

# Campagne expérimentale et analyse des résultats

Dans ce chapitre nous décrivons les expérimentations en laboratoire qui ont été menées pour répondre aux besoins et objectifs de cette thèse. Considérant l'importance de la teneur en eau dans la dégradation anaérobie des déchets et la production de méthane, nous étudions l'effet de variation de ce paramètre, ainsi que de la densité des déchets (compactage) sur les phénomènes biologiques. La densité des déchets influe la capacité de rétention de l'eau dans les déchets (Powrie, 1995 ; Zornberg, 1999 ; Lanini, 1998 ; Ademe, 2001) et influence donc indirectement les phénomènes biologiques de dégradation et de production de biogaz.

Nous examinons dans ce chapitre, l'effet de la saturation et de la densité des déchets sur la dégradation anaérobie, la production de biogaz et le développement de la biomasse méthanogène grâce à la mise en place de treize pilotes de l'ordre de 2 litres. Nous étudions quatre niveaux de densité (compactage) et trois niveaux de saturation : saturation minimum, capacité au champ et saturation maximum (la définition de ces paramètres est présentée dans le chapitre 1). La température est quasiment constante car les pilotes sont placés dans une chambre dont la température varie entre 33°C et 35°C. Nous présentons les résultats de production de biogaz dans les pilotes, ainsi que l'évolution des bactéries fermentatives et des populations méthanogènes et nous discutons l'effet de la saturation et de la densité sur les résultats. Le modèle couplé de type II est appliqué à un des pilotes expérimentaux pendant l'injection de lixiviat pour valider le modèle avec les résultats expérimentaux et les résultats sont présentés et discutés. Nous discutons également dans ce chapitre des difficultés expérimentales rencontrées et de leur influence sur certains résultats.

## 4.1 Matériel et méthodes

### 4.1.1 Matériel

Pour étudier l'effet de la saturation et de la densité sur la dégradation anaérobie des déchets ménagers et la production de méthane, des cellules cylindriques en PVC de 15cm de diamètre ont été réalisées et exploitées comme des bioréacteurs (Figure 4-1). Les cellules sont remplies de déchets ménagers broyés en morceaux de 1-2cm (Barlaz et al. 1992). Environ 25kg de déchets ménagers broyés ont été préparés pour cette expérimentation en laboratoire. Les déchets sont compactés en quelques étapes jusqu'à remplissage total des cellules à l'aide d'une presse hydraulique. Un essai mécanique a été réalisé sur une cellule en PVC pour valider le choix théorique du matériau des cellules et estimer le facteur de sécurité des cellules sous les pressions appliquées. Le facteur de sécurité pour la cellule en PVC sous une charge de 400 kPa a été estimé plus à de 2. Les cellules sont fermées avec des couvercles en PVC opaque après avoir compacté les déchets. La hauteur des déchets dans les cellules est réglée à l'aide de tiges filetées et d'écrous, correspondant au niveau de compactage (densité) désiré pour chaque cellule expérimentale. Nous

avons saturé les déchets par la vanne de vidange du lixiviat (Figure 4-1) avec une pompe dont le débit de pompage est réglable manuellement. Les dimensions des cellules sont données dans le Tableau 4-1.

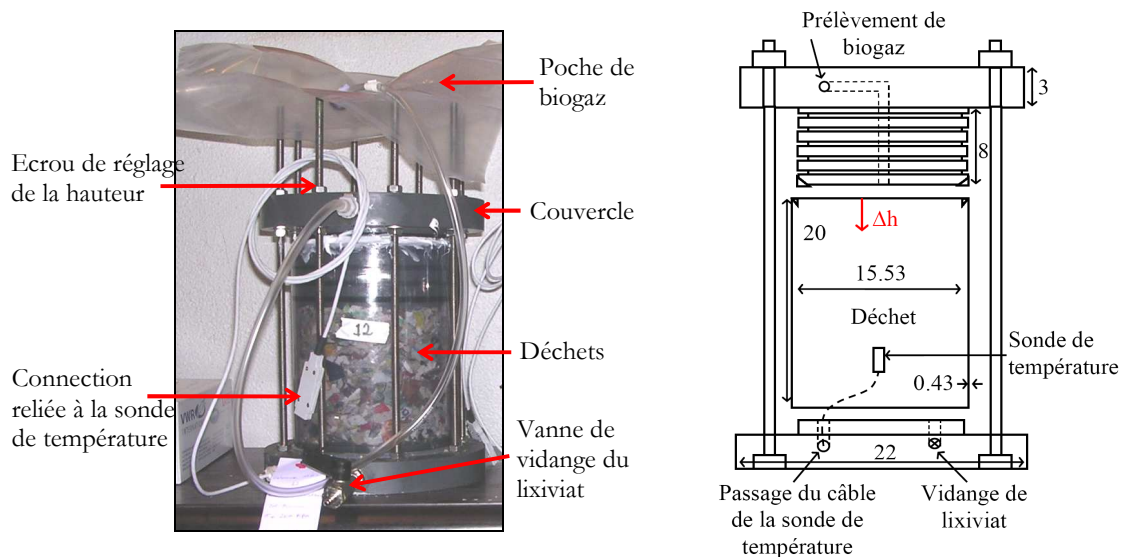


Figure (4-1) Une des 13 cellules expérimentales (à gauche) et les dimensions des cellules (à droite)

Tableau 4-1 Dimensions de cellule expérimentale

Paramètre	Valeur (cm)
Hauteur Total	26
Hauteur intérieure	20
Diamètre intérieur	15,1
épaisseur de parois	0,43

La hauteur intérieure est égale à 20cm. Une géogridde d'1 cm d'épaisseur est placée en fond de cellule pour éviter le colmatage de la vidange par les déchets, ce qui laisse une hauteur utile de 19cm pour les déchets. La vanne de vidange reste ensuite fermée pour garder l'étanchéité des cellules et elle ne sera pas ouverte avant la fin de l'expérimentation, où elle servira à récupérer le lixiviat pour les analyses de pH, d'AGV, de DCO et de microbiologie moléculaire. Une poche de biogaz est prévue pour récupérer le biogaz produit dans les pilotes et prévenir une augmentation de la pression dans les cellules. L'avantage de ces poches est qu'elles permettent de ne pas déplacer les cellules pour récupérer et mesurer le biogaz. D'autre part elles s'attachent facilement à l'appareil d'analyse de biogaz (micro-GC). Un capteur de température (sondes PT100, classe A, Pyro-système) est installé au cœur de chaque cellule et est relié par un câble à un connecteur raccordé à une centrale d'acquisition (Figure 4-1). Le nombre des cellules est choisi par rapport aux niveaux de la saturation et de la densité que nous avons choisi d'étudier : quatre niveaux de densité (compactage), 450, 490, 540 et 580 kg/m<sup>3</sup>, et trois niveaux de saturation : saturation minimum (Smin), capacité au champ (CCh) et saturation maximum (Smax). Cela représente douze cellules plus une cellule témoin sec, soit treize pilotes au total. Nous avons numéroté les treize pilotes comme suit :

Pilote 1 : (Smax, 450 kg/m<sup>3</sup>)      Pilote 5 : (CCh, 450 kg/m<sup>3</sup>)      Pilote 9 : (Smin, 450 kg/m<sup>3</sup>)  
 Pilote 2 : (Smax, 490 kg/m<sup>3</sup>)      Pilote 6 : (CCh, 490 kg/m<sup>3</sup>)      Pilote 10 : (Smin, 490 kg/m<sup>3</sup>)

Pilote 3 : (Smax, 540 kg/m <sup>3</sup> )	Pilote 7 : (CCh, 540 kg/m <sup>3</sup> )	Pilote 11 : (Smin, 540 kg/m <sup>3</sup> )
Pilote 4 : (Smax, 580 kg/m <sup>3</sup> )	Pilote 8 : (CCh, 580 kg/m <sup>3</sup> )	Pilote 12 : (Smin, 580 kg/m <sup>3</sup> )
		Pilote 13 : (Sec , 490 kg/m <sup>3</sup> )

Le compactage des déchets est un des paramètres qui peuvent influencer la dégradation des déchets ménagers en conditions anaérobies. Le compactage des déchets permet la distribution des nutriments et un meilleur contact entre les substrats et les micro-organismes (Yuen et al., 1995). Toutefois, une augmentation de la densité pour un déchet déjà humide peut ralentir la production de méthane. En effet, la présence d'humidité stimule la phase acide pouvant ainsi provoquer une production massive d'AGV (Yuen et al., 1995). Un compactage modéré est préférable pour obtenir des perméabilités suffisamment élevées pour la circulation des liquides.

L'effet du broyage des déchets sur la biodégradation reste controversé. Il permettrait d'augmenter la surface spécifique des déchets pour la biodégradation et la surface d'adsorption des lixiviats, d'homogénéiser la fraction biodégradable et les propriétés hydrauliques des déchets, de supprimer les barrières à l'humidité constituées de matériaux imperméables et d'améliorer la distribution de l'eau dans les déchets. Certains auteurs ont ainsi montré un effet positif du broyage des déchets en comparant les résultats d'une expérience avec et sans broyage : une diminution de la fraction organique du déchet solide et du temps de biodégradation (Sponza et Agdag, 2005). Toutefois, cette étude est un cas très particulier puisque le déchet étudié était constitué de 90 % de matières organiques. D'autres études suggèrent que le broyage peut induire un effet négatif sur la dégradation des déchets en favorisant une hydrolyse initiale excessive et la formation d'acides organiques qui inhibent la méthanogenèse. De plus, un broyage trop fin peut entraîner des difficultés de circulation des fluides gazeux et liquides. (Christensen et Kjeldsen, 1989).

#### 4.1.2 Les déchets

Les catégories de déchets ménagers non dangereux définis par l'Ademe (1993) (Tableau 4-2) ont été collectées au Cemagref d'Antony. Les déchets collectés ont été séchés (dans la température ambiante) sauf les déchets de cuisine. Les déchets ont ensuite été broyés séparément en morceaux de 1-2 cm.

Tableau 4-2 Proportions de MODECOM (Ademe, 1993)

Catégories	Masse sèche (%)
Déchets putrescibles (déchets de cuisine et verts...)	15,80
Papiers (emballages, journaux, magazines...)	17,70
Cartons (cartons plats, ondulés, autres...)	9,20
Complexes (emballages complexes type Tétra brick)	1,60
Textiles (emballages textiles, autres...)	3,00
Textiles sanitaires (couches, coton hygiénique)	1,90
Plastiques (PE, PVC, PET, polystyrène)	12,70
Combustibles non classés (bois, caoutchouc...)	3,90
Verres	19,10
Métaux (aluminium, métaux ferreux, cuivre...)	5,60
Incombustibles non classés (pierres, gravats...)	8,90
Déchets spéciaux (chiffons souillés, piles...)	0,70

Pour les déchets de cuisine nous avons considéré les composantes suivantes (Tableau 4-3), selon les proportions utilisées par Vignerot (2005). Pour trouver la masse sèche des déchets de cuisine nous avons réalisé un calcul inverse. Nous avons défini la masse sèche de déchets à introduire

dans les pilotes, dont 15,8% déchets de cuisine selon l'Ademe (1993). Nous avons mesuré la teneur en eau d'un échantillon de déchets de cuisine avec les composantes et leur pourcentage présentés au Tableau 4-3, en le laissant à l'étuve pendant 8 heures à température de 105°C et 16 heures à 85°C. Connaissant la teneur en eau des déchets de cuisine, 65%, et leur masse sèche dans un échantillon de déchets ménagers, nous avons calculé la masse humide nécessaire de déchets de cuisine.

Tableau 4-3 Composantes de déchets de cuisine

Matériau	Masse humide (%)
Pain sec	7
Epluchure de pomme de terre	53
Pomme de terre cuite	20
Viande	7
Marc de café	6
Feuille morte	6

### 4.1.3 Le lixiviat

Le lixiviat utilisé provient d'un casier d'installation de stockage de déchets ménagers non dangereux en phase de méthanogenèse stable (Vert-le-Grand). Après prélèvement, le lixiviat a été placé à 4 °C.

### 4.1.4 Quantification du volume de biogaz

La quantification du volume présent dans la poche, Figure 4-1, se fait par poussée d'Archimède: tout corps immergé partiellement ou totalement dans un fluide (liquide ou gaz) subit de la part de celui-ci une poussée verticale, dirigée vers le haut, appelée poussée d'Archimède, dont l'intensité est égale au poids de fluide déplacé. Afin de connaître ce poids, nous exerçons une poussée sur la poche de biogaz dans une bassine d'eau placée sur une balance. Le poids d'eau déplacé correspond au volume de gaz. Nous soustrayons à ce poids celui de la poche vide.

### 4.1.5 Remplissage des cellules : les problèmes et leurs solutions

Le remplissage des cellules a été réalisé en trois étapes. À chaque étape nous avons mis en place une partie des déchets dans la cellule, nous l'avons compactée et nous avons poursuivi les étapes de remplissage et de compactage jusqu'à remplissage total de la cellule. Pour nos essais, nous avons choisi quatre niveaux de densité sèche (kg/m<sup>3</sup>): 450, 490, 540, 580 qui sont équivalents aux profondeurs de 2, 4, 8 et 13m, respectivement, selon Olivier (2003) (chapitre 2). Considérant la profondeur de l'ISDND-bioréactive dont nous comparons les résultats au modèle numérique (10-12 m), ce choix nous semble raisonnable. Au cours du remplissage et du compactage des déchets, nous avons constaté qu'il n'était pas possible techniquement d'atteindre des valeurs supérieures de densité.

Pour le capteur de température installé au cœur des cellules nous avons prévu un câble assez long pour empêcher que les capteurs soient endommagés pendant l'application de la charge et le compactage. Malgré cette précaution, les capteurs de température étaient mal placés et le câble se révélait trop court. Nous avons alors décidé de remplir à peu près la moitié de chaque cellule à la première étape de remplissage et de compacter les déchets très lentement jusqu'au niveau du capteur de température, ce qui a permis de protéger ce dernier dans chaque cellule. Les problèmes de capteurs de température et de compactage des déchets nous ont conduit, après quelques essais sur la cellule témoin, vers une masse totale de 1,3 kg de déchets secs plus déchets

de cuisine pour chaque pilote (860g de déchets sec et 440g de déchets de cuisine avec 65% de teneur en eau) soit 1,014 kg de déchets sec total. Nous avons choisi par la suite les quatre niveaux de densité pour lesquels, quatre niveaux d'enfoncement  $\Delta h$  du couvercle dans la cellule (Figure 4-1) ont été définis (Tableau 4-4). Le déchet sec gonfle très rapidement malgré une charge appliquée assez grande. Alors pour pouvoir remplir les cellules avec assez de déchets pour obtenir des valeurs de densité supérieure à  $580 \text{ kg/m}^3$  dans chaque cellule, il faudrait une marge de 6-8 cm supplémentaire.

Tableau 4-4 Valeurs de densités choisies pour les déchets et enfoncement du couvercle dans la cellule correspondant à chaque densité

Densité ( $\text{kg/m}^3$ )	$\Delta h$ (cm)
450	0,5
490	4,5
540	5,5
580	6,5

Nous avons préparé 13 sacs poubelles dont chacun a contenu 860g de déchets secs selon les proportions indiquées précédemment. Les déchets de cuisine ont été préparés séparément pour chaque cellule et conservés à  $4^\circ\text{C}$  pendant le temps de la préparation et de la mise en place des cellules.

#### 4.1.6 Inoculation des déchets

Afin d'accélérer la dégradation des déchets et d'atteindre plus rapidement la phase anaérobie méthanogène, nous avons inoculé les déchets avec des boues. Huit litres de boues ont été récupérés à la sortie du digesteur méthanogène de la station d'épuration d'Evry. Les boues liquides ont été centrifugées au Cemagref pour séparer l'eau de la partie solide afin de ne pas trop modifier les caractéristiques du lixiviat qu'on a utilisé pour saturer les déchets. La boue solide qui est obtenue finalement a une teneur en eau de 87,7% (mesure de teneur en eau avec un échantillon de 58gr passé à l'étuve pendant 1 jour à une température de  $100\text{-}110^\circ\text{C}$ ). La masse de boue pour inoculer les déchets a été calculée comme suit:

Pour arriver à la phase méthanogène le plus tôt possible (après environ 21 jours selon Xian 2007), il faut 0,5g de boue sèche pour 26g de déchet sec. Pour 1,014 kg de déchet sec dans chaque cellule on aura donc besoin de 19,5gr de boue sèche, soit 158.7g de boue humide avec une teneur en eau de 87,7%, après passage en centrifugeuse. Nous avons ajouté 180g de boue humide à chaque pilote pour prendre en compte les pertes des boues pendant la procédure de mélange avec le déchet.

Pour inoculer les déchets il a été nécessaire d'ajouter et de mélanger la boue avec les déchets manuellement, avant de remplir les pilotes. En effet le mélange de boue et de lixiviat est tellement dense que la pompe à disposition ne permettait pas l'injection du mélange dans les cellules. Comme la masse des boues par rapport à la masse de déchets de chaque pilote est très petite, pour pouvoir mélanger tout les déchets avec la boue il a fallu liquéfier la boue en la mélangeant à 100ml de lixiviat de Vert-Le-Grand et en homogénéisant le mélange.

#### 4.1.7 Protocole de remplissage et de saturation des pilotes

Pour éviter l'augmentation de la pression d'eau dans les échantillons sous chargement mécanique et obtenir les saturations désirées, on applique le protocole suivant pour le remplissage et la saturation des déchets:

1) Les pilotes sont remplis en trois étapes pour environ de 1,5 kg de déchets (860g déchet sec+ 440g déchet de cuisine avec un teneur en eau de 65%+180gr boues+100ml de lixiviat). À chaque étape la cellule est pesée après avoir été remplie autant que possible. On applique la charge avec la presse hydraulique, laissant la vidange de lixiviat et la sortie de biogaz ouvertes et on poursuit cette étape jusqu'à la mise en place de tous les déchets dans le pilote. Après remplissage total de la cellule, on applique la charge pour atteindre la hauteur désirée pour chaque densité ( $\Delta h$ ) puis on décharge en laissant les déchets gonfler et se stabiliser à une hauteur  $h$ . On injecte ensuite le lixiviat par le bas, à partir de la vidange de lixiviat et en mesurant le volume de lixiviat injecté pour le calcul de la teneur en eau.

2) On attend environ une demi-heure en laissant la vanne de vidange ouverte avant de mettre en place le couvercle et appliquer la dernière charge avec le couvercle. Parce que la conductivité hydraulique des déchets est très petite la pression de l'eau augmente très rapidement si on charge avant gonflement. Une autre raison à ce protocole est de laisser le lixiviat mouiller les déchets de façon la plus homogène possible. On mesure toujours le volume de lixiviat sortant de la cellule pendant le chargement.

3) Après une demi-heure on met en place le couvercle en PVC et on applique la charge pour atteindre la hauteur désirée ( $\Delta h$ ). On boulonne le pilote avec les écrous et on le laisse se stabiliser pendant une journée.

4) On mesure le lixiviat sorti du pilote.

5) On réinjecte le lixiviat sorti du pilote, jusqu'à ce que le niveau de lixiviat atteigne le haut du pilote (contrôle visuel). On réinjecte le même lixiviat parce que des boues sortent avec le lixiviat. En réinjectant le mélange on peut améliorer l'homogénéisation de la répartition des boues dans les déchets.

A partir de là, nous suivons les étapes suivantes pour chaque niveau de saturation :

#### 4.1.7.1 Cas avec saturation maximum

6) On ferme la vidange de lixiviat et on laisse le pilote se stabiliser pendant quelques heures.

7) On connecte le sac de biogaz et on pèse le pilote.

8) On place la cellule dans la chambre à  $33 \pm 2$  °C.

- **Remarques pour les cas saturés:**

Après leur mise en place, les pilotes commencent à produire du biogaz très rapidement. La pression de gaz pousse le lixiviat et on a pu observer des sorties de lixiviat dans les poches de biogaz pendant quelques temps. Le volume de lixiviat sorti ainsi des pilotes peut atteindre 200ml (contre par exemple 1l de lixiviat injecté au début). Nous avons observé qu'il n'est pratiquement pas possible d'obtenir une teneur en eau supérieure à 55% dans nos pilotes. Même si la teneur en eau est supérieure au début de la mise en place des pilotes, la pression de gaz pousse une partie du lixiviat vers la sortie de biogaz.

#### 4.1.7.2 Cas avec capacité au champ

6) on laisse la vanne ouvert pendant un jour jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de lixiviat sortant par la vidange : on atteint donc la capacité au champ, par définition.

7) On mesure le volume du lixiviat sorti.

8) On ferme la vanne de vidange, on attache le sac de biogaz et on pèse le pilote.

9) On place la cellule dans la chambre à  $33 \pm 2$  °C.

- **Remarques pour les cas avec capacité au champ:**

Pour le pilote 8 avec la densité de  $580\text{kg/m}^3$  et  $\Delta h = 6,5\text{cm}$ , après l'étape 4 il n'était plus possible de réinjecter le lixiviat car ce qui était réinjecté, sortait dans la poche de biogaz. On a fermé la vanne de vidange et attaché le sac de biogaz après l'étape 4.

#### 4.1.7.3 Cas avec saturation minimum

1) Avant remplissage des pilotes, on ajoute au déchet des boues mélangées à 35% du volume de lixiviat injecté dans les cas avec capacité au champ.

2) On remplit les cellules en trois stades comme expliqués dans l'étape 1 des deux autres cas. Ensuite, on met en place le couvercle, on applique la dernière charge, on boulonne la cellule et on connecte le sac de biogaz.

3) On place la cellule dans la chambre à  $33 \pm 2^\circ\text{C}$ .

La masse humide finale et la teneur en eau de chaque pilote sont présentées dans les Tableaux 4-5 et 4-6. A partir de la masse humide et du volume de déchets après compactage, on peut trouver les valeurs de la densité humide des déchets dans chaque cellule.

Tableau 4-5 Masse sèche, solide et humide des déchets dans les cellules expérimentales

Pilote	Masse sèche $M_d$ (kg)	Masse solide $M_s$ (kg)	Masse humide $M_h$ (kg)	Volume de déchet ( $\text{m}^3$ )
1	1,019	1,318	2,225	0,0029
2	1,014	1,313	2,100	0,0026
3	1,014	1,313	2,120	0,0024
4	1,029	1,328	2,005	0,0022
5	1,029	1,328	2,295	0,0029
6	1,044	1,343	2,190	0,0026
7	1,014	1,313	1,985	0,0024
8	1,024	1,323	1,985	0,0022
9	1,194	1,493	1,805	0,0029
10	1,139	1,438	1,750	0,0026
11	1,124	1,423	1,675	0,0024
12	1,054	1,353	1,665	0,0022
13	1,024	1,323	1,580	0,0026

Tableau 4-6 Densité sèche, solide, humide et teneur en eau des déchets dans les cellules expérimentales

Pilote	Densité sèche ( $\text{kg/m}^3$ )	Densité solide ( $\text{kg/m}^3$ )	Densité humide ( $\text{kg/m}^3$ )	Teneur en eau
1	353,6	457,3	771,7	0,54
2	383,3	496,2	793,4	0,52
3	422,1	546,5	882,2	0,52
4	460,2	593,9	896,4	0,49
5	357,0	460,8	796,0	0,55
6	394,6	507,6	827,4	0,52
7	422,1	546,5	826,0	0,49
8	458,0	591,7	887,5	0,48

9	414,3	518,0	626,1	0,34
10	430,5	543,5	661,2	0,35
11	467,9	592,3	697,0	0,33
12	471,4	605,1	744,4	0,37
13	387,0	500,0	597,0	0,35

Où  $M_d$  est la masse sèche des déchets sans l'eau constitutive des déchets humides comme les déchets de cuisine, l'eau de la boue et les 100ml de lixiviat ajoutés à la boue.  $M_s$  est la masse solide des déchets avec l'eau constitutive des déchets humides comme les déchets de cuisine, et sans l'eau de la boue et les 100ml de lixiviat ajoutée à boue.  $M_h$  est la masse humide après injection de lixiviat. Les valeurs de densité sèche, solide et humide sont obtenues en divisant la masse correspondant à chaque densité par le volume de déchets. Les valeurs de teneur en eau totale à l'état humide (Figure 2-2 au chapitre 2) sont obtenues à partir de la formulation suivante, qui est un des plus utilisées dans ce domaine (Olivier, 2003):  $Teneur\ en\ eau = \frac{M_h - M_d}{M_h}$ .

#### 4.1.8 Les capteurs de température

Chaque cellule est donc équipée des capteurs de température (sondes PT100, classe A, Pyro-système), inséré au cœur du massif de déchets lors du remplissage. Calibration des capteurs de température est prévue par le constructeur (certificat d'étalonnage). Les mesures de température sont exprimées avec une précision de  $\pm 0,01$  °C. La température ambiante de la pièce est maintenue à  $33$  °C  $\pm 2$  °C. Les valeurs de température sont récupérées tous les 1 ou 2 jours.

#### 4.1.9 Le biogaz

Le biogaz est récupéré dans un sac de stockage du biogaz en Tedlar (fluorure de polyvinyle), relié à la cellule par un flexible muni de clips. Le biogaz sort de la cellule en continu et le système est maintenu à peu près à pression atmosphérique. La quantification du volume présent dans la poche Tedlar se fait par poussée d'Archimède. Afin de connaître le poids d'eau déplacée, nous exerçons une poussée sur la poche de biogaz dans une bassine d'eau placée sur une balance. Le poids d'eau déplacé correspond au volume de gaz. Nous soustrayons à ce poids celui de la poche vide. Après la pesée des sacs de biogaz, on analyse le biogaz avec un Micro-GC (Chromatographie en phase Gazeuse), en connectant les sacs directement au Micro-GC (Figure 4-2).



Figure (4-2) Connexion de la poche de biogaz au Micro-GC



## 4.2 Résultats de production de biogaz

Nous présentons ici les résultats de production de biogaz dans les pilotes expérimentaux et nous discutons ces résultats.

### 4.2.1 Production totale de biogaz pendant un an

Les résultats de production totale de biogaz dans les pilotes sont présentés sur la Figure (4-3), en fonction de la teneur en eau et de la densité solide des déchets. Nous avons utilisé la notion de densité solide pour tracer les résultats car dans les ISDND les déchets sont stockés avec leur teneur en eau constitutive et donc les valeurs de densité que l'on atteint après le compactage sont celles de la densité solide. La surface des disques de la Figure (4-3) représente le volume de biogaz produit pendant un an.

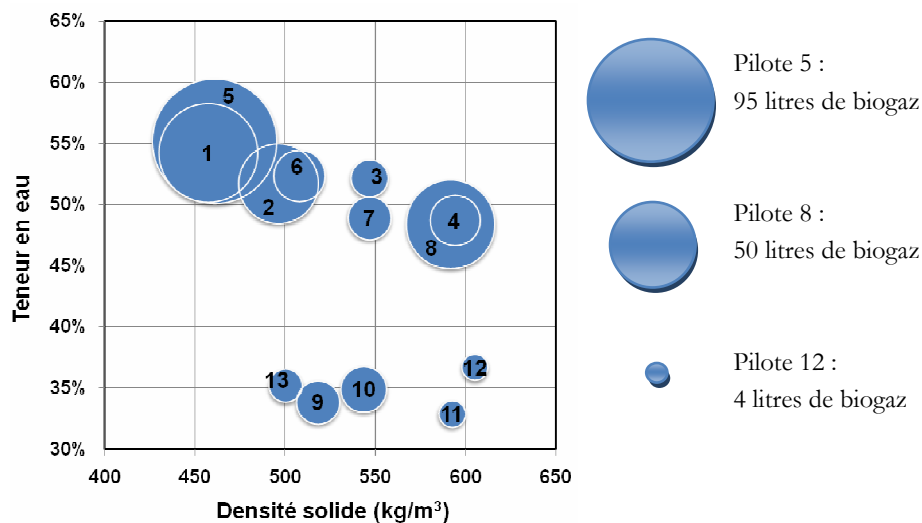


Figure (4-3) Production totale de biogaz pendant un an pour les 13 pilotes

On peut remarquer immédiatement qu'une tendance générale semble se dessiner : les déchets les moins denses et aux teneurs en eau les plus élevées produisent plus de biogaz dans la plupart des cas. Les pilotes produisant les quantités maximum de biogaz sont les pilotes 5 (95 litres de biogaz), 1 (60 litres de biogaz), 8 (48 litres de biogaz), 2 (40 litres de biogaz). Les pilotes 6 et 4 ont produit chacun 16 et 15 litres de biogaz respectivement. Les pilotes 5 et 1 qui ont produit le maximum de biogaz, sont également les pilotes les moins denses et les plus humides. Les pilotes 9 à 13 qui sont les moins humides, n'ont produit que de petites quantités de biogaz pendant quelques mois au début de leur mise en place et leur production de biogaz s'est ensuite arrêtée. Parmi eux les pilotes 9 et 10 ont produit à peu près deux fois plus que les pilotes 11 et 12 qui sont plus denses. On peut également remarquer que le pilote 8 pouvait être considéré comme une exception à la tendance dessinée ici puisque sa densité est parmi les plus élevées et qu'il se classe au 3ème rang des pilotes producteurs de biogaz. Sa teneur en eau est malgré tout assez élevée également et nous devons pousser plus en détails l'analyse des résultats afin d'essayer d'expliquer ce comportement.

La littérature nous indique fréquemment que la teneur en eau est un facteur clé de production de biogaz dans les déchets (Chapitre 1). Le compactage des déchets permet la distribution des nutriments et un meilleur contact entre les substrats et les microorganismes (Yuen et al., 1995). Toutefois, une augmentation de la densité pour un déchet déjà humide peut ralentir la production de méthane. En effet, une humidité élevée stimule la phase acide pouvant ainsi provoquer une production massive d'AGV (Yuen et al., 1995). Sur la Figure (4-3) nous distinguons trois zones représentées sur la Figure (4-4).

- Zone bleue avec une densité solide entre 400 et 520 Kg/m<sup>3</sup> et une teneur en eau totale supérieure à 50%. La production de biogaz est le maximale dans cette zone (40-95 litres en un an).
- Zone verte avec une densité solide entre 550 et 650 Kg/m<sup>3</sup> et une teneur en eau entre 45% et 55%. La production de biogaz dans cette zone est de l'ordre de 11-15 litres en un an, à l'exception du pilote 8 qui produit 48 litres de biogaz.
- Zone jaune avec une teneur en eau inférieure à 40% qui ne produit très peu de biogaz. Dans cette zone aussi la production de biogaz est plus avec des valeurs de densité plus faibles.

Comme nous en avons discuté auparavant, atteindre des valeurs de teneur en eau supérieures à 60% n'a pas été possible dans nos conditions expérimentales, à cause de la sortie de lixiviat avec le biogaz dès la mise en place des cellules. La ligne rouge sur la Figure (4-4) montre l'influence de la densité des déchets sur la production de biogaz dans l'ensemble des trois zones définies. La production de biogaz est plus élevée avec une densité plus faible dans les zones humides et sèches.

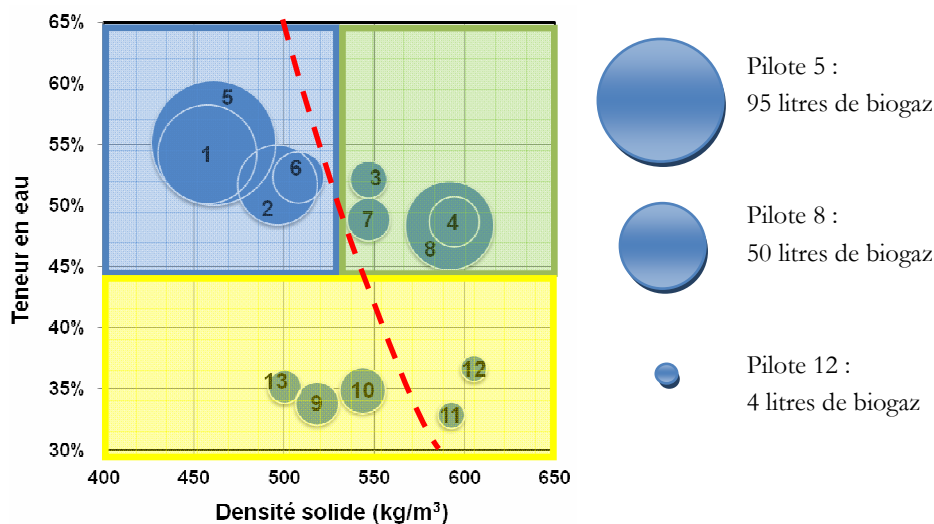


Figure (4-4) Trois zones de production du biogaz

### Les remarques

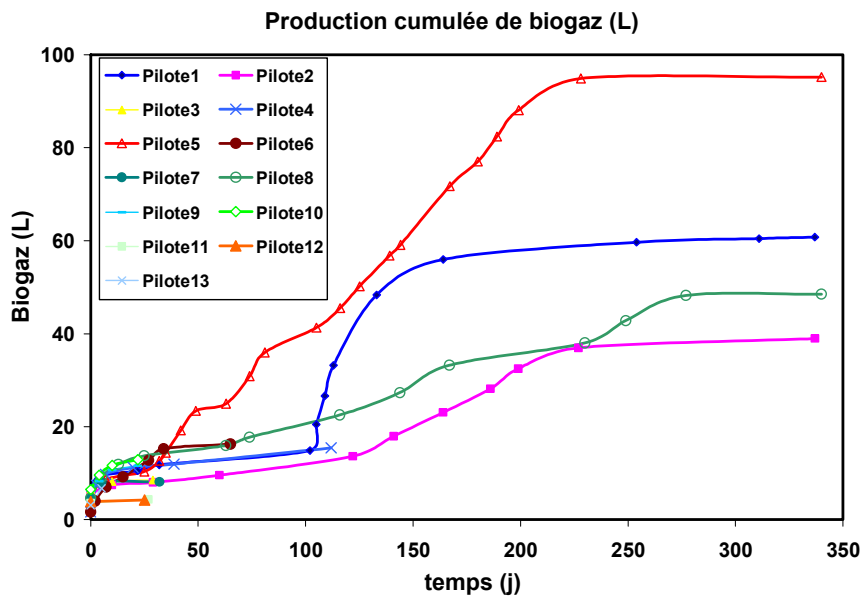
Nous avons remarqué que les pilotes 5, 2, 1 et 8 sont visuellement homogènes en humidité et en niveau de dégradation. Par contre dans les pilotes 3, 4, 7 et 6 on peut observer des zones dégradées et des zones intactes. Il n'y a quasiment pas de zone dégradée dans les pilotes 9 à 13. La Figure (4-5) montre les zones dégradées et intactes dans les pilotes 8, 11 et 5. Comme on peut voir sur la figure, le pilote 5 est dégradé de façon très homogène. Aucune zone intacte n'est observée dans ce pilote et c'est le pilote qui a produit le maximum de biogaz. Par contre le pilote 11 n'est pas du tout dégradé. Aucune zone dégradée n'est observée dans ce pilote. Le pilote 8 est dégradé en majorité. Une zone intacte est observée dans ce pilote comme indiqué en rouge sur la figure. Toutes les photos de la campagne expérimentale sont présentées dans l'annexe A.



Figure (4-5) Zones dégradées et intactes dans les pilotes 8, 11 et 5

#### 4.2.2 La production de biogaz au cours de temps

Les courbes de production de biogaz cumulées (méthane et dioxyde de carbone) sont présentées sur la Figure (4-6). Comme on peut voir sur ces courbes, la production de biogaz s'est arrêtée dans tous les pilotes après quelques mois, sauf pour les pilotes 1, 2, 5 et 8.



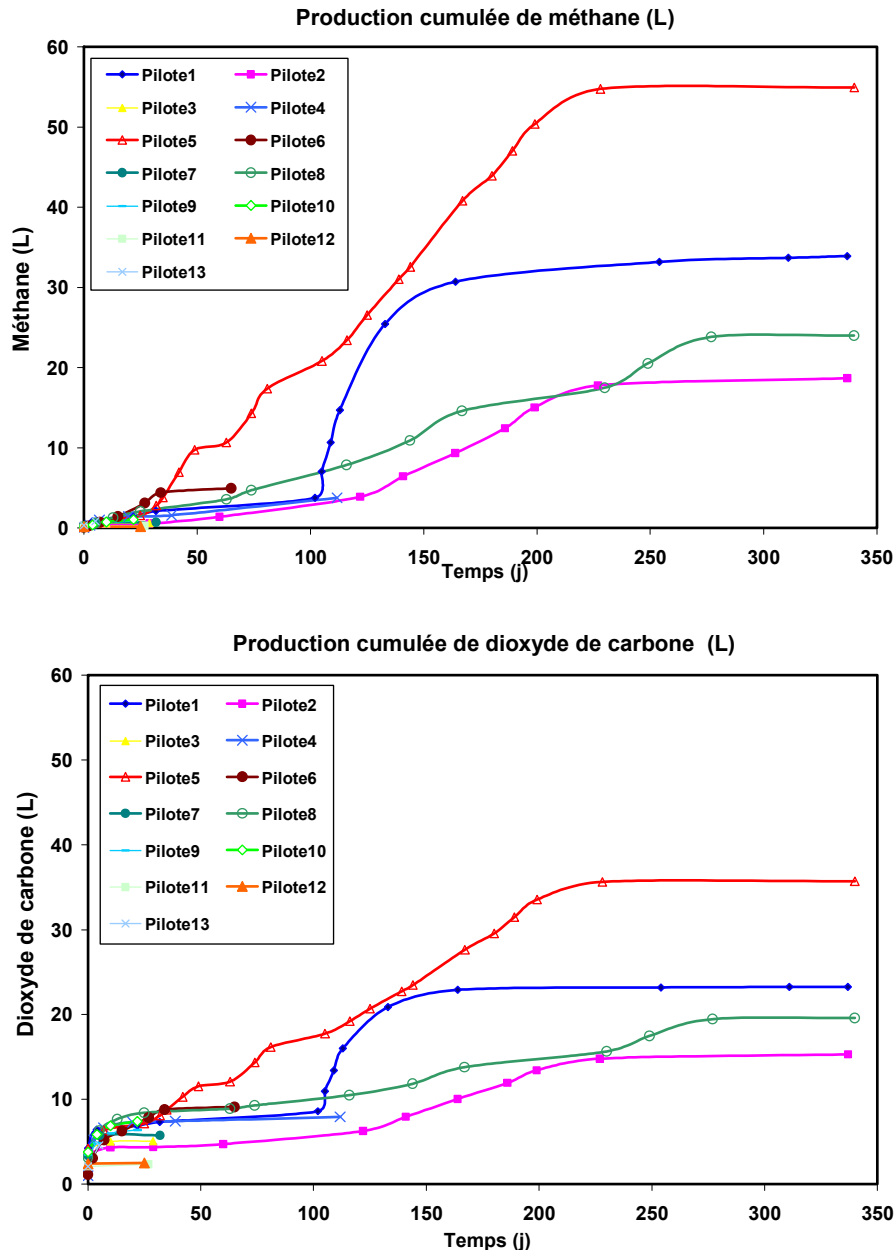
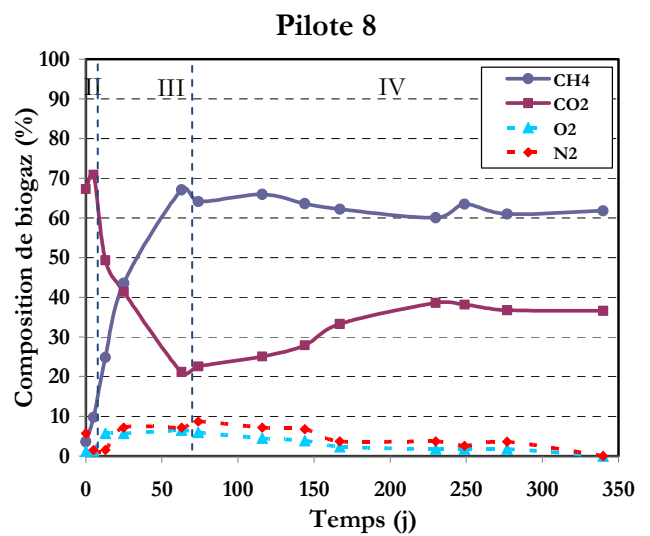
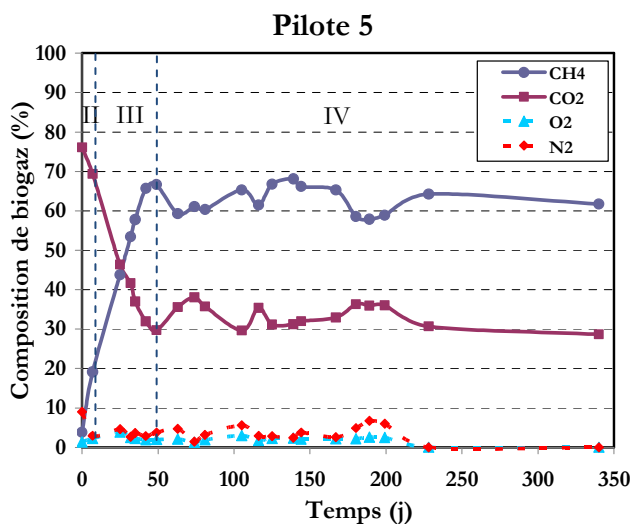
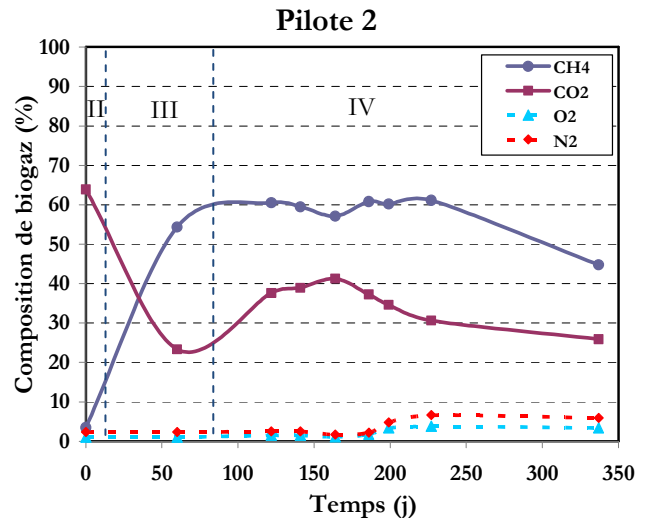
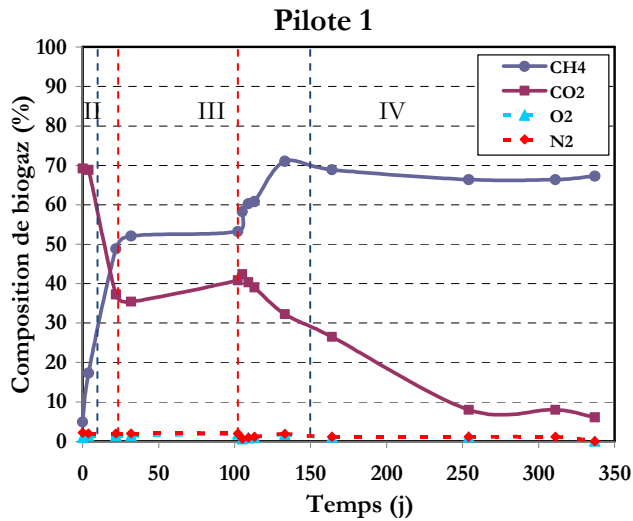


Figure (4-6) Production cumulée de biogaz, de méthane et de dioxyde de carbone dans un an dans les pilotes

On peut remarquer deux types de comportement : dans les pilotes 1 et 5 la production de méthane augmente brutalement à  $t \approx 30j$  pour le pilote 5 et à  $t \approx 110j$  pour le pilote 1. Par contre les pilotes 2 et 8 présentent des courbes beaucoup plus régulières. La mise en place brutale de la méthanogénèse dans le pilote 1 après 110 jours pourrait être causée par l'accumulation des AGV et l'inhibition de la méthanogénèse dans ce pilote jusqu'à  $t \approx 110j$ . La Figure (4-7) montre la composition du biogaz produit dans les pilotes 1, 2, 4, 5, 6 et 8. Pour les autres pilotes il n'y avait pas assez de données disponibles pour tracer des courbes. L'évolution du biogaz au cours de temps détermine les différentes phases de dégradation, présentées au chapitre 3: I) la phase aérobie en présence d'oxygène, où le biogaz est principalement composé de  $N_2$  (80%) et de  $O_2$  (20%) II) la phase acide où la proportion de  $N_2$  diminue, la proportion de  $CO_2$  et  $H_2$  augmentent dans le biogaz et atteignent les valeurs maximum (près de 80% pour le  $CO_2$  et de 20% pour  $H_2$ ) III) la phase méthanogène accélérée où les proportions de  $CO_2$  et de  $H_2$  diminuent dans le biogaz pour atteindre à moins de 50% pour le  $CO_2$ . La production de méthane augmente dans cette

phase et sa proportion dans le biogaz atteint plus de 50%, IV) la phase méthanogène ralentie où la proportion de méthane et de dioxyde de carbone reste quasiment constante, supérieure et inférieure à 50%, respectivement.

Composition du biogaz dans les pilotes 1, 2, 5 et 8



## Composition de biogaz dans les pilotes 4 et 6

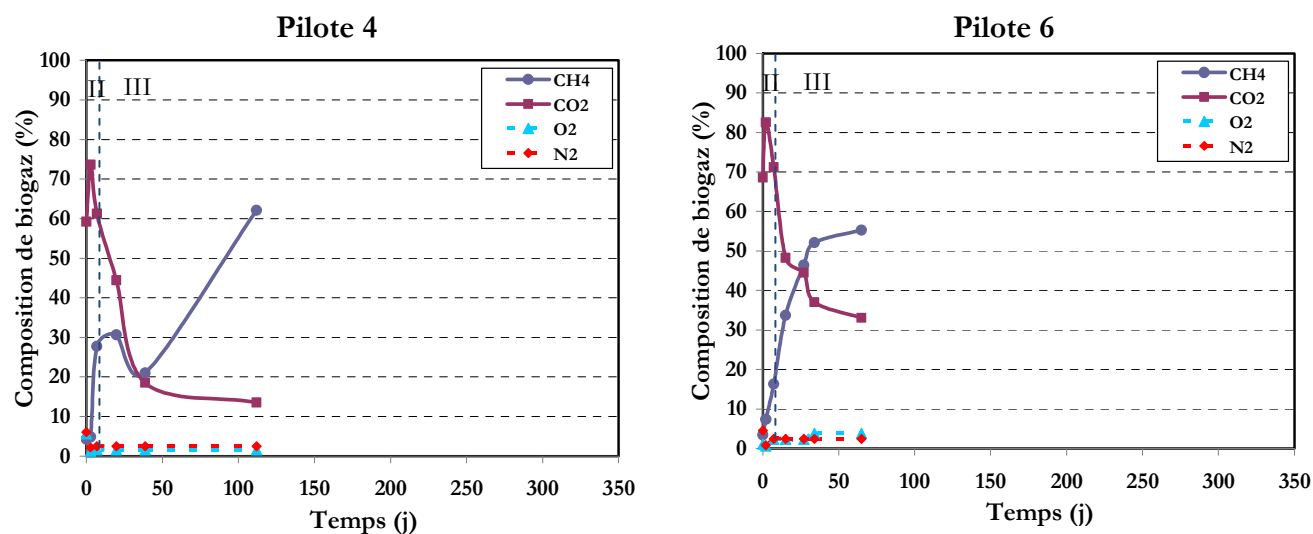


Figure (4-7) Composition du biogaz dans les pilotes

On peut remarquer que dans un délai d'une vingtaine de jours tous les pilotes atteignent la phase méthanogène accélérée. Cette phase, la phase III, est plus courte dans le pilote 5 que dans les autres pilotes et il arrive très rapidement à la phase méthanogène stable et ralentie. La phase méthanogène accélérée dure plus longtemps dans le pilote 1 par rapport aux autres pilotes, en particulier parce qu'on y observe un plateau de production de biogaz pendant lequel la composition du biogaz n'évolue pas non plus (ce plateau est marqué sur la Figure (4-7) entre les lignes rouges). Ce plateau pourrait valider notre hypothèse d'accumulation d'AGV dans le pilote 1 pendant les 100 premiers jours. Ce n'est pas une inhibition franche de la méthanogénèse dans le pilote 1, mais un ralentissement précoce, suivi d'une reprise de l'accélération de la méthanogénèse. On peut voir sur cette figure que la production de biogaz s'est arrêtée dans les pilotes 4 et 6 dans la phase méthanogène accélérée après 120j et 70j, respectivement.

### 4.2.3 Réinjection de lixiviat dans les pilotes les moins humides

Pour étudier l'effet de la réinjection de lixiviat dans les déchets nous avons choisi deux pilotes parmi les moins humides, les pilotes 10 et 13 et un pilote pour l'injection d'eau, le pilote 11. Nous rappelons que ces pilotes se sont arrêtés de produire du biogaz peu de temps après leur mise en place.

#### 4.2.3.1 Pilote 10

**Première réinjection (le 23/01/08):** Nous avons injecté 1580 ml du même lixiviat qui avait été utilisé pour saturer les cellules (lixiviat de Vert-Le-Grand dont les caractéristiques sont présentées dans le tableau ci-dessous). Le lixiviat a été injecté pendant 8min, en laissant la sortie de biogaz ouverte. 1000ml de lixiviat sont sortis du pilote par l'évent de biogaz et 580ml sont restés dans le pilote. La température du lixiviat en sortie de pilote était de 29,4°C, alors qu'elle était de 19,5°C en entrée. Dans le même temps, la température mesurée au cœur de la cellule passait de 34°C à 24°C à cause de l'injection de lixiviat. Ces données seront utilisées pour une simulation numérique de cette expérience. Les résultats de la mesure de pH et de la DCO du lixiviat à la sortie du pilote 10 après la réinjection sont présentés dans le Tableau 4-7, ainsi que les caractéristiques du lixiviat de Vert le Grand avant la réinjection dans le pilote 10. Les valeurs de pH et de DCO de ce lixiviat mesuré en 2007 avant la mise en place des pilotes expérimentaux sont de 7,78 et de 8420 mg O<sub>2</sub>/L, respectivement.

Tableau 4-7 Paramètres du premier épisode de réinjection et résultats de mesure de pH et de DCO du pilote 10

	Date	Volume injecté (mL)	Durée d'injection (min)	Température de lixiviat (°C)	DCO (mg O <sub>2</sub> /L)	pH
Lixiviat de VLG	22/01/08				6710	7,96
Lixiviat en sortie du P-10	23/01/08	1580	8	19,5	7238	7,54
Lixiviat en sortie du P-10	30/01/08				11375	-

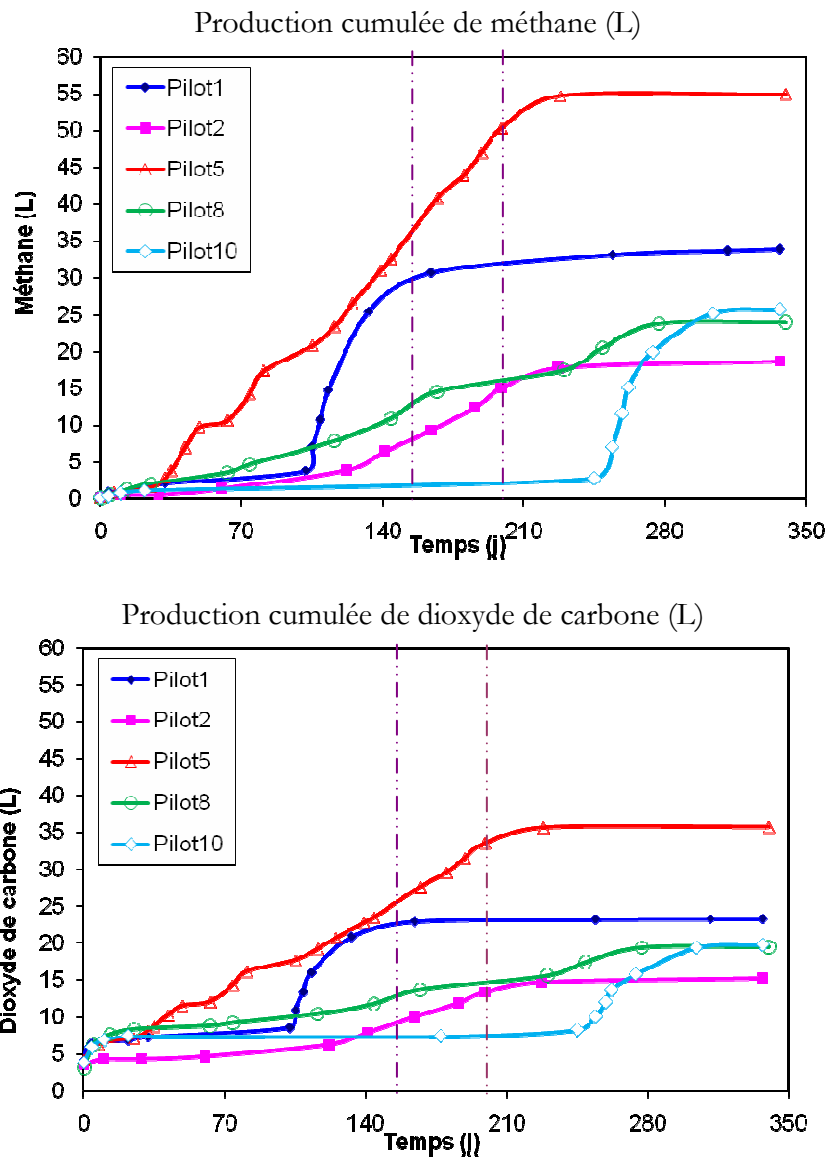
On peut voir que la recirculation dans le pilote a changé les caractéristiques du lixiviat entre l'entrée et la sortie : le lixiviat est ressorti plus acide (variation de pH de 7,96 à 7,54) et la DCO a augmenté (de 6710 à 7238 mg O<sub>2</sub>/L). Ces changements semblent indiquer que le pilote 10 était en phase acide au moment de la réinjection de lixiviat. Le passage en anaérobiose se caractérise par une diminution du potentiel d'oxydoréduction et par une forte augmentation de la charge organique des lixiviats, la DCO (Pohland, 1975 ; Tittlebaum, 1982 ; Pohland et Al-Yousfi, 1994 ; Ozkaya et al., 2004). Un mois après la réinjection de lixiviat la production de biogaz n'avait toujours pas redémarré. Nous avons décidé de lancer une deuxième réinjection le 5 mars, 42 jours après la première réinjection.

**Deuxième injection (Le 05/03/08):** Nous avons réinjecté 1000ml du lixiviat de Vert-Le-Grand dans le pilote 10, pendant 5 min. A partir de 350ml de volume injecté, le lixiviat a commencé à sortir du pilote par l'évent de gaz. A l'issue de la réinjection nous avons récupéré 1040ml de lixiviat en sortie du pilote. Les paramètres de réinjection et les résultats des mesures de pH et de DCO pour les deux réinjections sont résumés dans le Tableau 4-8. Les deux épisodes de réinjections sont marqués en gris.

Tableau 4-8 Paramètres de deuxième épisode de réinjections et les résultats de mesure de pH et de DCO du pilote 10

	Date	Volume injecté (mL)	Durée d'injection (min)	Température de lixiviat (°C)	DCO (mg O <sub>2</sub> /L)	pH
Lixiviat de VLG	22/01/08				6710	7,96
Lixiviat du P-10 avant la 2ème réinjection	05/03/08				> 15000	7,91
Lixiviat en sortie du P-10 après la 2ème réinjection	05/03/08	1000	5	12	> 15000	7,28

En comparant les valeurs du pH juste avant et après la deuxième réinjection, Tableau 4-8, on peut remarquer que le lixiviat devient plus acide après son passage dans le pilote. La mesure de DCO montre qu'après la première réinjection le lixiviat est très chargé en DCO. Les observations semblent confirmer la persistance de la phase acide dans le pilote 10, même après la première réinjection. Deux semaines après la deuxième réinjection dans le pilote 10, le pilote a commencé à produire du biogaz. Pendant les trois mois qui ont suivi la deuxième réinjection, le biogaz produit (50 L) a même excédé le total de biogaz produit par les pilotes 2 et 8 (40L et 48L respectivement). La Figure (4-8) présente la production cumulée du pilote 10 et sa composition. Les deux épisodes de réinjection au 177<sup>ème</sup> et 219<sup>ème</sup> jours sont marqués par les lignes rouges. Les phases de dégradation sont marquées sur la Figure (4-8c) par les lignes bleues.





Composition de biogaz dans le pilote 10

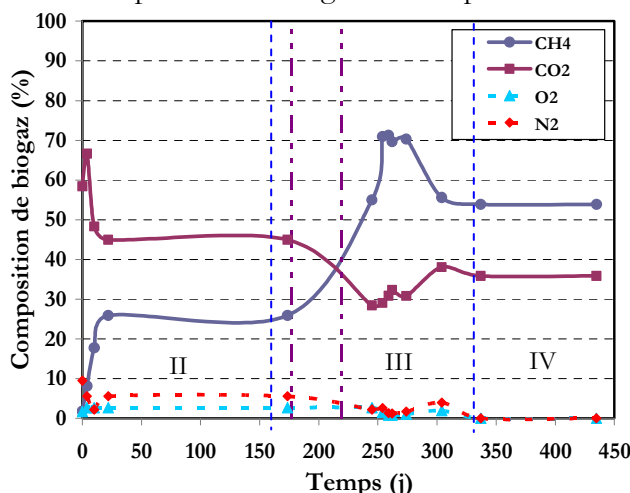


Figure (4-8) Production cumulée du pilote 10 en comparaison avec les autres pilotes, et composition du biogaz

La Figure (4-8c) montre qu'après la deuxième injection de lixiviat dans le pilote 10, la production de biogaz augmente puis devient rapidement stable dans une phase méthanogène ralentie (phase IV de dégradation). On peut positionner le pilote 10 après la réinjection de lixiviat, avec le numéro 10\*, dans le même diagramme que la Figure (4-3) avec les autres pilotes. Ces résultats modifiés sont présentés dans la Figure (4-9), avec le pilote 10\* en rose. La densité solide du pilote est restée constante, par contre la teneur en eau du pilote est passée de 35 à 50% (estimation à partir du bilan hydraulique de réinjection).

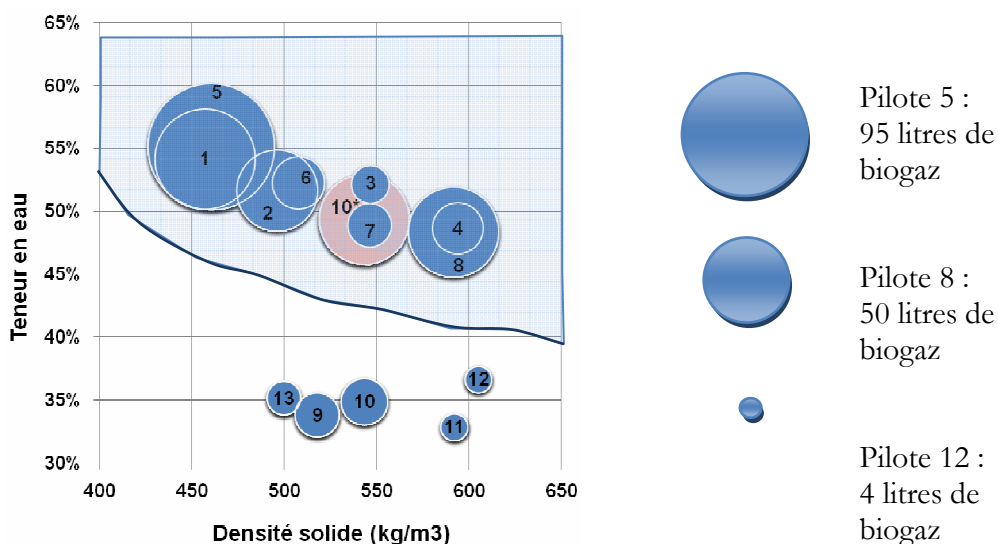


Figure (4-9) Positionnement du pilote 10\* avec les autres pilotes pour la production de biogaz en fonction de la teneur en eau et de la densité

Les résultats présentés dans la Figure (4-9) peuvent nous permettre de définir une zone empirique en fonction de la densité solide et de la teneur en eau, en bleu sur la Figure (4-9), dans laquelle on a obtenu une production de biogaz optimum dans les conditions de nos expérimentations. La ligne bleue sur cette figure représente la limite probable de la capacité au champ pour le déchet reconstitué.

## Remarques concernant la réinjection de lixiviat

Pour des raisons techniques, nous n'avons pas pu régler le débit de réinjection de lixiviat dans le pilote 10. Nous avons remarqué qu'un débit d'injection plus modéré nous aurait probablement permis une humidification plus homogène des déchets, en évitant les écoulement préférentiels, et peut être aussi de limiter l'effet de lessivage de la biomasse et des nutriments dans le pilote.

## Simulation numérique du pilote 10

Pour valider la partie biologique de notre modèle numérique, nous avons décidé de faire une simulation numérique du pilote 10 pendant la réinjection de lixiviat. Nous nous intéressons à vérifier si le modèle est capable de prévoir le comportement hydro-thermo-biologique d'un pilote expérimental de laboratoire.

Les paramètres de réinjection sont présentés dans les Tableaux 4-7 et 4-8. Nous avons utilisé un modèle 0D qui est représenté par un parallélépipède avec la méthode des volumes finis. Ce parallélépipède a des dimensions qui circonscrivent le cylindre du pilote :  $0,13 \times 0,13 \times 0,15 \text{ m}^3$ . Les paramètres hydrauliques et physiques des déchets comme la densité sont obtenus à partir des paramètres des déchets du pilote 10. Pour la saturation, comme nous n'avons pas la valeur de la porosité des déchets, nous avons utilisé la valeur de la saturation minimum proposée dans la littérature et égale à 0,2. Pour la simulation des variations de température pendant la réinjection de lixiviat nous avons besoin de la valeur de la conductivité thermique du PVC utilisé dans les pilotes. Nous avons trouvé une valeur de conductivité thermique  $\lambda = 0,12-0,17 \text{ W/mK}$  pour le PVC dans des fiches techniques de fabricants. Pour différentes épaisseurs de cylindre, du couvercle et de la base du pilote nous trouvons les valeurs correspondantes de la transmissivité thermique ( $\theta$ ) avec la formule:

$$\theta = \frac{\lambda.S}{e} \quad (4-1)$$

Où  $\lambda$  est la conductivité thermique (W/mK),  $S$  est la section ( $\text{m}^2$ ) et  $e$  est l'épaisseur (m). Pour notre modèle nous utilisons une valeur moyenne de transmissivité thermique de 0,2 W/K. Pour les paramètres biologiques du modèle, nous avons utilisé les valeurs expérimentales disponibles. Nous avons considéré une valeur initiale de biomasse égale à 0,18kg comme nous avons ajouté cette valeur de boue méthanogène à nos pilotes pour les inoculer. Nous supposons une concentration initiale en AGV égale à 0. Nous présentons dans le tableau suivant les valeurs des paramètres utilisés pour la simulation numérique, ainsi que les valeurs calées pour approcher les résultats expérimentaux.

Tableau 4-9 Paramètres de la simulation numérique du pilote 10

Paramètres	Valeurs	Remarques
A1- A2- A3 (%)	0,16 - 0,269 - 0,065	Fractions biodégradables, selon l'Ademe (Tableau 4-2)
$C_p$ (kJ/kg.K)	1350	Tableau 2-4, chapitre 2
$X_{initiale}$ (g)	0,2	0,18g de boue méthanogène ajouté au pilote
$A_{Sinitiale}$ (g)	0	Au début de mise en place du pilote il n'y a pas d'AGV, comme la dégradation n'a pas commencé

Valeurs calées pour approcher les courbes expérimentales thermiques et biologiques		
$\lambda$ (W / mK)	0,6-0,8	Valeurs calées par la courbe expérimentale de température
$\mu_{\max}$ ( $j^{-1}$ )	0,26	
$K_d$ ( $j^{-1}$ )	0,0017	
$k_{h1}, k_{h2}, k_{h3}$ ( $j^{-1}$ )	0,7 - 0,25 - 0,086	Valeurs calées par la courbe expérimentale de production de biogaz
$Y$ (kg / kg)	0,08	

Les résultats hydro-thermo-biologiques sont présentés sur la Figure (4-10). La simulation numérique a lieu pour une durée de 14 mois après la mise en place du pilote 10. La première réinjection a été réalisée au bout de 8 mois et la deuxième réinjection 42 jours plus tard.

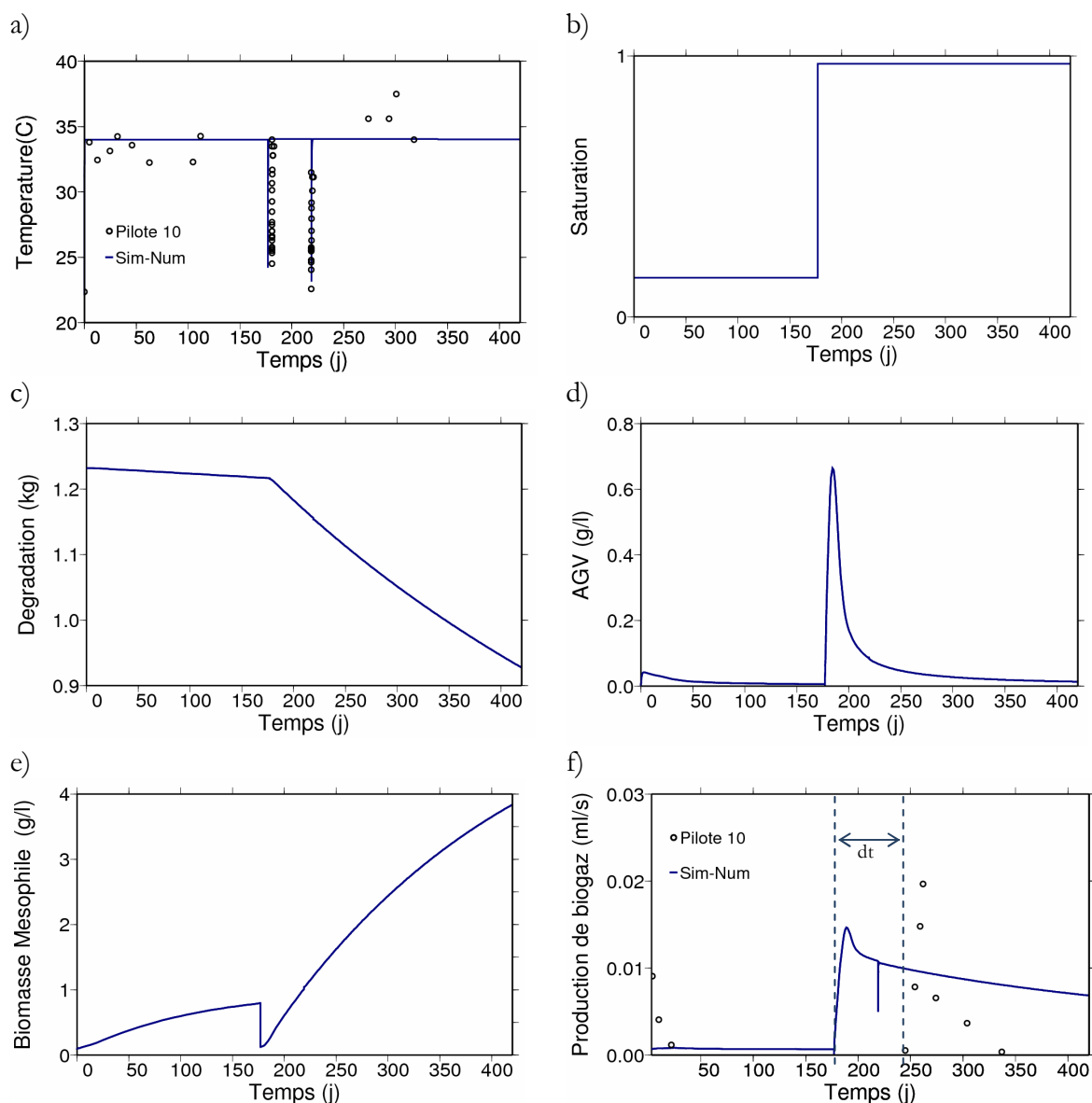


Figure (4-10) Résultats hydro-thermo-biologiques de simulation numérique du pilote 10

La température des déchets diminue pendant les réinjections de lixiviat et remonte très rapidement à la température ambiante. Comme on peut voir sur la Figure (4-10a) la température de la chambre varie entre 33°C et 35°C et elle atteint même parfois 37°C. Dans notre modèle nous considérons une température constante à 34°C. Comme nous pouvons le voir sur la figure, le résultat thermique du modèle superpose très bien la courbe expérimentale pendant les épisodes d'injection de lixiviat. La courbe de saturation montre qu'après la première réinjection, la saturation initiale du pilote augmente et atteint instantanément sa valeur maximum. La deuxième réinjection n'influe pas la valeur de saturation, ce qui est observé dans le pilote pendant les essais. La première réinjection déclenche l'hydrolyse et la dégradation de la phase biodegradable solide des déchets à cause des changements de saturation et de température. La concentration en AGV augmente après la première réinjection de lixiviat et diminue dès que la biomasse méthanogène croît en consommant les AGV. Malheureusement nous n'avons pas mesuré les valeurs d'AGV et leur variation avec le temps mais ce comportement est bien en accord avec les données de la littérature (Pohland et Al-Yousfi, 1994). Vigneron (2005) a mesuré la concentration en AGV dans des cellules expérimentales de 0,2m<sup>3</sup>. Ses résultats montrent une concentration en AGV qui augmente dans la phase acide jusqu'à 3-8 g/l et même plus puis qui diminue lors de la phase méthanogène au-dessous de 0,15-0,10 g/l. Avec notre modèle la réinjection de lixiviat déclenche une augmentation d'AGV jusqu'à 0,7g/l dans une cellule de 0,0026m<sup>3</sup> de déchet. La concentration en AGV diminue au-dessous de 0,10 g/l dans la phase méthanogène.

La deuxième réinjection simulée n'influence pratiquement pas l'évolution des AGV et de la biomasse. La production de biogaz est déclenchée après la première réinjection de lixiviat et diminue vers les valeurs initiales après quelque mois de réinjection. La Figure (4-10f) présente le débit de biogaz dans le pilote 10 en comparaison avec la courbe de simulation numérique. Le décalage entre la production de biogaz dans le modèle et le pilote 10 après la réinjection de lixiviat pourrait être attribuée à un temps de retard, dt dans la Figure (4-10f), qui n'est pas pris en compte par notre modèle. Il pourrait alors suffire de déplacer la courbe de simulation pour un dt (Barlaz, Denver 2008). La production de biogaz augmente avec l'injection de lixiviat et elle diminue au bout de quelques mois. La deuxième réinjection n'influence pas les résultats hydrauliques et biologiques de la simulation. Le pilote est déjà saturé et le refroidissement des déchets par le lixiviat diminue la production de biogaz pendant l'injection. Ce résultat montre le rôle essentiel de la teneur en eau dans la dégradation des déchets et la production d'AGV, de biomasse et de biogaz. La Figure (4-10f) montre que le modèle numérique est tout à fait capable de prévoir le débit de production de biogaz pour les cas expérimentaux à l'échelle du laboratoire. Nous pouvons alors utiliser les valeurs des paramètres thermiques et biologiques comme la mortalité et la croissance maximum, la biomasse et la concentration initiale en AGV calées par les courbes expérimentales pour l'application du modèle aux cas des ISDND-bioactives au chapitre 5.

Les résultats de simulation numérique du pilote 10 indiquent que la reprise de la production de biogaz dans le pilote 10 serait plutôt le résultat de la première injection de lixiviat. Par contre les analyses de DCO et de pH semblent indiquer que même après la deuxième réinjection de lixiviat, les déchets resteraient acides dans ce pilote. La reprise de la production de biogaz pourrait dans ce cas être attribuée à la diminution de la concentration en AGV par la deuxième réinjection de lixiviat. Nous allons tenter de vérifier cette hypothèse en injectant une seule fois du lixiviat dans le pilote 13.

#### 4.2.3.2 Pilote 13

Le pilote 13 est le pilote le moins humide. Nous avons injecté du lixiviat de Vert-Le-Grand avec un pH de 7,97, dans le pilote 13, le 6 août 2008. Nous avons injecté 900ml de lixiviat et 350ml de lixiviat est sorti du pilote. Deux mois après la réinjection de lixiviat, début octobre, la production de biogaz a commencé dans le pilote 13. La Figure (4-11) montre le démarrage de la phase

méthanogène dans le pilote 13 après l'injection de lixiviat. L'épisode de réinjection de lixiviat est marqué sur la figure par une ligne rouge.

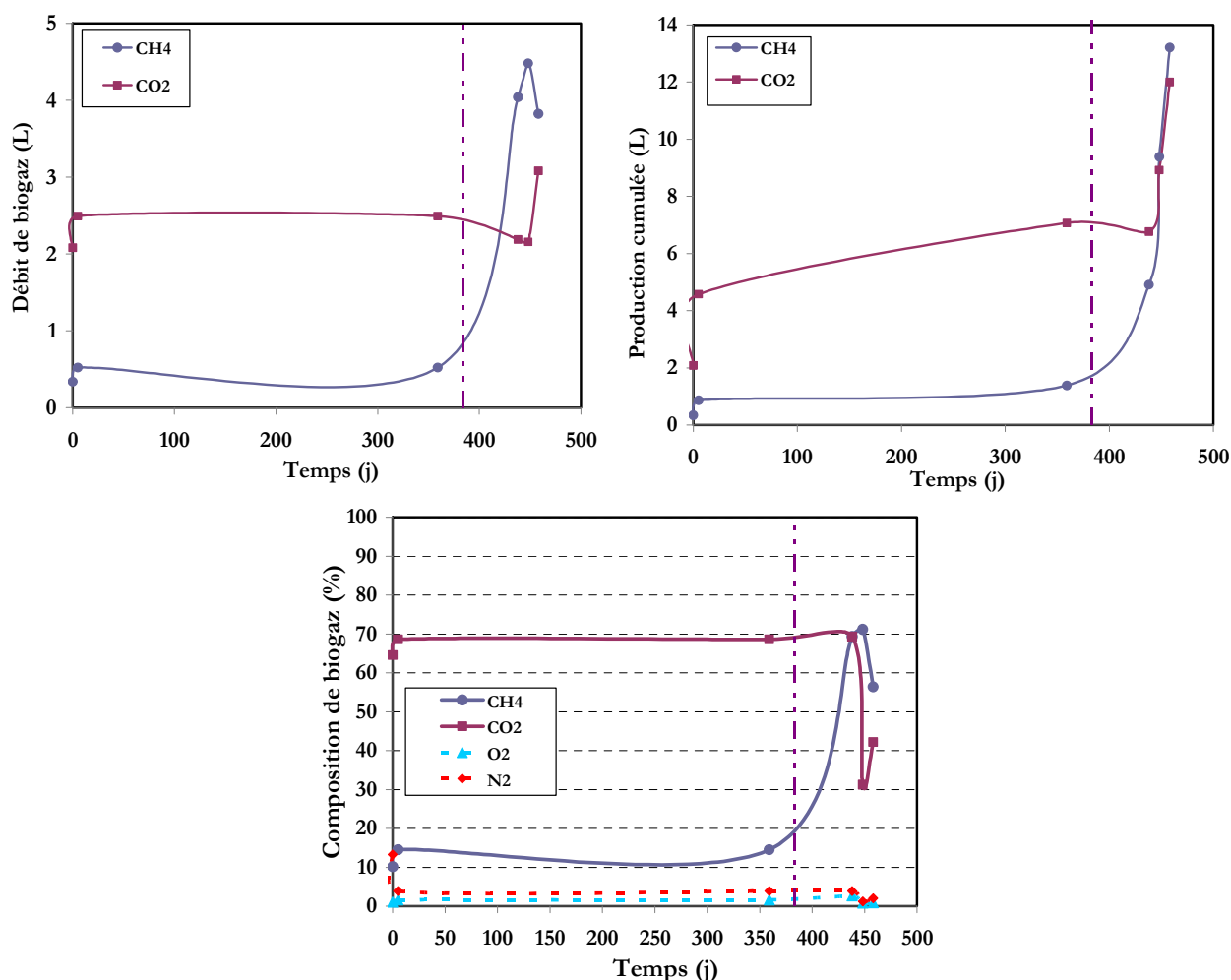


Figure (4-11) Débit de méthane et de dioxyde de carbone, production cumulée de biogaz et la composition du biogaz du pilote 13

#### 4.2.3.3 Pilote 11

Nous avons recirculé de l'eau pure dans le pilote 11 pour vérifier si l'injection d'eau sans les caractéristiques biochimiques du lixiviat peut aussi déclencher la production de biogaz. L'injection de l'eau dans ce pilote a été effectuée avec un très fort débit pour des raisons techniques liées à la pompe utilisée. Cette injection n'a pas déclenché la production de biogaz dans le pilote 11, probablement parce que ce débit fort a lessivé les microorganismes présents dans le milieu. Nous vérifions ce résultat au 4.3 en injectant de l'eau dans les autres pilotes. Nous verrons que l'injection de l'eau dans le pilote 7 déclenche une production de biogaz de 7 litres pendant quelques semaines.

Nous présentons dans la partie suivante les résultats des analyses de microbiologie, de DCO et d'AGV dans les échantillons de lixiviat prélevés dans les différents pilotes et nous discutons les résultats.

## 4.3 Analyse microbiologique des pilotes expérimentaux

### 4.3.1 Echantillonnage du lixiviat à partir des pilotes

Pour mieux interpréter les résultats des pilotes expérimentaux, nous avons réalisé les analyses de biomasse, d'AGV et de DCO à partir d'échantillons de lixiviat prélevés dans les pilotes. Ce qui nous a encouragé à réaliser ces analyses est le comportement du pilote 7, qui a réagi au changement de la température de la chambre de 33-35 à 38°C. Le pilote 7, comme on a pu le voir sur la Figure (4-3), a produit 11 litres de biogaz pendant quelques mois après sa mise en place et il s'est arrêté par la suite de produire du biogaz. 300 jours après sa mise en place la température de la chambre a augmenté accidentellement de 34 à 38°C pendant 2 à 3 jours. Pendant ces jours là, le pilote 7 a produit 4L de biogaz. La production de biogaz s'est arrêtée après diminution de la température de la chambre. Le pilote 7 est le seul pilote à avoir réagi au changement de la température. La Figure (4-12) présente le comportement du pilote 7 pendant 400 jours après sa mise en place. On peut remarquer l'effet du changement de température sur la production de biogaz dans ce pilote.

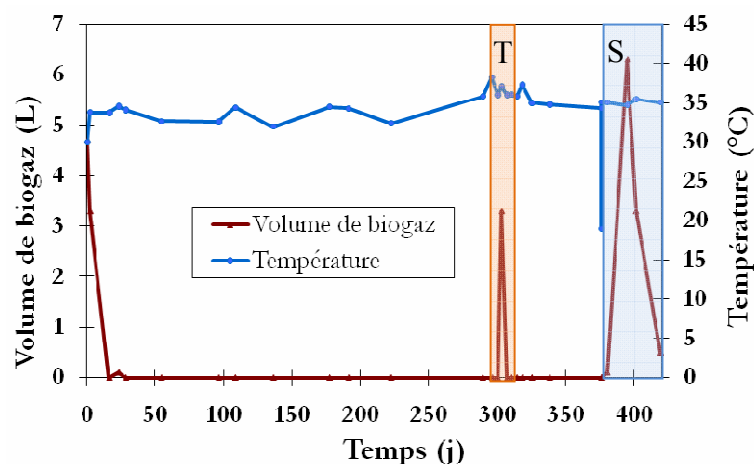


Figure (4-12) Comportement du pilote 7 pendant 400 jours après sa mise en place

Nous avons choisi 8 pilotes parmi les 13 pour réaliser les analyses biologiques. Le choix a été fait de comparer les pilotes 5 et 1, 2 et 6, 4 et 8, 12 et 8 et finalement d'étudier l'écosystème du pilote 7. Pour réaliser les analyses biologiques nous avons récupéré les échantillons de lixiviat à partir de la vanne de vidange du lixiviat (Figure (4-1)). Pour le premier prélèvement, le 14/08/08, nous avons récupéré le lixiviat assez facilement par la vanne dans les pilotes 1, 2, 4, 5, 6, 8, donc les pilotes les plus humides. Par contre pour les pilotes 7 et 12, le lixiviat ne s'écoulait pas. Pour pouvoir récupérer les échantillons à partir de ces pilotes sans changer leurs caractéristiques biochimiques, nous avons injecté de l'eau pure avec un pH de l'ordre de 7 dans ces pilotes et nous avons récupéré les échantillons de lixiviat par la vanne de vidange. La Figure (4-12) montre l'effet de l'injection d'eau dans le pilote 7. L'injection d'eau dans ce pilote a déclenché une production de biogaz de 7 litres.

Après avoir réalisé les premières analyses biochimiques, nous avons procédé à un prélèvement de lixiviat dans tous les pilotes, le 22/09/08, en utilisant la même méthode, c'est-à-dire injecter à peu près 400mL d'eau dans tous les pilotes et récupérer tout le lixiviat sortant de chaque pilote après une heure d'injection. Les échantillons de lixiviat sont ensuite centrifugés, fixés et conservés au congélateur. Les détails de chaque échantillonnage sont présentés dans le Tableau 4-10. Nous utilisons la notation Pn (n : numéro du pilote) pour les échantillons de chaque pilote.

Tableau 4-10 Détails d'échantillonnage et les volumes d'eau injecté dans chaque pilote

Pilote	14/08/2008	22/09/2008	
		Volume d'eau injecté (ml)	Volume de lixiviat récupéré (ml)
1	SIE*	450	300
2	SIE	420	280
4	SIE	380	250
5	SIE	450	300
6	SIE	420	300
7	450ml de l'eau injecté et 300ml récupéré	300	220
8	SIE	450	210
12	600ml de l'eau injecté et 300ml récupéré	400	40
Remarques	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ *SIE : lixiviat récupéré Sans Injection d'Eau</li> <li>▪ pH d'eau injectée = 7,13</li> <li>▪ P7: 2 fois centrifugé</li> <li>▪ P12: 5 fois centrifugé</li> <li>▪ Fuite d'eau par le raccord femelle de la poche de biogaz au pilote 12, la fuite a été bouchée</li> </ul>	P12: 2 fois centrifugé pH de l'eau injecté: 7,8	

### 4.3.2 Résultats des analyses biochimiques et microbiologiques

#### Résultats des analyses biochimiques

Les résultats de l'analyse du pH, d'AGV et de DCO des échantillons sont présentés dans le Tableau 4-11 pour les deux épisodes de prélèvement.

Tableau 4-11 Résultats d'analyse du pH, d'AGV et de DCO dans les pilotes

Pilote		1	2	4	5	6	7	8	12	
14/08/08	AGV (mg/L)	Acide acétique	nd*	nd	nd	nd	nd	2150	nd	428
		Acide propionique	nd	nd	nd	nd	nd	824	nd	nd
		Acide butyrique	nd	nd	nd	nd	nd	2861	nd	4233
	DCO (mg/L)		9610	18030	10930	13490	11970	23360	9960	21620
	pH		8,33	8,18	8,1	8,19	8,23	6,31	8,24	5,77
22/08/08	AGV (mg/L)	Acide acétique	nd	nd	nd	nd	nd	2943	nd	304
		Acide propionique	nd	nd	nd	nd	nd	1025	nd	nd
		Acide butyrique	nd	nd	nd	nd	nd	2784	nd	2580
	DCO (mg/L)		4080	5020	4380	5100	3700	17140	3100	8880
	pH		8,04	7,65	7,76	7,51	7,78	6,51	7,85	6,13

\* nd : Non détecté

Les résultats montrent que le pH des pilotes 1, 2, 4, 5, 6 et 8 est de l'ordre de 8, pour la première et la deuxième analyse, ce qui indique plutôt la phase méthanogène de dégradation anaérobie. Dans ces mêmes pilotes la concentration en AGV est négligeable. Le pH des pilotes 7 et 12 est de l'ordre de 6 ce qui indique plutôt la phase acidogène de la dégradation anaérobie. Le pH optimum pour la méthanogénèse est compris entre 6 et 8 (Ehrig, 1983), et plus précisément entre 6,8 et 7,4 (Barlaz et al., 1990). Pour des déchets ménagers se dégradant en cellules expérimentales, le pH serait compris entre 4 et 7 pour la phase d'acidogénèse et entre 6,9 et 8,5 pour la phase de méthanogénèse (Bouchez et Bourdon, 2001 ; François, 2004). Au-dessous de pH 6, la croissance de la biomasse méthanogène est fortement inhibée. Une chute de pH est, en général, le signe de l'accumulation d'AGV et donc vraisemblablement d'un dysfonctionnement du système. On peut remarquer une forte concentration en AGV dans les pilotes 7 et 12 ce qui confirme bien l'inhibition de la phase méthanogène. Nous rappelons que ces deux pilotes se sont arrêtés de produire le biogaz quelques mois après leur mise en place, ce qui peut s'expliquer avec les valeurs de pH et d'AGV mesurées.

Les valeurs de DCO habituellement observées en phase de méthanogénèse sont comprises entre 500 et 4 500 mg O<sub>2</sub>/l (Kjeldsen et al., 2002) et elles peuvent atteindre la valeur de 8000 mg O<sub>2</sub>/l (Rastas, 2002). La DCO est plutôt élevée en sortie de nos pilotes par rapport aux moyennes mentionnées dans la littérature, pour les échantillons prélevés dans le premier temps. Ceci peut s'expliquer par les fortes concentrations de DCO mesurées dans le lixiviat utilisé (Tableau 4-7). Les valeurs de DCO au deuxième prélèvement sont plus raisonnables et dans les gammes de valeurs de la littérature pour la phase méthanogène. Mais les valeurs très élevées de DCO dans les pilotes 7 et 12 confirment bien une accumulation d'AGV dans la phase acide. Dans la phase méthanogène, la consommation des AGV entraîne une augmentation du pH vers une plage de valeurs qui stimule la méthanogénèse (Barlaz et al., 1990). La concentration en matière organique présente dans les lixiviats diminue, ce qui se traduit par une baisse de la DCO.

## Fixation et hybridation des échantillons avec la technique FISH

**La fixation** (d'évolution des microorganismes) d'un échantillon est une étape clé d'hybridation. Pour la plupart des microorganismes une bonne fixation est atteinte avec une concentration de formaldéhyde (un composé organique très volatil) de 1% à 4%. Pour fixer nos échantillons nous avons suivi les étapes suivantes :

- 1) Dans un tube de 2 mL, ajouter 500 µL de PBS 1X et 1,5 mL de PFA à 4%, vortexer.  
Le PBS, tampon phosphate salin (en anglais Phosphate-Buffered Saline), est une solution tampon qui maintient approximativement le même pH malgré l'addition de petites quantités d'un acide, d'une base ou d'une dilution. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate trisodique et du phosphate de potassium. Le PFA ou paraformaldéhyde est une substance stable au niveau de la réactivité.
- 2) Laisser incuber 1 h à 4°C.
- 3) Laver le culot avec 200 µL de PBS 1X. Vortexer. Centrifuger 10 min, à 12100 g, 4°C. Retirer le surnageant.
- 4) Répéter l'étape 3.
- 5) Retirer le surnageant.
- 6) Ajouter 500 µL de PBS 1X et 500 µL d'éthanol 95%.
- 7) Conserver l'échantillon fixé à -20°C ou -80°C.

**FISH** : L'Hybridation fluorescente *in situ* (en anglais Fluorescent *In Situ* Hybridization) est une technique de biologie moléculaire d'hybridation *in situ* utilisant des sondes marquées à l'aide d'un marqueur fluorescent et utilisées en microscopie. Le FISH est une technique de cytogénétique permettant de voir des éléments à l'intérieur de la cellule ou d'identifier des microorganismes. Pour l'hybridation de nos échantillons avec cette technique nous suivons les étapes suivantes :



## 1) Sondes

3 sondes sont utilisées dans le cadre de cette étude. Les spécificités de chaque sonde sont décrites dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4-12 Spécificités des sondes utilisées dans l'étude

Sonde	Cible	% formamide	Fluorophore	Codage
EUB338 I	Plupart des Bactéries	35	FITC	Vert
Arc915	Archaea	35	Cy5	Bleu
MX1361	Methanosaeta	35	Cy3	Rouge

Les sondes sont livrées lyophilisées. Avant de les utiliser, il est important des les remettre en suspension dans de l'eau nanopure stérile (solution mère) et de les diluer (solution de travail à 50 ng/ $\mu$ L). Les sondes sont conservées à -20°C.

## 2) Préparation de la solution d'hybridation

Nous travaillons à 35% de formamide pour l'ensemble des sondes. La composition de la solution d'hybridation est la suivante :

- 180  $\mu$ L de NaCl 5 M
- 20  $\mu$ L de Tris HCl 1 M
- 350  $\mu$ L de formamide
- 450  $\mu$ L d'eau nanopure
- 2  $\mu$ L de SDS 10%

## 2) Préparation de la solution de rinçage

La composition de la solution de rinçage est la suivante :

- 1 mL de Tris HCl 1 M
- 700  $\mu$ L de NaCl 5 M
- 2,5 mL d'EDTA 0,1 M
- QSP 50 mL d'eau nanopure
- 50  $\mu$ L de SDS 10%

La solution de rinçage est placée au bain-marie à 48°C.

## 3) Hybridation *in situ*

- Déposer 20  $\mu$ L d'échantillon dans chaque puits d'une lame de microscope.
- Placer la lame au minimum 30 min au four à 46°C pour sécher les échantillons.
- Placer la lame 3 min dans 3 bains d'éthanol successifs : éthanol 50%, 80% et 96%.
- Ajouter 10  $\mu$ L de solution d'hybridation dans chaque puits.
- Ajouter 1  $\mu$ L de chaque sonde dans chaque puits.
- Imbiber un morceau de papier absorbant avec le reste de la solution d'hybridation.
- Placer le papier et la lame dans un tube de 50 mL et fermer.
- Placer le tube au four à 46°C durant 1h30.
- Rincer la lame avec un peu de solution de rinçage.
- Placer la lame dans le tube de solution de rinçage et déposer l'ensemble dans le bain-marie à 48°C durant 10 min.
- Rincer la lame à l'eau et la sécher.

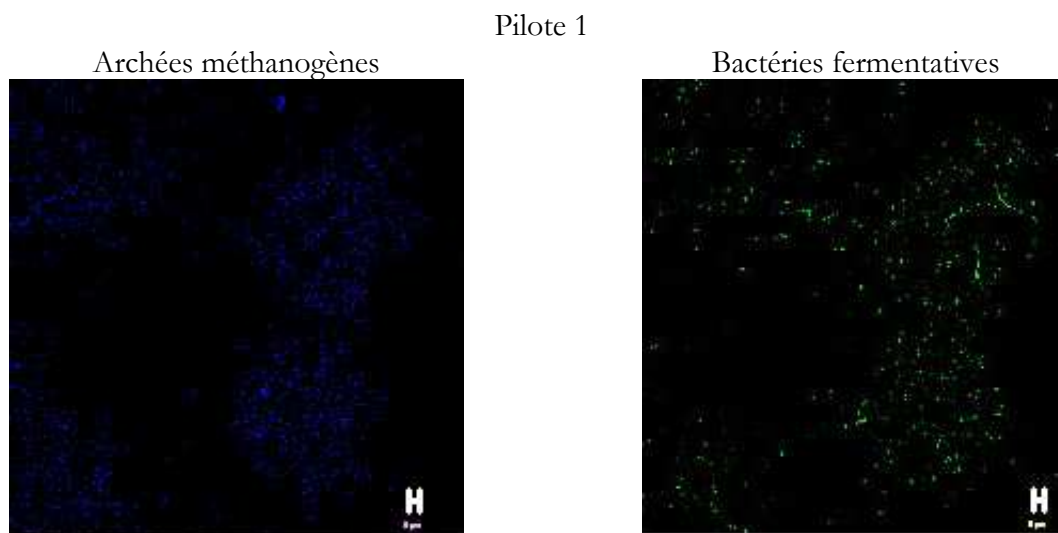
- Monter la lame avec une goutte de citifluor dans chaque puits et déposer une lamelle et la scotcher.

### Microscopie confocale laser

Un microscope confocal est un microscope optique qui a la propriété de réaliser des images de très faible profondeur de champ (environ 400 nm) appelées *sections optiques*. En positionnant le plan focal de l'objectif à différents niveaux de profondeur dans l'échantillon, il est possible de réaliser des séries d'images à partir desquelles on peut obtenir une représentation tridimensionnelle de l'objet. L'objet n'est donc pas directement observé par l'utilisateur ; celui-ci voit une image recomposée par ordinateur. Le microscope confocal fonctionne en lumière réfléchie ou en fluorescence. La plupart du temps, on utilise un laser comme source de lumière. On parle alors de microscope confocal à balayage laser - MCBL (en anglais CLSM pour confocal laser scanning microscope).

### Résultats de l'analyse microbiologique

Les résultats d'analyses microbiologiques par la technique FISH sont présentés ci-dessous pour la première et la deuxième analyse. Tous les échantillons ont été dilués à 1/2 sur la lame, les archées méthanogènes apparaissent en bleu et les bactéries fermentatives en vert. Lors de la première observation, nous avons remarqué une population microbienne en forme des chaînes dans le pilote 7, ce qui n'a pas été observé dans les autres pilotes. Cette forme des microorganismes pourrait être attribuée au genre *methanosaeta* (Pevere, 2006). Une sonde spécifique au genre *methanosaeta* a été alors ajoutée. Les résultats montrent que la population microbienne dans le pilote 7 est bien du genre *methanosaeta* (en rouge sur les Figures (4-13) et (4-14)). Les Figures (4-13) et (4-14) montrent les résultats d'analyse FISH au premier et au deuxième épisode.

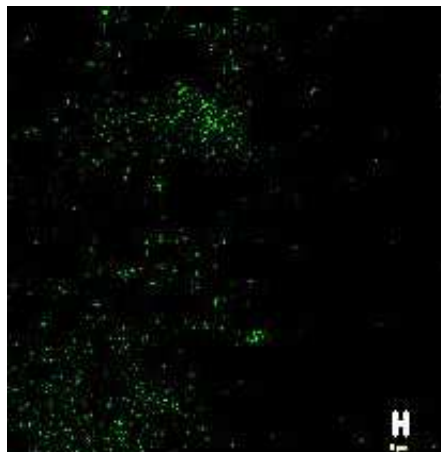


Archées méthanogènes

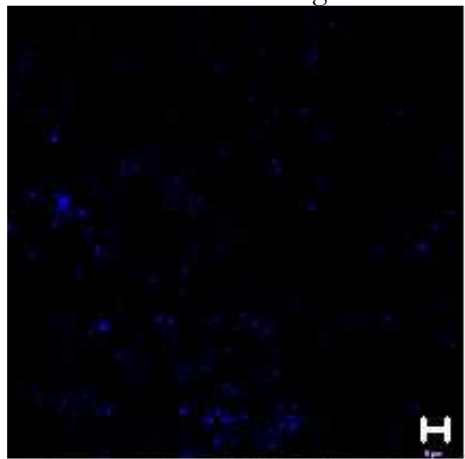


Pilote 2

Bactéries fermentatives

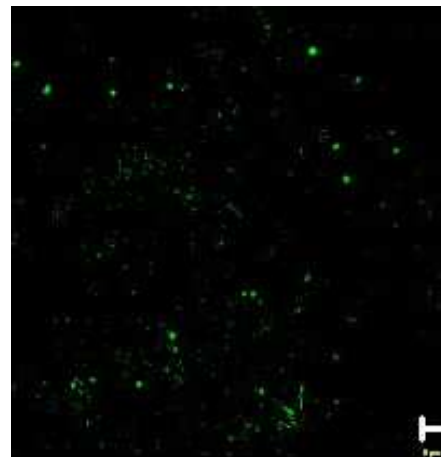


Archées méthanogènes

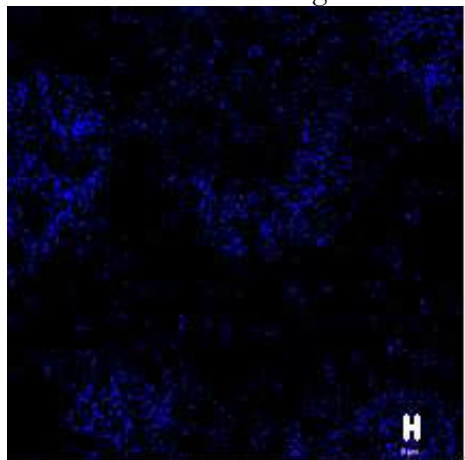


Pilote 4

Bactéries fermentatives



Archées méthanogènes



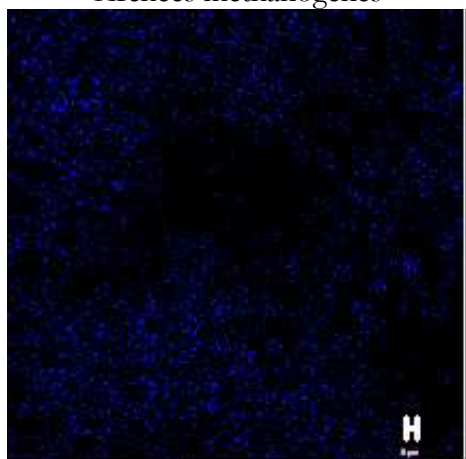
Pilote 5

Bactéries fermentatives

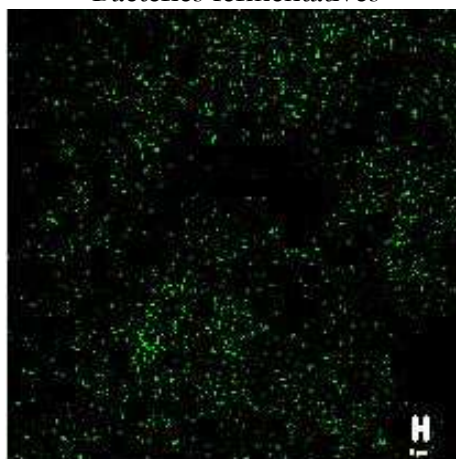


Pilote 6

Archées méthanogènes

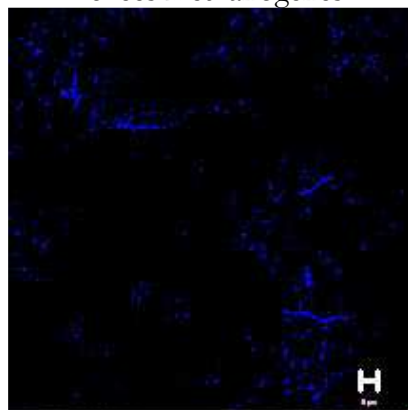


Bactéries fermentatives

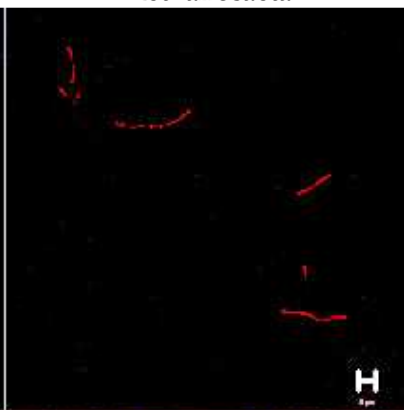


Pilote 7

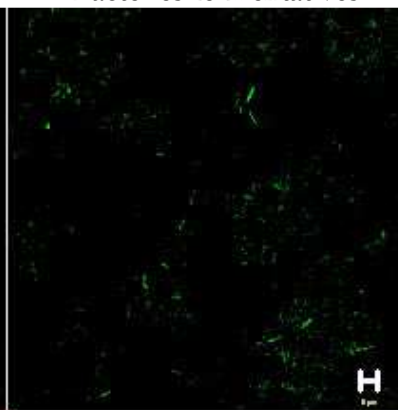
Archées méthanogènes



Methanosaeta

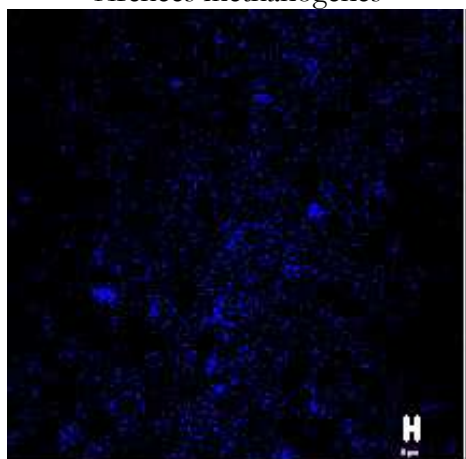


Bactéries fermentatives

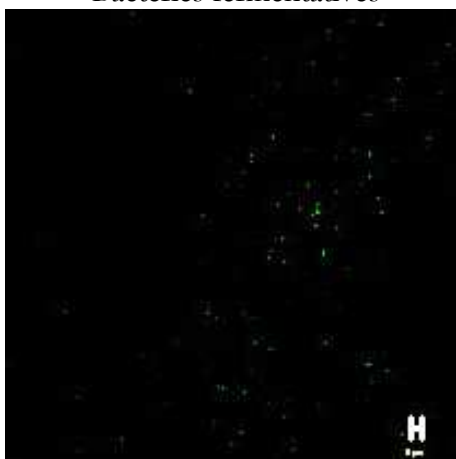


Pilote 8

Archées méthanogènes



Bactéries fermentatives



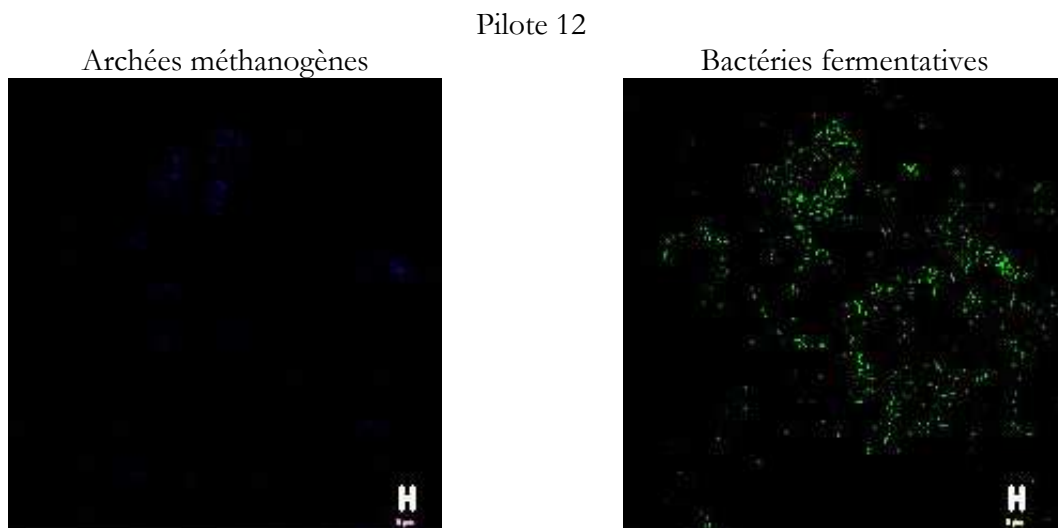
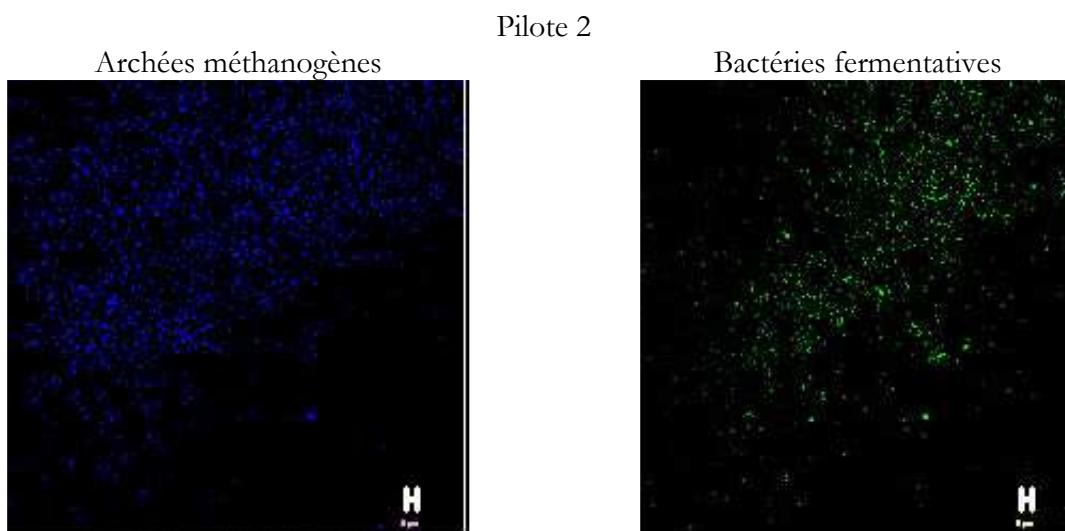
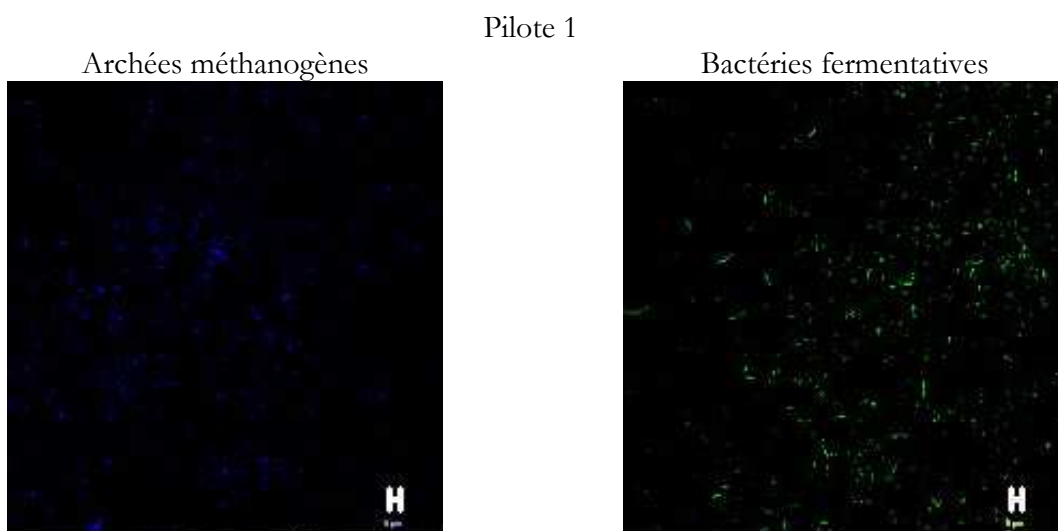
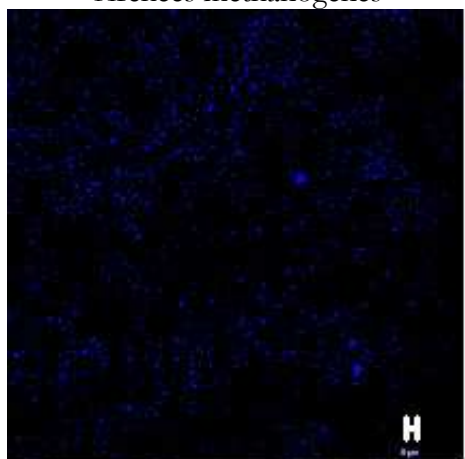


Figure (4-13) Résultats du premier épisode de l'analyse de biomasse en 14/08/08

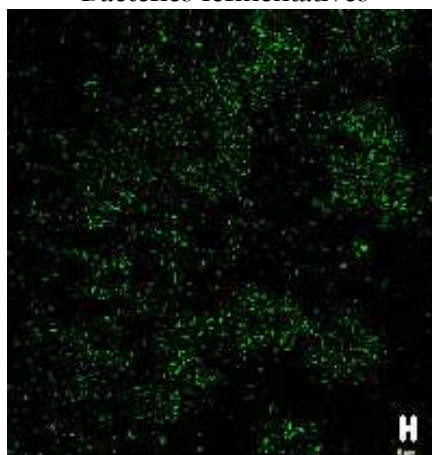


Archées méthanogènes

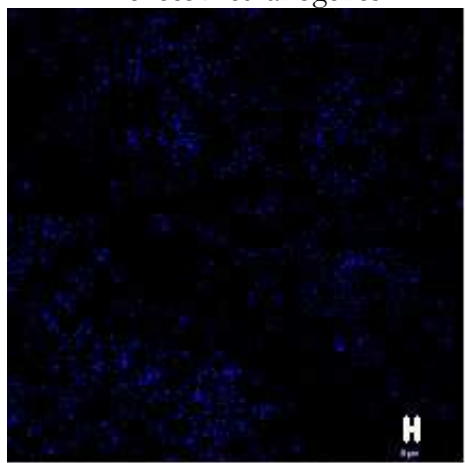


Pilote 4

Bactéries fermentatives

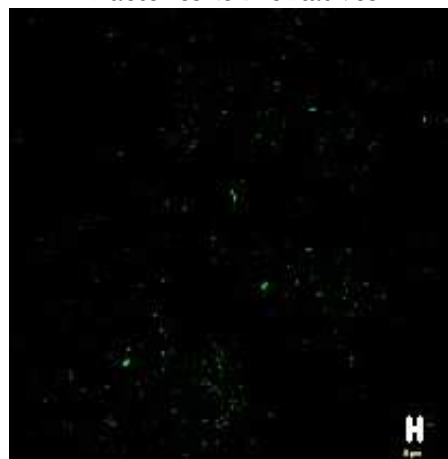


Archées méthanogènes

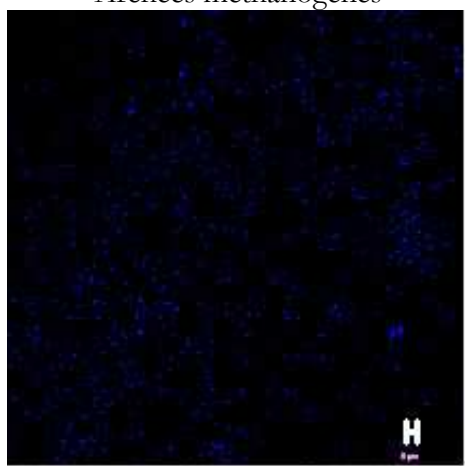


Pilote 5

Bactéries fermentatives

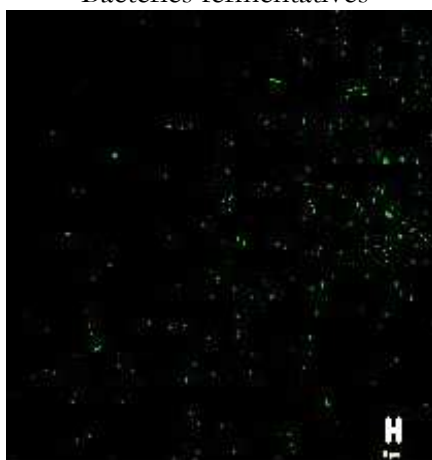


Archées méthanogènes



Pilote 6

Bactéries fermentatives





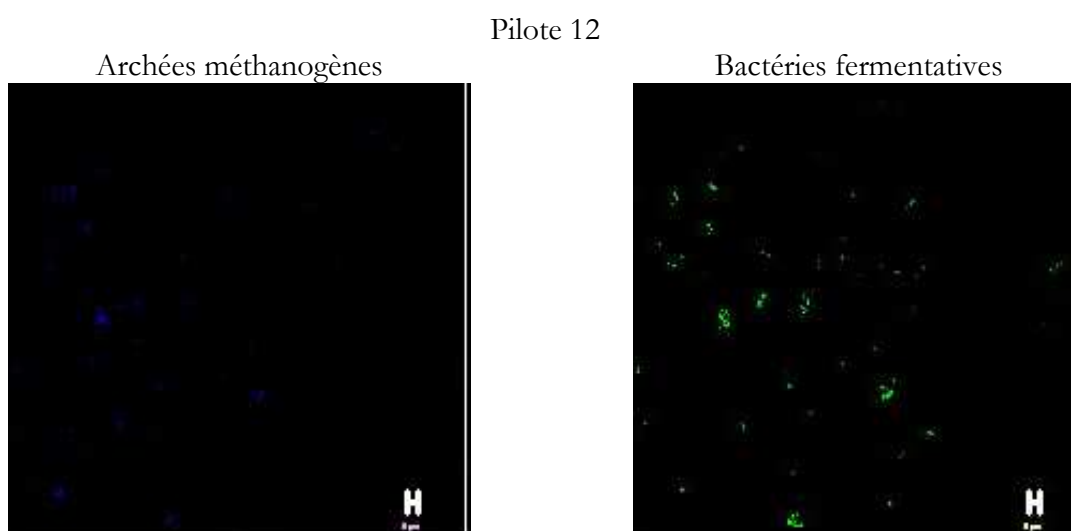
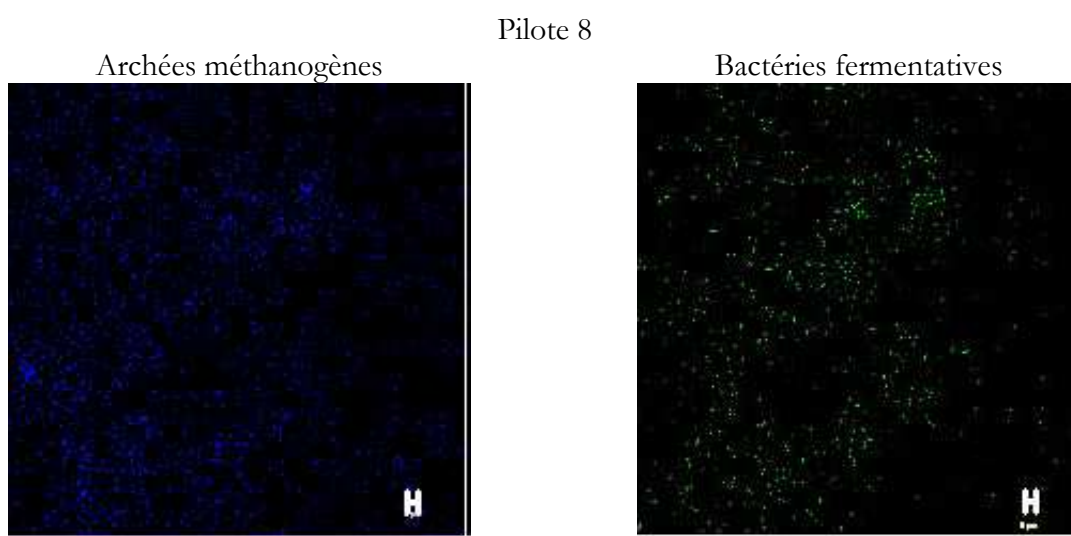
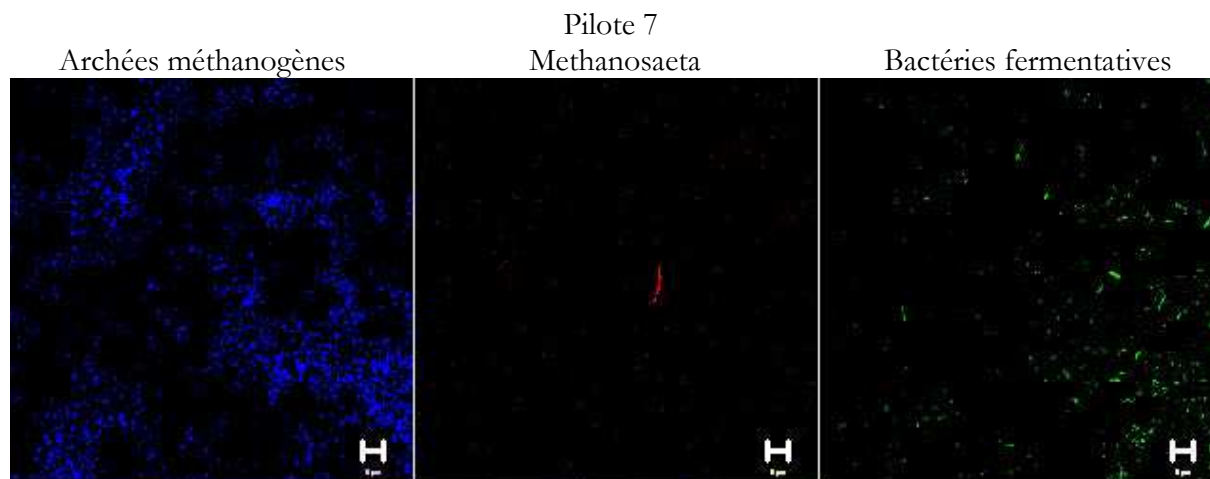


Figure (4-14) Résultats du deuxième épisode de l'analyse de biomasse en 22/09/08

## Interprétations

Nous pouvons observer que le pilote 5 est le pilote dont est issu le lixiviat le plus concentré en biomasse. C'est également le pilote qui a produit le plus de biogaz. Le lixiviat des pilotes 1 et 2 sont chargés en biomasse méthanogène et en bactéries fermentatives. Le lixiviat du pilote 8 contient aussi beaucoup de biomasse mais moins de bactérie fermentative que les pilotes 1, 2 et 5. Tous ces pilotes ont produit plus de biogaz que les autres. En positionnant ces pilotes sur la Figure (4-3), on peut remarquer que ces pilotes sont les plus humides et les moins denses.

Le lixiviat du pilote 6 est le plus chargé en bactéries fermentatives. Il n'a pas produit beaucoup de biogaz (16 litres après deux mois). Le lixiviat du pilote 4 est peu concentré en biomasse. Il a produit autant de biogaz que le pilote 6, mais sur une durée de quatre mois. Dans le lixiviat du pilote 12, un des plus secs et des plus denses, malgré que l'échantillon a été centrifugé 5 fois pour la première analyse et 2 fois pour la deuxième analyse, il n'y a quasiment pas de biomasse.

Nous avons observé le genre *methanosaeta* dans le pilote 7. C'est celui qui a réagi à la variation de la température de la chambre qui a augmenté accidentellement de 34-35°C jusqu'à 38°C (Figure 4-12). Le pilote 7 a repris la production de biogaz un an après sa mise en place. Pendant un an ce pilote n'avait quasiment pas produit de biogaz. Après la diminution de la température de la chambre, la production de biogaz s'est arrêtée dans ce pilote. La Figure (4-14) montre une concentration moins importante en *methanosaeta* par rapport à la Figure (4-13), ce qui pourrait être attribué au lessivage des microorganismes lors de la première recirculation d'eau pour effectuer le premier prélèvement.

Les *methanosaeta* sont avec les *methanosarcina* des microorganismes méthanogènes acetoclastes (chapitre 3). Ce sont les seuls groupes qui produisent du méthane à partir de l'acétate. A la différence des *methanosarcina* qui préfèrent le méthanol ou le méthylamine pour produire du méthane, les *methanosaeta* consomment seulement de l'acétate. Les *methanosaeta* sont probablement les principaux producteurs de méthane dans le monde, grâce à leur capacité à se développer dans des concentrations très faibles en acétate, comme c'est le cas dans les digesteurs anaérobies (Smith et al., 2007). Quand une forte concentration en AGV inhibe la production de l'acétate (les phases de dégradation anaérobie au chapitre 3), la concentration de ce dernier est très faible dans le milieu. Dans ces conditions les *methanosaeta* peuvent croître de façon homogène dans les déchets, avec un taux de croissance assez faible par rapport aux *methanosarcina* (Smith et al., 2007 ; Rocheleau et al, 1999). Smith et al., 2007 a signalé que les *methanosaeta* ont besoin de suffisamment d'énergie pour pouvoir transformer l'acétate en méthane. Liu et al., 2001 suggère que la réaction acetoclaste est une réaction endothermique et pas exothermique.

Ainsi, la concentration forte en AGV dans le pilote 7 (Tableau 4-8) qui inhibe la phase méthanogène et la production d'acétate (6000 à 7000 mg/l) peut très bien expliquer l'évolution des *methanosaeta* dans ce pilote par rapport aux autres pilotes qui sont déjà dans la phase méthanogène. Dans ces pilotes (1, 2, 4, 5 et 6) comme on a pu voir dans le Tableau 4-8 les AGV ne sont pas détectés dans les échantillons. Dans le pilote 12 le niveau d'humidité des déchets n'a pas été favorable à l'évolution de la biomasse.

Il est probable que l'évolution de *methanosaeta* dans le pilote 7 soit causée par les conditions particulières favorables de teneur en eau et de densité dans ce pilote. En effet, *methanosaeta* ne se développe pas dans le pilote 4 qui a la même teneur en eau mais pas la même densité que le pilote 7, et ne se développe pas non plus dans le pilote 3 qui a la même densité mais pas la même teneur en eau que le pilote 7 (les résultats de l'analyse microbiologique du pilote 3 sont présentés dans l'annexe A).

On peut imaginer que *methanosaeta* s'est développé lentement dans le pilote 7 pendant un an après sa mise en place. L'augmentation de la température jusqu'à 38-39°C a permis de rendre disponible l'énergie nécessaire pour la croissance de cette biomasse à partir de l'acétate. Cette réaction se serait arrêtée après la diminution de la température. On peut remarquer aussi que l'injection d'eau a déclenché la production de biogaz dans ce pilote et le volume de biogaz



produit après l'injection d'eau est supérieur à celui causé par l'augmentation de la température. Ceci pourrait indiquer que le rôle de l'humidité a été plus important pour la production de biogaz de ce pilote que les changements de température.

## 4.4 Conclusions

- 1) Nous avons trouvé une relation entre la teneur en eau des déchets, la densité (compactage) et la production de biogaz dans les déchets ménagers. On peut dire que plus les déchets sont saturés et moins ils sont denses, plus ils produisent de biogaz. Cette relation est aussi observée entre la croissance des populations microbiennes et la teneur en eau et la densité. La biomasse se développe plus dans un milieu plus humide et moins dense.
- 2) La teneur en eau des déchets est le facteur clé de la dégradation et de la production de biogaz. Avec une teneur en eau volumique (volume d'eau/volume de déchet) inférieur à 40%, la production de biogaz ne démarre pas, indépendamment de la densité des déchets. La densité des déchets est aussi un facteur très important de la dégradation, la production de biogaz et l'évolution des populations microbiennes. On peut remarquer une production de biogaz plus élevée dans les déchets moins dense, même avec des teneurs en eau très faibles.
- 3) Dans les teneurs en eau supérieures à 45%, on peut remarquer une relation croissante entre la teneur en eau, la production de biogaz et la croissance microbienne et une relation décroissante avec la densité (compactage).
- 4) La température des déchets est un facteur très important dans la dégradation anaérobie et la production de biogaz. La température peut privilégier l'évolution de certaines populations microbiennes qui influencent la production de biogaz en général et de méthane en particulier.
- 5) Les valeurs maximales de biogaz produit correspondent à une teneur en eau comprise entre 45 et 60% et une densité solide entre 400-550 kg/m<sup>3</sup>.
- 6) Il n'a pas été possible techniquement d'atteindre des valeurs de teneur en eau supérieures à 60% dans les pilotes expérimentaux. La pression de biogaz forçait le lixiviat vers l'évent de biogaz situé en haut des pilotes et dans les poches de biogaz.
- 7) Il est très important de saturer et inoculer les déchets d'une façon aussi homogène que possible. Les zones intactes qui sont observées dans les pilotes sont probablement des zones qui n'ont pas été bien humidifiées pendant la première saturation des déchets, ou qui n'ont pas été bien inoculées par la boue méthanogène, ou bien même une combinaison des deux phénomènes.
- 8) On a pu remarquer des écoulements préférentiels pendant l'injection de lixiviat. Pour limiter ces écoulements qui nuisent à la saturation homogène des déchets, le débit d'injection doit être réglé.
- 9) Les zones intactes sont plutôt observées dans le haut des pilotes. Ce phénomène peut être dû à l'écoulement gravitaire de lixiviat dans les pilotes et à l'accumulation de lixiviat dans le bas. On remarque en effet que dans les plupart des pilotes les déchets situés dans le bas sont bien dégradés. Par contre les zones intactes dans le bas des pilotes avec une saturation maximum ou la capacité au champ pourraient être causées par l'accumulation d'AGV, ou par une pauvreté en biomasse (ex. les boues ne sont pas bien mélangées avec ces déchets). Les déchets dans les pilotes 9 à 13 ne sont quasiment pas dégradés ce qui signifie l'arrêt de production de biogaz dans ces pilotes après quelques mois.  
Un système d'agitation des déchets pourrait être efficace expérimentalement pour éviter les zones intactes et sèches dans les pilotes anaérobies, sans ouvrir les pilotes pour éviter l'entrée d'oxygène. Cette agitation pourrait aider à distribuer l'humidité, ainsi que la biomasse et déclencher une production de biogaz dans les zones non dégradées. Ce

système d'agitation est utile dans les cas hors sol, comme les expérimentations en laboratoire ou les digesteurs anaérobies.

- 10) L'effet d'injection de lixiviat dans les déchets secs est beaucoup plus important que dans les déchets saturés ou avec une teneur en eau élevée. Dans les pilotes secs l'injection de lixiviat déclenche la dégradation des déchets et la production de biogaz, par contre dans les déchets déjà humides, cet effet n'est pas observé. C'est probablement parce que dans les déchets humides, la fraction rapidement biodégradable est déjà dégradée en présence d'humidité.
- 11) Nous avons observé que l'injection d'eau a le même effet de déclenchement de la biodégradation des déchets et de la production de biogaz que le lixiviat. Cela semble montrer que dans nos conditions expérimentales l'effet de recirculation du lixiviat est plutôt d'apporter l'humidité nécessaire à l'activité de la biomasse et de diminuer la concentration en AGV, que d'apporter des nutriments. Cette observation semble confirmée par les résultats du modèle numérique. Il faut noter que cette hypothèse est valable en présence d'assez de biomasse et de nutriment dans les déchets. Dans le cas contraire, comme dans le pilote 11, l'injection de l'eau ne suffira pas.
- 12) Les résultats du modèle numérique sont conformes aux résultats expérimentaux. Le modèle est capable de reproduire le comportement hydraulique, thermique et biologique des déchets et l'effet de l'injection de lixiviat sur la dégradation anaérobie et l'hydrolyse des déchets, sur l'évolution de la biomasse et des AGV, ainsi que sur la production de biogaz.