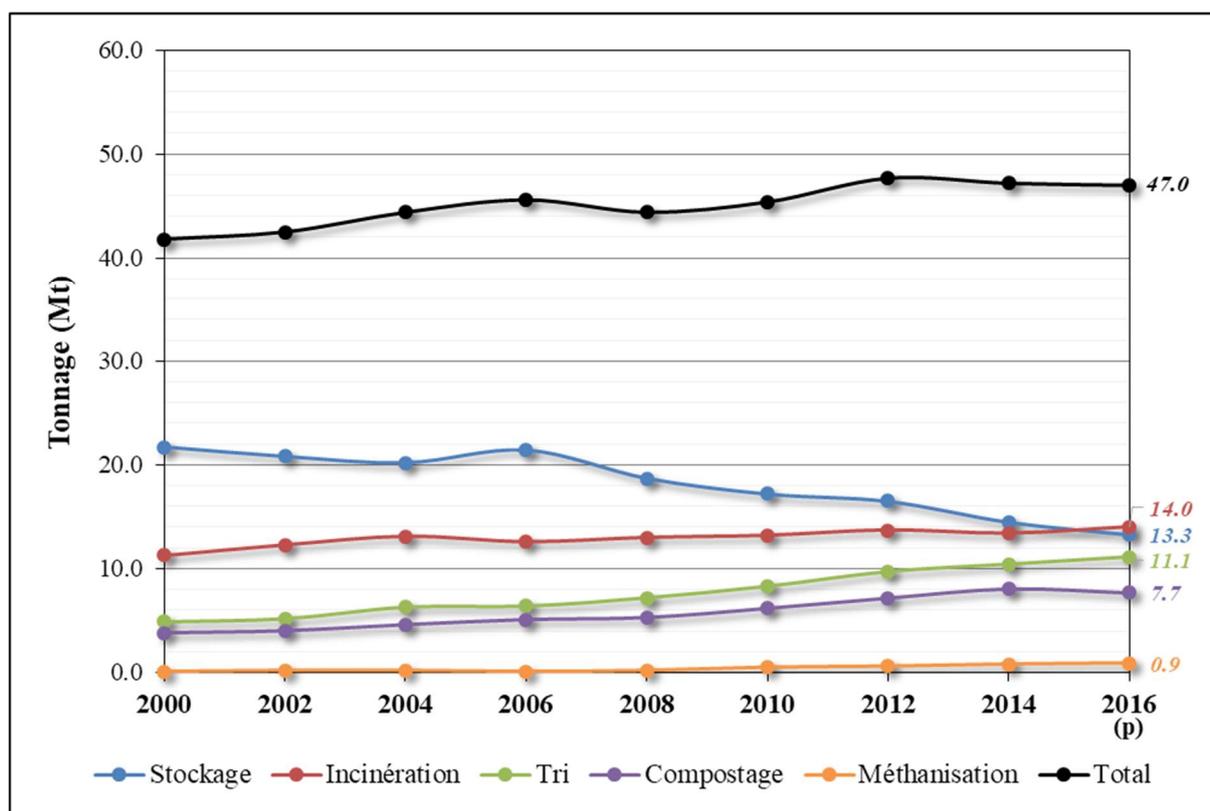


Figure 4. Évolution du traitement des déchets municipaux en France de 2000 à 2016. Les données de l'année 2016 sont provisoires (p) (ADEME 2019).

En ce qui concerne les OMR, les données évolutives sur les dernières années ne sont pas disponibles, mais le **Tableau 4** montre les méthodes de traitement utilisées en France en 2013. Par rapport aux déchets municipaux, le traitement des OMR était très majoritairement orienté vers l'incinération avec récupération d'énergie et vers le stockage dans des installations prévues à cet effet. Ainsi, ce sont principalement les fractions des déchets municipaux autres que les OMR qui sont responsables des tendances observées à la **Figure 4**. Les valorisations matière et organique ne représentent qu'une fraction très faible (7.14%) des traitements appliqués aux OMR. Étant donné la forte teneur en matières organiques des OMR d'une part, et les problématiques liées à l'incinération (rejets toxiques, imbrûlés), il n'est pas inconcevable d'évoluer vers un recours plus large aux traitements biologiques.

Tableau 4. Traitement des Ordures Ménagères Résiduelles en France en 2013 (ADEME 2017).

Voie de traitement	Masse traitée (Mt)	Pourcentage (%)
Stockage	5.20	29.38%
Incinération sans récupération d'énergie	0.34	1.94%
Total destruction	5.54	31.32%
Incinération avec récupération d'énergie	10.89	61.54%
Total incinération	11.24	63.48%
Valorisation matière ou organique	1.26	7.14%
Total traitements	17.70	100.00%

1.3.2. La plateforme AGV : une autre voie de valorisation des OMR ?

Comme l'indique la LTECV de 2015, valoriser les OMR constitue un enjeu majeur à l'échelle nationale. De plus, l'épuisement attendu des ressources pétrolières fossiles nécessite de trouver des voies de production visant à réduire la dépendance à ces ressources et permettant de répondre aux besoins en énergie et en matériaux.

Aux paragraphes précédents, nous avons vu que les OMR sont majoritairement traitées par incinération. Ce mode de traitement permet, en général, la production d'énergie sous forme de chaleur et/ou d'électricité ainsi qu'une réduction considérable du volume des déchets jusqu'à 90% si ceux-ci contiennent majoritairement des matériaux d'emballage, des papiers, cartons, plastiques et déchets d'horticulture (Hoorweg and Bhada-Tata 2012). Cependant, l'incinération est considérée comme efficace lorsque la teneur en eau du déchet ne dépasse pas 30% (Makarichi, Jutidamrongphan, and Techato 2018), ce qui est rarement le cas des déchets solides municipaux et des OMR (voir **Tableau 3** et **Tableau 17**). Aussi, l'incinération est une méthode de traitement controversée du fait des sous-produits qu'elle génère. Si la gestion de ceux-ci n'est pas optimale, les risques liés aux émissions atmosphériques sont très élevés (ADEME 2012). De plus, la fraction organique n'a pas d'intérêt à être incinérée.

Alors pourquoi continuer de traiter nos OMR par incinération ? Il existe en effet d'autres voies de traitement permettant de valoriser ces ordures qui contiennent une grande partie de matière organique, et ainsi de progresser un peu plus vers une économie circulaire. Le concept de bioraffinerie s'inscrit parfaitement dans ce cadre. Il s'agit d'une approche innovante de gestion environnementale où des produits de nature organique, arrivés au stade de déchets, sont considérés comme des ressources encore valorisables et renouvelables, et utilisés pour la fabrication de bio-produits à forte valeur ajoutée : bio-énergies, bio-carburants, bio-matériaux (Yin, Yu, Wang, et al. 2016; Strazzera et al. 2018). On peut alors citer l'exemple de la digestion anaérobie. C'est un processus naturel au cours duquel des composés organiques complexes sont décomposés en dioxyde de carbone et en méthane. Les procédés de digestion anaérobie sont donc particulièrement intéressants en termes de réduction de la matière organique (Toerien 1967; Abbassi-Guendouz et al. 2012). Le biogaz produit par digestion

anaérobie contient environ 65% de méthane, 35% de dioxyde de carbone et des traces d'autres gaz (sulfure d'hydrogène, dihydrogène, diazote). Il est valorisable en tant que source de chaleur et d'énergie car il est énergétiquement efficace, et il est produit de manière propre puisque ce procédé génère peu de composés dangereux (Appels et al. 2011).

A grande échelle et de manière générale, la fabrication de produits d'intérêt via la digestion anaérobie se focalise majoritairement sur le biogaz, qui est le produit final du processus méthanogène anaérobie (Dogan, et al. 2008). Néanmoins, il est aussi possible de produire des composés chimiques à forte valeur ajoutée à partir des OMR, par la mise en œuvre des premières étapes de la digestion anaérobie, que l'on peut appeler « fermentation acidogène ». Ces composés à forte valeur ajoutée sont donc des intermédiaires de la digestion anaérobie. Parmi ceux-ci, on trouve notamment des acides organiques dits acides gras volatils (AGV), qui sont des acides mono-carboxyliques (une seule fonction –COOH) linéaires à courte chaîne comportant 2 à 6 atomes de carbone (Strazzer et al. 2018). Les déchets solides municipaux contiennent une importante fraction organique, qui constitue un substrat optimal pour la fermentation acidogène (Traverso et al. 2000; Dogan et al. 2009), cette fraction se trouvant principalement dans les OMR. Les déchets alimentaires sont des éléments facilement dégradés et rapidement solubilisés. Lors de la dégradation, la fraction organique labile, c'est-à-dire celle qui est solubilisée en premier lieu, est immédiatement consommée par les micro-organismes anaérobies et convertie en AGV (Kawai et al. 2014).

Les rendements de production d'AGV et alcools légers que l'on peut obtenir à partir de la fraction organique des déchets municipaux en fermentation acidogène sont prometteurs et représentent plus de 40% de la DCO totale entrante (Dogan et al. 2009). De plus, la plateforme AGV présente un intérêt croissant pour la communauté scientifique et pour les industries. En effet, les AGV produits par fermentation acidogène sont une source de carbone renouvelable. Après diverses transformations possibles via des procédés biologiques, chimiques et thermochimiques, comme le montre la **Figure 5**, ils offrent un très grand nombre d'applications dans les secteurs pharmaceutique, alimentaire et les industries chimiques par exemple (Atasoy et al. 2018). En dehors des bio-carburants (méthanol, éthanol, biodiesel, méthane et hydrogène), ils peuvent être utilisés entre autres pour la fabrication de bioplastiques par voie microbienne (polyhydroxyalkanoates ou PHA), de produits commerciaux de type méthyl ou éthyl esters, de textiles et produits pharmaceutiques (Yin, Yu, Wang, et al. 2016; Dogan et al. 2009; Seong-Jin Lim et al. 2008; Sans et al. 1993; N.-J. Kim, Lim, and Chang 2018). On peut également citer l'utilisation des AGV comme source de carbone et d'énergie pour les micro-organismes dans les procédés d'élimination biologique de nutriments (azote et phosphore) des eaux usées (S.-J. Lim et al. 2000). La production d'AGV offre donc une plus large gamme de possibilités que la production de biogaz. Par ailleurs, les AGV présentent un avantage économique par rapport au biogaz : celui-ci se vendrait au prix de 150 \$/t alors que les prix de vente des AGV et autres intermédiaires de la digestion anaérobie peuvent aller de 400 à 4250 \$/t, avec des tailles de marchés qui peuvent être importantes pour l'acide acétique notamment (**Tableau 5**) (Calt 2015; Bastidas-Oyanedel et al. 2015). Les AGV semblent aussi présenter un intérêt économique croissant avec la taille de la chaîne carbonée.

En termes de procédé, la fermentation acidogène demande des temps de séjours solides plus faibles que la méthanisation. Par exemple, Lee et al. (2014) ont indiqué que lors de la fermentation de boues primaires, les conditions acidogènes prévalaient pour des temps de séjours solides de moins de 8 jours, alors que les conditions méthanogènes étaient obtenues au-delà de 10 jours. De plus, produire des AGV plutôt que du biogaz réduit les dangers liés aux explosions, ce qui en fait, sur ce point, une technologie plus sûre et plus facile à déployer. Les contraintes majeures résident (i) dans la gestion de la fermentation acidogène afin d'orienter de manière reproductible la production vers les composés souhaités et d'éviter la transformation des AGV en acétate et méthane, et (ii) dans la récupération des AGV (séparation et purification) en accord avec l'utilisation envisagée.

Tableau 5. Estimations des prix de ventes et des tailles de marchés pour les composés intermédiaires de la digestion anaérobie (Bastidas-Oyanedel et al. 2015).

Composé	Prix (USD/t)	Taille du marché (kt/an)
Acide acétique	400 – 800	3500
Éthanol	800 – 2000	51000
Acide formique	950 – 1200	30
Acide lactique	1000 – 2100	120
Acide propionique	1500 – 1700	180
Acide butyrique	2000 – 2500	30
Acide caproïque	2000 – 2500	25

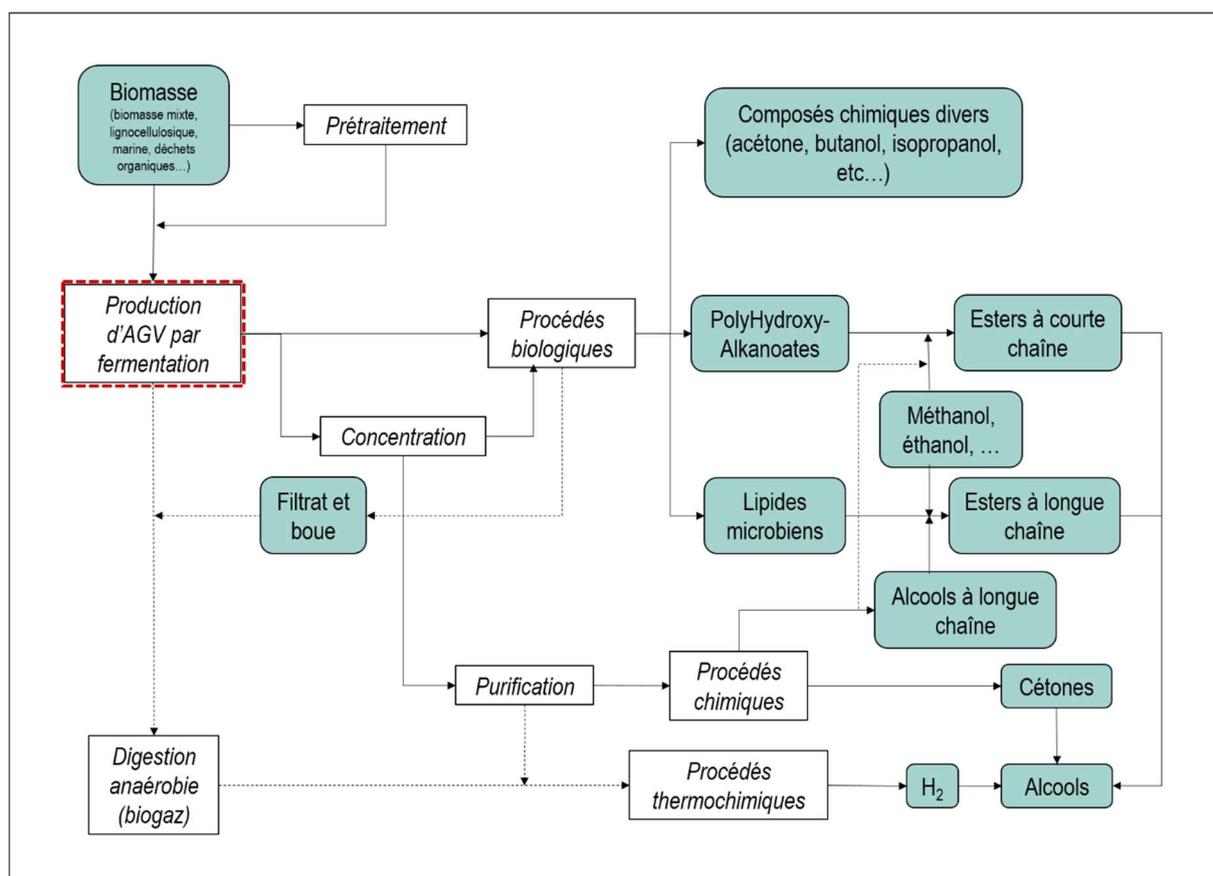


Figure 5. La plateforme AGV étendue : de nombreux procédés pour la conversion des AGV (adapté de Kim, Lim, et Chang (2018)).

1.4. Conclusions

Les OMR sont des déchets contenant en grande majorité des éléments putrescibles (aliments et déchets de jardin), mais aussi des papiers et cartons. Plus globalement, ces déchets sont très riches en matières organiques (plus de 60%) et en eau (plus de 30%). L'incinération et le stockage sont encore largement utilisés, en dépit de la controverse liée à leurs impacts environnementaux et des coûts opérationnels. Mais du fait de leur composition, les OMR constituent un substrat idéal pour les traitements biologiques. Si le recours à la méthanisation croît depuis la dernière décennie, elle reste la moins utilisée pour le traitement des OMR. Outre la méthanisation, il est possible de traiter les OMR par fermentation acidogène avec l'objectif de produire des composés organiques solubles et notamment des AGV. Ces acides organiques présentent divers avantages par rapport au méthane : une plus forte valeur ajoutée et une gamme plus large d'applications, mais aussi une production plus rapide et des dangers moins importants. En revanche, la gestion du procédé est un véritable challenge à relever pour maximiser la production, contrôler le spectre de produits et assurer la récupération optimale de ceux-ci.

2. La fermentation acidogène en culture mixte

2.1. Généralités

La digestion anaérobie ou méthanisation est un processus de dégradation microbienne. La matière organique complexe est transformée en biogaz composé de méthane (65%) et de dioxyde de carbone (35%) et en un résidu solide ou liquide appelé digestat. Il se produit dans un environnement où l'eau est présente, et fait intervenir une culture mixte composée de différents groupes de micro-organismes, naturellement présents dans l'environnement, ayant des fonctions et des besoins différents pour leur croissance (pH, concentration en substrat et en nutriments) (Gujer and Zehnder 1983; Siegrist, Renggli, and Gujer 1993; Mata-Alvarez 2003; Jha et al. 2011; Appels et al. 2011; Cysneiros et al. 2012b). Selon Kleerebezem et van Loosdrecht (2007), l'utilisation de cultures mixtes en biotechnologies présente certains avantages par rapport aux cultures pures : pas de stérilisation nécessaire (donc pas de crainte de contamination biologique, facilitant la conduite de procédé et réduisant les coûts), capacité d'adaptation des micro-organismes aux changements de conditions opératoires et de substrats, plus large gamme de substrats utilisables (possibilité d'utiliser des co-substrats).

La digestion anaérobie est un processus complexe car elle inclut de nombreuses réactions qui sont réalisées par ces groupes de micro-organismes divers, et qui peuvent donc se produire successivement ou simultanément. Les nombreuses réactions peuvent être simplifiées en quatre grandes étapes schématisées à la **Figure 6** : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse. La fermentation acidogène regroupe les deux premières étapes de la digestion anaérobie. Le paragraphe suivant décrit plus en détails les processus biologiques et les micro-organismes intervenant dans chacune quatre phases de la digestion anaérobie.

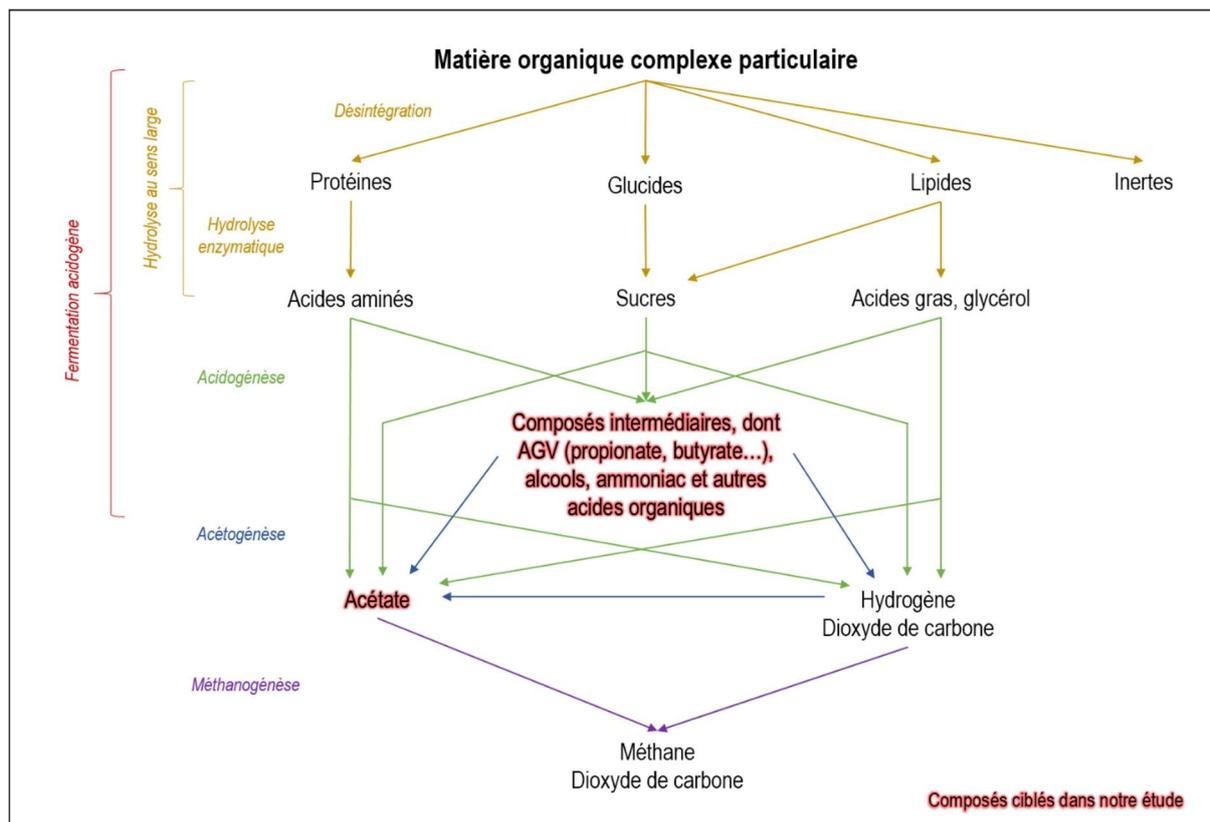


Figure 6. Les étapes de la digestion anaérobie (adapté de Gujer et Zehnder (1983); Pavlostathis et Giraldo-Gomez (1991); Batstone et al. (2002a)).

2.2. Processus biologiques impliqués

2.2.1. Hydrolyse

2.2.1.1. Processus de l'hydrolyse

Le terme général d'« hydrolyse » fait le plus souvent référence à un ensemble d'étapes incluant la désintégration, la solubilisation et l'hydrolyse enzymatique de la matière (V. A. Vavilin et al. 2008). Ces étapes sont des processus extracellulaires, biologiques (action des enzymes) ou non biologiques (abrasion), de décomposition et de solubilisation de la matière organique complexe (Batstone et al. 2002a; Carlei 2013). La désintégration de la matière organique complexe particulaire, processus majoritairement non biologique, conduit à la formation de glucides, protéines et lipides particuliers, et de matériaux inertes solubles et en suspension. La dégradation enzymatique des glucides, protéines et lipides particuliers produit respectivement des monosaccharides, des acides aminés, des acides gras à longue chaîne (AGLC) et glycérol. Les micro-organismes se servent de ces derniers composés, solubles, afin de produire les différentes enzymes hydrolytiques appelées hydrolases (Batstone et al. 2002b; V. A. Vavilin et al. 2008). Une enzyme agit spécifiquement sur une liaison présente dans les macromolécules, qui sont également très diverses. De ce fait, il existe une très large gamme d'enzymes

hydrolytiques (Carlei 2013). L'hydrolyse des sucres, des protéines et des lipides se déroulent en parallèle et sont à l'origine des vitesses globales d'hydrolyse différentes (V. A. Vavilin et al. 2008; Batstone et al. 2002b), comme le montre le **Tableau 13**.

L'hydrolyse est généralement considérée comme l'étape limitante de la digestion anaérobie lorsque le substrat est sous forme particulière (A. Veecken et al. 2000; V. A. Vavilin, Rytov, and Lokshina 1996; Xie et al. 2012). Il existe deux grands schémas conceptuels permettant de décrire le mécanisme de l'hydrolyse enzymatique pour les substrats particuliers, repris par différents auteurs (Sanders 2001; Batstone et al. 2002a). Le premier schéma considère que lors de l'hydrolyse, les micro-organismes s'attachent sur une particule de substrat, produisent des enzymes à proximité de celle-ci et utilisent les produits libérés par la réaction produire d'autres enzymes (V. A. Vavilin, Rytov, and Lokshina 1996). Sanders (2001) a montré que les activités des enzymes hydrolytiques n'étaient pas détectées dans le milieu liquide mais dans les boues même après lavage de celles-ci. Le second modèle de l'hydrolyse suggère que les enzymes sont sécrétées dans le milieu liquide par les micro-organismes, elles sont alors transportées jusqu'à la surface des particules où elles s'adsorbent et réagissent (Jain et al. 1992). Elles peuvent également réagir directement avec un substrat soluble dans le milieu liquide (V. A. Vavilin et al. 2008).

2.2.1.2. Micro-organismes de l'hydrolyse

La grande diversité des substrats disponibles implique également une grande diversité de micro-organismes hydrolytiques. Les bactéries de l'hydrolyse sont de type anaérobie strict ou facultatif (Moletta 2008). Le **Tableau 6** répertorie quelques exemples de bactéries identifiées comme participant à l'hydrolyse enzymatique lors de la digestion anaérobie de divers substrats en conditions mésophiles. Une grande partie des espèces citées appartiennent à l'ordre des Clostridiales, et plus particulièrement au genre *Clostridium* capable de dégrader la plupart des substrats.

Tableau 6. Exemples de bactéries hydrolytiques de la digestion anaérobie en conditions mésophiles (Moletta 2008).

Substrat	Genres
Cellulose	<i>Acetivibrio, Bacteroides, Butyrivibrio, Cillobacterium</i> <i>Ruminococcus, Clostridium</i>
Hémicelluloses	<i>Bacteroides</i>
Pectines	<i>Clostridium, Lachnospira</i>
Amidon	<i>Bacillus, Bacteroides, Clostridium, Micrococcus, Succinimonas, Lactobacillus,</i> <i>Pseudomonas</i>
Lipides	<i>Anaerovibrio, Bacillus, Syntrophomonas</i>
Protéines	<i>Bacillus, Bifidobacterium, Clostridium, Peptococcus, Staphylococcus</i>
Composés azotés	<i>Clostridium, Micrococcus</i>

2.3. Acidogénèse

Lors de l'acidogénèse, les produits d'hydrolyse sont convertis en AGV, alcools, hydrogène et dioxyde de carbone. C'est un mécanisme intracellulaire qui nécessite la pénétration des molécules dans la membrane des cellules bactériennes (Degueurce 2016). Les mécanismes mis en œuvre diffèrent selon les composés solubles produits lors de l'hydrolyse, qui sont eux-mêmes nombreux dans le cas de substrats complexes. Ainsi, plusieurs voies métaboliques coexistent durant l'étape d'acidogénèse : elles sont mises en œuvre via différentes réactions chimiques catalysées par des enzymes. Les voies métaboliques de la fermentation acidogène sont généralement identifiées en fonction de la distribution des produits et chacune de ces voies comporte une ou plusieurs réactions chimiques (Zhou et al. 2018).

2.3.1.1. Processus de l'acidogénèse

2.3.1.1.1. Fermentation des sucres

Pour exemple, les voies métaboliques de l'acidogénèse du glucose sont illustrées à la **Figure 7**. Les réactions d'acidogénèse des sucres solubles simples forment divers produits parmi lesquels les AGV, l'acide lactique, l'éthanol, et d'autres solvants, mais aussi des gaz (H_2 , CO_2). Certaines de ces réactions utilisant le glucose sont présentées dans le **Tableau 7**. En dehors de ces produits, plusieurs autres composés intermédiaires peuvent être libérés au cours de l'acidogénèse (succinate, lactate).

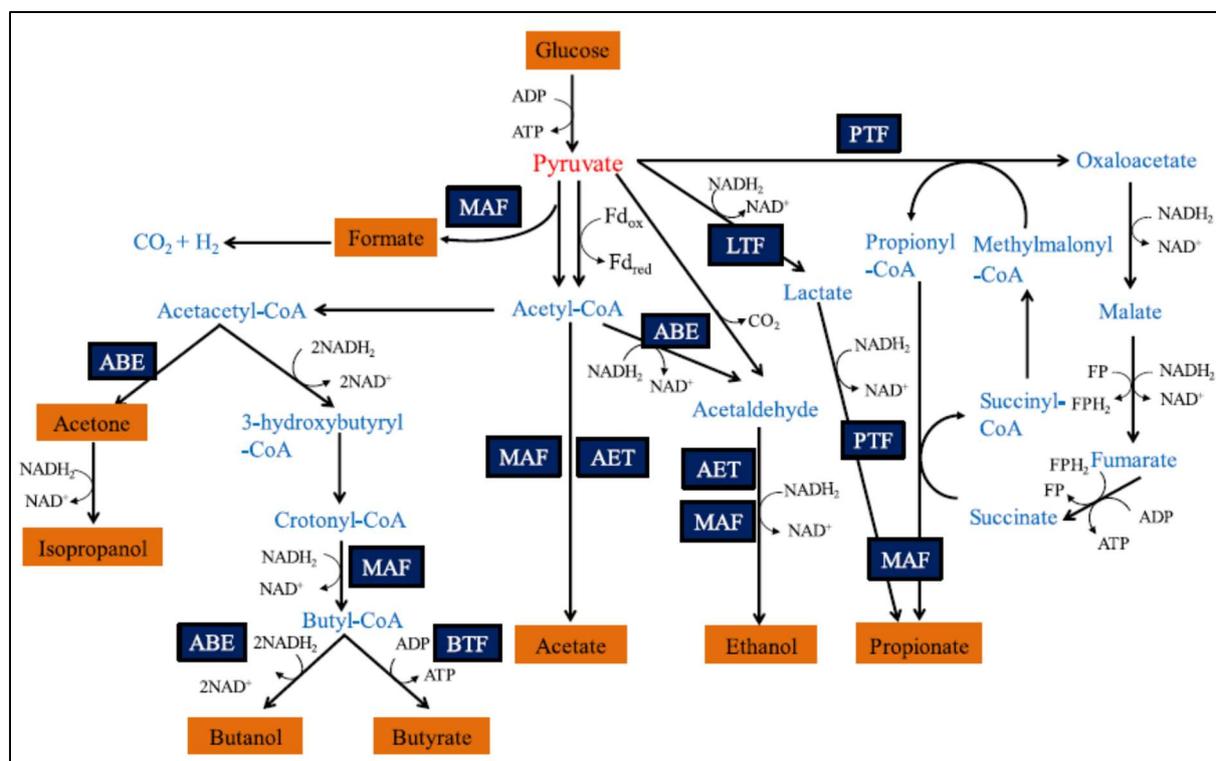


Figure 7. Voies métaboliques de la fermentation acidogène à partir du glucose (Zhou et al. 2018). Les fermentations sont de type acétate-éthanol (AET), acétone-éthanol-butanol (ABE), propionate (PTF), butyrate (BTF), acides mixtes (MAF) ou lactate (LTF).

Tableau 7. Exemples de réactions métaboliques de l'acidogenèse du glucose (Zhou et al. 2018; Motte et al. 2013; Batstone et al. 2002a).

Voie	Produits	Réactions
Acétate-Ethanol	Acide acétique	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$
	Ethanol	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow CH_3CH_2OH + CH_3COOH + 2CO_2 + 2H_2$
Acétone-Butanol-Ethanol	Acétone	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow CH_3COCH_3 + 3CO_2 + 4H_2$
	Butanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2CH_2OH + 2CO_2 + H_2O$
	Ethanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$
Propionate	Acide propionique	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$
	Acides propionique et acétique	$3C_6H_{12}O_6 \rightarrow 4CH_3CH_2COOH + 2CH_3COOH + 2CO_2 + 2H_2O$
Butyrate	Acide butyrique	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$
	Acides butyrique et acétique	$4C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 3CH_3CH_2CH_2COOH + 2CH_3COOH + 8CO_2 + 10H_2$
Lactate	Acide lactique	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH(OH)COOH$
	Acide lactique et éthanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH(OH)COOH + CH_3CH_2OH + CO_2$

2.3.1.1.2. Fermentation des protéines

La fermentation acidogène des acides aminés issus de l'hydrolyse des protéines est un processus complexe qui implique des réactions d'oxydo-réduction. Les principaux produits en résultant sont les acides gras à courte chaîne, le succinate, l'aminovalérate et le dihydrogène (Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991). Il est aussi indiqué que l'acide isobutyrique ainsi que les trois isomères de l'acide valérique sont principalement associés au métabolisme des protéines (Elefsiniotis and Oldham 1994). Les deux principales voies de fermentation des acides aminés sont : (i) la réaction de Stickland présentée à la **Figure 8**, réaction d'oxydo-réduction couplée de deux acides aminés agissant l'un comme accepteur et l'autre comme donneur d'hydrogène, et (ii) l'oxydation d'un seul acide aminé (avec les ions H⁺ ou le CO₂ comme accepteurs d'électrons externes (Batstone et al. 2002a).

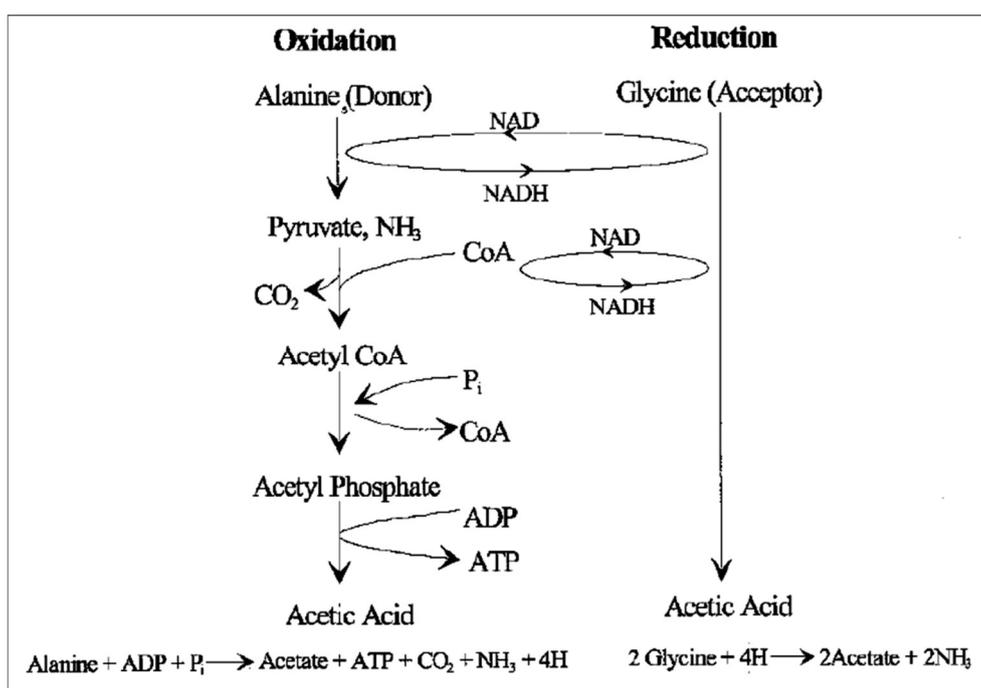


Figure 8. Exemple de réaction de Stickland entre l'alanine et la glycine (Batstone et al. 2002a).

2.3.1.1.3. Fermentation des lipides

Durant l'acidogénèse, le glycérol, produit lors de l'hydrolyse des lipides, est dégradé en divers AGV et alcools (Oh and Martin 2010). La dégradation des AGLC se produit par la mise en œuvre de réactions d'oxydation anaérobies. Il s'agit essentiellement de réactions de β-oxydation mais il existe également des réactions d' α- et γ-oxydation qui joueraient un rôle mineur (Mackie, White, and Bryant 1991; Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991; Jeris and McCarty 1965). Lors des réactions de β-oxydation, les AGLC sont transformés par clivage en acétate et acides gras à plus courte chaîne (Novak and Carlson 1970). Il est souvent considéré que la dégradation des AGLC fait partie de l'étape d'acétogénèse. Ceci est dû au fait que les acides gras libres sont oxydés par des groupes de bactéries

acétogènes, les syntrophes producteurs obligés d'H₂ (Mackie, White, and Bryant 1991; Garcia-Heras 2003; Moletta 2008; Batstone et al. 2002a).

2.3.1.1.4. Elongation de chaîne

Outre les réactions biochimiques utilisant les produits d'hydrolyse comme substrats, il existe aussi des mécanismes d'élongation de chaîne, qui permettent la production de butyrate, de valérate, de caproate à partir d'éthanol et d'acétate ou de propionate, de butyrate, d'hydrogène et de dioxyde de carbone (Aglar et al. 2011, 2012; Ding, Tan, and Wang 2010; Barker, Kamen, and Bornstein 1945).

2.3.1.2. Micro-organismes de l'acidogénèse

De nombreuses espèces bactériennes, dites fermentaires, réalisent l'étape d'acidogénèse. Pour la plupart, il s'agit de bactéries anaérobies strictes mais des espèces anaérobies facultatives peuvent aussi être nombreuses. En conditions mésophiles, parmi les micro-organismes prédominants, on retrouve notamment les genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* (Sofer and Zaborsky 1981). On peut aussi regrouper les genres en fonction des voies métaboliques mises en œuvre et donc des produits générés, comme indiqué dans le **Tableau 8**.

Tableau 8. Exemples de bactéries acidogènes selon les produits formés (Li, Park, and Zhu 2011).

Principaux produits	Genres
Acétate, CO ₂	<i>Acetovibrium</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Sporomusa</i>
Propionate, acétate, CO ₂	<i>Clostridium</i>
Butyrate, butanol, isopropanol, éthanol, CO ₂	<i>Butyribacterium</i> , <i>Clostridium</i>
Lactate, CO ₂	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i>

2.3.2. Acétogénèse

2.3.2.1. Processus de l'acétogénèse

Les composés produits lors des étapes précédentes sont convertis en acétate, hydrogène et dioxyde de carbone qui sont des précurseurs directs du méthane. Le formate peut aussi être produit lors de l'acétogénèse (Moletta 2008). Des exemples de réactions associées à l'étape d'acétogénèse sont présentés dans le **Tableau 9**. On considère deux voies principales d'acétogénèse. La première est celle utilisant les AGV à plus de deux atomes de carbone (propionate, butyrate...), le lactate ou l'éthanol, qui produit obligatoirement de l'hydrogène. Certains groupes acétogènes utilisent aussi les AGLC (Batstone et al. 2002b). La deuxième est l'homoacétogénèse : l'acétate est formé à partir d'hydrogène et de dioxyde de carbone, eux-mêmes issus de l'acidogénèse et de la première voie d'acétogénèse

(Moletta 2008; Carlei 2013). Lorsque les AGV aux chaînes carbonées les plus longues sont ciblés, l'acétogenèse consommant ces composés est donc une étape à éviter.

D'un point de vue thermodynamique, les réactions d'acétogenèse utilisant les AGV ou les AGLC ont des enthalpies libres généralement positives (thermodynamiquement défavorables) et produisent de l'hydrogène. Elles ne peuvent être réalisées que dans des conditions où la quantité d'hydrogène est faible, ou si celui-ci est rapidement consommé par lors d'autres réactions (homoacétogenèse, méthanogenèse, sulfato-réduction) (Moletta 2008; Carlei 2013). En particulier, les acides gras consommés produisent du CO₂ qui est aussi utilisé comme accepteur d'électrons lors de méthanogenèse (hydrogénotrophe). Les organismes de l'acétogenèse productrice d'hydrogène et de la méthanogenèse hydrogénotrophe croissent donc en symbiose et ces deux mécanismes sont étroitement liés (Garcia-Heras 2003).

Tableau 9. Exemples de réactions métaboliques d'acétogenèse (Thauer, Jungermann, and Decker 1977; Batstone et al. 2002a; Moletta 2008; Carlei 2013).

Substrats	Réactions
Palmitate	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH} + 14\text{H}_2\text{O} \rightarrow 8\text{CH}_3\text{COOH} + 14\text{H}_2$
Propionate	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 3\text{H}_2$
Butyrate	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$
Lactate	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2$
Ethanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$
Hydrogène et dioxyde de carbone (homoacétogenèse)	$4\text{H}_2 + 2\text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$

2.3.2.2. Micro-organismes de l'acétogenèse

Chacune des deux voies de l'acétogenèse est réalisée par un groupe de bactéries acétogènes. On distingue donc les acétogènes productrices obligées d'hydrogène (dites OHPA pour « Obligate Hydrogen Producing Acetogenic bacteria ») et les homoacétogènes. Les OHPA consomment les AGV ou les AGLC et sont souvent des bactéries syntrophes. Les bactéries homoacétogènes utilisent du H₂ pour réduire le CO₂ en acétate. Des exemples de genres de bactéries acétogènes sont regroupés dans le **Tableau 10**.

Tableau 10. Exemples de genres de bactéries acétogènes (Moletta 2008).

Types d'acétogènes	Genres
OHPA	<i>Syntrophobacter</i> , <i>Syntrophomonas</i> , <i>Syntrophospora</i> , <i>Syntrophococcus</i>
Homoacétogènes	<i>Acetoanaerobacterium</i> , <i>Acetobacterium</i> , <i>Clorstridium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Sporomusa</i>

2.3.3. Méthanogenèse

Cette étape finale utilise l'acétate voire le formate, l'hydrogène et le dioxyde de carbone, pour produire le biogaz composé essentiellement de méthane et de dioxyde de carbone. C'est donc l'étape à éviter dans le cas de la mise en œuvre de la fermentation acidogène. On distingue donc pour la méthanogenèse, la voie acétoclaste et la voie hydrogénotrophe, décrites dans le **Tableau 11**. Les micro-organismes méthanogènes appartiennent au domaine des archées (Archae) et sont de type anaérobie strict (Moletta 2008). On distingue donc des archées méthanogènes hydrogénophiles et acétoclastes.

Tableau 11. Quelques réactions de la méthanogenèse (Moletta 2008).

Voies	Substrats	Réactions
Acétoclaste	Acétate	$\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$
	Formate	$\text{HCOOH} + 3\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$
Hydrogénotrophe	Hydrogène et dioxyde de carbone	$4\text{H}_2 + 2\text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$

2.3.4. Autres réactions en conditions anaérobies

En dehors des réactions de la digestion anaérobie, d'autres réactions impliquant notamment le soufre et l'azote peuvent se produire en l'absence d'oxygène. L'acétate, l'éthanol, le propionate, le butyrate ou encore l'hydrogène peuvent être oxydés lors de la réduction dissimilatoire du sulfate. Ces réactions utilisant des substrats de l'acétogenèse et de la méthanogenèse, des compétitions peuvent survenir entre les micro-organismes intervenant impliqués. Les réactions de dénitrification (transformation des ions nitrate en diazote) et d'oxydation anaérobie de l'ammonium ou anammox (réaction entre les ions ammonium et nitrite) sont aussi possibles dans un environnement où se produit la digestion anaérobie (Mizuno, Li, and Noike 1998; Moletta 2008). Enfin, il existe des réactions minoritaires d'hydrolyse de molécules particulières (xénobiotiques, micropolluants) (Moletta 2008).

2.4. Aspects cinétiques

La cinétique rend compte de la vitesse des différentes étapes de la digestion anaérobie. La compréhension des aspects cinétiques vise à augmenter les vitesses de réactions et donc à réduire les durées nécessaires à leur mise en œuvre, à diminuer les tailles de réacteurs. Dans le cas de la fermentation acidogène, il s'agit également d'éviter la consommation des AGV avant leur transformation en acétate et en méthane. Les réactions de la digestion anaérobie étant des processus microbiens, les cinétiques de consommation des substrats et de formation des produits sont étroitement liées aux cinétiques de l'activité microbienne et sont également fortement influencées par les conditions environnementales. Les étapes de la fermentation faisant intervenir des communautés microbiennes différentes, elles sont considérées séparément pour la description des aspects cinétiques (Garcia-Heras 2003).

L'hydrolyse est en général l'étape limitante dans le processus de conversion de substrats complexes en méthane (Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991). Plusieurs études ont utilisé un modèle cinétique de premier ordre (voir **Tableau 12**) pour caractériser l'hydrolyse aussi bien de substrats simples que de substrats complexes (V. A. Vavilin et al. 2008). Le **Tableau 13** donne quelques valeurs de constantes cinétiques de premier ordre pour différents substrats. Dans cette expression de premier ordre, la consommation de substrat n'est pas couplée à la croissance microbienne. Elle est communément utilisée du fait de sa simplicité et suppose une température et un pH constants (Eastman and Ferguson 1981).

Tableau 12. Exemples de modèles cinétiques pour l'hydrolyse (tiré de He et al. (2007)).

Nom du modèle	Expression de la vitesse $r_s = -dS/dt$
Premier ordre chimique	$k_h S$
Premier ordre biologique	$K_h S X$
Demi-ordre biologique	$k_h S X^{0.5}$
Ordre « A » biologique	$k_h S X^A$
Michaelis-Menten	$k_h S X / (K_s + S)$
Monod	$\mu_{max} S X / (Y_{X/S} (K_s + S))$
Haldane	$\mu_{max} X / (Y_{X/S} (1 + K_s / S + S / K_i))$
Contois	$k_h S X / (K_s X + S)$
Modèle « Shrinking core »	$3k_h S_0 \phi^2 X$, avec : $-d\phi/dt = k_h X$
Modèle à flux	$k_h S_{surf} X_p$

De nombreux autres modèles cinétiques, plus ou moins complexes, ont pu être utilisés dans la littérature pour caractériser l'hydrolyse (voir **Tableau 12**). Ces modèles sont souvent liés à la concentration en substrat et/ou en biomasse (1^{er} ordre, demi-ordre, ordre A sur la biomasse). Certains considèrent aussi la croissance de la biomasse (Monod, Haldane), les potentielles inhibitions par des

composés présents dans le milieu (Haldane) ou les caractéristiques physiques des particules telles que le rayon, la surface, la densité (modèles « Shrinking core », à flux, à cinétique de surface). Le modèle de Monod s'est avéré inadapté pour la description des processus hétérogènes de l'hydrolyse de substrats complexes particuliers (Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991). Le modèle ADM1 (Anaerobic Digestion Model n°1) propose d'ajouter également une composante de désintégration de la matière particulaire complexe (boues activées) (voir paragraphe 2.2.1.1). Dans ce modèle, une cinétique de premier ordre a aussi été adoptée, en accord avec les observations, et parce que la diversité des processus de désintégration ne permet pas une autre approche (Batstone et al. 2002a).

Tableau 13. Exemples de constantes d'hydrolyse de 1^{er} ordre pour plusieurs types de substrats (tirés de Vavilin et al. (2008)).

Substrat	k_h (j ⁻¹)	Température (°C)
Sucres	0.025-0.2	55
Protéines	0.015-0.075	55
Lipides	0.005-0.010	55
Sucres	0.5-2.0	-
Protéines	0.25-0.8	-
Lipides	0.1-0.7	-
Déchets de cuisine	0.34	35
Biodéchets	0.12	35
Déchets municipaux solides	0.1	15
Papier de bureau	0.036	35
Papier journal	0.057	35
Cartons	0.046	35
Déchets alimentaires	0.55	37
Déchets ménagers solides	0.1	37

A part l'hydrolyse, les autres processus de la digestion anaérobie sont souvent bien représentés par le modèle cinétique de Monod (voir **Tableau 12**) (Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991; Garcia-Heras 2003). Quelques valeurs des principaux paramètres cinétiques des micro-organismes de l'acidogénèse, de l'acétogénèse et de la méthanogénèse sont présentées dans le **Tableau 14**. Selon ces données, les micro-organismes acidogènes ont des taux de croissance et des rendements de croissance nettement plus élevés que ceux des micro-organismes acétogènes et méthanogènes. Les cinétiques des réactions de la digestion anaérobie tiennent aussi compte des effets liés à l'inhibition par différents composés en corrigeant le taux de croissance avec l'ajout de constantes d'inhibition. L'acidogénèse est en général l'étape la plus rapide de la digestion anaérobie de la matière organique complexe (V. A. Vavilin et al. 2008).

Tableau 14. Gammes de valeurs des paramètres de cinétique microbienne pour les étapes d'acidogenèse, d'acétogenèse et de méthanogenèse en conditions mésophiles (Garcia-Heras 2003).

Etape	Acidogenèse	Acétogenèse		Méthanogenèse	
Substrat (S)	Sucres simples et acides aminés	AGLC	AGV	Acétate	H ₂ /CO ₂
μ_{max} (jour⁻¹) : taux spécifique de croissance maximal	3 – 9	0.1 – 0.5	0.3 – 1.3	0.1 – 0.4	1 – 4
K_s (mg DCO.L⁻¹) : constante de demi- saturation de la cellule pour le substrat S	300 – 400 *	100 – 4000	100 – 4000	50 – 600	0.01 – 0.1
Y_{X/S} (gMVS.gDCO⁻¹) : rendement de croissance à partir du substrat S	0.1 – 0.6	0.04 – 0.1	0.02 – 0.07	0.02 – 0.05	0.04 – 0.1
k_d (jour⁻¹) : constante de décès cellulaire d'ordre 1	0.02 – 0.3	0.01	0.01 – 0.04	0.02 – 0.04	0.01 – 0.04

2.5. Conclusions

La digestion anaérobie est un processus complexe que l'on regroupe généralement en quatre grandes étapes. Les nombreuses réactions impliquées peuvent se dérouler successivement mais aussi simultanément. Ceci s'explique par le fait que chacune des étapes est réalisée par un groupe spécifique de micro-organismes, chaque groupe ayant des caractéristiques différentes. Ces réactions étant biologiques, elles sont liées à la capacité des micro-organismes à utiliser leur substrat pour se multiplier et à leur capacité à se maintenir dans le milieu. On retiendra que, du fait des nombreuses communautés bactériennes impliquées, les étapes de la digestion anaérobie se déroulent à des vitesses très différentes. Cela conditionne en partie la mise en œuvre des procédés puisqu'il s'agit de trouver un bon équilibre entre les différentes populations. Dans l'objectif d'utiliser les OMR, substrat solide, complexe et hétérogène, pour produire des AGV avec un spectre de produits contrôlé, il est nécessaire de favoriser la croissance et le maintien des populations hydrolytiques et acidogènes, tout en évitant la prolifération des populations méthanogènes. Cela peut être réalisé avec des temps de séjours suffisamment courts, (comme mentionné au **Paragraphe 1.3.2**) mais de nombreux autres paramètres de procédé doivent être ajustés pour atteindre cet objectif.

3. Procédés de digestion de la matière

Les procédés de fermentation acidogène s'inspirent de ceux développés pour la méthanisation. Ces procédés se distinguent par différentes caractéristiques. Plusieurs critères orientent le choix du procédé à mettre en œuvre : par exemple la qualité de la matière à digérer, les conditions environnementales mais aussi les contraintes économiques. Les principales caractéristiques de procédés sont présentées ci-après dans l'objectif de comprendre et de justifier le choix de technologie pour cette étude.

3.1. Caractéristiques des procédés de digestion anaérobie

3.1.1. Voie solide, voie humide

Sur la base de la teneur en matières sèches dans le système, on peut distinguer plusieurs technologies de digestion anaérobie. La digestion anaérobie en voie solide ou voie sèche peut être définie comme une digestion se produisant à une teneur en matières sèches dans le digesteur de plus de 15% (De Baere and Mattheeuws 2014). La voie liquide ou humide correspondrait donc à une teneur en solides de moins de 15%. Toutefois, cette limite n'est pas clairement établie et certains considèrent que la digestion en voie sèche correspond à une teneur en solides de plus de 20%, la voie liquide étant définie pour les teneurs en solides de moins de 10%. Ainsi la zone intermédiaire correspondant à la tranche de 10 à 20 % de matières sèches, peut parfois être qualifiée de voie semi-sèche, comme le montre la **Figure 9** (Garcia-Bernet et al. 2011). Les procédés en voie sèche peuvent atteindre jusqu'à 50% de matières sèches dans le réacteur (Lei et al. 2015).

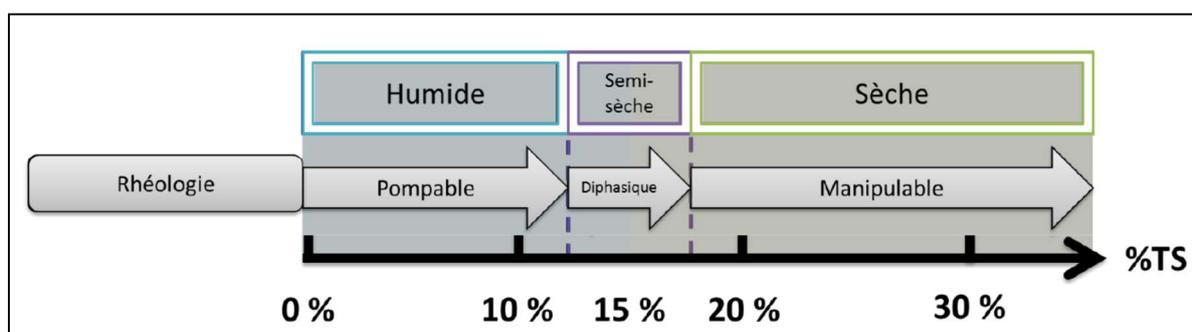


Figure 9. Définition des bornes de la digestion anaérobie en voie sèche (adapté de Motte, 2013).

Si la teneur en matières sèches dans le réacteur est utilisée pour différencier les différents procédés, on ne peut simplement considérer ce paramètre pour caractériser le procédé. En effet, pour une même teneur en matières sèches, le comportement du substrat à l'eau est dépendant de sa nature. Comme l'indique Motte (2013), la teneur en eau globale et le type de substrat influent sur la rhéologie du milieu, ce qui fait évoluer la nature du procédé (**Figure 9**). C'est pourquoi la caractérisation du procédé doit tenir compte non seulement de la teneur en eau, mais aussi de son comportement dans

le substrat. De plus, la méthode d'apport d'eau (de liquide) dans le procédé diffère selon le type de procédé. A forte teneur en solide, du fait de la difficulté à mobiliser la matière, un fonctionnement par percolation est souvent utilisé. Il consiste à apporter du liquide en pluie au-dessus du tas de solide et à le laisser s'écouler à travers ce tas.

Les procédés en voie solide sont généralement adaptés aux substrats très riches en matières sèches (Li, Park, and Zhu 2011), ce qui est le cas des OMR. En effet, selon Ge, Xu, et Li (2016), le recours à la digestion anaérobie liquide pour des substrats contenant initialement peu d'eau nécessite d'apporter des quantités d'eau importantes et génère donc beaucoup d'effluents liquides. Par rapport à la voie solide, le contrôle de température (chauffage) est plus énergivore, et le digestat produit est plus humide (donc son utilisation est moins aisée). En revanche, en voie solide, les transferts de matière sont rendus plus difficiles et la charge organique plus importante facilite l'accumulation des composés inhibiteurs pour la méthanogenèse (ammoniaque, AGV), ce qui peut engendrer une baisse de rendement en méthane (Ge, Xu, and Li 2016; Aslanzadeh, Rajendran, and Taherzadeh 2014).

Les technologies commerciales de procédés voie sèche les plus connues sont celles développées par Dranco, Valorga, Kompogas représentées à la **Figure 10**. Ces procédés fonctionnent dans la gamme de 20 à 40 % de matières sèches dans le réacteur et sont majoritairement utilisés pour le traitement de déchets municipaux solides, déchets de cuisine ou déchets de jardin (Bolzonella et al. 2006; Li, Park, and Zhu 2011). On peut également citer les procédés Bekon, Biocel et Strabag, qui traitent des déchets ménagers ou leur fraction organique (Lei et al. 2015). Le réacteur à lit percolant ou Leach Bed Reactor (LBR) est une technologie de réacteur simple utilisée en digestion anaérobie. Le procédé Bekon représenté à la **Figure 11** est un exemple de procédé LBR. Ce type de technologie nécessite une quantité plus limitée de liquide que la voie humide car la percolation de liquide au sein du lit de déchets statique permet aux réactions biologiques de se produire dans un environnement relativement sec (Lei et al. 2015).

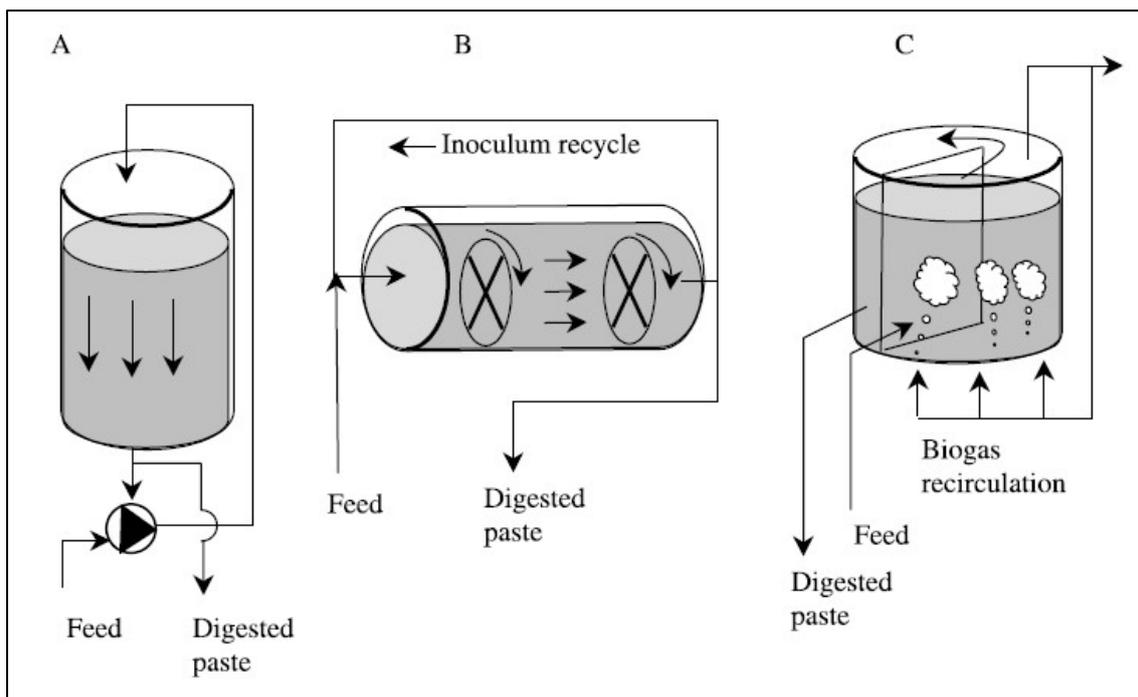


Figure 10. Technologies de digesteurs en voie sèche développées par Dranco (A), Kompogas (B) et Valorga (C) (Bolzonella et al. 2006).

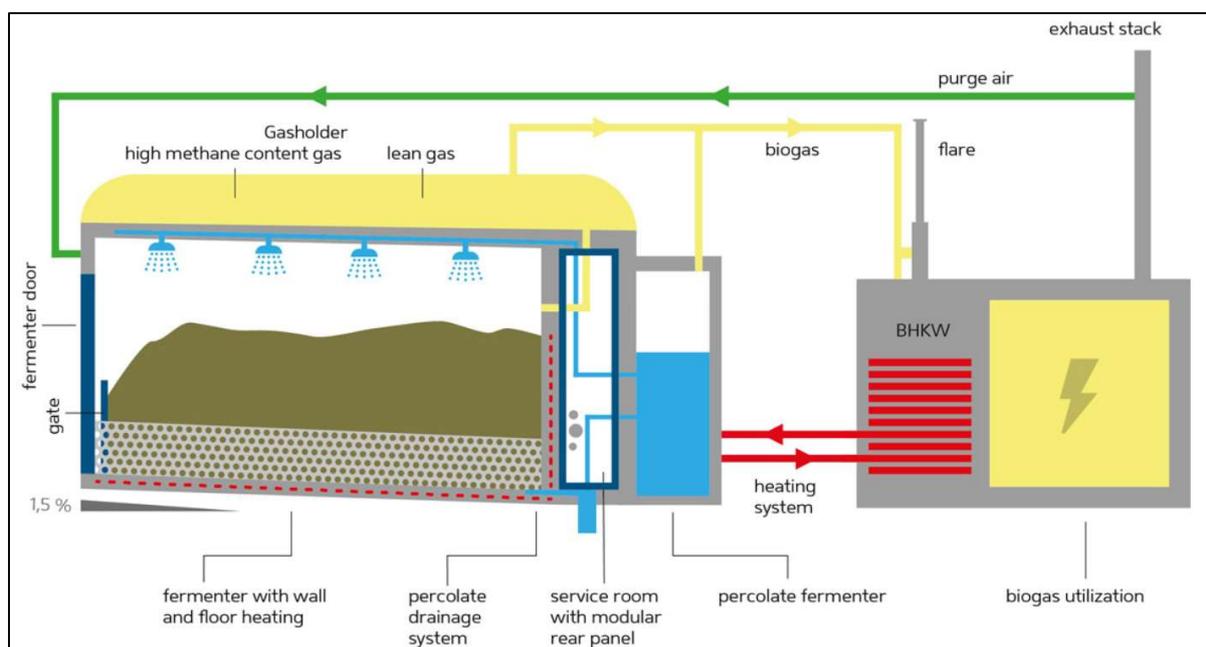


Figure 11. Schéma de principe de la technologie Bekon (BEKON 2016).

3.1.2. Procédés continus, discontinus, semi-continus, séquentiels

Ces modes de fonctionnement font référence à la méthode d'alimentation du substrat dans les réacteurs. Dans les procédés continus, la matière fraîche à digérer est apportée continuellement dans le réacteur. En contrepartie, le déchet digéré est retiré en quantité équivalente à l'alimentation. Ainsi, la quantité de matière à l'intérieur du réacteur est maintenue constante. Dans les procédés discontinus, dits batch, la totalité de la matière fraîche est chargée dans le réacteur en début de digestion. Il n'y a plus aucun apport ou retrait de matière au cours de la dégradation ; le réacteur est vidé uniquement lorsque celle-ci est terminée. Il existe également des systèmes semi-continus dans lesquels le réacteur est rempli en permanence alors que la digestion se produit. L'alimentation est arrêtée lorsque le réacteur contient la quantité de matière souhaitée et la digestion se poursuit. En fin de dégradation, le réacteur est totalement vidé. Enfin, on peut parler des digesteurs discontinus séquentiels ou SBR dans lesquels le fonctionnement s'effectue de manière cyclique avec des phases de remplissage, de réaction, de décantation et de vidange (Moletta 2008; Carlei 2013).

Le type de substrat peut conditionner le choix d'alimentation du procédé. Par exemple, la mise en œuvre d'un apport et d'un retrait continu de matière peut être compliquée lorsque la matière est difficilement « pompable ». De plus, un fonctionnement en batch induit l'absence de renouvellement de la matière et des micro-organismes. Dès lors, l'apport d'un inoculum et le choix de celui-ci s'avèrent primordiaux. Par ailleurs, en batch la production de biogaz suit une dynamique en forme de courbe de croissance microbienne : elle est maximale en phase exponentielle et n'est donc pas constante (Motte et al. 2013). Le temps de séjour solide, qui correspond à la durée pendant laquelle la matière reste dans le réacteur, et qui sera égal au temps de la réaction en batch, doit donc être modulé selon l'objectif (dégradation maximale, volume important de biogaz et teneur en CH₄/CO₂, concentrations élevées en molécules intermédiaires solubles et qualité du spectre de produits).

En voie solide, les procédés commerciaux Dranco, Kompogas, Valorga et Strabag sont des procédés continus. Les procédés Bekon et Biocel sont des procédés discontinus.

3.1.3. Procédés mésophiles, thermophiles

La température est un paramètre d'importance dans les procédés de digestion anaérobie car elle impacte les cinétiques de réactions biologiques. Si la digestion anaérobie peut se produire dans une gamme très large de températures allant de 10 à 70°C, on distingue principalement deux types de procédés : les procédés mésophiles (≈ 35°C) et les procédés thermophiles (≈ 55°C). Ces températures correspondent en effet à des optima pour l'activité biologique. Le fonctionnement à température ambiante existe mais il ne garantit pas la stabilité des performances, en raison de la possibilité de variations saisonnières de température. Néanmoins, le développement de technologies psychrophiles (≈ 10-15°C) ou à température ambiante présente un intérêt car il permet une économie en frais de chauffage et une utilisation dans des zones tempérées (Mata-Alvarez 2003; Moletta 2008).

La température influence la cinétique et la thermodynamique des réactions anaérobies. La méthanogenèse est particulièrement influencée par la température de fonctionnement. Les

températures thermophiles permettent d'obtenir de meilleurs rendements et donc des productions de biogaz plus importantes (Mata-Alvarez 2003) tout en réduisant le temps de réaction, comme le montre la **Figure 12**, puisque les vitesses de réaction sont augmentées avec la température. Cependant, la nécessité de chauffage est accrue et doit être contrebalancée par le gain en production de biogaz. Par exemple, si la production de biogaz est suffisante, une partie de celui-ci peut servir à chauffer le procédé.

En voie solide, on distingue les procédés thermophiles Dranco et Kompogas. Les technologies Valorga, Bekon et Biocel sont exploitées en fonctionnement mésophile ou thermophile (Lei et al. 2015; André, Paus, et Ribeiro 2018).

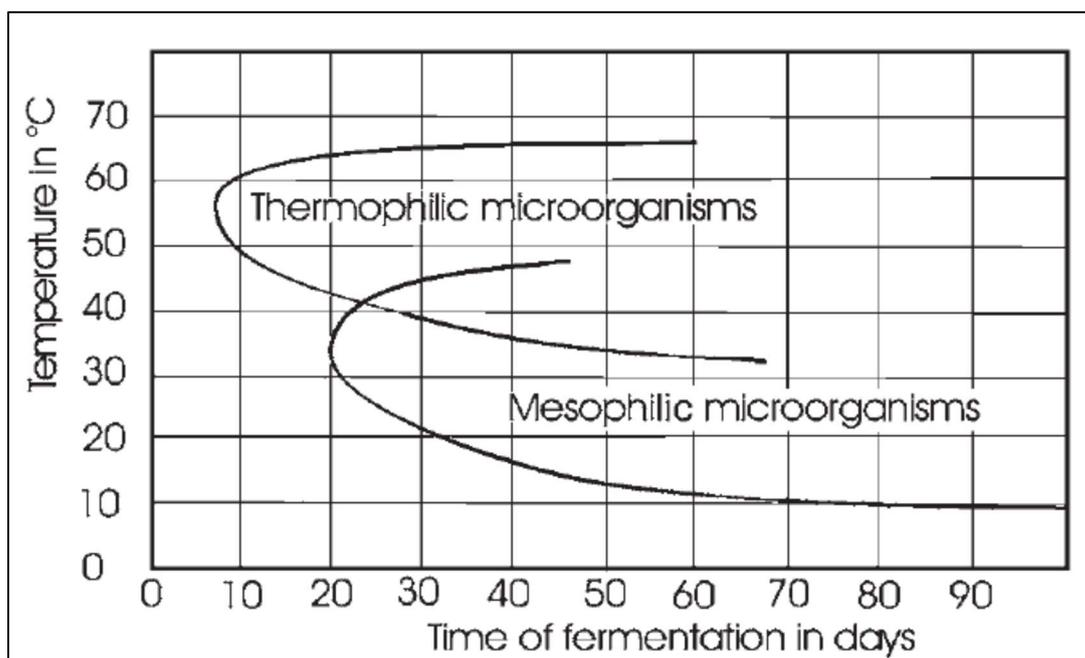


Figure 12. Influence de la température sur la durée de fermentation (Deublein and Steinhauser 2009).

3.1.4. Procédés agités et statiques

En termes d'agitation et de mélange de la matière dans les réacteurs, il existe des procédés dans lesquels la matière à digérer est statique et d'autres où celle-ci est agitée.

Les modes d'agitation sont divers. Un brassage mécanique peut être assuré soit par un élément en mouvement dans le réacteur (hélice, turbine, ancre, vis sans fin, etc.) (procédé Strabag), soit par rotation du corps du réacteur (procédé Kompogas). Le brassage mécanique est très répandu mais n'est toutefois pas adapté à tous les types de substrat (difficulté d'agitation pour des matières très denses ou très sèches) et en cours d'opération les équipements internes ne sont pas disponibles pour la maintenance (Karim et al. 2005; Leonzio 2018). L'injection de biogaz peut aussi être mise en œuvre pour assurer le mélange, comme dans le procédé Valorga. Lee, Cho, et Maeng (1995) ont montré que le mélange par injection de biogaz permettait d'atteindre une vitesse de production de biogaz plus importante que l'agitation mécanique par turbine, en suggérant que la création de bulles de gaz pouvait

favoriser le contact entre les micro-organismes et le substrat. Toutefois, le colmatage des injecteurs peut survenir. Enfin, à l'instar du procédé Dranco, la matière peut être directement recirculée au sein du réacteur par pompage.

Les procédés où la phase solide est statique sont en général des procédés en voie sèche. Le mélange de la matière à proprement parler n'est pas effectué, mais une recirculation de liquide au sein du réacteur est mise en œuvre. Cela permet, par le mouillage du solide, d'activer les réactions biologiques tout en répartissant les micro-organismes et les substrats solubles dans le lit de matière. C'est le mode de fonctionnement du procédé Bekon (type LBR).

3.1.5. Procédés en une ou plusieurs étapes

Dans les procédés à une seule étape, toutes les phases de la digestion du déchet s'effectuent dans le même réacteur. Cependant, les caractéristiques métaboliques et les taux de croissance des populations méthanogènes étant très différents de ceux des autres populations, il a été proposé de séparer l'étape finale des précédentes (Selvam et al. 2010). En effet, les bactéries productrices d'acides croissent plus rapidement et sont souvent moins sensibles aux fluctuations de conditions opératoires (pH, température notamment) que les archées méthanogènes (Gerardi 2003), comme le montre le **Tableau 15** (voir aussi **Tableau 14**). L'équilibre entre toutes ces populations peut donc être difficile à établir, allongeant le temps nécessaire à l'obtention d'un fonctionnement optimal et à la production de biogaz.

Ainsi, des procédés à deux étages peuvent être utilisés. Un premier réacteur permet de réaliser les étapes d'hydrolyse et d'acidification, les produits issus de cette première partie alimentent le second réacteur qui est dédié à la production de méthane. Cette stratégie permet d'optimiser séparément les deux procédés. En général, le temps de séjour est plus court dans le premier réacteur, il doit toutefois être suffisant pour permettre l'hydrolyse du substrat. Le pH est aussi plus faible dans ce réacteur pour éviter le développement des archées méthanogènes. La séparation des deux étapes permet par ailleurs de modérer l'apport d'acides organiques dans le second réacteur, car leur accumulation peut inhiber la méthanogenèse (Moletta 2008).

Le **Tableau 16** montre des exemples de procédés à une et deux étapes étudiés dans la littérature. Le LBR, qui est une technologie en voie sèche, peut être utilisé en première étape d'un procédé de méthanisation de substrats solides (Dogan et al. 2009; Cysneiros et al. 2011; S. Y. Xu et al. 2011a). Cysneiros et al. (2012a) ont utilisé pour l'étape de méthanogenèse un réacteur anaérobie à lit de boues (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB).

Tableau 15. Sensibilité des micro-organismes impliqués dans la digestion anaérobie (adapté de Moletta 2008).

	Hydrolyse	Acidogenèse	Acétogenèse	Méthanogenèse
Vitesse de croissance (durée nécessaire)	Très rapide (quelques heures)	Rapide (0.01 – 2.7 j)	Rapide (0.13 – 0.86 j)	Lente (4 j)
pH optimal		5.2 – 6.2		6.5 – 7.6
Sensibilité pH		Faible		Elevée
Sensibilité température		Modérée		Elevée
Sensibilité H₂		Elevée		Relativement faible

Tableau 16. Exemples de procédés à une ou deux étapes étudiés dans la littérature.

Référence	Substrat	Procédé
Cysneiros et al. (2012)	Maïs (plante entière)	2 étapes : LBR puis UASB
Aslanzadeh, Rajendran, et Taherzadeh (2014)	Fraction organique des déchets municipaux solides, et déchets de l'industrie alimentaire	1 étape : CSTR 2 étapes : CSTR puis UASB
Chugh et al. (1999)	Déchets municipaux solides en mélange	1 étape : LBR
Rodriguez-Pimentel et al. (2015)	Fraction organique des déchets municipaux solides et dilution des lixiviats avec des eaux usées	2 étapes : LBR puis UASB
Gou et al. (2014)	Boues activées et déchets alimentaires	1 étape : CSTR semi-continu

3.2. Procédés pour la fermentation acidogène des ordures ménagères résiduelles

3.2.1. Procédés existants

A grande échelle, la méthanisation est le seul bioprocédé anaérobie de traitement des OMR en France. Comme son nom l'indique, elle est principalement employée pour la production de biogaz qui est ensuite valorisé en génération de chaleur et d'énergie. La méthanisation présente en effet moins de contraintes techniques et scientifiques que la production de composés chimiques liquides. La séparation des AGV du milieu de fermentation, l'inhibition de la méthanogenèse, la conduite du procédé pour une production suffisante des AGV ciblés sont les principaux freins que l'on peut citer (Aglar et al. 2011).

Toutefois ces dernières années, des bioprocédés pour la production d'acides carboxyliques ont été développés, en laboratoire comme à l'échelle industrielle. Aussi, parmi les procédés présentés précédemment, certains peuvent être utilisés pour la production d'AGV par fermentation acidogène. Notamment, dans les procédés à deux étapes, les réacteurs employés en 1^{ère} étape sont parfaitement adaptés pour cet usage puisque leur vocation est de réaliser l'hydrolyse et l'acidification de la matière à digérer. De plus, l'utilisation de procédés en voie sèche est pertinente pour ce type de substrat car les ordures ménagères résiduelles sont des déchets solides contenant peu d'eau. L'agitation mécanique

serait difficile en raison des caractéristiques de ces déchets (forte teneur en solides) et est aussi à exclure. Ainsi, le choix du réacteur à lit percolant semble approprié dans ce cas de figure. Le LBR est effectivement l'un des réacteurs les plus courants en fermentation anaérobie voie sèche (Yesil et al. 2014).

En termes de procédés brevetés, on peut citer la technologie MIXALCO qui convertit de la biomasse lignocellulosique en carboxylates par fermentation en utilisant des cultures mixtes de micro-organismes acidogènes. Les étapes physico-chimiques suivantes permettent de produire des esters ou des alcools à partir de ces carboxylates. L'étape de fermentation correspond à un fonctionnement de type LBR avec une recirculation de liquide provenant du tas de déchets additionné de lixiviat issu d'une pile de déchets précédente ayant atteint à un niveau de fermentation plus avancé (Granda et al. 2009). Il existe aussi la technologie AFYNERIE qui vise à produire des AGV à partir de différents types de déchets (pulpe surpressée et mélasses de betteraves sucrières, déchets verts, fumiers et lisiers, fraction fermentescible des ordures ménagères, invendus de supermarchés, par exemple). Dans ce procédé, des micro-organismes issus d'écosystèmes naturels définis sont utilisés pour inoculer la fermentation et une réinjection de lixiviat issu du fermenteur est possible (Afyren 2015; Nouaille, Pessiot, and Afyren 2015).

3.2.2. Réacteur à lit percolant pour la fermentation acidogène en voie sèche

Le réacteur à lit percolant ou LBR est un procédé approprié au traitement de déchets secs et non fluides (qui ne peuvent être pompés). Il consiste à faire percoler un effluent dilué issu du procédé de digestion, recirculé à travers le tas de déchets au sein du digesteur, afin de faciliter la dégradation (Wedwitschka, Jenson, and Liebetau 2016). Comme le montre la **Figure 13**, c'est un réacteur colonne à une étape où le substrat solide statique est placé dans la colonne et le lixiviat est récolté en bas de réacteur et recirculé à travers ce lit solide, assurant ainsi une fonction de mélange et d'humidification au sein du réacteur (Carlei 2013; Dogan et al. 2009; Yesil et al. 2014). Cette recirculation de liquide peut se faire de manière continue ou intermittente.

Le réacteur à lit percolant est avantageux car il permet simultanément la production de molécules organiques solubles et leur récupération avec la circulation du lixiviat. En termes de fonctionnement, il nécessite de plus faibles quantités d'eau qu'un procédé en voie humide, et moins d'énergie qu'un réacteur agité mécaniquement (cas du CSTR). De plus, les déchets peuvent être utilisés sans ou avec peu de prétraitement et il n'y a pas de séparation des phases liquide et solide à effectuer (Dogan et al. 2009; Yesil et al. 2014). La recirculation permet d'assurer une homogénéisation efficace du milieu réactionnel tandis que l'état statique des déchets solides amoindrit les risques problèmes mécaniques et les pannes (Carlei 2013). C'est donc un procédé relativement simple dans sa constitution et peu coûteux. Enfin, du fait des faibles quantités d'eau, les concentrations en AGV obtenues en LBR sont élevées en comparaison d'un réacteur opéré à plus forte teneur en eau. A l'échelle laboratoire, Dogan et al. (2009) ont montré que le LBR (d'un volume utile de 4L) était un procédé efficace pour l'hydrolyse et la production d'acides organiques et que des vitesses rapides de dégradation de la fraction organique des déchets municipaux solides pouvaient être obtenues avec cette technologie. Toujours à l'échelle

du laboratoire, Carlei (2013) a aussi étudié et comparé un procédé à lit percolant et un procédé de lixiviation (où le substrat est en contact permanent avec l'eau) sur des déchets ménagers réels et reconstitués. Il a mesuré l'extraction de carbone organique et a ainsi observé que malgré un démarrage plus rapide en lixiviation, à l'état final, le lit percolant a permis une plus grande récupération de matière organique : le pourcentage de carbone initial extrait a été augmenté de 21% et de 10 % dans les déchets artificiels et réels respectivement, par rapport à la lixiviation.

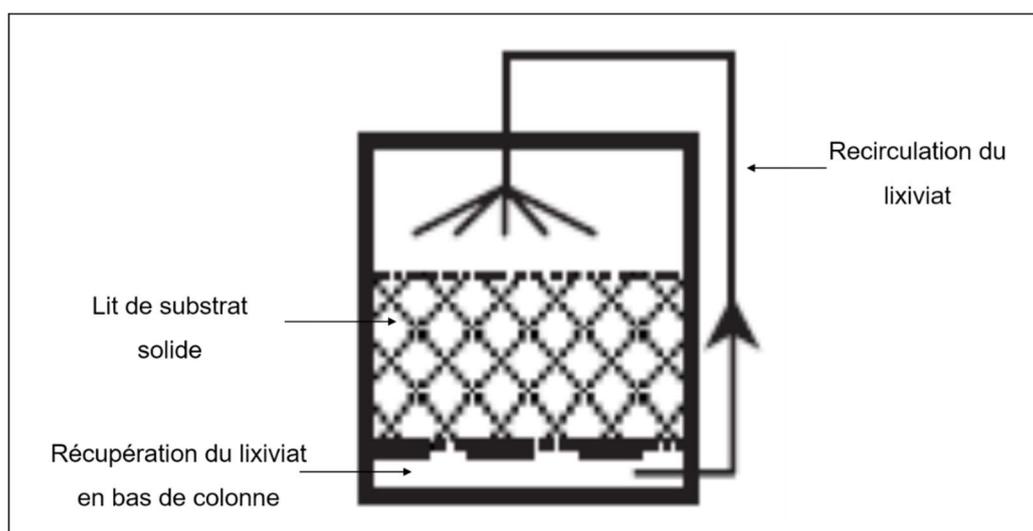


Figure 13. Schéma d'un réacteur à lit percolant ou Leach Bed Reactor (LBR) (adapté de Lissens et al. 2001).

Pour assurer l'efficacité de la dégradation au cours de la digestion anaérobie, la présence d'eau en quantité suffisante est un paramètre essentiel. Pommier et al. (2007) ont par exemple estimé, lors de la digestion de papiers et cartons, une quantité minimale d'eau de 0.67 g H₂O /g MS en deçà de laquelle aucune activité biologique (méthanogène) n'était détectée. De plus, l'activité maximale était mesurée à une certaine valeur de teneur en eau (la capacité au champ, 1.94 g H₂O /g MS) et n'augmentait plus au-delà de celle-ci. Les performances lors de la digestion sont donc modifiées par la teneur en matières sèches dans le réacteur. Abbassi-Guendouz et al. (2012) ont montré que, la vitesse de l'hydrolyse microbienne était réduite pour des teneurs en matières sèches de 10 à 25% ; à 30 et 35%, de fortes accumulations d'AGV étaient par ailleurs observées dans les digesteurs. Or, dans un procédé à lit percolant, le contact discontinu entre les phases solide et liquide peut impacter les performances du procédé. La percolation à travers un lit solide engendre la formation de chemins préférentiels, provoquant l'assèchement de certaines zones dans lesquelles la dégradation de la matière risque donc d'être réduite. L'hydrolyse peut aussi être limitée lorsque la teneur en solides est très élevée, en raison d'une surface de contact trop peu importante entre bactéries et déchets (limitation par transfert de matière) (Myint and Nirmalakhandan 2006). Selon Pommier et al. (2007), le contrôle de la teneur en eau par l'injection de lixiviat est censé accélérer la biodégradation de la matière organique,

en rendant le substrat accessible aux micro-organismes. Le lit de matière doit donc être et rester perméable durant l'opération du procédé, afin que le lixiviat injecté puisse assurer cette fonction (Wedwitschka, Jenson, and Liebetau 2016). L'étude du comportement hydrodynamique du lit de déchets en LBR est primordiale pour permettre une mise en œuvre optimale du procédé.

3.3. Conclusions

Les procédés utilisés en fermentation acidogène s'inspirent généralement de technologies développées initialement pour la production de méthane. Cette partie a donné un aperçu des caractéristiques qui définissent la configuration et le fonctionnement d'un procédé de digestion anaérobie, et donc de fermentation acidogène par extension. En se basant sur les spécificités du substrat sélectionné et les caractéristiques de procédé présentées, il a été montré que l'emploi d'un réacteur à lit percolant ou LBR pour la fermentation acidogène des OMR était pertinent. Le choix des conditions opératoires sera déterminant pour la mise en œuvre de ce procédé en voie solide. Aussi, les paragraphes suivants s'intéresseront aux paramètres qui peuvent influencer la production d'AGV.

4. Paramètres influençant les processus biologiques et chimiques de production d'AGV

4.1. Qualité du substrat

La composition des déchets est une caractéristique fondamentale qui peut affecter la fermentation. D'une manière générale, les substrats utilisés doivent être suffisamment riches en matière organique. Lee et al. (2014) indiquent des teneurs en matière organique de plus de 150 mg DCO/g déchet brut (soit 15% massique) pour l'utilisation de la fraction organique des déchets municipaux solides en fermentation acidogène. Par ailleurs Buffiere et al. (2008) donnent des exemples de caractéristiques de déchets municipaux solides rassemblés dans le **Tableau 17**. Ces déchets présentent des teneurs en DCO allant de 1.16 à 1.48 gDCO/gMV, soit 0.26 à 0.48 gDCO/g déchet brut.

Tableau 17. Caractéristiques de 5 échantillons de déchets municipaux solides (données issues de Buffiere et al. (2008)).

Exemple	MS (gMS/g)	MV (gMV/gMS)	DCO (gO ₂ /gMV)	NTK (gN/gMV)	BMP (mL CH _{4,CNTP} /gDCO)
1	0.776	0.238	1.435	0.025	123.7
2	0.526	0.613	1.354	0.032	105.6
3	0.573	0.606	1.378	0.058	114.7
4	0.588	0.600	1.160	0.040	137.9
5	0.404	0.672	1.475	0.105	130.2

Les proportions de sucres, protéines et lipides sont importantes pour la fermentation car, comme indiqué au **Paragraphe 2.2**, leur dégradation conduit à la formation de différents produits d'hydrolyse et d'acidogénèse. Yin et al. (2016) ont comparé la fermentation en culture mixte de trois substrats simples (glucose, peptone et glycérol, produits de l'hydrolyse de sucres, protéines et lipides respectivement) et de leur mélange en proportions de DCO égales. Ils ont observé que pendant la phase de production la plus intense d'AGV, les vitesses de conversion du glucose, de la peptone et du glycérol en AGV étaient décroissantes dans cet ordre (5.68, 5.04 et 2.25 gDCO/L/j respectivement). Les rendements totaux en AGV atteints étaient également plus importants pour le glucose (0.659 gDCO_{AGV}/gDCO_{substrat}) que pour la peptone (0.596 gDCO_{AGV}/gDCO_{substrat}) et le glycérol (0.510 gDCO_{AGV}/gDCO_{substrat}). Le mélange a permis d'obtenir le rendement plus élevé (0.665 gDCO_{AGV}/gDCO_{substrat}). Ils ont aussi mis en évidence que pour les quatre substrats étudiés, des voies de fermentation différentes étaient mises en œuvre alors que les conditions opératoires étaient identiques. Ainsi, les acides butyrique, acétique et propionique étaient majoritairement produits à partir de glucose, peptone et glycérol respectivement. Alibardi et Cossu (2016) ont mélangé différentes fractions de déchets organiques afin d'étudier l'influence des teneurs en sucres, protéines et lipides sur le processus de fermentation. Ils ont ainsi pu montrer que la production d'acide butyrique était influencée par la composition chimique du substrat, le principal facteur étant la teneur en sucres suivi de la teneur en protéines, avec toutefois de coefficients de corrélation faibles. La teneur en lipides n'a pas montré d'effet significatif sur la production de cet acide. Parawira et al. (2004) ont aussi observé une production importante d'acide butyrique à partir d'un substrat riche en sucres (pomme de terre). En revanche, les AGV à forte masse moléculaire tels que l'acide (iso-)valérique étaient produits en faibles quantités en raison de la faible teneur en azote du substrat (azote Kjeldahl : 15 g.kg MS⁻¹), ces AGV étant principalement issus de la fermentation des protéines (Elefsiniotis and Oldham 1994).

En plus du carbone, différents éléments sont nécessaires au bon déroulement de la dégradation anaérobie de la matière : l'azote et le phosphore, dits nutriments ; le soufre et d'autres éléments traces minéraux (par exemple : fer, nickel, cuivre, magnésium, calcium, sodium, baryum, sélénium, cobalt) dits micronutriments (Mata-Alvarez 2003). En digestion anaérobie comme en fermentation acidogène, la proportion d'azote par rapport au carbone dans le substrat, caractérisée par le ratio C/N, est aussi un paramètre important car les carences doivent être évitées (Motte 2013). Liu et al. (2008) ont étudié en batch la fermentation acidogène de boues d'épuration présentant différents ratios C/N massiques (de 5 à 15.1). Ils ont obtenu des productions d'AGV (de 3 à 150 mgDCO/gMV) augmentant avec le ratio C/N. Ils ont pu confirmer cette tendance en réalisant la même expérience avec des mélanges de substrats modèles (protéine de soja et amidon de maïs) en faisant varier le ratio C/N massique initial de 5 à 30 (**Figure 14-a**). Parallèlement, la répartition des AGV produits a été modifiée avec l'augmentation du C/N initial dans le sens d'une augmentation de la proportion d'acide butyrique conjointement à la diminution de celle d'acide acétique (**Figure 14-b**). La forme sous laquelle se trouve l'azote importe également car l'azote ammoniacal (ammonium et ammoniac) est un inhibiteur potentiel en digestion anaérobie (Li, Park, and Zhu 2011; Parkin and Owen 1986). Le phosphore est également essentiel pour la croissance bactérienne, en plus faible quantité que l'azote (1/7 à 1/5 des besoins en azote), de même que d'autres nutriments incluant certains métaux (Parkin and Owen 1986). Les micronutriments, présents en faibles

quantités, visent à stimuler la croissance microbienne, mais leur excès peut aussi provoquer des inhibitions (Mata-Alvarez 2003).

Il apparaît donc clairement que la composition du substrat et la présence de divers éléments en quantité suffisante peuvent affecter les performances de fermentation, orienter le spectre de produits, mais aussi impacter la cinétique de production et ce, principalement en raison des vitesses d'hydrolyse variables en fonction des substrats. Dans le cas de la fermentation des OMR, cela pose aussi la question de la variabilité de la ressource. Les OMR représentent en effet un substrat hétérogène car composé de divers éléments qui peuvent varier par exemple suivant les saisons (déchets alimentaires variables, production plus ou moins importante de déchets verts, etc.).

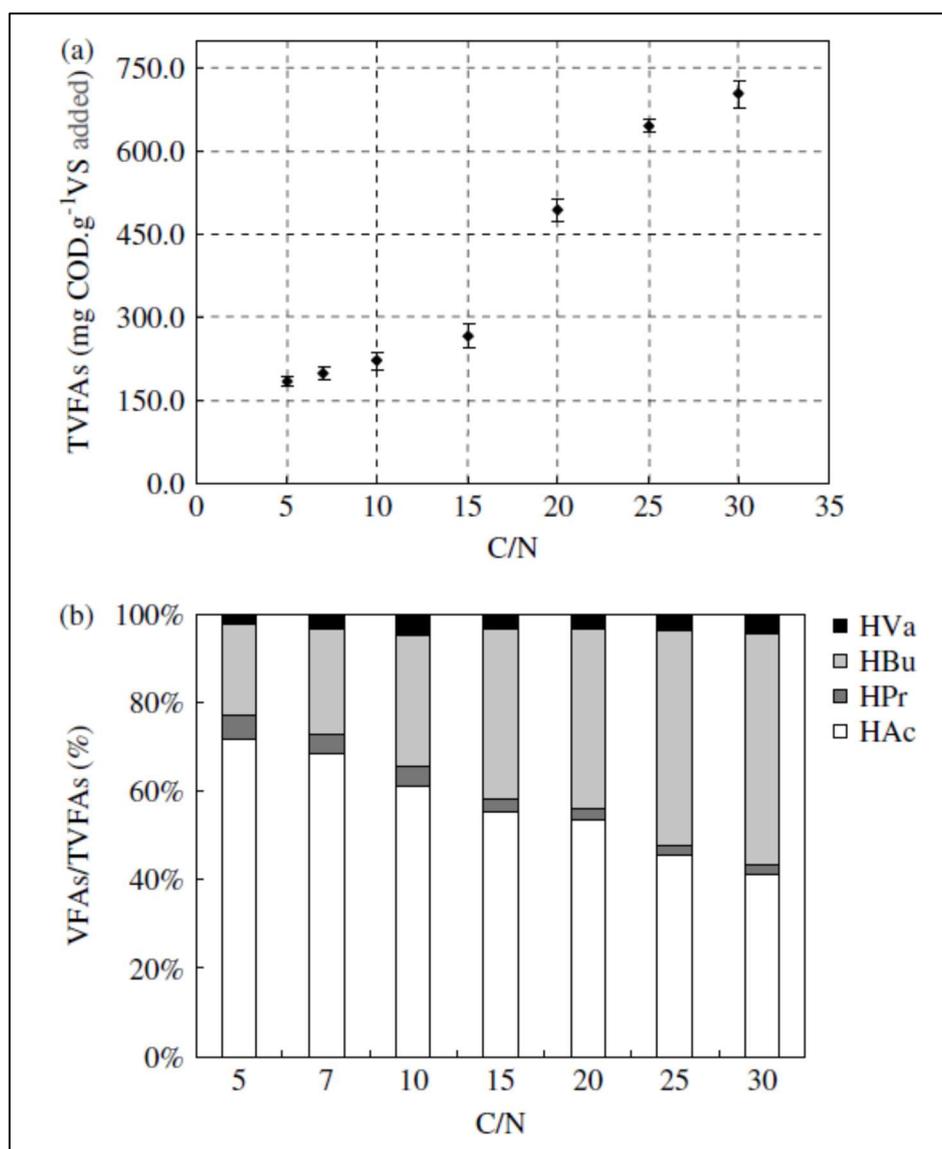


Figure 14. Evolution du rendement de production d'AGV (a) et de la répartition des AGV (b) à partir de protéine de soja et amidon de maïs, en fonction du ratio C/N initial (X. Liu et al. 2008).

4.2. Inoculation : origine et prétraitement de l'inoculum, taux d'inoculation

Le type de micro-organismes présents dans le réacteur au démarrage conditionne la transformation initiale de la matière. Des fractions de digestats/lixiats issus de précédents réacteurs sont souvent utilisées comme source de micro-organismes. Plusieurs types de boues peuvent aussi être utilisés : boues municipales digérées, boues granulaires, boues de diverses usines ou industries (papeterie, production de bière). Certains emploient aussi des déchets agricoles d'origine animale (fumiers et lisiers) ou végétale (ensilages) (Gu et al. 2014; Forster-Carneiro et al. 2007; van Aarle et al. 2015; Motte 2013). Cependant, dans l'objectif de produire des AGV, il est nécessaire que la communauté soit riche en micro-organismes hydrolytiques et acidogènes actifs. C'est pourquoi les résidus de fermentation constituent des inocula de choix. En revanche, des archées méthanogènes, consommatrices d'AGV et non désirées, peuvent être présentes. L'inoculum peut alors faire l'objet d'un prétraitement pour inhiber ces populations. En effet, de nombreuses espèces de bactéries sont capables de former des endospores lorsqu'elles se trouvent dans des conditions environnementales défavorables, tandis que les méthanogènes ne résistent pas aux environnements hostiles (Cheong and Hansen 2006; Rafieenia, Lavagnolo, and Pivato 2018). Les bactéries sporulantes peuvent alors se réactiver une fois que les conditions redeviennent propices. Il existe de nombreuses méthodes de prétraitement, mais la voie thermique des cultures mixtes est la plus communément employée en raison de son efficacité pour inhiber l'activité méthanogène (Rafieenia, Lavagnolo, and Pivato 2018; Alibardi et al. 2012).

La quantité de micro-organismes ajoutés est décrite par le taux d'inoculation : on peut le définir par le ratio S/X entre la quantité de substrat notée S et celle de l'inoculum X (ou par le ratio inverse X/S). Ces quantités sont souvent exprimées en masse de matières volatiles (MV). Lorsque l'objectif est de maximiser la formation de produits en réduisant le temps nécessaire à la fermentation (réduction ou suppression du temps de latence), le taux d'inoculation S/X sera plutôt faible de manière à apporter suffisamment de micro-organismes dès le départ. A l'inverse, un S/X élevé permet le développement de communautés microbiennes qui s'adaptent aux conditions de fermentation. Xu et al. (2012) ont observé qu'en diminuant S/X jusqu'à environ 14,5 gMV/gMV (ce qui revient à augmenter la quantité initiale de micro-organismes), la vitesse d'acidogénèse était augmentée, de même que le degré d'acidification. Cependant, ils ont obtenu une faible augmentation de la dégradation de matières volatiles avec l'ajout de micro-organismes et ont donc estimé qu'une inoculation modérée (S/X d'environ 59 gMV/gMV) était convenable pour le procédé d'hydrolyse/acidogénèse.

L'apport d'un inoculum peut donc permettre de faciliter le démarrage (diminuer le temps de latence) et d'augmenter les performances globales de la fermentation acidogène. Plus particulièrement dans les procédés fonctionnant en batch, le choix de la source d'inoculum et du taux d'inoculation sont cruciaux car les micro-organismes ne sont pas éliminés du réacteur, et les communautés se développent uniquement par les processus de croissance et mort cellulaire.

4.3. pH et concentration en AGV

Le pH au sein du milieu a un impact important sur la croissance des groupes de micro-organismes intervenant à chaque phase du procédé. Il est globalement considéré que les processus d'hydrolyse et d'acidogénèse sont favorisés à des pH de l'ordre de 5.2 à 6.5, optimaux pour les bactéries hydrolytiques et acidogènes (Moletta 2008; Deublein and Steinhauser 2009; Cysneiros et al. 2012b). Mais Xie et al. (2012) indiquent une gamme de pH plus restreinte, entre 6 et 6.5, pour l'hydrolyse, avec une inhibition à un pH inférieur à 5. Aussi, selon Lee et al. (2014), la gamme de pH pour la production d'AGV s'étend de 5.5 jusqu'à 11 et se spécifierait en fonction du substrat utilisé : 5.5 à 6 pour des effluents de papeterie, 7 pour des déchets de cuisine, 8 à 11 pour des boues activées ou des boues primaires. De plus, la croissance des archées méthanogènes se fait en général à un pH de 6.5 à 7.6 (Moletta 2008). Ainsi, le maintien d'un pH relativement bas (inférieur à 6.5) devrait permettre de limiter l'activité méthanogène lorsque l'objectif est de produire les composés intermédiaires de la digestion anaérobie à partir de déchets de type OMR.

Le pH influence la croissance des micro-organismes, et par conséquent, l'efficacité des réactions biologiques. Cysneiros et al. (2012) ont montré que lors de la dégradation de coupe entière de maïs dans un LBR tamponné à un pH de 6.5, les rendements de dégradation de MV (caractérisant l'hydrolyse du substrat) et de production d'AGV étaient améliorés par rapport au même réacteur non tamponné où le pH atteignait la valeur de 4. La dégradation de MV a en effet été augmentée de 16 à 53% et la production d'AGV de 34 à 352%. L'activité des microorganismes hydrolytiques et acidogènes était inhibée à ce pH. Infantes et al. (2012) ont étudié l'effet du pH entre 4 et 6 et ont également montré qu'à un pH de 4, la consommation de glucose et la croissance microbienne étaient fortement inhibées. Des auteurs qui ont travaillé dans des gammes plus larges de pH 4 à pH 12 (Yinguang Chen et al. 2007; Yi Chen et al. 2012; Jankowska et al. 2015). Yinguang Chen et al. (2007) ont obtenu les taux de solubilisation de boues activées les plus élevés en conditions acides (pH 4-5) ou basiques (pH 9-11), avec toutefois des concentrations de DCO solubles et des productions d'AGV plus élevées à des pH basiques. De même, Yi Chen et al. (2012) ont observé une augmentation significative des concentrations en DCO soluble et en AGV totaux à pH 12 par rapport aux pH acide (6) et neutre, lors de la fermentation de plantes de zones humides. Ils ont notamment indiqué que des facteurs abiotiques (phénomènes de déconstruction de la matière et de lixiviation) étaient principalement responsables de l'augmentation des performances à pH 12.

Le pH de fonctionnement oriente aussi le spectre de métabolites produits. Jankowska et al. (2015) ont étudié l'effet du pH sur la fermentation batch de boues primaires et de boues activées. Ils ont ainsi pu observer des répartitions en métabolites différentes selon le pH, à des temps de rétention de 5, 10 et 15 jours. Après 15 jours, la fraction de butyrate était réduite et celle d'acétate augmentée à pH élevé (10-12) par rapport aux pH faibles (4-5). Dans l'étude de Horiuchi et al. (2002), les auteurs ont mis en évidence que les produits majoritaires de l'acidogénèse du glucose passaient de l'acide butyrique aux acides acétique et propionique lorsque le pH de culture augmentait de 5 à 8. Lors de la fermentation de glucose en chemostat et en conditions de limitation de substrat, Temudo, Kleerebezem, et van Loosdrecht (2007) ont observé un changement de distribution des produits en fonction du pH. Les

produits majoritaires passaient de butyrate-acétate-hydrogène à pH bas (4-6.5), à acétate-éthanol-formate aux pH entre 6.5 et 8.5 (**Figure 15**). Enfin, il semble qu'autour du pH neutre, ce paramètre n'ait pas eu une grande influence sur la distribution des produits dans la mesure où les spectres observés étaient variables pour des conditions opératoires similaires (Temudo et al. 2008).

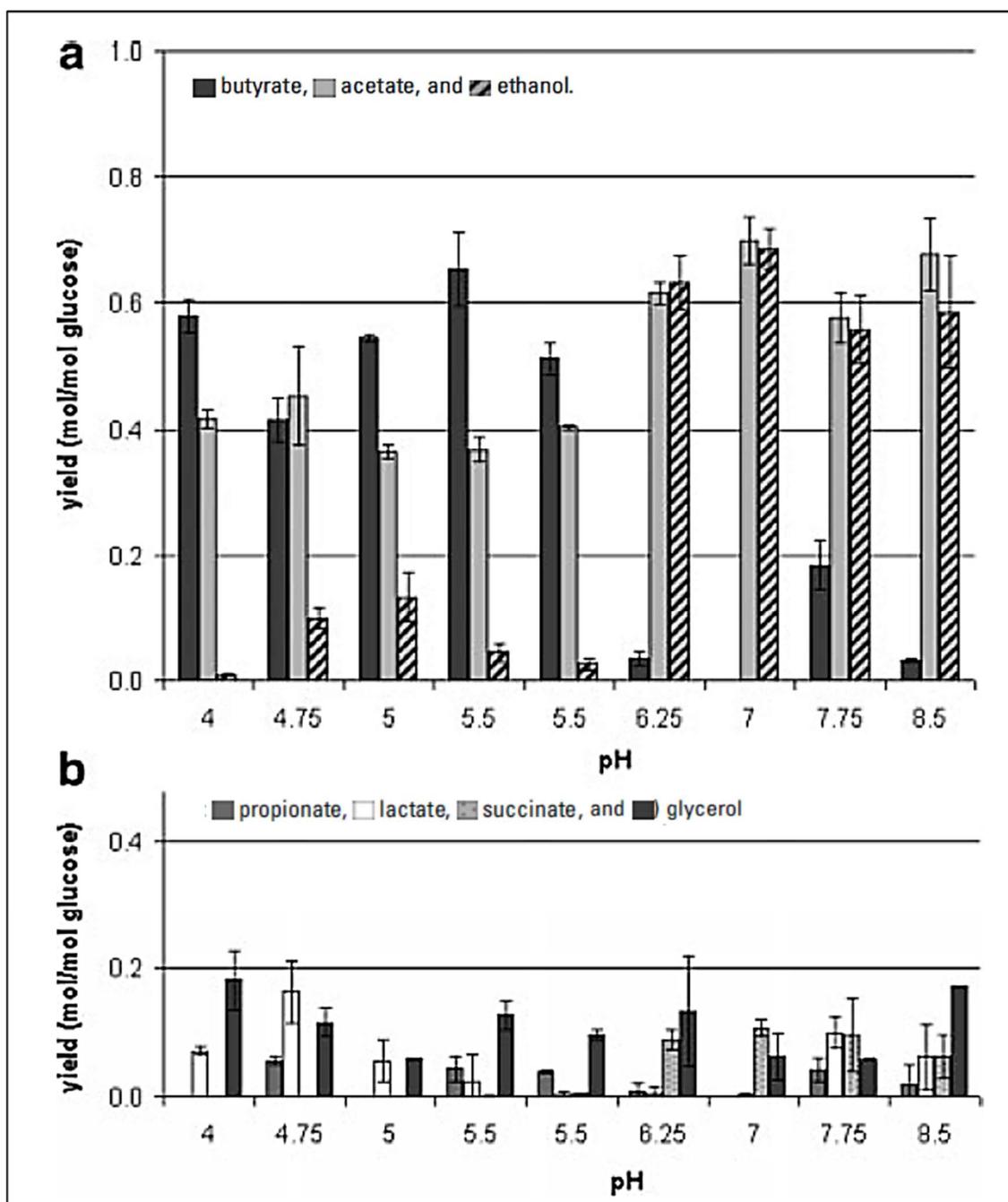


Figure 15. Influence du pH sur les rendements des produits majoritaires (a) et mineurs (b) lors de la fermentation de glucose (Temudo, Kleerebezem, and van Loosdrecht 2007).

La production d'acides organiques lors des phases d'acidogénèse et d'acétogénèse contribue à l'abaissement du pH dans le milieu réactionnel. En contrepartie, le pH détermine les fractions d'acide non dissocié (AH) et d'acide dissocié ($A^- + H^+$) dans le milieu : à un pH inférieur au pKa du couple acide-base AH/ A^- , la forme AH prédomine dans le milieu. Les acides sous forme AH sont capables de traverser la membrane cellulaire, et représentent donc la forme d'acide potentiellement toxique pour les micro-organismes (Jankowska et al. 2015; Warnecke and Gill 2005). Veeken et al. (2000) ont premièrement montré qu'à un pH entre 5 et 7, la vitesse d'hydrolyse de biodéchets dépendait du pH mais n'était pas liée à la concentration en AGV totaux (entre 3 et 30 g/L) ni à celle des AGV non dissociés. En revanche, He et al. (2007) ont de leur côté mis en évidence un possible rôle inhibiteur du pH et de l'acétate sur l'hydrolyse des sucres contenus dans des pommes de terre. En effet, ils ont observé que par rapport au pH neutre, une baisse (5-6) ou une hausse du pH (8-9) sans ajout d'acétate réduisaient de 10 à 50% les concentrations cumulées en carbone dissous. Avec l'ajout d'acétate (20 g/L) à pH neutre, la quantité de carbone dissous diminuait de 30%, et jusqu'à 60% aux autres pH. Aussi, si l'influence du pH est avérée, le rôle inhibiteur des AGV ne semble pas tout à fait clair.

Le pH de fonctionnement influence donc considérablement l'hydrolyse et l'acidogénèse en agissant sur l'activité des micro-organismes impliqués dans ces étapes. Les variations de pH agissent sur les cinétiques de dégradation mais modifient aussi le spectre des produits formés.

4.4. Température

De même que le pH, la température dans le réacteur peut grandement affecter les performances de fermentation. D'une manière générale, l'activité microbienne augmente avec la température jusqu'à un optimum au-delà duquel l'activité chute considérablement (Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991). Des plus, les micro-organismes ont chacun des températures de croissance et de fonctionnement optimales. Cependant, étant donnée la grande diversité de micro-organismes hydrolytiques et acidogènes, la gamme de températures possibles pour la mise en œuvre de la fermentation acidogène est large et s'étend de 4 à 80°C (W. S. Lee et al. 2014). Hao et Wang (2015) ont étudié l'effet de la température sur la production d'AGV à partir de boues municipales et ont observé à 55°C une accumulation d'AGV plus de 10 fois supérieure à celle du réacteur opéré à 35°C, ainsi qu'une augmentation de l'activité des hydrolases et des proportions de populations bactériennes impliquées dans les réactions d'hydrolyse et d'acidogénèse. Jiang et al. (2013) ont étudié l'effet de la température (35, 45 et 55°C) sur la fermentation de déchets alimentaires reconstitués, leurs résultats sont présentés sur la **Figure 16**. Les auteurs ont observé une augmentation de la solubilisation des déchets avec la température. Il est possible que la hausse des performances d'hydrolyse avec la température soit due à un effet positif de celle-ci sur la solubilisation (physico-chimique) et/ou sur l'activité des micro-organismes hydrolytiques. En revanche, l'acidogénèse était inhibée à 55°C car la production d'AGV était plus élevée à 45 et 35°C qu'à 55°C. Les différences de performances (DCO solubilisée, rendement en AGV et type d'AGV produits) entre les températures de 35 et 45°C n'étaient par ailleurs pas significatives. Dans l'étude de Cheah et al. (2018) sur la fermentation acidogène en batch de la fraction organique des déchets solides municipaux, la production d'AGV était croissante dans cet ordre : 70°C > 35°C > 55°C. Ils ont supposé qu'il existait des populations bactériennes plus adaptées à la production

d'AGV en conditions hyperthermophiles et mésophiles qu'en conditions thermophiles, et que par ailleurs l'acclimatation biologique et l'activité acidogène étaient plus facilitées à 70°C qu'à 35°C.

La température de fermentation oriente aussi le type d'AGV produits. Hao et Wang (2015) ont indiqué qu'au temps optimal de production, les AGV majoritaires en conditions mésophiles étaient les acides acétique et propionique, et les acides acétique et iso-valérique en conditions thermophiles. Avec l'augmentation de la température, les pourcentages d'acides acétique et iso-valérique augmentaient, alors que celles des acides propionique et butyrique étaient réduites. Jiang et al. (2013) ont obtenu des résultats quelque peu différents avec des productions majoritaires d'acides acétique et propionique à 35 et 45°C, et d'acide butyrique à 55°C (**Figure 16**).

La température joue donc un rôle sur la solubilisation de la matière, ce qui peut s'expliquer par un phénomène physique de dissolution de matière, mais aussi par une activité microbienne augmentée. En revanche, les résultats obtenus sur la production d'AGV ne sont pas toujours concordants, probablement du fait de conditions opératoires différentes. Par exemple, l'étude de Garcia-Aguirre et al. (2017) a montré qu'il était difficilement possible de tirer des conclusions générales concernant l'effet de la température (35 ou 55°C) sur les concentrations finales en AGV lorsque des substrats divers étaient utilisés.

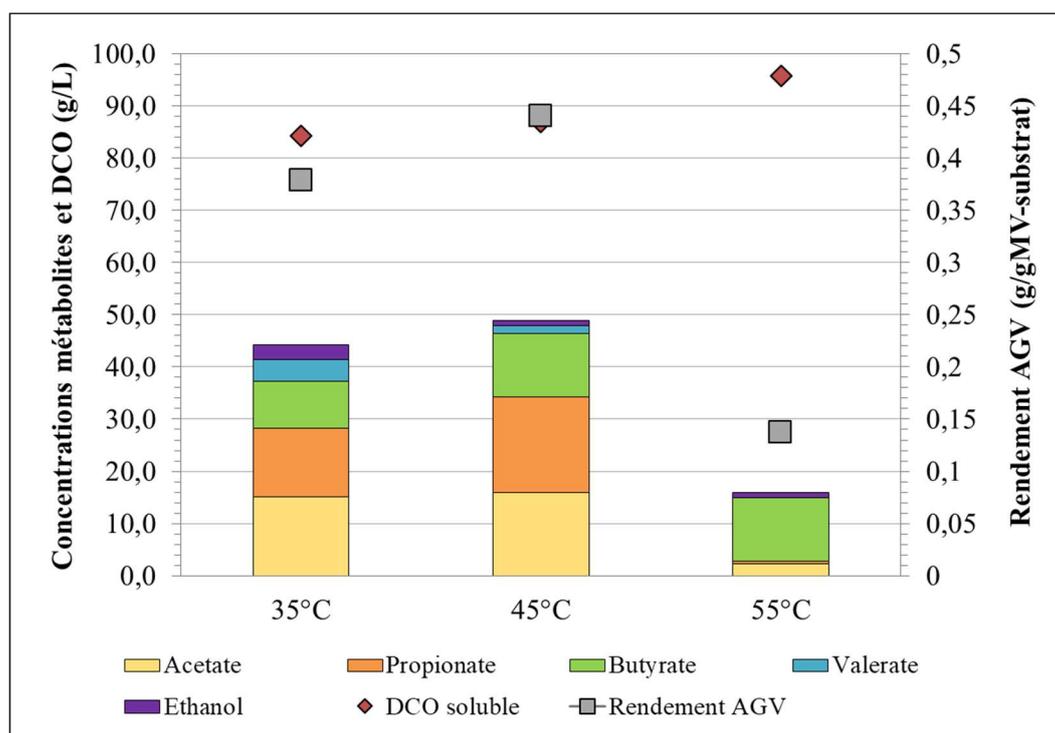


Figure 16. Effet de la température sur la solubilisation de DCO et la production d'AGV (données de Jiang et al. (2013)).

4.5. Pression partielle en dihydrogène

Nous avons vu au **Paragraphe 2.2** que la plupart des voies métaboliques de l'acidogénèse et de l'acétogénèse sont productrices d'hydrogène moléculaire. D'un point de vue thermodynamique, il est nécessaire d'avoir dans le milieu une quantité d' H_2 , c'est-à-dire une pression partielle en H_2 (p_{H_2}), suffisamment faible pour que les réactions productrices d'hydrogène puissent se produire (Mata-Alvarez 2003). En contrepartie, l'une des voies de la méthanogénèse consomme l'hydrogène, ce qui demande une p_{H_2} plus importante. La **Figure 17** montre les gammes de p_{H_2} pour lesquelles certaines réactions de la digestion anaérobie sont thermodynamiquement possibles (*i.e.* lorsque la variation d'énergie libre de Gibbs ΔG^0 correspondante est négative). Ainsi, les réactions d'acétogénèse du propionate et du butyrate demandent une p_{H_2} de moins de 10^{-4} et 10^{-3} atm respectivement, alors que la méthanogénèse hydrogénotrophe est possible si la p_{H_2} est supérieure à 10^{-6} atm (Harper and Pohland 1986).

Dans l'objectif de produire des acides organiques, les conditions de faible p_{H_2} permettent donc la réalisation des réactions d'acidogénèse et acétogénèse, alors que la méthanogénèse hydrogénotrophe peut être inhibée.

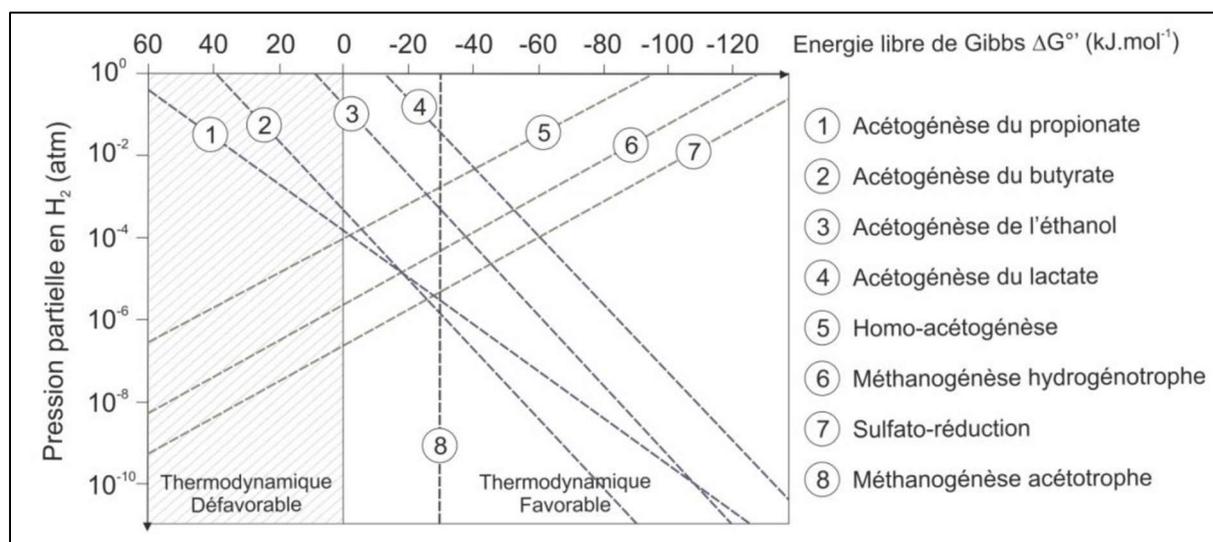


Figure 17. Evolution des énergies libres standards des réactions de transformation de l'hydrogène et de consommation de l'acide acétique en fonction des pressions partielles en hydrogène. Données pour : 25 mM d'acide acétique, 10 mM d'éthanol et d'acide propionique, butyrique et lactique, 5 mM de sulfates, 20 mM de bicarbonate et 0.7 atm de pression partielle en méthane (Motte 2013).

4.6. Conclusions

Dans cette partie, nous nous sommes focalisés sur les paramètres les plus courants ayant une influence sur la fermentation acidogène : la qualité du substrat, la qualité et la quantité d'inoculum, le pH et la concentration en AGV, la température, la pression partielle en hydrogène. Il existe dans la

littérature de nombreuses études visant à comprendre l'impact de chacun de ces facteurs sur l'hydrolyse et l'acidogénèse, mais les conclusions à en tirer sont parfois mitigées. Au vu de l'objectif à atteindre, à savoir la production d'un spectre contrôlé d'AGV à partir d'OMR en réacteur à lit percolant, il est possible d'envisager l'étude de certains de ces facteurs. Le fonctionnement en lit de déchets statique avec une recirculation du lixiviat implique que seule la communauté microbienne initiale évolue (croissance et mort cellulaire) sans apport de nouvelles bactéries de l'extérieur. L'apport d'un inoculum riche en communautés hydrolytiques et acidogènes peut permettre d'améliorer la phase de démarrage (vitesse augmentée et durée réduite), réduisant ainsi le temps total de fermentation et par conséquent limitant la prolifération des archées méthanogènes. Le pH impacte fortement l'activité des bactéries et contribue à orienter le spectre d'AGV produits. Avec un choix de pH optimal, il est aussi possible de limiter l'action des populations méthanogènes (qui y sont très sensibles) en favorisant les bactéries hydrolytiques et acidogènes. Enfin, les LBR sont opérés à fortes teneurs en solides, induisant des limitations qu'il est nécessaire d'observer et de comprendre. Ces limitations sont liées à la quantité d'eau qui modifie les caractéristiques physiques du déchet, mais qui conditionne aussi la mise en œuvre des réactions biologiques.

5. Caractéristiques physiques, hydrostatiques et hydrodynamiques en réacteur à lit percolant

5.1. Description d'un massif de déchets dans un réacteur à lit percolant : milieu poreux

Au sein des massifs de déchets solides municipaux dans les décharges, les écoulements se font sous forme de canaux: il s'agit d'écoulements verticaux, dont la section est très peu élevée par rapport à la section par laquelle se fait l'infiltration d'eau au-dessus du tas de déchets (Zeiss and Major 1992). Dans un réacteur à lit percolant rempli d'un massif d'OMR, le comportement de l'eau est similaire. Les OMR constituent un milieu poreux où peuvent s'écouler plusieurs phases fluides (non miscibles). De nombreux concepts associés à la théorie des milieux ont été appliqués à l'étude des massifs d'ordures ménagères. Cependant, ces déchets sont constitués d'une grande variété d'éléments : déchets de cuisine, plastiques, cartons, papiers, bois, métaux, verre, textiles ainsi que des matériaux inertes divers et des éléments fins. A la diversité des types d'éléments s'ajoute une grande variété de taille : les ordures ménagères peuvent en effet comporter des « particules » pouvant aller du dixième de millimètre à plus de 10 cm. Aussi, chaque type d'élément est plus ou moins dur, ce qui induit des compressibilités variables. Enfin les phénomènes de biodégradation de la matière organique contenue dans ces ordures entraînent des changements de structure dans les massifs au cours du stockage et des processus biologiques (réduction de taille, chargement en liquide, production de gaz...) (Feng, Zheng, and Chen 2017).

Les massifs d'ordures ménagères constituent donc des milieux poreux complexes, de par leur structure hétérogène et évolutive. En conséquence, l'application des théories classiques des milieux poreux peut s'avérer délicate.

5.1.1. Théorie des écoulements multiphasiques en milieux poreux

Les principales équations régissant les écoulements multiphasiques en milieu poreux ont été décrites par Horgue et al. (2015). Le milieu poreux de volume total V_{total} comprend un espace occupé par le solide, représentant un volume solide noté V_s , et de l'espace complémentaire appelé porosité, représentant un volume noté V_{pores} .

La porosité ε se définit donc comme suit :

$$\varepsilon = \frac{V_{\text{pores}}}{V_{\text{total}}}$$

Le volume V_i occupé par une phase fluide i dans le volume de pores permet de définir une saturation S_i :

$$S_i = \frac{V_i}{V_{\text{pores}}}$$

Ces saturations peuvent donc varier entre 0 et 1. Ainsi, en considérant deux phases fluides, le liquide (L) et le gaz (G), les saturations sont complémentaires :

$$S_L + S_G = 1$$

Un milieu poreux ne contenant pas de liquide est rempli à 100% de gaz, donc $S_G = 1$ et $S_L = 0$, et inversement. Lors d'un écoulement multiphasique et incompressible au sein du milieu poreux, le bilan de matière à l'échelle macroscopique s'écrit alors pour chaque phase i :

$$\varepsilon \frac{\partial S_i}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot \vec{U}_i = q_i$$

Où \vec{U}_i est la vitesse superficielle de la phase i et q_i est un terme source. L'écoulement de chaque phase fluide i peut être représenté par l'équation de Darcy qui donne l'expression de la vitesse superficielle :

$$\vec{U}_i = -\frac{\vec{K}_i}{\mu_i} \cdot (\vec{\nabla} p_i - \rho_i \vec{g})$$

Où \vec{K}_i est la perméabilité apparente de la phase i , μ_i , ρ_i et p_i sont respectivement sa viscosité dynamique, sa masse volumique et sa pression, et \vec{g} est l'accélération de pesanteur.

Il existe au sein du milieu poreux des effets de capillarité. De ce fait, les champs de pressions moyens ne sont pas égaux entre les deux phases fluides. Une pression capillaire à l'échelle macroscopique est définie comme la différence entre les pressions des deux phases et est fonction de la saturation de la phase liquide (Horgue et al. 2015; Shewani et al. 2015) :

$$p_c(S_L) = p_G - p_L$$

Selon R. H. Brooks et A. T. Corey (1964), pour que l'application de l'équation de Darcy soit valide, les deux phases doivent former des réseaux continus au sein du milieu et toute bulle de gaz isolée doit être considérée comme faisant partie de la matrice poreuse. De plus, Capelo et de Castro (2007) ont réalisé des expériences d'infiltration et de drainage d'eau au sein d'une colonne de déchets municipaux solides non saturés, afin de mesurer l'écoulement d'eau transitoire dans le déchet, et plus généralement d'en déterminer les propriétés hydrauliques. Ils ont observé lors du drainage, que l'eau était retenue selon deux mécanismes principaux :

- Le premier est plus sujet à la gravité et responsable du drainage rapide dans les premiers instants, suggérant un écoulement en canaux (chemins préférentiels) dans un réseau de larges espaces vides interconnectés ;
- Le second est responsable de l'accumulation d'eau à plus long terme dans les déchets solides et d'un drainage lent, indiquant la présence d'une matrice de pores de faible taille. Le rôle de cette matrice constituée de pores de faible taille serait donc de stocker de l'eau dans les déchets solides, en absorbant une partie de l'eau injectée.

Cette expérience montre que dans le cas des massifs de déchets solides, il semble pertinent d'adopter une caractérisation considérant non pas une grande porosité, mais deux porosités différentes. Cela permet en outre de tenir compte du transfert et de la distribution de l'eau à l'intérieur du massif (Shewani et al. 2015).

5.1.2. Modèle à double porosité : description générale

Les équations générales relatives au modèle à double porosité ont très probablement été introduites par Barenblatt, Zheltov, et Kochina (1960) dans le cas de l'étude de l'écoulement de liquides dans les roches fissurées. Néanmoins, une description qualitative de ce type de milieu avec une double porosité semble avoir été donnée dès 1953 (Barenblatt, Zheltov, and Kochina 1960). Par la suite, le concept a été repris et adapté à l'étude de milieux poreux divers et variés : les sols (Gens Solé et al. 2011; X.-S. Wang and Jiao 2004), les massifs de déchets dans les décharges (Capelo and de Castro 2007; A-J. Tinet et al. 2011), par exemple.

La **Figure 18** montre une représentation schématique d'un massif de déchets à double porosité. Fondamentalement, le concept inclut deux types d'espaces vides, ou porosités (Capelo and de Castro 2007; A-J. Tinet et al. 2011; Stoltz 2009; Shewani 2016) :

- La microporosité : c'est un ensemble de pores (intra-particulaires et inter-particulaires) de faible dimension et mal connectés d'un point de vue hydraulique, contenant des phases fluides statiques et permettant l'accumulation d'eau sans écoulement à long terme dans la matrice (eau immobile.)
- La macroporosité : ce sont des espaces de plus grande taille, de l'échelle du micromètre à quelque millimètres ; ils sont bien connectés et sont le siège d'écoulements fluides donc le drainage de l'eau (libre ou mobile) s'y produit.

Ainsi, sont définies trois fractions constitutives du milieu (indépendamment de la présence de liquide ou de gaz) : le solide sec (« S »), la microporosité (« micro ») et la macroporosité (« Macro »). Ces éléments représentent des fractions volumiques φ , chacune égale au rapport du volume de l'élément et du volume total du massif et telles que (Shewani et al. 2015):

$$\varphi_S + \varphi_{\text{micro}} + \varphi_{\text{Macro}} = 1$$

La somme $\varphi_{\text{micro}} + \varphi_{\text{Macro}}$ représente donc la fraction totale de porosité (ϵ) par rapport au volume total de massif. De manière plus spécifique, sont également définies la saturation en eau des micropores S_{micro} et la saturation en eau des macropores S_{Macro} :

$$S_{\text{micro}} = \frac{\text{Volume d'eau dans les micropores}}{\text{Volume total de micropores}}$$

$$S_{\text{Macro}} = \frac{\text{Volume d'eau dans les macropores}}{\text{Volume total de macropores}}$$

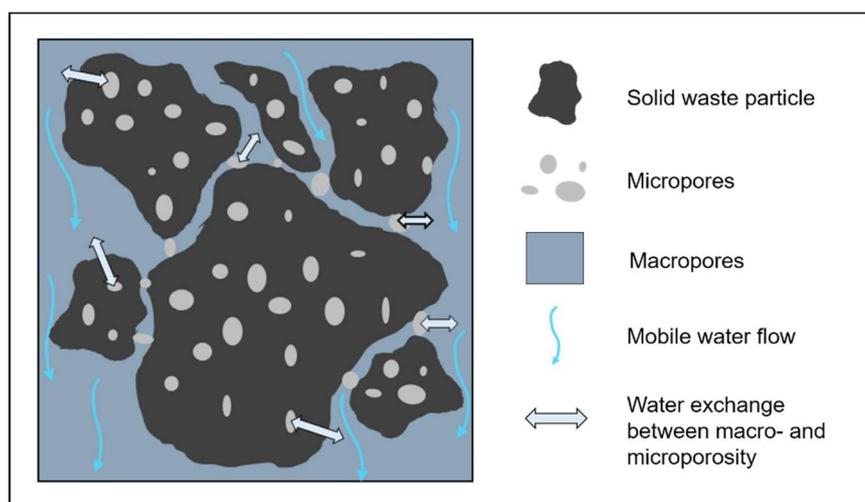


Figure 18. Représentation schématique d'un milieu à double porosité.

Le modèle à double porosité suppose que l'écoulement d'eau et le transport de solutés peuvent être décrits au moyen d'équations de conservation de matière qui sont couplées par des termes caractérisant l'échange de fluides ou de solutés entre les deux types de pores. Ces échanges se produisent en réponse à des gradients de pression ou de concentration (Gerke and van Genuchten 1993). Classiquement, les différentes relations régissant le comportement hydrodynamique du milieu poreux à double porosité sont adaptées des équations utilisées en simple porosité. Ces relations sont explicitées dans les travaux de Shewani et al. (2015, 2017).

Les écoulements et transferts liquides et gaz sont directement liés à la structure même du milieu poreux. Il est nécessaire de connaître les caractéristiques physiques des lits de déchets avant de s'intéresser à leurs propriétés hydrauliques (Stoltz, Gourc, and Oxarango 2010a).

5.2. Caractéristiques physiques du massif de déchets et méthodes de mesure

La structure physique du massif de déchet, milieu poreux et multiphasique, peut être décrite à l'aide de divers paramètres. Chacun de ces paramètres est plus ou moins facilement mesurable expérimentalement.

5.2.1. Les masses volumiques et densités

La masse volumique, que l'on appelle aussi densité, est le rapport entre une masse de déchet et le volume qu'elle occupe. La densité du déchet dépend fortement du stress de compression comme cela a été étudié dans différents travaux (Stoltz, Gourc, and Oxarango 2010a). Ce paramètre peut être défini sous différentes formes (Agnew and Leonard 2003).

- La densité humide apparente

C'est la densité du déchet brut (particules solides et eau initialement présentes dans le déchet) sans tassement, qui correspond à la masse de déchet brut (m_B) rapportée au volume qu'il occupe (V_{total}) ;

$$\rho_B = \frac{m_B}{V_{total}}$$

- La densité sèche apparente

Il s'agit de la masse sèche contenue dans le déchet brut rapportée au volume qu'occupe ce déchet brut sans tassement :

$$\rho_S = \frac{m_S}{V_{total}}$$

- La densité des particules solides sèches

C'est la densité des particules solides elles-mêmes, c'est donc la masse de déchet sec divisée par le volume qu'occupe ce déchet sec.

$$\rho_{SP} = \frac{m_S}{V_S}$$

Dans la pratique, il faudrait sécher le déchet et éliminer tout l'air piégé dans les pores pour déterminer son volume et sa masse. Une mesure expérimentale rigoureuse de cette densité s'avère donc compliquée du fait de l'hétérogénéité des déchets ménagers d'une part, et de la difficulté d'éliminer l'intégralité de l'air d'autre part. Elle peut cependant être calculée par une formule empirique proposée par Agnew et Leonard (2003), incluant les teneurs en matières volatiles (MV) et minérales (MM) du déchet sec :

$$\rho_{SP} = \frac{MV}{1.55} + \frac{MM}{2.65}$$

Dans cette expression, ρ_{SP} est exprimé en kg.L^{-1} , MV et MM sont en g.gMS^{-1} .

5.2.2. La porosité

La porosité ε dans le massif de déchet représente tout le volume qui n'est pas occupé par le solide sec. Elle inclut donc la microporosité et la macroporosité dans le cas du modèle à double porosité. Sa valeur indique la quantité d'espace poreux présente dans le déchet, et par conséquent la quantité maximale de liquide et de gaz que peut contenir le déchet. Elle se définit comme le rapport entre le volume de ces espaces poreux et le volume total du massif (Shewani 2016; Stoltz 2009).

Selon Stoltz (2009), la méthode expérimentale courante permettant de mesurer la porosité totale d'un échantillon de déchet est celle qui consiste à le saturer en eau. L'auteur a également étudié deux autres techniques de mesure de la porosité totale : la méthode du pycnomètre au gaz et la méthode du pycnomètre à eau en contre-pression. En employant la méthode courante, la porosité totale peut être sous-estimée, en raison de la présence de bulles d'air piégées dans le milieu qui empêchent donc une saturation complète de celui-ci, ou encore à cause de d'éléments hydrophobes se trouvant dans l'échantillon (Stoltz 2009; Anne-Julie Tinet 2011). Les deux autres protocoles donnent des résultats similaires entre eux mais supérieurs d'environ 10 à 20 % à ceux de la méthode traditionnelle. La porosité est un paramètre qui ne dépend pas de la taille des éléments, mais surtout de la distribution granulométrique et de l'arrangement des particules dans le milieu poreux (Stoltz 2009).

5.2.3. La granulométrie

C'est la distribution statistique de la taille des particules solides du massif de déchets. Elle informe donc sur l'hétérogénéité de ce massif. Dans un massif de déchets ménagers, la très grande diversité en termes de constituants induit une forte hétérogénéité. De plus, une fraction de ces constituants est dégradable biologiquement, ce qui confère au massif une structure évolutive. Ainsi, une caractérisation précise de la taille des éléments constitutifs reste délicate (Shewani 2016). On peut cependant considérer que la gamme de taille des éléments contenus dans les ordures ménagères résiduelles s'étend du dixième de millimètre à plus de 10 cm (Feng, Zheng, and Chen 2017).

5.2.4. La compressibilité

Elle représente la capacité du massif de déchet à se tasser sous l'effet d'une pression appliquée, c'est-à-dire la perte de volume générée. Le tassement des déchets inclut une phase primaire (court terme), qui correspond à la compression subie par une couche de déchets en raison de l'empilement de couches supérieures, et une phase secondaire (long terme), qui est due au comportement visqueux du lit de déchets, à la biodégradation de la matière organique et à l'évaporation de l'eau se produisant au cours du temps (Stoltz et al. 2011).

Les déchets municipaux solides sont connus pour être très compressibles (Stoltz, Gourc, and Oxarango 2010a). En effet, contrairement aux milieux poreux minéraux, les déchets solides municipaux contiennent une quantité significative de matériaux compressibles tels que la matière organique (déchets alimentaires par exemple), les plastiques, le papier, le bois et les textiles. La teneur en

matériaux compressibles a un impact important sur la compressibilité des déchets solides municipaux (Y. M. Chen et al. 2009).

5.3. Caractéristiques hydrostatiques et hydrodynamiques du massif de déchets

Le lit de déchets dans le réacteur à percolation contient de l'eau, à l'état statique ou en écoulement. Certaines propriétés permettent de caractériser cette présence d'eau dans le massif (García-Bernet et al. 2011; Stoltz 2009; Shewani 2016).

5.3.1. La teneur en eau, la distribution de l'eau, la capacité au champ

La teneur en eau est la quantité d'eau par unité de masse (totale ou sèche) de déchet. Cette valeur globale est déterminée en général par une méthode gravimétrique consistant à peser un échantillon de déchet avant et après séchage. Mais dans l'échantillon de déchet, l'eau « totale » est présente sous différentes formes (García-Bernet et al. 2011) :

- L'eau libre n'est pas associée aux particules solides et n'est pas influencée par elles. Elle s'élimine lors du drainage ou par les techniques de séparation, et est présente dans la macroporosité.

- L'eau liée se décompose en eau interstitielle ou capillaire, en eau superficielle ou vicinale, et en eau hygroscopique. La première est piégée dans les espaces interstitiels sur les particules solides. La seconde est associée aux particules solides par des liaisons hydrogène. La dernière est chimiquement liée au solide et s'élimine par voie thermique. En somme, l'eau liée est retenue dans la fraction microporeuse du massif.

García-Bernet et al. (2011) ont mis en œuvre des techniques d'analyse pour quantifier l'eau libre et l'eau liée dans des déchets solides (déchets solides municipaux et leur fraction organique, déchets verts) et des digestats. La méthode des isothermes de sorption reliant la teneur en eau à l'activité thermodynamique de l'eau (**Figure 19**) a permis de quantifier les différentes fractions d'eau libre présentes dans les échantillons. La technique de séchage associe le flux d'évaporation à la teneur en eau (**Figure 20**) et permet de déterminer notamment la quantité d'eau libre.

La capacité au champ correspond à la quantité d'eau maximale que le déchet peut retenir à l'équilibre, après drainage gravitaire. Mais cet état de « capacité au champ » n'est pas caractéristique, la teneur en eau d'un échantillon n'est pas homogène sur toute sa hauteur. Ce n'est donc pas une valeur unique mais un profil dépendant des propriétés de rétention de chacune des couches de déchets dans le massif (de plus en plus comprimées à mesure que la hauteur diminue) (Stoltz 2009).

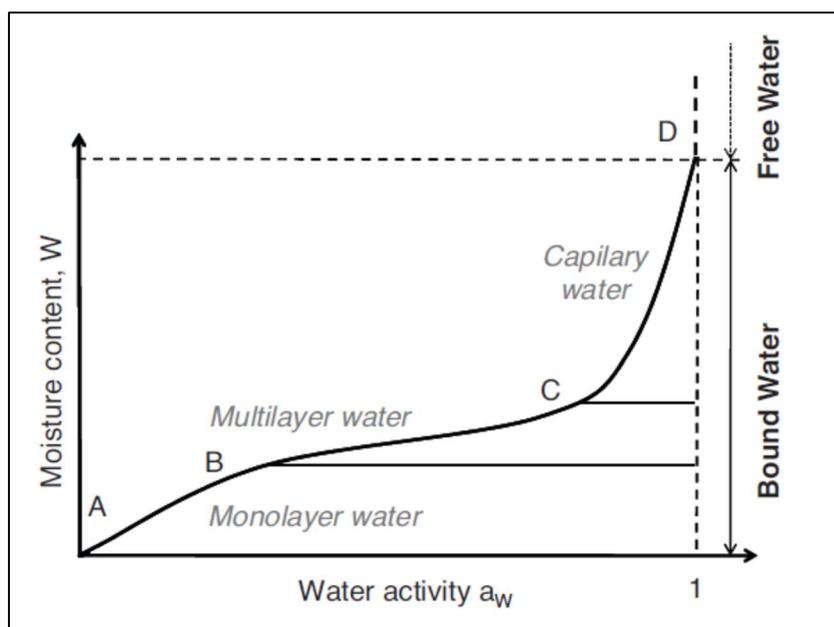


Figure 19. Représentation d'une isotherme de sorption typique de substrats alimentaires ou biologiques (type II) (García-Bernet et al. 2011).

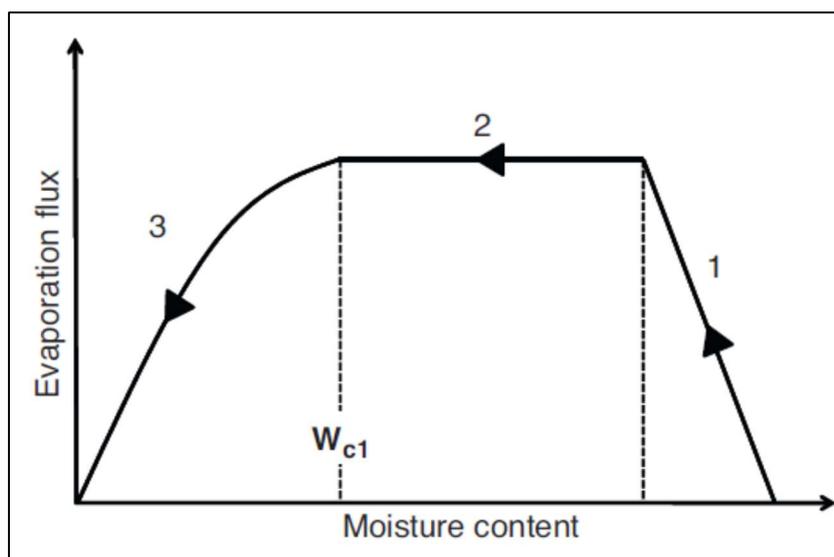


Figure 20. Représentation d'une courbe de séchage (García-Bernet et al. 2011).

5.3.2. La perméabilité et la conductivité hydraulique

La perméabilité représente la capacité du massif à laisser s'écouler un fluide soumis à un gradient de pression. Elle est liée à l'écoulement du fluide, et donc, à la saturation des macropores. Dans notre cas, il s'agit de perméabilité en conditions insaturées car l'eau ne remplit jamais la totalité des macropores ($S_{Macro} < 1$).

La perméabilité intrinsèque ou absolue K est celle définie dans la loi de Darcy, exprimant la vitesse d'un fluide en fonction de la perte de charge au sein du milieu soumis à l'écoulement de ce fluide. La perméabilité relative $k_{r,L}$ tient compte de la présence éventuelle de plusieurs fluides différents au sein du massif, qui peuvent interagir : la perméabilité de chaque fluide sera donc inférieure à celle qu'il aurait s'il était unique dans le massif. La perméabilité apparente est le produit de la perméabilité intrinsèque et de la perméabilité relative (Stoltz, Gourc, and Oxarango 2010b).

Les deux modèles les plus utilisés pour prédire les perméabilités en conditions insaturées au sein de milieux poreux sont les modèles de Brooks et Corey et de Van Genuchten (Brooks and Corey 1964; Van Genuchten 1980).

5.4. Conclusions

Les OMR placées dans un réacteur à lit percolant constituent des milieux poreux du fait de la présence d'espaces libres dans lesquels s'effectuent des écoulements de liquides et de gaz. Divers paramètres énoncés dans cette partie permettent de caractériser ce type de milieu. Cependant, l'hétérogénéité de ce milieu (composants divers), sa capacité à absorber l'eau mais aussi à se dégrader en font un matériau complexe. Aussi, l'utilisation de théories classiques des milieux poreux n'est pas tout à fait pertinente et il a été suggéré de considérer l'existence de deux porosités (micro- et macroporosité). Cela permet de tenir compte des mécanismes de rétention d'eau mis en œuvre dans ces espaces, mais aussi de mieux comprendre les phénomènes de transferts qui s'y produisent. Par ailleurs, la distribution de l'eau joue un rôle sur les réactions biologiques. Pour la production d'AGV en réacteur à lit percolant, la compréhension de ces phénomènes hydrostatiques et hydrodynamiques peut aider à maîtriser le procédé afin d'assurer le mouillage suffisant et raisonnable du déchet, ainsi que la récupération optimale des produits formés.

6. Mise en œuvre de la fermentation acidogène en réacteur à lit percolant

Dans le réacteur à lit percolant, nous avons vu que les réactions biologiques sont rendues possibles grâce à l'apport d'eau via la recirculation du lixiviat. L'augmentation de la teneur en eau au cours du procédé de digestion est incontestablement bénéfique pour la dégradation de la matière. Mais afin d'apporter l'eau de manière optimale, plusieurs modes de fonctionnement peuvent être adoptés, aussi bien pour la digestion anaérobie (méthanisation) que pour la fermentation acidogène.

6.1. Immersion et/ou percolation

La dégradation peut être mise en œuvre par une immersion du lit de déchets et/ou par recirculation du lixiviat. L'immersion du lit de déchets vise à le saturer en eau le plus que possible afin de favoriser les réactions biologiques. Benbelkacem et al. (2010) ont comparé différents modes d'injection de lixiviat lors de la dégradation anaérobie de déchets solides municipaux pour la production de biogaz. Ils ont conclu que la saturation (injection de lixiviat par le bas, puis drainage après un jour de contact continu) permettait d'augmenter plus rapidement la teneur en eau dans le lit de déchets, par

rapport au fonctionnement par percolation de lixiviat. Néanmoins, la seule saturation du lit de déchet en début de procédé n'était pas la méthode la plus performante et la percolation périodique (au débit le plus fort) favorisait la production la plus rapide et la plus importante de biogaz. Le flux convectif au sein du déchet, provoqué par ces injections périodiques, a probablement accéléré les transferts de matière solide-liquide et augmenté ainsi la bio-accessibilité des substrats. De plus, plusieurs études ont démontré l'importance de la recirculation fréquente de liquide pour optimiser la dégradation des déchets car la décomposition des déchets peut être améliorée par l'augmentation de la teneur en eau (L. André et al. 2015). El-Mashad et al. (2006) ont aussi indiqué que les performances de dégradation accrues avec la recirculation de lixiviat étaient dues à un meilleur transport des solutés et à un contact favorisé entre le substrat et les micro-organismes.

Ainsi, la recirculation semble être un mode de fonctionnement à privilégier, mais comme suggéré Benbelkacem et al. (2010) et appliqué par Francois et al. (2007), procéder au préalable à une étape de saturation peut être une alternative pour augmenter rapidement la teneur en eau du lit de déchets.

6.2. Volume, fréquence, mode de recirculation

Des exemples de conditions de fonctionnement de LBR dans la littérature sont donnés dans le **Tableau 18**. Lors de la recirculation du lixiviat, le volume et la fréquence de recirculation peuvent modifier les performances du procédé. Degueurce, Trémier, et Peu (2016) ont cherché à étudier séparément leur influence sur la production de méthane lors de la digestion anaérobie de fumier bovin. Ils ont ainsi montré qu'il y avait une interaction positive entre ces deux paramètres, mais aussi que chacun avait un effet significatif sur le volume de méthane produit : la périodicité (temps entre deux recirculations) serait négativement corrélée au volume de méthane produit, tandis qu'une augmentation du volume recirculé favoriserait la production de méthane.

Néanmoins, ces deux paramètres sont en général regroupés et exprimés par un « taux de recirculation ou de percolation » qui correspond au volume de lixiviat percolé par jour (L/j), pouvant être rapporté à la masse de substrat sec ($L/kgMS/j$), au volume de réacteur ($L/L_{réacteur}/j$) ou à la surface de lit ($L/m^2/j$) par exemple. L'effet du taux de recirculation sur la dégradation anaérobie de déchets ménagers solides a été étudié par Sponza et Ağdağ (2004). Les auteurs ont montré une augmentation des concentrations finales en DCO soluble et en AGV avec l'augmentation du taux de recirculation de 9 à 21 L/j , (c'est-à-dire de 1.35 à 6.25 $L/kgMS/j$). Dans l'étude menée par Riggio et al. (2017), les taux de percolation testés variaient de 180 à 720 mL/j , soit 0.5 à 2.0 $L/kgMS/j$. Ils ont observé que les AGV étaient produits majoritairement durant les 15 premiers jours de dégradation du substrat (mélange de litière d'étable usagée, de déchets céréaliers et de carottes émincées) et que la quantité d'AGV extraite était la plus importante au taux de recirculation le plus élevé (258.2 $gDCO/gMV$ au taux maximal, contre 176.3 ± 22.0 $gDCO/gMV$ au taux le plus faible). En revanche, la concentration la plus forte en AGV était obtenue avec le taux de recirculation le plus faible (effet du facteur de dilution). La quantité d'AGV extraite n'étant pas directement proportionnelle à ce taux de recirculation, les auteurs ont suggéré qu'il fallait trouver une valeur optimale adaptée à l'objectif à atteindre.

On peut enfin constater que les gammes de taux de recirculation/percolation utilisées dans la littérature sont larges, avec des modes de recirculation variables. Certains auteurs ont étudié l'effet des taux de recirculation, mais il y a peu ou pas de travaux qui comparent les modes de percolation continu et discontinu, et leur influence sur la fermentation acidogène notamment.

Tableau 18. Conditions de percolation en LBR : quelques exemples d'études.

Référence	Substrat	Liquide recirculé ou percolé	Conditions de recirculation	Taux de recirculation/percolation		
				L/j	L/kgMS/j	L/Lréacteur/j
Stabnikova, Liu, et Wang (2008)	Déchets alimentaires	Lixiviat du LBR + effluent du réacteur de méthanogenèse*	ND	30.24	744.8 → 186.2 **	5.6
Riggio et al. (2017)	Litière d'étable usagée, de déchets céréaliers et de carottes émincées	Lixiviat de LBRs traitant des litières d'étable usagées et déchets verts	1 fois/jour, injection puis drainage après 3 heures	0.18 – 0.72	0.5 – 2.0	0.045 – 0.180
Cadavid-Rodríguez et Horan (2014)	Refus de dégrillage de station de traitement des eaux usées	Lixiviat du LBR, dilué à 50% par de l'eau distillée	1 fois/jour pendant 5 heures	16.0 – 32.0	50.3 – 100.6	4 – 8
Benbelkacem et al. (2010)	Déchets solides municipaux	Lixiviat de décharge	1 fois/semaine	0.61 – 2.43	0.002 – 0.008	0.0006 – 0.0025
Yesil et al. (2014)	Déchets solides municipaux	Lixiviat du LBR	Continue	6.3	8.49	1.58
Cavdar et al. (2011)	Fraction organique de déchets solides municipaux	Lixiviat du LBR (remplacement à 32 et 54 jours par 1L d'eau du robinet)	Continue, 5 jours/semaine	0.49 – 0.94	0.66 – 1.26	0.17 – 0.34
Xie et al. (2012)	Ensilage d'herbe	Lixiviat du LBR, éventuellement dilué à 50%(volume) avec inoculum ou eau du robinet	1 fois/heure pendant 10 minutes (soit 4h/jour)	0.67	13.1 – 26.3	0.34
S. Xu et al. (2014)	Déchets alimentaires synthétiques	Lixiviat du LBR, remplacé à 5-100%(volume) par de l'eau du robinet	1 fois/jour			
Jagadabhi, Kaparaju, et Rintala (2010)	Ensilage d'herbe de ferme laitière	Lixiviat du LBR éventuellement remplacé par de l'eau du robinet	Continue	0.75	13.98	1
Cysneiros et al. (2012b)	Ensilage de coupe entière de maïs	Lixiviat du LBR éventuellement remplacé par de l'eau du robinet ou un tampon carbonate	ND	2	16.89	0.5

ND : information non disponible ; * Procédé de digestion anaérobie à deux étages ; ** Chargement progressif du substrat ; *** En L/kgMV/j.

6.3. Dilution et remplacement du lixiviat

Le principe de fonctionnement d'un LBR repose sur la percolation de liquide au-dessus du lit de déchets. En fermentation acidogène, le lixiviat issu du réacteur peut être recirculé pur ou subir une dilution, mais un remplacement total du lixiviat est aussi possible. Comme pour la recirculation, la fréquence de remplacement du lixiviat peut être variable.

Il a été mis en évidence par plusieurs auteurs que le fait de diluer le lixiviat était bénéfique pour l'hydrolyse et l'acidogénèse (Jagadabhi, Kaparaju, and Rintala 2010; Y.-J. Hao et al. 2008). Dans leur étude, Xie et al. (2012) ont remplacé un quart du volume de lixiviat par de l'eau, lors de la digestion d'ensilage d'herbe. Par rapport à un LBR avec recirculation sans remplacement du lixiviat, ils ont observé une augmentation significative des rendements d'hydrolyse, de production d'AGV, d'élimination de MV et de dégradation de cellulose, hémicellulose et lignine, mais une légère diminution du rendement d'acidification (ratio de la quantité totale d'AGV cumulée sur la quantité de DCO soluble cumulée dans le lixiviat).

Le choix du taux de remplacement du lixiviat impacte aussi potentiellement la production de métabolites. S. Xu et al. (2014) ont testé le remplacement quotidien du lixiviat entre 5 et 100% de son volume, par de l'eau distillée avec un ajustement du pH à 6. Leurs résultats montrent que l'augmentation du taux de remplacement du lixiviat a permis une augmentation des rendements d'hydrolyse et l'acidogénèse des déchets alimentaires. L'efficacité d'élimination de MV, les taux de dégradation de MV, des sucres ainsi que les rendements spécifiques en DCO et AGV ont augmenté en passant de 5 à 100% de remplacement du lixiviat, avec une diminution du pourcentage d'acide propionique et une augmentation de la fraction d'acide butyrique (en DCO). Aussi, un taux de remplacement de 100% a entraîné le lessivage des bactéries, alors qu'à 5%, la réduction de population bactérienne a été causée par l'accumulation de composés inhibiteurs.

Une forte dilution du lixiviat permet de réduire les concentrations des composés inhibiteurs, et particulièrement en AGV qui peuvent abaisser le pH et bloquer l'hydrolyse (S. Xu et al. 2014; Jagadabhi, Kaparaju, and Rintala 2010). Toutefois, un fort taux de dilution implique une utilisation importante d'eau et donc une augmentation des coûts de fonctionnement et des volumes de lixiviat produits. D'autre part, l'abaissement du pH dû à une faible dilution peut être compensé par la mise en place d'un contrôle du pH (régulation ou recirculation de tampon). Les résultats de Cysneiros et al. (2012b) indiquent aussi que le lessivage de micro-organismes cellulolytiques dû au remplacement du lixiviat est compensé par la croissance de ces micro-organismes lorsqu'un contrôle du pH est mis en œuvre.

6.4. Contrôle du pH

Au **Paragraphe 4**, nous avons vu que le pH était l'un des paramètres clés pour la fermentation acidogène. En réacteur à lit percolant, le contrôle du pH doit se faire dans la phase liquide qui sera percolée ou recirculée, via l'utilisation d'un tampon carbonate (Cysneiros et al. 2012b; Jagadabhi, Kaparaju, and Rintala 2010) ou par l'ajustement du pH à l'aide d'acide ou de base (Hussain, Filiatrault,

and Guiot 2017; Lehtomäki et al. 2008; Jagadabhi, Kaparaju, and Rintala 2010; Xie et al. 2012). Dans la plupart de ces cas, le pH de travail est dans la gamme entre 6 et 6.5, voire 7.5 dans l'étude de Jagadabhi, Kaparaju, et Rintala (2010).

L'intérêt du contrôle de pH en LBR a été observé par Cysneiros et al. (2012b) sur de l'ensilage de coupe entière de maïs. Les auteurs ont montré que le fait de contrôler le pH initialement ou lors du remplacement du lixiviat, à l'aide d'une solution tampon à un pH d'environ 6.5, était bénéfique pour la solubilisation du substrat et pour la production d'acides organiques. En l'absence de contrôle, l'hydrolyse et l'acidogénèse étaient inhibées par un pH ayant rapidement chuté en dessous de 4 pour ensuite remonter lentement sans dépasser 5. Au contraire, Jagadabhi, Kaparaju, et Rintala (2010) ont conclu de leur étude sur l'ensilage d'herbe, que le fonctionnement avec ajustement du pH à 7.5 donnait des concentrations en DCO soluble et AGV plus faibles qu'en l'absence de contrôle, et était donc le moins favorable. Lehtomäki et al. (2008) ont également indiqué que l'ajustement du pH à 6 n'avait pas permis d'augmenter le taux d'hydrolyse sur de l'ensilage d'herbe.

La question du contrôle de pH en LBR (valeur de pH et mise en œuvre) se pose donc, en particulier dans le cas de la fermentation acidogène d'OMR. Toutefois, il est nécessaire que ce contrôle de pH soit optimisé afin de limiter le surcoût qu'il peut engendrer pour le procédé.

6.5. Conclusions

L'apport d'eau dans les procédés de digestion anaérobie est déterminant pour la mise en œuvre des réactions biologiques. En LBR, les modes opératoires utilisés peuvent être très divers. La mise en œuvre d'une immersion est bénéfique pour l'amorçage de la dégradation et la poursuite du procédé par des recirculations fréquente de liquide permettrait de maintenir voire d'augmenter les performances. La méthode de percolation (continue ou non, fréquence et volumes injectés, dilution du lixiviat) et le contrôle du pH doivent alors être optimisés afin de favoriser l'hydrolyse et la production d'AGV. Il est alors important d'intégrer à la réflexion les possibles utilisations postérieures du mélange d'AGV obtenu et les contraintes associées (niveaux de concentration et volumes, procédés de séparation et de purification en aval).

7. Bilan, objectifs et réalisation

Les OMR sont des déchets à forte teneur en matières organiques, auxquels peuvent donc être appliqués des traitements biologiques tels que la fermentation acidogène. Il s'agit d'une voie de valorisation encore à ses prémises à l'échelle industrielle, mais qui fait l'objet de nombreuses recherches. Elle vise à produire, à partir de ces déchets solides, des AGV et autres composés organiques solubles à forte valeur ajoutée. La forte teneur en matières sèches des OMR favorise l'utilisation de procédés dits en voie sèche. Parmi ceux-ci, la technologie du réacteur à lit percolant ou LBR est prometteuse en raison de la simplicité de son design et de la mise en œuvre d'une percolation/recirculation qui permet de favoriser les réactions biologiques de production d'AGV par une humidification régulière du déchet, mais aussi de récupérer quasi-immédiatement les AGV produits lors du drainage du lixiviat. D'un point de vue économique, il semble intéressant de rechercher la production d'AGV aux chaînes carbonées les plus longues, issus des étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse de la matière. Or, la possible transformation des AGV à longue chaîne en acide acétique puis en méthane, requiert de limiter la phase d'acétogénèse d'une part, et d'inhiber l'étape de méthanogénèse d'autre part. L'intervention de groupes spécifiques de micro-organismes à chacune de ces étapes induit des vitesses différentes mais aussi la potentialité que ces étapes se déroulent de manière simultanée. De plus, s'agissant de réactions biologiques, leur mise en œuvre dépend de la capacité des micro-organismes à utiliser leur substrat pour se multiplier et à se maintenir dans le milieu. Il s'agit alors de trouver un équilibre entre les différentes populations, et cela peut être réalisé par une gestion optimisée des paramètres de procédé.

A la lecture de la bibliographie, il apparaît que plusieurs paramètres peuvent avoir une influence sur les processus de production d'AGV en LBR et nombreuses sont les études qui s'intéressent à la compréhension de l'impact de ces paramètres. Cependant, les mécanismes associés à ces effets ne sont pas forcément explicités, et il n'est pas toujours évident de tirer des conclusions claires, notamment du fait des possibles interactions entre ces paramètres : leurs effets combinés peuvent impacter positivement ou non les performances de fermentation, ou modifier le spectre de produits obtenus. Aussi, trois paramètres influant sur les processus biologiques ont été identifiés comme cruciaux et testés par la suite : l'inoculation et la mise en place d'une communauté microbienne efficace, le pH et la teneur en solides (ou en eau). De plus, le fonctionnement du LBR nécessite une compréhension approfondie des phénomènes physiques de rétention et de transferts d'eau dans le milieu poreux complexe que constitue le lit de déchets, pour assurer le mouillage suffisant et raisonnable du déchet, ainsi que la récupération optimale des produits formés. Enfin, diverses méthodes de conduite du LBR sont possibles, et la recherche d'un mode opératoire optimisé (immersion, méthode de percolation, mise en œuvre d'un contrôle de pH dans ce milieu complexe) est un challenge à relever. Ainsi, le principal enjeu est de pouvoir contrôler une population mixte de micro-organismes pour produire efficacement un spectre ciblé de métabolites de manière reproductible en LBR.

La stratégie d'étude s'est axée autour de trois thématiques présentées sur la **Figure 21**.

- Dans le premier axe thématique, des expériences ont été menées dans l'objectif de comprendre l'effet des conditions opératoires sur les processus de fermentations : pH, teneur en solides et nature de l'inoculation. D'une part, trois conditions de pH ont été étudiées dans des conditions non limitées en eau, c'est-à-dire à faible teneur en solides. D'autre part, trois conditions de teneurs en solides ont été testées en l'absence de contrôle de pH. Dans ces deux études, l'effet de l'inoculation a été considéré en comparant des cas de fonctionnement avec et sans apport d'inoculum extérieur, mais aussi avec la réalisation de batchs successifs visant à enrichir les communautés microbiennes en bactéries hydrolytiques et acidogènes efficaces. Ces études ont été développées et réalisées en collaboration étroite avec le Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE) de Narbonne.
- Dans le second axe thématique, il s'agissait de comprendre les processus physiques et hydrodynamiques au sein de lits de déchets. En supposant une porosité double, des séries de percolation et drainage ont été effectuées en colonne de percolation et en conditions abiotiques, dans le but de déterminer la structure d'un massif de déchet et son évolution sous l'effet de la percolation, les capacités de rétention d'eau au sein des pores et les phénomènes de transferts d'eau associés. Ces caractérisations ont été effectuées sur des massifs de déchets, avant et après une phase de compaction mécanique mimant l'ajout d'une couche supplémentaire de déchets. Pour compléter cette caractérisation, un modèle classique à double porosité a été appliqué, puis amélioré et validé sur différents substrats dans le but de mieux prédire les phénomènes de rétentions d'eau dans le massif. Cette thématique a été étudiée avec la collaboration de l'Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse (IMFT).
- Le troisième axe thématique visait à réaliser la fermentation acidogène en LBR en expérimentant différentes stratégies de percolation et de contrôle du pH. Cette thématique a fait l'objet de recherches bibliographiques présentées dans le **Paragraphe 6** de cette partie. Néanmoins, les expérimentations sont en cours actuellement et les résultats ne seront pas présentés dans ce manuscrit.

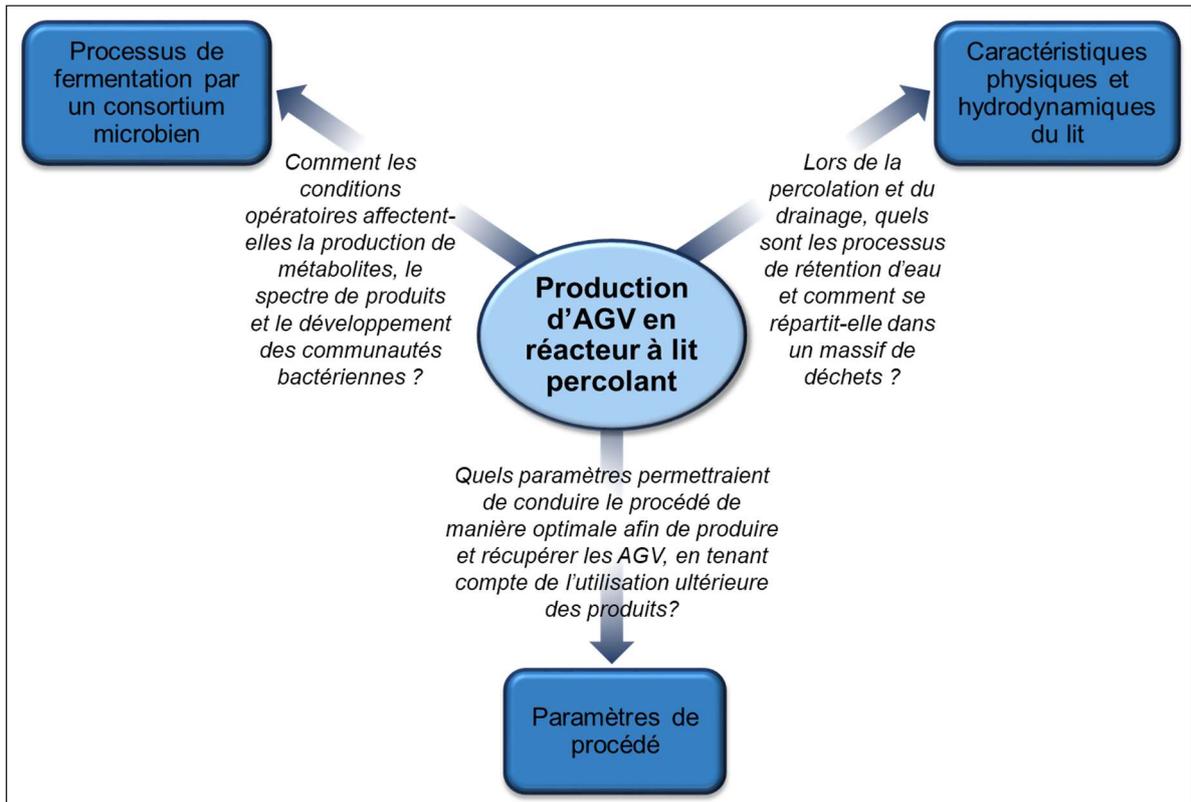


Figure 21. Thématiques d'étude ciblées dans la thèse.

Deuxième partie :
Matériels et méthodes

1. Reconstitution d'ordures ménagères résiduelles et comparaison à une OMR réelle

1.1. Reconstitution des OMR

1.1.1. Première reconstitution d'OMR

Une première constitution d'OMR (notée aHSW-1,) a été réalisée en s'appuyant sur la composition moyenne fournie par la campagne MODECOM (ADEME et al. 2010), présentée dans la première partie de cette thèse.

Pour reconstituer les OMR, les catégories 12 « Déchets ménagers spéciaux » et 13 « Eléments fins <20mm » n'ont pas été intégrées. Les proportions des 11 catégories restantes ont donc dû être réévaluées comme suit :

- La ventilation des éléments fins réalisée dans l'étude MODECOM a permis de réattribuer les fractions de ces éléments aux catégories auxquelles ils appartiennent ;
- La fraction des déchets ménagers spéciaux (0.81%) a été divisée en 11 et ajoutée à parts égales aux catégories restantes.

Des produits du commerce ou de récupération, choisis notamment en se basant sur les travaux de Carlei (2013) ont permis de représenter les différentes catégories. Les produits ont été choisis de manière à représenter au mieux les différentes sous-catégories, en limitant autant que possible leur diversité. Leurs proportions ont été estimées en fonction des données sur les parts de chaque sous-catégorie, issues de la campagne MODECOM 2007. Les produits alimentaires ont été préparés si nécessaire (cuisson, pelage, découpage en cubes de 1-2 cm). Les produits non alimentaires de taille supérieure à 1 cm ont été soit broyés à l'aide d'un broyeur à cisailles, soit découpés manuellement. Afin de faciliter la reconstitution, trois groupes (A, B et C) ont été créés. La préparation aHSW-1 a été faite en incorporant d'abord les éléments appartenant à ces trois groupes séparément, puis en mélangeant les trois groupes dans les proportions prévues.

La **Figure 22** montre une photo de la première reconstitution aHSW-1. On peut notamment voir sur cette photo une quantité très importante de billes de polystyrène. Ce matériau est très présent dans les OMR réelles, mais la forme choisie pour la reconstitution n'était ni adaptée aux utilisations prévues, ni aisée à manipuler. Cette reconstitution a donc été considérée trop peu représentative de la réalité et les résultats obtenus à partir de celle-ci ne seront pas présentés.



Figure 22. Première reconstitution d'OMR (aHSW-1) avec des billes de polystyrène.

1.1.2. Deuxième reconstitution d'OMR

La deuxième reconstitution (notée aHSW-2) s'est basée sur les mêmes données que pour la première. Néanmoins, afin d'avoir une composition plus proche de la réalité (notamment l'aspect visuel), le polystyrène a été totalement supprimé de la composition et les proportions des produits de la catégorie « Plastiques » ont été recalculées. La composition finale réelle est présentée dans le **Tableau 19**.

Les divers éléments ont été préparés de la même façon que pour la première reconstitution. La **Figure 23** montre une photo des OMR aHSW-2. En comparaison de aHSW-1, cette OMR présente visuellement plus de similitudes avec de véritables OMR.



Figure 23. Deuxième reconstitution d'OMR (aHSW-2) sans billes de polystyrène.

Tableau 19. Composition finale des OMR reconstituées (aHSW-2).

Groupe	Catégorie	Pourcentage catégorie (%masse humide)	Produits utilisés	Origine	Pourcentage produits (%masse humide)
A	1-Déchets putrescibles	40.3%	Pain	Achat en supermarché	5.1%
			Pomme	Achat en supermarché	14.2%
			Banane	Achat en supermarché	
			Melon	Achat en supermarché	
			Pomme de terre	Achat en supermarché	
			Tomate	Achat en supermarché	
			Haricots verts	Achat en supermarché	4.1%
			Riz	Achat en supermarché	
			Viande hachée	Achat en supermarché (surgelé)	6.1%
			Beurre	Achat en supermarché	0.6%
			Huile	Achat en supermarché	0.6%
			Yaourt	Achat en supermarché	1.1%
			Marc de café	Cafétéria laboratoire	3.6%
Paille/gazon	Espaces verts laboratoire	5.1%			
B	2-Papiers	10.7%	Journaux	Récupération	2.1%
			Magazines	Récupération	2.1%
			Papier de bureau	Récupération	4.3%
			Publicités	Récupération	2.1%
	3-Cartons	5.9%	Cartons plats	Récupération	2.9%
			Cartons ondulés	Récupération	2.9%
	4-Composites	1.8%	Briques alimentaires	Récupération	1.8%
	5-Textiles	2.4%	Collants	Achat en supermarché	1.2%
Torchons			Achat en supermarché	1.2%	
Couches			Achat en supermarché	7.6%	

Deuxième partie : Matériels et méthodes

C	6-Textiles sanitaires		Mouchoirs en papier	Achat en supermarché	3.3%
	7-Plastiques	10.5%	Sacs poubelles	Achat en supermarché	4.8%
			Bouteilles d'eau	Récupération	1.4%
			Bouteilles de lait	Récupération	1.4%
			Tuyau PVC	Récupération	2.8%
	8-Combustibles non classés	2.7%	Litière végétale	Achat en supermarché	2.7%
	9-Verre	6.4%	Billes en verre	Récupération	6.4%
	10-Métaux	3.1%	Clous en fer	Achat en supermarché	2.3%
			Papier aluminium	Achat en supermarché	0.5%
			Fil de laiton	Achat en supermarché	0.3%
	11-Incombustibles non classés	5.4%	Litière minérale	Achat en supermarché	5.4%

1.2. OMR réelle

Les OMR réelles (notées par la suite rHSW-1) ont été collectées à l'entrée du site Point Fort Environnement. Situé à Cavigny dans le département de la Manche, c'est l'établissement public qui traite les déchets de 125 communes du Centre Manche, représentant 116 300 habitants (Syndicat mixte du Point Fort 2008).

La **Figure 24** montre une photo de ces déchets tels qu'ils ont été reçus. Ils ont par la suite été triés afin d'en éliminer les éléments imperméables et de taille trop importante (plus de 5 cm) par rapport à la taille de la colonne. Ce tri ne nécessitait pas de tamisage précis et a été réalisé de manière visuelle. Les déchets ont ensuite été stockés à 4°C avant leur utilisation (soit environ 2 semaines).

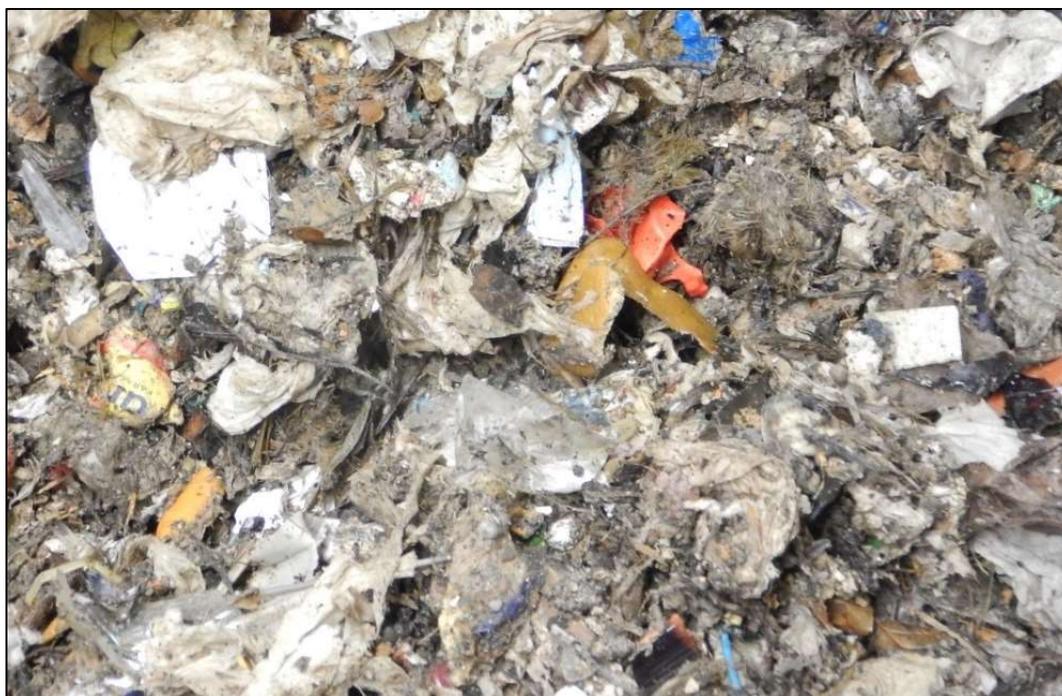


Figure 24. Ordures Ménagères Résiduelles réelles (rHSW-1).

1.3. Caractérisation chimique

1.3.1. Caractérisation directe

1.3.1.1. Teneurs en matières sèches et matières volatiles

La teneur en matières sèches (MS) a été obtenue par séchage de l'échantillon brut, en pesant l'échantillon avant et après séchage (méthode gravimétrique). Le séchage a été effectué à 80°C jusqu'à stabilisation de la masse, au lieu de 100°C pendant 24h comme cela se fait communément (Standard

Methods 2540B) (APHA, AWWA, and WEF 1999). Cette température a été choisie afin de limiter la volatilisation de matière organique qui pourrait avoir lieu à 100°C (Stoltz 2009).

Les matières volatiles (MV) ont été mesurées après calcination de la matière sèche à 550°C pendant 2 heures (Standard Methods 2540E) (APHA, AWWA, and WEF 1999).

1.3.1.2. Demande chimique en oxygène

La Demande Chimique en Oxygène (DCO) permet de quantifier la matière organique oxydable présente dans les déchets, dans les conditions fixées par la norme NFT 90-101. Pour réaliser cette mesure, le déchet a été préalablement séché et broyé. Une masse d'environ 50 mg de chaque échantillon ainsi préparés a ensuite été pesée précisément et un blanc contenant 50mL d'eau distillée a aussi été préparé. L'oxydation des échantillons a été réalisée par du bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) à 1N, en présence de sulfate d'argent ($AgSO_4$) à 10 g/L dans de l'acide sulfurique (H_2SO_4). La minéralisation a été effectuée à 150°C pendant 3 heures, dans un système de minéralisation composé d'un bloc de chauffage Behr CSB 12/E et d'une unité de contrôle de température et de temps Behr TRS 300. Après oxydation, le bichromate en excès a été dosé à l'aide d'une solution de sel de Mohr (sulfate de fer II et d'ammonium $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$) en présence d'un indicateur coloré, la ferroïne. La solution de sel de Mohr a été préparée avant le dosage à une concentration d'environ 0.125N, et a été titrée précisément par une solution de bichromate de potassium à 0.05N. Les dosages ont été effectués à l'aide d'un doseur automatique Metrohm 725 Dosimat. La mesure de DCO a été réalisée a minima en duplicats.

La DCO totale a été calculée de la manière suivante :

$$DCO(mgO_2/gMS) = \frac{8000 * (V_0 - V_1) \cdot T_{sel\ de\ Mohr}}{m}$$

Où V_0 est le volume de sel de Mohr consommé par le dosage du blanc (mL), V_1 est le volume de sel de Mohr consommé par l'échantillon (mL), $T_{sel\ de\ Mohr}$ est le titre du sel de Mohr (N) et m est la masse de l'échantillon analysé (g MS).

1.3.1.3. Azote total Kjeldhal

L'azote total Kjeldahl (NTK) correspond à la somme de l'azote organique (N-orga) et de l'azote ammoniacal (N-NH₄). Le N-orga n'étant pas dosable, il faut préalablement transformer ce N-orga en N-NH₄. Pour cela, une masse d'environ 50 mg de déchet préalablement séché et broyé, pesé précisément, a été minéralisée en le portant à haute température dans l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 95% pendant 3 heures, en présence de catalyseur de Dumazert et Marcelet (mélange de bisulfate de potassium et de sélénite de mercure). De même, un blanc a été effectué avec 50 mL d'eau distillée. Cette étape a été effectuée à l'aide d'une unité de minéralisation Büchi Digestion Unit K-435 associée à un scrubber Büchi Scrubber B-414 et à un régulateur de température externe Lauda RM6.

Une fois minéralisé, le N-orga initial devient alors dosable en même temps que le N-NH₄ initialement présent dans le déchet. L'échantillon minéralisé a donc été distillé (Büchi Distillation Unit B-324), afin d'isoler l'ammonium. Puis, un dosage pH-métrique a été effectué à l'aide d'une solution soude (NaOH) à 0.05N en utilisant un titrateur automatique (Schott TitroLine Easy) couplé à une sonde pH (WTW Sentix 41). La mesure de NTK a été réalisée a minima en duplicats.

Le NTK a été calculé comme suit :

$$\text{NTK (mgN/gMS)} = \frac{14000 * (V_0 - V_1) * T_{\text{soude}}}{m}$$

Où V₀ est le volume de soude consommé par le dosage du blanc (mL), V₁ est le volume de soude consommé par l'échantillon (mL), T_{soude} est le titre de la solution de soude (N) et m est la masse de l'échantillon analysé (g MS).

1.3.2. Tests de lixiviations

1.3.2.1. Principe et mise en œuvre

La caractérisation a été complétée par des tests de lixiviation destinés à déterminer les quantités de matière facilement solubilisables contenues dans les déchets. Pour réaliser ce test, les déchets bruts ont été placés dans une fiole d'un volume utile de 500mL. De l'eau déminéralisée a été ajoutée pour obtenir un ratio liquide/solide sec de 20 L/kg. Les bouteilles fermées ont alors été placées dans un agitateur à retournement (HEIDOLPH REAX 20, voir **Figure 25**) pendant 24 heures à 8 tours/minute. Chaque test a été réalisé en triplicats. Les conditions initiales de réalisation des lixiviations sont indiquées dans le **Tableau 20**.



Figure 25. Dispositif d'agitation à retournement pour les tests de lixiviation.

Tableau 20. Conditions initiales de réalisation des lixiviations.

Caractéristiques	rMSW-1	aMSW-2
Masse déchet brut (g)	41.3 ± 1.2	28.3 ± 0.0
Volume eau ajouté (mL)	413.3 ± 12.5	400.2 ± 0.0
Ratio L/S (L H ₂ O/kg MS)	20.4 ± 0.0	20.3 ± 0.0
Ratio L/S (L H ₂ O/kg MB)	10.0 ± 0.0	14.1 ± 0.0

Le pH a été mesuré avant et après agitation (SI Analytics L8281 HD). Le liquide collecté après 24 heures d'agitation a été centrifugé pendant 15 minutes à 4°C à 7830 rpm (Eppendorf Centrifuge 5430R) et le surnageant filtré à 0.2 µm avant analyses : mesure de la DCO soluble (DCOs), du carbone organique total (COT), de l'azote total (NT), des concentrations en AGV, et éventuellement de certains ions (chlorure, nitrite, nitrate, sulfate, phosphate, sodium, ammonium, potassium, magnésium, calcium).

1.3.2.2. Méthodes analytiques

Les analyses ont été effectuées sur les échantillons filtrés. La DCO soluble a été mesurée à l'aide de kits DCO pour une gamme allant de 0 à 1500 mg O₂/L (COD MR Reagent HI93754B-0, HANNA Instruments). Le COT et le NT ont été quantifiés à l'aide d'un analyseur automatique Shimadzu COT/NT, composé d'une unité TOC-VCSN pour le carbone, et d'une unité TNM-1 pour l'azote. Les concentrations en AGV ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse (GC) (VARIAN SERIE 3900) équipée d'une colonne DB-WAX (Agilent) d'une longueur de 30 m et de diamètre interne 0.53 mm, et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Le gaz vecteur était l'azote, à un débit de 25 mL.min⁻¹. Les concentrations en anions (Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ et PO₄³⁻) et cations (Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Mg²⁺ et Ca²⁺) ont été mesurées par une chromatographie ionique (DIONEX DX320 et ICS 2000 pour les anions et cations, respectivement) équipée d'un détecteur conductimétrique.

1.3.3. Tests de mesure du potentiel méthanogène

1.3.3.1. Principe et mise en œuvre

La mesure du potentiel méthanogène a été réalisée par un test BMP ou Biological Methane Potential. Ce test permet de déterminer la production maximale de biogaz d'un échantillon de biomasse, et ainsi d'évaluer sa biodégradabilité. Le test BMP a été réalisé uniquement sur les OMR reconstituées aHSW-2, faute de quantité suffisante des OMR réelles.

Pour effectuer ce test, l'inoculum obtenu d'un digesteur traitant des déchets organiques (Cler Verts, Bélesta-en-Lauragais, France) a d'abord été stabilisé en le conservant à 35°C. Le test a été réalisé en triplicats dans des fioles d'un volume de 1 L. Une masse de 3.4 g de déchet préalablement séché a été placée dans la fiole, avec 30 mL d'une solution tampon bicarbonate (Na₂CO₃) à 80 g/L et 200 g MB d'inoculum. Le ratio substrat/inoculum S₀/X₀ obtenu était de 0.5 gMV/gMV. Le pH a alors été corrigé à 8 avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl, 1M) et le volume de milieu ajusté à 800 mL à

l'aide d'eau du robinet. Aucune solution nutritive n'a été ajoutée. Afin de déterminer la quantité de biogaz produit par l'inoculum, un témoin froid et un témoin chaud ont également été préparés. Dans le témoin chaud, le déchet a été remplacé par 1.9 g d'acétate de sodium trihydraté en poudre (CH_3COONa , $3\text{H}_2\text{O}$). Dans le témoin froid, aucun substrat n'a été ajouté. Une fois les fioles préparées, le volume mort a été déterminé par mesures successives de pression, avant un balayage à l'azote durant 5 minutes. Les fioles ont enfin été placées dans une étuve à 35°C et agitées manuellement une fois par jour lors du suivi quotidien.

Quotidiennement, la pression relative dans les fioles a été mesurée (manomètre EUROLEC PR203/PR204/PR205). Un prélèvement de gaz d'au moins 15 mL a été effectué à l'aide d'une seringue en cas de pression supérieure à 120 mbar, pour une analyse de la composition du gaz. Pour terminer, chaque fiole a été dégazée si un prélèvement de gaz avait été fait. La fréquence des prélèvements a pu être augmentée en cas de production rapide de gaz (durant les premiers jours).

1.3.3.2. Méthodes analytiques

Les échantillons de gaz prélevés ont été analysés pour déterminer les concentrations en N_2 , H_2 , CH_4 et CO_2 , à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (HP 5890 Series II, Hewlett Packard) équipé d'un détecteur à conductivité thermique (TCD). Le gaz vecteur était l'argon, à une pression de 3.5 bar.

2. Etude des processus biologiques et chimiques durant la fermentation acidogène

2.1. Substrat et inoculum

2.1.1. Substrat

Le substrat utilisé pour cette partie d'expérimentation était la fraction fermentescible des OMR reconstituées aHSW-2, que l'on notera FF-aHSW-2. La composition de ces FF-aHSW-2 a été définie à partir de la composition des catégories « Déchets putrescibles », « Papiers » et « Cartons » de l'OMR aHSW-2 (voir paragraphe 1.1.2), dont les pourcentages ont alors été ramenés à 100%. La composition finale du substrat FF-aHSW-2 est présentée dans le **Tableau 21**. Les produits alimentaires composant la FF-aHSW-2 ont été achetés dans le commerce ; l'herbe a été coupée directement sur les espaces verts à proximité du laboratoire ; des papiers et cartons issus de la récupération ont été utilisés.

Dans un premier temps, les éléments de la catégorie « Déchets putrescibles » ont été préparés et pesés séparément, puis mélangés dans un grand récipient (**Figure 26-A**). De l'eau du robinet a ensuite été ajoutée au mélange (environ 100 à 130 g d'eau pour 200 g de matière brute) et l'ensemble a été mixé dans un blender de cuisine (**Figure 26-B**). Enfin les papiers et cartons ont été pesés et ajoutés à la pâte mixée en mélangeant manuellement l'ensemble (**Figure 26-C**). Le substrat ainsi préparé a été conservé à 4°C jusqu'à son utilisation (maximum 7 jours).

Tableau 21. Composition du substrat FF-aHSW-2.

Catégorie	Produits	Préparation	Pourcentage (% MB)
1- Déchets putrescibles	Pain	Coupé	8.90%
	Pomme de terre	Coupé, cuit à l'eau	4.98%
	Tomate	Coupé	3.79%
	Haricots verts	Coupé	3.74%
	Pomme	Pelé et coupé	5.00%
	Banane	Pelé et coupé	3.75%
	Melon	Pelé et coupé	3.75%
	Riz	Cuit à l'eau	7.15%
	Bœuf haché	Cuit à la poêle	10.67%
	Beurre	Coupé	1.00%
	Huile de tournesol	-	1.00%
	Yaourt	-	1.99%
	Marc de café	-	6.24%
	Herbe de tonte	Coupé	8.90%
2- Papiers	Papier de bureau	Coupé	18.86%
3- Cartons	Cartons	Coupé	10.28%

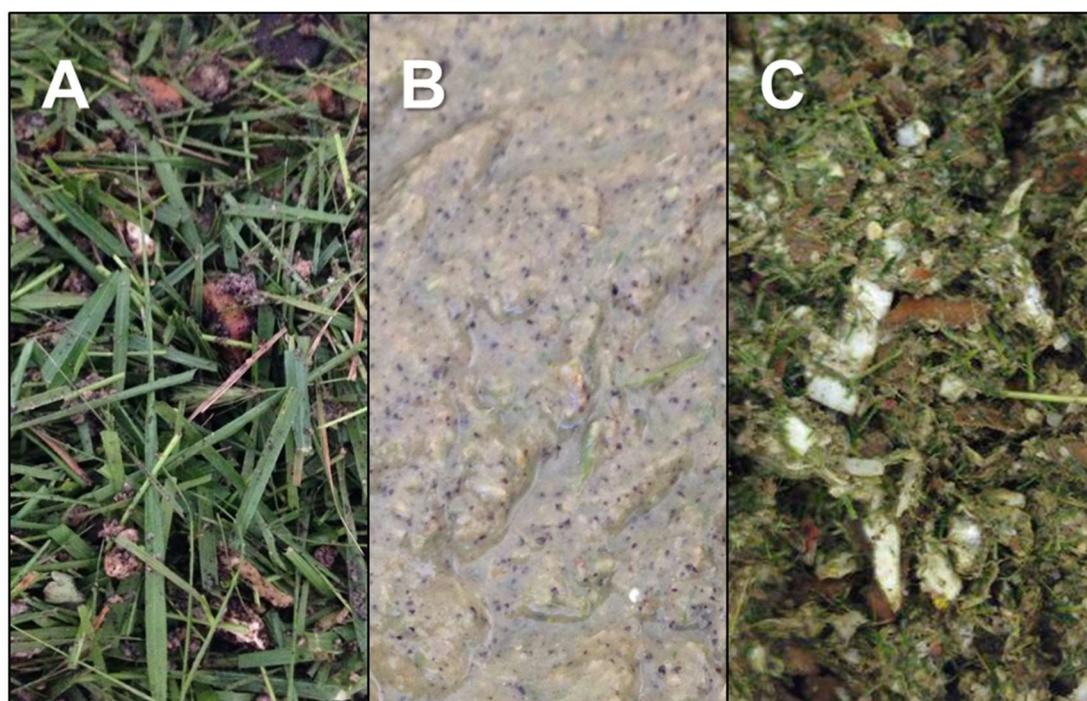


Figure 26. Préparation du substrat FF-aHSW-2. **A** : Éléments de la catégorie “Déchets putrescibles” mélangés ; **B** : Déchets putrescibles mélangés avec de l’eau du robinet ; **C** : FF-aHSW-2 finale avec les papiers et cartons.

Avant le lancement de la manipulation, le substrat a été caractérisé en termes de MS et MV, de DCO totale et de NTK. La teneur en MS a été mesurée après séchage à 105°C pendant 24 heures puis la teneur en MV a été déterminée après calcination de l'échantillon séché à 550°C, selon les Méthodes Standard 2540 B et 2540 E respectivement (APHA, AWWA, and WEF 1999). La DCO et le NTK du substrat ont été mesurées selon les méthodes décrites aux paragraphes **1.3.1.2** et **1.3.1.3** respectivement.

Par ailleurs, pour compléter cette caractérisation, des tests de lixiviation et tests BMP ont été réalisés comme indiqué aux paragraphes **1.3.2** et **1.3.3**.

2.1.2. Inoculum

Un échantillon de boues déshydratées de la station de traitement des eaux usées de Narbonne (Aude, France) a été utilisé pour l'inoculation des réacteurs. Pour la préparation, une fraction de l'échantillon collecté a été diluée dans de l'eau du robinet (300 g d'eau pour 100 g de matière brute environ) et le mélange a été homogénéisé par agitation magnétique. Afin d'éliminer les archées méthanogènes, les boues réhydratées ont été portées à 90°C sous agitation magnétique pendant 30 minutes (Cheong and Hansen 2006; Rafieenia, Lavagnolo, and Pivato 2018). Les boues prétraitées thermiquement ont constitué l'inoculum, qui a été conservé dans un flacon fermé à 4°C avant son utilisation.

En amont des manipulations, l'inoculum a été caractérisé par sa teneur en MS et en MV, de même que pour le substrat, selon les Méthodes Standard 2540 B et 2540 E respectivement (APHA, AWWA, and WEF 1999).

2.2. Fermentations en série à faible teneur en matières sèches à pH contrôlé et non contrôlé

2.2.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental était composé de 4 réacteurs en verre à double enveloppe, chacun muni d'un couvercle en plastique et d'un joint permettant l'étanchéité. La **Figure 27-A** montre un schéma représentant un réacteur entièrement équipé avec un dispositif de contrôle pH. La **Figure 27-B** et la **Figure 27-C** sont des photos d'un réacteur vu de face et de dessus.

Chaque réacteur avait un volume total de 1 L et un volume utile de 0.6 L. L'homogénéisation du milieu réactionnel a été assurée par une agitation magnétique continue (IKA C-MAG MS10). La température a été maintenue constante à 37°C par circulation d'eau chaude dans la double-enveloppe grâce à un bain thermostaté à circulation (LAUDA Alpha RA 8). En cas de contrôle du pH, celui-ci a été régulé via une sonde de mesure du pH (SI Analytics L8281 HDD ou SCHOTT INSTRUMENTS H8281 HD) reliée à un module de régulation PID (HACH SC1000) et à une pompe péristaltique (Gardner Denver Thomas SR10/30). La régulation de pH a été réalisée à l'aide de solutions de soude (NaOH) à 0.25 M ou d'acide chlorhydrique (HCl) à 1 M. Cependant, la régulation de pH ne pouvait se faire que dans un seul sens (abaissement ou augmentation du pH), et par conséquent une correction manuelle

du pH a pu être effectuée en utilisant une solution d'acide chlorhydrique (HCl) de 1 à 3 M, ou de soude (NaOH) de 0.5 à 2 M. Dans le cas d'une expérience sans contrôle de pH, la sonde de mesure du pH fonctionnait mais la pompe péristaltique était arrêtée, le module de régulation servant seulement à l'affichage des valeurs mesurées.

Les ports d'échantillonnage (gaz et liquide) étaient disposés sur le couvercle du réacteur. Le point d'échantillonnage liquide était fermé par une pince de Mohr. Grâce à une vanne 3 voies, le gaz produit pouvait être soit prélevé, soit conservé dans le réacteur, soit collecté dans une poche à gaz ou dans un flacon hermétique, soit dirigé vers un compteur volumétrique de gaz.

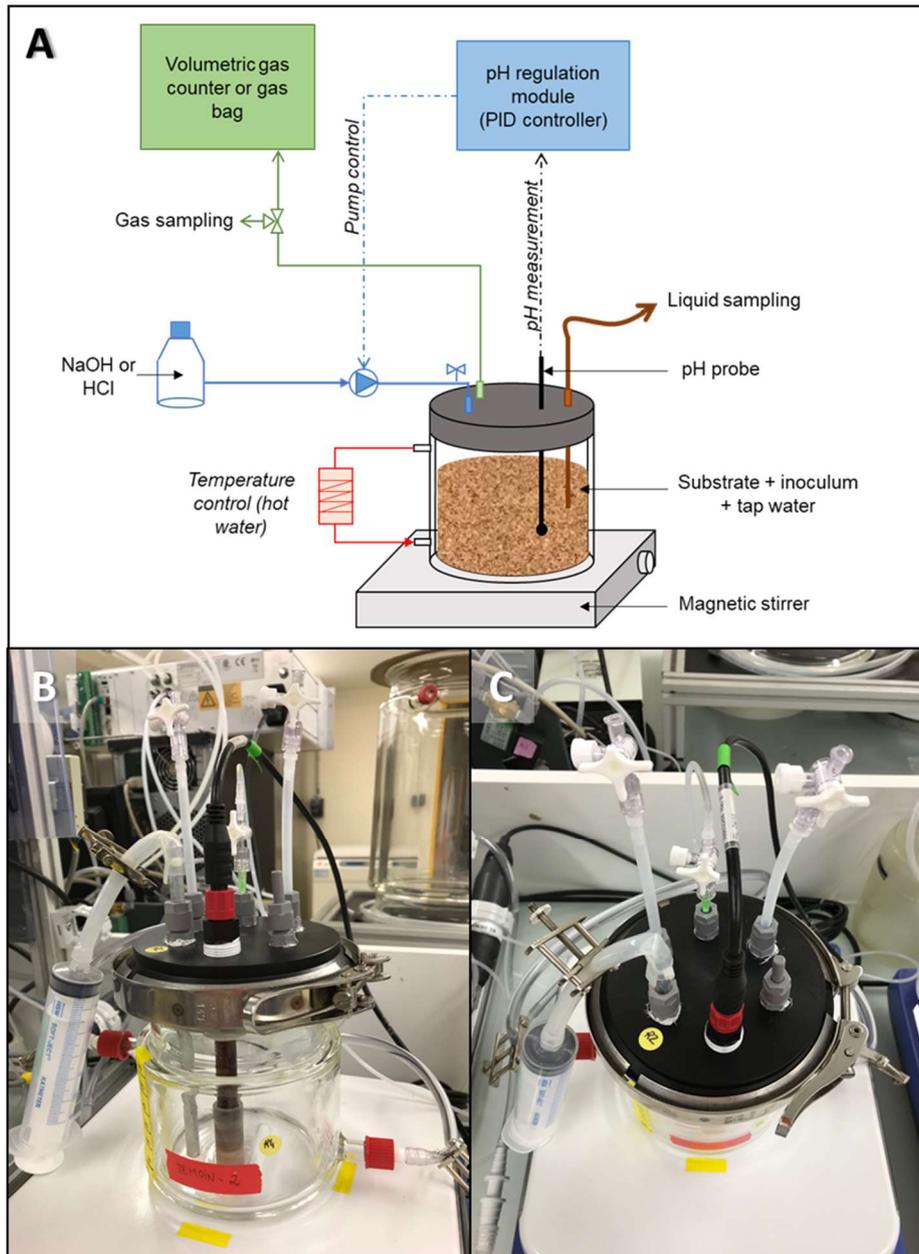


Figure 27. A : Schéma d'un réacteur équipé pour les expériences à faible teneur en matières sèches. En l'absence de contrôle de pH, la pompe péristaltique est à l'arrêt. **B :** Photo d'un réacteur vu de face. **C :** Photo d'un réacteur vu de dessus.

2.2.2. Mise en œuvre et suivi

Le déroulement de l'expérience est décrit sur la **Figure 28**. Les quatre réacteurs ont été opérés en parallèle en mode batch à pH contrôlé (pH 4.5, 5.5 ou 6.5) ou non contrôlé (pH NC). Pour chacune des conditions de pH, afin de tester l'effet de l'acclimatation des populations bactériennes au substrat et aux conditions opératoires, trois batches successifs nommés B1, B2 et B3 ont été mis en œuvre.

Durant le B1, la fermentation a été réalisée soit en apportant un inoculum extérieur (cas des réacteurs IN+EXT), soit en utilisant les bactéries indigènes du substrat sans apport d'inoculum extérieur (cas des réacteurs références, IN). Lors des batches B2 et B3, les cultures ont été inoculées avec le surnageant du batch précédent. Pour cela, le milieu réactionnel en fin de batch a été tamisé à 1 mm et la phase liquide obtenue, utilisée pour la ré-inoculation. Dans chaque batch, excepté au B1 des réacteurs IN, le ratio substrat/inoculum initial (S_0/X_0) était de 20 gMV/gMV pour favoriser la croissance bactérienne.

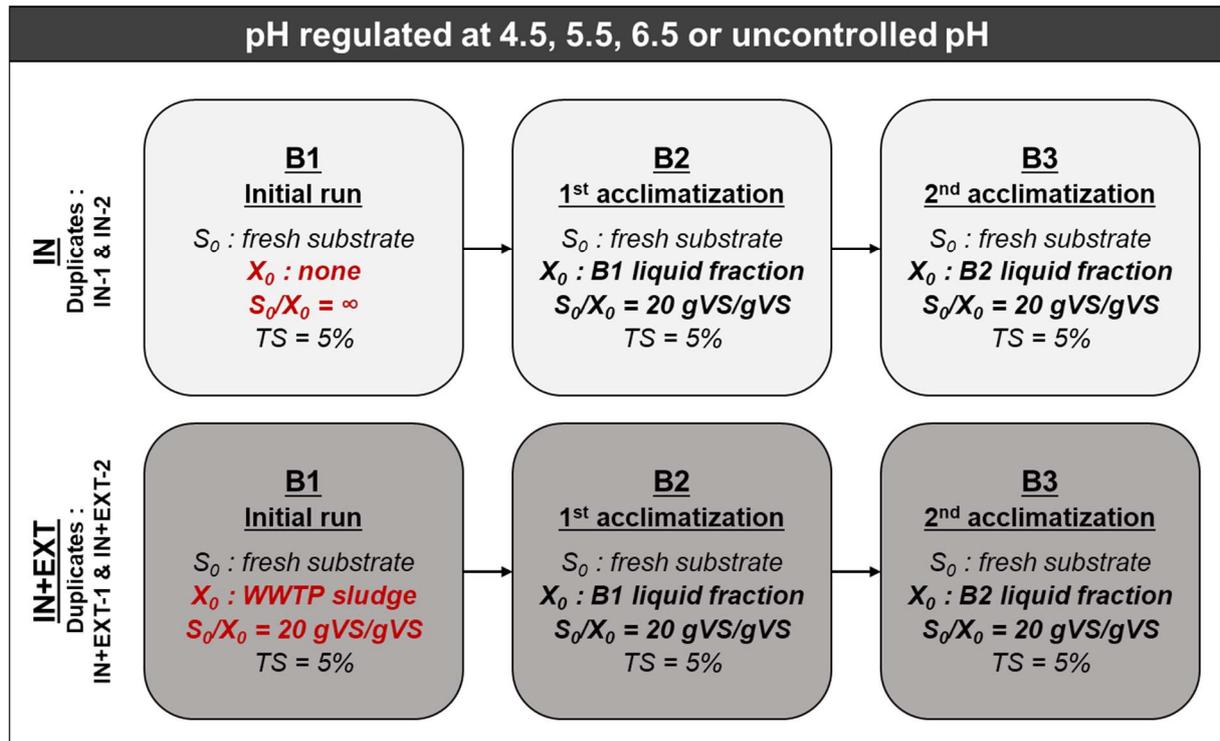


Figure 28. Déroulement des expériences de fermentations en série à faible teneur en solides.

Pour démarrer l'expérience, un mélange composé de substrat FF-aHSW-2 frais, d'inoculum (pour les réacteurs initialement inoculés, notés IN+EXT) et d'eau du robinet a été préparé directement dans le réacteur. Les quantités de chaque élément ont été ajustées pour un volume fixé de milieu, une teneur totale en matières sèches de 5% et, si nécessaire, un ratio substrat/inoculum initial (S_0/X_0) de 20 gMV/gMV. Une fois la préparation faite, le réacteur a été scellé, son volume mort mesuré et balayé à

l'azote durant 5 minutes pour installer les conditions anaérobies. Enfin la pression initiale dans le réacteur a été mesurée et le système de collecte/comptage du gaz produit connecté.

Un échantillon de gaz a été prélevé au moins une fois par jour dans le réacteur pour une analyse de sa composition. En cas de détection de méthane dans le gaz produit (à pH 6.5), du sodium 2-bromethanesulfonate (BES) a été ajouté au milieu avec une concentration de 1.05 g/L pour inhiber la méthanogénèse. Le volume de gaz produit a été quantifié soit par lecture sur le compteur volumétrique de gaz (Ritter MilliGascounter MGC-1 V3.4 PMMA, rempli de HCl 0.5 mol/L) (IN+EXT, pH 6.5 et pH NC), soit en vidant la poche à gaz à la seringue (IN, pH 6.5 et pH NC), ou par différences de pression (pH 4.5 et 5.5).

Le milieu réactionnel a été échantillonné au moins une fois par jour (environ 10 mL). La moitié de l'échantillon a été utilisée pour une mesure de la teneur en matières volatiles dans le réacteur. L'autre moitié a été tamisée à 1 mm pour recueillir une fraction liquide. Cette fraction liquide a été ensuite centrifugée pendant 15 minutes à 8232 rpm à 4°C (Eppendorf Centrifuge 5430R) et le surnageant, filtré à 0.2 µm sur seringue pour les analyses chimiques (métabolites de fermentation, DCO soluble). Le culot de centrifugation a été congelé à -20°C, après refroidissement dans un bain d'azote liquide si possible, pour l'analyse des communautés microbiennes. Dans tous les cas, la pression relative du système a été mesurée avant et après les échantillonnages de gaz et de liquide. En cas de pression relative négative après échantillonnage, une poche d'azote a été utilisée pour rééquilibrer la pression du système.

Les batches ont été arrêtés lorsque la vitesse de production d'AGV ou la concentration en DCO soluble étaient stables pendant deux jours consécutifs.

2.2.3. Méthodes d'analyses chimiques et microbiologiques

Différentes méthodes analytiques ont été utilisées lors de ces expériences, ce qui s'explique uniquement par les contraintes matérielles rencontrées au moment des expériences (elles-mêmes souvent associées au lieu de réalisation de ces expérimentations).

2.2.3.1. Analyse de la composition du gaz produit

L'analyse des gaz a été essentiellement réalisée afin de mesurer la production d'hydrogène et de détecter une production de méthane. Dans ce dernier cas, il s'agissait d'appliquer rapidement une action corrective d'inhibition de la méthanogénèse (voir Matériels et méthodes, **Paragraphe 2.2.2**).

A pH 4.5, et pour le premier batch (B1), l'analyse de la composition du gaz produit a été réalisée sur un échantillon de 250 µL par GC (Clarus 580 GC, Perkin Elmer) équipé d'un détecteur à conductivité thermique (TCD). Deux colonnes ont été utilisées : la première pour l'analyse des gaz H₂, O₂, N₂ et CH₄ (colonne RtQbond), et la seconde pour l'analyse du CO₂ (colonne RtMolsieve), le gaz vecteur étant l'argon, à une pression de 3.5 bar. Pour le second et le troisième batch (B2 et B3), les analyses de gaz ont été effectuées à l'aide d'un micro-chromatographe en phase gazeuse (R3000, SRA Instruments)

multiplexé. Le multiplexage des voies sur la vanne d'injection permet l'analyse automatisée en ligne des fioles selon une séquence définie par l'utilisateur. Le micro-chromatographe utilisait également deux colonnes capillaires. La première colonne (5Å molecular sieve, longueur de 10 m et diamètre de 0.32 mm) était dédiée à l'analyse du CO₂, avec l'argon comme gaz vecteur à une pression de 30 Psi. La seconde colonne (PLOT Q; longueur de 8 m et diamètre de 0.32 mm), avec l'hélium à 20 Psi comme gaz vecteur, permettait la quantification des gaz O₂, N₂, H₂ et CH₄. Le détecteur associé était un micro-TCD.

À pH 5.5, 6.5 et à pH non contrôlé, les analyses de gaz ont été réalisées pour déterminer les concentrations en N₂, H₂, CH₄ et CO₂, par GC (HP 5890 Series II, Hewlett Packard) équipé d'un détecteur TCD. Le gaz vecteur était l'argon, à une pression de 3.5 bar.

2.2.3.2. Analyse des métabolites du milieu de fermentation

Un échantillon brut d'environ 2.5 mL de milieu réactionnel a été utilisé pour une mesure de teneurs en MV, comme pour le substrat (voir paragraphe 2.1.1).

L'échantillon de surnageant liquide filtré à 0.2 µm a été utilisé pour les mesures de DCO soluble et de métabolites de fermentation. La DCO soluble a été déterminée à l'aide de kits DCO pour une gamme allant de 0 à 1500 mg O₂/L (COD MR Reagent HI93754B-0, HANNA Instruments).

À pH 4.5, les concentrations en AGV ont été mesurées par GC (VARIAN 580) composée d'une colonne Elite-FFAP Crossbond Carbowax de 15 m de longueur, connectée à un détecteur FID. Le gaz vecteur était l'azote, à débit de 6 mL.min⁻¹. Les AGV quantifiés par cette méthode étaient l'acétate, le propionate, l'(iso-)butyrate, l'(iso-)valérate et l'(iso-)caproate. À pH 5.5, 6.5 et pH non contrôlé, les concentrations en AGV ont été déterminées par GC (VARIAN SERIE 3900) avec une colonne AGILENT DB-WAX de 30 m de longueur et un diamètre interne de 0.53 mm. et un détecteur FID. L'azote était utilisé comme gaz vecteur à un débit de 25 mL.min⁻¹. Les AGV dosés dans ce cas étaient l'acétate, le propionate, l'(iso-)butyrate, l'(iso-)valérate et le caproate.

Des métabolites autres que les AGV ont également été quantifiés. À pH 4.5 et à 5.5, différents métabolites ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), avec une colonne Bio-Rad HPX-87H à 45°C. L'éluant était une solution acide sulfurique (H₂SO₄) à 0.004 M circulant à un débit de 0.3 mL.min⁻¹. Les composés quantifiés en HPLC étaient le lactose, le glucose, le xylose, le fructose, l'arabinose, le succinate, le lactate, le glycerol, le formate, l'acétate, le 1,3-propanediol, l'éthanol et le butan-1-ol. À pH 6.5, quatre alcools (méthanol, éthanol, isopropanol et butan-1-ol) ont été quantifiés par GC de la même manière que pour les AGV. Tous les métabolites autres que les AGV et ces quatre alcools ont aussi été dosés par HPLC.

2.2.3.3. Analyse des communautés microbiennes

Les communautés microbiennes de la fraction liquide ont été analysées par des techniques de séquençage de l'ADN. Le protocole employé est celui détaillé dans les travaux de Venkiteshwaran et al. (2016), avec les versions Mothur 1.39.5 et SILVA SSURef NR99, release 128.

2.3. Fermentations en série à forte teneur en matières sèches à pH non contrôlé

2.3.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental était constitué de huit flacons Schott en verre avec un volume total de 550 mL. Le volume utile était de 400 mL, afin de conserver un espace de tête suffisant pour la production de gaz. Chaque flacon était fermé par un bouchon en caoutchouc étanche au gaz. Afin de garder une température constante à 37°C, les flacons ont été placés dans un bain thermostaté agitant. Pour les analyses de gaz en ligne, les flacons pouvaient être connectés à un micro-chromatographe en phase gazeuse (micro-GC) grâce à une aiguille plongée dans le ciel gazeux à travers le bouchon en caoutchouc.

2.3.2. Mise en œuvre et suivi

Le déroulement des expériences est décrit sur la **Figure 29**. Les huit fioles ont été opérées en parallèle en mode batch. De même que pour les expériences à faible teneur en solides ; trois batches successifs nommés B1, B2 et B3 ont été mis en œuvre pour observer l'effet de l'acclimatation des populations bactériennes au substrat et aux conditions opératoires.

Durant le B1, la fermentation a été réalisée soit en apportant un inoculum extérieur (cas IN+EXT), soit en utilisant les bactéries indigènes du substrat sans apport d'inoculum extérieur (cas IN). Lors des batches B2 et B3, les cultures ont été inoculées avec le surnageant du batch précédent. Pour cela, le milieu réactionnel en fin de batch a été tamisé à 0.1 mm et la phase liquide obtenue, utilisée pour la ré-inoculation. Dans chaque batch (excepté IN, B1) un ratio substrat/inoculum initial (S_0/X_0) de 20 gMV/gMV a été choisi afin de favoriser la croissance bactérienne.

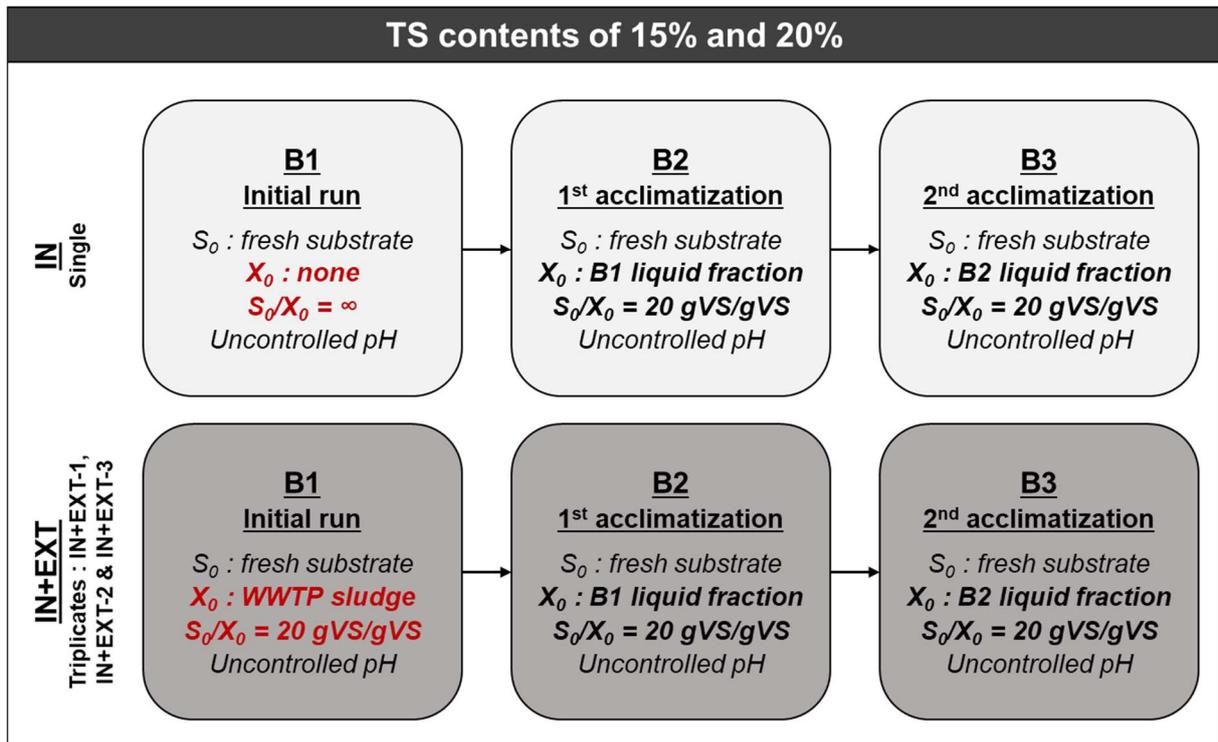


Figure 29. Déroulement des expériences de fermentation en série à forte teneur en solide.

Au démarrage, le mélange de substrat FF-aHSW-2 frais, d'inoculum (IN+EXT) et d'eau du robinet a été préparé directement dans les flacons, en ajustant les quantités de chaque élément de manière à obtenir une teneur en solides de 15 ou de 20%. Une fois le mélange préparé, un échantillon initial (T0) a été prélevé dans chaque flacon, puis un balayage à l'azote a été effectué pendant 5 minutes pour installer les conditions anaérobies. Le volume de ciel gazeux a ensuite été déterminé et la pression initiale a été mesurée. Pour finir, les fioles ont été connectées au système d'analyse automatique de gaz (micro-GC) si utilisé.

Les analyses automatiques de gaz pouvaient être effectuées quatre fois par jour. Ces analyses consistaient à mesurer la pression dans les fioles, et si celle-ci était suffisante, à prélever un échantillon de gaz analysé en ligne. En l'absence de ces analyses automatiques, la pression des fioles a été mesurée manuellement et un échantillon de gaz de 250 μL a été prélevé à l'aide d'une seringue.

Le milieu réactionnel a été échantillonné une fois par jour en ouvrant les fioles et en collectant une fraction à l'aide d'une spatule. Ensuite, un balayage à l'azote était réalisé pour replacer les fioles en anaérobie. L'échantillon ainsi prélevé a été tamisé à 0.1 mm pour séparer le solide du liquide. Une partie de la fraction solide a été congelée à -20°C pour l'analyse des communautés microbiennes. Le liquide a été centrifugé et le culot conservé à -20°C pour l'analyse des communautés microbiennes. Le surnageant a été filtré à 0.2 μm pour les analyses de concentrations en métabolites.

2.3.3. Méthodes analytiques et microbiologiques

2.3.3.1. Analyse de la composition du gaz produit

Les analyses automatiques de gaz ont été effectuées à l'aide d'un micro-chromatographe en phase gazeuse (R3000, SRA Instruments) multiplexé. Le multiplexage des voies sur la vanne d'injection permet l'analyse automatisée en ligne des fioles selon une séquence définie par l'utilisateur. Le micro-chromatographe utilisait également deux colonnes capillaires. La première colonne (5Å molecular sieve, longueur de 10 m et diamètre de 0.32 mm) était dédiée à l'analyse du CO₂, avec l'argon comme gaz vecteur à une pression de 30 Psi. La seconde colonne (PLOT Q; longueur de 8 m et diamètre de 0.32 mm), avec l'hélium à 20 Psi comme gaz vecteur, permettait la quantification des gaz O₂, N₂, H₂ et CH₄. Le détecteur associé était un micro-TCD.

Dans le cas des prélèvements manuels, l'analyse de la composition du gaz produit a été réalisée sur un échantillon de 250 µL par GC (Clarus 580 GC, Perkin Elmer) équipé d'un détecteur à conductivité thermique (TCD). Deux colonnes ont été utilisées : la première pour l'analyse des gaz H₂, O₂, N₂ et CH₄ (colonne RtQbond), et la seconde pour l'analyse du CO₂ (colonne RtMolsieve), le gaz vecteur étant l'argon, à une pression de 3.5 bar.

2.3.3.2. Analyse des métabolites du milieu de fermentation

Les concentrations en AGV ont été mesurées par GC (VARIAN 580) composée d'une colonne Elite-FFAP Crossbond Carbowax de 15 m de longueur, connectée à un détecteur FID. Le gaz vecteur était l'azote, à débit de 6 mL.min⁻¹. Les AGV quantifiés par cette méthode étaient l'acétate, le propionate, l'(iso-)butyrate, l'(iso-)valérate et l'(iso-)caproate.

Les métabolites autres que les AGV ont été quantifiés par HPLC, avec une colonne Bio-Rad HPX-87H à 45°C. L'éluant était une solution acide sulfurique (H₂SO₄) à 0.004 M circulant à un débit de 0.3 mL.min⁻¹. Les composés dosés en HPLC étaient le lactose, le glucose, le xylose, le fructose, l'arabinose, le succinate, le lactate, le glycerol, le formate, l'acétate, le 1,3-propanediol, l'éthanol et le butan-1-ol.

2.3.3.3. Analyse des communautés microbiennes

Les communautés microbiennes de la fraction liquide ont été analysées par des techniques de séquençage de l'ADN. Le protocole employé est celui détaillé dans les travaux de Venkiteshwaran et al. (2016), avec les versions Mothur 1.39.5 et SILVA SSURef NR99, release 128.

3. Etude de l'hydrodynamique en réacteur à lit percolant

3.1. Substrats

Dans cette partie, les OMR réelles rHSW-1 et les OMR reconstituées aHSW-2 ont été utilisées comme type de gisements. Ces deux substrats ont été utilisés sans broyage : il s'agissait en effet de se rapprocher de l'état des OMR en conditions réelles (par exemple à l'issue du ramassage des déchets). Des données obtenues préalablement à cette thèse sur des pailles de blé (WS) et du fumier bovin (CM) ont aussi été utilisées. Le fumier bovin et les pailles de blé provenaient d'une ferme expérimentale de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. Les substrats rHSW-1, aHSW-2 et CM ont été stockés à 4°C avant leur utilisation. Le substrat WS a été conservé à température ambiante, à l'abri de la chaleur et de l'humidité.

Préalablement à cette étude hydrodynamique, une détermination des caractéristiques chimiques simples de chacun des substrats a été réalisée. En effet, les teneurs en MS et en MV sont des données nécessaires au traitement des données suite aux tests hydrodynamiques. Pour les substrats rHSW-1 et aHSW-2, la caractérisation chimique a été réalisée comme indiqué au **Paragraphe 1.3.1.1**. La mesure de la teneur en MS sur les substrats CM et WS a été réalisée en les séchant à 105°C durant 24 heures. La mesure de la teneur en MV a été déterminée ensuite par calcination des matières sèches à 550° durant 2 heures.

3.2. Essais de percolation et drainage en circuit ouvert

3.2.1. Dispositif expérimental

Le schéma du dispositif et la photo de celui-ci sont présentés sur la **Figure 30-A** et la **Figure 30-B**. Il s'agit globalement du même dispositif mis en place par Shewani et al. (2015), composé d'une colonne en acier d'un diamètre intérieur de 40 cm et d'une hauteur maximale de 75 cm. Une cuve d'alimentation remplie d'eau distillée a été reliée à l'aspiration d'une pompe péristaltique (Masterflex 77800-50) associée à un variateur de fréquence. Le refoulement de cette pompe a été connecté au système d'injection placé au-dessus du lit de déchets. Le système d'injection utilisé pour les substrats rHSW-1 et aHSW-2 était constitué d'une plaque de PVC (environ 5.5 kg et 3 cm d'épaisseur) percée de seize trous (voir **Figure 30-C**), dans lesquels ont été insérées des aiguilles de 0.8 mm de diamètre et réduites à une longueur inférieure à l'épaisseur de la plaque, afin qu'elles ne soient pas directement en contact avec le lit de déchets. Pour les substrats CM et WS, le système d'injection était composé d'une plaque percée de douze trous contenant chacun une aiguille de 0.8 mm de diamètre. Une cuve de drainage a été placée sous la colonne afin de collecter l'ensemble des jus drainés. L'évacuation des jus était assurée via cinq buses de sortie (une centrale et quatre périphériques). Une couche de drainage composée de gravier (granulométrie de 6 à 14 mm) a été ajoutée sous le lit de déchets (rHSW-1 et aHSW-2) afin de faciliter l'écoulement du liquide vers les buses (Benbelkacem et al. 2010). Cette couche d'une hauteur d'environ 10% de la hauteur totale du massif, est piégé entre deux grilles de polyéthylène

de maille 3 mm. Les grilles visaient à éviter, d'une part, la migration de particules de déchets dans la couche de drainage, et d'autre part, le colmatage des buses de sortie par des déchets ou du gravier.

Les cuves d'alimentation et de drainage ont été placées sur des balances (A et B respectivement) reliées à un logiciel d'acquisition, afin d'enregistrer en continu et d'observer en temps réel l'évolution des masses d'eau injectée et de liquide drainé. La fréquence d'acquisition des données a été fixée à 20 secondes.

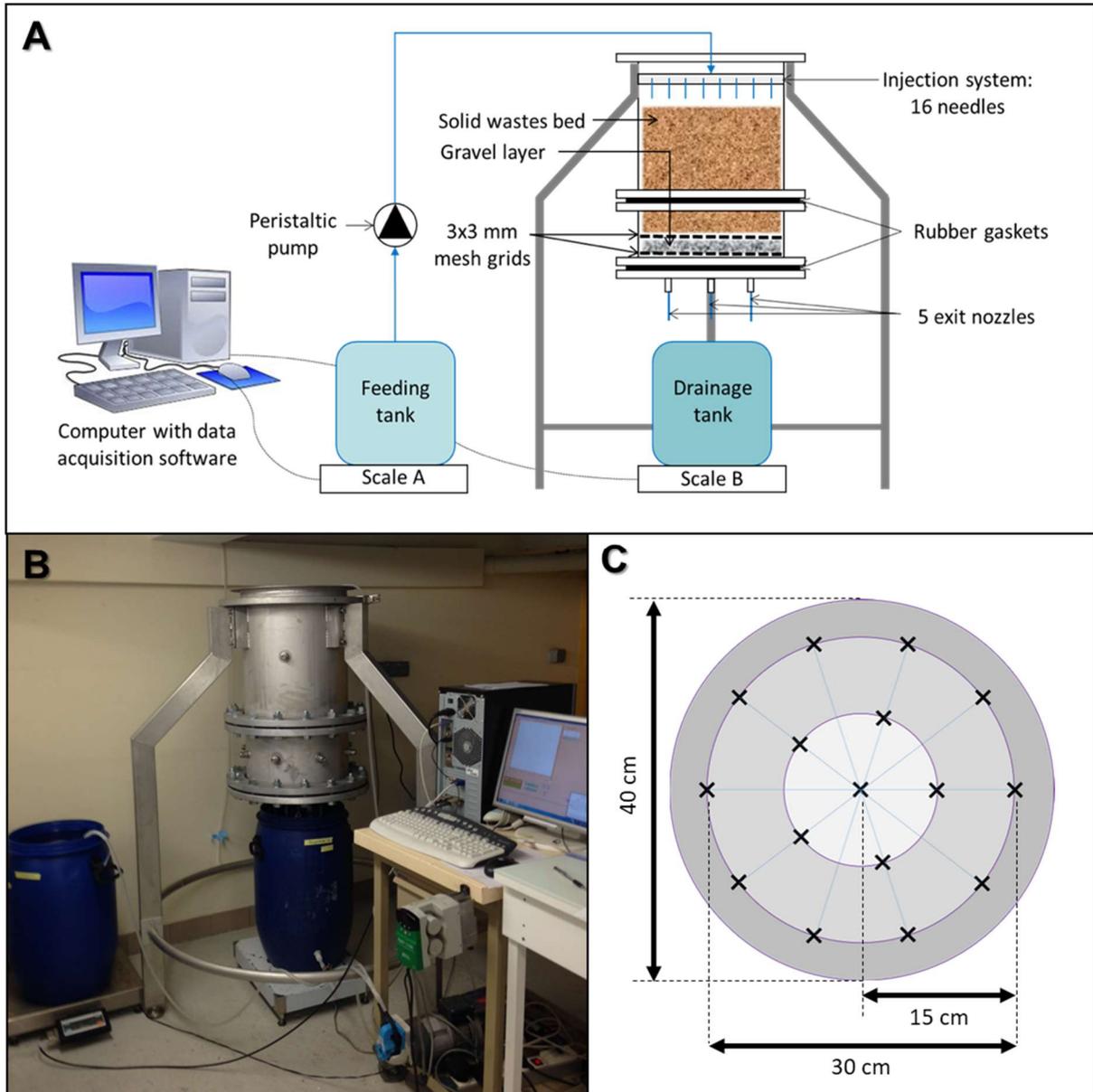


Figure 30. **A** : Schéma du dispositif expérimental de caractérisation hydrodynamique. **B** : Photo du dispositif expérimental de percolation et drainage. **C** : Disposition des aiguilles dans le système d'injection.

3.2.2. Mise en œuvre

Le protocole de caractérisation développé par Shewani et al. (2015) a été adapté aux ordures ménagères. Le **Tableau 22** récapitule les conditions de réalisation de l'étude hydrodynamique. Les différentes étapes suivies sont détaillées ci-après.

Tableau 22. Résumé de la méthodologie utilisée pour les essais de percolation-drainage.

		rHSW-1	aHSW-2	CM	WS
0	Niveau de compaction (CL)			CL 0	
État initial					
1	Temps de repos (h)		48		2
	Masse appliquée (kg; kg.m⁻²)		17.9 ; 142		2.9 ; 23
	Niveau de compaction (CL)		CL 1		CL 0*
2	Débits (L/h)	22; 6; 16; 12; 6		2; 22; 6; 16; 12	6; 22; 12; 16
	Niveau de compaction (CL)	CL 1	CL 1	CL 0*	CL 0*
3	Masse appliquée (kg; kg.m⁻²)		42.9 ; 341		40 ; 318
	Hauteur additionnelle simulée (m) ⁽²⁾	0.37	0.50	0.58	1.80
	Niveau de compaction (CL)			CL 2	
4	Temps de repos (h)		32		2
	Masse appliquée (kg; kg.m⁻²)		17.9 ; 142		2.9 ; 23
	Niveau de compaction (CL)			CL 2	
5	Débits (L/h)	22; 6; 16; 12	22; 6; 16; 12; 6	2; 22; 6; 16; 12 ⁽¹⁾	6; 22; 12; 16
	Niveau de compaction (CL)			CL 2	

(1) Immersion et drainage répétée au milieu de la série de percolation.

(2) Hauteur additionnelle calculée à partir de la densité du déchet à l'état initial.

3.2.2.1. Remplissage de la colonne

Le substrat à caractériser a été chargé dans la colonne jusqu'à une hauteur n'excédant pas 40 cm, afin d'éviter les effets de bord lors de l'écoulement de liquide. Le remplissage a été effectué en ajoutant progressivement des couches de déchet d'environ 10 cm et en aplanissant la surface du lit sans le comprimer. Ceci a permis d'obtenir un lit de déchets aussi homogène que possible. A l'état initial, le massif de déchets n'a pas été compacté et a donc été considéré comme étant au niveau de compaction (CL) le plus faible, noté CL 0.

3.2.2.2. Immersion et drainage

Une fois le massif de déchets constitué, une phase d'immersion et drainage a été réalisée. L'objectif de cette première étape était d'amorcer le mouillage du massif de déchets. Pour ce faire, un flux d'eau ascendant à un débit d'environ 15 L/h a été appliqué en passant par la buse de sortie centrale en bas de colonne, toutes les autres étant fermées. Lorsque le niveau d'eau dépassait le haut du tas de déchets de quelques centimètres, l'injection a été arrêtée et le drainage et le drainage bloqué. Le lit ainsi immergé a été laissé au repos pendant une certaine durée, à l'issue de laquelle le drainage a été effectué en ouvrant les 5 buses de sortie, jusqu'à l'obtention d'une masse d'eau drainée stable.

On notera quelques évolutions par rapport au protocole initial. Premièrement, la durée de repos a été augmentée de 2 heures (CM, WS) à 48 heures (rHSW-1 et aHSW-2). Ce choix est justifié par une expérience préliminaire qui a montré que le lit d'OMR n'était pas suffisamment « mouillé » après un contact de 2 heures. Deuxièmement, pour éviter le gonflement du lit au cours de l'immersion, une masse a été appliquée au-dessus de celui-ci. Cette masse a été augmentée de 15 kg pour rHSW-1 et aHSW-2 suite aux premières observations faites sur ces substrats. Aussi, à ce stade, les lits de déchets rHSW-1 et aHSW-2 subissaient déjà une première compaction, d'où le passage au niveau de compaction CL 1. Les substrats CM et WS n'ayant pas reçu le même poids, ils ont été considérés comme étant à un niveau de compaction intermédiaire noté CL 0*.

3.2.2.3. Série de percolation-drainage

La deuxième étape consistait à effectuer une série de percolation-drainage constituée de plusieurs cycles. L'objectif de cette phase était de déterminer à chaque débit la rétention d'eau, et donc la saturation en eau des pores du massif. Pour chaque cycle, la percolation a été effectuée en injectant de l'eau en flux descendant via le système d'injection à aiguilles à un débit donné. En début d'injection, aucun drainage n'était observé en bas de colonne. Puis, le drainage de lixiviat a débuté jusqu'à l'établissement d'un régime permanent, repérable par l'égalité des débits d'eau injectée et de lixiviat drainé. Le régime permanent assuré, l'injection a été arrêtée et le drainage s'est poursuivi jusqu'à ce que la masse d'eau drainée soit stable. La durée totale d'un cycle était d'environ 24 heures.

Au cours de la série, les débits forts et faibles ont été alternés afin d'obtenir des mesures de rétentions d'eau macroscopique dépendant du débit. A l'inverse, l'augmentation de la teneur en eau dans les micropores ne serait ainsi pas due à une augmentation de débit. En comparaison du protocole initial, le choix a été fait de commencer la série par le débit le plus fort afin de garantir le mouillage du déchet suite à l'étape d'immersion.

3.2.2.4. Compaction

A la fin de la série de percolation-drainage, une phase de compaction a été réalisée dans le but de simuler une hauteur de massif supplémentaire qui serait ajoutée au-dessus du lit de déchets dans la colonne, et donc une hauteur totale de massif plus importante. La compaction a été effectuée en appliquant une masse connue sur le lit pendant 24 heures. La hauteur de déchet supplémentaire

simulée a été calculée à partir de la densité initiale du déchet. Suite à cette étape, un pallier de compaction noté CL 2 a été considéré.

Durant la compaction, une petite quantité d'eau évacuée a été recueillie dans la cuve de drainage et pesée pour déterminer une nouvelle teneur en eau du déchet.

3.2.2.5. Immersion et drainage et série de percolation-drainage

Une autre phase d'immersion et drainage a été réalisée sur le lit de déchet au niveau de compaction CL 2. La durée de repos pour les massifs rHSW-1 et aHSW-2 a été réduite à 32 heures, vu la teneur en eau des lits. Pour terminer, le massif a subi une nouvelle série de percolation-drainage.

3.2.3. Suivi

A chacune des étapes de l'expérience, l'évolution dans le temps des masses d'eau injectée et de lixiviat drainé ont été enregistrées, et la hauteur du massif a été mesurée pour évaluer son tassement par rapport à l'état initial.

3.2.4. Exploitation des données

3.2.4.1. Rétentions dynamique et statique

A chaque cycle de percolation et drainage, le suivi des masses d'eau injectée et de lixiviat drainé a permis d'obtenir les courbes de volumes cumulés de liquide injecté et drainé. La courbe du volume cumulé de liquide injecté retenu dans le massif de déchets a pu être tracée par différence entre ces deux courbes. Un exemple de tracé est présenté sur la **Figure 31**.

Pendant la première phase, aucun lixiviat ne s'est écoulé. Le début de l'écoulement s'est produit au temps de percée : l'injection s'est poursuivie jusqu'à atteindre un plateau sur la courbe d'eau injectée retenue. Lorsque ce premier plateau a été assuré, l'injection a été coupée et le drainage s'est poursuivi jusqu'à atteindre un second plateau sur la courbe d'eau injectée retenue.

La rétention dynamique R_d est la différence entre le plateau 1 et le plateau 2 (en litres) et représente la quantité d'eau qui a été retenue dans la macroporosité et qui s'écoule une fois l'injection arrêtée, sous l'effet de la gravité. La rétention statique R_s est la valeur du plateau 2, c'est la quantité d'eau retenue de manière permanente dans la microporosité et qui ne s'écoulera pas.

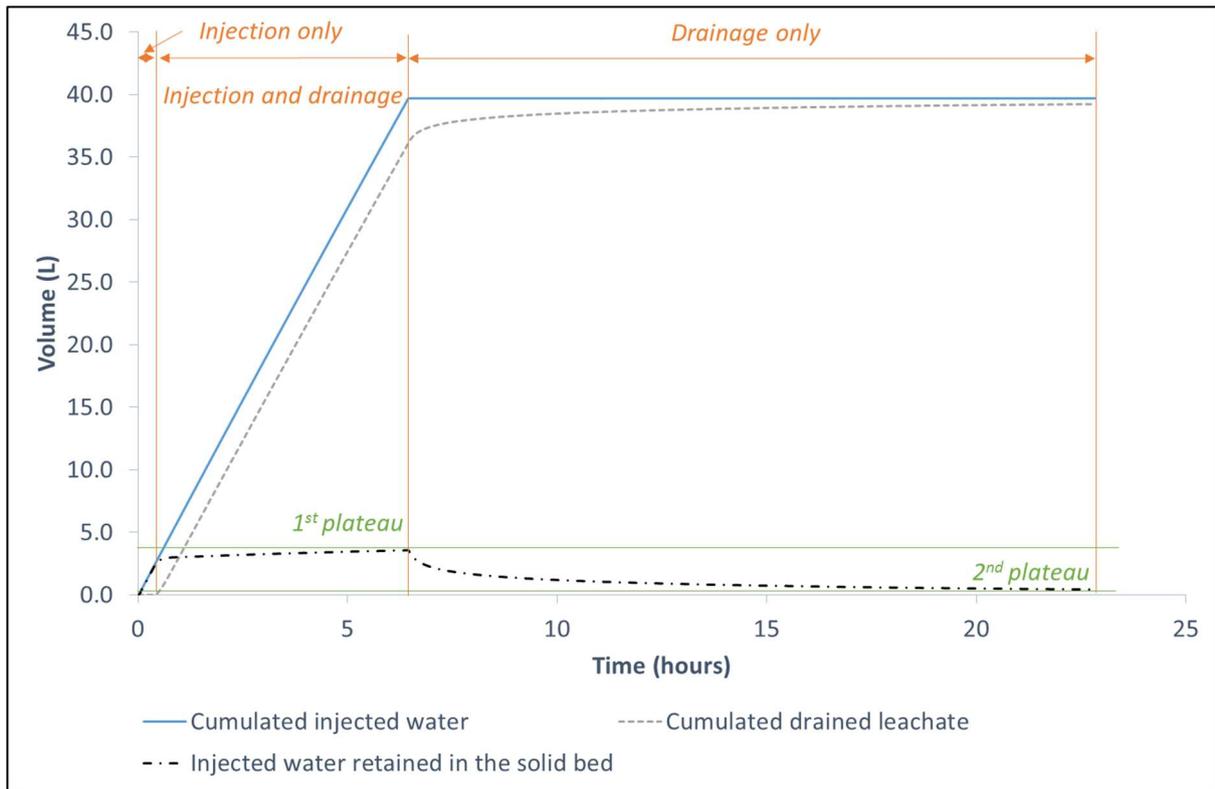


Figure 31. Courbe de l'eau injectée retenue dans le massif au cours d'un cycle de percolation-drainage à débit constant.

3.2.4.2. Volumes des fractions solide, microporeuse et macroporeuse

La densité des particules solides sèches (ρ_{SP}) a été calculée selon la formule empirique de Agnew et Leonard (2003) :

$$\rho_{SP} \text{ (kg/L)} = \left(\frac{MV}{1.55} + \frac{MM}{2.65} \right)^{-1}$$

Où MV et MM sont est les teneurs en matières volatiles et matières minérales sur base sèche (en g/gMS), respectivement.

Le volume solide du substrat sec V_s a ainsi été déterminé par le rapport de la masse de substrat sec dans la colonne et de la densité des particules solides sèches. Ce volume solide a été considéré constant pendant toute l'expérience (voir Stoltz, Gourc, and Oxarango 2010a).

La rétention d'eau statique a permis de calculer la quantité d'eau retenue de manière stable dans les micropores du massif, à la fin de chaque cycle. Cette rétention statique augmentant jusqu'à se stabiliser au cours de l'expérience, plusieurs cycles de percolation-drainage ont été nécessaires pour mesurer une quantité stable et définitive d'eau retenue dans les micropores du lit de déchets. Ainsi, le

volume total de micropores, V_{micro} a été déterminé par la rétention statique mesurée à la fin du dernier cycle d'une série de percolation-drainage.

Le volume de macropores V_{Macro} a enfin été calculé par différence entre le volume total et les volumes de solide sec et de micropores.

3.2.4.3. Microsaturation et macrosaturation

La microsaturation S_{micro} à l'issue d'une étape de l'expérience est le volume d'eau cumulé retenu dans les micropores à l'issue de cette étape, rapporté au volume de micropores. C'est donc le taux de remplissage de la microporosité.

La macrosaturation S_{Macro} lors d'une étape de l'expérience est la rétention dynamique de cette étape, rapportée au volume de macropores. Il s'agit du taux de remplissage de la macroporosité.

3.2.4.4. Perméabilité apparente

La perméabilité liquide apparente K_L a été calculée comme suit :

$$K_L = \frac{\mu_L * Q_L}{\rho_L * g * A}$$

Où μ_L est la viscosité dynamique de l'eau (Pa.s), ρ_L est la densité de l'eau (en kg/m^3), Q_L est le débit appliqué (en m^3/s), g est l'accélération de la pesanteur (m/s^2), A est la section de la colonne (en m^2).

3.2.4.5. Modèle à double porosité

Le modèle utilisé en premier lieu était identique à celui développé dans les travaux de Shewani et al. (2015), sous OpenFOAM® (plateforme open-source-de CFD). Cependant, les résultats obtenus suite à la caractérisation hydrodynamique et à l'implémentation de ce modèle ont mis en évidence l'existence possible d'un autre phénomène de rétention d'eau dans les massifs de déchets, et un modèle à double porosité amélioré a donc été proposé. Le développement de ce modèle sera détaillé dans le chapitre 3 de la partie « Résultats et discussions » de ce manuscrit.

3.3. Transfert de soluté en circuit fermé

3.3.1. Conditions de réalisation de l'expérience

Cette expérience de transfert de solutés a été effectuée sur le massif aHSW-2 compacté. La structure du massif (fractions de micropores, de macropores et de solide) a été préalablement déterminée lors des essais de percolation et drainage en circuit ouvert. L'essai de transfert de solutés a donc été réalisé à la suite, alors que le massif de déchet était toujours saturé en eau (micropores remplis).

3.3.2. Dispositif expérimental

Le schéma du dispositif expérimental est représenté à la **Figure 32**. Ce dispositif était composé de la colonne, du système d'injection et de la pompe péristaltique présentés au **Paragraphe 3.2.1**. Dans ce cas de recirculation en boucle fermée, un unique bac a servi à l'alimentation et au drainage. L'aspiration de la pompe a donc été plongée dans le bac, et le refoulement connecté au système d'injection installé au-dessus du lit de déchets. Le lixiviat a pu être drainé via les cinq buses de sortie regroupées dans un bécher permettant l'échantillonnage, placé sur une grille elle-même posée au-dessus du bac. En début de drainage, le bécher a été rempli par le lixiviat drainé, puis par débordement le lixiviat a commencé à s'écouler dans le bac. Celui-ci a été placé sur une balance reliée à un logiciel d'acquisition, afin d'enregistrer en continu et d'observer en temps réel l'évolution la masse du bac. La fréquence d'acquisition des données a été fixée à 20 secondes.

Etant donné que le test de transfert de solutés a été réalisé à la suite des séries de percolation et drainage, le massif a été constitué comme indiqué au **Paragraphe 3.2.1** (la couche de drainage et les grilles de maintien étaient toujours en place).

3.3.3. Mise en œuvre

L'objectif de la manipulation était d'étudier les dynamiques de transfert de soluté lors du chargement et du déchargement des micropores en un traceur, l'acétate de sodium (CH_3COONa). Le processus a donc été réalisé en deux étapes : une phase de chargement et une phase de déchargement de la matrice en traceur.

3.3.3.1. Chargement (C)

Lors de cette phase, une solution de traceur a été utilisée pour la recirculation. Un volume de 10 L de solution de traceur a été préparé en amont à l'aide d'acétate de sodium trihydraté (CH_3COONa , $3\text{H}_2\text{O}$) à une concentration de 30g/L, ce qui correspondait à une concentration en CH_3COONa de 18.1 g/L. L'injection en boucle fermée de ce traceur a été effectuée ensuite par le haut de la colonne à un débit fixe de 20 L/h, durant 24 heures.

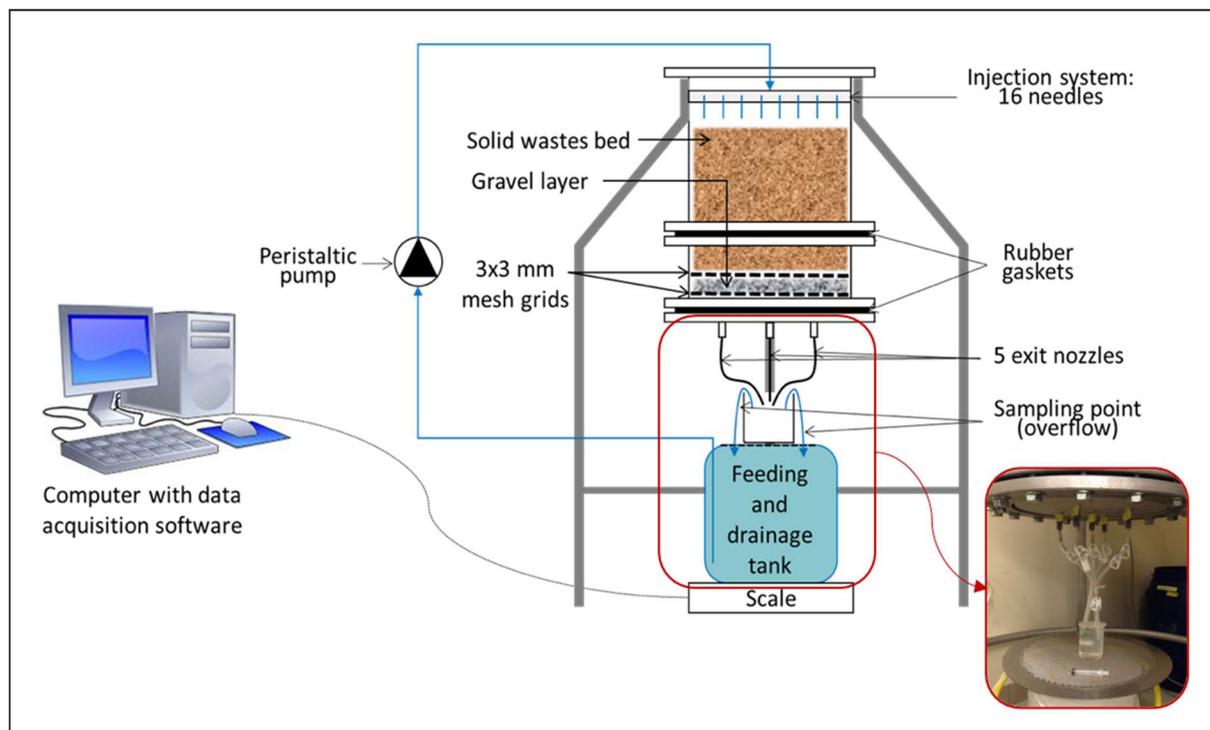


Figure 32. Dispositif expérimental de transfert de solutés.

3.3.3.2. Déchargement (D)

À la suite de la phase de chargement en traceur, le bac de solution a été remplacé par un volume de 10 L d'eau distillée. L'injection d'eau a ensuite été réalisée dans les mêmes conditions que pour la phase précédente, durant 24 heures.

3.3.4. Suivi et méthodes analytiques

Au cours des deux phases, à partir du début du drainage, des échantillons des lixiviats évacués de la colonne ont été prélevés à l'aide d'une seringue dans le béccher. La fréquence des prélèvements est indiquée dans le **Tableau 23**. Chaque échantillon d'un volume de 10mL a été stocké à 4°C avant analyses.

Les échantillons ont été filtrés à 0.2 μm et les filtrats ont été analysés pour mesurer les concentrations en acétate et en sodium. La concentration en acétate (CH_3COO^-) a été déterminée par GC (VARIAN SERIE 3900) équipée d'une colonne DB-WAX (Agilent) d'une longueur de 30m et de diamètre interne 0.53 mm, et d'un FID. Le gaz vecteur était l'azote, à un débit de 25 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La concentration en sodium (Na^+) a été mesurée par chromatographie ionique (DIONEX ICS 2000) équipée d'un détecteur conductimétrique.

Tableau 23. Fréquence des prélèvements lors de l'essai de transfert de solutés.

Période (sur une phase)	Fréquence des prélèvements
De 0 à 20 minutes	Toutes les 2 minutes
De 20 à 35 minutes	Toutes les 3 minutes
De 35 minutes à 1 heure	Toutes les 5 minutes
De 1 à 2 heures	Toutes les 15 minutes
De 2 à 3 heures	Toutes les 30 minutes
De 3 à 5 heures	Toutes les heures
À 7 heures	Un prélèvement
À 24 heures	Un prélèvement

3.3.5. Exploitation des données

Les concentrations en acétate (CH_3COO^-) et en sodium (Na^+) mesurée ont été tracées en fonction du temps. Les concentrations mesurées en régime permanent (à la fin de chacune des phases C et D) ont été comparées aux plateaux de concentrations théoriques ($C_{\text{th,C}}$ et $C_{\text{th,D}}$) calculés en g/L pour chaque soluté i , comme suit:

$$C_{\text{th,C}}(i) = C_{\text{alim}}(i) * \frac{V_{\text{alim}}}{V_{\text{alim}} + V_{\text{micro}}}$$

$$C_{\text{th,D}}(i) = C_{\text{th,C}}(i) * \frac{V_{\text{alim}}}{V_{\text{alim}} + V_{\text{micro}}}$$

Dans ces expressions, $C_{\text{alim}}(i)$ est la concentration en soluté dans l'alimentation (en g/L) et V_{alim} est le volume initial de liquide dans le bac (en L). Le volume de micropores V_{micro} (en L) a été déterminé au préalable lors des essais de percolation-drainage.

Troisième partie :
Résultats et discussions

**Chapitre 1 : Étude à différents pHs de l'influence de
la nature de l'inoculum sur la fermentation
acidogène de la fraction fermentescible des OMR**

1. Avant-propos du Chapitre 1

L'objectif de ce premier chapitre est d'étudier l'effet de l'ajout d'un inoculum extérieur et de l'acclimatation des communautés microbiennes initiales (indigènes seules ou indigènes et extérieures) sur la fermentation acidogène des OMR à différents pHs. Plus précisément, la fermentation uniquement à partir des micro-organismes indigènes du substrat est comparée au cas de fermentation avec les bactéries indigènes additionnées d'un inoculum extérieur (boues de station d'épuration prétraitées). Ces communautés bactériennes initiales ont vu leur pH maintenu à 6.5 ou abaissé à 5.5 et 4.5 en continu durant l'expérience. En effectuant trois batchs successifs où le milieu est ré-inoculé avec la fraction liquide du batch précédent, l'acclimatation des populations microbiennes est également étudiée. Il s'agit donc *in fine* d'observer, selon le pH, l'effet de la nature de l'inoculum (indigène ou exogène, acclimaté ou non) sur l'hydrolyse du substrat, la production de métabolites et la répartition de ceux-ci.

Les différentes parties de ce chapitre sont issues d'une publication qui sera prochainement soumise à la revue « Frontiers in Sustainable Food Systems : Waste Management in Agroecosystems ». Toutefois, afin d'éviter les redondances, certains paragraphes ont été supprimés ou allégés par rapport à la publication d'origine.

2. Influence of the nature of inoculum on batch acidogenic fermentation of household solid wastes: study at different pHs³

2.1. Introduction

Anaerobic digestion is a classical biological treatment producing biogas for heat and power generation. However, acidogenic fermentation, *i.e.* the first two steps of anaerobic digestion, allows the production of platform molecules with high added-value in the chemical industry. Household solid wastes (HSW) can be used for acidogenic fermentation, as raw materials for chemical industry. This is a resource recovery approach addressing two major issues: (i) to reduce the amount of waste by treating them and (ii) to lower the consumption of fossil fuels (Atasoy et al. 2018). According to Kleerebezem and van Loosdrecht (2007) the combination of these two objectives gave birth to what is called "mixed

³ Laura Digan^a, Camille Petrognani^a, Evrard Mengelle^a, Simon Dubos^a, Mansour Bounouba^a, Clémence Pagès^b, Renaud Escudie^b, Eric Trably^b, Etienne Paul^a, Claire Dumas^{a*}

^a LISBP, Université de Toulouse, CNRS, INRA, INSA, Toulouse, France

^b LBE, Univ Montpellier, INRA, 102 avenue des Etangs, 11100 Narbonne, France

* Corresponding author: Claire DUMAS, Address : LISBP - INSA de Toulouse, Département GPE - Bâtiment 33, 135 Avenue de Rangueil, 31077 Toulouse CEDEX 04, Tel.: +33 (0)5 67 04 88 49; E-mail address: claire.dumas@insa-toulouse.fr

culture biotechnology”. This is a specific field of biotechnology using undefined mixed cultures of microorganisms, and thus, process development is “based on natural or ecological selection by manipulating the operation of the bioprocess or by varying the source of the natural inoculum”. However, the interactions between physical, chemical and biological processes need to be understood and controlled, in order to implement this methodology.

During acidogenic fermentation of HSW, the raw complex particulate substrate is converted through hydrolysis and acidogenesis into short-chain fatty acids called volatile fatty acids (VFA), other soluble compounds such as alcohols, and gaseous products (hydrogen and carbon dioxide) (Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991; Sanders 2001; V. A. Vavilin et al. 2008; Bastidas-Oyanedel et al. 2015). To produce these intermediate compounds in high quantities, the acetogenic and methanogenic steps of anaerobic digestion must then be avoided. In mixed cultures, acidogenic fermentation involves a consortium of bacteria, which interact to perform the fermentation patterns in order to transform organics compounds through a set of oxidation-reduction reactions. The activity of the microorganisms is conditioned by the operational conditions, e.g. temperature, gas phase composition or pH. Modifications in the conditions lead to changes in the microbial consortium metabolism and/or physiology, and thus affect the types and quantities of products released during fermentation (Gerardi 2003; Bastidas-Oyanedel et al. 2015). The influence of pH on fermentation yields and products has been widely studied. It is known that acidogenic fermentation can occur in a wide range of pH, from 3 to 11, and the metabolic pathways can be modified due to pH change (Bastidas-Oyanedel et al. 2015; Zhou et al. 2018). However, information about the effect of pH is very diverse and seems to be dependent on the type of substrate studied. The heterogeneity and complexity of HSW make it even harder to control VFA production and to orientate the product spectrum in a reproducible way.

In batch fermentation processes, another important factor is the presence of biomass at start-up. Indeed, increasing the amount of initial biomass positively affects microbial growth, substrate consumption and fermentation rate (Gomez and Goma 1986; Y. Liu 1996). The inoculum origin can also affect fermentation performance and product spectrum. For instance, Wang et al. (2014) and Yin et al. (2016) obtained higher VFA productions using anaerobic activated sludge compared to aerobic activated sludge. They attributed the differences to the changed microbial compositions, with more acidogenic bacteria and higher microbial activity in anaerobic conditions. A common practice aiming to obtain an inoculum enriched in acidogenic bacteria is to pre-treat it. It is based on the fact that many fermentative bacterial species can form endospores when placed in unfavourable environmental conditions, whereas methanogenic archaea do not resist to the harsh environments (Cheong and Hansen 2006; Rafieenia, Lavagnolo, and Pivato 2018). Spore-forming bacteria can reactivate once the environmental conditions become suitable again (Rafieenia, Lavagnolo, and Pivato 2018). Several authors have studied the different pre-treatment methods applied to exogenous inocula (Alibardi et al. 2012; Cheong and Hansen 2006; Elbeshbishy, Hafez, and Nakhla 2010) or to microbial communities of the substrate (indigenous) (Kim, Kim, et Shin 2009; Elbeshbishy et al. 2011). Thermal pre-treatment is

the most frequently employed because of its efficiency to inhibit methanogenic activity (Rafieenia, Lavagnolo, and Pivato 2018; Alibardi et al. 2012).

Even though it is possible to use an inoculum enriched in acidogenic populations, microorganisms still need to get used to the chosen operational conditions. van Aarle et al. (2015) also indicated that there are interactions between substrate and inoculum, conditioning the orientation of fermentation and the performances. Therefore, a possibility to reach high performances in fermentation could be to adapt the inoculum to the environmental conditions directly on the target substrate. This can be made by implementing sequential batch cultivations, as suggested by Sivagurunathan et al. (2016), Mäkinen, Nissilä, and Puhakka (2012) or Varrone et al. (2013). These authors tested several transfers of mixed cultures on simple substrates to enrich the consortia in hydrogen producing bacteria. Sivagurunathan et al. (2016) indicated a selective enrichment of these bacterial populations within four generations of repetitive sub-culturing on a peptone-yeast-galactose medium. Therefore, producing a highly specific microbial consortium with this strategy seems to be promising. To our knowledge, sequential batch mixed culture cultivations have not been conducted in mesophilic conditions on HSW, for the production of organic acids.

Therefore, the present work aimed at observing how the initial mixed cultures are oriented in response to a reduction of the operational pH with regards to their initial pH. At the same time, the potential benefits for fermentation performances of adding an external inoculum on one hand, and of the acclimation of initial populations on the other hand, were studied. To do so, successive batches were performed at different pHs on the fermentable fraction of residual household solid wastes (FFHSW), with or without the addition of an external pre-treated inoculum.

2.2. Materials and methods

2.2.1. Summary of the protocol

The substrate used was an artificial FFHSW, which composition was presented in section “Matériels et méthodes” of this manuscript. The external inoculum came from dewatered sludge sampled in a wastewater treatment plant, and was heat pre-treated in order to reduce methanogen archaea.

In order to test the effect of inoculum acclimation to the substrate, three successive batches named B1, B2 and B3 were operated. In the first batches, the cultures were performed either with addition of an external inoculum (inoculated, IN+EXT) or without any addition of external inoculum (reference, IN). For the second and third batches, the cultures were inoculated with the supernatant taken from the previous batch.

The TS and VS contents of the substrate used each batch are described in **Tableau 24**. The COD content was measured on six different substrates: it was stable, thus considered constant and equal to 1.31 g COD.g⁻¹ TS. The external inoculum had a TS content of 0.036 ± 0.002 g.g⁻¹ RM, and a VS content of 0.794 ± 0.015 g.g⁻¹ TS.

Tableau 24. Total and volatile solids contents of the artificial FFHSW used as substrate in the fermentation at pH 4.5, 5.5 and 6.5.

pH	B1		B2		B3	
	TS (g.g ⁻¹ RM)	VS (g.g ⁻¹ TS)	TS (g.g ⁻¹ RM)	VS (g.g ⁻¹ TS)	TS (g.g ⁻¹ RM)	VS (g.g ⁻¹ TS)
4.5	0.368 ± 0.013	0.863 ± 0.008	0.366 ± 0.002	0.857 ± 0.030	0.390 ± 0.003	0.865 ± 0.012
5.5	0.395 ± 0.000	0.794 ± 0.006	0.370 ± 0.007	0.903 ± 0.006	0.305 ± 0.003	0.906 ± 0.005
6.5	0.328 ± 0.014	0.898 ± 0.006	0.334 ± 0.003	0.903 ± 0.001	0.339 ± 0.006	0.898 ± 0.001

The experimental set-up was composed of four jacketed glass reactor vessels with a plastic cap. Sampling ports for gas and liquid were installed on the reactors top. Each reactor had a total volume of 1 L and a working volume of 600 mL. Homogenization of the reactors content was ensured by continuous magnetic stirring. Temperature was kept constant at 37°C by an external water jacket and a thermostatic circulator. The pH was controlled in each reactor via a pH probe associated to a PID regulation module. pH regulation was performed using NaOH 0.25 M or HCl 1M solutions. If needed HCl (1 to 3 M) or NaOH (0.5 to 2 M) were occasionally used for manual pH correction.

The initial substrate to inoculum ratio (S_0/X_0) was fixed at 0.05 gVS/gVS to favour biomass growth. To start each batch, a mixture composed of fresh FFHSW, inoculum (in IN+EXT tests) and tap water was prepared directly in the reactor. The substrate, inoculum and tap water quantities were adjusted to obtain a TS content of 5% in the reactor. Once the mixture prepared, the reactor was sealed and flushed with nitrogen for 5 minutes to install anaerobic conditions. Then the initial pressure was measured, and the reactor was connected to the gas system. The batches were conducted until observing a stable rate of production of VFA (or soluble COD) for two days.

The gas produced was quantified at least once a day in each reactor either via a volumetric gas counter (IN+EXT, pH 6.5), by emptying the gas bag (IN, pH 6.5) or by pressure difference (pH 4.5 and 5.5). In any case, the system's pressure was checked before and after liquid and gas sampling. In case of negative relative pressure after sampling, a nitrogen bag was used to equilibrate the pressure. Then, a gas sample was taken for composition analysis. The reactor medium was sampled at least once a day via a tube and a syringe. The details related to the treatment of the samples and to the analytical methods are given in section "Matériels et méthodes" of the manuscript.

2.2.2. Calculations and statistical analyses

The COD balance was determined as follows:

$$COD\ balance\ (\%) = \frac{m_{gas\ COD\ gas} + m_{soluble\ COD} + m_{particulate\ COD}}{m_{substrate\ COD}} * 100$$

Where $m_{gas\ COD}$ (gCOD), $m_{soluble\ COD}$ (gCOD) and $m_{particulate\ COD}$ (gCOD) are the final molecular hydrogen COD, soluble and particulate COD amounts, respectively. $m_{substrate\ COD}$ (gCOD) is the mass of substrate COD initially placed in the reactor.

VS degradation yield was calculated as follows:

$$VS \text{ degradation yield (\%)} = \left(1 - \frac{VS_{Tf}}{VS_{Ti}} \right) * 100$$

Where VS_{Ti} and VS_{Tf} (gVS/gRM) are the VS content in the reactor at initial time and final time of the batch, respectively.

The total COD solubilisation yield was calculated:

$$Total \text{ COD solubilisation (mgCOD/gCOD)} = \frac{C_{solub \text{ COD}} * V}{m_{substrate \text{ COD}}}$$

Where $C_{soluble \text{ COD}}$ (gCOD/L) is the soluble COD concentration, V (mL) is the volume of reactor medium (assuming that the density of the reactor content is 1g/L).

Metabolites mass concentrations (g/L) were converted to their equivalent COD concentrations. Metabolites yields were calculated as follows:

$$Metabolite \text{ yield (mgCOD/gCOD)} = \frac{C_{metabolite} * V}{m_{substrate \text{ COD}}}$$

Where $C_{metabolite}$ (gCOD/L) is the metabolite concentration.

On a COD basis, each metabolite fraction was calculated as follows, with $C_{metabolite}$ expressed in gCOD/L:

$$Metabolite \text{ fraction (\%)} = \frac{C_{metabolite}}{C_{soluble \text{ COD}}}$$

The unidentified soluble COD fraction was then determined as follows:

$$Other \text{ soluble COD fraction (\%)} = \frac{C_{soluble \text{ COD}} - \sum C_{metabolite}}{C_{soluble \text{ COD}}}$$

VFA and other metabolites concentrations were smoothed with an Excel macro and provided concentrations with a time interval Δt of 0.2 day. The smoothed data was used to calculate instant metabolites production rates as follows:

$$Metabolite \text{ production rate (gCOD.L}^{-1}.day^{-1}) = \frac{C_{metabolite}(t + \Delta t) - C_{metabolite}(t)}{\Delta t}$$

The initially inoculated and non-inoculated reactors were conducted in duplicates. Except for metabolites distribution and microbial communities, the results were expressed as mean value \pm standard deviation. The analysis of variance (ANOVA) allowed to assess whether the studied variables were significantly influenced by the tested parameters or not. This analysis was performed with Microsoft Excel Analysis tool, with a risk $\alpha = 0.05$.

Partial Least Square-Discriminant Analysis (PLS-DA) was performed with the software R (version 3.6.0) and R Studio (1.2.1335), using the package mixOmics (Rohart et al. 2017), to assess the evolution of bacterial communities from the initial time of the experiment to the end of the batches.

2.3. Results

2.3.1. Substrate degradation and metabolites yield

Figure 33 shows the COD solubilisation yield, which was split into gas (H_2), soluble metabolites and the unidentified part of soluble COD (all the measured soluble COD not detected with HPLC or GC analyses). The leaching tests allowed to assess the “leachable” (easily released) fraction of COD (physical-chemical phenomenon), which is shown with a dashed horizontal line on **Figure 33**. Thus, it was possible to differentiate the amount of substrate COD solubilised due to leaching from the amount solubilised by biological processes (total amount over the dashed line). However, one must keep in mind that pH was not controlled during leaching tests and went from 6.4 ± 0.0 to 6.0 ± 0.1 within 24 hours. The “leachable” fraction of COD was equal to 99 ± 4 mgCOD/gCOD_{substrate}, accounting for 29 to 41% of solubilised COD at pH 6.5, 43 to 59% at pH 5.5 and 42 to 84% at pH 4.5. In total, the highest COD total solubilisation yields were obtained when operating the fermentation at pH 6.5 (maximum of 342 ± 1 mgCOD/gCOD_{substrate}) and decreased with pH. They were significantly affected by the pH change ($p < 0.05$).

For one pH condition, VS degradation yields were calculated (data not shown) at the same time to compare the batches, which could be before the actual batch end. The VS degradation yield did not change much over the sequential batches and was $14 \pm 11\%$, $32 \pm 5\%$ and $30 \pm 3\%$ at pH 4.5, 5.5 and 6.5 respectively (mean value and standard deviation over all reactors and all batches). It was only noted that the maximum VS degradation yield was obtained at pH 5.5 and that acclimation was beneficial to VS degradation at this pH, with a gain of 8 to 11% after 3 batches, which was not the case at other pHs.

The addition of an external inoculum during B1 did not significantly increase the COD solubilisation and metabolites production yields, as confirmed by the analysis of variance ($p > 0.05$). But overall, the results showed a positive effect of acclimation on the above-mentioned parameters, especially at pH 4.5. Considering each pH condition, the improvement of performances due to acclimation was more important for IN reactors than for IN+EXT reactors.

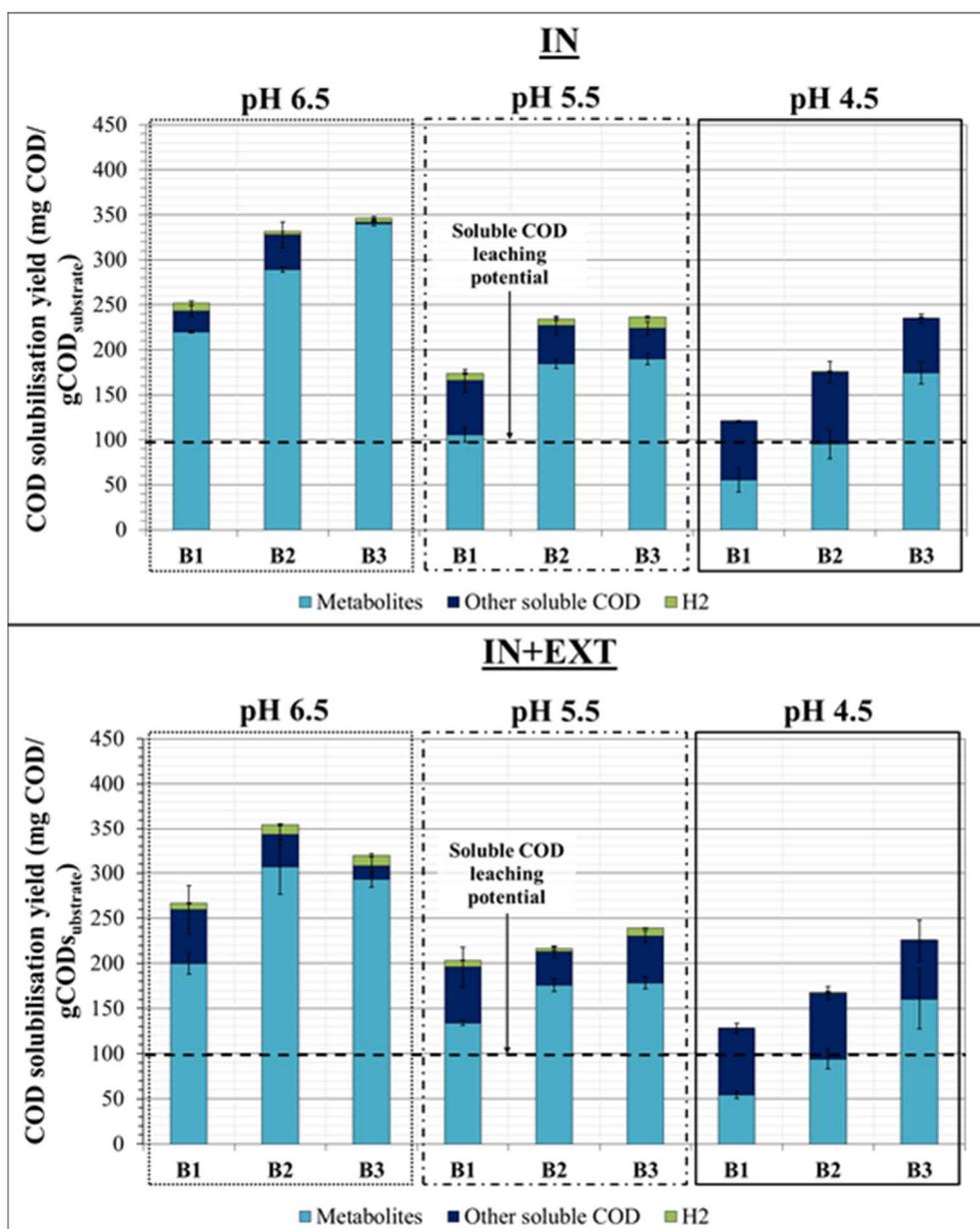


Figure 33. Soluble and gas COD production yields at the end of the batches (B1, B2, B3) for reference (IN) and inoculated (IN+EXT) reactors. Soluble COD is divided into soluble metabolites and other unattributed COD.

2.3.2. Metabolites distribution

Each metabolite and unidentified soluble COD fractions in the whole soluble COD were calculated and represented in **Figure 34**.

An obvious result is that the pH condition clearly influenced the type of metabolites produced. At pH 4.5 the final products were mainly composed of compounds other than VFAs (lactate and ethanol). On the contrary, at pH 5.5 and 6.5, almost only VFAs were produced.

After the first batch, the difference between IN and IN+EXT reactors in terms of metabolites distribution was insignificant. There were some changes in the reactors regarding the major metabolites

with acclimation. At pH 6.5, acetate and butyrate were found in similar proportions in all batches and were the main products (more than 30% each). Propionate was the third product and its fraction increased with acclimation by 19% in the IN and 12% in the IN+EXT cases. At pH 5.5, butyrate remained the major product (30 – 52%), followed by acetate (15 – 28%) and propionate (3 – 21%). The proportions of these products tended to increase with acclimation. Decreasing the pH from 6.5 to 5.5, the production of butyrate increased while acetate was less produced, and the fraction of unidentified COD was more important. The analysis of variance resulted in a non-significant impact of acclimation on the major metabolites fractions, apart from propionate at pH 5.5 ($p=0.009$ in IN reactors), and at pH 6.5 ($p=0.001$ for IN and $p=0.023$ for IN+EXT reactors). At pH 4.5, the duplicates behaved differently, one replicate behaved more like the bioreactors at pH 5.5. On the one hand, lactate was the main product (15 – 47%) and ethanol was produced all along in noticeable quantities (7 – 15%). On the other hand, butyrate (1 – 12%) and acetate (4 – 11 %) alternatively appeared as major metabolites but the variability between replicates for these products was high due to the low quantities measured. As compared to pH 6.5, the main difference was the high production of lactate and ethanol, and an important fraction of unidentified soluble COD.

The analysis of variance at pH 4.5 showed that acclimation did not have a significant effect on these major metabolites fractions. To finish with, the unidentified soluble COD fraction at the end of the third batch decreased with the increasing pH. This fraction also tended to be reduced with the successive batches at all pHs, but the effect of acclimation was not significant ($p>0.05$).

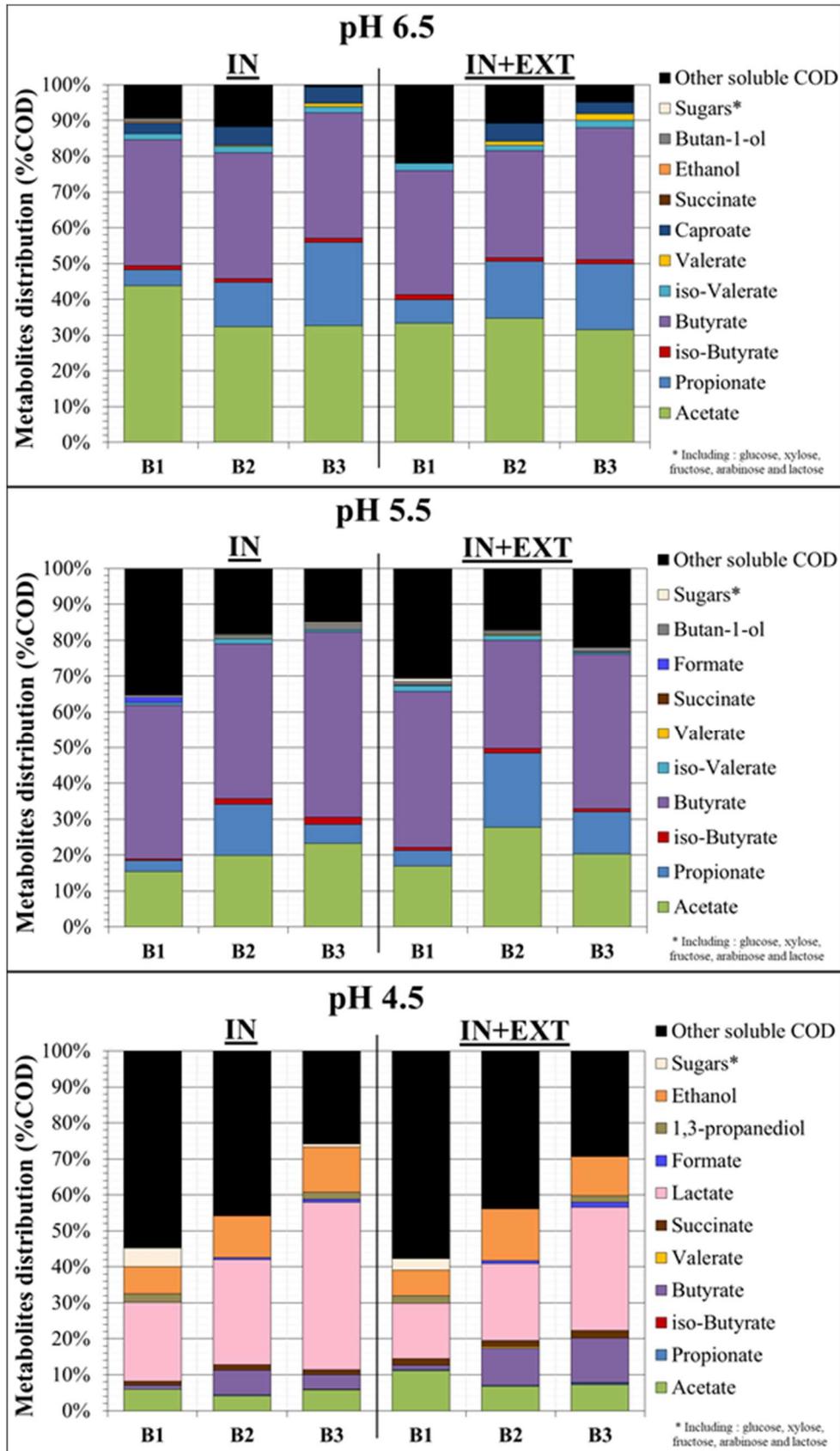


Figure 34. Metabolites distribution at each pH, based on their concentrations reported to soluble COD concentration (in gCOD.L⁻¹) at the end of the batches (B1, B2, B3) for reference (IN) and inoculated (IN+EXT) reactors.

2.3.3. Microbial populations

The microbial populations in the liquid phase were analysed and at initial time and at the end of each batch. The results are presented in **Figure 35**. Moreover, PLS-DA was performed to assess the evolution of the microbial communities over the batches at all pHs. The results are presented in **Figure 36**. For the same pH condition, all the reactors were grouped together.

At initial time, there was a strong similarity between microbial communities in IN and IN+EXT reactors. The PLS-DA showed that initial communities at all pHs were very close with, though, more similarities between pH 4.5 and 5.5. The major families for the 3 pH conditions were Leuconostocaceae (34 – 69%, mainly Leuconostoc) and Pseudomonadaceae (4 – 51%, mainly Pseudomonas). At pH 6.5 the relative abundance of family Pseudomonadaceae was much lower than at other pHs and a noticeable presence of Carnobacteriaceae (Carnobacterium) was also found (19 – 24%). The bacterial community of the external inoculum was also analysed. The results showed that the external inoculum was very different from the initial communities found in the reactors, the main families being Clostridiaceae (51%) and Aeromonadaceae (29%).

The three successive batches lead to an evolution of the bacterial communities. The pH considerably influenced the selection of bacterial communities in the reactors. At pH 5.5 and 6.5, populations clearly shifted during B1 whereas at pH 4.5, they evolved more slowly between initial time and B3, indicating a relatively poor microbial growth and evolution in this condition. At the end of the acclimation phase whatever the pH condition, the main families were similar, but with different abundances. In all cases, Pseudomonadaceae family, initially present was totally removed from the reactors. At pH 6.5, Bacteroidaceae dominated in all the reactors (49 – 57%). Families Clostridiaceae (6 – 22%) and Prevotellaceae (2 – 15%) were also augmented. Family Carnobacteriaceae initially present was maintained (3 – 18%). At pH 5.5, family Leuconostocaceae was enriched in the reactors (10–31 %). The community was mainly enriched with families Ruminococcaceae (8 – 44%), Clostridiaceae_1 (up to 24%) and Planococcaceae (3 – 8%). Families Prevotellaceae (25%) and Bacteroidaceae (17%) were also augmented in IN+EXT-1 similarly to pH 6.5, whereas Acetobacteraceae was found in IN reactors (8 and 13 %). Considering pH 4.5, family Leuconostocaceae was removed from the reactors. The main families augmented were Lactobacillaceae (19 – 89%) and Acetobacteriaceae (4 – 57%). It may be noticed that in IN+EXT-2, Acetobacteriaceae dominated at the end of the acclimation phase (57%). Family Paenibacillaceae was also found in IN+EXT-2 (12%) and in IN duplicates (5 and 15%).

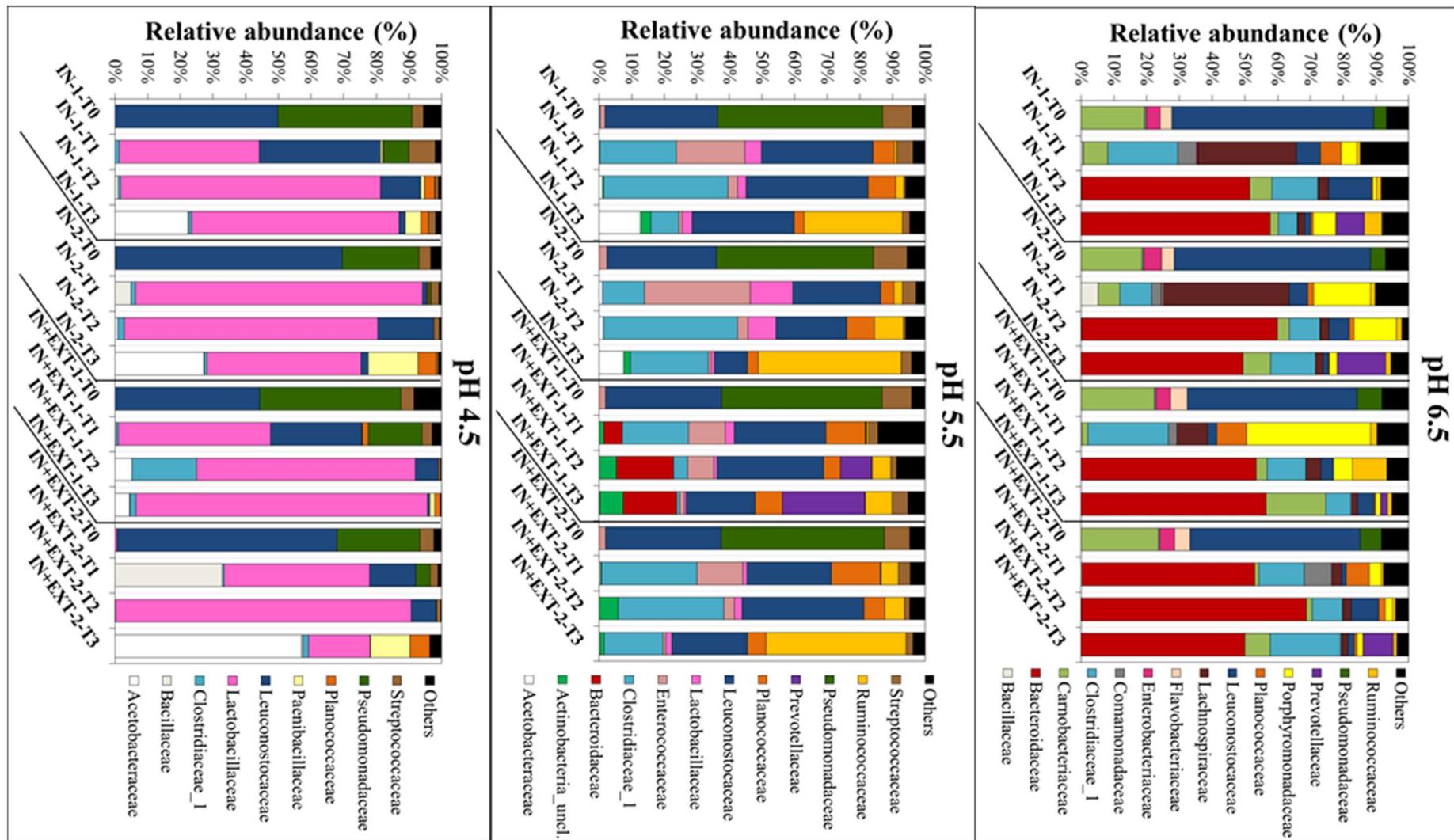


Figure 35. Bacterial communities at family rank in IN and IN+EXT reactors (duplicates 1 and 2) at initial time (T0) and at the end of B1 (T1), B2 (T2) and B3 (T3) at each pH. Only families with relative abundance superior to 5% were considered.

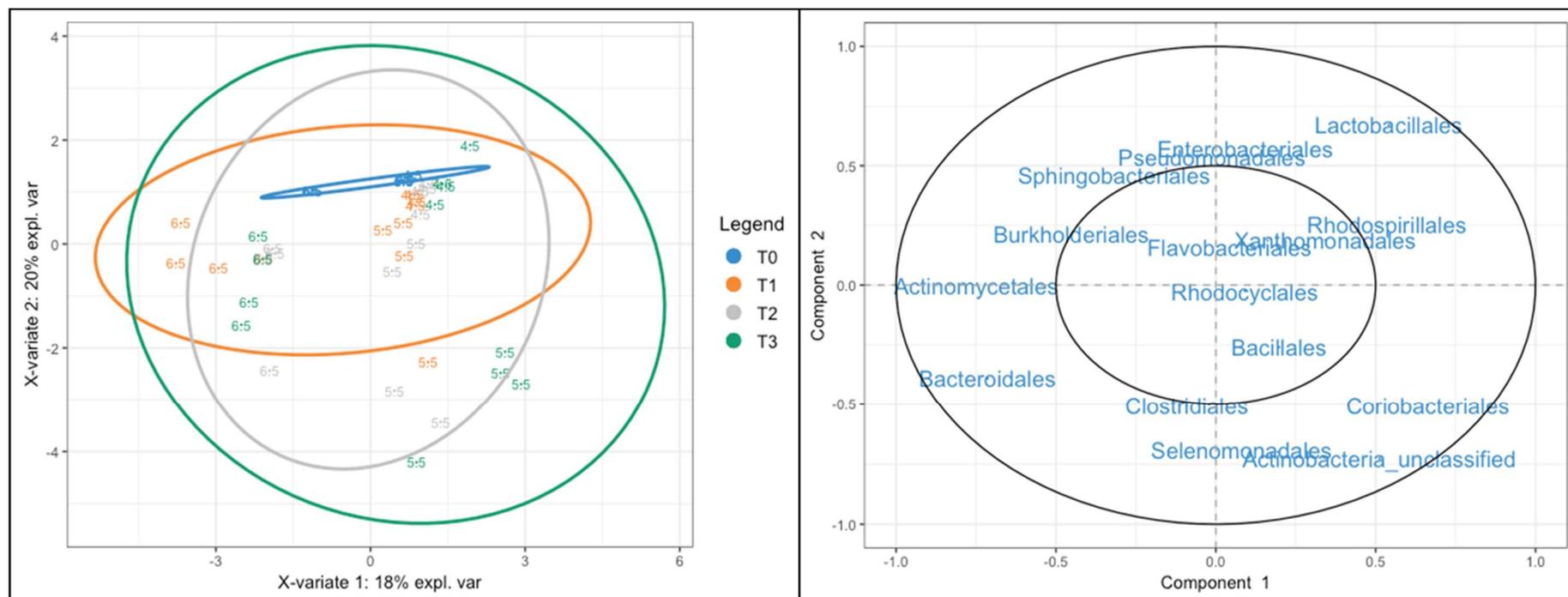


Figure 36. PLS-DA of reactors at pH 4.5, 5.5 and 6.5 at initial time (T0) and at the end of B1 (T1), B2 (T2) and B3 (T3), based on bacterial communities at family rank. Only families with relative abundance superior to 5% were considered.

2.4. Discussion

2.4.1. Fermentation performances related to pH and to microbial communities

In this experiment, fermentation of the FFHSW was performed at different pHs over three successive batches. pH is known to be a key parameter in fermentation because microorganisms are generally very sensitive to its value. As a consequence, the production yields, metabolic pathways and thus products spectrum as well as microbial communities are highly impacted by pH values (Temudo et al. 2008; Zhou et al. 2018). Since the objective was to maximise VFAs production while controlling the product spectrum, pH must be an efficient lever for action. In our study, the wastes initial pH was around 6.4 and was either kept at this level (6.5) during operation or reduced (5.5 and 4.5). At the end of the acclimation period, the COD solubilisation and metabolites production yields were maximum at pH 6.5, and were very close at pH 5.5 and 4.5. Moreover, the unidentified part of the soluble COD increased as pH decreased. The unidentified soluble COD probably contained hydrolysis products that are not detected by HPLC or GC analyses. Then, it could be inferred that the lower the pH, the more acidogenesis was limiting compared to hydrolysis.

The production performances reached here with regards to the operational pH are consistent with the results of Kim et al. (2003) and Jiang et al. (2013) (pH 7) on food wastes and primary sludge respectively (see **Tableau 25**). Our yields were lower than those of Jiang et al. (2013), which can be explained by the presence of paper and cardboard in our simulated FFHSW, making it more difficult to hydrolyse than only food wastes (rice, cabbage, pork and tofu) used by the authors. However, Shin, Youn, & Kim (2004) obtained best metabolites production on food wastes at pH 5.5 compared to pH 4.5 and 6.5. In a larger pH range, Zhang et al. (2005) showed that compared to pH 5, 9 and 11, controlling the pH at neutral value provided the best conditions for enhanced hydrolysis and acidogenesis during batch anaerobic degradation of kitchen waste.

With the results of leaching tests, it was possible to estimate the fraction of the soluble COD released in the medium due to biological processes. At the end of acclimation, this fraction was comprised between $55.9 \pm 2.0\%$ (pH 4.5) and $71.0 \pm 0.1\%$ (pH 6.5). Thus, more than half of the solubilisation of substrate COD was due to biological hydrolysis and this biodegradation was more important at pH 6.5 than at pH 5.5 and 4.5. The biological COD solubilisation yield was calculated and reported in **Tableau 26**. Unsurprisingly, the yields were higher at pH 6.5, attaining 24.3% after the third batch. The analysis was completed with the BMP test to assess the percentage of biodegradable COD contained in the substrate, which was $75.9 \pm 4.4\%$ after 68 days. It was found that the biological COD solubilisation yield with regard to the biodegradable substrate COD was between $16.6 \pm 1.3\%$ and $32.0 \pm 0.1\%$ (**Tableau 26**). The percentage of substrate COD biodegraded in the BMP after a period equal to batch duration was also estimated. For instance, at pH 4.5, B1 lasted 8 days and in the BMP test at 8 days, 4.5% of substrate COD was biodegraded. The results are also given in **Tableau 26**. A yield exceeding 100% meant that the level of biodegradation in fermentation reactors was higher than the

biodegradation potential reached at the same time in the BMP. After the third batch, only at pH 5.5 the yield was under 100% because of the long duration of the batch.

Since substrate solubilisation and metabolites production were more important at pH 6.5, it means that when operating at pH 4.5 and 5.5, either the biological reactions rates were reduced or there were less or different bacteria. Veeken et al. (2000) found that decreasing the pH from 7 to 5 lead to a reduction of hydrolysis rate constant, which is consistent with the reduction of COD solubilisation obtained in our study. The initial and maximum metabolites production rates were estimated (see **Section 2.5. Supplementary material, Figure S1 and S2**) and it could be seen that pH affected the metabolites production rates, which were higher at pH 6.5 compared to other conditions. Thus, a kinetic limitation of biological processes with a lower pH is conceivable. In addition to that, as cells production increases with substrate degradation, the lower substrate solubilisation at lower pH might be due to less cell growth. Lastly, the microbiology analyses showed that with the pH change, different bacterial populations developed, and the low pH microbial communities probably contained less hydrolytic bacteria.

Tableau 25. Fermentation yields obtained in different studies. The authors worked in batch mode in mesophilic conditions (30 to 37°C). pH was controlled during the whole process except from the study of Paillet (2017)

Reference	Inoculum	Substrate	TS	pH	Soluble COD	Metabolites
Jiang et al. (2013)	Mesophilic anaerobic sludge	Simulated food waste	2%	5	626 mgCOD/gVS _{added} ⁽¹⁾	VFAs + ethanol : 220 mgCOD/gVS _{added}
				6	658 mgCOD/gVS _{added} ⁽¹⁾	VFAs + ethanol : 535 mgCOD/gVS _{added}
				7	658 mgCOD/gVS _{added} ⁽¹⁾	VFAs + ethanol : 526 mgCOD/gVS _{added}
Kim et al. (2003)	Anaerobic mesophilic homogenised granules	Simulated primary sludge (dog food)	4%	4.5	29.7 gCOD/L	VFAs : 21.1 gCOD/L
				5.5	31.6 gCOD/L	VFAs : 20.0 gCOD/L
				6.5	35.4 gCOD/L	VFAs : 23.4 gCOD/L
Shin, Youn, and Kim (2004)	Anaerobic mesophilic sludge	Food waste	2.4% ⁽¹⁾	4.5	-	VFAs : 51.7 mgCOD/gVS _{added}
				5.5	-	VFAs : 60.0 mgCOD/gVS _{added}
				6.5	-	VFAs : 57.4 mgCOD/gVS _{added}
Zhang et al. (2005)	-	Kitchen waste	13%	5	65% COD solubilisation	VFAs + lactic acid : 40.6 g/L
				7	82% COD solubilisation	VFAs + lactic acid : 44.7 g/L
				9	66% COD solubilisation	VFAs + lactic acid : 39.6 g/L
				11	63% COD solubilisation	VFAs + lactic acid : 49.0 g/L
Paillet (2017)	Landfill leachate	OFMSW	3%	5 ⁽³⁾	-	VFAs : 355 mgCOD/gVS _{added}
				6.5 ⁽³⁾	-	VFAs : 375-390 mgCOD/gVS _{added}
				8 ⁽³⁾	-	VFAs : 405 mgCOD/gVS _{added}
This study	-	Simulated FFHSW	5%	4.5	234.6 ± 7.1 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾	174.3 ± 12.3 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾
				5.5	226.0 ± 11.5 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾	189.9 ± 6.3 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾
				6.5	341.7 ± 0.7 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾	339.9 ± 2.4 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾
	WWTP sludge	Simulated FFHSW	5%	4.5	225.2 ± 10.1 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾	160.2 ± 32.9 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾
				5.5	231.2 ± 14.5 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾	178.4 ± 6.8 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾
				6.5	307.8 ± 1.8 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾	292.9 ± 8.5 mgCOD/gCOD _{substrate} ⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Values estimated with provided data.⁽²⁾ Measured after 2 days.⁽³⁾ Paillet (2017): Only the initial pH was fixed.⁽⁶⁾ Values obtained after 3 successive batches.

Tableau 26. Biological COD solubilisation, reported to total substrate COD, to total biodegradable COD and to biodegradable substrate COD measured at end of batch time.

pH	Batch	Duration (days)	Biological solubilisation yield - reported to total substrate COD* (%)	Biological solubilisation yield - reported to biodegradable substrate COD* (%)	Biological solubilisation yield - reported to biodegradable substrate COD at batch duration* (%)
4.5	B1	8	2.1 – 2.9 %	2.8 – 3.8 %	47 – 64 %
	B2	7	7.6 – 6.8 %	10.0 – 8.9 %	211 – 188 %
	B3	10	13.5 – 12.6 %	17.8 – 16.6 %	176 – 164 %
5.5	B1	10	7.0 – 9.9 %	9.2 – 13.0 %	90 – 128 %
	B2	10	12.9 – 11.5 %	17.0 – 15.2 %	168 – 150 %
	B3	15	12.7 – 13.2 %	16.7 – 17.4 %	46 – 48 %
6.5	B1	14	14.4 – 16.0 %	18.9 – 21.1 %	63 – 70 %
	B2	9	22.9 – 24.4 %	30.1 – 32.1 %	381 – 406 %
	B3	9	24.3 – 20.9 %	32.0 – 27.5 %	404 – 348 %

*IN – IN+EXT mean values

There was a clear shift in fermentation pathways when changing from pH 6.5 and 5.5 to pH 4.5. At pH 4.5 major production of lactic acid and ethanol showed that mainly lactic fermentation occurred. At pH 5.5 and 6.5, butyric, acetic and propionic acids were produced, due to butyric and/or mixed-acid fermentations. It is difficult to compare product spectrum as a function of pH with previous works. Indeed, as pointed out by Zhou et al. (2018), literature provides inconsistent information about the effect of pH on product distribution, and there is a probable interaction between many factors controlling fermentation product spectrum. From our results, it could clearly be seen that reducing the pH (6.5 to 4.5) constituted a very strong selection factor and focusing on microbial populations can provide more information.

The initial bacterial communities, mainly originating from the substrate, considerably evolved during the acclimation process and each pH lead to the selection of specific bacterial species. The common point between all pHs is the removal of family Pseudomonadaceae (genus *Pseudomonas*), which was present at start in all reactors but did not survive probably due to the anaerobic conditions (Rosenberg et al. 2014b). Only at pH 6.5, the family Carnobacteriaceae (genus *Carnobacterium*) was initially present and maintained. *Carnobacterium* are indeed able to grow around neutral pH or above (Collins et al. 1987; Rosenberg et al. 2014b). They are often found in food products containing animal proteins, and are lactic acid producers, but also generate other compounds such as acetic acid (Leisner et al. 2007). The genus *Bacteroides* in the family Bacteroidaceae also developed at pH 6.5. This genus is a type of hydrolysing bacteria existing in anaerobic digesters operated around neutral pH (Xiong et al. 2019). Carlei (2013) also showed that Bacteroidetes development coincided with the improvement of (carbohydrate and protein) hydrolysis performance. This is consistent with the higher hydrolysis yields observed at pH 6.5 in our study. The family Clostridiaceae_1 was selected at pH 5.5 and 6.5, with *Clostridium* being the main genus. *Clostridium* species are commonly involved in anaerobic hydrolysis and in acidic fermentation of organic substrates, and produce various compounds such as acetate, butyrate and propionate (J. Kim et al. 2011; Xiong et al. 2019), as observed at pH 5.5 and 6.5. A strong selection of Ruminococcaceae occurred at pH 5.5. Bacteria of this family are often found in rumen for the degradation of complex organic material : they are able to hydrolyse various polysaccharides (Chatellard, Trably, and Carrère 2016; Sträuber, Schröder, and Kleinsteuber 2012). Family Leuconostocaceae was present initially at all pHs but was well maintained only at pH 5.5. The main genus was *Leuconostoc*, which is non-acidophilic. Leuconostocaceae contribute to fermentation processes, are able to use various substrates and to produce a wide range of products. For example, they can ferment glucose heterofermentatively to produce lactic acid, CO₂, ethanol and/or acetate. (Rosenberg et al. 2014b). At pH 4.5, the family Lactobacillaceae, mostly represented by the genus *Lactobacillus*, was largely selected. Organisms of this genus are indeed highly tolerant to acidic environment and mainly produce lactic acid via fermentation of carbohydrates. The concomitant production of ethanol in our study suggests that a heterolactic fermentation pathway occurred at this pH (Sträuber, Schröder, and Kleinsteuber 2012). The appearance of bacteria of the genus *Acetobacter* (family Acetobacteraceae) at this pH indicated a presence of oxygen in the reactors, since these species are obligate aerobes forming acetic acid (Rosenberg et al. 2014a; Sträuber, Schröder, and Kleinsteuber

2012). As presumed above, less hydrolytic bacteria were found in the reactors at pH 4.5 compared to other pHs.

The selection of microbial populations depending on the pH was therefore in accordance with the performances observed: hydrolysis and acids production were highly conditioned by pH due to kinetic effects and to different microorganisms selected.

2.4.2. Addition of an external inoculum and acclimation of microbial communities

The addition of an external inoculum for batch operation reactor is crucial because microorganisms enter the process at the beginning and are not renewed since there is no input or output. Thus, initial microbial communities evolve in the reactor due to cell growth and death processes. The initial populations' evolution is governed by their ability to maintain and to grow in the reactor in particular operational conditions.

Our strategy consisted of adding an external inoculum in order to bring various species that would be able to develop on the substrate in the chosen environmental conditions. The results showed that the pre-treated inoculum brought to the reactors did not have a significant impact on fermentation performances. The improvement observed after one batch in IN+EXT reactors compared to IN reactors was very slight, whatever the studied response. This brings out the possibility to achieve fermentation by the sole use of indigenous bacteria. Favaro et al. (2013) also pointed out that fermentation of the organic fraction of municipal solid waste only with the indigenous microflora was feasible. However, in their case, the addition of an external inoculum enhanced hydrogen (by 1.5 to 1.7) and VFAs (by 1.8 to 3.1) productions. The analysis of microbial communities present at initial time in each reactor indicated that they were almost identical, and totally different from the pre-treated inoculum. The bacteria coming from the external inoculum were thus completely hidden among indigenous microbial community of the substrate. The biological reaction rate depends on the biomass concentration. In batch fermentation, the actual amount of bacteria performing a given transformation in the medium at initial time (X_0) is an important factor. Apart from being present, fermentative bacteria must be active in the initial community. Moreover, Benneouala et al. (2017) also indicated that the initial rate and overall kinetics of biodegradation of particulate substrates are conditioned by the initial colonisation of the substrate by the bacteria. In our case, the indigenous microorganisms were already attached to the substrate surface, facilitating hydrolysis start-up. However, substrate colonisation by the bacteria originating from the external inoculum may have been limited. This could explain the absence of gain of performances with the addition of the external inoculum.

During the first batch, the performances were quite low, with maximum total COD solubilisation yield and total metabolites yield of 251.1 ± 29.0 and 209.9 ± 13.1 mgCOD/gCOD_{substrate} respectively, at pH 6.5. It can thus be inferred that the bacteria were not initially adapted to the experimental conditions, especially as the pH was reduced. An acclimation of the bacteria was performed by implementing three successive batches. Acclimation aimed at increasing the amount of microorganisms in the microbial consortium and to enrich it in active fermentative bacterial species adapted to the pH, temperature and

substrate. This acclimation is expected to reduce the lag phase at start-up, increase metabolites production rates and yields as observed by Lazuka et al. (2015) and Varrone et al. (2013). In our study, contrary to the addition of external inoculum, the acclimation had a positive effect on most of the studied parameters. It was often more observable for IN than for IN+EXT reactors. Through the acclimation process, bacterial communities considerably evolved and the system was guided towards a main fermentation pathway, mostly as a result of the operational pH. Within 3 batches, the biological solubilisation of total substrate COD yield was multiplied by 1.3 to 6.5. The metabolites production yield was multiplied by 1.3 to 3.2. The unidentified part of soluble COD was also reduced by acclimation, indicating that acidogenesis was less limited against hydrolysis. Metabolites production rates were determined (see **Section 2.5. Supplementary material, Figure S1 and S2**) and it showed that acclimation clearly allowed to increase initial and maximum rates, especially for IN reactors. The time of appearance of the maximum rates were also reduced due to the successive batches. Therefore, performing a multi-stage acclimation of the inoculum seems to be a promising strategy to reach high production of organic acids during fermentation.

The number of batches necessary for a satisfying acclimation and the production of an effective inoculum is questionable. In the best case, after 3 batches less than 25% of the substrate COD was biologically solubilised (corresponding to less than 35% of total solubilisation). VS degradation yield attained a maximum of 40%. Varrone et al. (2013) performed the enrichment of activated sludge on crude glycerol in more than 25 steps and observed that a stable hydrogen content was obtained after the 10th stage. Lazuka et al. (2015) enriched bovine rumen on wheat straw during 10 cycles and obtained a stable bacterial community after 5 cycles. The performances in terms of organic matter degradation and VFAs production mainly increased between the 1st and 6th cycles. In the same study, the authors measured a VS degradation yield of 22% and the VFAs concentration was 1.25 g/L. After 10 cycles, the VS degradation yield and VFA concentration reached 36% and 1.7 g/L respectively. Thus, our strategy in three successive batches was already enough to improve the performances and it is likely that more acclimation stages would further enhance fermentation. However, implementing a longer process might not be sufficiently profitable. The enriched inoculum must also be able to boost hydrolysis, which is usually assumed to be the rate-limiting step when dealing with solid substrate, without disadvantaging acidogenesis. In this way, hydrolysis products do not accumulate in the broth and organic acids production could be increased.

2.4.3. Industrial interest and perspectives

Through this study, we have confirmed that the operational pH is a crucial parameter for driving the acidogenic fermentation of FFHSW. pH influenced the hydrolysis and metabolites production yields and oriented the system towards the production of a spectrum of products. This was related to kinetic limitations as well as the selection of microorganisms having different characteristics and abilities. The external inoculum added to the substrate was not able to significantly enhance acidogenic fermentation, maybe due to a limited colonisation of the substrate. The indigenous bacteria were already attached to the wastes and were able to start-up the process. On the other hand, the acclimation performed in three

successive batches has proved to be a promising way to produce an effective inoculum for acidogenic fermentation. This is of interest for larger scale solid-state fermentation, for example in a leach-bed reactor. Indeed, with a pre-acclimated bacterial consortium added to the wastes bed at start-up, it could be possible to obtain high production of targeted organic acids without a lag-phase. However, the main bottleneck may be to perform the successive batches acclimation at industrial scale, which will probably be harder than at lab scale due to higher quantities needed and therefore, higher energy/resource as well as more complex operation.

2.5. Supplementary material

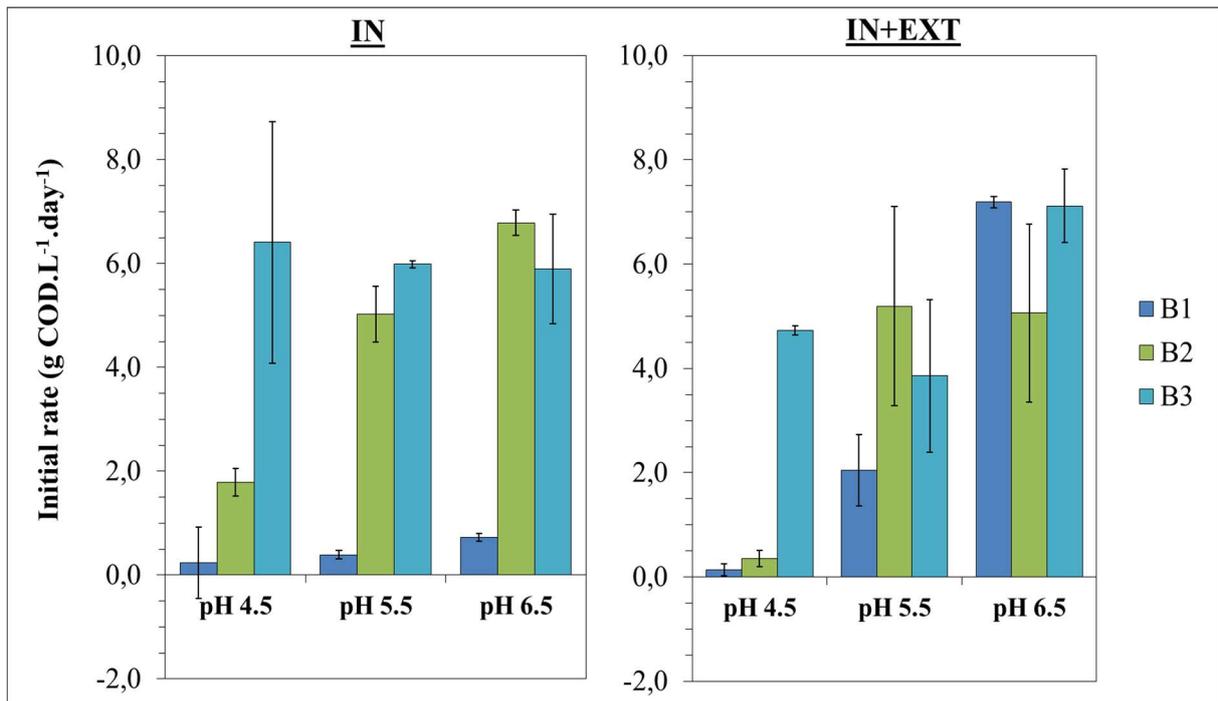


Figure S1. Initial metabolites production rates calculated at 0.2 day (smoothed data).

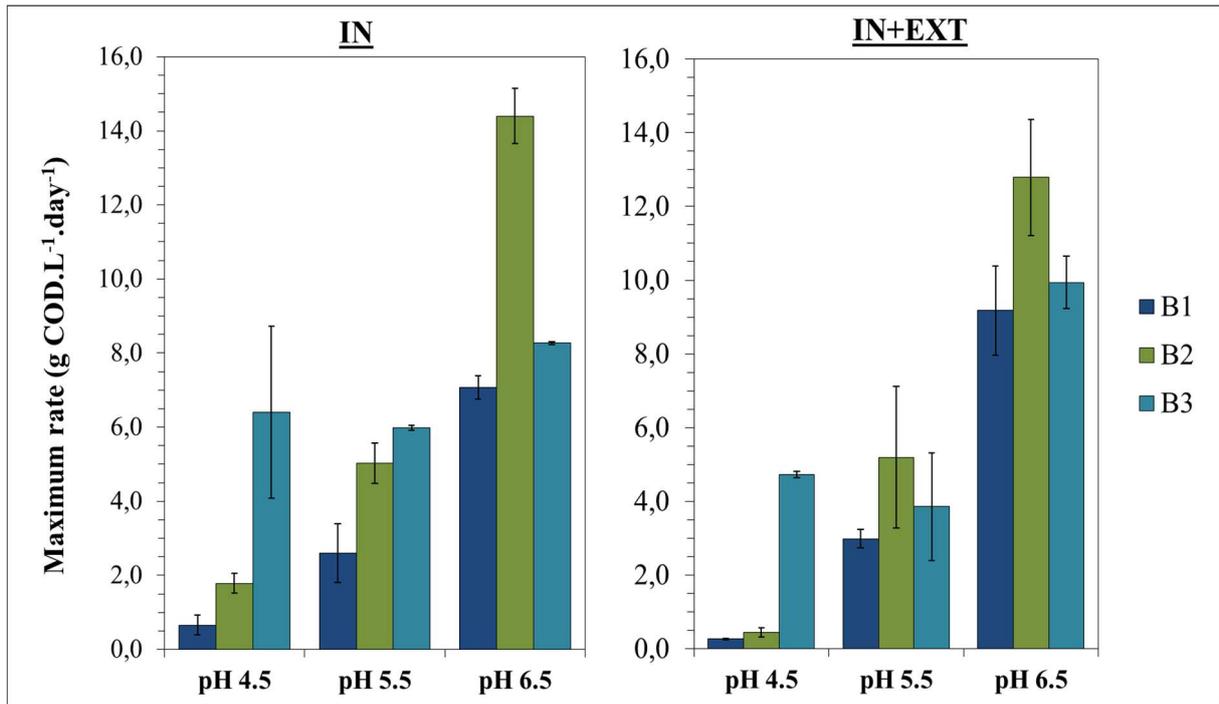


Figure S2. Maximum metabolites production rates observed during batches (smoothed data).

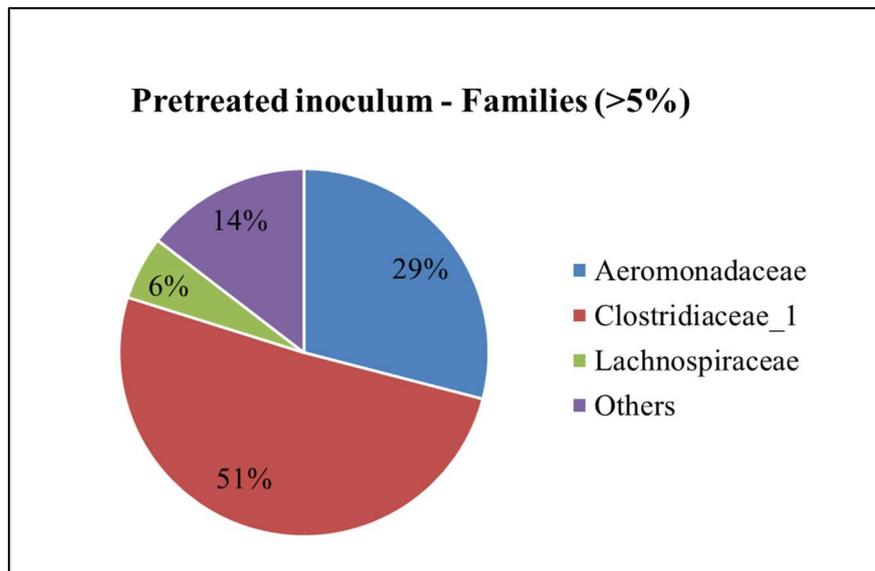


Figure S3. Microbial communities of the pre-treated external inoculum. The relative abundances were calculated at the Family rank and Families with relative abundance under 5% are gathered in the "Others" category.

3. Conclusion du Chapitre 1

Dans ce chapitre, des expériences ont été menées afin d'étudier les performances de fermentation acidogène de la fraction fermentescible des OMR en regard de l'inoculation et du pH du milieu. Les OMR complètes n'ont pas été utilisées dans la mesure où les fractions inertes (catégories 4 à 11 du **Tableau 19**) ne participent pas aux processus biologiques.

Une comparaison a été réalisée entre les cas de fermentation avec uniquement les populations indigènes du substrat et avec les populations indigènes auxquelles ont été ajoutées des boues de station d'épuration prétraitées. Les résultats obtenus lors du premier batch ont montré que les rendements d'hydrolyse et de production de métabolites n'étaient pas significativement augmentés par l'ajout d'un inoculum extérieur. De même, la répartition des métabolites produits était très similaire dans les deux cas. Ces observations ont été confirmées par l'analyse des communautés bactériennes à l'état initial et après le premier batch : les familles de bactéries de l'inoculum extérieur n'ont pas été retrouvées (ou étaient très minoritaires) dans les réacteurs concernés. L'absence d'amélioration avec l'inoculum extérieur peut donc s'expliquer par la faible quantité de bactéries ajoutées (taux d'inoculation faible) et à la qualité (origine) de cet inoculum, associées à la difficulté des micro-organismes exogènes à coloniser la surface du substrat, à croître et donc à pouvoir se maintenir dans le milieu.

L'effet de la qualité de l'inoculum, plus particulièrement de l'acclimatation du consortium microbien de départ, a été évalué en mettant en œuvre trois batchs successifs. Cette acclimatation a été très bénéfique puisqu'elle a permis une augmentation significative des performances d'hydrolyse et d'acidogénèse. De plus, le spectre de métabolites s'est progressivement orienté et stabilisé sous l'influence du pH.

Il a ainsi été confirmé que le pH constituait un facteur majeur de sélection de micro-organismes. Le pH de fermentation (de 4.5 à 6.5) a largement impacté les performances de fermentation acidogène. Les résultats ont montré qu'un shift métabolique s'est produit dans la zone de pH entre 5.5 et 4.5. L'hydrolyse du substrat et la conversion de celui-ci en métabolites ont été d'autant plus favorisées que le pH était élevé. La fraction de DCO soluble potentiellement due à des produits d'hydrolyse non transformés augmentait alors que le pH diminuait : l'acidogénèse est donc devenue limitante par rapport à l'hydrolyse en réduisant le pH. Ce paramètre a aussi considérablement orienté le spectre de métabolites formés : l'accumulation de lactate et d'éthanol à pH 4.5 a été associée à une fermentation majoritairement lactique ; à pH 5.5 et 6.5, la fermentation était de type butyrique ou « mixed-acid ». Ces différences sont dues à des voies métaboliques différentes, associées aux familles de bactéries sélectionnées par le pH.

Ainsi, dans l'objectif d'obtenir une production maximale de métabolites et de pouvoir d'orienter de manière reproductible le spectre de métabolites, le pH et la qualité de l'inoculation sont des leviers d'action qu'il convient de maîtriser. De cette manière, il est possible de définir une utilisation postérieure des AGV : par exemple, la production de PHA à partir d'acétate, de propionate, de butyrate et/ou valérate, ou la fabrication de PLA à partir de lactate.

Chapitre 2 : Étude à différentes teneurs en solides
de l'influence de la nature de l'inoculum sur la
fermentation acidogène de la fraction fermentescible
des OMR

1. Avant-propos du Chapitre 2

Dans le précédent chapitre, nous avons mis en évidence l'importance de la nature de l'inoculum lors de la fermentation à pH contrôlé et en batch, des déchets complexes que constituent les OMR. Les conditions de restrictions de teneur en eau au sein de procédés à « forte teneur en solides » engendrent des limitations de transfert de matière au sein de la matrice solide. Dans ce chapitre, nous nous attacherons à vérifier que les résultats du chapitre précédent sont toujours applicables dans des conditions de forte teneur en solides (15 et 20%). La stratégie de SBR (Sequential Batch Reactor) a été également appliquée (ré-inoculation via la fraction liquide du batch précédent). Une régulation pH est relativement compliquée en milieux fortement concentrés en solides et afin de se positionner dans des conditions plus réalistes (industrielles), cette étude est réalisée à pH non contrôlé. *In fine*, il s'agira de comprendre dans quelle mesure la restriction de teneur en eau peut modifier les rendements de production d'acides ainsi que le spectre de métabolites produits. L'objectif final serait de pouvoir déterminer des stratégies optimales de mise en œuvre de la fermentation acidogène d'OMR en LBR.

Les différentes parties de ce chapitre sont extraites d'une publication rédigée en vue d'une soumission prochaine. Toutefois, pour faciliter la lecture et éviter les redondances, certains paragraphes ont été supprimés ou allégés par rapport à la publication d'origine.

2. Does the nature of inoculum have the same effect on batch acidogenic fermentation of household solid wastes whatever the total solids contents?⁴

2.1. Introduction

Acidogenic fermentation of household solid waste (HSW) is more and more studied in research and even starts to be implemented at large scale. The production of VFAs and soluble compounds resulting from acidogenesis is targeted because these molecules offer a wide range of applications: production of biopolymers, biofuels or others bio-based chemicals for instance (W. S. Lee et al. 2014; Agler et al. 2011; Tamis et al. 2015). VFAs open the possibility to reach new markets, compared to anaerobic digestion with methane production that only targets energy recovery.

⁴ Laura Digan^a, Camille Petrognani^a, Evrard Mengelle^a, Simon Dubos^a, Mansour Bounouba^a, Clémence Pagès^b, Renaud Escudie^b, Eric Trably^b, Etienne Paul^a, Claire Dumas^{a*}

^a LISBP, Université de Toulouse, CNRS, INRA, INSA, Toulouse, France

^b LBE, Univ Montpellier, INRA, 102 avenue des Etangs, 11100 Narbonne, France

* Corresponding author: Claire DUMAS, Address : LISBP - INSA de Toulouse, Département GPE - Bâtiment 33, 135 Avenue de Rangueil, 31077 Toulouse CEDEX 04, Tel.: +33 (0)5 67 04 88 49; E-mail address: claire.dumas@insa-toulouse.fr

In anaerobic digestion and in fermentation, it is arbitrarily admitted that processes working with $TS < 10\%$ can be defined as “wet”, and when TS is comprised between 10 and 20%, the process is defined as “semi-dry”. Then with $TS > 20\%$, the process is called “dry” (García-Bernet et al. 2011). The TS content is a critical parameter in solid-state anaerobic processes. When TS content increases, mixing which is crucial for biological activity, becomes harder to achieve. Under unmixed conditions, transport is mainly achieved by diffusion, which can be affected by the low water content (Abbassi-Guendouz et al. 2012). Plenty of studies deal with the effect of the TS content in anaerobic digestion for methane generation. Results in anaerobic digestion indicate that increasing the TS content leads to lower organic matter removal and lower biogas and methane production yields (Abbassi-Guendouz et al. 2012; Dong, Zhenhong, and Yongming 2010; Fernández, Pérez, and Romero 2008; Forster-Carneiro, Pérez, and Romero 2008). However, to our knowledge, only a few authors studied the effect of the TS content on biohydrogen and metabolites production (Motte et al. 2013; Ghimire et al. 2018; Capson-Tojo et al. 2018) or specifically concerned acidogenic fermentation aiming to produce VFAs and other soluble metabolic products (Q. Wang et al. 2015; Fang et al. 2016; Yousuf, Bastidas-Oyanedel, and Schmidt 2018). From their results, given in **Tableau 27**, it seems that the metabolites yield decreases when the TS content increases, but the differences are not really significant and the trends for the metabolic product spectrum are unclear. Moreover, very limited information comparing wet and dry acidogenic fermentation of HSW (or similar substrates) is available in literature. Even though the reactions occurring during acidogenic fermentation are the first steps of anaerobic digestion, it is important to focus on how the TS content affects the VFA yield and spectrum and microbial communities, when dealing with HSW as substrate.

In anaerobic fermentation it is believed that working with mixed consortia enables to bring microbial diversity to the medium and hence a better conversion of complex heterogeneous substrates such as HSW. Mixed microbial consortia are expected to be robust and able to face environmental constraints such as low water content. To ensure that the microbial consortium performs these functions, attention must be paid to inoculation. In batch, the initial amount and nature of microorganisms can impact microbial growth, substrate degradation and conversion into metabolites, the distribution of products, and the overall kinetics (Gomez and Goma 1986; Y. Liu 1996; Raposo et al. 2009; Boulanger et al. 2012; S. Y. Xu et al. 2012). Benneouala et al. (2017) also highlighted that the ability of the microorganisms to colonise the substrate particles influences the initiation and efficiency of the hydrolysis step. The quality of the microbial consortium is also a crucial factor, especially to produce specific VFAs. The indigenous bacteria from the substrate can be successfully used for fermentation (Favaro et al. 2013; D.-H. Kim, Kim, and Shin 2009; Yousuf, Bastidas-Oyanedel, and Schmidt 2018), especially since they are already attached to the substrate. But to enhance the performances, inocula from various sources can be used : anaerobic or aerobic activated sludge, digestate, anaerobic fermentation broth (K. Wang et al. 2014; Yin et al. 2016; Gu et al. 2014; van Aarle et al. 2015). Obviously, the first consideration is to ensure that the chosen inoculum contains specific (hydrolytic and acidogenic) and efficient microbial populations, able to perform the whole transformation. But in their study, van Aarle et al. (2015) pointed out that apart from the inoculum source, the combination between the inoculum and the substrate could influence the fermentation profile (kinetics and products distribution).

In addition, the microorganisms need time to adapt to the operational conditions, inducing a lag phase in fermentation and therefore increasing the overall process duration. To overcome this, an idea is to pre-adapt the microorganisms to the environmental conditions and to the chosen substrate, for instance with successive batch cultivations. For instance, Sivagurunathan et al. (2016), Mäkinen, Nissilä, and Puhakka (2012) or Varrone et al. (2013) effectively implemented this strategy, using respectively peptone-yeast-glucose, several sugars and glycerol as substrates. However, to our knowledge, there are no studies performing mesophilic mixed culture acclimation by sequential batch cultivations, on HSW, specifically for the production of VFAs.

Taking into account the above-mentioned points, the objective of this study was to evaluate the feasibility and significance of inoculum acclimation via sequential batch reactors, especially in conditions of high TS content. Moreover, it was possible to study the effect of the TS content on the acidogenic fermentation of the fermentable fraction of HSW (FFHSW), through the assessment of metabolites yields and distribution, and the microbial populations.

Tableau 27. Studies on the effect of the TS content on soluble metabolites production in literature. The yields were calculated from provided data.

Reference	Substrate (S); Inoculum (X) Targeted products (P)	TS content	Soluble metabolites yield (mgCOD/gCOD _{substrate})
Motte et al. (2013)	S: Wheat straw X: Mix of digestates P: H ₂	10%	73
		14%	77
		19%	56
		24%	52
		28% a	51
		28% b	64
		33%	62
Ghimire et al. (2018)	S: Food waste X: Waste activated sludge P: H ₂	10%	1300 ⁽¹⁾
		15%	1500 ⁽¹⁾
		20%	1250 ⁽¹⁾
		25%	1200 ⁽¹⁾
		30%	1050 ⁽¹⁾
Q. Wang et al. (2015)	S: Food waste X: Anaerobic digested sludge P: VFAs	~ 4%	505
		~ 7%	421
		~ 10%	445
		~ 13%	330
Capson-Tojo et al. (2018)	S: Synthetic food waste; X: granular sludge + digestate P: H ₂ , VFAs	20%	591 ⁽²⁾
		25%	587 ⁽²⁾
		30%	572 ⁽²⁾
	S: Synthetic food waste + cardboard X: granular sludge + digestate P: H ₂ , VFAs	25%	539 ⁽²⁾
		30%	513 ⁽²⁾
		35%	447 ⁽²⁾
		40%	389 ⁽²⁾
Yousuf, Bastidas-Oyanedel, and Schmidt (2018)	S: Synthetic food waste X: indigenous P: VFAs and other soluble metabolites	19%	180 ⁽³⁾
		29%	170 ⁽³⁾

⁽¹⁾ mmol/kgTS; ⁽²⁾ VFAs only; ⁽³⁾ mg/gTS.

2.2. Materials and methods

2.2.1. Summary of the protocol implemented

The substrate used was an artificial fermentable fraction of residual household solid wastes (FFHSW), which composition was given in section “Matériels et méthodes” of this manuscript. The external inoculum came from dewatered sludge sampled in a wastewater treatment plant, and was heat pre-treated in order to reduce methanogen archaea.

In order to test the effect of inoculum acclimation to the substrate, three successive batches named B1, B2 and B3 were operated. In the first batches, the cultures were performed either with addition of an external inoculum (inoculated, IN+EXT) or without any addition of external inoculum (reference, IN). For the second and third batches, the cultures were inoculated with the supernatant taken from the previous batch.

The TS and VS contents of the substrate used each batch are described in **Tableau 28**. The COD content was measured on six different substrates: it was stable, thus considered constant and equal to 1.31 g COD.g⁻¹ TS. The external inoculum had a TS content of 0.036 ± 0.002 g.g⁻¹ RM, and a VS content of 0.794 ± 0.015 g.g⁻¹ TS.

Tableau 28. Total and volatile solids contents of the artificial FFHSW used as substrate in the fermentation at TS 5%, 15% and 20%.

TS	B1		B2		B3	
	TS (g.g ⁻¹ RM)	VS (g.g ⁻¹ TS)	TS (g.g ⁻¹ RM)	VS (g.g ⁻¹ TS)	TS (g.g ⁻¹ RM)	VS (g.g ⁻¹ TS)
5%	0.341 ±	0.900 ±	0.338 ±	0.904 ±	0.333 ±	0.884 ±
	0.006	0.006	0.000	0.000	0.009	0.021
15 and	0.368 ±	0.863 ±	0.366 ±	0.857 ±	0.390 ±	0.865 ±
20%	0.013	0.008	0.002	0.030	0.003	0.012

At 5%TS, the experimental set-up was composed of four jacketed glass reactor vessels with a plastic cap. Each reactor had a total volume of 1 L and a working volume of 600 mL. Homogenisation of the reactors content was ensured by continuous magnetic stirring. Temperature was kept constant at 37°C by an external water jacket and a thermostatic circulator. A pH probe and a liquid sampling port were placed on the top of the reactors.

At 15 and 20% TS, the experimental set-up was composed of eight Schott glass flasks with a total volume of 550 mL, and the working volume was 400 mL. The flasks were closed with an airtight rubber stopper. Temperature was kept constant at 37°C with a thermostatic water bath and the flasks were only stirred manually before sampling. pH was measured at the beginning and at the end of each batch.

The initial substrate to inoculum ratio (S_0/X_0) was fixed at 20 gVS/gVS to favour the microbial growth. At the beginning of each batch, a mixture composed of fresh FFHSW, inoculum (in IN+EXT tests) and tap water was prepared directly in the reactor. The substrate, inoculum and tap water quantities were adjusted to an initial TS content of 5, 15 or 20% in the reactor. Once the mixture prepared, the reactor was sealed and flushed with nitrogen for 5 minutes to ensure anaerobic conditions. Then the initial pressure was measured.

At 5%TS, the reactor medium was sampled at least once a day via a tube and a syringe. At 15 and 20%TS, the reactor medium was sampled once a day by opening the flasks and taking a fraction of the medium with a spatula. Then, the anaerobic conditions were reinstated by flushing the flasks with nitrogen. The details related to the treatment of the samples and to the analytical methods are given in the second part of the manuscript.

In all TS conditions and for each batch, temperature was kept constant at 37°C and no pH regulation was implemented. The batches were conducted until observing a stable rate of production of VFAs (or soluble COD) for two days.

2.2.2. Calculations and data analysis

Metabolites mass concentrations (g/L) were converted to their equivalent COD concentrations. Metabolites yields were calculated as follows:

$$\text{Metabolite yield (mgCOD/gCOD)} = \frac{C_{\text{metabolite}} * V}{m_{\text{substrate COD}}}$$

Where $C_{\text{metabolite}}$ (gCOD/L) is the metabolite concentration.

On a COD basis, each metabolite fraction was calculated as follows, with $C_{\text{metabolite}}$ expressed in gCOD/L:

$$\text{Metabolite fraction (\%)} = \frac{C_{\text{metabolite}}}{C_{\text{soluble COD}}}$$

The unidentified soluble COD fraction was then determined as follows:

$$\text{Other soluble COD fraction (\%)} = \frac{C_{\text{solub COD}} - \sum C_{\text{metabolite}}}{C_{\text{soluble COD}}}$$

The VFA yields were used to determine their productivities over a period: lag, exponential, stationary phases or over the whole batch. The periods were defined with respect to the evolution of the VFAs concentration during the batch, as shown on **Figure 37**. The productivity was calculated by the following expression:

$$\text{VFA Productivity (mgCOD/gCOD/day)} = \frac{\text{VFA Yield}(t_f) - \text{VFA Yield}(t_i)}{t_f - t_i}$$

Where t_i and t_f (day) are the initial and final time of the considered period.

Partial Least Square-Discriminant Analysis (PLS-DA) was performed with the software R (version 3.6.0) and R Studio (1.2.1335), using the package mixOmics (Rohart et al. 2017), to assess the evolution of bacterial communities from the initial time of the experiment to the end of the batches. It was also used to correlate the reactors performances (metabolites yields, concentrations and distribution) and the composition of the microbial communities to the TS content and acclimation stage.

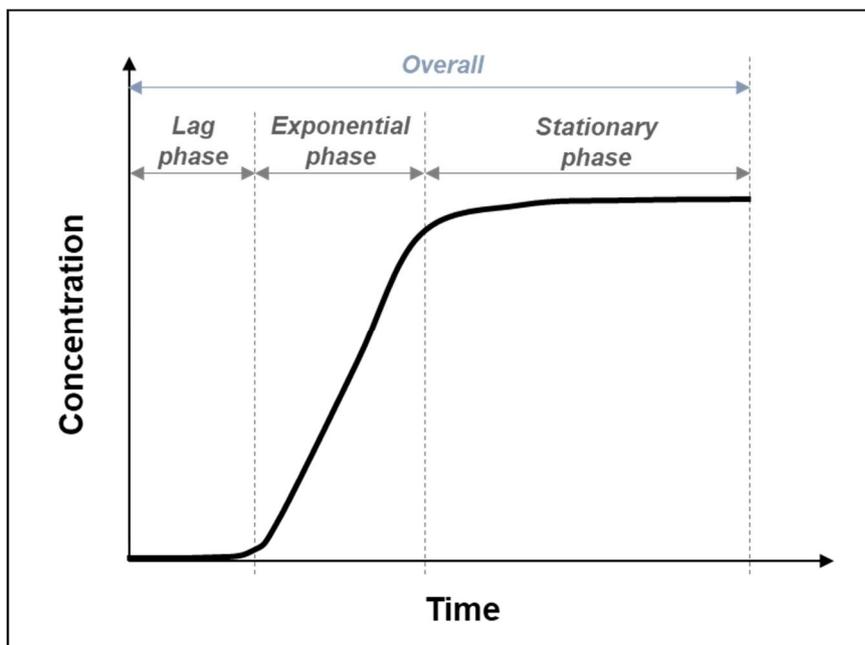


Figure 37. Definition of the phases for productivity calculation.

2.3. Results

This section presents the pH values as well as the metabolites yields and distribution. The microbial communities' analysis as a function of TS content, inoculation condition and stage of acclimation is also exposed. The results are presented as mean values of replicates \pm standard deviation. The IN cases consisted of two replicates at 5%TS and no replicate at 15 and 20%TS. The IN+EXT conditions included two replicates at 5%TS and three at 15 and 20%TS.

2.3.1. pH values and metabolites yields

The pH was measured at initial and final time of each batch and the values are presented in **Figure 38**. In all cases, the pH was in the range of 4.8 to 6.7. At 5% TS, the pH tended to be reduced from the beginning to the end of the three batches. On the contrary, at 15% TS and 20% TS, the pH slightly increased during the batches.

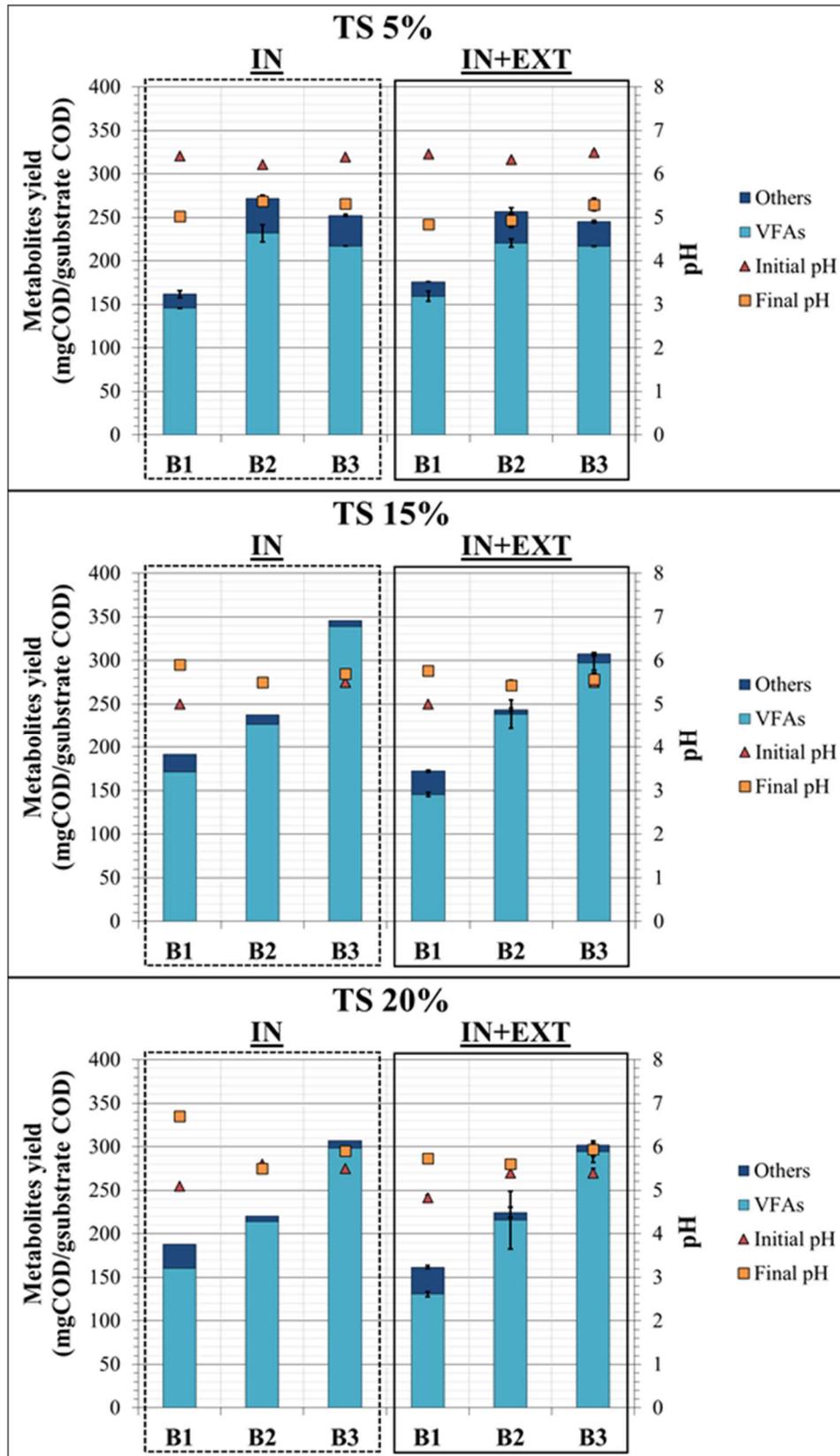


Figure 38. Final metabolites yields and initial and final pH values for each batch (B1, B2 and B3) and TS condition. In the metabolites yields, the category "Others" includes all metabolites which are not VFAs.

The higher the TS contents, the higher final total metabolites concentrations (gCOD/L). Indeed, after the final batch the metabolites concentrations reached 74.6 ± 3.2 gCOD/L at 20%TS, 58.3 ± 3.8 gCOD/L at 15% TS and 15.2 ± 0.3 gCOD/L at 5% TS. However, concentrations do not enable to correctly compare the performances of the various TS content. Indeed, increasing the TS content implies less solvent/water in the medium, explaining why concentrations were higher for high TS content. To better compare the three TS conditions, metabolite yields were calculated with regards to the initial amount of substrate in $\text{gCOD/gCOD}_{\text{substrate}}$, with a differentiation between VFAs and other metabolites (different from VFAs).

The graphs firstly show that the products were mostly composed of VFAs (more than 80% of metabolites) whatever the TS content. Whatever the inoculation conditions (IN or IN+EXT), after the final batch the highest metabolites yields (Y_m in $\text{gCOD/gCOD}_{\text{substrate}}$) were obtained at 15%TS: $Y_{m15\%}$ (350) > $Y_{m20\%}$ (300) > $Y_{m5\%}$ (250). There was a significant effect of acclimation of bacteria on Y_m . In general, the yields reached in B3 were between 1.5 to 2 times the yields of B1. The increase was gradual from B1 to B3 with an exception at 5% TS. It actually seems that a plateau was reached after the first two batches of acclimation at this TS content. Comparing the IN and IN+EXT cases, it can be seen that the addition of an external inoculum had no effect on Y_m .

2.3.2. Productivity of VFAs

Based on the evolution of VFA concentration in time (see **Section 2.6, Figure S4**), the lag and exponential phases of VFA production were identified. VFAs were produced without a lag phase at 5%TS, whatever the batch. At 15 and 20%TS, a short lag phase was sometimes detected during B1 and B2 but it could not be clearly assessed for B3. Moreover, the initial VFA production rates were always higher in wet than in dry conditions.

The VFA productivities during exponential phase and over the whole batches were calculated and the results are presented in **Tableau 29**. Regarding the exponential phase, VFA productivities were generally greater at 5%TS than at 15 and 20%TS, with a maximum value of 110.9 $\text{mgCOD/gCOD}_{\text{substrate/day}}$. Productivities did not systematically increase with acclimation, and finally, similar values were measured between B1 and B3 for each TS content. During the first batch, whatever the TS content, the productivities were higher in the IN+EXT than in the IN reactors. However, the gain due to the addition of an external inoculum was only of 4 to 25 $\text{mgCOD/gCOD}_{\text{substrate/day}}$ and could not be considered as significant. If we consider the overall productivities, the values were the highest at 5%TS during B1 and B2 (up to 34.4 $\text{mgCOD/gCOD}_{\text{substrate/day}}$) and were maximum at 15%TS during B3 (up to 25.2 $\text{mgCOD/gCOD}_{\text{substrate/day}}$). At each TS content, the acclimation process enabled to increase productivities from B1 to B2 but not during B3. The comparison between IN and IN+EXT cases showed very slight differences during the first batch (from 2.1 to 4.4 $\text{mgCOD/gCOD}_{\text{substrate/day}}$).

Tableau 29. Lag phase duration (days), exponential phase and overall VFA productivities (mgCOD/gCODsubstrate/day) for IN and IN+EXT conditions.

	5% TS		15%TS		20%TS	
	IN	IN+EXT	IN	IN+EXT	IN	IN+EXT
B1						
Lag phase duration	0	0	0	0	1.75	1.75
Exponential phase productivity	85.8 ± 14.3	110.9 ± 5.5	23.8	22.0 ± 0.3	35.2	38.9 ± 0.5
Overall productivity	25.8 ± 0.1	27.9 ± 1.6	20.0	16.4 ± 0.2	18.5	14.1 ± 0.3
B2						
Lag phase duration	0	0	0	0.75	0.75	0.75
Exponential phase productivity	53.2 ± 0.2	50.6 ± 3.0	64.2	73.2 ± 1.0	68.8	54.4 ± 8.6
Overall productivity	33.3 ± 0.7	34.4 ± 0.9	28.1	27.2 ± 2.3	24.0	25.9 ± 3.9
B3						
Lag phase duration	0	0	/	/	/	/
Exponential phase productivity	95.6 ± 6.7	102.4 ± 3.7	28.5	28.1 ± 0.2	27.2	27.1 ± 2.5
Overall productivity	20.2 ± 0.0	21.0 ± 0.0	25.2	21.3 ± 1.0	22.4	22.0 ± 0.6

2.3.3. Distribution of metabolites

The metabolites distribution at the end of the batches is presented in **Figure 39**. The distribution of metabolic products changed between the wet (5%TS) and dry (15, 20%TS) conditions. At 5%TS, over three batches, the proportions of acetate and propionate increased, at the expense of butyrate. On the contrary, at 15 and 20%TS, there was no significant change in the proportions of acetate, propionate and butyrate, the latter being the main product. A significant fraction of ethanol was found after all the batches in wet conditions, whereas it was found only at the end of B1 in dry conditions. At the end of the experiment, acetate and propionate accounted for $50 \pm 2\%$ of total metabolites COD at 5%TS, whereas these short VFAs accounted for $20 \pm 3\%$ and $19 \pm 0\%$ of total metabolites COD at 15 and 20 %TS respectively. Longer chain VFAs (*i.e.* (iso-)butyrate and (iso-)valerate) represented $37 \pm 1\%$ of total metabolites COD at 5%TS, and $66 \pm 1\%$ of total metabolites COD at 15 and 20%TS. Caproate was also notably produced at 15 and 20%TS ($11 \pm 3\%$ and $12 \pm 0\%$ of total metabolites). Concerning, the effect of inoculation, the comparison between IN and IN+EXT experiments, especially after the first batch, shows that the addition of an external inoculum did not have a significant impact on the type of metabolites produced and their distribution.

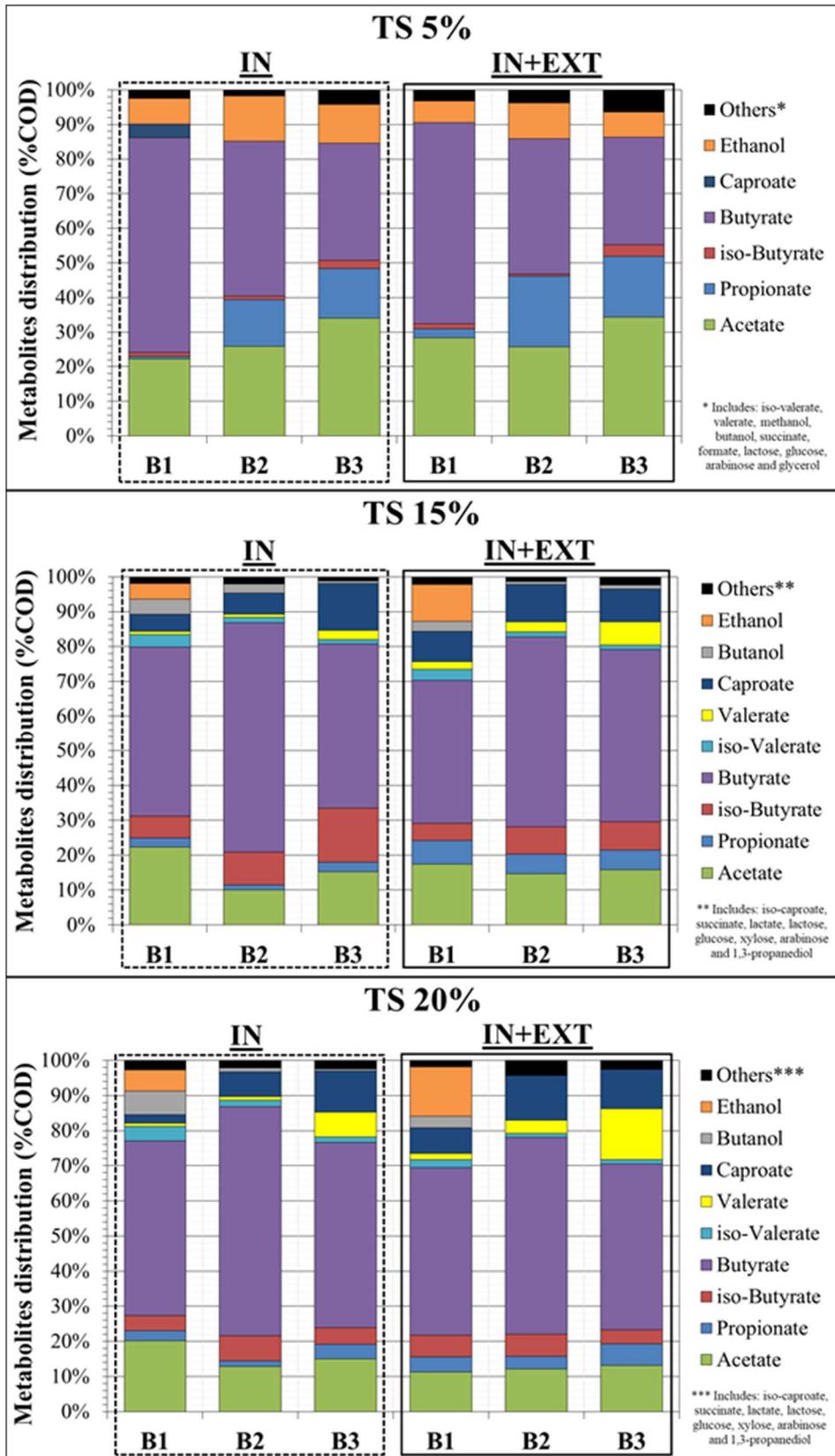


Figure 39. Metabolites distribution at the end of the batches (B1, B2 and B3) at each TS condition for IN and IN+EXT cases. The fraction of each product was calculated with respect to the total metabolites concentration (in gCOD/L). Metabolites with a COD fraction below 3% were gathered in the category “Others”.

2.3.4. Microbial communities structure

The microbial communities were analysed over the experiment and the results are presented in **Figure 40**. A pre-analysis of the liquid and in the solid fraction showed that there was no real difference between the microbial populations of these two phases. Therefore, only the results obtained on the liquid phase are presented.

As observed with the metabolites yields and distribution, there were considerable changes in the microbial communities over the batches when TS content increased. At 5% TS, there was an enrichment of Ruminococcaceae along the batches and the families Leuconostocaceae, Clostridiaceae_1 and Enterococcaceae were also maintained. The family Acetobacteraceae slightly enriched and the family Lactobacillaceae almost disappeared. In dry conditions (15 and 20%TS), the families Ruminococcaceae, Clostridiaceae_1 Lactobacillaceae and Leuconostocaceae were maintained or enriched. On the contrary, microorganisms belonging to the families Pseudomonadaceae and Enterobacteriaceae were eliminated or their abundance was strongly reduced.

At all TS contents, the families Ruminococcaceae, Leuconostocaceae, and Clostridiaceae_1 predominated after the final batch. The main difference between wet and dry conditions was the high fraction of Enterococcaceae at 5%TS, whereas Lactobacillaceae represented a major family at 15 and 20%TS.

The microbial communities structure in IN and IN+EXT samples were compared after B1. At 5% TS the main families were identical in IN and IN+EXT: Clostridiaceae_1, Enterococcaceae, Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. The major difference was in the proportions of Clostridiaceae_1 and Enterococcaceae. At 15 and 20%TS, the differences between IN and IN+EXT conditions were also very slight. It is worth noting that the relative abundance of Ruminococcaceae was systematically higher in the solid phase, and that Leuconostocaceae were found in the liquid phase but not (or barely) in the solid phase.

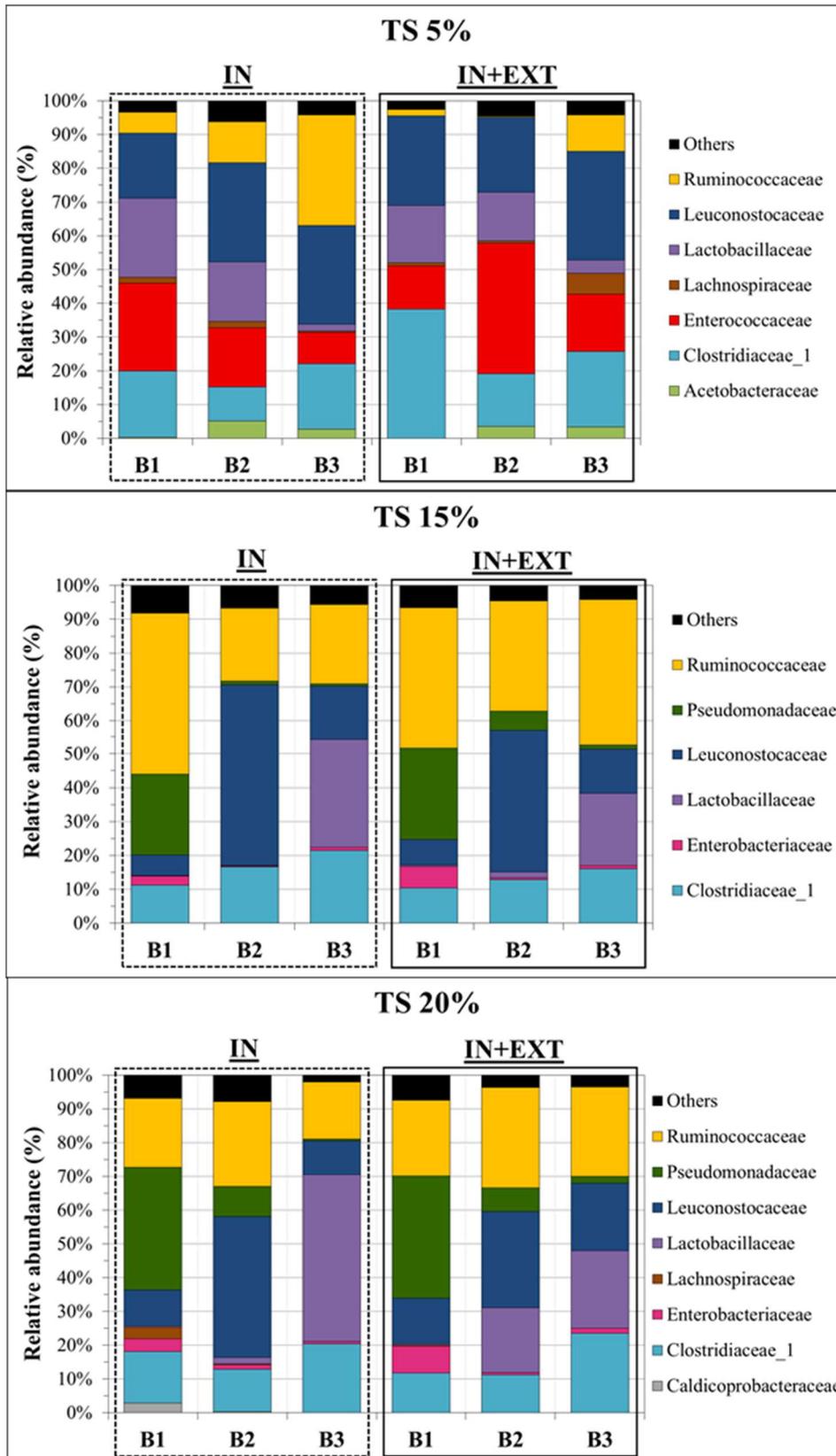


Figure 40. Evolution of the microbial communities during the experiment in the IN and IN+EXT conditions. The relative abundances were calculated after each batch (B1, B2 and B3) at family rank. Families with relative abundance lower than 5% were gathered in the “Others” category.

2.4. Discussion

2.4.1. Does the total solids content modify the effect of the inoculation?

In acidogenic fermentation, the addition of an inoculum aims to bring specific (*i.e.* hydrolytic and acidogenic) and efficient microorganisms. When the substrate is particulate and complex, the inoculum is expected to help in starting hydrolysis since this step is the first of the process and is often considered to be the rate-limiting step (Eastman and Ferguson 1981). Hydrolysis is actually a multi-step process including transport of the bacteria, contact and colonisation of the surface, enzymatic degradation. The results obtained by Benneouala et al. (2017) indicate that colonisation of the large particles surface was a crucial step of hydrolysis. Therefore, in order to increase the chances for the substrate surface to be colonised, the strategy applied in this study was to increase the amount of bacteria by adding an inoculum (fresh or acclimated). To assess the efficiency of this strategy, the macroscopic fermentation performances (metabolites yield, concentration, productivity and spectrum) and the microbial populations (at family rank) were analysed.

In the previous chapter, the results obtained in wet conditions at controlled pH showed that the addition of a fresh external inoculum had no effect on fermentation. On the contrary, the sequential batch cultivations enabled to really improve substrate degradation, metabolites production and allowed strong bacterial selection resulting in the expression of metabolic pathways in accordance with the operational pH.

2.4.1.1. Addition of an external inoculum

In the present study, it was also concluded that the addition of an external inoculum did not contribute to significantly enhance fermentation performances and modify the metabolites spectrum. The absence of effect due to external inoculation was particularly clear at high TS conditions. Favaro et al. (2013) also pointed out that fermentation of the organic fraction of municipal solid waste only with the indigenous microflora was feasible. However, in their case, the addition of an external inoculum enhanced hydrogen (by 1.5 to 1.7) and VFAs (by 1.8 to 3.1) productions.

The absence of effect may be due to the low amount of microorganisms brought to the medium, since a relatively high substrate to inoculum ratio was applied. Moreover, it is likely that most of the bacterial species from the inoculum were not able to subsist in the medium with the operational conditions. A comparison between the microbial communities of the pre-treated inoculum and of the reactors after the first batch showed that only bacteria belonging to the families Clostridiaceae_1 in wet and dry conditions, and Pseudomonadaceae in dry conditions, were maintained after the first batch. However, most of these bacteria probably did not originate from the external inoculum since they were found in similar proportions in IN and IN+EXT reactors (except at 5%TS for Clostridiaceae_1). As suggested in the previous chapter, the absence of effect of the external inoculum may also be due to the difficulties of the added bacteria in colonising the substrate surface, and therefore performing the hydrolysis. On the contrary, the indigenous bacteria were already attached to the wastes and more likely to start-up the hydrolysis process, especially in dry conditions since they were already adapted to the

high TS content of the FFHSW (33%). Finally, in terms of quality, the external inoculum contained a huge fraction of Clostridiaceae_1 bacteria, which are known to be largely involved in hydrolysis and acidogenesis. These bacteria, although present, may have been inactive or dead at the moment of the experiment.

2.4.1.2. Addition of an acclimated inoculum

Generally speaking, the acclimation process was beneficial at all TS contents. It resulted in an increase in metabolites concentrations and yields from B1 to B3. The increase was the greatest and was clearly gradual in dry experiments. In wet conditions, the rise only occurred between B1 and B2. The lag phases were reduced or eliminated but it was not possible to detect a real trend regarding exponential phase productivities. The overall batch productivities increased with acclimation in dry but not in wet conditions. The metabolites spectrum also progressively evolved towards the final metabolites distribution.

Recycling the liquid phase of the reactors from one batch to the next was thus a successful strategy. Contrary to the external inoculum, the freshly acclimated liquid probably enabled to carry microorganisms which were still alive, more specific and more efficient. Indeed, they were acclimated to the substrate on which they grew, to the experimental conditions (temperature, pH range, solids concentration) and to the VFA concentration levels. These concentrations could have been inhibitory for acidogenesis. As an example, Pratt et al. (2012) indicated that during fermentation of waste activated sludge, VFA production ceased when VFA concentration reached 17 gCOD/L. At 5%TS, VFA concentrations did not exceed 14 gCOD/L. But in dry conditions they were up to five times higher and could have potentially been locally even greater, due to the high solids concentration. Then, the bacterial populations in these TS conditions were very resistant to the very high and possibly inhibitory concentrations. This makes the acclimation process much more relevant and beneficial in adverse conditions: high solids as well as very low pH (observed in the previous chapter). A practical advantage of such high VFA concentrations to naturally prevent methanogenesis since methanogens are sensitive to this factor (Abbassi-Guendouz et al. 2012; Vedrenne et al. 2008).

The absence of improvement between the second and third batch in wet conditions was already remarked in the previous chapter where experiments were performed with controlled pH. However, there are no elements allowing us to explain this observation.

2.4.2. Effect of the total solids content on fermentation performances

2.4.2.1. Metabolites yields, concentrations and VFA productivities

According to the results obtained, the differences between the 15 and 20%TS (dry) experiments were very slight and distinguished from the 5%TS (wet) condition. The metabolite concentrations clearly increased with the TS content. The metabolite yields were also higher in dry than in wet conditions. On the contrary, VFA productivities during exponential phase were generally the highest in wet conditions.

At 5%TS, no lag-phase was observed whatever the batch and the maximum production rate was detected at initial time. In dry conditions VFAs were generally produced with a short lag phase.

The net increase in metabolite concentration with the TS content was already observed by different authors (Motte et al. 2013; Q. Wang et al. 2015; Dong, Zhenhong, and Yongming 2010; Yousuf, Bastidas-Oyanedel, and Schmidt 2018). This is coherent with the reduction of the volume of water in the medium.

The metabolite yields reached in this study are slightly inferior to those of Q. Wang et al. (2015) but much higher than those of Motte et al. (2013) in the same TS content range (see **Figure 41**). These differences may be due to different substrates used, the highest yields being obtained when less refractory compounds were present in the substrate. Regarding the effect of the TS content, the trend observed here is not really consistent with the conclusions found in literature, which generally indicate a reduction in fermentation performances in semi-dry and dry conditions compared with wet conditions. But this trend is often observed in the case of biogas production and there are not so many studies which focused on VFA production, especially in the range of 5 to 20%TS. The results of Q. Wang et al. (2015) showed a decline in fermentation product yields as the TS content increased from 4 to 13%. Motte et al. (2013) indicated a decrease in wheat straw conversion to soluble and gaseous products when the TS content increased between 10 and 33% TS. However, when considering only the soluble metabolites produced, the decrease observed by Motte et al. (2013) is not really significant (see **Figure 41**). Several hypotheses could explain that metabolite yields increased with the TS content. As the solids concentration is increased, the microorganisms are more likely to contaminate and to colonise the substrate because the distance between particles is lowered. Moreover, a larger surface of substrate is offered for colonisation. Finally, it could have resulted in a higher amount of substrate degraded and converted to metabolites. On the contrary, magnetic stirring of the medium in wet conditions could have promoted the detachment of hydrolytic bacteria. Another fact is that at 5% TS, the reactors were not opened and flushed until the end of a batch and the partial pressures of H₂ (p_{H2}) and of CO₂ (p_{CO2}) reached up to 500 and 700 mbars, respectively. On the contrary in dry conditions, the flasks were opened about once a day to sample the medium. It means that the produced gases (H₂, CO₂) were not kept in the bottles. Therefore the p_{H2} and p_{CO2} probably remained very low in these flasks, which could have facilitated hydrolysis and acidogenesis at high TS contents compared to 5%TS. Indeed, Cazier et al. (2015) observed that wheat straw degradation yield and VFAs production were reduced with increasing p_{H2}. They suggested that hydrolysis and/or acidogenesis could be inhibited by high p_{H2} levels (over 741 mbars, measured at 25%TS). Zhou et al. (2017) tested the removal of generated gases from the reactor during glucose fermentation. This strategy led to a decrease of the p_{H2} by 650 mbars and an increase of carboxylic acids production by 4%, compared to a control where the produced gases were kept in the reactor. In addition, Arslan et al. (2012) also showed that a headspace containing CO₂ or a mixture of H₂ and CO₂ (with a total pressure of 2 bars) could lower the hydrolysis degree of organic waste streams, compared to a case with only N₂ or H₂. The authors indicated a possible modification of fermentation kinetics with varying headspace composition.

The reduction in VFA productivities when the TS content increases is not in line with the trend observed in metabolites yields, but could be explained by a kinetic inhibition of microbial processes, due to the high VFA concentrations reached in dry conditions. Indeed, some authors concluded that a consequence of the mass transfer limitations occurring with higher TS content was the modification of different kinetic parameters : for instance, decrease of the microbial hydrolysis rate (Abbassi-Guendouz et al. 2012), increase of half saturation constant (Bollon et al. 2011).

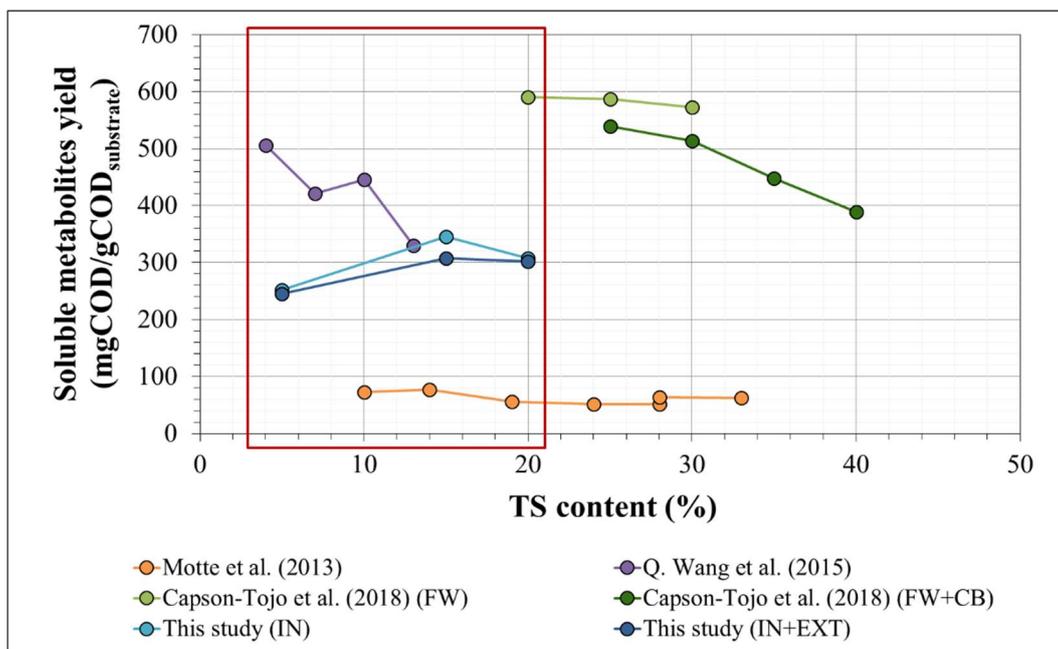


Figure 41. Soluble metabolites production observed in literature and in the present study. The yields were calculated from the data provided by authors.

2.4.2.2. Metabolites spectrum and relationship with the microbial communities

The analysis of the fermentation products distribution showed that the TS content affected the main metabolites produced. Mainly VFAs were produced in all cases, but it was clearly observed that higher TS contents favoured the accumulation of more complex (longer chain) VFAs. At all TS contents, acetate, propionate and butyrate were major products. In wet fermentation, a significant fraction of ethanol was measured in all the batches. However, in dry conditions, ethanol was found after the first batch with some iso-valerate, valerate and caproate. After B2 and B3, ethanol was not produced, less short-chain VFAs were found in the medium, but the amounts of valerate and caproate increased. Ghimire et al. (2018) also noticed that the initial TS content significantly affected the metabolic products during dark fermentation of food waste. However, contrary to the present study, they observed lactic production at TS contents higher than 15%. Motte et al. (2013) obtained less acetic acid and more butyric acid with increasing TS in wheat straw dark fermentation. The results of Fang et al. (2016) on spent mushroom compost fermentation, showed that valeric acid fraction increased from 10 to 20%

when the TS content increased from 6-12% to 15-18%. Nevertheless, literature contains only limited information about the effect of the total solids content (in the studied range) on the metabolite spectrum. Moreover, the composition of the substrate influences the products spectrum (Jankowska et al. 2017; van Aarle et al. 2015; Strazzera et al. 2018), which complicates the comparison of results.

The change in metabolic products with the TS content is due to modifications of the metabolic pathways. Firstly, considering that the VFA concentrations in dry conditions were five times higher than in wet conditions, the metabolic pathways may have changed as a result of increased VFA concentrations. Secondly, the composition of the gas phase in the reactors may have impacted the metabolic pathways. Indeed, it can be pointed out acetate can be produced by homoacetogens from H₂ and CO₂, and propionate can be formed from H₂ and glucose. Zhou et al. (2017) showed that sparging a mix of H₂ and CO₂ in the medium changed the metabolic pathway towards the production of more acetic acid by homoacetogens. Then, the removal of these gases from the dry fermentation reactors may explain the lower production of acetate and propionate in these experiments than at 5%TS.

The results of microbial community analyses showed that different microbial species were selected by the TS content. Therefore, the differences in fermentation metabolites were probably related to the changes observed in microbial species selected when changing the TS content. Capson-Tojo et al. (2018) also indicated that microbial communities' structure and microbial diversity were modified by the TS content.

In order to assess this relationship, a PLS-DA was performed and presented in **Figure 42**. The representation of the reactors at the three TS contents over the batches (**Figure 42-A**) confirms the split between wet (5%TS) and dry (15 and 20% TS) conditions. The reactors at 20%TS were grouped with the 15%TS reactors during the first batch and evolved similarly until the last batch. Analysing **Figure 42-A** and **Figure 42-B** together, it can be seen that the production of longer chain VFAs (iso-butyrate, butyrate, valerate and caproate and the selection of Ruminococcaceae and Lactobacillaceae, were positively correlated to the high TS contents. The particular behaviour observed in dry fermentation suggests that, with acclimation, the systems evolved towards the implementation of chain elongation reactions. Agler et al. (2012) carried out chain elongation with mixed cultures and found that bacteria from the genera *Clostridium* (family Clostridiaceae) and *Ethanoligenens* (family Ruminococcaceae) were heavily involved in the production of n-caproic acid from ethanol. This is in line with the high relative abundance of Ruminococcaceae in dry conditions compared to wet conditions. Moreover, bacteria of the family Ruminococcaceae are known to participate in the degradation of complex organic material, hydrolysing various polysaccharides (Chatellard, Trably, and Carrère 2016; Sträuber, Schröder, and Kleinstüber 2012). Species of the Lactobacillaceae family are often involved in the production of lactic acid which was not observed here. However, some lactic acid bacteria such as *Lactobacillus brevis* and *L. buchneri* are also able to degrade this lactic acid to produce, among other metabolites, acetate and 1,3-propanediol, as it was observed at high TS (Oude Elferink et al. 2001). In wet fermentation, the main production of acetate and propionate was associated with the predominance of Acetobacteraceae, Enterococcaceae and Lachnospiraceae families. *Acetobacter* species generally form acetic acid, but under but aerobic conditions (Sträuber, Schröder, and Kleinstüber 2012). Enterococcaceae are lactic

acid bacteria and are involved in fermentation of food products (Rosenberg et al. 2014b; Hanchi et al. 2018). Their presence may be related to the high production of propionic acid, since it can be generated from lactic acid. As for the family Lachnospiraceae, many species are known to ferment carbohydrates, producing mainly VFAs (acetate, butyrate, iso-valerate) as well as lactate, formate and succinate (Sträuber, Schröder, and Kleinsteuber 2012; Rosenberg et al. 2014b). Clostridiaceae_1 and Leuconostocaceae were associated to both wet and dry conditions. Clostridiaceae bacteria are involved in hydrolysis and are able to produce most of the VFAs (Carlei 2013; Sträuber, Schröder, and Kleinsteuber 2012; Zhou et al. 2018). Leuconostocaceae bacteria also able to produce a wide range of products from different substrates : for example, heterofermentation of glucose into produce lactic acid, CO₂, ethanol and/or acetate (Rosenberg et al. 2014b).

2.5. Conclusions and perspectives

In this study, it was observed that the addition of an external inoculum did not significantly impact the acidogenic fermentation process and this was especially true at 15 and 20%TS. On the other hand, the acclimation performed in three successive batches succeeded in improving the fermentation performances. The acclimation process was particularly beneficial at high TS contents, for which the highest gain was measured. Moreover, in these cases, bacterial communities were exposed to very high VFA concentration levels. The total solids content was a crucial parameter for driving the acidogenic fermentation of FFHSW. The 15 and 20% TS (dry fermentation) reactors performed very similarly and could be easily distinguished from the 5% TS (wet fermentation) experiment. The highest metabolites concentrations and yields were achieved in dry conditions. Fermentation may have been facilitated at high TS contents, due to better colonisation of the substrate by more active microorganisms and because of the frequent removal of H₂ and CO₂ from the headspace, which probably eliminated limitations due to H₂. On the contrary, VFA productivities were higher in wet conditions. Moreover, different metabolic pathways occurred in wet and dry fermentations. At 5%TS, common VFAs (acetate, butyrate, and propionate) and ethanol were mainly produced. Interestingly, at 15 and 20%TS, the production of more complex or longer-chain VFAs (iso-butyrate, valerate and caproate) was observed, suggesting that chain elongation occurred. The change in products distribution was associated with the selection of species from the families Ruminococcaceae and Lactobacillaceae. A suggestion to successfully implement the acidogenic fermentation of HSW in solid-state processes such as leach-bed reactors, a strategy could be (i) to use an acclimated inoculum, (ii) to adjust and maintain the TS content in the range of 15-20% by an optimised management of leachate recirculation, and (iii) to continuously remove some or all of the produced H₂ and CO₂ from the headspace.

2.6. Supplementary material

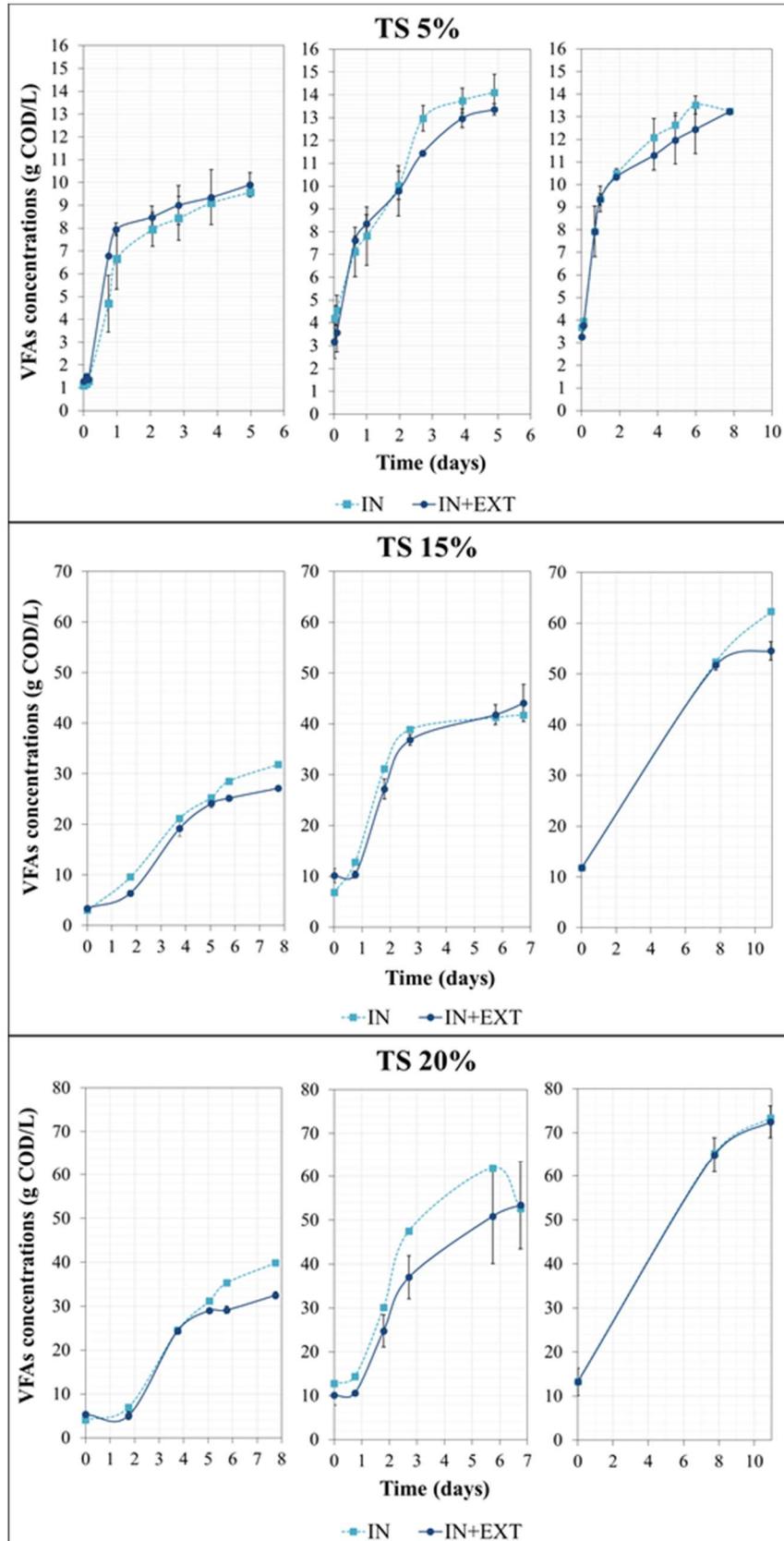


Figure S4. Evolution of the VFA concentrations over time during the successive batches.

3. Conclusion du Chapitre 2

À travers l'étude menée dans ce second chapitre, il s'agissait de vérifier, à forte teneur en solides, les conclusions tirées dans le chapitre 1. Nous avons précédemment montré, en voie liquide et à pH contrôlé, l'importance de la nature de l'inoculum pour la fermentation acidogène en batch. En particulier, l'apport d'un inoculum préalablement acclimaté aux conditions opératoires a été déterminant pour améliorer l'hydrolyse du substrat et la production de métabolites, notamment avec la condition de pH la plus contraignante (4.5). Dans le chapitre 2, nous avons pu comparer la fermentation en voie liquide à la voie solide. Nous nous sommes placés en conditions de pH non contrôlé, du fait de la difficulté de mettre en œuvre une régulation continue de pH dans les milieux fortement concentrés en solides. Nous avons ainsi pu confirmer que l'inoculum exogène ne permettait pas d'améliorer la fermentation du substrat, probablement en raison de la difficulté des micro-organismes exogènes à coloniser la surface du substrat et à se maintenir dans le milieu. En revanche, de même que précédemment, en réalisant trois batchs d'acclimatation et en recyclant la phase liquide d'un batch au suivant, nous avons pu observer une augmentation significative des productions de métabolites. Cet effet positif de l'acclimatation semble pouvoir être attribué à un apport croissant, au fil des batchs, de bactéries hautement spécifiques aux conditions opératoires et au substrat, et efficaces pour la fermentation acidogène de celui-ci. L'acclimatation s'est avérée particulièrement pertinente en voie sèche, conditions de procédé contraignantes du fait de la limitation en eau, et extrêmes puisque les concentrations atteintes ont été jusqu'à cinq fois supérieures à celles obtenues en voie liquide.

Le deuxième objectif était de comprendre l'effet de la teneur en solides sur les performances de fermentation et sur le spectre de métabolites produits. Nous avons pu observer que, contrairement aux conclusions tirées en digestion anaérobie méthanogène, l'augmentation de la teneur en solides a eu un effet positif sur les rendements des produits. Du fait de la proximité entre les particules de substrat, la facilité des bactéries à coloniser la surface de celui-ci a pu permettre une meilleure dégradation du substrat et favoriser ainsi la production de métabolites. À l'inverse, les productivités d'AGV en phase exponentielle, ont été les plus élevées en voie liquide. De plus, les conditions opératoires mises en œuvre en voie solide, à savoir la réduction fréquente de la pression partielle en hydrogène et en dioxyde de carbone, ont pu contribuer à améliorer les rendements via la levée de possibles limitations par l'hydrogène. Dans les deux types de fermentations, les métabolites étaient majoritairement composés d'AGV. De plus, nous avons observé une orientation métabolique progressive des systèmes de fermentation, différant selon que l'on se plaçait en voie sèche ou liquide. Ainsi, dans les conditions de fermentation liquide, l'acétate, le butyrate et le propionate ont été les produits majoritaires, avec une production non négligeable d'éthanol. En voie solide, il a été intéressant de constater qu'au fil du processus d'acclimatation, une partie des bactéries s'est orientée vers la production croissante d'AGV plus complexes (iso-butyrate) ou à plus longues chaînes (valérate et caproate), alors qu'après le premier batch, l'éthanol n'a plus été détecté dans le milieu, en fin de fermentation. Ce comportement en voie solide a laissé supposer la mise en œuvre de réactions d'élongation de chaîne. Cette supposition est d'ailleurs en accord avec la sélection massive de bactéries appartenant à la famille des Ruminococcaceae, dont certaines espèces peuvent être impliquées dans ce type de processus. D'une

manière plus générale, la dissimilitude entre les spectres de métabolites obtenus à faible et forte teneurs en solide, a été corrélée à la sélection de familles de bactéries différentes (spécifiquement Enterococcaceae à 5%, et Lactobacillaceae fortes teneurs en solides). Il est probable que cette sélection se soit opérée notamment sous l'effet des niveaux de concentrations en AGV et de pression partielle en hydrogène.

Cette étude a permis de confirmer que la mise en œuvre de la fermentation en voie sèche est très prometteuse pour la production d'AGV, avec la possibilité d'obtenir notamment des AGV à longue chaîne (C₅ et C₆, atteignant jusqu'à 27% de la DCO métabolites). Cependant, cette étude a été réalisée dans des conditions où la phase liquide était statique. Aussi, il serait nécessaire de vérifier la reproductibilité de ces résultats en LBR, en tentant de répéter les conditions expérimentées ici :

- Une gestion optimale de la recirculation de lixiviat afin de maintenir une teneur en solides dans le réacteur de l'ordre de 15 à 20% ;
- L'utilisation d'un inoculum préalablement acclimaté, en recyclant la phase liquide issue d'un précédent batch ;
- L'élimination régulière de l'hydrogène et du dioxyde de carbone produits.

Chapitre 3 : Compréhension des processus hydrodynamiques en réacteur à lit percolant

1. Avant-propos du Chapitre 3

Dans ce troisième chapitre, nous changeons d'échelle et nous plaçons plutôt au niveau du procédé de fermentation acidogène en voie sèche. Il s'agit d'étudier les phénomènes physiques intervenant dans le réacteur à lit percolant, en se basant sur la théorie d'une structure à double porosité. Pour cette étude, le substrat modèle complet, c'est-à-dire l'OMR reconstituée, a été utilisé. En effet, contrairement aux travaux effectués dans les deux parties précédentes, les éléments non biodégradables jouent un rôle de structuration du lit de déchets qu'il est nécessaire de considérer pour l'implémentation d'un procédé réel. Aussi, nous avons voulu comparer cette OMR artificielle à une OMR réelle. Les caractéristiques hydrodynamiques (écoulements et transferts d'eau) au sein des lits de déchets ont donc été déterminées par la mise en œuvre de cycles de percolation et drainage. Les lits ont été compactés afin de pouvoir observer les conséquences d'un tassement de lit sur l'hydrodynamique. Le modèle à double-porosité classique a été appliqué, puis amélioré afin de mieux représenter les observations expérimentales faites sur les OMR. Afin de valider ce modèle révisé, des résultats obtenus sur des déchets agricoles d'origine animale et végétale ont aussi été utilisés.

L'étude menée dans cette partie a été réalisée avec l'Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse. Les principaux résultats sont présentés sous la forme d'une publication en cours de publication dans le journal « Waste Management ». Néanmoins, pour faciliter la lecture et éviter les redondances, certains paragraphes ont été supprimés ou allégés par rapport à la publication d'origine. Dans ce chapitre, les substrats rHSW-1 et aHSW-2 seront notés respectivement rHSW et aHSW.

2. An improved hydrodynamic model for percolation and drainage dynamics for household and agricultural waste beds⁵

⁵ **Laura Digan^a, Pierre Horgue^b, Gérald Debenest^b, Sébastien Pommier^a, Etienne Paul^a, Claire Dumas^{a*}**

^a LISBP, Université de Toulouse, CNRS, INRA, INSA, Toulouse, France.

^b INPT, UPS, IMFT (Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse), Université de Toulouse, Allée Camille Soula, F-31400 Toulouse, France and CNRS, IMFT, F-31400 Toulouse, France.

*Corresponding author. Address : LISBP - INSA de Toulouse, Département GPE - Bâtiment 33, 135 Avenue de Rangueil, 31077 Toulouse CEDEX 04. Tel.: +33 (0)5 67 04 88 49. E-mail address: claire.dumas@insa-toulouse.fr

2.1. Graphical abstract

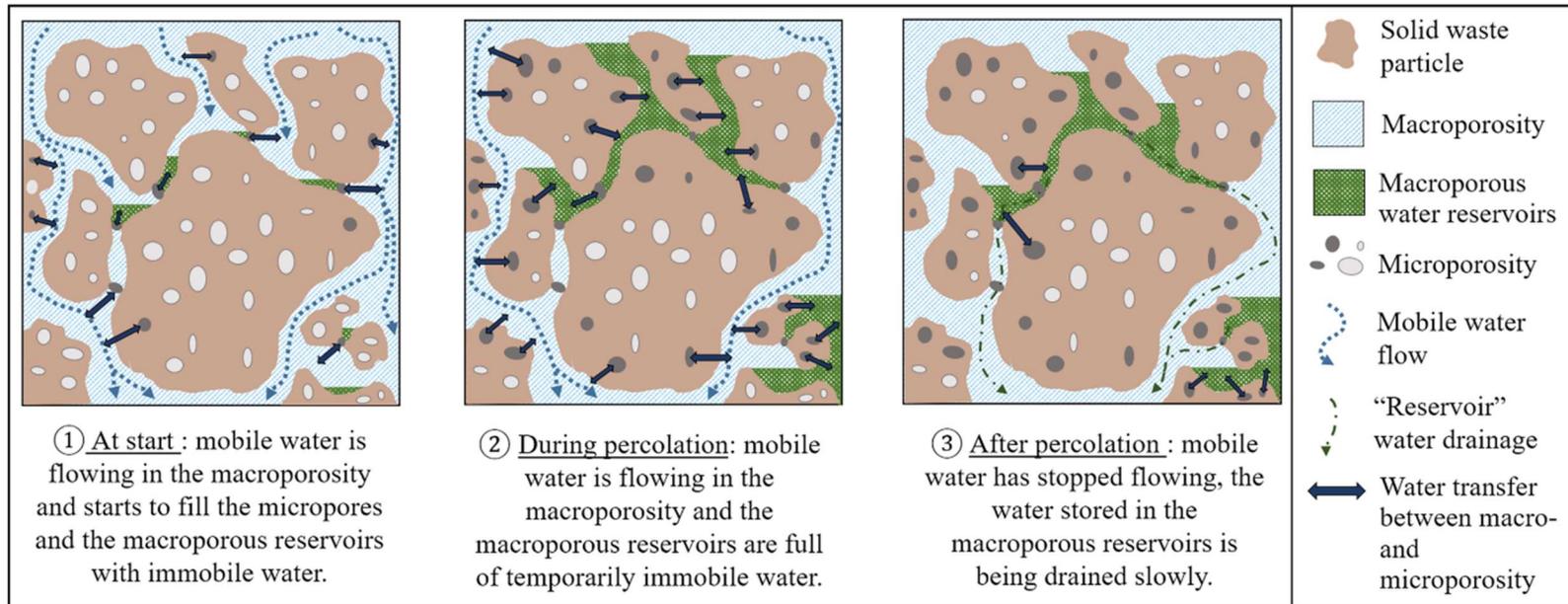


Figure 43. Graphical abstract of the article entitled: “An improved hydrodynamic model for percolation and drainage dynamics for household and agricultural waste beds”.

2.2. Highlights

- Physical and hydrodynamic characterisation of household wastes beds was performed.
- An easily calibrated dual-porosity model was proposed and calibrated.
- The proposed model included a reservoir fraction in macroporosity.
- The model was validated on household and agricultural wastes.
- Experimental water retention dynamics were numerically reproduced.

2.3. Introduction

Anaerobic digestion can be operated in two-stage processes: two consecutive reactors are used to physically separate the hydrolytic/acidogenic and methanogenic phases (Vasily A. Vavilin et al. 2001). With methane as targeted product, the configuration of a Leach Bed Reactor (LBR) coupled to a methanogenic reactor has been applied at lab scale to treat different substrates with high organic dry matter content, including food wastes (Stabnikova, Liu, and Wang 2008; S. Y. Xu et al. 2011b), municipal solid wastes (Viéitez and Ghosh 1999; Rodríguez-Pimentel et al. 2015), agricultural wastes (Cysneiros et al. 2011; Jagadabhi, Kaparaju, and Rintala 2011). The LBR is a solid-state fermentation process in which the solid substrate remains static while the leachate is recirculated through the bed. This concept was initiated by Chynoweth et al. (1992) whose objective was to develop a process overcoming usual limitations encountered with high solid substrates. Recirculation aims at maintaining a sufficient humidity in the bed, facilitating inoculation and mass diffusion between the solid and the flowing liquid (Jha et al. 2011; Francois et al. 2007; Lü et al. 2008; Stabnikova, Liu, and Wang 2008). The main highlighted advantages of this technology are: (i) its simple design and thus its relatively low cost (Dogan et al. 2009; Cysneiros et al. 2012b; Yap et al. 2016); (ii) the improvement of bacterial activity due to wetting (Pommier et al. 2007); (iii) the acceleration of the first degradation stages, particularly acidogenesis (Francois et al. 2007). In the perspective of producing VFAs, this technology has also the advantage to enable the simultaneous production and withdrawal of VFAs.

In the LBR, a fraction of water flows between solid particles (macro-scale) while another fraction, which is not flowing, enables to humidify the solid phase (micro-scale). VFAs are produced in contact of the substrate, in the micropores; they are then transferred to the macropores and can be recovered via the liquid flow (A. H. . Veeken and Hamelers 2000). The amount of flowing water determines the efficiency with which the VFAs can be transferred and taken out of the LBR (Shewani et al. 2017). Therefore, an adapted recirculation strategy needs to be implemented in order to better manage the residence time of VFAs in the LBR. An incomplete or misunderstanding of water mobility (water flow and retention ability, water transfer rates) and of solute exchanges may lead to an incomplete control of the process and therefore a reduced performance. Biological and chemical reactions are affected by water management within the process. Indeed, water can influence (i) the local concentration of products which potentially inhibit these reactions, (ii) the recovery of valuable intermediary products before their further transformation and (iii) the product concentrations which must be suitable for the targeted post-process. Moreover, the choice of recirculation strategy (continuous or intermittent, appropriate flow rates

and recirculation rates) depends on the hydrodynamic and physical properties of the waste beds. For instance, in several studies, authors investigated the effect of the amount of recirculated leachate (Chugh et al. 1998; Sponza and Ağdağ 2004) as well as the effect of the injection mode of leachate (Benbelkacem et al. 2010; Clarke, Xie, and Patel 2016) on the degradation of MSW.

LBRs with high waste beds involve the compaction of the bottom layers. The physical transport properties (*i.e.* porosity, permeability, effective dispersion for instance) are significantly affected by a compaction process. This settlement, is called primary settlement or physical compressive settlement (Huet et al. 2012; Gourc, Staub, and Conte 2010). Such a process is related to the vertical load of the waste and to the water flow. At local scale, it leads to a decrease in porosity, air permeability and effective diffusion values (Kacem, Salvador, and Quintard 2009; Huet et al. 2012) and can therefore affect, for instance, the efficiency of water supply and/or mass transport processes.

Experimental protocols have been developed to determine the physical properties of a leach bed, which are implemented in models to predict water retention and transfer (Shewani et al. 2015). Dual-porosity is usually applied in order to model the hydraulic behaviour of wastes leach beds (Stoltz et al. 2011; García-Bernet et al. 2011; Shewani et al. 2015; Di Donato, Huang, and Blunt 2003). The solid wastes bed is generally defined as a multiphase porous medium containing two fluid phases: a liquid phase and a gas phase (Stoltz, Gourc, and Oxarango 2010b). The porous structure is decomposed in two types of pores: (i) macropores are well-connected large spaces in which the fluid phases flow, these spaces contain free/mobile/dynamic water; micropores are small spaces (into or between the solid particles) in which the fluid phases are static, they contain bound/immobile/static water. In micropores, water is mainly retained by capillarity (Stoltz et al. 2011) and saturation increases as a result of a water transfer mechanism, from macro- to micropores. Indeed, micropores are able to collect water from the flow occurring in macro-scale spaces (A-J. Tinet et al. 2011). The main reason why the wetting process must be rapid and efficient, is that the bacterial activity and the availability of nutrients and biodegradable substrate, are optimal when micropores are filled with water (Pommier et al. 2007) which increases reaction rates.

Dual-porosity models are usually suggested in order to simplify the description of water flow in a porous medium and has been previously used for modelling water behaviour in waste (A-J. Tinet et al. 2011; Han, Scicchitano, and Imhoff 2011). Such models are used because single domain models do not accurately describe the fluid flow, a parameter we here need to handle, which occurs in pores with characteristic sizes ranging from micrometres to centimetres. As previously suggested by Gerke and van Genuchten (1993) and Gärdenäs et al. (2006), the dual-permeability model is one of the possible approaches to deal with such an issue. However, the model remains difficult to configure correctly since it requires exhaustive data such as relative permeability and retention curves (Gerke and van Genuchten 1993). In a previous study, Shewani et al. (2015) tried to reproduce water behaviour in waste using a simplified dual-porosity model without capillary pressure (fitting only the relative permeability curve). This work highlights the necessity to improve the model because the simplified approach did not allow to completely capture water dynamics. In their study, Larsson and Jarvis (1999) pointed out the difficulty

of the model to correctly represent the drainage water concentrations in a structured clay soil for short term fluctuation cases. They assumed that tracers were stored in micropores and were not affected by the bypass flow occurring in macropores. Audebert et al. (2016) combined experiments and the test of different models in order to exhibit the importance of fracture flows in the case of leachate recirculation in wastes. In addition, the effects of compaction on physical properties are often ignored or implemented with strong simplifying assumptions in modelling. It is important to include the compaction process in experiments in order to link its effect to the physical properties and correctly use the numerical model. A simple experimental protocol was described by Shewani et al. (2015) for instance, to determine leach bed properties with and without compaction.

In the present study, the protocol and the dual-porosity model proposed by Shewani et al. (2015) were adapted and improved in order to better capture the experimental results. Waste beds were evaluated in terms of physical structure, as well as water flow and transfer through the wastes materials. The characterisation was performed on different types of wastes, chosen to represent a wide range of substrates in terms of physical properties. The vertical constraint related to the waste layers stacking in higher beds was also considered. To overcome the lack of retention curves for macro- and microporosities theoretically necessary to set up the model, a modified dual-porosity model was proposed to correctly handle the drainage dynamics in leach-bed using exclusively water content measurements. The model parameters were calculated from experimental data in order to compare the wastes, and to be able to predict wetting and drainage process to improve biological reactions. This physical and hydrodynamic characterisation is a key point for driving either solid-state anaerobic digestion or fermentation reactors.

Even though this work focuses on laboratory scale LBRs, the methodology developed deals with unsaturated flows in porous media. It can then be applied to larger scale solid-state processes involving percolation/trickling in porous beds such as dry batch anaerobic digesters and landfill cells. In these cases, the implementation of the model will be different due to the specificities related to the nature of the substrates, their mechanical properties, the organic loading rates, the time scales.

2.4. Summary of the experimental materials and methods

Section “Matériels et méthodes” of this manuscript provides all the details on the wastes and their characterisation, the experimental device, the hydraulic tests protocol and the calculations. Nevertheless, for better understanding, some elements are restated here.

Four different wastes were used in this study: real household wastes (rHSW), artificial household wastes (aHSW), cow manure (CM) and wheat straw (WS). The chosen wastes covered a wide range of initial humidity contents, from the driest (WS, 94% TS) to the wettest (CM, 42% TS), rHSW and aHSW contained 49 and 69% of TS. VS accounted for 53% and 63% of TS for rHSW and aHSW, 80 and 92% of TS for CM and WS, showing a high organic matter content which justifies their suitability for fermentation. For more information on chemical characteristics of the wastes, the reader should refer to **Section 2.7, Tableau S1**.

The experimental device deployed for the hydraulic tests was similar to the one used by Shewani et al. (2015). The waste beds were built with a height of about the diameter of the column (36 cm for HSW and around 40 cm for CM and WS). The wastes were added gradually in layers of approximately 10 cm while avoiding to press the solid wastes; thus, the bed was uniform across its whole height. A drainage layer composed of gravel (size of 6 to 14 mm) was added under the rHSW and aHSW beds to facilitate the leachate flow and avoid clogging by particles. The gravel layer had a height of 0.04 m, representing 10% of the total bed height. The waste beds had similar heights but due to variable water contents, they had a wide range of bulk densities: 189 and 539 kg.m⁻³ for aHSW and rHSW, 313 kg.m⁻³ for CM and WS bed had the lowest bulk density with 20 kg.m⁻³ (see **Section 2.7, Tableau S1**). The dry solids volume represented decreasingly 13.7, 7.8, 7.1, 1.2 % m³.m⁻³ of total volume for respectively rHSW, CM, aHSW and WS (detailed calculation provided later in this **Section 2.4**). These values suggested a high total porosity fraction whatever the considered waste (more than 86%) (see **Section 2.7, Tableau S2**).

The hydraulic tests were performed at ambient temperature. At initial state, the waste bed was at compaction level 0 (CL 0). The first step was an “immersion and drainage” which allowed to initiate the wetting process and improve the percolation efficiency. It consisted of fully immersing the waste bed with water, then leaving it at rest and finally completely draining it. A known mass was added on top of the waste bed during this step to avoid flotation effects. The added mass was not negligible for rHSW and aHSW (17.9 kg) so that the waste beds is considered to have reached compaction level 1 (CL 1). For CM and WS, the mass added was low (2.9 kg), thus the waste beds were very slightly compacted and the compaction level was CL 0*. The second step was a series of “percolation-drainage” cycles. One cycle consisted of injecting water on top of the leach bed at a constant flow rate during 4-7 hours and then stopping the injection to allow the water to drain for 17-20 hours. The total duration of a cycle was 24 hours. Percolation cycles were performed alternating high and low flow rates to obtain flow-dependent water content measurements. Indeed, increasing the water flow in steady state induces an increase of the volume of water running off along the macroscale channels and therefore the dynamic water content. On the third step, a bed compaction was performed by applying a fixed mass above the waste beds for 24 hours: the compaction level at this stage was then called CL 2 for all wastes. This operation mimicked an additional upper layer of waste exerting a pressure over the bed. On the fourth step, the compacted waste bed (CL 2) underwent a second “immersion and drainage” as described at step 1. The fifth and final step was a series of “percolation-drainage” cycles identical to step 2.

The waste bed height was measured throughout the experiment. Settlement was supposed to be physical and not due to waste biodegradation. This assumption was made because: (i) no inoculum was introduced in the process and (ii) the total time of the experiment was relatively small compared to typical biodegradation times (one week). Thus, the dry solids mass was considered to remain constant (Shewani et al. 2015; Stoltz et al. 2011).

Several percolation-drainage cycles were necessary to measure a stable amount of water fully retained in the micropores of the solid bed. Thus, knowing this volume of water, it was possible to identify

the microporosity volume. The masses of water injected in the solid bed and leachate recovered at the bottom of the column were continuously recorded and plotted versus time. The fraction of the injected water which was retained in the solid bed was deduced by difference. From these measurements, the micropores volume (V_{micro}) was calculated as the sum of initial water content with the injected volume which remained trapped. The dry solids volume (V_s) was estimated as the ratio between the dry solids mass (calculated with the total solids content measured prior to the experiment) and the dry solids particle density (ρ_{SP}). ρ_{SP} (kgTS.L^{-1}) was computed as proposed by Agnew and Leonard (2003):

$$\rho_{\text{SP}} = \left(\frac{VS}{1.55} + \frac{(1-VS)}{2.65} \right)^{-1} \quad (\text{Equation 1})$$

Where VS is the volatile solids content expressed in kgVS.kgTS^{-1} .

Finally, the macropores volume (V_{Macro}) was deduced using the previously computed values V_s and V_{micro} .

The time evolution of water content during percolation and drainage cycles was then used to determine the hydrodynamic parameters: micropores saturation dynamics, macropores saturation and hydraulic conductivity and water exchange rates between porosities (see **Sections 2.5.2** and **2.5.3**).

2.5. Results and discussion

The experimental methodologies presented some differences (compaction levels, flowrates tested and rest times) for rHSW and aHSW on one hand, and for CM and WS on the other hand. Moreover, the waste beds had very diverse structures (see **Section 2.4**). The results mainly focus on the water behaviour in the case of HSW (real and artificial) with a brief comparison to agricultural solid wastes (CM and WS).

2.5.1. HSW leach beds structure

The waste beds underwent water additions and compaction which modified their structure (total porosity, macropores, and micropores). The three main fractions (dry solids, micropores and macropores volumes) were quantified using the protocol described in **Section 2.4** at each step.

2.5.1.1. Wastes beds settlement and compressibility

The evolution of the waste beds volumetric fractions (decreasing between the beginning and the end of the experiment) is presented in **Figure 44**.

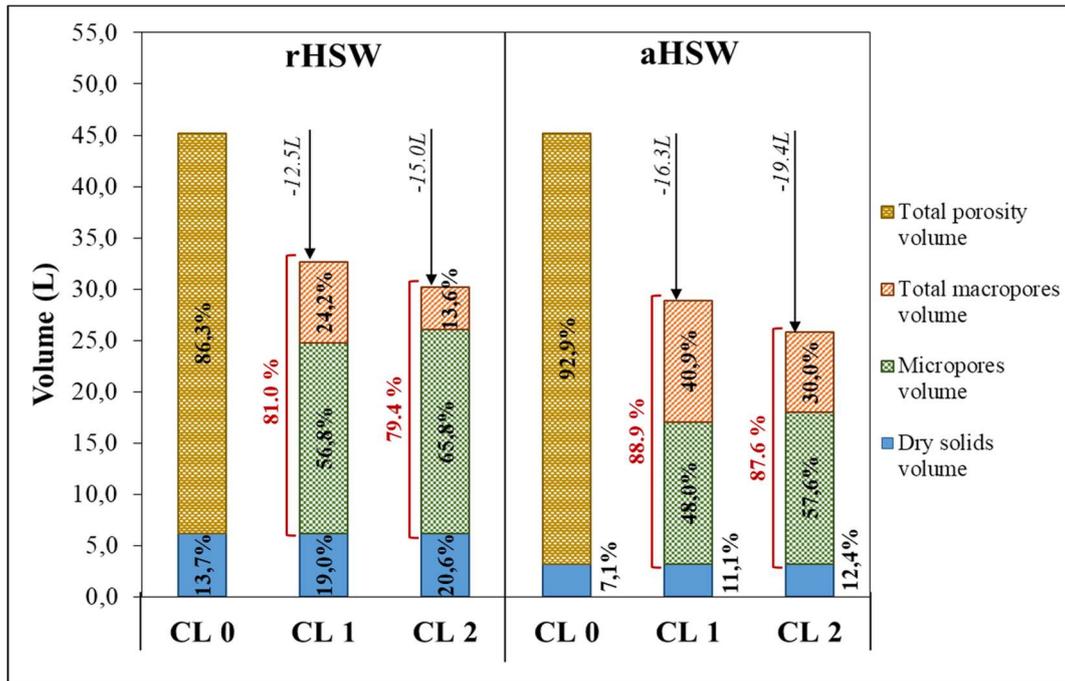


Figure 44. Distribution of the different volumetric fractions in the waste beds at initial state (CL 0), after the first (CL 1) and second (CL 2) percolation– drainage series. The values in percentage are the volume fractions of each element (ratio of volume of the element and volume of the bed).

A bed settlement occurred during the step 1 of the hydraulic characterisation protocol (initial immersion and drainage). The rapid drainage of leachate under the effect of gravity created a suction which drove the solid matrix towards the bottom (Shewani 2016). We assume that this settlement was mainly due to the rearrangement (consolidation) of the bed when particles were transported during immersion and drainage. Another contribution to the consolidation may be due to the local increase of capillary forces which occurred in the humidified pores when the water content decreased (drainage phase).

Understanding and measuring the effects of the settlement process on physical properties is crucial. They alter the flow behaviour and this has been already studied (Stoltz, Gourc, and Oxarango 2010b). For HSW, the first settlement might be mostly due to the 18 kg weights added on top of the beds to avoid flotation during step 1. From state CL 0 to CL 1, the bed porosity decreased from 86.3% to 81.1% for rHSW and from 92.9 to 88.9% for aHSW. No further settlement was observed over the first percolation series. At CL 2 stage, the total bed porosity (micro and macroporosity) accounted for 79.5% and 87.6% of total bed volume for rHSW and aHSW respectively. The compaction slightly amplified bed subsidence (step 4). For both HSWs, the bed volume did not decrease over the second percolation series. The total lost volume represented 33% and 43% of the initial bed volume for rHSW and aHSW respectively.

It is assumed that compressibility is characterised by the relative volume loss due, on one hand to physical compression, and on the other hand to water drainage. The smaller the initial dry solids volume fraction (or the higher the initial void volume fraction), the greater the total volume loss. Compressibility was thus a waste-dependent parameter. Indeed, this parameter is driven by the waste composition (*i.e.* organic and mineral matter contents) (Y. M. Chen et al. 2009), the elements size and their arrangement inside the matrix. At an industrial scale, the bottom layer of the waste bed is liable to be compacted due to the above staking layers, and this could foster the reduction of leachate flow.

2.5.1.2. Evolution of waste bed porosity under compaction

The total porosity was globally high (from 79.4 to 86.3% for rHSW and from 87.6% to 92.9% for aHSW) at every stage of the experiment. After the first compaction (CL 1), the microporosity of the beds reached 56.8% and 48.0 % of the total volume for rHSW and aHSW respectively. At compaction level CL 2, microporosity fraction increased, representing 65.7% and 57.8% of total bed volume for rHSW and aHSW respectively. The increase of microporosity is made on the detriment of the macroporosity fraction. Indeed, macroporosity reduced from 24.2% at CL 1 to 13.6% at CL 2 for rHSW, and from 40.9 to 30.0% for aHSW, which suggests that the waste bed was rearranged. The macropores volume was partially converted into a microporous volume, which affected the hydrodynamic properties of the medium (See **Section 2.7, Tableau S3**). These results are consistent with those obtained by Stoltz et al. (2011) who studied the evolution of pore size distribution with compression. Authors observed that mechanical compression of the solid material induced an increase of smaller pores and a decrease of larger pores. Since the fluid phases flow through the macropores, the reduction of macroporous volume may affect the water flow through the material (Reddy et al. 2009). Moreover, a gain in microporosity may increase the water retention capacity and could foster efficient contact (due to larger surfaces) between the substrate and the bacterial populations.

2.5.2. Leach-bed behaviour towards water

2.5.2.1. Waste imbibition, micropores saturation

Considering the injected mass of water injected in the leach bed and of recovered leachate, it was possible to calculate the amount of retained water initially injected in the waste leach bed. **Figure 45** shows a typical evolution of the total water content over a cumulated contact time. We define the contact time as the time, whatever the step of the protocol considered, when 90% of the total drained volume was collected. This occurred after injection, rest and drainage for immersion-drainage steps, and after injection and drainage for each percolation-drainage cycle. The cumulated contact time was thus the sum of each contact time (for a series of experiments).

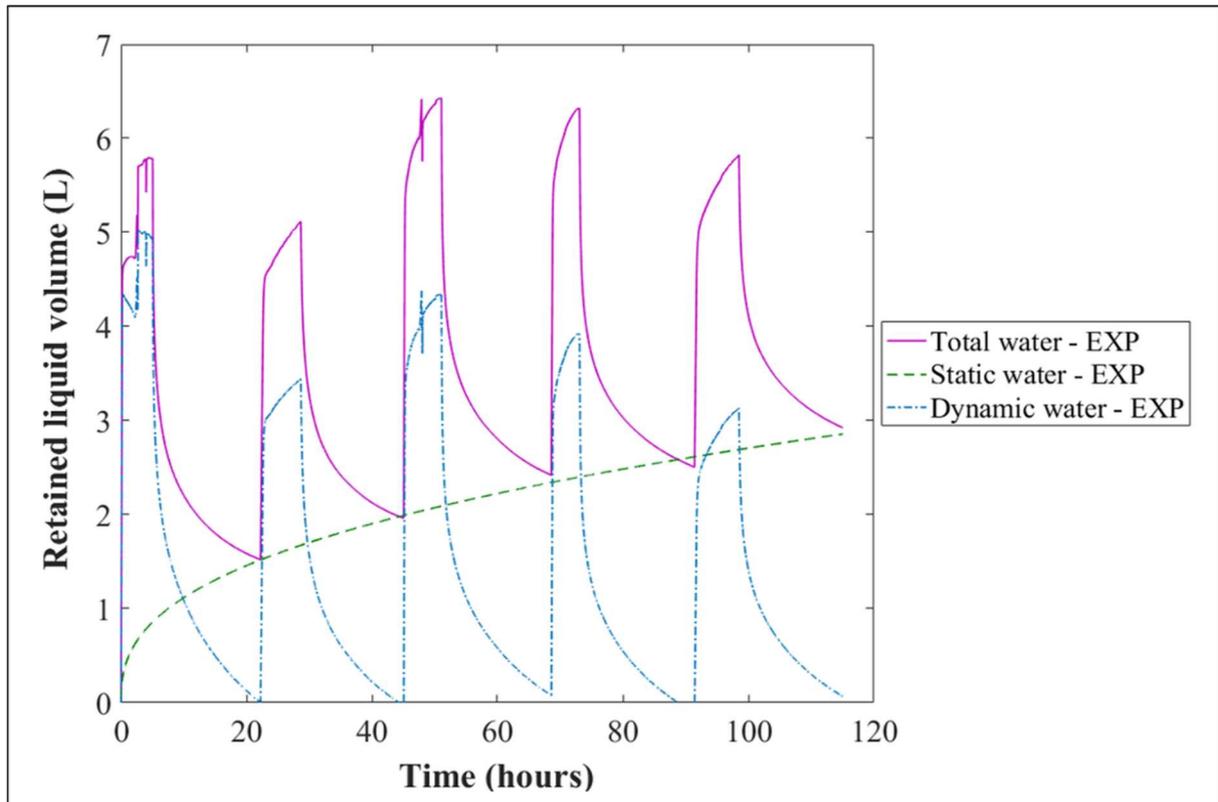


Figure 45. Typical evolution of total water content over a percolation-drainage series. Total water is decomposed in static water and dynamic water.

Successive injection and drainage phases led to a progressive increase of total amount of retained water within the bed, due to the imbibition of the waste. Considering the evolution of the total water content over time, the dynamic and static water contributions were dissociated using the values of water trapped in the solid waste bed after each percolation-drainage cycle. This enabled to evaluate the imbibition dynamics of the waste (static water curve in **Figure 45**). Numerical simulations were then undertaken to determine the filling rate of the microporosity α_{micro} (see **Section 2.5.3.2**).

The evolution of microsaturation was plotted against total cumulated contact time, before and after the compaction step (see **Figure 46**). During the compaction step, a small volume of water, trapped in the microporosity, flowed out of the waste beds due to the applied overhead pressure. At the same time, the microporosity volume increased (see **Section 2.5.1.2**) and therefore, micropores saturation reduced from 100% to 89% for all waste beds (initial points of the graph B in **Figure 46**). On the other hand, the filling behaviours before and after compaction were similar.

The results obtained in this study showed that the time needed to reach 80% microsaturation was approximately 3 days which is relatively short compared to the characteristic time of anaerobic digestion process which generally runs over more than 20 days. However, acidogenic fermentation processes are

operated for a few days only and the transient wetting period of 3 days could reduce the overall performance.

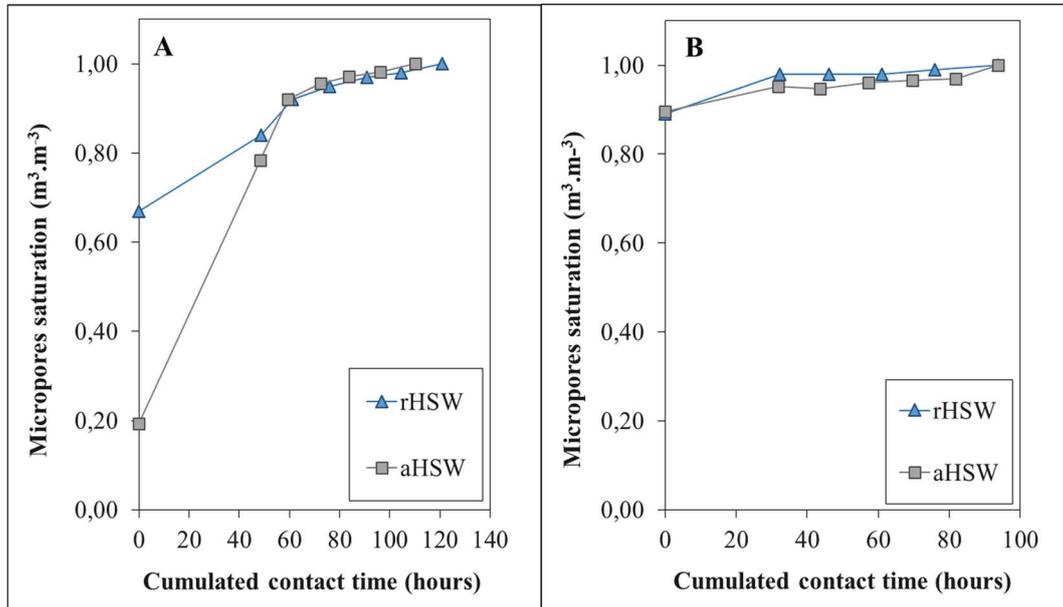


Figure 46. Evolution of microsaturation as a function of the cumulated contact time during percolation series for the CL 1 (A) and CL 2 (B) configurations.

2.5.2.2. Hydraulic conductivity, mobile water analysis

Hydraulic conductivity reflects the ability of a fluid to flow through a multiphase material (Richard et al. 2004) and represents the maximum fluid velocity for gravity driven flows. As described in previous studies investigating percolation regimes, flow rates are below the saturated hydraulic conductivity which leads to in unsaturated flows (Shewani et al. 2015; Gens Solé et al. 2011). The characterisation of the relationship between the applied flow rate and the level of saturation (*i.e.* the volume of flowing water) is necessary to correctly predict water transfer between macro- and microporosity as well as any other transfer (such as VFA transfer, not characterised here but see Shewani et al. (2017)). A good knowledge of water and flow distribution is then useful to adapt the leachate management strategy to the objective of the process (washing VFAs or increasing the concentration).

The apparent hydraulic conductivity ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) K_L used in the numerical model is defined as the product of the intrinsic (or saturated) hydraulic conductivity (k_M) and relative hydraulic conductivity (or permeability) ($k_{r,L}$):

$$K_L = \underbrace{k_M}_{\text{intrinsic conductivity}} \cdot \underbrace{k_{r,L}}_{\text{relative conductivity}} \quad (\text{Equation 2})$$

While k_M is an intrinsic function of medium parameters (porosity, tortuosity, pore size distribution and shape), $k_{r,L}$ is a function of medium parameters and dynamic variables such as macropores saturation (Wu 2016). The apparent conductivity K_L was directly deduced from the experimental flow rate applied and plotted as a function of macropores saturation S_{Macro} (estimated by measuring the retained dynamic water) in **Figure 47**.

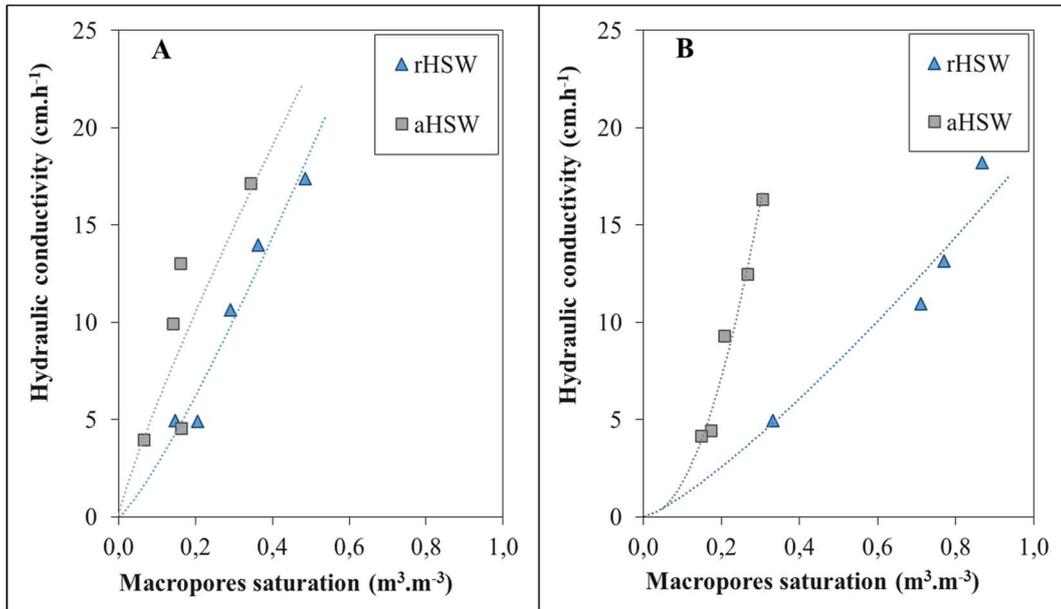


Figure 47. Hydraulic conductivity K_L represented as a function of macropores saturation during percolation series for CL 1 (A) and CL 2 (B) configurations.

For both cases CL 1 and CL 2, the aHSW bed showed lower macropores saturations compared to rHSW which means that the conductivity of aHSW was higher and would be able to accept larger flow rates, without flowing on the reactor sides. This was particularly true in the case of rHSW-CL 2 (**Figure 47-B**) where pores were almost saturated for the highest flow rate (macropores saturation > 0.8) while it remained relatively unsaturated for aHSW (macropores saturation < 0.4). The fact that the aHSW bed could accept higher flow rates, is possibly due to a more homogeneous structure related to the reconstitution of an artificial HSW. In a real case, as for rHSW, the wastes bed is heterogeneous, composed of various sizes of elements which may therefore show a lower apparent hydraulic conductivity.

2.5.3. Modelling water behaviour in waste leach-beds

Experiments allowed to observe water behaviour during percolation and drainage in waste beds. A model was implemented with the aim to describe more precisely the experimental observations, to predict water retention and transfer, and to correctly reproduce wetting and drainage processes. This can help in predicting the coupling of water transport phenomena with the biological reactions present during the fermentation/anaerobic digestion process.

2.5.3.1. Limitation of simplified dual-porosity model applied to household solid wastes

In a previous study (Shewani et al. 2015), a simplified capillary-free dual-porosity model was used to simulate water evolution in solid waste beds during several series of percolation-drainage cycles.

In the present study, the simplified dual-porosity model was applied to real and artificial household wastes (rHSW, aHSW). The comparison between experimental and numerical simulation of dynamic water curves showed that, whichever the type of waste and compaction level, the water dynamics were not completely reproduced (see **Figure 48**). This was notably true for the drainage phase, as observed by Shewani et al. (2015) when studying cattle manure and wheat straw substrates. Indeed, the drainage dynamics depend both on relative permeability and water retention curves of the two porosities which are not handled in the simplified dual porosity model. The drainage dynamics, which were numerically too fast compared to the experimental observations, cannot be calibrated independently using only relative permeability curves. Moreover, the observation of the experimental drainage curves showed that the drainage dynamics were similar independently of the applied flowrate. The similarity between the curves suggested that only the “slow drainage part” is independent from the applied flow rate.

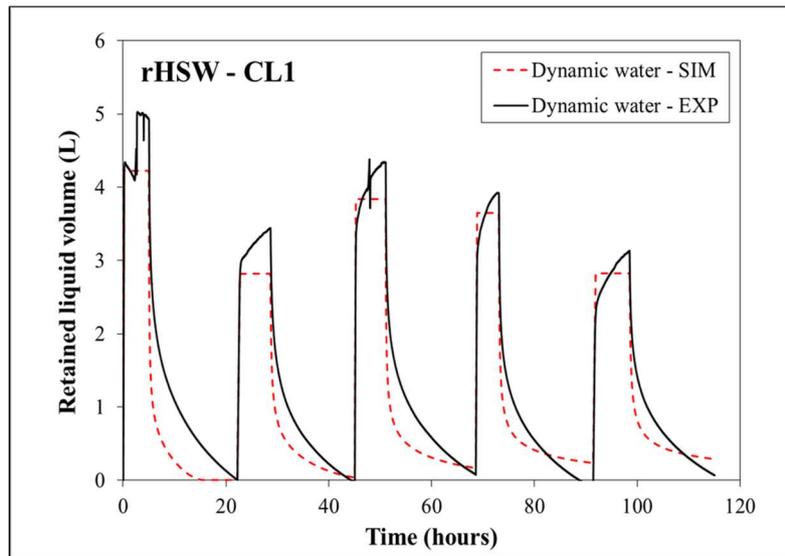


Figure 48. An example of dynamic water modelling with classical porous medium model.

2.5.3.2. Implementing reservoir water to the mathematical model: description of the proposed model

In this work, the dual-porosity model was improved to obtain a more realistic and predictive model of the drainage process. For that purpose, it was hypothesised that during the percolation process a part of the water located inside macroporosity is not actually flowing but temporarily immobile in the internal cavities of the waste and hereby called: reservoir water (see **Figure 43**). In the standard dual-

porosity model (Gerke and van Genuchten 1993), when percolation occurs, the mobile water content increases, just as the head pressure, thereby inducing a water transfer from macro- to microporosity (to equilibrate macro-head pressure with the micro-head pressure). When the injection is stopped, saturation in macroporosity as well as macro-head pressure are reduced, which leads to a reverse water transfer from micro- to macroporosity. The system reaches the equilibrium when gravity forces in macroporosity is balanced by capillary forces and when head pressure in both macro- and microporosity are at the equilibrium. This equilibrium generally corresponds to a high level of saturation in microporosity and a low level of saturation in macroporosity, since capillary effects are higher in micropores. In the proposed model, the usual microporosity of dual-porosity model is dissociated into two porosities: (i) the static water which remains trapped even after drainage and (ii) the reservoir water which is trapped temporarily when mobile water is flowing through. Since this reservoir water is recovered during the drainage, we considered in our model that it belongs to macroporosity. This dissociation is made possible by considering that the filling and drainage time of the mobile water are negligible compared to that of the reservoir water.

The 3 conservation equations numerically related to saturation (S) are:

$$\underbrace{\epsilon_{\text{Macro}} \frac{\partial S_{\text{Macro}}}{\partial t}}_{\text{Mobile macroporosity saturation}} + \underbrace{\nabla \cdot U_{\text{water}}}_{\text{Mobile water transport}} = \underbrace{-q_{\text{Macro,res}}}_{\text{Mobile - reservoir exchange}} - \underbrace{q_{\text{micro}}}_{\text{Mobile -static exchange}} \quad (\text{Equation 3})$$

$$\underbrace{\epsilon_{\text{Macro,res}} \frac{\partial S_{\text{Macro,res}}}{\partial t}}_{\text{Macroporous reservoir saturation}} = \underbrace{q_{\text{Macro,res}}}_{\text{Mobile - reservoir exchange}} \quad (\text{Equation 4})$$

$$\underbrace{\epsilon_{\text{micro}} \frac{\partial S_{\text{micro}}}{\partial t}}_{\text{Micropores saturation}} = \underbrace{q_{\text{micro}}}_{\text{Mobile -static exchange}} \quad (\text{Equation 5})$$

In these equations, ϵ_{Macro} , $\epsilon_{\text{Macro,res}}$ and ϵ_{micro} are the “mobile” macroporosity, the “reservoir” macroporosity and the microporosity volume fractions, respectively. S_{Macro} , $S_{\text{Macro,res}}$ and S_{micro} ($\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-3}$) are the “mobile” macroporosity, the “reservoir” macroporosity and the microporosity saturations, respectively. $q_{\text{Macro,res}}$ ($\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$) is the term for the exchange between “mobile” and “reservoir” macroporous water. In the same way, q_{micro} ($\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$) is the term for the exchange between “mobile” macroporous water and static water.

A first order model is applied for the mobile-reservoir exchange term $q_{\text{Macro,res}}$:

$$q_{\text{Macro,res}} = \begin{cases} \underbrace{\alpha_{\text{res,charge}}}_{\text{Exchange coefficient for reservoir charge}} \left(1 - \underbrace{S_{\text{Macro,res}}}_{\text{Macroporous reservoir saturation}} \right) & \text{if charge} \\ \underbrace{-\alpha_{\text{res,discharge}}}_{\text{Exchange coefficient for reservoir discharge}} \cdot \underbrace{S_{\text{Macro,res}}}_{\text{Macroporous reservoir saturation}} & \text{if discharge} \end{cases} \quad (\text{Equation 6})$$

And for the mobile-static exchange term q_{micro} (exclusively in charge since water remains trapped in microporosity):

$$q_{micro} = \frac{\alpha_{micro}}{\text{Exchange coefficient for micropores charge}} \left(1 - \frac{S_{micro}}{\text{Micropores saturation}} \right) \quad (\text{Equation 7})$$

$\alpha_{res,charge}$ and $\alpha_{res,discharge}$ (s^{-1}) respectively stand for the exchange coefficient between “mobile” and “reservoir” macroporous water during the charge and discharge cycles. α_{micro} (s^{-1}) is the exchange coefficient between “mobile” macroporous water and static water.

The water-mobile velocity U_{water} ($m.s^{-1}$) is modelled and computed using the generalized Darcy's law with a classical Brooks and Corey (power law) model for relative permeability (Brooks and Corey 1964):

$$\frac{U_{water}}{\text{Mobile water velocity}} = \frac{K_L}{\text{Hydraulic conductivity}} \cdot \frac{S_{Macro}^p}{\text{Mobile macroporosity saturation}} \quad (\text{Equation 8})$$

Where K_L ($m.s^{-1}$) is the hydraulic conductivity of the porous medium, and p is the Brooks and Corey coefficient. The Brooks and Corey parameters K_L and p are evaluated in order to fit experimental points available. This allows the evaluation of the mobile water content (macrosaturation) for a given flow rate during numerical simulations (dash lines in **Figure 47**). The Brooks and Corey model is one of the main models used for permeability (and therefore hydraulic conductivity) correlations. Stoltz et al. (2011) also calibrated this type of model with real municipal solid wastes for drainage retention properties and concluded that it was applicable to these types of wastes.

For a given waste composition, all the parameters need to be characterised by experimental measurements: the 3 porosities (ϵ_{Macro} , $\epsilon_{Macro,res}$ and ϵ_{micro}), the 3 exchange rates ($\alpha_{res,charge}$, $\alpha_{res,discharge}$ and α_{micro}) and the coefficients (K_L and p) for the relative permeability law. An 8-parameter optimisation is complex to set up and would require excessive computation times. Moreover, characteristic times between processes are different (imbibition of the waste is much slower than filling/emptying the reservoir part and the mobile saturation variations are fast and considered as instantaneous) which allows a progressive parametrisation as described in **Section 2.5.3.3**.

2.5.3.3. Application of improved dual-porosity model to HSW

In this part, it is considered that static/dynamic water decomposition has been delineated in independent experiments described in **Section 2.5.2.1** (ϵ_{micro} and α_{micro} are already characterised). Therefore only the evolution of dynamic water (which cannot be reproduced by a simplified model) is studied.

In order to determine the “reservoir” macroporosity fraction, experimental drainage curves were time-shifted and plotted to position the initial time at the point where injection was stopped (see an

example for rHSW sample in **Figure 49**). In these conditions, the drainage curves were similar for all tested flow rates, *i.e.* starting with a quasi-instantaneous drainage of a part of the water content followed by an inflection of the curve which indicated a slowdown of the drainage phase. The distinction between fast and slow drainage part is purely conceptual and cannot be determined precisely. From the experimental data, we determined the beginning of the slower drainage as the moment when the drainage flow-rate measurement reached the experimental precision (0.01 L/min) which corresponded in our case to 10% of the maximal measured drainage flow rate. For the presented drainage curves (**Figure 49**), the evaluated reservoir water content was equal to $2.28 \text{ L} \pm 0.12$. The reservoir porosity $\epsilon_{\text{Macro, res}}$ was then directly computed from the evaluated reservoir water volume. ϵ_{Macro} was simply deduced from the previously determined microporous and solid fractions. This hypothesis enabled the decomposition of dynamic water into mobile and reservoir macroporous water such as presented in **Figure 50**.

From this decomposition, the Brooks and Corey parameters (K_L and p) could be directly fitted using the series of plateaus (as described in **Section 2.5.2.2**) while the charge $\alpha_{\text{res, charge}}$ and discharge $\alpha_{\text{res, discharge}}$ rate are calibrated using numerical simulations (see **Tableau 30**).

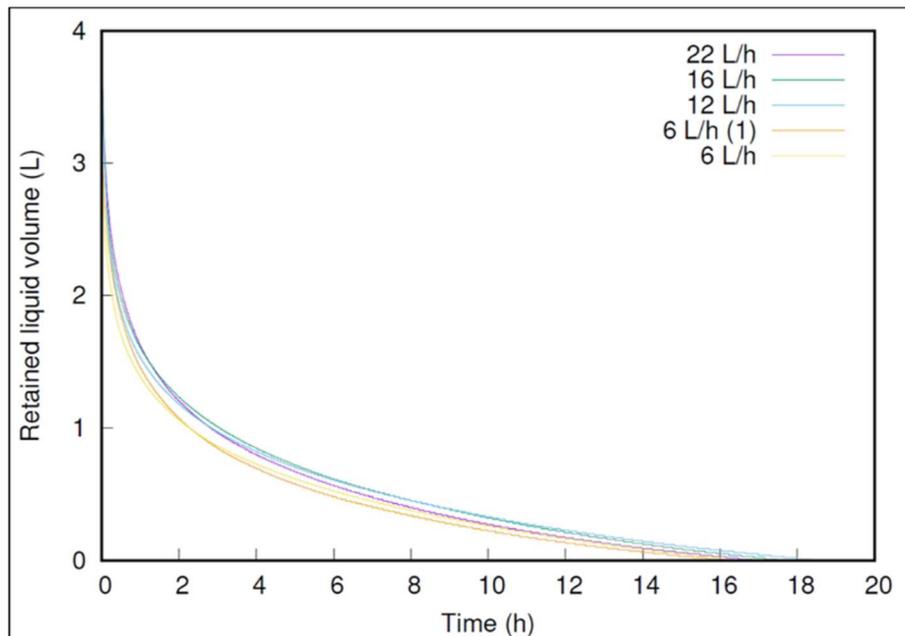


Figure 49. Experimental drainage curves for rHSW-CL 1. Initial time corresponds to the moment when injection is stopped.

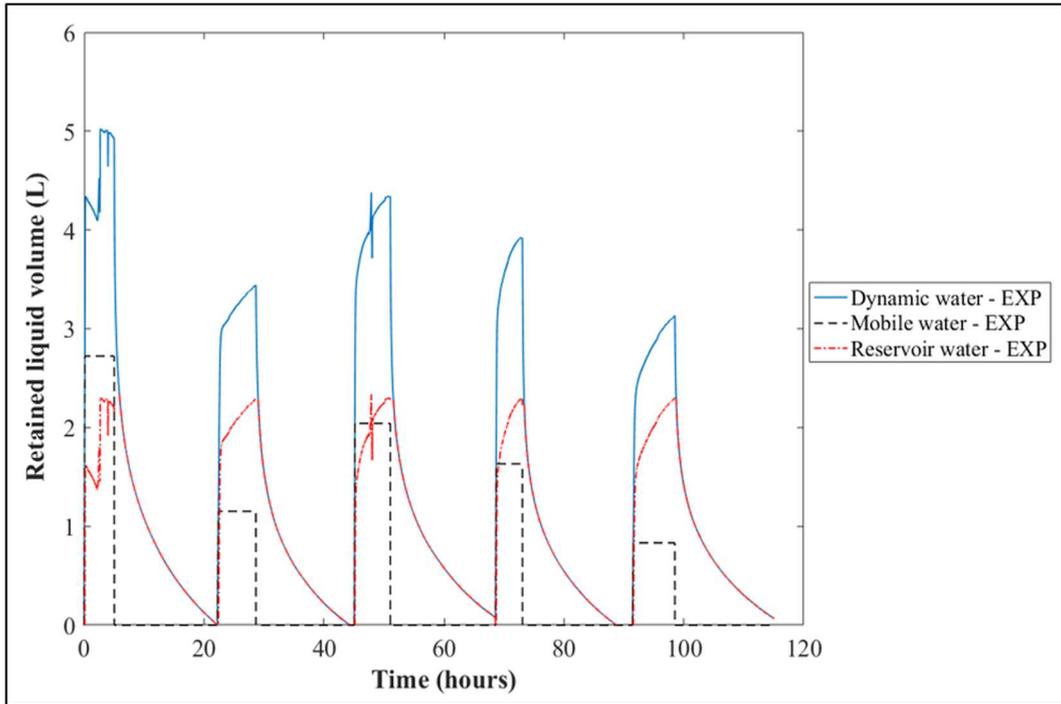


Figure 50. Decomposition of dynamic water into mobile and reservoir waters. The decomposition is shown for the rHSW-CL1 case.

Tableau 30. Parameters calculated with the proposed model for HSW.

	rHSW - CL1	rHSW - CL2	aHSW - CL1	aHSW - CL2
$\epsilon_{\text{Macro,res}}$	7,0%	6,0%	6,2%	3,9%
$\alpha_{\text{micro}} \text{ (day}^{-1}\text{)}$	0.35	0.35	0.6	0.6
$\alpha_{\text{res,charge}} \text{ (day}^{-1}\text{)}$	1.29	1.29	1.29	1.29
$\alpha_{\text{res,discharge}} \text{ (day}^{-1}\text{)}$	0.26	0.26	0.35	0.17
$K \text{ (cm.h}^{-1}\text{)}$	43.4	19.0	53.1	184.0
p	1.21	1.24	0.89	2.02

In **Figure 51**, the evolution of dynamic water content over time from experiments and numerical simulations are presented for both rHSW and aHSW at two compaction levels (CL 1 and CL 2). Results showed a quite good representation of the percolation and drainage dynamics with the improved model, independently of the state of the beds and the type of waste. **Figure 52** shows an example of the relative prediction error in terms of water content using the simplified and the improved “reservoir” dual-porosity model. We observed that for all substrates tested, the “reservoir” approach enabled to maintain the prediction error close to or below 5% for the whole experiment except during very short moments, at the

beginning of a percolation cycle for example. Using the simplified model, the error remained between 5% and 20% during most of the experiment, especially during the drainage phases.

The general behaviour of both wastes are similar with the same charge rate of the reservoir macroporosity ($\alpha_{res,charge}=1.29 \text{ day}^{-1}$). The discharge of reservoir macroporosity was a little bit slower for rHSW $\alpha_{res,discharge}=0.26 \text{ day}^{-1}$ than for aHSW $\alpha_{res,discharge}=0.35 \text{ day}^{-1}$. These observations were consistent with the higher hydraulic conductivity for aHSW than for rHSW (53.1 cm.h^{-1} and 43.4 cm.h^{-1} respectively).

Notably, the measured dynamic water content was higher in the second percolation cycle than in the last percolation cycle, although the flow rate was identical (low flow rate, 6L/h), and this for both wastes (**Figure 51**). This highlights that partial wetting of the substrate has a significant influence on dynamic saturation during the first phase of imbibition.

Compaction seemed to have no influence on the charging rate of reservoir water, whatever the considered waste (rHSW or aHSW). However, compaction affected the discharge rate of reservoir water, with a decrease from 0.35 to 0.17 day^{-1} in the case of aHSW. Compaction involved a rearrangement of the bed structure which could explain the slower drainage of the reservoirs. However, this was not the case for rHSW beds.

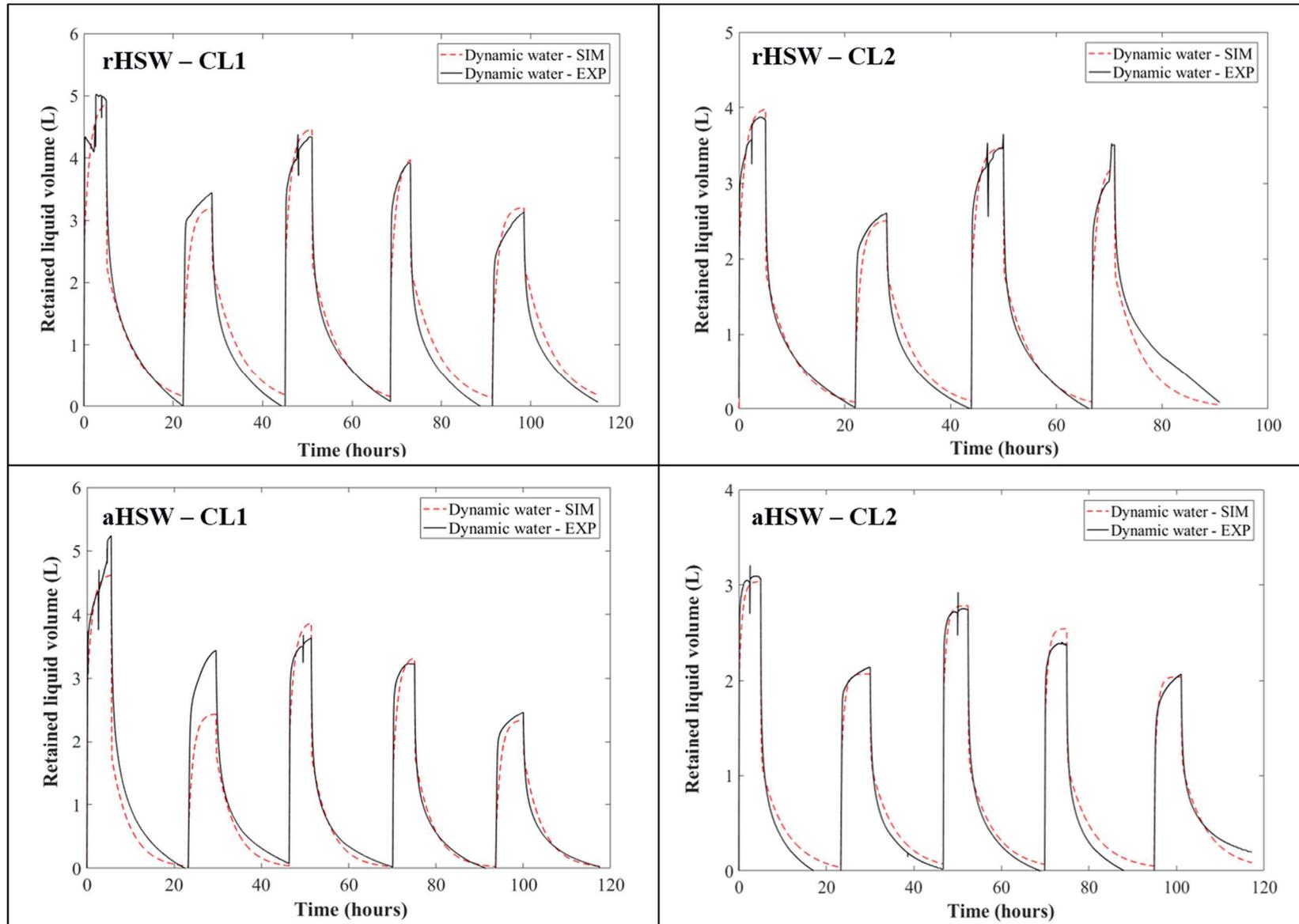


Figure 51. Measured and simulated evolution of dynamic water content over time during percolation-drainage series for rHSW and aHSW. Dynamic water is plotted for all the different percolation flow rates.

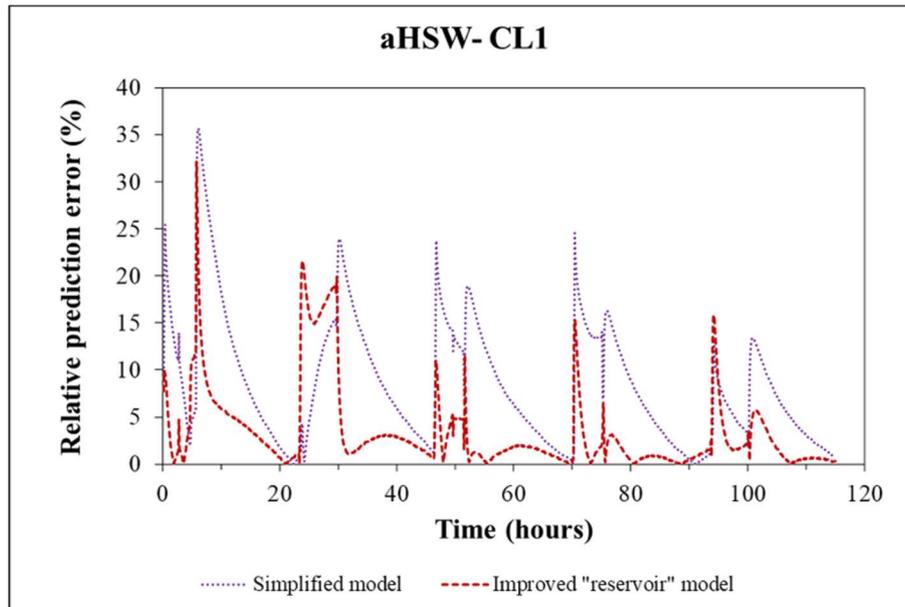


Figure 52. Comparison of the simplified and improved models prediction errors for the aHSW-CL1 case.

2.5.3.4. Validation of the proposed model on other types of wastes (CM and WS)

The model developed is a methodologic tool that aims at understanding the hydrodynamics in LBRs. The model was firstly developed on HSW, but in order to validate the method and show its applicability to a large variety of wastes, it was tested on two other waste beds: CM and WS, presented in **Section 2.4**. These wastes showed very different properties. In **Figure 53**, the evolution of the dynamic water content over time from experiments and numerical simulations are presented for CM and WS at two compaction levels (CL 0* and CL 2). It shows that the percolation and drainage dynamics are mostly well reproduced for all cases. This is particularly visible for the CM case which was studied in Shewani et al. (2015) and whose drainage dynamics is now properly captured.

The hydrodynamic parameters calculated with the numerical model are presented in **Tableau 31**.

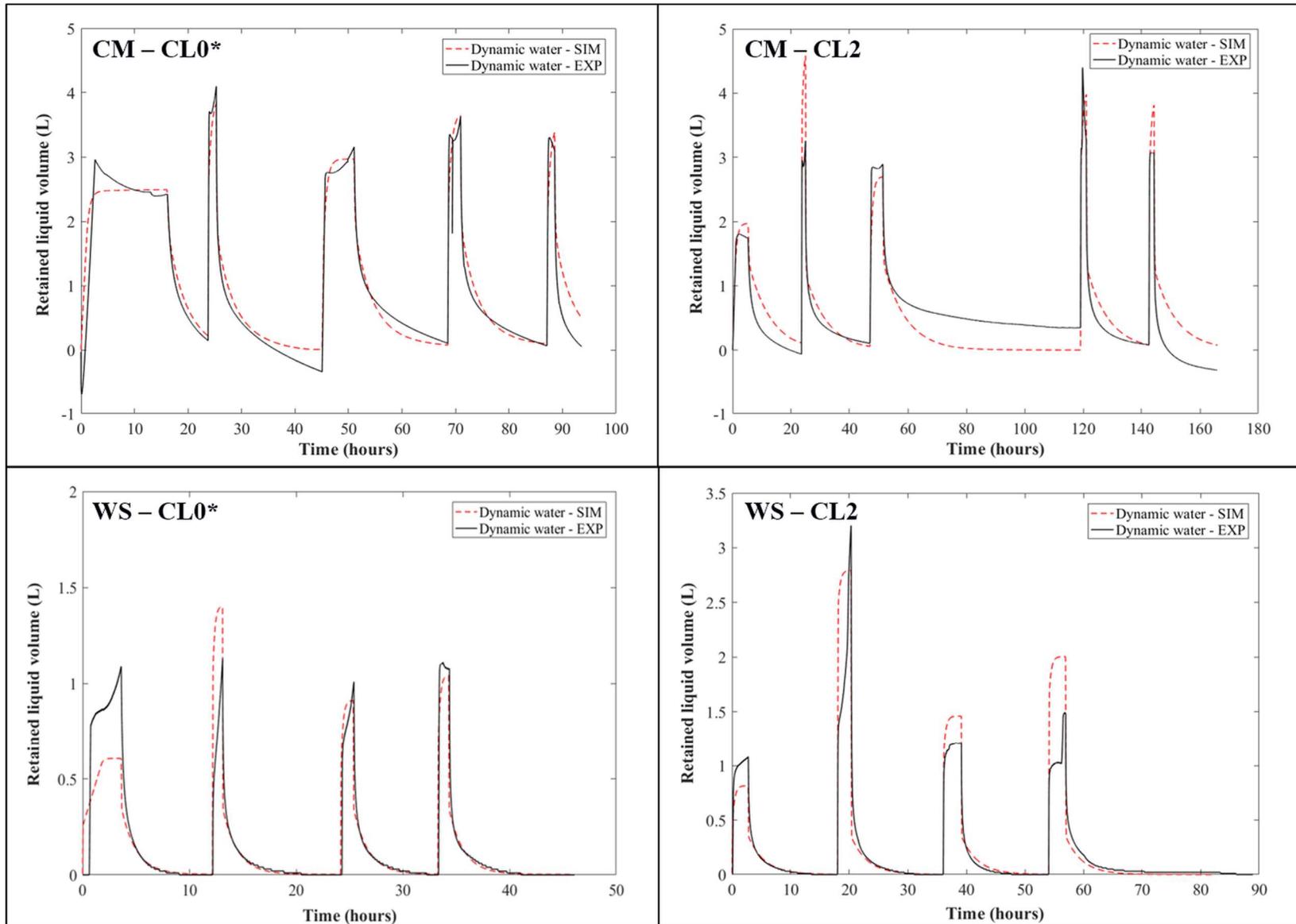


Figure 53. Measured and simulated evolution of dynamic water content over time during percolation-drainage series for CM and WS. Dynamic water is plotted for all the different percolation flow rates.

Tableau 31. Parameters calculated with the proposed model for CM and WS.

	CM - CL0*	CM - CL2	WS - CL0*	WS - CL2
$\epsilon_{\text{Macro,res}}$	3.2%	4.0%	1.0%	2.0%
$\alpha_{\text{micro}} (\text{day}^{-1})$	0.78	0.35	0	0
$\alpha_{\text{res,charge}} (\text{day}^{-1})$	1.29	1.29	1.29	1.29
$\alpha_{\text{res,discharge}} (\text{day}^{-1})$	0.26	0.13	0.17	0.17
$K (\text{cm.h}^{-1})$	6751.7	31.3	187.9	41.6
p	2.66	1.60	1	1

As for static water retention, the exchange rate α_{micro} for CM was similar but slightly higher than for household waste beds at CL 0* and the same as rHSW at CL 2. For WS, the imbibition process is almost instantaneous ($\alpha_{\text{micro}} \rightarrow \infty$) independently of the compaction level. This can be explained by the elongated shape of wheat straw which offers a very large contact surface area between mobile and static water, coupled to the relative low microporosity of this substrate (almost halved).

Regarding the reservoir/mobile macroporous water exchange, the rates for reservoir macroporous water charge are at least five times higher than the discharge ones (as observed for HSW). For CM, the evolution of the dynamic water content was similar to the household wastes with a discharge slightly slower after compaction ($\alpha_{\text{res,discharge}} = 0.26\text{day}^{-1}$ at CL 0* and $\alpha_{\text{res,discharge}} = 0.13\text{day}^{-1}$ at CL 2). This could be related to the smaller macroporous reservoir fraction in CM compared to rHSW and aHSW. For the WS substrate, charge and discharge rates were identical, and the value was the same as for the aHSW – CL2 case. However, the estimated macroporous reservoir volume was very low, *i.e.* less than 2% of the total volume.

The model was applied to very different types of substrate beds. Even though dynamics were globally well reproduced, the limits of the model were highlighted for extreme cases, for instance the WS bed which was very dry and showed very rapid dynamics. Further studies could be performed on other types of substrates, such as different lignocellulosic materials. The experimental protocol will probably need to be readjusted to these specific substrates in order to correctly evaluate water retention dynamics.

2.5.4. Perspectives of application

The experimental procedure developed in the present study enabled to estimate physical parameters which allowed to calibrate the improved “reservoir” model on household solid wastes and to validate it on cow manure and wheat straw. The improved model could be incorporated into simulations of a real fermentation or anaerobic digestion process to determine optimum operating conditions. The

water flow was described and explained with the presence of water in macroporous reservoirs. Indeed, the volume of these reservoirs and their charge and discharge rates may impact the products recovery.

An adapted recirculation strategy could be implemented in order to manage the residence time of VFAs within the LBR and could in turn influence, not only the VFAs spectrum, but also the local pH and hence inherent biological activities. Moreover, depending the downstream valuation targeted, the leachate management will not be the same. Continuous recirculation will not renew the macroporous reservoir water fraction, therefore the concentration in fermentation products might be low. Intermittent percolation will evacuate the immobile macroporous water fraction, and hence increase the concentrations of fermentation products in the leachate.

2.6. Conclusions

In this study, the various water dynamics occurring during percolation and drainage through solid waste leach-beds were investigated for different types of wastes and under two compaction levels. The simplified capillary-free dual-porosity model was not able to completely reproduce the water dynamics, particularly in the drainage phase. Thus, the model has been extended by adding an immobile (reservoir) fraction to the macroporosity, which allowed to calibrate the model using only water content measurements without retention curves.

An improved experimental procedure was developed to correctly evaluate the effective parameters described in the model. The model enabled to correctly simulate dynamics for all configurations and to explain more precisely the behaviour of leachate and water during leaching processes. The new description of water flow highlighted the presence of water in macroporous reservoirs. Such results are important in the view of leachate recirculation strategy of waste digestion.

2.7. Supplementary material

Tableau S1. Characteristics of the solid waste beds at compaction level 0.

		rHSW	aHSW	CM	WS
Chemical characteristics	Total solids (g.g⁻¹ RM)	0.49	0.69 ± 0.05	0.42	0.94
	Volatile solids (g.g⁻¹ TS)	0.53	0.63 ± 0.09	0.80	0.92
Bed characteristics	Bed height (cm)	36*	36*	40	39
	Total apparent bed volume (L)	45.2	45.2	50.3	49.0
	Raw matter mass (kg RM)	24.36	8.56	15.74	1.01
	Bulk density (kg RM.m⁻³)	539.0	189.2	313.1	20.6
	Dry solids mass (kg TS)	11.95	5.87	6.61	0.95
	Dry solids particles density ρ_{sp} (kg TS.m⁻³)	1930	1840	1690	1600

* The bed height does not include the 4cm-gravel layer added under the waste bed.

Tableau S2. Structure of the waste beds at compaction level 0.

	rHSW	aHSW	CM	WS
Dry solids volume fraction (m³/m³ of total volume)	13.7%	7.1%	7.8%	1.2%
Total porosity volume fraction (m³/m³ of total volume)	86.3%	92.9%	92.2%	98.8%
Including void volume fraction (m³/m³ of total volume)	58.8%	87.0%	74.1%	98.7%

Tableau S3. Volumes of macropores transformed into micropores during the compaction step (CL2).

	rHSW	aHSW	CM	WS
Volume of macropores lost (L)	-3.8	-4.1	-18.3	-19.2
Volume of micropores gained (L)	1.3	1.0	3.3	2.3
% of macropores volume converted into micropores volume	33%	24%	18%	12%

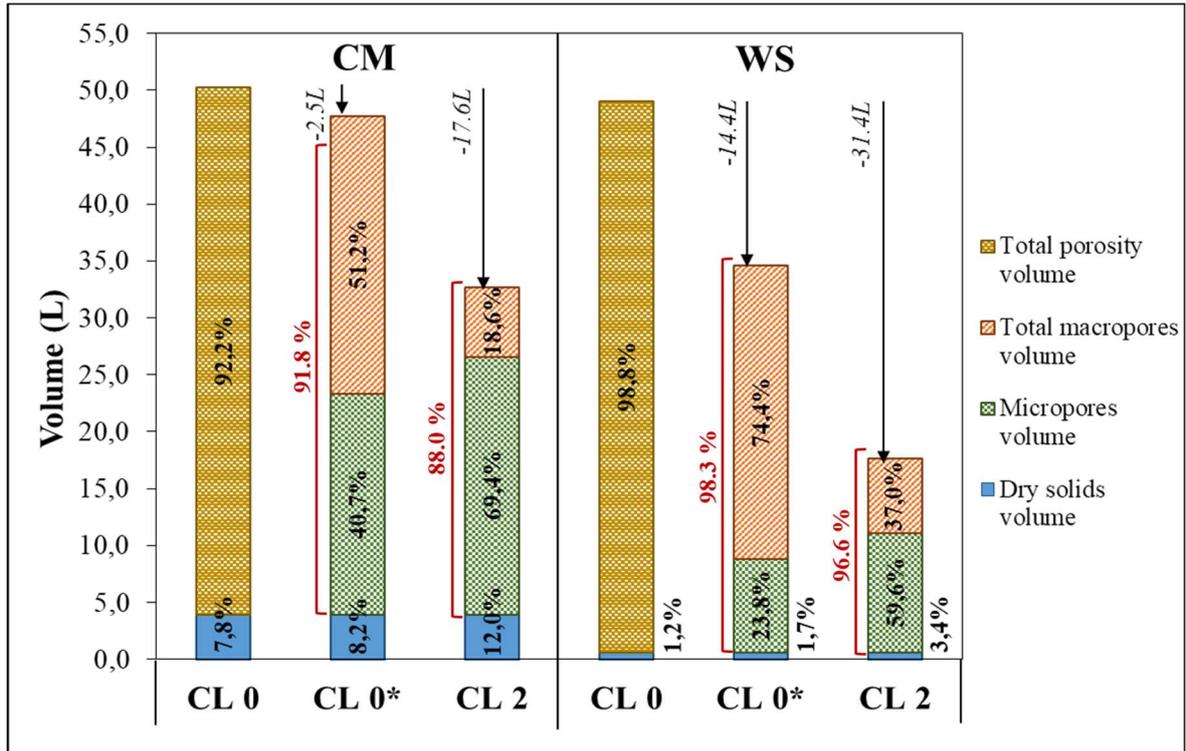


Figure S5. Distribution of the different fractions in the waste beds at initial state (CL 0), after the first (CL 0*) and second (CL 2) percolation – drainage series. The values in percentage are the volume fractions of each element (ratio of volume of the element and volume of the bed).

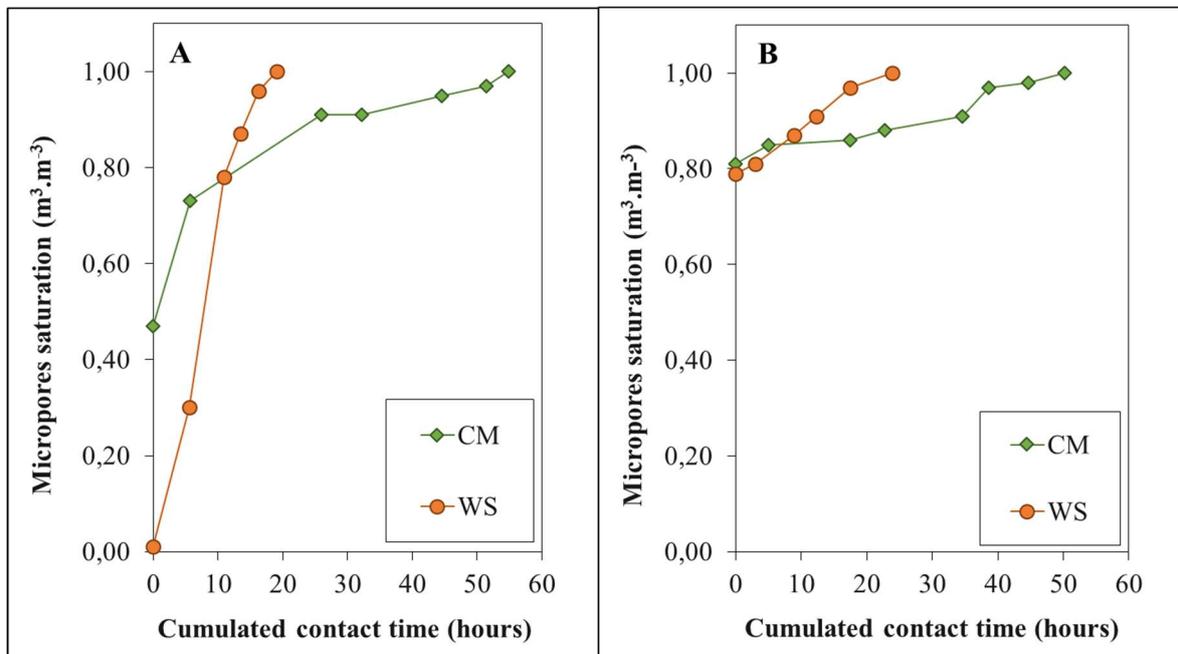


Figure S6. Evolution of microsaturation as a function of the cumulated contact time, during the first (A) and second (B) percolation series.

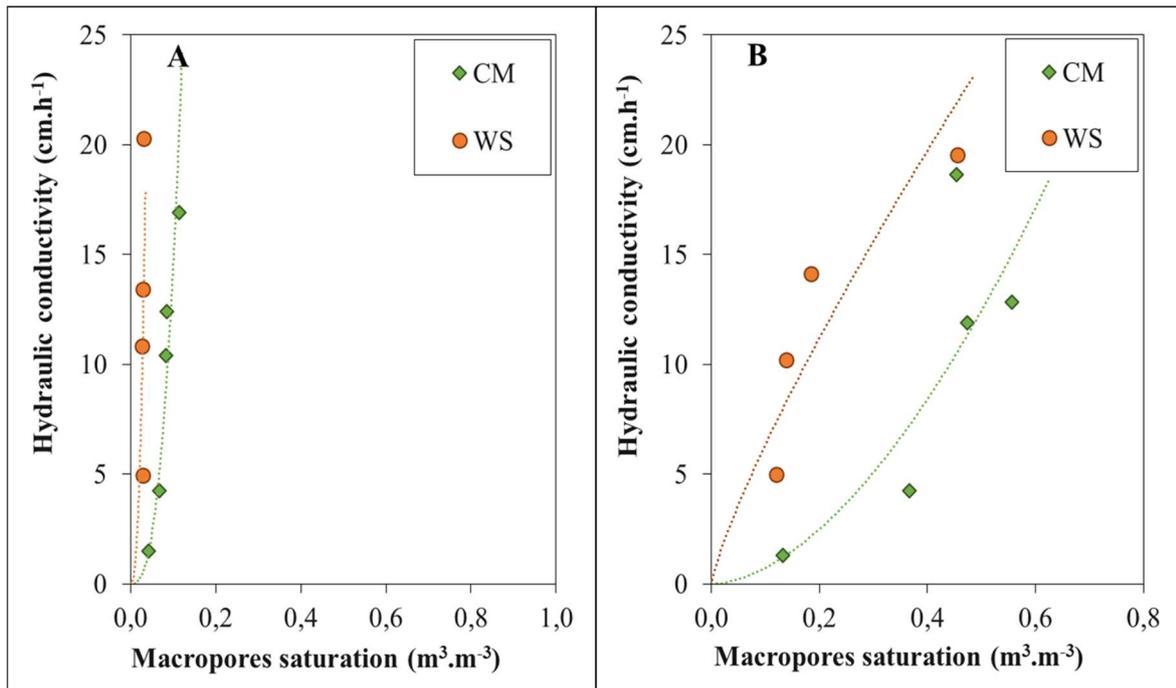


Figure S7. Hydraulic conductivity K_L represented as a function of macropores saturation during the first (A) and second (B) percolation series.

3. Complément sur le transfert de soluté au sein d'un lit de déchets

Un autre aspect important des phénomènes physiques se produisant dans un lit de déchets concerne le transfert de solutés. Comme indiqué précédemment, l'eau apportée par la recirculation doit être transférée de la macroporosité vers la microporosité pour permettre le bon déroulement des réactions de fermentation. Ces réactions produisent des composés organiques solubles qui doivent alors être récupérés également via la circulation de liquide. La récupération des composés organiques ne peut se faire que ceux-ci sont transférés dans le sens inverse, c'est-à-dire de la microporosité (lieu de production) vers la macroporosité. Ainsi, pour compléter la caractérisation hydrodynamique, un essai de mesure des phénomènes de transfert de solutés a été réalisé sur le lit d'OMR reconstituées compacté (noté précédemment aHSW-CL2),

L'expérience a été réalisée après que l'équilibre hydrodynamique a été atteint, en effectuant une recirculation en circuit fermé d'une solution d'acétate de sodium de concentration connue. Les concentrations en acétate (CH_3COO^-) d'une part, et en sodium (Na^+) d'autre part ont été mesurées au cours de l'expérience. Le suivi des deux substances permet de vérifier la bonne correspondance entre les concentrations, et de se rendre compte d'une éventuelle production ou consommation d'acétate.

La **Figure 54** montre l'évolution des concentrations en acétate et en sodium lors des deux phases de recirculation. Théoriquement, le ratio $C_{\text{acétate}}/C_{\text{sodium}}$ est de 2.6. Pendant l'expérience, ce ratio évolue

entre 1.0 et 2.5, ce qui indique une probable consommation d'acétate dans le système et/ou des problèmes de quantification des solutés. En cas de consommation, on pourrait envisager une production de méthane et l'analyse des gaz aurait pu permettre de confirmer ou non cette hypothèse.

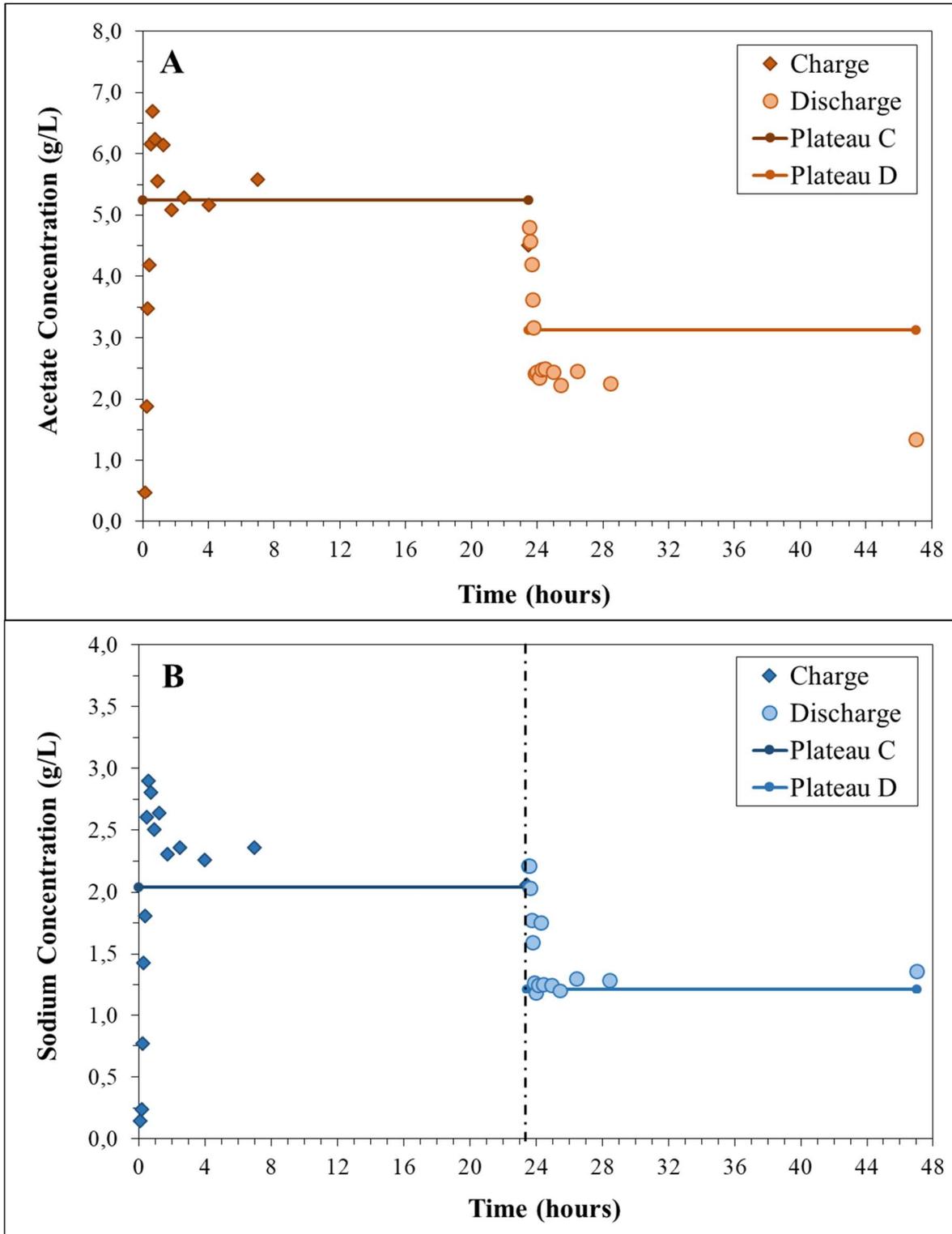


Figure 54. Évolution de la concentration en Acétate (A) et de la concentration en Sodium (B) en fonction du temps lors de l'expérience de recirculation en circuit fermé. Les symboles « losanges »

correspondent à la phase de recirculation de traceur (chargement, C), les symboles « ronds » correspondent à la phase de recirculation d'eau distillée (déchargement, D). Les lignes continues représentent les plateaux théoriques calculés pour les phases de chargement et de déchargement.

Durant la première phase, la recirculation de la solution d'acétate de sodium induit un transfert des solutés de la macro- vers la microporosité. La concentration augmente rapidement jusqu'à un point maximum atteint en 0.58 heure, avant de diminuer pour se stabiliser après 7 heures. Pendant la seconde phase, de l'eau distillée est recirculée et le transfert a lieu de la micro- vers la macroporosité. Cela se traduit par une diminution rapide des concentrations, durant 0.43 à 0.67 heure, puis une stabilisation sans observer de phase nette d'augmentation. Ces dynamiques sont en accord avec les résultats obtenus par Shewani et al. (2017). Ils expliquent ainsi que cette dynamique est due à la différence entre le temps de séjour de l'eau dynamique d'une part, et le temps nécessaire à l'établissement de l'équilibre de concentrations entre la micro et la macroporosité, d'autre part. Pour chaque phase et pour chacun des ions, les valeurs de plateaux théoriques ont été calculées et comparées aux valeurs mesurées. Les résultats des bilans sont indiqués dans le **Tableau 32**. On constate d'une part que les bilans sont difficilement bouclés avec l'acétate par rapport au sodium, et d'autre part que l'erreur associée au second plateau est plus importante que pour le premier plateau. On pourrait donc se baser sur la concentration en sodium pour mettre en œuvre des simulations selon le modèle utilisé dans les travaux de Shewani et al. (2017), afin de déterminer un coefficient de transfert de soluté. Néanmoins, comme cela a été montré au **Paragraphe 2**, il existe une fraction de macroporosité dans laquelle l'eau est immobile. Le modèle utilisé par les auteurs pourrait donc être revu afin de tenir compte de l'existence de cette troisième fraction de porosité et de ses spécificités pour mieux représenter le transfert de solutés.

Tableau 32. Bilans matières sur l'acétate et le sodium lors de l'expérience de recirculation. L'erreur relative est calculée par rapport à la concentration théorique calculée.

		Plateau C	Plateau D
Concentrations calculées (g/L)	Acétate	5.24	3.13
	Sodium	2.04	1.22
Concentrations mesurées (g/L)	Acétate	4.51	1.35
	Sodium	2.06	1.36
Erreur relative (%)	Acétate	-14%	-57%
	Sodium	1%	12%

4. Conclusion du Chapitre 3

Dans cette dernière partie d'étude, nous avons mis en œuvre des expérimentations en conditions abiotiques visant à caractériser les phénomènes d'hydrodynamique intervenant dans un procédé de fermentation en réacteur à lit percolant. Ces expériences, simples dans leur mise en œuvre, sont inspirées du protocole mis au point dans la thèse de Shewani (2016) (sur paille de blé et fumier bovin solide). Quelques ajustements ont toutefois été nécessaires en raison de la spécificité des substrats étudiés ici : dispositif d'injection, poids appliqué lors de l'immersion, durée de contact en phase d'immersion, ordre d'enchaînement des débits.

Premièrement, la structure physique du lit de déchets (fractions de solide, de microporosité et de macroporosité) a pu être évaluée sans et avec compaction de celui-ci. La compaction des ordures ménagères a entraîné une réduction du volume de macropores au profit des micropores, comme cela avait déjà été observé dans la littérature. Cet effet a toute son importance pour la conduite de procédé de fermentation puisqu'il est admis que les réactions biologiques ont lieu au plus près de la matrice solide, et que c'est l'eau présente dans la microporosité qui permet l'activité biologique. En contrepartie, la présence de macropores est nécessaire à la circulation d'eau qui permet le remplissage de ces microporosités et la récupération des produits de fermentation solubles. Les dynamiques de remplissage des pores et l'évolution de la conductivité hydraulique du massif au cours des cycles de percolation ont également été estimées. La connaissance de la répartition de l'eau au sein du lit et de l'écoulement de celle-ci sont utiles à la gestion du procédé en fonction des objectifs à atteindre, à savoir une récupération la plus rapide possible des métabolites produits, ou l'obtention d'une concentration élevée. La modélisation est un outil essentiel pour prévoir le comportement hydrodynamique d'un lit de déchet. L'application d'un modèle à double porosité classique ici a permis mieux comprendre les observations expérimentales, notamment sur les phases de drainage, et de mettre en évidence la présence d'une fraction de macroporosité réservoir, dans laquelle l'eau est stockée. Ainsi, le précédent modèle a été corrigé pour intégrer ce nouveau compartiment de macroporosité, testé sur les deux types d'ordures ménagères, et validé sur des déchets agricoles identiques à ceux pris en compte dans l'étude de Shewani (2016). Ce nouveau modèle a permis notamment d'évaluer des coefficients de transfert d'eau de la macroporosité mobile vers la microporosité, mais aussi de la macroporosité mobile vers la macroporosité réservoir et inversement.

Pour compléter l'étude, un essai de transfert de solutés a été réalisé sur le lit d'ordures ménagères résiduelles reconstituées après compaction. Ce phénomène, tout autant que les échanges d'eau au sein du massif, conditionne la récupération des métabolites produits lors du processus de fermentation. Cet essai a été réalisé avec succès et l'amélioration du modèle associé constitue une perspective d'étude pour estimer au mieux les coefficients de transfert de ces solutés entre les différents compartiments qui composent les lits de déchets.

Conclusion générale

1. Contexte et bibliographie

Cette thèse a été financée par une bourse du Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. Les travaux ont été réalisés dans le cadre du projet RECOWER (pRocEss COupling fermentation and separation for solid WastE valoRization), financé par l'Institut Carnot 3BCAR en collaboration étroite avec trois laboratoires : le LBE, l'IMFT et le LGC. Ce sujet est né de deux constats majeurs.

- Premièrement, l'augmentation de la population et l'évolution des modes de consommation actuels contribuent à faire croître la production de déchets issus des ménages, et particulièrement des OMR. Des efforts en matière de gestion et de traitement de ces déchets sont nécessaires pour limiter les impacts environnementaux associés. Aussi, la volonté de progression d'une économie linéaire vers une économie circulaire est de plus en plus évoquée.
- Deuxièmement, les ressources naturelles pétrolières, qui ne sont ni infinies ni renouvelables, sont encore largement employées pour l'énergie ou la chimie. Les réserves pétrolières mondiales seront probablement épuisées d'ici à quelques dizaines d'années et face à l'augmentation de la population, le risque est de ne plus pouvoir répondre aux besoins de tous. Il y a donc un besoin de trouver des voies de production nouvelles pour l'industrie chimique.

Les OMR représentent un substrat adapté aux traitements biologiques car elles sont très riches en matières organiques (plus de 60%) et contiennent plus de 30% d'eau. Ces traitements sont aujourd'hui en plein essor car ils s'inscrivent parfaitement dans le cadre d'une économie circulaire. La méthanisation, qui vise à produire du biogaz pour la génération de chaleur et/ou d'électricité, est en progression depuis la dernière décennie, mais reste la voie la moins utilisée pour le traitement des OMR. Outre la méthanisation, il est possible de traiter les OMR par fermentation acidogène, avec l'objectif de produire des composés organiques solubles et notamment des acides organiques (AGV). Ces derniers présentent divers avantages par rapport au méthane : une production plus rapide présentant moins de dangers, une meilleure valorisation du carbone due à une plus forte valeur ajoutée des AGV et une gamme plus large d'applications. En effet, les AGV sont des molécules plateformes qui peuvent être transformées afin de produire des plastiques, carburants et bien d'autres composés chimiques (cétones, esters, alcools, alcanes) biosourcés, alors qu'ils sont actuellement pétrosourcés. La production d'AGV biosourcés par fermentation acidogène des OMR répond à la double problématique d'amélioration de la gestion des OMR et de substitution des matériaux issus de la pétrochimie. Néanmoins, la production d'AGV à partir d'OMR doit être optimisée et le spectre d'AGV doit être maîtrisé afin d'obtenir en suivant des composés d'intérêt.

Les procédés en voie sèche sont pertinents pour la fermentation acidogène des OMR en raison de la forte teneur en matières sèches de ces déchets. Parmi ces procédés, la technologie du réacteur à lit percolant ou LBR présente un intérêt certain. Le LBR est d'un design relativement simple, avec la

mise en œuvre d'une percolation/recirculation qui assure une humidification régulière du lit de déchets tout en assurant la répartition des micro-organismes, ce qui stimule l'activité biologique. Le fonctionnement du LBR a également l'avantage de permettre la production et la récupération simultanées des AGV produits lors du drainage du lixiviat.

En biotechnologies environnementales, l'utilisation de cultures mixtes ne nécessite pas de stérilisation, ce qui réduit les coûts de mise en œuvre et facilite techniquement la conduite du procédé. De plus, du fait de la diversité des espèces dans le consortium, la capacité des micro-organismes à s'adapter aux changements de conditions opératoires et de substrats induit la possibilité de travailler avec une plus large gamme de substrats (possibilité d'utiliser des co-substrats) dans un champ de conditions environnementales plus vaste.

Les AGV de chaînes carbonées les plus longues, produits par des étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse des matières organiques des OMR, semblent présenter le plus d'avantages économiques. Or, afin d'éviter la transformation des AGV à longue chaîne en acide acétique puis en méthane, l'enjeu majeur est d'inhiber l'acétogénèse et la méthanogénèse tout en facilitant l'hydrolyse et l'acidogénèse. Plus précisément, il s'agit de trouver et de maintenir un équilibre entre les différentes populations et cela peut être réalisé par une gestion optimisée des paramètres de procédé.

L'étude de la bibliographie a mis en évidence que de nombreux paramètres pouvaient avoir une influence sur la fermentation acidogène en LBR. Cependant, malgré les nombreuses études existant dans la littérature, l'effet combiné de ces paramètres peut affecter les performances de fermentation, et il est parfois délicat de tirer des conclusions tranchées. Il est tout d'abord nécessaire de tenir compte de la spécificité du substrat, car il peut être à l'origine de variations non négligeables de résultats obtenus d'une étude à l'autre. De plus dans les procédés en batch, l'inoculation est d'une importance cruciale, mais il est nécessaire de déterminer à quel point la nature de l'inoculum apporté peut influencer les performances de procédé. De plus, le pH est l'un des paramètres majeurs affectant de manière complexe les processus biologiques et il convient d'éclaircir comment celui-ci modifie ces processus et oriente le spectre d'AGV. Les LBR étant opérés à fortes teneurs en solides, il faut s'assurer de la pertinence de la fermentation dans des conditions aussi contraignantes, et comprendre comment est affectée l'activité biologique sous l'influence de la teneur en solides. Enfin, dans un LBR, les déchets solides constituent un milieu poreux et la compréhension approfondie de la répartition et des transferts d'eau au sein de ce milieu complexe permettra d'optimiser l'apport d'eau afin de favoriser la mise en œuvre des réactions biologiques. Aussi, dans ce travail, la démarche a été d'étudier, d'une part, les processus biologiques de fermentation par un consortium microbien, et d'autre part, les caractéristiques physiques et hydrodynamiques d'un lit de déchets dans un LBR. Enfin, diverses méthodes de conduite du LBR sont possibles, et la recherche d'un mode opératoire optimisé est un challenge à relever.

2. Mise en œuvre et principaux résultats

Afin de s'affranchir de la variabilité du substrat OMR, il a été décidé de travailler principalement sur des substrats modèles (OMR complétées ou leur fraction fermentescible). Ces modèles de substrats ont été préparés sur la base de l'étude de caractérisation nationale des ordures ménagères réalisée par l'ADEME en 2007 et comparés à des OMR réelles (notamment lors de la caractérisation hydrodynamique). Cette étude n'est pas récente mais constitue tout de même une précieuse base de travail.

La première partie de cette étude a consisté en la mise en œuvre de fermentations séquentielles, à petite échelle dans le but d'étudier l'influence de plusieurs paramètres : l'inoculation et l'acclimatation des populations bactériennes, le pH et la teneur en solides dans le réacteur de fermentation. Les tests de lixiviations et de potentiel méthanogène ont permis, d'une part, de distinguer les rendements de solubilisation par « hydrolyse biologique » et par « lixiviation », et d'autre part, d'estimer des rendements sur la fraction de DCO substrat biodégradable. La **Figure 55** résume schématiquement la démarche mise en œuvre et les principaux résultats obtenus.

Le LBR, procédé d'intérêt dans le cadre de cette thèse, est opéré en mode discontinu (batch) pour le substrat car le lit de déchets est constitué en début de fermentation et reste statique durant l'intégralité du processus. Par ailleurs, la recirculation est réalisée en réinjectant le lixiviat issu du réacteur. Bien qu'une partie du lixiviat puisse être extraite, ce sont exclusivement les micro-organismes initialement présents dans le milieu qui participent au processus. Pour ces raisons, une inoculation maîtrisée s'avère théoriquement un facteur d'optimisation des performances des plus importants. Dans notre travail, aux chapitres 1 et 2 de la partie résultats, nous avons montré que l'ajout d'un inoculum extérieur (boues de station d'épuration prétraitées thermiquement) au substrat non stérilisé n'a pas permis d'augmenter les performances de fermentation par rapport à l'utilisation unique des bactéries indigènes du substrat. Ce résultat a été confirmé pour différents taux de solides et à différents pH pour un taux de solide de 5%. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce résultat inattendu. En premier lieu, l'analyse des communautés microbiennes a montré que les principales familles de bactéries présentes en fin de fermentation (premier batch) n'étaient pas issues de l'inoculum extérieur. Le ratio S_0/X_0 volontairement élevé (20 gMV_s/gMV_x) pour favoriser la croissance des micro-organismes de l'inoculum a pu entraîner une compétition trop importante de ces bactéries avec les communautés indigènes. De plus, les bactéries doivent être présentes en quantité suffisante mais doivent aussi et surtout être actives, notamment sur l'étape limitante du processus qui est l'hydrolyse des matières solides. Enfin, une explication possible est que les bactéries indigènes étaient initialement attachées au substrat alors que les bactéries exogènes ont pu être limitées dans la colonisation des surfaces de particules de substrat, cette phase de colonisation étant primordiale pour amorcer les réactions d'hydrolyse mais longue à mettre en place.

La réalisation de trois batchs successifs avec ré-inoculation par les bactéries de la phase liquide du batch précédent a montré l'effet globalement positif de l'acclimatation des micro-organismes au substrat et aux conditions opératoires (pH, teneur en solides) sur les performances de fermentation

(rendements, productivité, vitesses de production et titre final en métabolites). A faible teneur en solides (5%) et à pH contrôlé (4.5, 5.5, 6.5) et non contrôlé, l'acclimatation a conduit à une augmentation significative de l'hydrolyse (avec taux d'augmentation de 17 à 95%) et du rendement en métabolites (taux d'augmentation jusqu'à 215%). Dans tous les cas, les vitesses initiales de production d'AGV ont été multipliées jusqu'à 34 fois grâce à l'acclimatation. Ce processus d'acclimatation a été d'autant plus pertinent dans la condition de pH la plus extrême (4.5). La fraction de DCO soluble non identifiée, probablement associée à des produits d'hydrolyse non transformés en métabolites, a été progressivement réduite (taux de diminution entre 16 et 95%). Ainsi, l'acidogénèse est devenue de moins en moins limitante par rapport à l'hydrolyse du substrat, et les populations acidogènes ont donc été de plus en plus efficaces. A fortes teneurs en solides (15 et 20%) et à pH non contrôlé, le rendement en métabolites a aussi considérablement augmenté entre le premier et le troisième batch (taux d'augmentation de 63 à 87%). De même, l'acclimatation s'est avérée la plus efficace aux fortes teneurs en solides, par rapport au cas à faible concentration en solides à pH non contrôlé. L'ensemble de ces résultats a démontré l'efficacité de la démarche de batchs de fermentation successifs, en recyclant uniquement le surnageant, pour la production d'un inoculum hautement adapté aux conditions opératoires et donc efficace pour la fermentation acidogène de la FFOMR. De plus, la réutilisation du seul surnageant présente des avantages pratiques par rapport au recyclage du milieu complet : la facilité de mise en œuvre, et la disponibilité d'un volume plus important pour le substrat frais dans le réacteur.

De nombreuses études dans la littérature ont identifié le pH comme un paramètre des plus influents pour les processus biologiques. Cela a été confirmé au chapitre 1 de la partie résultats, par l'étude réalisée à faible teneur en solides, puisque le contrôle du pH de fermentation (de 4.5 à 6.5) a largement impacté les performances de fermentation acidogène. D'une manière générale, les résultats obtenus à pH 4.5 ont été très différents de ceux obtenus à pH 5.5 et 6.5, montrant qu'un shift métabolique s'est produit dans la zone de pH bas entre 5.5 et 4.5. L'augmentation du pH de 4.5 à 6.5 a entraîné une augmentation des rendements d'hydrolyse du substrat et de production de métabolites. Ainsi, des rendements de production de métabolites ont atteint jusqu'à 340 mgDCO/gDCO_{substrat} à pH 6.5, et un maximum de 170 mgDCO/gDCO_{substrat} à pH 4.5. Les performances atteintes étaient en accord avec les données d'études similaires de la littérature. Il a aussi été observé que la fraction de DCO soluble potentiellement due à des produits d'hydrolyse non fermentés augmentait alors que pH diminuait. Ceci a permis de conclure que l'acidogénèse devenait limitante par rapport à l'hydrolyse avec la diminution du pH. De plus, le spectre de métabolites formés a été considérablement orienté par le pH. Classiquement, l'accumulation de lactate et d'éthanol à pH 4.5 a été associée à une fermentation majoritairement lactique. A pH 5.5 et 6.5, il a été conclu que la fermentation était de type butyrique ou « mixed-acid ». L'expression de ces voies métaboliques majoritaires est associée à la sélection par le pH de familles de bactéries prédominantes : à pH 4.5, les familles Lactobacillaceae, Acteobacteraceae et Paenibacillaceae ; à pH 5.5 les familles Ruminococcaceae, Leuconostocaceae et Clostridiaceae ; à pH 6.5 les familles Bacteroidaceae, Clostridiaceae, Carnobacteriaceae et Prevotellaceae. Le pH constitue donc un facteur déterminant pour la sélection de micro-organismes.

Au chapitre 2 de la partie résultats, le dernier paramètre investigué a été la teneur en solides dans le réacteur. L'objectif était de pouvoir comparer la fermentation à faible teneur en solides (5%) correspondant au fonctionnement d'un procédé en voie humide, à deux cas de fermentation à plus fortes teneurs en solides (15 et 20%), qui représentent un procédé opéré en voie solide. Cette étude a été menée dans des conditions de pH non contrôlé. En effet, à concentration élevée en solides, l'agitation magnétique était impossible pour des raisons pratiques et la mise en place d'une régulation n'aurait pas pu être correctement maîtrisée du fait de la mesure de pH locaux non représentatifs de l'ensemble du milieu. Les concentrations finales et rendements en métabolites obtenus dans cette étude étaient dans les gammes fournies par le peu d'études similaires de la littérature. Les concentrations finales ont pu atteindre 75 gDCO/L en voie solide, soit jusqu'à 5 fois plus qu'en voie humide. Mais, de façon surprenante, les rendements de production de métabolites les plus élevés ont été obtenus à des teneurs en solides de 15 et 20%, et non à 5%, comme pouvaient le suggérer des résultats d'autres auteurs (notamment concernant la digestion anaérobie). En effet, un rendement en métabolites de l'ordre de 350 mgDCO/gDCO_{substrat} a été obtenu pour une teneur en solides de 15 %, contre 300 mgDCO/gDCO_{substrat} à 20% et 250 mgDCO/gDCO_{substrat} à 5%. Des hypothèses ont été émises pour expliquer ce résultat. D'abord, les particules de substrat étant plus proches à fortes concentrations en solides, les bactéries ont pu coloniser plus aisément une surface plus importante de substrat, ce qui a pu permettre une meilleure dégradation de celui-ci et favoriser ainsi la production de métabolites. De plus, certaines limitations par l'hydrogène ont pu être levées dans les fioles à fortes teneurs en solides, car celles-ci étaient dégazées plus régulièrement que les réacteurs à 5%. La teneur en solides a également influencé le spectre de métabolites produits, ce qui était probablement lié aux hauts niveaux de concentration en AGV atteints et aux faibles pressions partielles en hydrogène en voie solide. A une teneur en solides de 5%, la production de métabolites s'est progressivement orientée vers un spectre classique d'AGV à courte chaîne (acétate, butyrate et propionate) et l'éthanol. A contrario à 15 % et 20%, en plus du butyrate, des AGV à plus longues chaînes ou ramifiés (iso-butyrate, valérate et caproïque) ont été produits en plus grande proportions. D'ailleurs, les résultats observés en voie solide ont suggéré la mise en œuvre de réactions d'élongation de chaîne entre l'éthanol et l'acétate, le propionate ou le butyrate. Les variations de spectres de métabolites ont été associées à la sélection de bactéries différentes en voie sèche et en voie humide. Les analyses microbiologiques ont une certaine similarité concernant les familles de bactéries sélectionnées aux différentes teneurs en solides (présence abondante des familles Ruminococcaceae, Leuconostocaceae et Clostridiaceae). Les différences principales observées étaient la fraction importante d'Enterococcaceae à 5%, alors que les Lactobacillaceae étaient parmi les familles majoritaires aux fortes teneurs en solides.

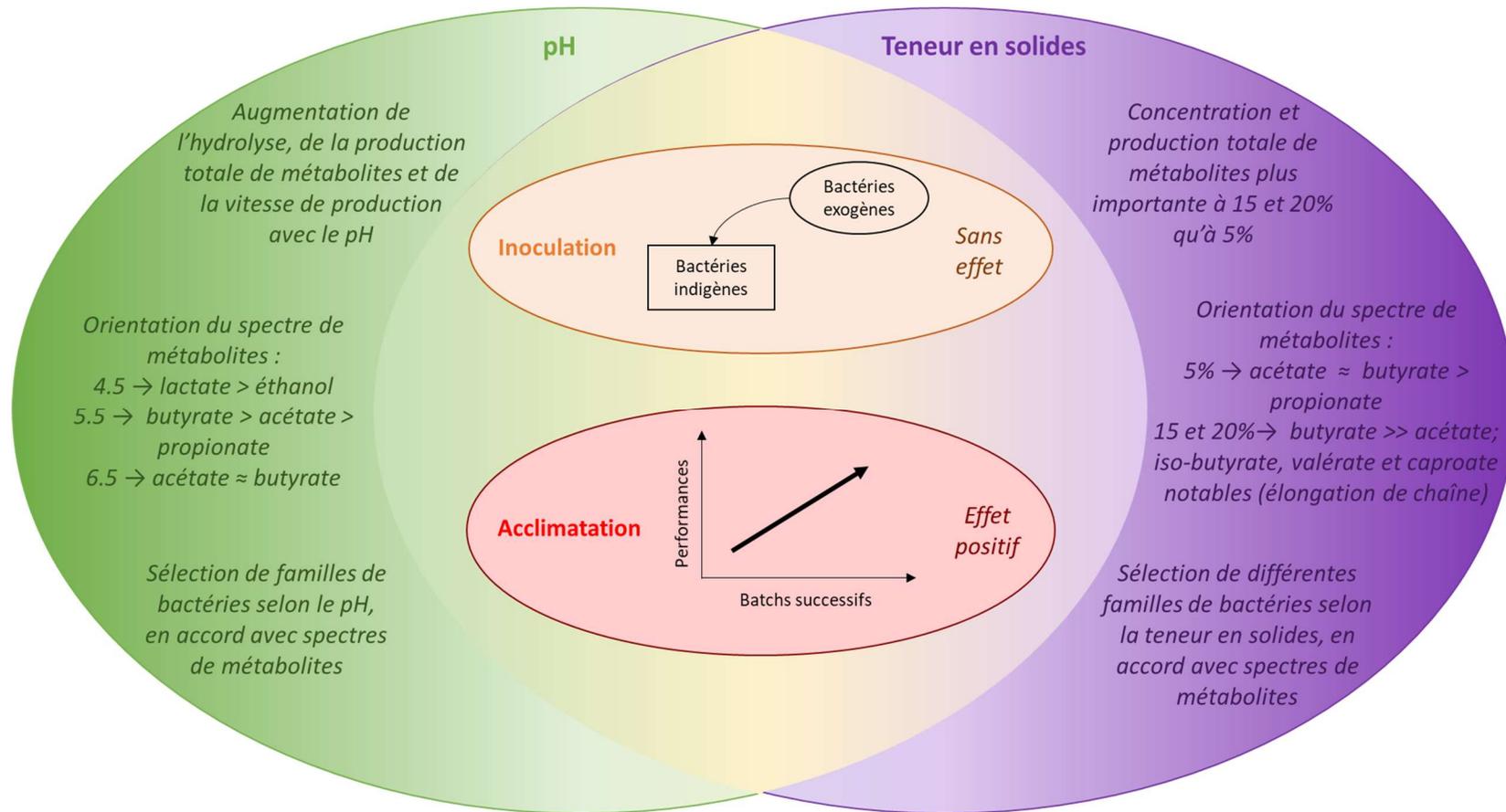


Figure 55. Récapitulatif des résultats d'étude des performances de la fermentation acidogène.

La teneur en solides est un facteur qui conditionne les performances de fermentation acidogène. Cela est lié à l'approvisionnement en eau pour les micro-organismes et à la diffusion des composés solubles dans le milieu. Dans un LBR, les potentielles limitations peuvent être exacerbées du fait du contact discontinu entre le solide et le liquide lors de la percolation. Il est donc important de comprendre comment se répartit l'eau et comment s'effectuent les transferts dans le lit de déchets. Le lit de déchet dans un LBR est constitué de particules entassées qui s'agencent les unes par rapport aux autres mais qui ne s'emboîtent pas parfaitement, laissant ainsi des espaces vides entre elles. Le lit de déchet est donc qualifié de milieu poreux. La complexité réside d'abord dans l'hétérogénéité des OMR du fait de leur composition. De plus, les OMR comportent des éléments capables de gonfler en se gorgeant d'eau. Un autre phénomène qui peut se produire est le tassement du lit de déchets, sous l'effet de l'ajout de couches additionnelles de matière, de la recirculation et de la biodégradation. Ces particularités confèrent aussi au lit de déchets un caractère évolutif, induisant une complexité supplémentaire. La dernière partie d'étude s'est donc focalisée sur la caractérisation physique de lits de déchets en LBR et sur la compréhension des processus hydrodynamiques intervenant dans ce type de milieu poreux. Cette caractérisation a été réalisée en conditions abiotiques (sans ajout d'inoculum extérieur) sans et avec compaction de celui-ci. Pour mieux appréhender ces phénomènes de transfert, la théorie d'une double porosité a été adoptée. Il a donc été considéré que le massif se composait de micropores capables de piéger « définitivement » une eau qualifiée de statique ou immobile, et de macropores dans lesquels s'écoule de l'eau dite dynamique ou mobile au cours de la percolation, cette eau étant évacuée lors du drainage. Le protocole était basé sur des cycles de percolation-drainage à différents débits, et sur la mesure à chaque cycle de la quantité d'eau retenue dans le lit de déchets par rapport à la quantité injectée. Cette méthode gravimétrique a l'avantage d'être simple dans sa mise en œuvre. Pour cette partie, des OMR reconstituées et des OMR réelles ont été caractérisées.

A l'état initial, les lits de déchets étaient très majoritairement constitués de porosité, mais, à ce stade de l'expérience il n'était pas possible de distinguer les fractions attribuées aux macropores et aux micropores. Entre la première et la deuxième série de percolation et drainage, la compaction a entraîné une baisse du volume total, liée à une réduction du volume de macropores, dont une partie a été transformée en micropores. La part du volume de macropores converti en micropores était de 24% et de 33% pour les OMR artificielles et réelles respectivement. La compaction du lit peut donc influencer le fonctionnement du LBR sur deux aspects. D'une part, la présence de micropores est essentielle pour la mise en œuvre de la fermentation, car les réactions biologiques ont lieu au contact de la matrice solide, donc dans les micropores (remplis d'eau). D'autre part, la conservation d'un volume suffisant de macropores permet la percolation de liquide au sein du massif, le remplissage des microporosités et la récupération des produits de fermentation en solution lors du drainage.

Le comportement à l'eau des lits de déchets a été analysé en étudiant les dynamiques de remplissage des pores. Il a ainsi été montré que l'étape préliminaire de mouillage du lit de déchets permettait une augmentation significative de la teneur en eau statique (ou de la microsaturation). Ce point est aussi crucial car les réactions biologiques ne peuvent se dérouler qu'à partir d'une certaine

teneur en eau, et sont facilitées à mesure que celle-ci augmente jusqu'au seuil de capacité au champ. La saturation des macropores n'a jamais été atteinte quel que soit le débit appliqué (entre 6 et 22 L/h), mais par rapport aux OMR réelles, les OMR artificielles ont montré des conductivités hydrauliques plus élevées (multipliée par 1.2 et 9.7 avant et après compaction, respectivement). Cette différence est due à une structure plus homogène des OMR artificielles, car dans le cas d'une reconstitution, la taille de particules et la composition sont bien maîtrisées. Une conductivité hydraulique élevée indique la possibilité d'appliquer un débit plus important au-dessus du massif sans générer de débordement ou d'écoulement sur les parois.

Pour mieux caractériser les processus hydrodynamiques, un modèle à double porosité classique a été appliqué. Les courbes expérimentales d'eau dynamique retenue n'ont pas pu être totalement bien reproduites via ce modèle, en particulier lors des phases de drainage. De plus, la comparaison des courbes de drainage a montré que celles-ci n'étaient pas modifiées par le débit appliqué. Aussi, ces observations ont-elles permis de mettre en évidence la présence d'une fraction de porosité « réservoir », dans laquelle l'eau serait stockée temporairement durant la percolation et récupérée lors du drainage. Le stockage d'eau (à mi-chemin entre une eau statique et une eau dynamique) dans les réservoirs macroporeux est responsable du drainage lent observé sur les courbes d'eau retenue. Ainsi, le précédent modèle classique a été modifié afin d'intégrer ce nouveau compartiment de macroporosité « réservoir ». En appliquant ce modèle amélioré, il a été possible d'estimer la fraction de macroporosité réservoir, les transferts d'eau de la macroporosité mobile vers la microporosité, mais aussi de la macroporosité mobile vers la macroporosité réservoir et inversement. Ce modèle a été appliqué avec succès aux OMR réelles et artificielles, et validé pour des lits de paille de blé et fumier bovin, démontrant ainsi l'applicabilité de ce modèle à une plus large gamme de substrats.

Enfin, un essai de transfert de solutés a été réalisé sur le lit d'OMR après compaction. Ce phénomène, tout autant que les échanges d'eau au sein du massif, conditionne la récupération des métabolites produits lors du processus de fermentation. Cette expérience a permis d'obtenir des données en accord avec la littérature, mais il sera nécessaire de caractériser plus précisément les transferts de solutés, par la détermination des coefficients de transfert.

Afin d'optimiser la fermentation acidogène des OMR en LBR, un dispositif expérimental représenté à la **Figure 56** a été élaboré et cette partie d'étude est en cours actuellement. Cette phase d'expériences a pour objectif de déterminer le fonctionnement du LBR permettant de maximiser les rendements de production d'acides organiques en orientant le spectre de produit. Pour cela, il a été envisagé, en tenant compte des résultats disponibles dans la littérature, d'étudier l'effet de deux paramètres : le mode de recirculation (fréquence et débit) et la dilution du lixiviat produit. En effet, le fonctionnement optimal du procédé passe par l'assurance d'un bon mouillage du déchet pour amorcer et promouvoir l'activité biologique et favoriser l'hydrolyse et l'acidogenèse en surmontant les limitations liées au transfert de matière. L'étude hydrodynamique a notamment montré que l'immersion du lit de déchets permettait une augmentation significative de la teneur en eau dans les micropores. Au regard

de ce résultat, le processus de fermentation inclut une phase d'immersion et drainage en début d'expérience, ce qui permet aussi de générer dès le départ un certain volume de lixiviat à recirculer. De plus, dans ce type de milieu, la mise en œuvre d'un contrôle de pH reste délicate, du fait de zones localisées où le pH peut atteindre des valeurs extrêmes. Il a donc été prévu d'étudier le fonctionnement sans contrôle de pH, avec l'injection d'une solution tampon avec le lixiviat (lors de la dilution) ou par une régulation continue du pH du lixiviat. Les résultats obtenus concernant l'inoculation et l'acclimatation ont aussi conduit à considérer l'utilisation de fractions de lixiviat issues de précédents batchs pour une inoculation optimale du procédé. Enfin, la corrélation des performances de fermentation avec les populations bactériennes présentes et actives dans la phase liquide et sur les particules de solides sera réalisée.

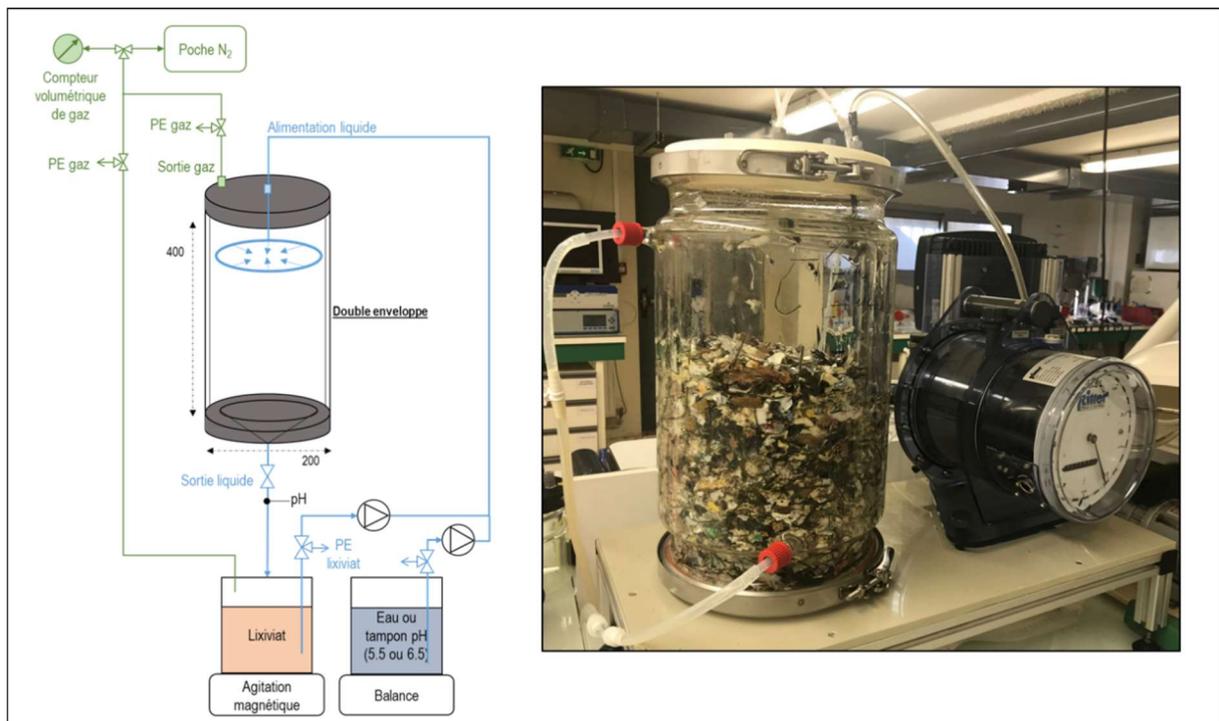


Figure 56. Schéma du dispositif expérimental d'étude de la fermentation acidogène en LBR.

3. Perspectives

Les travaux menés dans cette thèse soulèvent de nombreuses perspectives de recherche et de développement.

Dans nos études, des OMR reconstituées ont été utilisées comme substrat d'étude principal. Cette reconstitution s'est basée sur une caractérisation nationale des ordures ménagères, datant de 2013. Cependant, une actualisation de cette caractérisation est à paraître sous peu et pour de prochains travaux, il sera nécessaire d'estimer la variabilité par rapport au modèle d'OMR utilisé dans notre étude,

et si besoin, de revoir sa composition. La phase suivante consistera aussi à comparer les observations faites sur les déchets artificiels, à différents gisements d'OMR réelles.

L'étude de la fermentation à l'échelle du laboratoire a montré la possibilité de produire un inoculum optimisé par batches successifs d'acclimatation. L'inoculation à l'aide d'un consortium microbien acclimaté peut permettre d'accélérer la phase de démarrage du procédé donc de réduire la durée totale de fermentation, ou encore de réduire le volume de réacteur nécessaire. Cependant, une perspective d'étude concernera la compréhension plus approfondie de l'influence réelle de l'acclimatation sur les cinétiques, l'hydrolyse du substrat et le spectre d'AGV. Une telle démarche pourrait être menée en tenant compte de la thermodynamique et du pH, via des outils de modélisation tels que ceux envisagés dans le projet THERMOMIC⁶.

La compréhension de la distribution et des écoulements de l'eau, des transferts d'eau et de composés solubles, peut permettre d'adapter la stratégie de gestion du lixiviat à l'objectif à atteindre (récupération rapide ou obtention de concentrations élevées en AGV). La modélisation est un outil pertinent pour améliorer cette compréhension et être en mesure de prédire le comportement hydrodynamique d'un lit de déchet. Malgré l'ajout d'un paramètre supplémentaire, le modèle amélioré proposé a l'avantage de rester simple car il ne nécessite pas de courbes de rétentions d'eau. Ce modèle pourrait par exemple être appliqué à des installations de plus grande taille et/ou visant d'autres utilisations, telles que les garages en digestion anaérobie ou des « landfills », moyennant quelques adaptations (nature des substrats, volumes d'installations, effets de compaction, échelles de temps, etc.), afin de rechercher les conditions optimales de fonctionnement de procédé. Enfin, des données pertinentes ont été obtenues lors de l'expérience de transfert de solutés, mais il reste à caractériser ces phénomènes par la détermination de coefficients de transfert entre les différents compartiments des lits de déchets. Une révision du modèle existant de transfert de solutés pourrait ainsi être faite en tenant compte de l'ajout de la macroporosité réservoir.

Les expérimentations visant à optimiser la fermentation acidogène des OMR en LBR sont en cours. Pour compléter ces travaux, une forte perspective d'étude concerne la modélisation de la fermentation acidogène des OMR combinant les processus chimiques, biologiques, physiques et hydrodynamiques en LBR.

A plus grande échelle, l'inoculation avec des lixiviats de LBR précédents devrait être une stratégie à envisager et ce, d'autant plus que les conditions de procédé seront extrêmes ou contraignantes (pH faible, fortes teneurs en solides). De plus, dans l'objectif de maximiser la production en visant un spectre contrôlé d'AGV, les conditions de pH et de teneur en solides dans le procédé devront être choisies en accord avec les produits souhaités, et les applications envisagées pour les métabolites obtenus, purs ou en mélange. Par exemple, pour la production de polymères biodégradables tels que les PHA, les

⁶ THERMOMIC est un projet de recherche visant à la modélisation thermodynamique des croissances et des dynamiques microbiennes, impliquant l'ISTEA (Antony), l'INRA-LBE (Narbonne) et le LISBP (Toulouse).

paramètres de procédé de fermentation peuvent être ajustés pour orienter le spectre vers le butyrate et le valérate. Un réacteur biologique de production de PHA peut alors être alimenté par ce mélange afin de générer un copolymère P(3HB-3HV), à forte teneur en HV. En dehors des PHA, il existe de multiples applications de ces produits de fermentation. L'acide acétique est un précurseur pour la fabrication de peintures, colles, fibres synthétiques ou revêtements pour papier. L'acide propionique sert à la production de solvants, de conservateurs alimentaires ou d'éléments nutritifs pour animaux. L'acide butyrique peut être employé pour la fabrication de biodiesel, de compléments alimentaires et antibiotiques pour animaux, ou d'aromatisants alimentaires. L'acide caproïque est une molécule utilisée pour produire des composés pharmaceutiques, arômes et autres esters.

Pour assurer une réutilisation optimale des métabolites produits, des études plus approfondies concernant la séparation et la purification du mélange d'AGV sont aussi nécessaires, à l'instar des travaux déjà réalisés par le LGC dans le cadre du projet RECOVER. Enfin, une évaluation économique peut être réalisée afin d'estimer la rentabilité du procédé LBR de fermentation acidogène à partir des OMR, voire d'une filière complète incluant la séparation et la conversion des AGV.

Références bibliographiques

- Aarle, Ingrid M. van, Anastasios Perimenis, Joana Lima-Ramos, Emeline de Hults, Isabelle F. George, and Patrick A. Gerin. 2015. 'Mixed Inoculum Origin and Lignocellulosic Substrate Type Both Influence the Production of Volatile Fatty Acids during Acidogenic Fermentation'. *Biochemical Engineering Journal* 103 (November): 242–49. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.07.016>.
- Abbassi-Guendouz, Amel, Doris Brockmann, Eric Trably, Claire Dumas, Jean-Philippe Delgenès, Jean-Philippe Steyer, and Renaud Escudie. 2012. 'Total Solids Content Drives High Solid Anaerobic Digestion via Mass Transfer Limitation'. *Bioresource Technology* 111 (May): 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.174>.
- ADEME. 2012. 'L'incinération des déchets ménagers et assimilés - Avis de l'ADEME'. In , ADEME. Clés pour agir. <https://www.ademe.fr/incineration-dechets-menagers-assimiles-l>.
- . 2017. *LES ORDURES MÉNAGÈRES RÉSIDUELLES (OMR) EN FRANCE*. <https://www.ademe.fr/ordures-menageres-residuelles-omr-france>.
- . , ed. 2019. *Déchets Chiffres-Clés: L'essentiel 2018*. Faits et Chiffres. <https://www.ademe.fr/dechets-chiffres-cles-lessentiel-2018>.
- ADEME, Service public 2000, BRGM, and CEMAGREF. 2010. *La composition des ordures ménagères et assimilées en France*. Angers: ADEME.
- Afyren. 2015. 'AFYREN'. *AFYREN*® (blog). 2015. <http://afyren.com/afynerie/>.
- Agler, Matthew T., Catherine M. Spirito, Joseph G. Usack, Jeffrey J. Werner, and Largus T. Angenent. 2012. 'Chain Elongation with Reactor Microbiomes: Upgrading Dilute Ethanol to Medium-Chain Carboxylates'. *Energy & Environmental Science* 5 (8): 8189–92. <https://doi.org/10.1039/C2EE22101B>.
- Agler, Matthew T., Brian A. Wrenn, Stephen H. Zinder, and Largus T. Angenent. 2011. 'Waste to Bioproduct Conversion with Undefined Mixed Cultures: The Carboxylate Platform'. *Trends in Biotechnology* 29 (2): 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.11.006>.
- Agnew, J. M., and J. J. Leonard. 2003. 'The Physical Properties of Compost'. *Compost Science & Utilization* 11 (3): 238–64.
- Alibardi, Luca, and Raffaello Cossu. 2016. 'Effects of Carbohydrate, Protein and Lipid Content of Organic Waste on Hydrogen Production and Fermentation Products'. *Waste Management, Biowaste to Fuel*, 47, Part A (January): 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.07.049>.
- Alibardi, Luca, Lorenzo Favaro, Maria Cristina Lavagnolo, Marina Basaglia, and Sergio Casella. 2012. 'Effects of Heat Treatment on Microbial Communities of Granular Sludge for Biological Hydrogen Production'. *Water Science and Technology* 66 (7): 1483–90. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.336>.
- André, L., M. Durante, A. Pauss, O. Lespinard, T. Ribeiro, and E. Lamy. 2015. 'Quantifying Physical Structure Changes and Non-Uniform Water Flow in Cattle Manure during Dry Anaerobic Digestion Process at Lab Scale: Implication for Biogas Production'. *Bioresource Technology* 192 (September): 660–69. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.022>.
- André, Laura, André Pauss, and Thierry Ribeiro. 2018. 'Solid Anaerobic Digestion: State-of-Art, Scientific and Technological Hurdles'. *Bioresource Technology* 247 (January): 1027–37. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.003>.
- Andrieu, Maël, Xavier Ghewy, Christian Mathery, and Doris Nicklaus. 2012. *Lexique à l'usage des acteurs de la gestion des déchets*. RéférenceS. La Défense: Commissariat Général au Développement Durable (CGDD). https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/sites/default/files/2018-10/Ref_dechets.pdf.
- APHA, AWWA, and WEF. 1999. *Standard Methods for Examination of Water & Wastewater*. 20th edition. Washington DC: American Public Health Association.
- Appels, Lise, Joost Lauwers, Jan Degreë, Lieve Helsen, Bart Lievens, Kris Willems, Jan Van Impe, and Raf Dewil. 2011. 'Anaerobic Digestion in Global Bio-Energy Production: Potential and Research Challenges'. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15 (9): 4295–4301. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.121>.
- Arslan, D., K. J. J. Steinbusch, L. Diels, H. De Wever, C. J. N. Buisman, and H. V. M. Hamelers. 2012. 'Effect of Hydrogen and Carbon Dioxide on Carboxylic Acids Patterns in Mixed Culture Fermentation'. *Bioresource Technology* 118 (August): 227–34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.003>.
- Aslanzadeh, Solmaz, Karthik Rajendran, and Mohammad J. Taherzadeh. 2014. 'A Comparative Study between Single- and Two-Stage Anaerobic Digestion Processes: Effects of Organic Loading Rate and Hydraulic Retention Time'. *International Biodeterioration & Biodegradation, Challenges in Environmental Science and Engineering, CESE-2013*, 95, Part A (November): 181–88. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.06.008>.

- Atasoy, Merve, Isaac Owusu-Agyeman, Elzbieta Plaza, and Zeynep Cetecioglu. 2018. 'Bio-Based Volatile Fatty Acid Production and Recovery from Waste Streams: Current Status and Future Challenges'. *Bioresource Technology*, July. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.042>.
- Audebert, M., L. Oxarango, C. Duquennoi, N. Touze-Foltz, N. Forquet, and R. Clément. 2016. 'Understanding Leachate Flow in Municipal Solid Waste Landfills by Combining Time-Lapse ERT and Subsurface Flow Modelling – Part II: Constraint Methodology of Hydrodynamic Models'. *Waste Management*, SI:Sanitary Landfilling, 55 (September): 176–90. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.04.005>.
- Barenblatt, G. I., Iu P. Zheltov, and I. N. Kochina. 1960. 'Basic Concepts in the Theory of Seepage of Homogeneous Liquids in Fissured Rocks [Strata]'. *Journal of Applied Mathematics and Mechanics* 24 (5): 1286–1303.
- Barker, H. A., M. D. Kamen, and B. T. Bornstein. 1945. 'The Synthesis of Butyric and Caproic Acids from Ethanol and Acetic Acid by Clostridium Kluyveri'. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 31 (12): 373–81.
- Bastidas-Oyanedel, Juan-Rodrigo, Fabian Bonk, Mette Hedegaard Thomsen, and Jens Ejbye Schmidt. 2015. 'Dark Fermentation Biorefinery in the Present and Future (Bio)Chemical Industry'. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 14 (3): 473–98. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9369-3>.
- Batstone, D. J., J. Keller, I. Angelidaki, S. V. Kalyuzhnyi, S. G. Pavlostathis, A. Rozzi, W. T. M. Sanders, H. Siegrist, and V. A. Vavilin. 2002a. *Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1)*. IWA Scientific and Technical Reports Series 13. London: International Water Association.
- Batstone, D.J., J. Keller, I. Angelidaki, S. V. Kalyuzhnyi, S. G. Pavlostathis, A. Rozzi, W. T. M. Sanders, H. Siegrist, and V. A. Vavilin. 2002b. 'The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1)'. *Water Science and Technology* 45 (10): 65–73.
- BEKON. 2016. 'Bekon Process Technology'. *BEKON* (blog). 2016. <https://www.bekon.eu/en/technology/>.
- Benbelkacem, H., R. Bayard, A. Abdelhay, Y. Zhang, and R. Gourdon. 2010. 'Effect of Leachate Injection Modes on Municipal Solid Waste Degradation in Anaerobic Bioreactor'. *Bioresource Technology* 101 (14): 5206–12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.049>.
- Benneouala, Mourad, Younès Bareha, Evrard Mengelle, Mansour Bounouba, Mathieu Sperandio, Yolaine Bessiere, and Etienne Paul. 2017. 'Hydrolysis of Particulate Settleable Solids (PSS) in Activated Sludge Is Determined by the Bacteria Initially Adsorbed in the Sewage'. *Water Research* 125 (November): 400–409. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.058>.
- Bentley, R. W. 2002. 'Global Oil & Gas Depletion: An Overview'. *Energy Policy* 30 (3): 189–205. [https://doi.org/10.1016/S0301-4215\(01\)00144-6](https://doi.org/10.1016/S0301-4215(01)00144-6).
- Bollon, J., R. Le-hyarc, H. Benbelkacem, and P. Buffiere. 2011. 'Development of a Kinetic Model for Anaerobic Dry Digestion Processes: Focus on Acetate Degradation and Moisture Content'. *Biochemical Engineering Journal* 56 (3): 212–18. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.06.011>.
- Bolzonella, D., P. Pavan, S. Mace, and F. Cecchi. 2006. 'Dry Anaerobic Digestion of Differently Sorted Organic Municipal Solid Waste: A Full-Scale Experience'. *Water Science and Technology* 53 (8): 23–32. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.232>.
- Boulanger, Anthony, Elisabeth Pinet, Marielle Bouix, Théodore Bouchez, and Alicia A. Mansour. 2012. 'Effect of Inoculum to Substrate Ratio (I/S) on Municipal Solid Waste Anaerobic Degradation Kinetics and Potential'. *Waste Management* 32 (12): 2258–65. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.07.024>.
- Brooks, R. H., and A. T. Corey. 1964. 'Hydraulic Properties of Porous Media. Hydrology Papers. Colorado State University.'
- Buffiere, Pierre, Liliana Delgadillo Mirquez, Jean Philippe Steyer, Nicolas Bernet, and Jean Philippe Delgenes. 2008. 'Anaerobic Digestion of Solid Wastes Needs Research to Face an Increasing Industrial Success'. *International Journal of Chemical Reactor Engineering* 6 (1). <https://doi.org/10.2202/1542-6580.1619>.
- Cadavid-Rodríguez, Luz Stella, and Nigel J. Horan. 2014. 'Production of Volatile Fatty Acids from Wastewater Screenings Using a Leach-Bed Reactor'. *Water Research* 60 (September): 242–49. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.001>.
- Calt, Edward. 2015. 'Products Produced from Organic Waste Using Managed Ecosystem Fermentation'. *Journal of Sustainable Development* 8 (3): p43. <https://doi.org/10.5539/jsd.v8n3p43>.
- Capelo, J., and M.A.H. de Castro. 2007. 'Measuring Transient Water Flow in Unsaturated Municipal Solid Waste – A New Experimental Approach'. *Waste Management* 27 (6): 811–19. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.04.012>.

- Capson-Tojo, Gabriel, Eric Trably, Maxime Rouez, Marion Crest, Nicolas Bernet, Jean-Philippe Steyer, Jean-Philippe Delgenès, and Renaud Escudié. 2018. 'Cardboard Proportions and Total Solids Contents as Driving Factors in Dry Co-Fermentation of Food Waste'. *Bioresource Technology*, Bioconversion of Food Wastes, 248 (January): 229–37. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.040>.
- Carlei, Hugues. 2013. 'Caractérisation et optimisation d'une étape statique d'hydrolyse des ordures ménagères résiduelles en vue de leur méthanisation hors-sol.' PhD Thesis, Paris: AgroParisTech.
- Cavdar, P., E. Yilmaz, A. E. Tugtas, and B. Calli. 2011. 'Acidogenic Fermentation of Municipal Solid Waste and Its Application to Bio-Electricity Production via Microbial Fuel Cells (MFCs)'. *Water Science and Technology* 64 (4): 789–95. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.595>.
- Cazier, E. A., E. Trably, J. P. Steyer, and R. Escudie. 2015. 'Biomass Hydrolysis Inhibition at High Hydrogen Partial Pressure in Solid-State Anaerobic Digestion'. *Bioresource Technology* 190 (August): 106–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.055>.
- Chatellard, Lucile, Eric Trably, and Hélène Carrère. 2016. 'The Type of Carbohydrates Specifically Selects Microbial Community Structures and Fermentation Patterns'. *Bioresource Technology* 221 (December): 541–49. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.084>.
- Cheah, Y K, C Vidal-Antich, J Dosta, and J Mata-Álvarez. 2018. 'Study of the Effects of Temperature and PH on Acidogenic Fermentation Process from Organic Fraction of Municipal Solid Waste', 12.
- Chen, Y. M., Tony L. T. Zhan, H. Y. Wei, and H. Ke. 2009. 'Aging and Compressibility of Municipal Solid Wastes'. *Waste Management* 29 (1): 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.02.024>.
- Chen, Yi, Yue Wen, Junwei Zhou, Chao Xu, and Qi Zhou. 2012. 'Effects of PH on the Hydrolysis of Lignocellulosic Wastes and Volatile Fatty Acids Accumulation: The Contribution of Biotic and Abiotic Factors'. *Bioresource Technology* 110 (April): 321–29. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.049>.
- Chen, Yinguang, Su Jiang, Hongying Yuan, Qi Zhou, and Guowei Gu. 2007. 'Hydrolysis and Acidification of Waste Activated Sludge at Different PHs'. *Water Research* 41 (3): 683–89. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.07.030>.
- Cheong, Dae-Yeol, and Conly L. Hansen. 2006. 'Bacterial Stress Enrichment Enhances Anaerobic Hydrogen Production in Cattle Manure Sludge'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 72 (4): 635. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0313-x>.
- Chugh, S., D. P. Chynoweth, W. Clarke, P. Pullammanappallil, and V. Rudolph. 1999. 'Degradation of Unsorted Municipal Solid Waste by a Leach-Bed Process'. *Bioresource Technology* 69 (2): 103–15. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00182-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00182-5).
- Chugh, S., W. Clarke, P. Pullammanappallil, and V. Rudolph. 1998. 'Effect of Recirculated Leachate Volume on MSW Degradation'. *Waste Management & Research* 16 (6): 564–73. <https://doi.org/10.1177/0734242X9801600607>.
- Chynoweth, D. P., J. Owens, D. O'Keefe, J. F. K. Earle, G. Bosch, and R. Legrand. 1992. 'Sequential Batch Anaerobic Composting of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste'. *Water Science and Technology* 25 (7): 327–39. <https://doi.org/10.2166/wst.1992.0165>.
- Clarke, William P., Sihuang Xie, and Miheka Patel. 2016. 'Rapid Digestion of Shredded MSW by Sequentially Flooding and Draining Small Landfill Cells'. *Waste Management*, SI:Sanitary Landfilling, 55 (September): 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.11.050>.
- Collins, M. D., J. A. E. Farrow, B. A. Phillips, S. Ferusu, and D. Jones. 1987. 'Classification of Lactobacillus Divergens, Lactobacillus Piscicola, and Some Catalase-Negative, Asporogenous, Rod-Shaped Bacteria from Poultry in a New Genus, Carnobacterium'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 37 (4): 310–316.
- Cysneiros, Denise, Charles J. Banks, Sonia Heaven, and Kimon-Andreas G. Karatzas. 2011. 'The Role of Phase Separation and Feed Cycle Length in Leach Beds Coupled to Methanogenic Reactors for Digestion of a Solid Substrate (Part 2): Hydrolysis, Acidification and Methanogenesis in a Two-Phase System'. *Bioresource Technology* 102 (16): 7393–7400. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.05.042>.
- . 2012a. 'The Role of Phase Separation and Feed Cycle Length in Leach Beds Coupled to Methanogenic Reactors for Digestion of a Solid Substrate (Part 1): Optimisation of Reactors' Performance'. *Bioresource Technology* 103 (1): 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.094>.
- . 2012b. 'The Effect of PH Control and "Hydraulic Flush" on Hydrolysis and Volatile Fatty Acids (VFA) Production and Profile in Anaerobic Leach Bed Reactors Digesting a High Solids Content

- Substrate'. *Bioresource Technology* 123 (November): 263–71. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.060>.
- De Baere, Luc, and Bruno Mattheeuws. 2014. 'Anaerobic Digestion of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste in Europe – Status, Experience and Prospects – De Baere L., Mattheeuws B. | OWS'. In . <http://www.ows.be/fr/publication/biogas-plants-publication-3/>.
- Degueurce, Axelle. 2016. 'La méthanisation par voie sèche agricole appliquée aux fumiers de bovins: optimisation de la recirculation des lixiviats'. PhD Thesis, Rennes: Rennes 1.
- Degueurce, Axelle, Anne Trémier, and Pascal Peu. 2016. 'Dynamic Effect of Leachate Recirculation on Batch Mode Solid State Anaerobic Digestion: Influence of Recirculated Volume, Leachate to Substrate Ratio and Recirculation Periodicity'. *Bioresource Technology* 216 (September): 553–61. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.113>.
- Deublein, Dieter, and Angelika Steinhauser. 2009. *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction*. Wiley Series in Renewable Resource. Hoboken, N.J: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Di Donato, Ginevra, Wenfen Huang, and Martin J. Blunt. 2003. 'Streamline-Based Dual Porosity Simulation of Fractured Reservoirs'. *SPE Annual Technical Conference and Exhibition*. <https://www.onepetro.org/conference-paper/SPE-84036-MS>.
- Ding, Hong-Bo, Giin-Yu Amy Tan, and Jing-Yuan Wang. 2010. 'Caproate Formation in Mixed-Culture Fermentative Hydrogen Production'. *Bioresource Technology* 101 (24): 9550–59. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.056>.
- Dogan, E., T. Dunaev, T. H. Erguder, and G. N. Demirer. 2009. 'Performance of Leaching Bed Reactor Converting the Organic Fraction of Municipal Solid Waste to Organic Acids and Alcohols'. *Chemosphere* 74 (6): 797–803. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.028>.
- Dong, Li, Yuan Zhenhong, and Sun Yongming. 2010. 'Semi-Dry Mesophilic Anaerobic Digestion of Water Sorted Organic Fraction of Municipal Solid Waste (WS-OFMSW)'. *Bioresource Technology* 101 (8): 2722–28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.007>.
- Eastman, John A., and John F. Ferguson. 1981. 'Solubilization of Particulate Organic Carbon during the Acid Phase of Anaerobic Digestion'. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 53 (3): 352–66.
- Elbeshbishy, Elsayed, Hisham Hafez, Bipro Ranjan Dhar, and George Nakhla. 2011. 'Single and Combined Effect of Various Pretreatment Methods for Biohydrogen Production from Food Waste'. *International Journal of Hydrogen Energy* 36 (17): 11379–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.02.067>.
- Elbeshbishy, Elsayed, Hisham Hafez, and George Nakhla. 2010. 'Enhancement of Biohydrogen Producing Using Ultrasonication'. *International Journal of Hydrogen Energy* 35 (12): 6184–93. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.03.119>.
- Elefsiniotis, Panagiotis, and William K. Oldham. 1994. 'Anaerobic Acidogenesis of Primary Sludge: The Role of Solids Retention Time'. *Biotechnology and Bioengineering* 44 (1): 7–13. <https://doi.org/10.1002/bit.260440103>.
- El-Mashad, Hamed M., Wilko K. P. van Loon, Grietje Zeeman, Gerard P. A. Bot, and Gatze Lettinga. 2006. 'Effect of Inoculum Addition Modes and Leachate Recirculation on Anaerobic Digestion of Solid Cattle Manure in an Accumulation System'. *Biosystems Engineering* 95 (2): 245–54. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.06.006>.
- Fang, Wei, Panyue Zhang, Xiyang Gou, Haibo Zhang, Yan Wu, Jie Ye, and Guangming Zeng. 2016. 'Volatile Fatty Acid Production from Spent Mushroom Compost: Effect of Total Solid Content'. *International Biodeterioration & Biodegradation, Challenges in Environmental Science and Engineering – 2015*, 113 (September): 217–21. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.03.025>.
- Favaro, Lorenzo, Luca Alibardi, Maria Cristina Lavagnolo, Sergio Casella, and Marina Basaglia. 2013. 'Effects of Inoculum and Indigenous Microflora on Hydrogen Production from the Organic Fraction of Municipal Solid Waste'. *International Journal of Hydrogen Energy* 38 (27): 11774–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.06.137>.
- Feng, Shi-Jin, Qi-Teng Zheng, and H. X. Chen. 2017. 'Unsaturated Flow Parameters of Municipal Solid Waste'. *Waste Management, Special Thematic Issue: Sanitary Landfilling*, 63 (May): 107–21. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.01.025>.
- Fernández, J., M. Pérez, and L. I. Romero. 2008. 'Effect of Substrate Concentration on Dry Mesophilic Anaerobic Digestion of Organic Fraction of Municipal Solid Waste (OFMSW)'. *Bioresource Technology* 99 (14): 6075–80. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.048>.

- Forster-Carneiro, T., M. Pérez, and L. I. Romero. 2008. 'Influence of Total Solid and Inoculum Contents on Performance of Anaerobic Reactors Treating Food Waste'. *Bioresource Technology* 99 (15): 6994–7002. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.018>.
- Forster-Carneiro, T., M. Pérez, L. I. Romero, and D. Sales. 2007. 'Dry-Thermophilic Anaerobic Digestion of Organic Fraction of the Municipal Solid Waste: Focusing on the Inoculum Sources'. *Bioresource Technology* 98 (17): 3195–3203. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.008>.
- Francois, V., G. Feuillade, G. Matejka, T. Lagier, and N. Skhiri. 2007. 'Leachate Recirculation Effects on Waste Degradation: Study on Columns'. *Waste Management* 27 (9): 1259–72. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.07.028>.
- García-Aguirre, Jon, Enrique Aymerich, Jaime González-Mtnez. de Goñi, and Myriam Esteban-Gutiérrez. 2017. 'Selective VFA Production Potential from Organic Waste Streams: Assessing Temperature and PH Influence'. *Bioresource Technology* 244 (November): 1081–88. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.187>.
- García-Bernet, D., D. Loisel, G. Guizard, P. Buffière, J.P. Steyer, and R. Escudié. 2011. 'Rapid Measurement of the Yield Stress of Anaerobically-Digested Solid Waste Using Slump Tests'. *Waste Management* 31 (4): 631–35. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.12.013>.
- García-Bernet, Diana, Pierre Buffière, Eric Latrille, Jean-Philippe Steyer, and Renaud Escudié. 2011. 'Water Distribution in Biowastes and Digestates of Dry Anaerobic Digestion Technology'. *Chemical Engineering Journal* 172 (2–3): 924–28. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.07.003>.
- García-Heras, J.L. 2003. 'Reactor Sizing, Process Kinetics and Modelling of Anaerobic Digestion of Complex Wastes.' In *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*, edited by J. Mata-Alvarez, IWA Publishing, 21–62. London.
- Gärdenäs, Annemieke I., Jirka Šimůnek, Nicholas Jarvis, and M.Th. van Genuchten. 2006. 'Two-Dimensional Modelling of Preferential Water Flow and Pesticide Transport from a Tile-Drained Field'. *Journal of Hydrology* 329 (3–4): 647–60. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2006.03.021>.
- Ge, Xumeng, Fuqing Xu, and Yebo Li. 2016. 'Solid-State Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass: Recent Progress and Perspectives'. *Bioresource Technology* 205 (April): 239–49. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.050>.
- Geissdoerfer, Martin, Paulo Savaget, Nancy M. P. Bocken, and Erik Jan Hultink. 2017. 'The Circular Economy – A New Sustainability Paradigm?' *Journal of Cleaner Production* 143 (February): 757–68. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.048>.
- Gens Solé, Antonio, Beatriz Vállejan, M. Sánchez, Cristophe Imbert, Maria Victoria Villar, and Maarten Van Geetl. 2011. 'Hydromechanical Behaviour of a Heterogeneous Compacted Soil: Experimental Observations and Modelling'. *G?` Otechnique* 61 (5): 367–386.
- Gerardi, Michael H. 2003. *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/0471468967.ch9>.
- Gerke, H. H., and M. T. van Genuchten. 1993. 'A Dual-Porosity Model for Simulating the Preferential Movement of Water and Solutes in Structured Porous Media'. *Water Resources Research* 29 (2): 305–19. <https://doi.org/10.1029/92WR02339>.
- Ghimire, Anish, Eric Trably, Luigi Frunzo, Francesco Pirozzi, Piet N. L. Lens, Giovanni Esposito, Elisabeth A. Cazier, and Renaud Escudié. 2018. 'Effect of Total Solids Content on Biohydrogen Production and Lactic Acid Accumulation during Dark Fermentation of Organic Waste Biomass'. *Bioresource Technology, Bioconversion of Food Wastes*, 248 (January): 180–86. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.062>.
- Gomez, J., and G. Goma. 1986. 'Effect of Different Inoculum Levels of Heterogeneous Mixed Culture in Acidogenic Fermentation'. *Biotechnology Letters* 8 (11): 833–36. <https://doi.org/10.1007/BF01020834>.
- Gou, Chengliu, Zhaohui Yang, Jing Huang, Hailing Wang, Haiyin Xu, and Like Wang. 2014. 'Effects of Temperature and Organic Loading Rate on the Performance and Microbial Community of Anaerobic Co-Digestion of Waste Activated Sludge and Food Waste'. *Chemosphere* 105 (June): 146–51. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.018>.
- Gourc, J. -P., M. J. Staub, and M. Conte. 2010. 'Decoupling MSW Settlement into Mechanical and Biochemical Processes – Modelling and Validation on Large-Scale Setups'. *Waste Management* 30 (8–9): 1556–68. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.03.004>.
- Granda, Cesar B., Mark T. Holtzaple, Gary Luce, Katherine Searcy, and Darryl L. Mamrosh. 2009. 'Carboxylate Platform: The MixAlco Process Part 2: Process Economics'. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 156 (1–3): 107–24. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8481-z>.

- Gu, Yu, Xiaohua Chen, Zhanguang Liu, Xuefei Zhou, and Yalei Zhang. 2014. 'Effect of Inoculum Sources on the Anaerobic Digestion of Rice Straw'. *Bioresource Technology* 158 (April): 149–55. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.011>.
- Gujer, W., and A. J. B. Zehnder. 1983. 'Conversion Processes in Anaerobic Digestion'. *Water Science and Technology* 15 (8–9): 127–67. <https://doi.org/10.2166/wst.1983.0164>.
- Han, Byunghyun, Vincent Scicchitano, and Paul T. Imhoff. 2011. 'Measuring Fluid Flow Properties of Waste and Assessing Alternative Conceptual Models of Pore Structure'. *Waste Management* 31 (3): 445–56. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.09.021>.
- Hanchi, Hasna, Walid Mottawea, Khaled Sebei, and Riadh Hammami. 2018. 'The Genus Enterococcus: Between Probiotic Potential and Safety Concerns—An Update'. *Frontiers in Microbiology* 9 (August). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01791>.
- Hao, Jiuxiao, and Hui Wang. 2015. 'Volatile Fatty Acids Productions by Mesophilic and Thermophilic Sludge Fermentation: Biological Responses to Fermentation Temperature'. *Bioresource Technology* 175 (January): 367–73. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.106>.
- Hao, Yong-Jun, Wei-Xiang Wu, Song-Wei Wu, Hua Sun, and Ying-Xu Chen. 2008. 'Municipal Solid Waste Decomposition under Oversaturated Condition in Comparison with Leachate Recirculation'. *Process Biochemistry* 43 (1): 108–12. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.10.004>.
- Harper, Stephen R., and Frederick G. Pohland. 1986. 'Recent Developments in Hydrogen Management during Anaerobic Biological Wastewater Treatment'. *Biotechnology and Bioengineering* 28 (4): 585–602. <https://doi.org/10.1002/bit.260280416>.
- He, Pin-Jing, Fan Lü, Li-Ming Shao, Xiu-Jiang Pan, and Duu-Jong Lee. 2007. 'Kinetics of Enzymatic Hydrolysis of Polysaccharide-Rich Particulates'. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers* 38 (1): 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.jcice.2006.07.001>.
- Hoorweg, Daniel, and Perinaz Bhada-Tata. 2012. *What a Waste : A Global Review of Solid Waste Management*. Urban Development Series Knowledge Papers 15. Washington DC: World Bank.
- Horgue, P., C. Soulaïne, J. Franc, R. Guibert, and G. Debenest. 2015. 'An Open-Source Toolbox for Multiphase Flow in Porous Media'. *Computer Physics Communications* 187 (February): 217–26. <https://doi.org/10.1016/j.cpc.2014.10.005>.
- Horiuchi, J. -I, T Shimizu, K Tada, T Kanno, and M Kobayashi. 2002. 'Selective Production of Organic Acids in Anaerobic Acid Reactor by PH Control'. *Bioresource Technology* 82 (3): 209–13. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00195-X).
- Huet, J., C. Druilhe, A. Trémier, J.C. Benoist, and G. Debenest. 2012. 'The Impact of Compaction, Moisture Content, Particle Size and Type of Bulking Agent on Initial Physical Properties of Sludge-Bulking Agent Mixtures before Composting'. *Bioresource Technology* 114 (June): 428–36. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.031>.
- Hussain, Abid, Mélissa Filiatrault, and Serge R. Guiot. 2017. 'Acidogenic Digestion of Food Waste in a Thermophilic Leach Bed Reactor: Effect of PH and Leachate Recirculation Rate on Hydrolysis and Volatile Fatty Acid Production'. *Bioresource Technology* 245 (December): 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.130>.
- Infantes, D., A. González del Campo, J. Villaseñor, and F.J. Fernández. 2012. 'Kinetic Model and Study of the Influence of PH, Temperature and Undissociated Acids on Acidogenic Fermentation'. *Biochemical Engineering Journal* 66 (July): 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.04.017>.
- Jagadabhi, Padma Shanthi, Prasad Kaparaju, and Jukka Rintala. 2010. 'Effect of Micro-Aeration and Leachate Replacement on COD Solubilization and VFA Production during Mono-Digestion of Grass-Silage in One-Stage Leach-Bed Reactors'. *Bioresource Technology* 101 (8): 2818–24. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.083>.
- . 2011. 'Two-Stage Anaerobic Digestion of Tomato, Cucumber, Common Reed and Grass Silage in Leach-Bed Reactors and Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors'. *Bioresource Technology* 102 (7): 4726–33. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.052>.
- Jain, Sanjay, Anil K. Lala, Suresh K. Bhatia, and Arvind P. Kudchadker. 1992. 'Modelling of Hydrolysis Controlled Anaerobic Digestion'. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 53 (4): 337–44. <https://doi.org/10.1002/jctb.280530404>.
- Jankowska, Ewelina, Joanna Chwialkowska, Mikołaj Stodolny, and Piotr Oleskiewicz-Popiel. 2015. 'Effect of PH and Retention Time on Volatile Fatty Acids Production during Mixed Culture Fermentation'. *Bioresource Technology* 190 (August): 274–80. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.096>.
- Jankowska, Ewelina, Joanna Chwialkowska, Mikołaj Stodolny, and Piotr Oleskiewicz-Popiel. 2017. 'Volatile Fatty Acids Production during Mixed Culture Fermentation – The Impact of Substrate

- Complexity and PH'. *Chemical Engineering Journal* 326 (October): 901–10. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.06.021>.
- Jeris, John S., and Perry L. McCarty. 1965. 'The Biochemistry of Methane Fermentation Using C14 Tracers'. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 37 (2): 178–92.
- Jha, A. K., J. Li, L. Nies, and L. Zhang. 2011. 'Research Advances in Dry Anaerobic Digestion Process of Solid Organic Wastes'. *African Journal of Biotechnology* 10 (64): 14242–53.
- Jiang, Jianguo, Yujing Zhang, Kaimin Li, Quan Wang, Changxiu Gong, and Menglu Li. 2013. 'Volatile Fatty Acids Production from Food Waste: Effects of PH, Temperature, and Organic Loading Rate'. *Bioresource Technology* 143 (September): 525–30. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.025>.
- Kacem, M., S. Salvador, and M. Quintard. 2009. 'Textural Characterization of Media Composed of Compacted Pieces of Cardboard and Polyethylene Using a Gas Tracer Method'. *Waste Management* 29 (2): 660–67. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.09.002>.
- Karim, Khurshed, K. Thomas Klasson, Rebecca Hoffmann, Sadie R. Drescher, David W. DePaoli, and M. H. Al-Dahhan. 2005. 'Anaerobic Digestion of Animal Waste: Effect of Mixing'. *Bioresource Technology* 96 (14): 1607–12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.12.021>.
- Kawai, Minako, Norio Nagao, Nobuaki Tajima, Chiaki Niwa, Tatsushi Matsuyama, and Tatsuki Toda. 2014. 'The Effect of the Labile Organic Fraction in Food Waste and the Substrate/Inoculum Ratio on Anaerobic Digestion for a Reliable Methane Yield'. *Bioresource Technology* 157 (April): 174–80. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.018>.
- Kaza, Silpa, Lisa Yao, Perinaz Bhada-Tata, and Frank Van Woerden. 2018. *What a Waste 2.0 : A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050*. Urban Development. Washington DC: World Bank. <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/30317>.
- Kim, Dong-Hoon, Sang-Hyoun Kim, and Hang-Sik Shin. 2009. 'Hydrogen Fermentation of Food Waste without Inoculum Addition'. *Enzyme and Microbial Technology* 45 (3): 181–87. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.06.013>.
- Kim, Jaai, Seung Gu Shin, Gyuseong Han, Vincent O'Flaherty, Changsoo Lee, and Seokhwan Hwang. 2011. 'Common Key Acidogen Populations in Anaerobic Reactors Treating Different Wastewaters: Molecular Identification and Quantitative Monitoring'. *Water Research* 45 (8): 2539–49. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.02.004>.
- Kim, M., C. Y. Gomec, Y. Ahn, and R. E. Speece. 2003. 'Hydrolysis and Acidogenesis of Particulate Organic Material in Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Digestion'. *Environmental Technology* 24 (9): 1183–90. <https://doi.org/10.1080/09593330309385659>.
- Kim, Nag-Jong, Seong-Jin Lim, and Ho Nam Chang. 2018. 'Volatile Fatty Acid Platform: Concept and Application'. In *Emerging Areas in Bioengineering*, edited by Ho Nam Chang, 173–90. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527803293.ch10>.
- Kleerebezem, Robbert, and Mark CM van Loosdrecht. 2007. 'Mixed Culture Biotechnology for Bioenergy Production'. *Current Opinion in Biotechnology, Energy biotechnology / Environmental biotechnology*, 18 (3): 207–12. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.05.001>.
- Larsson, M. H., and N. J. Jarvis. 1999. 'Evaluation of a Dual-Porosity Model to Predict Field-Scale Solute Transport in a Macroporous Soil'. *Journal of Hydrology* 215 (1): 153–71. [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(98\)00267-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(98)00267-4).
- Lazuka, Adèle, Lucas Auer, Sophie Bozonnet, Diego P. Morgavi, Michael O'Donohue, and Guillermina Hernandez-Raquet. 2015. 'Efficient Anaerobic Transformation of Raw Wheat Straw by a Robust Cow Rumen-Derived Microbial Consortium'. *Bioresource Technology* 196 (November): 241–49. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.084>.
- Lee, Sang Rak, Nam Kee Cho, and Won Jai Maeng. 1995. 'Using the Pressure of Biogas Created during Anaerobic Digestion as the Source of Mixing Power'. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 80 (4): 415–17. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(95\)94215-D](https://doi.org/10.1016/0922-338X(95)94215-D).
- Lee, Wee Shen, Adeline Seak May Chua, Hak Koon Yeoh, and Gek Cheng Ngoh. 2014. 'A Review of the Production and Applications of Waste-Derived Volatile Fatty Acids'. *Chemical Engineering Journal* 235 (January): 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.09.002>.
- Lehtomäki, A., S. Huttunen, T.M. Lehtinen, and J.A. Rintala. 2008. 'Anaerobic Digestion of Grass Silage in Batch Leach Bed Processes for Methane Production'. *Bioresource Technology* 99 (8): 3267–78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.072>.
- Lei, Zhongfang, Zhenya Zhang, Weiwei Huang, and Wei Cai. 2015. 'Recent Progress on Dry Anaerobic Digestion of Organic Solid Wastes: Achievements and Challenges'. *Current Organic Chemistry* 19 (5): 400–412.

- Leisner, Jørgen J., Birgit Groth Laursen, Hervé Prévost, Djamel Drider, and Paw Dalgaard. 2007. 'Carnobacterium: Positive and Negative Effects in the Environment and in Foods'. *FEMS Microbiology Reviews* 31 (5): 592–613. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00080.x>.
- Leonzio, Grazia. 2018. 'Study of Mixing Systems and Geometric Configurations for Anaerobic Digesters Using CFD Analysis'. *Renewable Energy* 123 (August): 578–89. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.02.071>.
- Li, Yebo, Stephen Y. Park, and Jiying Zhu. 2011. 'Solid-State Anaerobic Digestion for Methane Production from Organic Waste'. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15 (1): 821–26. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.07.042>.
- Lim, Seong-Jin, Byoung Jin Kim, Chang-Moon Jeong, Jin-dal-rae Choi, Yeong Hee Ahn, and Ho Nam Chang. 2008. 'Anaerobic Organic Acid Production of Food Waste in Once-a-Day Feeding and Drawing-off Bioreactor'. *Bioresource Technology* 99 (16): 7866–74. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.028>.
- Lim, S.-J., D. W. Choi, W. G. Lee, S. Kwon, and H. N. Chang. 2000. 'Volatile Fatty Acids Production from Food Wastes and Its Application to Biological Nutrient Removal'. *Bioprocess Engineering* 22 (6): 543–45. <https://doi.org/10.1007/s004499900109>.
- Lissens, Geert, Philippe Vandevivere, L. De Baere, E. M. Biey, and Willy Verstraete. 2001. 'Solid Waste Digestors: Process Performance and Practice for Municipal Solid Waste Digestion'. *Water Science & Technology* 44 (8): 91–102.
- Liu, Xiaoling, He Liu, Yiyang Chen, Guochen Du, and Jian Chen. 2008. 'Effects of Organic Matter and Initial Carbon–nitrogen Ratio on the Bioconversion of Volatile Fatty Acids from Sewage Sludge'. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 83 (7): 1049–55. <https://doi.org/10.1002/jctb.1913>.
- Liu, Yu. 1996. 'Bioenergetic Interpretation on the S0X0 Ratio in Substrate-Sufficient Batch Culture'. *Water Research* 30 (11): 2766–70. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00157-1).
- Lü, F., P. J. He, L. P. Hao, and L. M. Shao. 2008. 'Impact of Recycled Effluent on the Hydrolysis during Anaerobic Digestion of Vegetable and Flower Waste'. *Water Science and Technology* 58 (8): 1637–43. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.511>.
- Mackie, Roderick I., Bryan A. White, and Marvin P. Bryant. 1991. 'Lipid Metabolism in Anaerobic Ecosystems'. *Critical Reviews in Microbiology* 17 (6): 449–79. <https://doi.org/10.3109/10408419109115208>.
- Makarichi, Luke, Warangkana Jutidamrongphan, and Kua-anan Techato. 2018. 'The Evolution of Waste-to-Energy Incineration: A Review'. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 91 (August): 812–21. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.088>.
- Mäkinen, Annukka E., Marika E. Nissilä, and Jaakko A. Puhakka. 2012. 'Dark Fermentative Hydrogen Production from Xylose by a Hot Spring Enrichment Culture'. *International Journal of Hydrogen Energy*, 12th CHEC, 37 (17): 12234–40. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.05.158>.
- Mata-Alvarez, J., ed. 2003. *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. London: IWA Publishing.
- Meadows, Donella H., Dennis L. Meadows, Jorgen Randers, and William W. Behrens. 1972. *The Limits to Growth. A REPORT FOR THE CLUB OF ROME'S PROJECT ON THE PREDICAMENT OF MANKIND*. New York: Universe Books. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=The_Limits_to_Growth&oldid=871651087.
- Ministère de la Transition écologique et solidaire. 2016. 'Loi de transition énergétique pour la croissance verte'. Ministère de la Transition écologique et solidaire. 13 December 2016. <https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/loi-transition-energetique-croissance-verte>.
- Mizuno, O., Y. Y. Li, and T. Noike. 1998. 'The Behavior of Sulfate-Reducing Bacteria in Acidogenic Phase of Anaerobic Digestion'. *Water Research* 32 (5): 1626–34. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00372-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00372-2).
- Moletta, René. 2008. *La méthanisation*. Paris: Tec & Doc Lavoisier.
- Motte, Jean-Charles. 2013. 'Digestion anaérobie par voie sèche de résidus lignocellulosiques: Etude dynamique des relations entre paramètres de procédés, caractéristiques du substrat et écosystème microbien'. PhD Thesis, Narbonne: Montpellier 2.
- Motte, Jean-Charles, Eric Trably, Renaud Escudié, Jérôme Hamelin, Jean-Philippe Steyer, Nicolas Bernet, Jean-Philippe Delgenes, and Claire Dumas. 2013. 'Total Solids Content: A Key Parameter of Metabolic Pathways in Dry Anaerobic Digestion'. *Biotechnology for Biofuels* 6 (November): 164. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-164>.

- Myint, M., and N. Nirmalakhandan. 2006. 'Evaluation of First-Order, Second-Order, and Surface-Limiting Reactions in Anaerobic Hydrolysis of Cattle Manure'. *Environmental Engineering Science* 23 (6): 970–80. <https://doi.org/10.1089/ees.2006.23.970>.
- Nouaille, Régis, Jérémy Pessiot, and Afyren. 2015. Procédé de production de molécules organiques à partir de biomasse fermentescible, issued 17 July 2015. <https://www.google.com/patents/WO2016012701A1?cl=fr>.
- Novak, John T., and Dale A. Carlson. 1970. 'The Kinetics of Anaerobic Long Chain Fatty Acid Degradation'. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 42 (11): 1932–43.
- Oh, Sung T., and Alastair D. Martin. 2010. 'Long Chain Fatty Acids Degradation in Anaerobic Digester: Thermodynamic Equilibrium Consideration'. *Process Biochemistry* 45 (3): 335–45. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.10.006>.
- Oude Elferink, Stefanie J. W. H., Janneke Krooneman, Jan C. Gottschal, Sierk F. Spoelstra, Folkert Faber, and Frank Driehuis. 2001. 'Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2-Propanediol by *Lactobacillus Buchneri*'. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (1): 125–32. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.125-132.2001>.
- Paillet, Florian. 2017. 'Optimisation d'un procédé à deux étapes pour la production d'un mélange H₂/CH₄ (biohythane) à partir de la fraction fermentescible des ordures ménagères'. PhD Thesis, Narbonne: Montpellier SupAgro.
- Parawira, Wilson, Marika Murto, John S Read, and Bo Mattiasson. 2004. 'Volatile Fatty Acid Production during Anaerobic Mesophilic Digestion of Solid Potato Waste'. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 79 (7): 673–77. <https://doi.org/10.1002/jctb.1012>.
- Parkin, Gene F., and William F. Owen. 1986. 'Fundamentals of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludges'. *Journal of Environmental Engineering* 112 (5). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(1986\)112:5\(867\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1986)112:5(867)).
- Pavlostathis, S. G., and E. Giraldo-Gomez. 1991. 'Kinetics of Anaerobic Treatment: A Critical Review'. *Critical Reviews in Environmental Control* 21 (5–6): 411–90. <https://doi.org/10.1080/10643389109388424>.
- Pavlostathis, S. G., and E. Giraldo-Gomez. 1991. 'Kinetics of Anaerobic Treatment'. *Water Science and Technology* 24 (8): 35–59.
- Pommier, S., D. Chenu, M. Quintard, and X. Lefebvre. 2007. 'A Logistic Model for the Prediction of the Influence of Water on the Solid Waste Methanization in Landfills'. *Biotechnology and Bioengineering* 97 (3): 473–82. <https://doi.org/10.1002/bit.21241>.
- Pratt, S., D. Liew, D. J. Batstone, A. G. Werker, F. Morgan-Sagastume, and P. A. Lant. 2012. 'Inhibition by Fatty Acids during Fermentation of Pre-Treated Waste Activated Sludge'. *Journal of Biotechnology* 159 (1): 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.02.001>.
- Rafieenia, Razieh, Maria Cristina Lavagnolo, and Alberto Pivato. 2018. 'Pre-Treatment Technologies for Dark Fermentative Hydrogen Production: Current Advances and Future Directions'. *Waste Management* 71 (January): 734–48. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.024>.
- Raposo, F., R. Borja, M. A. Martín, A. Martín, M. A. de la Rubia, and B. Rincón. 2009. 'Influence of Inoculum–substrate Ratio on the Anaerobic Digestion of Sunflower Oil Cake in Batch Mode: Process Stability and Kinetic Evaluation'. *Chemical Engineering Journal* 149 (1–3): 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.10.001>.
- Reddy, Krishna R., Hiroshan Hettiarachchi, Naveen Parakalla, Janardhanan Gangathulasi, Jean Bogner, and Thomas Lagier. 2009. 'Hydraulic Conductivity of MSW in Landfills'. *Journal of Environmental Engineering* 135 (8): 677–83. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000031](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000031).
- Richard, Tom L., Adrie H. M. Veeken, Vinnie de Wilde, and H. V. M. (Bert) Hamelers. 2004. 'Air-Filled Porosity and Permeability Relationships during Solid-State Fermentation'. *Biotechnology Progress* 20 (5): 1372–81. <https://doi.org/10.1021/bp0499505>.
- Riggio, S., M. Torrijos, G. Vives, G. Esposito, E. D. van Hullebusch, J. P. Steyer, and R. Escudí. 2017. 'Leachate Flush Strategies for Managing Volatile Fatty Acids Accumulation in Leach-Bed Reactors'. *Bioresource Technology* 232 (Supplement C): 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.060>.
- Rodríguez-Pimentel, Reyna I., Suyen Rodríguez-Pérez, Oscar Monroy-Hermosillo, and Florina Ramírez-Vives. 2015. 'Effect of Organic Loading Rate on the Performance of Two-Stage Anaerobic Digestion of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste (OFMSW)'. *Water Science & Technology* 72 (3): 384. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.223>.

- Rohart, Florian, Benoît Gautier, Amrit Singh, and Kim-Anh Lê Cao. 2017. 'MixOmics: An R Package for 'omics Feature Selection and Multiple Data Integration'. *PLOS Computational Biology* 13 (11): e1005752. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005752>.
- Rosenberg, Eugene, Edward F. DeLong, Stephen Lory, Erko Stackebrandt, and Fabiano Thompson, eds. 2014a. *The Prokaryotes - Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. 4th Edition. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1>.
- . , eds. 2014b. *The Prokaryotes - Firmicutes and Tenericutes*. 4th Edition. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-30120-9>.
- Sanders, Wendeline Theodora Maria. 2001. 'Anaerobic Hydrolysis during Digestion of Complex Substrates'. PhD Thesis, Wageningen, The Netherlands: Wageningen University.
- Sans, C., J. Mata-Alvarez, F. Cecchi, and P. Pavan. 1993. 'Volatile Fatty Acids Production by Anaerobic Fermentation of Urban Organic Wastes'. *PREPRINTS OF PAPERS-AMERICAN CHEMICAL SOCIETY DIVISION FUEL CHEMISTRY* 38: 886–886.
- Selvam, Ammaiappan, Su Yun Xu, Xiang Yang Gu, and Jonathan W. C. Wong. 2010. 'Food Waste Decomposition in Leachbed Reactor: Role of Neutralizing Solutions on the Leachate Quality'. *Bioresource Technology* 101 (6): 1707–14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.008>.
- Shewani, Anil. 2016. 'Méthanisation discontinue en voie solide statique à percolation : caractérisation et modélisation d'un système réactif à double porosité'. PhD Thesis, Toulouse: INSA de Toulouse.
- Shewani, Anil, Pierre Horgue, Sébastien Pommier, Gérald Debenest, Xavier Lefebvre, Sophie Decremps, and Etienne Paul. 2017. 'Assessment of Solute Transfer Between Static and Dynamic Water During Percolation Through a Solid Leach Bed in Dry Batch Anaerobic Digestion Processes'. *Waste and Biomass Valorization*, July. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0011-1>.
- Shewani, Anil, Pierre Horgue, Sébastien Pommier, Gérald Debenest, Xavier Lefebvre, Emmanuel Gandon, and Etienne Paul. 2015. 'Assessment of Percolation through a Solid Leach Bed in Dry Batch Anaerobic Digestion Processes'. *Bioresource Technology* 178 (February): 209–16. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.017>.
- Shin, Hang-Sik, Jong-Ho Youn, and Sang-Hyoun Kim. 2004. 'Hydrogen Production from Food Waste in Anaerobic Mesophilic and Thermophilic Acidogenesis'. *International Journal of Hydrogen Energy* 29 (13): 1355–63. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2003.09.011>.
- Siegrist, H., D. Renggli, and W. Gujer. 1993. 'Mathematical Modelling of Anaerobic Mesophilic Sewage Sludge Treatment'. *Water Science and Technology* 27 (2): 25–36. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0070>.
- Sivagurunathan, Periyasamy, Gopalakrishnan Kumar, Jeong-Hoon Park, Jong-Hun Park, Hee-Deung Park, Jeong-Jun Yoon, and Sang-Hyoun Kim. 2016. 'Feasibility of Enriched Mixed Cultures Obtained by Repeated Batch Transfer in Continuous Hydrogen Fermentation'. *International Journal of Hydrogen Energy* 41 (7): 4393–4403. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.06.133>.
- Sofer, Samir S., and Oskar R. Zaborsky, eds. 1981. *Biomass Conversion Processes for Energy and Fuels*. Boston, MA: Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0301-6>.
- Sorrell, Steve, Jamie Speirs, Roger Bentley, Adam Brandt, and Richard Miller. 2010. 'Global Oil Depletion: A Review of the Evidence'. *Energy Policy*, Special Section on Carbon Emissions and Carbon Management in Cities with Regular Papers, 38 (9): 5290–95. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2010.04.046>.
- Sponza, Delia Teresa, and Osman Nuri Ağdağ. 2004. 'Impact of Leachate Recirculation and Recirculation Volume on Stabilization of Municipal Solid Wastes in Simulated Anaerobic Bioreactors'. *Process Biochemistry* 39 (12): 2157–65. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.012>.
- Stabnikova, Olena, Xue-Yan Liu, and Jing-Yuan Wang. 2008. 'Anaerobic Digestion of Food Waste in a Hybrid Anaerobic Solid–liquid System with Leachate Recirculation in an Acidogenic Reactor'. *Biochemical Engineering Journal* 41 (2): 198–201. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.05.008>.
- Stoltz, Guillaume. 2009. 'Transferts en milieu poreux biodégradable, non saturé, déformable et à double porosité: application aux ISDND'. PhD Thesis, Grenoble: Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- Stoltz, Guillaume, Jean-Pierre Gourc, and Laurent Oxarango. 2010a. 'Characterisation of the Physico-Mechanical Parameters of MSW'. *Waste Management* 30 (8–9): 1439–49. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.03.016>.
- . 2010b. 'Liquid and Gas Permeabilities of Unsaturated Municipal Solid Waste under Compression'. *Journal of Contaminant Hydrology* 118 (1–2): 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2010.07.008>.

- Stoltz, Guillaume, Anne-Julie Tinet, Matthias J. Staub, Laurent Oxarango, and Jean-Pierre Gourc. 2011. 'Moisture Retention Properties of Municipal Solid Waste in Relation to Compression'. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 138 (4): 535–543.
- Sträuber, Heike, Martina Schröder, and Sabine Kleinsteuber. 2012. 'Metabolic and Microbial Community Dynamics during the Hydrolytic and Acidogenic Fermentation in a Leach-Bed Process'. *Energy, Sustainability and Society* 2 (1): 13. <https://doi.org/10.1186/2192-0567-2-13>.
- Strazzer, Giuseppe, Federico Battista, Natalia Herrero Garcia, Nicola Frison, and David Bolzonella. 2018. 'Volatile Fatty Acids Production from Food Wastes for Biorefinery Platforms: A Review'. *Journal of Environmental Management* 226 (November): 278–88. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.08.039>.
- Syndicat mixte du Point Fort. 2008. 'Site Internet Du Syndicat Mixte Du Point Fort'. 2008. <https://smpf50.fr/accueil.php>.
- Tamis, J., B.m. Joose, M.C.M.van Loosdrecht, and R. Kleerebezem. 2015. 'High-Rate Volatile Fatty Acid (VFA) Production by a Granular Sludge Process at Low PH'. *Biotechnology and Bioengineering* 112 (11): 2248–55. <https://doi.org/10.1002/bit.25640>.
- Temudo, Margarida F., Robbert Kleerebezem, and Mark van Loosdrecht. 2007. 'Influence of the PH on (Open) Mixed Culture Fermentation of Glucose: A Chemostat Study'. *Biotechnology and Bioengineering* 98 (1): 69–79. <https://doi.org/10.1002/bit.21412>.
- Temudo, Margarida F., Gerard Muyzer, Robbert Kleerebezem, and Mark C. M. van Loosdrecht. 2008. 'Diversity of Microbial Communities in Open Mixed Culture Fermentations: Impact of the PH and Carbon Source'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80 (6): 1121–30. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1669-x>.
- Thauer, R. K., K. Jungermann, and K. Decker. 1977. 'Energy Conservation in Chemotrophic Anaerobic Bacteria.' *Bacteriological Reviews* 41 (1): 100–180.
- The Ellen MacArthur Foundation. 2015. 'Towards a Circular Economy: Business Rationale for an Accelerated Transition'. The Ellen MacArthur Foundation. https://www.ellenmacarthurfoundation.org/assets/downloads/TCE_Ellen-MacArthur-Foundation_9-Dec-2015.pdf.
- Tinet, A-J., L. Oxarango, R. Bayard, H. Benbelkacem, G. Stoltz, M.J. Staub, and J.-P. Gourc. 2011. 'Experimental and Theoretical Assessment of the Multi-Domain Flow Behaviour in a Waste Body during Leachate Infiltration'. *Waste Management* 31 (8): 1797–1806. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.003>.
- Tinet, Anne-Julie. 2011. 'Contribution à l'étude des transferts de fluides dans les installations de stockage des déchets non dangereux'. PhD Thesis, Grenoble: Université de Grenoble.
- Toerien, D. F. 1967. 'Enrichment Culture Studies on Aerobic and Facultative Anaerobic Bacteria Found in Anaerobic Digesters'. *Water Research* 1 (2): 147–55. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(67\)90081-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(67)90081-4).
- Traverso, P., P. Pavan, D. Bolzonella, L. Innocenti, F. Cecchi, and J. Mata-Alvarez. 2000. 'Acidogenic Fermentation of Source Separated Mixtures of Vegetables and Fruits Wasted from Supermarkets'. *Biodegradation* 11 (6): 407–414.
- Van Genuchten, M. T. 1980. 'A Closed-Form Equation for Predicting the Hydraulic Conductivity of Unsaturated Soils'. *Journal of the Soil Science Society of America (USA)* 44 (5): 892–98. <https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400050002x>.
- Varrone, Cristiano, Silvia Rosa, Floriana Fiochetti, Barbara Giussani, Giulio Izzo, Giulia Massini, Antonella Marone, Antonella Signorini, and Aijie Wang. 2013. 'Enrichment of Activated Sludge for Enhanced Hydrogen Production from Crude Glycerol'. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2011 Zing International Hydrogen and Fuel Cells Conference: from Nanomaterials to Demonstrators, 38 (3): 1319–31. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.11.069>.
- Vavilin, V. A., B. Fernandez, J. Palatsi, and X. Flotats. 2008. 'Hydrolysis Kinetics in Anaerobic Degradation of Particulate Organic Material: An Overview'. *Waste Management* 28 (6): 939–51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2007.03.028>.
- Vavilin, V. A., S. V. Rytov, and L. Ya. Lokshina. 1996. 'A Description of Hydrolysis Kinetics in Anaerobic Degradation of Particulate Organic Matter'. *Bioresource Technology* 56 (2–3): 229–37. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00034-X](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00034-X).
- Vavilin, Vasily A., Sergey V. Rytov, Ljudmila Ya. Lokshina, Jukka A. Rintala, and Gerasimos Lyberatos. 2001. 'Simplified Hydrolysis Models for the Optimal Design of Two-Stage Anaerobic Digestion'. *Water Research* 35 (17): 4247–51. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00148-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00148-8).

- Vedrenne, F., F. Béline, P. Dabert, and N. Bernet. 2008. 'The Effect of Incubation Conditions on the Laboratory Measurement of the Methane Producing Capacity of Livestock Wastes'. *Bioresource Technology* 99 (1): 146–55. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.043>.
- Veeken, Adrie, Sergey Kalyuzhnyi, Heijo Scharff, and Bert Hamelers. 2000. 'Effect of PH and VFA on Hydrolysis of Organic Solid Waste'. *Journal of Environmental Engineering* 126 (12): 1076–1081.
- Veeken, A.H.M, and B.V.M. Hamelers. 2000. 'Effect of Substrate-Seed Mixing and Leachate Recirculation on Solid State Digestion of Biowaste'. *Water Science and Technology* 41 (3): 255–62.
- Venkiteshwaran, K., K. Milferstedt, J. Hamelin, and D.H. Zitomer. 2016. 'Anaerobic Digester Bioaugmentation Influences Quasi Steady State Performance and Microbial Community'. *Water Research* 104 (November): 128–36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.012>.
- Viéitez, E. R, and S Ghosh. 1999. 'Biogasification of Solid Wastes by Two-Phase Anaerobic Fermentation'. *Biomass and Bioenergy* 16 (5): 299–309. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(99\)00002-1](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(99)00002-1).
- Wang, Kun, Jun Yin, Dongsheng Shen, and Na Li. 2014. 'Anaerobic Digestion of Food Waste for Volatile Fatty Acids (VFAs) Production with Different Types of Inoculum: Effect of PH'. *Bioresource Technology* 161 (June): 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.088>.
- Wang, Quan, Jianguo Jiang, Yujing Zhang, and Kaimin Li. 2015. 'Effect of Initial Total Solids Concentration on Volatile Fatty Acid Production from Food Waste during Anaerobic Acidification'. *Environmental Technology* 36 (15): 1884–91. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1015454>.
- Wang, Xu-Sheng, and Jiu Jimmy Jiao. 2004. 'Analysis of Soil Consolidation by Vertical Drains with Double Porosity Model'. *International Journal for Numerical and Analytical Methods in Geomechanics* 28 (14): 1385–1400. <https://doi.org/10.1002/nag.391>.
- Warnecke, Tanya, and Ryan T. Gill. 2005. 'Organic Acid Toxicity, Tolerance, and Production in Escherichia Coli Biorefining Applications'. *Microbial Cell Factories* 4 (1): 25. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-4-25>.
- Wedwitschka, Harald, Earl Jenson, and Jan Liebetrau. 2016. 'Feedstock Characterization and Suitability Assessment for Dry Anaerobic Batch Digestion'. *Chemical Engineering & Technology*, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/ceat.201500413>.
- Wu, Yu-Shu. 2016. 'Multiphase Fluids in Porous Media'. In *Multiphase Fluid Flow in Porous and Fractured Reservoirs*, 15–27. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803848-2.00002-7>.
- Xie, S., P.G. Lawlor, J.P. Frost, G. Wu, and X. Zhan. 2012. 'Hydrolysis and Acidification of Grass Silage in Leaching Bed Reactors'. *Bioresource Technology* 114 (June): 406–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.008>.
- Xiong, Ziyi, Abid Hussain, Jangho Lee, and Hyung-Sool Lee. 2019. 'Food Waste Fermentation in a Leach Bed Reactor: Reactor Performance, and Microbial Ecology and Dynamics'. *Bioresource Technology* 274 (February): 153–61. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.066>.
- Xu, Su Yun, Obuli P. Karthikeyan, Ammaiappan Selvam, and Jonathan W.C. Wong. 2012. 'Effect of Inoculum to Substrate Ratio on the Hydrolysis and Acidification of Food Waste in Leach Bed Reactor'. *Bioresource Technology* 126 (December): 425–30. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.059>.
- Xu, Su Yun, Hoi Pui Lam, O. Parthiba Karthikeyan, and Jonathan W.C. Wong. 2011a. 'Optimization of Food Waste Hydrolysis in Leach Bed Coupled with Methanogenic Reactor: Effect of PH and Bulking Agent'. *Bioresource Technology* 102 (4): 3702–8. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.095>.
- . 2011b. 'Optimization of Food Waste Hydrolysis in Leach Bed Coupled with Methanogenic Reactor: Effect of PH and Bulking Agent'. *Bioresource Technology* 102 (4): 3702–8. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.095>.
- Xu, Suyun, Ammaiappan Selvam, Obuli. P. Karthikeyan, and Jonathan W. C. Wong. 2014. 'Responses of Microbial Community and Acidogenic Intermediates to Different Water Regimes in a Hybrid Solid Anaerobic Digestion System Treating Food Waste'. *Bioresource Technology*, Special Issue on Advance Biological Treatment Technologies for Sustainable Waste Management (ICSWHK2013), 168 (Supplement C): 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.090>.
- Yap, S.D., S. Astals, P.D. Jensen, D.J. Batstone, and S. Tait. 2016. 'Pilot-Scale Testing of a Leachbed for Anaerobic Digestion of Livestock Residues on-Farm'. *Waste Management*, March. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.02.031>.

- Yesil, H., A. E. Tugtas, A. Bayrakdar, and B. Calli. 2014. 'Anaerobic Fermentation of Organic Solid Wastes: Volatile Fatty Acid Production and Separation'. *Water Science & Technology* 69 (10): 2132. <https://doi.org/10.2166/wst.2014.132>.
- Yin, Jun, Xiaoqin Yu, Kun Wang, and Dongsheng Shen. 2016. 'Acidogenic Fermentation of the Main Substrates of Food Waste to Produce Volatile Fatty Acids'. *International Journal of Hydrogen Energy* 41 (46): 21713–20. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.07.094>.
- . 2016. 'Acidogenic Fermentation of the Main Substrates of Food Waste to Produce Volatile Fatty Acids'. *International Journal of Hydrogen Energy*. Accessed 24 August 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.07.094>.
- Yin, Jun, Xiaoqin Yu, Yeer Zhang, Dongsheng Shen, Meizhen Wang, Yuyang Long, and Ting Chen. 2016. 'Enhancement of Acidogenic Fermentation for Volatile Fatty Acid Production from Food Waste: Effect of Redox Potential and Inoculum'. *Bioresource Technology* 216 (September): 996–1003. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.053>.
- Yousuf, Ahasa, Juan-Rodrigo Bastidas-Oyanedel, and Jens Ejbye Schmidt. 2018. 'Effect of Total Solid Content and Pretreatment on the Production of Lactic Acid from Mixed Culture Dark Fermentation of Food Waste'. *Waste Management* 77 (July): 516–21. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.04.035>.
- Zeiss, Chris, and Wade Major. 1992. 'Moisture Flow through Municipal Solid Waste: Patterns and Characteristics'. *Journal of Environmental Systems* 22 (3): 211–31. <https://doi.org/10.2190/KBUD-RFHT-JYHP-A35E>.
- Zhang, B., L. L. Zhang, S. C. Zhang, H. Z. Shi, and W. M. Cai. 2005. 'The Influence of PH on Hydrolysis and Acidogenesis of Kitchen Wastes in Two-Phase Anaerobic Digestion'. *Environmental Technology* 26 (3): 329–39. <https://doi.org/10.1080/09593332608618563>.
- Zhou, Miaomiao, Binghua Yan, Jonathan W.C. Wong, and Yang Zhang. 2018. 'Enhanced Volatile Fatty Acids Production from Anaerobic Fermentation of Food Waste: A Mini-Review Focusing on Acidogenic Metabolic Pathways'. *Bioresource Technology* 248 (January): 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>.
- Zhou, Miaomiao, Jun Zhou, Ming Tan, Juan Du, Binghua Yan, Jonathan W. C. Wong, and Yang Zhang. 2017. 'Enhanced Carboxylic Acids Production by Decreasing Hydrogen Partial Pressure during Acidogenic Fermentation of Glucose'. *Bioresource Technology* 245 (December): 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.152>.

