

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (INRS)
CENTRE – EAU TERRE ENVIRONNEMENT
&
INSTITUT SUPÉRIEUR DES HAUTES ÉTUDES EN DÉVELOPPEMENT DURABLE (ISHÉDD)

**ÉTUDE DE LA PRODUCTION DES ACIDES GRAS VOLATILS À PARTIR
DE LA FERMENTATION ACIDOGÈNE DES BOUES D'ÉPURATION DES
EFFLUENTS ISSUS D'UNE USINE DE PÂTES ET PAPIERS**

Par

Soumia SAKAKI

Mémoire présenté

Pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) dans le cadre de la bidiplomation
ISHÉDD-INRS

(Maîtrise en Sciences de l'eau à l'INRS et Master en Sciences de l'eau et de l'environnement à
l'ISHÉDD)

Novembre 2014

Ce mémoire intitulé

**ÉTUDE DE LA PRODUCTION DES ACIDES GRAS VOLATILS À PARTIR
DE LA FERMENTATION ACIDOGÈNE DES BOUES D'ÉPURATION DES
EFFLUENTS ISSUS D'UNE USINE DE PÂTES ET PAPIERS**

Et présenté par

Soumia SAKAKI

a été évalué par un jury composé de

M. Rajeshwar Dayal TYAGI, directeur de recherche (INRS-ETE)

M. Kamal EL HAJI, codirecteur (ISHÉDD)

M. Patrick DROGUI, examinateur interne (INRS-ETE)

M. Avalos RAMIREZ, examinateur externe (CNETE)

RÉSUMÉ

Les acides gras volatiles (AGV) sont des acides gras à chaîne courte, produits à partir de la fermentation acidogène. Ces acides peuvent être une source efficace de carbone pour la production de polyhydroxyalcanoates (PHA). Par contre, l'emploi de ces AGV est actuellement limité par les coûts élevés de leur production. Pour résoudre ce problème et afin d'abaisser ces coûts de production, plusieurs recherches ont été effectuées afin de trouver des substrats de production moins dispendieux et capables de supporter la production des AGV. À ce propos, les boues d'épuration sont un substrat prometteur. L'intérêt d'employer des boues d'épuration est double puisque qu'il s'agit, dans un premier temps, de produire des AGV à des moindres coûts en utilisant un substrat économique. En un second lieu, il favorise la valorisation d'un sous-produit issu du traitement des eaux usées et dont l'élimination présente une problématique. L'objectif de ce travail est de produire des AGVs à partir de la fermentation acidogène des boues secondaires provenant du traitement des effluents issus de l'usine de pâtes et papiers, sous des conditions contrôlées de pH et de température.

De nombreuses stratégies ont été suivies dans ce travail et ont permis d'améliorer les performances du procédé de production des AGVs. Tout d'abord, trois expériences ont été faites en ajoutant le glucose, le sucre de table et les eaux usées de l'industrie de l'amidon pour améliorer l'activité des bactéries acidogènes. Ces expériences ont montré que le saccharose est le meilleur. Ensuite, une autre étude a été réalisée afin de développer l'inoculum. Ces travaux ont permis de déterminer qu'un inoculum préparé à partir de boues de traitement des effluents issues de l'usine de pâtes et papiers, avec l'utilisation du saccharose comme additif, et acclimaté dans des conditions acidogènes favorables, améliore la production des AGV et aboutit à une réduction importante des matières volatiles en suspension (MVES). Un prétraitement thermo-alcalin appliqué aux boues avant la fermentation a permis d'atteindre une concentration importante des acides gras volatils totaux (AGVt) et de favoriser une réduction importante dans les matières en suspension (MES) et les MVES des boues hydrolysées utilisées (57% et 49%, respectivement).

Finalement, d'autres séries d'expériences ont été effectuées pour optimiser les paramètres suivants : la concentration en MES, le pH et la température. Les résultats obtenus ont montré que ces trois paramètres affectent significativement la production des AGVs. En effet, la production maximum (12 820,8 mg/L) observée a été obtenue avec les boues concentrées à 35

g/L de MES. Au pH optimum de 10,0, les principaux AGV obtenus étaient : l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide iso-valérique.

Concernant la température, la production était très importante et a augmenté rapidement sous les trois températures étudiées (25, 35 et 45°C) (6 601 mg/L, 7 356,56 mg/L et 7 796 mg/L, respectivement), alors qu'à 15°C, la production était faible (2 412 mg/L). De plus, aucune variation significative de production des AGV n'a été remarquée entre les températures de 45°C et 35°C.

Mots-clés : acide acétique, acide gras, acide gras volatile, acide iso-valérique, acide propionique, boues d'épuration, fermentation acidogène, prétraitement thermo-alcalin, polyhydroxyalkanoates.

ABSTRACT

The volatile fatty acids (VFA) are short-chain fatty acids produced from the acidogenic fermentation. These acids may be carbon sources for polyhydroxyalkanoates (PHA) production. However, the use of these VFA is currently limited by their high production costs. To solve this problem, several studies have been conducted to find less expensive substrates capable of producing the VFA. In this regard, the sewage sludge is a promising substrate. There are two advantages of using sewage sludge : first, it reduces the cost of VFA production by using an economic substrate; second, it converts the sludge as a by-product of wastewater treatment into a value-added product and minimizes the problem of sludge disposal. Therefore, the objective of this work is to produce VFAs from the acidogenic fermentation of secondary sludge from pulp and paper industry, under controlled pH and temperature conditions.

Several strategies have been employed to improve the VFAs production process performance. First, three experiments were conducted to enhance the activity of the acidogenic bacteria by adding glucose, sucrose and starch industry wastewater, respectively. The best results were obtained with sucrose. Then, studies were performed using different inocula. The results showed that an inoculum prepared from sludge of the pulp and paper industry, with the use of sucrose as an additive and acclimated in favorable acidogenic conditions improved the VFA production and resulted in a significant reduction in volatile suspended solids (VSS). A thermo-alkaline pre-treatment applied to the sludge before fermentation has resulted in a high VFA concentration and in a significant reduction (57% and 49%) for sludge SS and VS, respectively.

Finally, different sets of experiments were performed to optimize the following parameters : the concentration of SS, pH and temperature. The results showed that these three parameters significantly affected the production of VFA. The maximum VFA concentration (12 820,8 mg/L) was obtained with the sludge (TSS) concentrated of 35 g/L. The optimum pH was 10,0 for VFA production and acetic acid, propionic acid and iso-valeric acid were the major VFA obtained.

Temperature also plays an important role in VFA production. The concentration (2 412 mg/L) of produced VFA was lower at lower temperature (15°C), it increased as temperature increased, the VFA concentrations were 6 601 mg/L, 7 356 mg/L and 7 796 mg/L at temperatures of 25, 35 and 45°C, respectively, while there was no significant difference in VFA concentration between 45 and 35°C.

Keywords : acetic acid, acidogenic fermentation, fatty acid, isovaleric acid, polyhydroxyalkanoates, propionic acid, sewage sludge, thermo-alkaline pre-treatment, volatile fatty acid.

REMERCIEMENTS

Mon travail n'aurait pas pu être achevé sans l'intervention de plusieurs personnes que j'aimerais remercier.

En premier lieu, je tiens à remercier l'ensemble du personnel du centre Eau Terre Environnement de l'Institut National de la Recherche Scientifique (INRS).

Ensuite, j'adresse mes sincères remerciements à mon Directeur de recherche, Monsieur le Professeur R.D. TYAGI, de m'avoir offert l'opportunité de travailler au sein de son équipe de recherche. Son expertise et son support tout au long de mes travaux ont été grandement profitables. Je tiens aussi à remercier chaleureusement mes coéquipiers de laboratoire, particulièrement YAN Song et Mathieu DROUIN, pour leurs précieux conseils et leurs supports tout au long de mes travaux.

Je souhaite également remercier les techniciens du Laboratoire de l'INRS : M. Stéphane PRÉMONT, M. René RODRIGUE, M. Sébastien DUVAL et M. Stéphane MOÏSE pour leur disponibilité et leur convivialité.

Je voudrais, aussi, exprimer ma reconnaissance à toute l'équipe pédagogique et administrative de l'institut Supérieur des Hautes Études en Développement Durable (ISHÉDD) pour tous les efforts déployés afin de contribuer à ma formation, en particulier, Monsieur le Directeur Kamal EL HAJI qui s'est montré toujours disponible pour m'aider dans la rédaction de mon mémoire et l'alimentation de ma réflexion.

Finalement, j'aimerais remercier mes parents, ma famille et tous mes proches pour le soutien moral et pour leur encouragement tout au long de mon cursus scolaire.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé	iii
Abstract	v
Remerciements.....	vii
Table des matières	ix
Liste des tableaux	xii
Liste des figures.....	xiii
Liste des annexes	xiv
Liste des abréviations et des sigles.....	xv
Introduction	1
Chapitre 1 :	3
Généralité et champs d'application des acides gras volatiles	3
1. La digestion anaérobie.....	3
1.1 <i>Hydrolyse des polymères et acidogenèse.....</i>	<i>4</i>
1.2 <i>Acétogenèse.....</i>	<i>5</i>
1.3 <i>Méthanogenèse.....</i>	<i>6</i>
2. Les acides gras volatils.....	8
2.1 <i>L'acide acétique.....</i>	<i>9</i>
2.2 <i>L'acide propionique.....</i>	<i>9</i>
2.3 <i>L'acide butyrique.....</i>	<i>9</i>
3. Les voies d'application des AGVs.....	10
3.1 <i>Production d'hydrogène.....</i>	<i>10</i>
3.2 <i>Production de lipides pour le biodiesel.....</i>	<i>11</i>
3.3 <i>Production d'électricité.....</i>	<i>11</i>
3.4 <i>Polyhydroxyalkanoates.....</i>	<i>11</i>
Chapitre 2 :	15
Production des acides gras volatiles.....	15
1. La fermentation acidogène	15
2. Les différents déchets utilisés pour la production des AGV.....	15

2.1	<i>Les boues générées par les usines de traitement des eaux usées</i>	15
2.2	<i>Les déchets alimentaires</i>	16
2.3	<i>Les eaux usées</i>	17
3.	Les différents types de prétraitement utilisés	17
3.1	<i>Le prétraitement chimique</i>	18
3.2	<i>Le prétraitement thermique</i>	18
3.3	<i>Le prétraitement biologique</i>	19
3.4	<i>Le prétraitement par micro-ondes</i>	19
3.5	<i>Le prétraitement par ultrasons</i>	20
3.6	<i>Combinaison de différents prétraitements</i>	20
4.	Facteurs influençant la production des AGVs	21
4.1	<i>La température</i>	21
4.2	<i>Le pH</i>	22
4.3	<i>La charge organique</i>	24
4.4	<i>Le temps de rétention hydraulique</i>	24
4.5	<i>Le temps de rétention des solides</i>	25
4.6	<i>Les additifs</i>	26
	Chapitre 3 :	29
	Objectifs de recherche	29
1.	Objectifs de recherche	29
2.	Hypothèse de recherche	29
	Chapitre 4 :	30
	Démarche méthodologique	30
1.	Procédure de production des AGVs par la fermentation acidogène	30
1.1	<i>Échantillonnage et préparation des substrats de fermentation</i>	30
1.2	<i>Inoculum</i>	30
2.	Méthodologie expérimentale	31

2.1	<i>Évaluation de l'ajout d'additifs sous forme de sucres sur la production des AGVs à partir des boues provenant de l'usine de pâtes et papiers</i>	31
2.2	<i>Évaluation du développement d'inoculum lors de la production des acides gras volatils</i>	32
2.3	<i>Évaluation du prétraitement, par hydrolyse alcaline, des boues sur la production des AGVs</i>	32
2.4	<i>Évaluation de la concentration des boues en matières en suspension (MES) des boues, du pH et de la température</i>	32
3.	Méthodologie analytique	33
3.1	<i>Hydrolyse</i>	33
3.2	<i>Fermentation</i>	34
3.3	<i>Analyse des échantillons recueillis</i>	35
Chapitre 5 :		37
Résultats et discussion		37
1.	Évaluation de l'ajout des additifs sous forme de sucre	37
2.	Évaluation de l'utilisation des inocula développés	40
3.	Évaluation de l'utilisation des boues prétraitées	43
4.	Évaluation de la concentration en MES	45
5.	Évaluation du pH	48
5.1	<i>Effet du pH sur la production des AGVt</i>	48
5.2	<i>Effet du pH sur la distribution des AGV</i>	50
6.	Évaluation de la température	52
6.1	<i>Effet de la température sur la production des AGV</i>	52
6.2	<i>Effet de la température sur la production des AGV</i>	54
Conclusion et recommandations		57
Bibliographie		59
Annexes		73

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1 : Synthèse du processus de méthanogenèse (Moletta, 2006).....</i>	<i>7</i>
<i>Tableau 2 : Caractéristiques des boues d'épuration provenant du traitement des eaux usées issues de l'usine de pâtes et papiers.</i>	<i>31</i>
<i>Tableau 3 : Récapitulatif des conditions expérimentales des expériences 1, 2, 4 et 5.</i>	<i>42</i>
<i>Tableau 4 : Effet de la concentration en MES sur le pourcentage en concentration de chaque AGV par rapport aux AGVt.</i>	<i>46</i>
<i>Tableau 5 : Variation du pourcentage en concentration de chaque AGV par rapport au temps à une concentration en MES de 15 g/L.....</i>	<i>47</i>
<i>Tableau 6 : Effet du pH sur le pourcentage en concentration de chaque AGV par rapport aux AGVt.....</i>	<i>50</i>
<i>Tableau 7 : Variation du pourcentage de chaque AGV par rapport au temps à pH 10.0.....</i>	<i>51</i>
<i>Tableau 8 : Effet de la température sur le pourcentage de chaque AGV par rapport aux AGVt.</i>	<i>54</i>

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1 : Schéma de la chaine trophique de la méthanogenèse et de ses différentes étapes (Moletta, 1993).</i>	4
<i>Figure 2 : Les acides gras volatils</i>	8
<i>Figure 3 : Évolution de la production des AGVt en fonction du temps lors de trois fermentations qui utilisent différents sucres comme additifs.</i>	37
<i>Figure 4 : Évolution des différents AGVs en fonction du temps lors de la fermentation utilisant le saccharose comme additif.</i>	38
<i>Figure 5 : Évolution de la concentration des AGVt en fonction du temps lors de deux fermentations inoculées à partir des biomasses des expériences 1 et 2 à 50% sans ajout de sucre.</i>	41
<i>Figure 6 : Évolution de la concentration de la MVES en fonction du temps lors de quatre fermentations utilisant les mêmes conditions de pH et de température, mais avec des inoculations différentes.</i>	41
<i>Figure 7 : Évolution de la production des AGVs en fonction du temps lors de la fermentation en utilisant du saccharose avec des boues fraîches et en utilisant du saccharose avec des boues hydrolysées.</i>	44
<i>Figure 8 : Évolution de la MES et la MVES en fonction du temps lors de la fermentation en utilisant du saccharose avec des boues fraîches et en utilisant du saccharose avec des boues hydrolysées.</i>	44
<i>Figure 9 : Évolution de la concentration des AGVt en fonction du temps lors de quatre fermentations effectuées dans les mêmes conditions avec des différentes concentrations en MES différentes (15, 20, 30 et 35 g/L).</i>	46
<i>Figure 10 : Évolution de la production des AGVt en fonction du temps lors de quatre fermentations utilisant les mêmes conditions de concentration en MES et de température mais avec différents pH (4, 5, 6 et 10).</i>	49
<i>Figure 11: Évolution de la production des AGVt en fonction du temps lors de quatre fermentations utilisant les mêmes conditions de pH et de concentration en MES mais sous différentes températures (15, 25, 35 et 45°C).</i>	53

LISTE DES ANNEXES

<i>Annexe 1 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du saccharose (expérience 1).....</i>	<i>73</i>
<i>Annexe 2 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du glucose (expérience 2).....</i>	<i>73</i>
<i>Annexe 3 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation des EUA (expérience 3).....</i>	<i>74</i>
<i>Annexe 4 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 1.....</i>	<i>74</i>
<i>Annexe 5 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 2.....</i>	<i>75</i>
<i>Annexe 6 : Production des AGVs, pendant 48h, au cours de l'expérience 4.....</i>	<i>75</i>
<i>Annexe 7 : Production des AGVs, pendant 48h, au cours de l'expérience 5.....</i>	<i>76</i>
<i>Annexe 8 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 4.....</i>	<i>76</i>
<i>Annexe 9 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 5.....</i>	<i>77</i>
<i>Annexe 10 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation des boues prétraitées (expérience 6).....</i>	<i>77</i>
<i>Annexe 11 : Réduction de la MES et la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 6.....</i>	<i>78</i>
<i>Annexe 12 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 15 g/L en MES.....</i>	<i>78</i>
<i>Annexe 13 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 20g/L en MES.....</i>	<i>79</i>
<i>Annexe 14 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 30 g/L en MES.....</i>	<i>79</i>
<i>Annexe 15 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 35 g/L en MES.....</i>	<i>80</i>
<i>Annexe 16 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 4,0.....</i>	<i>80</i>
<i>Annexe 17 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 5,0.....</i>	<i>81</i>
<i>Annexe 18 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 6,0.....</i>	<i>81</i>
<i>Annexe 19 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 10,0.....</i>	<i>82</i>
<i>Annexe 20 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 15°C.....</i>	<i>82</i>
<i>Annexe 21 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 25°C.....</i>	<i>83</i>
<i>Annexe 22 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 35°C.....</i>	<i>83</i>
<i>Annexe 23 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 45°C.....</i>	<i>84</i>

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SIGLES

AGV	Acides gras volatiles
BA	Boues activées
BP	Boues primaires
COD	Carbone organique dissout
CT	Carbone total
DA	Digestion anaérobie
DBA	Déchets des boues activées
DBSS	Dodécylbenzènesulfate de sodium
DCO	Demande chimique en oxygène
DSM	Déchets solides municipaux
DSS	Dodécylsulfate de sodium
EBN	Élimination biologique des nutriments
EUA	Eaux usées d'amidon
FA	Fermentation acidogène
FODSM	Fraction organique des déchets solides municipaux
HV	Hydroxyvalérate
MES	Matières en suspension
MVES	Matières volatiles en suspension
NT	Nitrogène total
OHPA	Obligate hydrogen producing acetogens
PCM	Pile à combustible microbienne
PHA	Polyhydroxyalkanoates
PHB	Polyhydroxybutyrate
POR	Potentiel d'oxydo-réduction
TCO	Taux de charge organique
TRH	Taux de rétention hydraulique
TRS	Taux de rétention solide
ST	Solides totaux
SV	Solides volatils

INTRODUCTION

L'utilisation des produits chimiques porte atteinte à l'environnement et à ses différents écosystèmes. Les alternatives biologiques aux produits chimiques, compatibles avec l'environnement, sont de plus en plus étudiées. Parmi ces alternatives, les polyhydroxyalkanoates (PHA) présentent un intérêt considérable vu que ces polymères biodégradables ont les mêmes propriétés que les plastiques conventionnels. Toutefois, l'utilisation à grande échelle des PHA a été réduite par des coûts de production élevés. Des études ont réussi à augmenter la gamme de production des PHA de 40-77% à partir de cultures microbiennes mixtes alimentées avec des déchets fermentés (Jiang *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2012; Reddy et Mohan, 2012). Cette stratégie démontre que les acides gras volatiles (AGV) peuvent être des substrats très précieux pour la production des PHA.

Les AGV sont les produits d'un processus anaérobie impliquant l'hydrolyse et l'acidogénèse, appelé la fermentation acidogène. Ces produits sont considérés comme des substrats précieux et ont un large éventail d'applications, telles que la production de bioplastiques, la bioénergie et l'élimination biologique des nutriments des eaux usées. À l'heure actuelle, beaucoup d'efforts sont effectués pour développer leur production à partir des déchets riches en matières organiques tels que les boues d'épuration, les déchets solides et les eaux usées industrielles (Jiang *et al.*, 2007; Bengtsson, 2008; Jiang, 2012;). D'une part, une telle transformation des déchets en AGV donne également une solution alternative pour réduire la quantité croissante de déchets générés et, d'autre part, elle permet de répondre au problème d'éthique posé par l'utilisation d'aliments pour la production de produits chimiques. En effet, les sucres purs tels que le glucose et le saccharose ont été couramment utilisés comme source principale de carbone dans la production biologique des AGV.

Pour maximiser la production des AGV, il est important de savoir que lors de leur production à partir de déchets solides, l'hydrolyse est une étape limitante, en raison de la structure et de la composition des déchets complexes (Fdez-Güelfo *et al.*, 2001). Par exemple, la paroi cellulaire et les substances polymères extracellulaires dans les boues imposent des barrières physiques et chimiques pour l'hydrolyse de la matière organique intracellulaire (Tang *et al.*, 2010). Par conséquent, une étape de prétraitement qui précède la fermentation peut être bénéfique. De plus, le pH de fonctionnement, la température, le temps de rétention, ainsi que les additifs utilisés peuvent avoir de grands effets sur la concentration, le rendement et la composition des

AGV produits à partir de déchets. Dans la littérature, la plupart des chercheurs ont examiné ces facteurs un à la fois et il n'y a que quelques œuvres (Hu *et al.*, 2013; Hong et Haiyun, 2010) qui évaluent leurs effets interactifs.

L'intérêt de ces travaux est double. Dans un premier temps, ils visent à améliorer la production des AGV à des coûts faibles, en profitant de la matière organique présente dans les boues comme substrat. En second lieu, ils donnent une stratégie alternative à la gestion des boues.

Dans le cadre du présent travail, l'influence de différents facteurs sur la production des AGV, tels que le contrôle du pH et de la température, l'inoculum et la concentration de la matière en suspension (MES) des boues a été étudiée. De plus, un prétraitement hydrolytique des boues a été expérimenté.

CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉ ET CHAMPS D'APPLICATION DES ACIDES GRAS VOLATILES

1. La digestion anaérobie

La digestion anaérobie (DA) est définie comme étant la transformation de la matière organique en un gaz combustible appelé biogaz. Ce biogaz est composé principalement de méthane et de gaz carbonique (Moletta *et al.*, 2008). Ainsi, Gottschalk (1979) a défini la fermentation comme un processus bioénergétique qui n'implique pas une chaîne respiratoire ayant l'oxygène, le dioxyde de soufre et le nitrate comme accepteur final d'équivalents réducteurs.

La réaction de la DA se retrouve dans tous les endroits où sont stockés et accumulés des déchets organiques totalement ou partiellement privés d'aération en continue. Il s'agit des décharges d'ordures ménagères (contrôlées ou non), des stations d'épuration des eaux et des digesteurs anaérobies.

En effet, la DA est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus courantes pour la gestion des boues, particulièrement en raison de son potentiel pour la dégradation du volume des boues d'épuration à faible coût. Elle a été reconnue la plus écologique en terme de consommation d'énergie (Suh et Rousseaux, 2002), de même qu'en raison de sa faible production de biomasse et de son taux de destruction élevé d'agents pathogènes. Il a été démontré que la DA pouvait détruire partiellement les agents pathogènes, alors que le processus thermophile était plus efficace dans l'élimination des micro-organismes indicateurs et les bactéries pathogènes à différents taux de charge organique (Shih, 1987; Matieu *et al.*, 1992; Jian et Zhang, 1999; Rojas *et al.*, 2001; 1999; Gannouna *et al.*, 2009). La DA favorise aussi la production d'énergie renouvelable, ce qui permet la suppression de la quantité correspondante de gaz carbonique d'origine fossile (Buffière *et al.*, 2008 ; Appels *et al.*, 2001).

La biodégradation anaérobie d'un composant organique polymérique (polysaccharides, protéines, lipides, etc.) est en effet un processus microbiologique s'effectuant en plusieurs étapes et qui aboutit à la production de méthane. Cette réaction est réalisée dans le cadre d'un écosystème microbien complexe qui possède des fonctions métaboliques différentes pour la transformation du flux de matière en biogaz, en passant par de nombreux intermédiaires.

Les voies de fermentation méthanique peuvent être accentuées en fonction des conditions de température ou en présence de certains éléments ou substrats dans le milieu. Les voies métaboliques simplifiées, décrivant le processus de cette transformation, sont représentées à la figure 1.

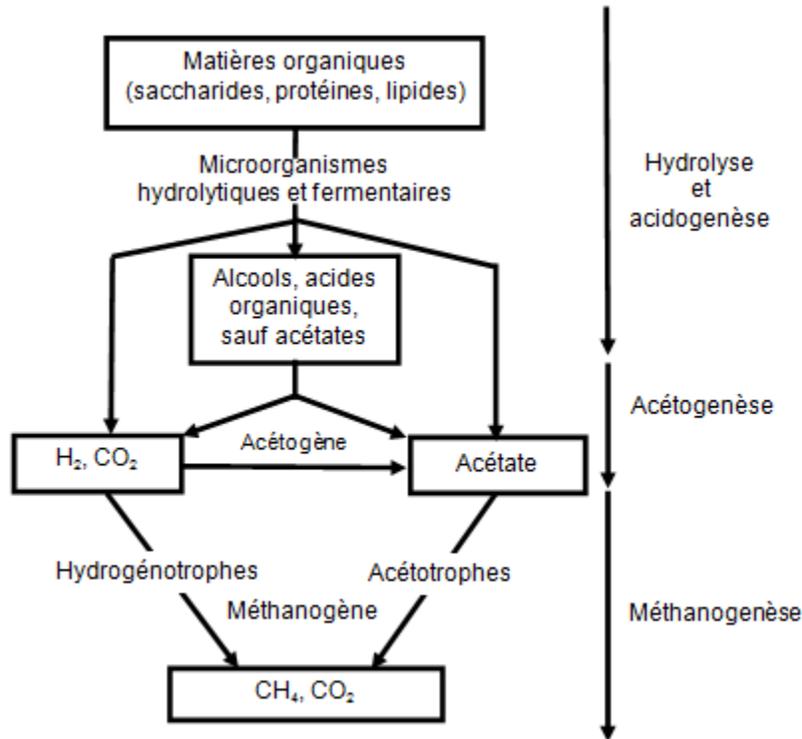


Figure 1 : Schéma de la chaîne trophique de la méthanogenèse et de ses différentes étapes (Moletta, 1993).

1.1 Hydrolyse des polymères et acidogénèse

Lors de cette première étape, réalisée par des bactéries hydrolytiques et fermentatives, les macromolécules sont hydrolysées en monomères, qui seront à leur tour fermentés en acide mono- et di-carboxyliques, en alcools, en acides aminés, en gaz carbonique et en hydrogène. Les molécules complexes telles que les protéines, la cellulose et l'hémicellulose sont hydrolysées en molécules simples (sucres, acides aminés, peptides, etc.). L'étape d'hydrolyse est réalisée par plusieurs groupes d'eubactéries anaérobies strictes et facultatives. Les principales espèces appartiennent aux genres *Clostridium*, *Bacillus*, *Ruminococcus*, *Enterobacteroides*, *Propionibacterium*, *Prevotella* et *Bacteroides* (Klass, 1984). Les monomères formés par hydrolyse sont décomposés par des bactéries acidogènes en un mélange complexe

riche en acides gras volatiles dénommés communément AGV (acide acétique, acide propionique, acide butyrique...), en alcool, en acide organique (acide lactique, acide succinique...), en hydrogène et en gaz carbonique.

Parmi les bactéries fermentaires, on peut trouver des espèces appartenant aux genres *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Selenomonas*, *Succinivibrio*, *Fusobacterium* et *Butivibrio*. Les produits intermédiaires du métabolisme fermentaire tels que le lactate ou l'éthanol s'accumulent rarement dans les biotopes anaérobies comme les digesteurs, car la microflore méthanogène, lorsqu'elle est présente, consomme activement l'hydrogène, déplaçant ainsi le métabolisme vers des produits plus oxydés tels que l'acétate.

Dans ces associations, les bactéries fermentaires produisent essentiellement de l'hydrogène, du CO₂ et de l'acétate, au détriment des molécules plus réduites telles que le lactate, l'éthanol, le propionate, le butyrate ou le valérate. Les acides acétique, propionique et butyrique sont cependant les principaux acides organiques pouvant aussi s'accumuler lors de la dégradation anaérobie de la matière organique lorsque certaines conditions physicochimiques sont défavorables à la méthanogenèse. Ces conditions sont : i) un pH acide de moins de 6,5, ii) un temps de séjour court, iii) une température psychophile et iv) des concentrations de nitrate supérieures à 150 mg/L.

1.2 Acétogenèse

L'acétogenèse est l'étape au cours de laquelle les produits de l'acidogenèse se transforment en acide acétique, en hydrogène et en gaz carbonique. L'acide acétique joue un rôle particulièrement important dans la méthanisation puisqu'il peut être à l'origine de 70% du méthane produit (Siegrist *et al.*, 1993). Il a été établi que l'acétogenèse reste l'étape limitante de la biométhanisation des substrats monomériques comme le glucose (Colleran *et al.*, 1982) alors que l'hydrolyse devient l'étape limitante dans le cas de la biométhanisation des substrats complexes (Gosh *et al.*, 1982). Au cours de cette étape, l'oxydation des substrats (surtout les acides propionique et butyrique et l'éthanol) est couplée à la formation d'acétate, d'hydrogène et de dioxyde de carbone. On distingue deux groupes de bactéries acétogènes :

(i) les bactéries productrices d'hydrogène : ce sont des bactéries anaérobies strictes, également appelées OHPA (« Obligate Hydrogen Producing Acetogens »). Elles sont capables de produire de l'acétate et de l'H₂ à partir des métabolites réduits issus de l'acidogenèse tels que le propionate et le butyrate. Il faut noter que ces bactéries ont un temps de dédoublement assez

long, de l'ordre de 1 à 7,5 jours (McInerney *et al.*, 1981; Roy *et al.*, 1986). La thermodynamique des réactions catalysées par ces bactéries acétogènes est défavorable dans les conditions standards. Elles ne deviennent possibles qu'à des pressions partielles d'H₂ très faibles, de l'ordre de 10⁻⁴ à 10⁻⁶ atm. L'accumulation d'hydrogène traduit un dysfonctionnement et conduit inévitablement à l'arrêt de l'acétogénèse (Thiele, 1991; Wu *et al.*, 1991). Ceci implique la nécessité d'une élimination constante de l'hydrogène produit. Cette élimination peut être réalisée grâce à l'association syntrophique de ces bactéries avec des microorganismes hydrogénotrophes, idéalement les *Archaea* méthanogènes, qui vont consommer l'hydrogène produit.

(ii) les bactéries acétogènes non syntrophes : le métabolisme de ces bactéries est majoritairement orienté vers la production d'acétate. Elles se développent dans les milieux riches en CO₂, ce qui est très souvent le cas des niches anaérobies. On classe généralement les bactéries acétogènes non syntrophes en deux groupes :

- Un premier groupe est formé de bactéries qui produisent de l'acétate, du butyrate et d'autres composés à partir de sucres simples : les bactéries de ce groupe sont classées en plusieurs genres tels que *Acetobacterium*, *Acetogenium*, *Clostridium*, *Sporomusa*, etc. (Dolfing, 1988).
- Les bactéries « homo-acétogènes » constituent le second groupe. Elles utilisent l'hydrogène et le dioxyde de carbone pour produire de l'acétate. Les bactéries de ce second groupe appartiennent essentiellement au genre *Clostridium*. Elles ne semblent pas entrer en compétition pour l'hydrogène avec les *Archaea* méthanogènes hydrogénotrophes et sont présentes en quantité beaucoup plus faible dans les biotopes anaérobies.

1.3 Méthanogénèse

La méthanogénèse est le processus au cours duquel le méthane peut être formé à partir de différents produits de l'acétogénèse (acétate, CO₂, H₂ et formate essentiellement) (Tableau1). Les bactéries actives de cette dernière étape sont réunies dans un groupe qui leur est propre, celui des *Archaea*. Elles possèdent des caractéristiques spécifiques par rapport aux eubactéries et aux eucaryotes, notamment en ce qui concerne leurs coenzymes. Ces *Archaea* n'utilisant qu'un nombre restreint de substrats, il est possible de classer les méthanogènes selon cette caractéristique.

Tableau 1 : Synthèse du processus de méthanogénèse (Moletta, 2006)

Étape	Type de transformation	Exemples de microorganismes
Hydrolyse	Dépolymérisation en monomères : - polysaccharides → oses - protéines → acides aminés	Bactéries hydrolytiques : <i>S. typhii</i> , <i>S. galinarum</i> <i>E. coli</i> , <i>Acetobacter</i> , <i>Xylinum</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , etc.
Acidogénèse	Fermentation des monomères en : - acides gras volatils - alcools (éthanol, ...) - CO ₂ , H ₂ O	Bactéries acidogènes : <i>L. brevis</i> , <i>L. fermenti</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>L. pentosaceus</i> , <i>Clostridium tetanis</i> , <i>C. butyricum</i> , <i>Thermobacterium yoghurti</i> , etc.
Acétogénèse	Fermentation des produits de l'acidogénèse (autres que l'acétate) en : acétate, H ₂ et CO ₂	Bactéries acétogènes : <i>Acetobacter xylinum</i> , <i>S. typhosa</i> , <i>S. pullorum</i> , <i>Mycoderma aceti</i> , <i>Methanococcus venielli</i> .
Méthanogénèse	Formation du méthane (CH ₄) à partir de : - la méthanogénèse acétoclastique - la réduction du CO ₂ par H ₂ du formate, méthanol ou du méthylanime	Bactéries méthanogènes : <i>Methanobacterium formicicum</i> , <i>M. songenii</i> , <i>M. melianski</i> , <i>M. propionicum</i> , <i>Methanococcus mazei</i> , <i>M. varielli</i> , etc.

Ainsi, l'acétate est métabolisé par les bactéries méthanogènes acétoclastes des genres *Methanosaeta* (ou *Methanothrix*) et *Methanosarcina* qui sont à l'origine de la plus grande partie du méthane produit dans les réacteurs biologiques de dépollution. Les bactéries méthanogènes hydrogénophiles, comme les espèces des genres *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanobrevibacter*, utilisent l'hydrogène et le dioxyde de carbone.

La réduction du CO₂ en CH₄ nécessite un minimum d'hydrogène (H₂ 10⁻⁶ atm.) pour être exergonique. Il existe une niche énergétique correspondant à une association de ces microorganismes. Elle est délimitée par les valeurs de l'énergie libre de plusieurs réactions en fonction de la pression partielle en hydrogène. Les caractéristiques cinétiques des bactéries présentes sont très différentes et il existe de nombreuses interrelations. Ainsi, la croissance de la flore productrice de méthane dépend de celle des bactéries des phases précédentes. Mais les plus importantes portent sur le devenir de l'hydrogène. En effet, les bactéries utilisatrices d'hydrogène sont fondamentales pour assurer l'équilibre du système : le maintien par les méthanogènes d'une très faible pression partielle en hydrogène est indispensable pour permettre l'activité de la population acétogène. Les différentes communautés microbiennes impliquées dans le processus de dégradation de la matière organique doivent constituer un

écosystème équilibré pour que l'essentiel des équivalents réducteurs produits comme déchets au cours de l'anabolisme bactérien se retrouve finalement dans le méthane.

2. Les acides gras volatils

Les principaux acides gras sont : l'acide acétique ou Acétate (C2), l'acide propionique ou Propionate (C3) et l'acide butyrique ou Butyrate (C4), alors que les AGV mineurs sont composés de : l'acide isobutyrique ou Isobutyrate (iC4 ou isoC4), l'acide valérique ou Valérate (C5), l'acide isovalérique ou Isovalérate (iC5 ou isoC5), le 2-méthyl butyrate (2-mb), l'acide caproïque ou Caproate (C6) (Figure 2). La différence entre IsoC4 (resp. IsoC5 et 2-mb) et C4 (resp. C5) qui ont un même nombre de carbone, d'hydrogène et d'oxygène est le fait que pour les isoAGV (iso C4, isoC5, 2-mb), la chaîne carbonée n'est pas linéaire.

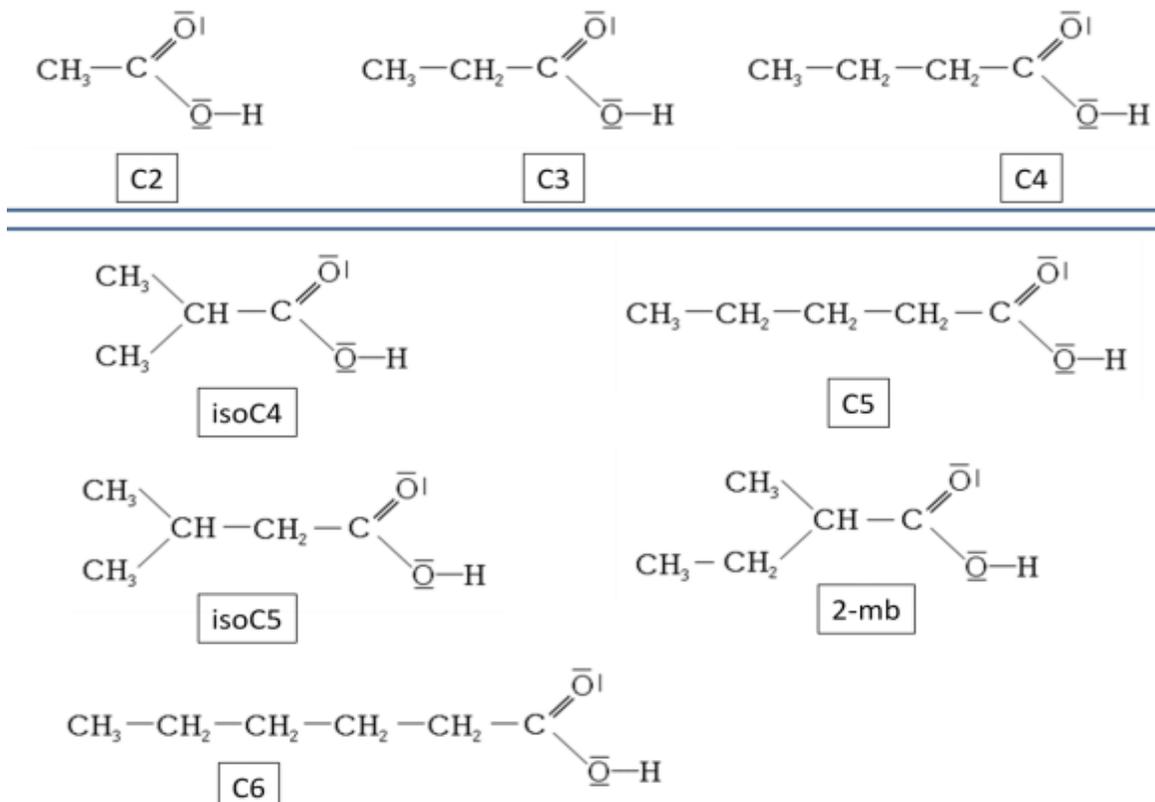


Figure 2 : Les acides gras volatils

2.1 L'acide acétique

L'acide acétique, appelé aussi l'acide éthanoïque, présente le composé le plus simple et le plus utilisé dans la catégorie des acides carboxyliques qui ont une large gamme d'applications chimique et industrielle très importante. C'est un acide faible, capable de libérer le proton H^+ du groupe carboxyle (-COOH), ce qui lui confère son acidité. Sa formule brute est $C_2H_4O_2$.

L'acide acétique récupéré représente une source importante d'acide acétique. Les plus grands fournisseurs d'acide récupéré proviennent de la production d'acétates de cellulose, les opérations d'alcool de polyvinyle et de nombreuses acylations de l'anhydride acétique. L'acide acétique peut également être récupéré à partir de différentes sources de déchets par différents procédés comme l'extraction par solvant (Kim *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2007).

La chimiosynthèse de produits pétroliers, du butane, du méthanol et d'autres (Ghose et Bhadra 1985; Kirk-Othmer, 1991; Cheryan *et al.*, 1997) et la fermentation microbienne (Sugaya *et al.*, 1986; Ebner *et al.*, 1996) sont d'autres voies de production d'acide acétique de synthèse.

2.2 L'acide propionique

L'acide propionique, ou l'acide propanoïque, est un produit chimique important largement utilisé comme matière première dans différentes industries (Woskow et Glatz, 1991; Kerjean *et al.*, 2003). C'est un acide carboxylique saturé de 3 carbones, sa formule brute étant $C_3H_6O_2$. Il peut être produit par synthèse chimique ou par fermentation biologique. Actuellement, la quasi-totalité de l'acide propionique est produite par synthèse chimique à partir de matières premières du pétrole (Playne, 1985; Goswami et Srivastava, 2000). L'acide peut également être produit par propionibactéries via la voie de l'acide carboxylique avec de l'acide acétique et de l'acide succinique comme sous-produits (Suwannakham et Yang 2005; Coral *et al.*, 2008; Zhang et Yang 2009a; Zhang et Yang, 2009b). D'autres efforts ont porté sur l'utilisation des déchets industriels ou des sous-produits comme matières premières renouvelables à faible coût pour la fermentation de l'acide propionique (Feng *et al.*, 2011; Liang *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2012).

2.3 L'acide butyrique

L'acide butyrique, appelé aussi l'acide butanoïque, est un acide carboxylique saturé, composé de quatre carbones. Sa formule brute est $C_4H_8O_2$. C'est un acide gras liquide, huileux et

possédant une odeur caractéristique. Il est largement utilisé dans les industries chimiques, alimentaires et pharmaceutiques (Zigová et Šturdik, 2000).

La production de l'acide butyrique peut se faire par synthèse chimique qui peut être réalisée par une oxosynthèse de butyraldéhyde à partir de propylène à base de pétrole (Playne, 1985). Un autre procédé de synthèse de l'acide butyrique à partir de l'anhydride maléique a également été rapportée (Lu *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2006). Cependant, en tenant compte des préoccupations environnementales croissantes, la production biologique d'acide butyrique devient une alternative intéressante. En outre, des études approfondies ont démontré que l'acide butyrique peut être produit grâce à diverses techniques de fermentation par plusieurs souches bactériennes. Il s'agit d'un processus anaérobie et les producteurs sont des microorganismes anaérobies appartenant aux genres *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Butyribacterium*, *Sarcina*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* et *Megasphera* (Playne, 1985; Sneath, 1986; Adriaans et Drasar, 1987; Lindley, 1987; Alam *et al.*, 1988; Evans et Wang, 1990; Michel-Savin *et al.*, 1990; Soh *et al.*, 1991; Van Gylswyk, 1996; Shen *et al.*, 1996).

3. Les voies d'application des AGVs

Les AGVs sont des substrats précieux pour une variété d'applications telles que la production de plastiques biodégradables, la production de bioénergie et l'élimination biologique des nutriments.

3.1 Production d'hydrogène

La production d'hydrogène à partir des AGV peut être réalisée par photo-fermentation (Zong *et al.*, 2009), par électrohydrolyse (Tuna *et al.*, 2009) ou à l'aide d'une cellule d'électrolyse microbienne (Liu *et al.*, 2012). Dans la photo-fermentation, les bactéries pourpres non soufrées convertissent les AGVs en hydrogène en présence de la lumière (Levin *et al.*, 2004). La photo-fermentation est fréquemment réalisée avec la fermentation sombre comme un processus de production d'hydrogène en deux étapes (Chen *et al.*, 2008; Su *et al.*, 2009), parce que les effluents riches en AGVs résultant de la fermentation sombre peuvent ensuite être utilisés dans la photo-fermentation pour améliorer la production globale d'hydrogène.

3.2 Production de lipides pour le biodiesel

Le biodiesel est une source d'énergie renouvelable qui peut être produit à partir de lipides par procédé de transestérification. Actuellement, sa production se fait à partir de lipides alimentaires qui proviennent des matières premières agricoles telles que l'huile de colza, l'huile de palme et l'huile de soja (Gui *et al.*, 2008). Mais le fait d'utiliser de la nourriture pour la production de carburant pose un problème éthique. Le lipide microbien synthétisé à partir des AGV par des microorganismes oléagineux offre une alternative raisonnable (Chi *et al.*, 2011), vu qu'il a des compositions en acides gras semblables à l'huile de soja et à l'huile de jatropha, les rendant ainsi adaptés à la production de biodiesel (Fei *et al.*, 2011).

La plupart des études ont utilisé des AGVs synthétiques pour la production microbienne de lipides (Fei *et al.*, 2011a; Fei *et al.*, 2011b). Par contre, la teneur en lipides provenant de l'utilisation des AGVs dérivés de déchets était très basse (Chi *et al.*, 2011).

3.3 Production d'électricité

Les AGVs sont une source d'énergie peu coûteuse qui peut être utilisée pour la génération de différentes formes d'énergie. La production d'électricité à partir des AGVs est possible grâce à l'utilisation de piles à combustible microbienne (PCM). C'est un système qui utilise des microorganismes bio-électrochimique pour exploiter l'énergie chimique du substrat organique en tant que source d'électricité (Du *et al.*, 2007). En plus de ce système (PCM), les déchets fermentés riches en AGVs peuvent être utilisés directement pour la production d'électricité sans aucun traitement (Mohanakrishna *et al.*, 2010; Nam *et al.*, 2010), ce qui rend cette technologie économiquement attractive.

3.4 Polyhydroxyalkanoates

3.4.1. Structure et propriété

Les polyhydroxyalkanoates (PHA) sont des polymères biodégradables synthétisés par certaines bactéries comme matériau de stockage d'énergie et de carbone, lorsque ce dernier est supérieur à d'autres nutriments tels que l'azote, le soufre, le phosphate, etc. Leur formation est

due à la polymérisation de monomères d'acide R-(-)-hydroxyalkanoïque qui ont 3 à 14 carbones (Budwill *et al.*, 1992; Steinbuchel, 1995).

Les PHAs ont les mêmes propriétés que les plastiques conventionnels tels que le polypropylène. Mais ce sont des thermoplastiques 100% biodégradables, insolubles dans l'eau et résistants à l'humidité. De plus, ils ont une faible perméabilité aux gaz (Holmes, 1988; Hrabak, 1992).

3.4.2. Les différents types de PHA

La recherche sur les différents types de PHA a permis de caractériser 40 PHAs (Steinbuchel, 1991). Parmi eux, le polyhydroxy-butyrates (PHB) et le polyhydroxyvalérate (PHV) disposent d'une large gamme de propriétés physiques (Reis *et al.*, 2003). L'homopolymère PHB est reconnu comme étant rigide, possédant un point de fusion élevé et un faible taux de biodégradabilité, ce qui rend son utilisation pratiquement limitée. Toutefois, l'inclusion d'une fraction d'hydroxyvalérate (HV) ou d'autres monomères en PHB entraîne une diminution de la cristallinité et du point de fusion et augmente de manière significative la douceur et la souplesse de ce biopolymère (Holmes, 1988; Rhu *et al.*, 2003). Par conséquent, le copolymère de poly (3-hydroxybutyrates-co-3-hydroxyvalérate) a été adapté à de nombreuses applications.

3.4.3. Les différentes stratégies de production des PHAs

Bien qu'il y ait un intérêt considérable envers le PHA en raison de son potentiel en tant que matériau biodégradable, l'utilisation plus large de PHA a été inhibée par des coûts de production élevés (Choi et Lee, 1999; Nath *et al.*, 2008). Pour cette raison, plusieurs stratégies ont été développées pour abaisser le coût de production. La première stratégie vise à utiliser des déchets de carbone comme substrats avec des cultures pures (Koller *et al.*, 2005). Une grande variété de substrats de carbone ont été testés pour la production de PHA par des cultures pures de microbes en raison de leur faible prix et de leur disponibilité potentielle, telles que les eaux usées, les déchets municipaux, agricoles et industriels (Koller *et al.*, 2005; Lee et Gilmore, 2005; Dionisi *et al.*, 2005; Coats *et al.*, 2007; Bengtsson *et al.*, 2010; Albuquerque *et al.*, 2011; Ben *et al.*, 2011).

Une autre stratégie de production de PHA utilisant des cultures mixtes de boues activées a été proposée (Lemos *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2003; Dionisi *et al.*, 2004; Lemos *et al.*, 2004; Serafim

et al., 2006; Yan *et al.*, 2006). Cette stratégie est économiquement plus favorable que les procédés de culture pure car aucune stérilisation n'est nécessaire.

Contrairement aux cultures pures, les cultures mixtes ne stockent pas de glucides sous forme de PHA, mais plutôt sous forme de glycogène (Dircks *et al.*, 2001). Cependant, les acides gras volatils (AGV) peuvent être stockés comme PHA par des cultures mixtes. Donc, une autre méthode de production, qui utilise des AGV comme substrat, a été développée. Dans ce sens, des AGV des eaux usées acides provenant des systèmes anaérobies ont été utilisés (Choi et Lee, 1999; Tobella *et al.*, 2005). Les eaux usées contiennent de grandes quantités de matière organique carbonée qui peuvent être converties en acides gras volatils dans des conditions anaérobies et, par la suite, utilisés comme source de carbone pour la biosynthèse des PHA par des micro-organismes spécifiques. La plupart des études sur la production de PHA par des cultures mixtes ont été effectuées en utilisant des acides organiques synthétiques comme l'acétate, le propionate et le butyrate (Beccari *et al.*, 2002; Dionisi *et al.*, 2004; Serafim *et al.*, 2004; Lemos *et al.*, 2006).

3.4.4. La production de PHA en utilisant des AGVs comme substrat

La production de PHA par culture microbienne mixte élimine la nécessité de la stérilisation et donc il y a une ligne de production plus rentable pour les AGVs dérivés des déchets. La teneur en PHA obtenue à partir d'une culture mixte peut être améliorée en optimisant les conditions de fonctionnement du réacteur (Jiang *et al.*, 2012; Chua *et al.*, 2003; Albuquerque *et al.*, 2010), en alimentant le type d'AGV convenable et/ou par un fin réglage des conditions de production de PHA (Jiang *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2011; Reddy et Mohan, 2012; Mohan et Reddy, 2013). Avec ces stratégies, le contenu en PHA dans une gamme de 40-77% peut être atteint par des cultures microbiennes mixtes alimentées avec des déchets alimentaires fermentés (Reddy et Mohan, 2012), des boues activées fermentées (Jiang *et al.*, 2009), de la mélasse de canne à sucre fermentée (Albuquerque *et al.*, 2010) et des rejets de l'usine de pâtes et papiers fermentés (Jiang *et al.*, 2012).

Les conditions limitées d'azote et de phosphore pourraient conduire à un rendement en PHA élevé (Bengtsson *et al.*, 2008). Par contre, un excès de nutriments serait favorable à la croissance des micro-organismes et pourrait réduire la conversion des AGV en PHA (Albuquerque *et al.*, 2007). Donc, avant de fermenter les déchets qui sont riches en acides gras volatils pour la production de PHA, il est important de réguler le contenu en ammonium et en

phosphore des déchets fermentés riche en AGV. En général, les déchets fermentés doivent être filtrés avant l'utilisation (Yu, 2001; Albuquerque *et al.*, 2007), car l'alimentation directe des déchets fermentés avec une quantité considérable de particules de boues dans le réacteur de production de PHA peut conduire à un échec de la production de PHA (Hassan *et al.*, 1997).

La longueur de chaîne des AGV a une grande influence sur la composition, les propriétés mécaniques et l'application de PHA en résultant. Dans la production de PHA à partir d'une culture mixte, les acides acétique et butyrique favorisent la production de 3-hydroxybutyrate (3HB) tandis que les acides propionique et valérique favorisent la synthèse de 3-hydroxyvalérate (3HV) (Lemos *et al.*, 2006; Albuquerque *et al.*, 2007; Bengtsson *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2011).

Chapitre 2 : Production des acides gras volatiles

La production d'acides gras volatils est un processus anaérobie impliquant l'hydrolyse et l'acidogénèse, ce dernier étant appelé fermentation acidogène (FA) ou fermentation sombre, comme illustré dans la figure 1.

1. La fermentation acidogène

La connaissance détaillée de la phase acide de digestion anaérobie est utile dans un certain nombre de situations allant de la performance de l'ensemble du processus de digestion à l'effet d'acidogénèse sur d'autres procédés de traitement. Une meilleure compréhension de cette phase peut conduire à une amélioration de la stabilité du digesteur dû à la séparation physique des deux phases (acidogénèse et méthanisation) et à une augmentation de la production de matières organiques solubles, qui peuvent être utilisées pour optimiser le processus d'élimination biologique des nutriments (ÉBN).

2. Les différents déchets utilisés pour la production des AGV

Une variété de déchets solides et liquides ont été étudiés pour leurs potentiels d'utilisation dans la production des AGVs. Dans la catégorie des déchets solides, les boues, les déchets alimentaires et la fraction organique des déchets solides municipaux (FODSM) sont les déchets les plus étudiés, tandis que les déchets liquides fréquemment utilisés dans cette production sont les eaux usées générées par les industries laitières, les industries des pâtes et papiers et l'industrie de l'agriculture. Outre cela, des mélanges de différents types de déchets ont aussi été explorés pour améliorer la production des AGVs.

2.1 Les boues générées par les usines de traitement des eaux usées

Les boues primaires (BP) et les déchets de boues activées (DBA) générés à partir de l'usine de traitement des eaux usées municipales sont souvent étudiés pour la production des AGVs en raison de leurs volumes massifs générés par le traitement biologique des eaux usées (Jiang *et al.*, 2007). Les BP et les DBA sont riches en matière organique avec une DCO totale allant de

14 800 mg/L à 23 000 mg/L (Jiang *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009; Ji *et al.*, 2010), ce qui les rend très prometteurs pour la production des AGVs. Cependant, la DCO soluble de la boue est normalement de dix à cent fois moindre que sa DCO totale (Ji, 2010). Cela retarde la production des AGVs puisque l'hydrolyse de la matière organique particulaire dans les boues est une étape limitante. Par conséquent, des efforts devraient viser à améliorer l'hydrolyse, par exemple, par l'application d'un prétraitement.

Au lieu d'un seul type de boue, une co-fermentation d'un mélange de boues a été proposée pour améliorer la production des AGVs. Par exemple, la production maximale d'AGV avec les BP seulement était de 85 mg DCO/g MVES, mais elle a augmenté de 40% jusqu'à 118 mg DCO/g MVES avec l'ajout de DBA à un ratio de 1/1 MVES (Ji *et al.*, 2010). L'amélioration de la production des AGVs était due à une meilleure hydrolyse des boues mixtes (Ji *et al.*, 2010). De même, l'ajout d'eaux usées industrielles riches en amidon au BP a augmenté le taux de production d'AGV de 31 mg AGV/g MVES/jour à 45 mg AGV/g MVES/jour (Maharaj et Elefsiniotis, 2001).

2.2 Les déchets alimentaires

Les déchets alimentaires ou les déchets de cuisine sont d'autres déchets solides généralement explorés pour la production des AGVs et ce, pour deux raisons. Tout d'abord, les déchets alimentaires sont un élément dominant (22-54%) dans les énormes volumes de déchets solides municipaux (DSM) (Kathirvale *et al.*, 2003). Deuxièmement, ils ont une grande COD totale, dans une gamme de 91 900 à 166 180 mg/L (Zhang *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006; Elbeshbishy *et al.*, 2011). Néanmoins, un des enjeux est de séparer efficacement les déchets alimentaires des DSM pour réduire les interférences d'autres composants dans la production des AGVs. La séparation à la source peut-être une solution, mais elle exige une forte volonté de la population qui n'est pas facile à convaincre. Une autre option probable est d'établir un centre de récupération de matières pour séparer la fraction organique des DSM (FODSM) ainsi que le verre, le plastique, les canettes d'aluminium et les métaux non ferreux. Le FODSM, avec une grande COD totale de 150 600-347 000 mg/kg, est une autre source possible pour la production des AGVs (Bolzonella *et al.*, 2005). Comme dans le cas de l'utilisation des boues pour la production des AGVs, l'hydrolyse de la FODSM et des déchets alimentaires reste l'étape de limitation de la vitesse, appelant ainsi à diverses méthodes de prétraitement.

2.3 Les eaux usées

Pour les déchets liquides, les eaux usées générées par l'agriculture (Borja *et al.*, 1996; Dionisi *et al.*, 2005; Hong *et al.*, 2009; Beccari *et al.*, 2009), par les produits laitiers (Bengtsson *et al.*, 2008; Demirel et Yenigun, 2004; Yu et Fang, 2000; Yu et Fang, 2001) et les produits des industries des pâtes et papiers (Jiang, 2012; Bengtsson, 2008) sont couramment utilisées pour la production des AGVs. Par exemple, l'effluent des eaux usées provenant de l'usine de production d'huile de palme représente un potentiel agricole élevé avec une DCO de 88 000 mg/L. Elle peut conduire à la production des AGVs avec une concentration jusqu'à 15 300 mg/L (Hong *et al.*, 2009). Le perméat de lactosérum de fromage et l'effluent provenant de l'usine papetière sont également appropriés en raison de leurs fortes teneurs en matière organique fermentescible facilement (Bengtsson, 2008). En revanche, l'effluent issu de l'industrie pétrochimique est réputé impropre à la production des AGVs, indépendamment de sa valeur en DCO élevée à 11 500 mg/L (Ghosh, 2010), mais en raison de la présence de polluants toxiques pétrochimiques et récalcitrants qui sont nocifs pour les micro-organismes. Par rapport aux eaux usées industrielles, les eaux usées domestiques ont une teneur organique faible, avec une COD typique de l'ordre de 175 à 600 mg/L (McGhee, 1991). Il n'est donc pas attractif pour la production des AGVs.

La teneur en ammonium des déchets doit être inférieure à 5 000 mg/L pour éviter l'inhibition de la production des AGVs (Yu et Fang, 2001) bien qu'il constitue une source d'azote indispensable à la croissance des micro-organismes. Outre les caractéristiques des déchets, la disponibilité et la quantité des déchets produits doivent être prises en considération pour assurer un approvisionnement stable et en continu des déchets pour la production d'acides gras volatils (Salehizadeh et Van Loosdrecht, 2004).

3. Les différents types de prétraitement utilisés

Dans la production des AGVs à partir de déchets solides, l'hydrolyse est une étape limitante en raison de la structure et de la composition des déchets complexes (Fdez-Güelfo *et al.*, 2001). Par exemple, la paroi cellulaire et les substances polymères extracellulaires dans les boues imposent des barrières physiques et chimiques pour l'hydrolyse de la matière organique intracellulaire (Tang *et al.*, 2010). Pendant ce temps, les matériaux ligno-cellulosiques, les graisses et les protéines dans les DA et FODSM réduisent leurs taux de biodégradation (Marin

et al., 2010; Torres *et al.*, 2008). Par conséquent, diverses méthodes de prétraitement ont été explorées pour améliorer la solubilisation des déchets solides.

3.1 Le prétraitement chimique

Le prétraitement chimique est efficace pour améliorer l'hydrolyse de déchets solides. Les réactifs couramment utilisés sont l'acide (Elbeshbishy *et al.*, 2011; Devlin *et al.*, 2011), la base (Kim *et al.*, 2003; Torres et Lloréns, 2008; Doğan et Sanin, 2009; Kim *et al.*, 2010), l'ozone (Bougrier *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2006; Cesaro et Belgiorno, 2013) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Eskicioglu *et al.*, 2008; Shahriari *et al.*, 2012). L'application des prétraitements alcalin et acide aide i) à améliorer la solubilisation des substances polymères extracellulaires dans la boue (Doğan et Sanin, 2009; Devlin *et al.*, 2011) et ii) à rompre les parois cellulaires, entraînant ainsi la libération de la matière organique intracellulaire (Kim *et al.*, 2010; Devlin *et al.*, 2011). En plus des boues, ces deux méthodes de prétraitement favorisent également la solubilisation des déchets alimentaires (Elbeshbishy *et al.*, 2011). Le H_2O_2 possède un effet rémanent appréciable. Cet effet rémanent pourrait cependant induire des effets négatifs sur la flore bactérienne lors de l'étape subséquente de production des AGV. Donc, il faut s'assurer de réduire toute trace de H_2O_2 après le prétraitement oxydatif.

D'autre part, le prétraitement à l'ozone est une autre option. L'ozone est un agent oxydant puissant qui peut se décomposer en radicaux hydroxyles et réagir avec les déchets solides (Xu *et al.*, 2010), ce qui conduit à la solubilisation. Néanmoins, le coût élevé de la production d'ozone a un effet dissuasif (Cesaro et Belgiorno, 2013). Le H_2O_2 pourrait être une alternative moins coûteuse, mais il est généralement métastable et peu réactif si les réactions ne sont pas catalysées. C'est un oxydant fort (de par son potentiel d'oxydo-réduction), mais qui présente une très grande énergie d'activation. Il doit donc nécessairement être activé pour être efficace.

3.2 Le prétraitement thermique

Le prétraitement thermique dans la gamme de 60°C à 180°C (Climent *et al.*, 2007) est un autre procédé de prétraitement potentiel (Kim *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2005; Bougrier *et al.*, 2006; Climent *et al.*, 2007; Appels *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2013). À des températures plus élevées, ce procédé pourrait provoquer la formation de composés organiques solubles récalcitrants (Appels *et al.*, 2010). Inversement, un prétraitement à une température inférieure à 70°C pourrait induire

des bactéries hydrolytiques (Appels *et al.*, 2010), ce qui va augmenter la solubilisation des déchets solides.

3.3 Le prétraitement biologique

Les agents biologiques tels que les enzymes hydrolytiques (Kim *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2010; Bayr *et al.*, 2013) et les boues activées issues de l'usine de traitement des eaux usées municipales (Fdez-Güelfo *et al.* 2011) ont également été utilisés pour améliorer la solubilisation des déchets solides. Dans le prétraitement avec des enzymes, le dosage d'un mélange d'enzymes a eu plus d'impact sur l'hydrolyse de déchets solides que l'utilisation d'une seule enzyme (Kim *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2010) parce que les différentes enzymes hydrolysent différentes composantes dans les déchets. Néanmoins, le prétraitement en utilisant des enzymes et des cultures pures peut être coûteux, donc des matériaux peu coûteux comme le compost mûr et les boues activées doivent être considérés dans les applications à grande échelle. Un autre facteur important est la durée du prétraitement qui est généralement plus longue par des processus biologiques par rapport aux autres méthodes physico-chimiques.

3.4 Le prétraitement par micro-ondes

Le prétraitement par micro-ondes est une autre option (Doğan et Sanin, 2005; Ahn *et al.*, 2005; Marin *et al.*, 2010; Shahriari *et al.*, 2012; Appels *et al.*, 2013;) qui améliore l'hydrolyse de déchets solides par des effets thermiques et athermiques (non thermique). L'effet thermique est attribué à la génération de chaleur par l'intermédiaire de la rotation des molécules dipolaires (par exemple, l'eau) dans le champ électromagnétique oscillant (Tang *et al.*, 2010). L'effet athermique est provoqué par l'alignement des chaînes latérales polarisées de macromolécules (protéines, par exemple) avec les pôles du champ électromagnétique, cassant ainsi la liaison hydrogène et déstabilisant la structure des molécules (Ahn *et al.*, 2009). Le prétraitement par micro-ondes est consommateur d'énergie et peut conduire à la formation de composés réfractaires (récalcitrants), comme les mélanoidines et l'acide humique (Shahriari *et al.*, 2012), ce qui diminue la biodégradabilité des déchets solides traités.

3.5 Le prétraitement par ultrasons

L'application d'ultrasons pour améliorer la solubilisation des déchets solides a été étudiée par de nombreux chercheurs (Kim *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Cesaro *et al.*, 2012; Cesaro et Belgiorno, 2013). Le prétraitement ultrasonique conduit à la formation de bulles de cavitation et à l'effondrement de bulles qui génère des forces de cisaillement hydromécaniques assez puissantes pour perturber les macromolécules dans les déchets (Cesaro *et al.*, 2012). L'effondrement augmente également la température et la pression, ce qui conduit à la formation de radicaux hydroxyles réactifs et à la destruction thermique des déchets solides (Cesaro *et al.*, 2012). Semblable au prétraitement par micro-ondes, le prétraitement par ultrasons est une méthode à forte intensité énergétique (Kim *et al.*, 2010). Ce coût doit être justifié en fonction de l'ampleur de l'amélioration de la solubilisation des déchets solides et le rendement ultérieur en AGV.

3.6 Combinaison de différents prétraitements

Différentes méthodes de prétraitement ont été combinées pour promouvoir l'hydrolyse synergique des déchets solides (Kim *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2005; Eskicioglu *et al.*, 2008; Doğan et Sanin, 2009; Kim *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Fdez-Güelfo *et al.*, 2011; Shahriari *et al.*, 2012;). Par exemple, la combinaison du prétraitement alcalin et celui par ultrasons a permis de mieux désintégrer les boues d'épuration (Kim *et al.*, 2010). Le prétraitement alcalin affaiblit la paroi cellulaire microbienne, ce qui la rend ainsi plus vulnérable aux forces de cisaillement générées par le prétraitement par ultrasons.

En sélectionnant une combinaison ou une autre des méthodes de prétraitement ci-dessus, il est important de considérer la quantité de déchets solides à traiter, le capital associé, les coûts d'exploitation ainsi que le degré d'amélioration de solubilisation. Par conséquent, la réalisation d'une étude de faisabilité technico-économique serait utile pour identifier la méthode de prétraitement la plus appropriée. Dans la littérature, plusieurs évaluations technico-économiques très spécialisées ont été effectuées (Dhar *et al.*, 2012; Salsabil *et al.*, 2010).

4. Facteurs influençant la production des AGVs

Le processus de digestion de la phase acide est influencé par divers facteurs, notamment : les caractéristiques des eaux usées, les paramètres opérationnels tels que le temps de rétention hydraulique (TRH) et le temps de rétention des solides (TRS), les facteurs environnementaux tels que la température, le pH, la configuration du réacteur et le potentiel d'oxydo-réduction (POR) (Andrews et Pearson, 1965).

Le pH de fonctionnement, la température, le temps de rétention, le taux de charge organique ainsi que les additifs utilisés ont de grands effets sur la concentration, le rendement et la composition des AGVs produits à partir de déchets.

4.1 La température

La production des AGVs à partir de déchets a été réalisée sous différentes gammes de température. Dans les gammes de température psychrophiles (4°C-20°C) et mésophiles (20°C-50°C), la concentration de produit, le taux de production des AGVs et le rendement en acides gras volatils ont augmenté avec l'augmentation de la température (Maharaj et Elefsiniotis, 2001; Yuan *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2009; Bouzas *et al.*, 2002). Par exemple, le taux de production des AGVs a augmenté lorsque la température a augmenté de 8°C à 25°C pendant la fermentation des BP (Maharaj et Elefsiniotis, 2001). De même, l'augmentation de la température de 10°C à 35°C a augmenté la concentration des AGVs produits à partir des BA par 30%. L'augmentation est due à la présence d'une plus grande quantité de glucides et de protéines solubles, ce qui est le résultat de l'amélioration de l'hydrolyse de la boue à une température supérieure (Zhang *et al.*, 2009).

Dans les gammes de température thermophiles (50°C-60°C) et hyper-thermophiles (60°C-80°C), plusieurs études ont été faites dans ce contexte, mais ont montré des résultats contradictoires. Par exemple, Zhuo *et al.* (2012) ont constaté que les activités des enzymes de formation d'acide à la température thermophile (55°C) étaient inférieures à celle à température mésophile (37°C). En conséquence, la concentration des AGVs totale réalisée à 55°C était 40% inférieure à celle à 37°C. Par contre, Cai *et al.* (2009) ont rapporté que la température thermophile (60°C) peut conduire à une acclimatation biologique accélérée et une acidogénèse plus active par rapport à celles à température mésophile (35°C), ce qui conduit à un rendement

plus élevé des AGVs. Pourtant, la production des AGVs à des températures hyper-thermophiles de 70-80°C a surpassé celle à des températures thermophiles de 55-60°C (Lu *et al.*, 2005).

Yu *et al.* (2002) ont recommandé la réalisation du processus d'acidogénèse des eaux usées de l'industrie laitière avec des températures mésophiles, étant donné que la demande en énergie est plus faible et le fonctionnement est plus stable, malgré que le taux de production soit légèrement supérieur à la température thermophile. La même recommandation a été faite lors de l'utilisation du processus de l'acidogénèse des eaux usées riche en gélatine (Yu et Fang, 2003).

L'influence de la température sur le type des AGVs a été aussi étudiée. Par exemple, dans la fermentation acidogène de la cellulose, l'acide acétique a été le premier AGV produit à 37°C, à 55°C et à 80°C et l'acide butyrique est le deuxième AGV dominant. L'acide propionique a été détecté à 37°C seulement, mais sa fraction était relativement mineure (Gadow *et al.*, 2013). Dans d'autres études, l'effet de la température était mineur. En effet, dans la fermentation des ultrasons prétraités de 10°C à 55°C (Zhuo *et al.*, 2012), l'acidification des eaux de laiterie synthétique à 37°C et 55°C (Yu *et al.*, 2002) et l'acidogénèse des eaux usées riches en gélatine à partir de 20°C à 55°C (Yu et Fang, 2003), aucune variation significative dans la composition des AGVs n'a été observée. De même, Yuan *et al.* (2011) ont observé que lorsque la température est passée de 4°C à 14°C, le pourcentage de réduction de l'acétate était de 55% à 43%, mais le pourcentage de propionate et de butyrate a légèrement augmenté de 20% à 29% et de 11% à 16%, respectivement. Cependant, une augmentation supplémentaire de la température à 24,6°C ne modifie pas beaucoup la composition des AGVs (Yuan *et al.*, 2011).

4.2 Le pH

Comme l'un des paramètres de contrôle le plus important pour la fermentation acidogène, le pH a été largement étudié (Fang et Liu, 2002; Zheng et Yu, 2004). La valeur du pH dans le réacteur est importante pour la production des AGVs parce que la plupart des acidogènes ne peuvent pas survivre dans des environnements extrêmement acides (pH : 3) ou alcalins (pH : 12) (Liu *et al.*, 2012). Les valeurs de pH optimal pour la production d'acides gras volatils sont essentiellement dans l'intervalle de 5,25 à 11. Bien qu'il n'y ait pas de consensus, de nombreuses études ont démontré que la fermentation anaérobie dans des conditions alcalines peut améliorer significativement la production des AGVs des boues d'épuration (Yuan *et al.*, 2006; Cai *et al.*, 2004). Le milieu alcalin améliore l'hydrolyse des boues par ionisation des

groupes chargés des substances polymères extracellulaires dans les boues. Cela provoque une forte répulsion entre les substances polymères extracellulaires (Nielsen et Jahn 1999), ce qui entraîne la libération de glucides et de protéines pour l'environnement. Par conséquent, les substrats les plus solubles sont disponibles pour la production d'acides gras volatils dans des conditions alcalines (Wu *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009). Par ailleurs, le milieu alcalin n'est pas propice à la méthanisation, empêchant ainsi la consommation des AGV produits pour la formation de méthane (Zhang *et al.*, 2009).

Le pH a un effet aussi important sur l'acidification des eaux usées, mais la production est principalement réalisée dans des conditions acides avec des gammes de pH optimum de 5,25 à 6,0 (Bengtsson *et al.*, 2008; Oktem *et al.*, 2006). Le degré d'acidification des eaux usées d'une base de gélatine synthétique a augmenté de 32,0 à 71,6%, lorsque le pH a augmenté de 6,0 à 6,5, mais il a chuté à 66,8% lorsque le pH a augmenté à 7,0. Le pH optimum a été trouvé à 6,0.

Le pH affecte le type des AGVs produits, en particulier les acides acétique, propionique et butyrique (Bengtsson *et al.*, 2008; Horiuchi *et al.*, 2002; Horiuchi *et al.*, 1999; Yu et Fang, 2003; Yu et Fang, 2002). La production d'acide propionique à partir des eaux de laiterie est favorisée à pH 4-4,5 tandis que les acides acétique et butyrique sont favorisés à un pH de 6-6,5 (Yu et Fang, 2002). Une observation similaire a été rapportée dans l'acidogénèse des eaux usées riches en gélatine (Yu et Fang, 2003). Le fonctionnement à pH compris entre 4,0 et 5,0 favorise la production de propionate de méthyle et un atome d'hydrogène, alors que l'opération à un pH dans la gamme de 6,0 à 7,0 a stimulé la production de l'acétate, du butyrate et de i-butyrate. La région du pH comprise entre 5,0 et 6,0 est la zone de transition (Yu et Fang, 2003). Au contraire, lorsque le pH a augmenté de 5,25 à 6 dans une étude utilisant le petit lait (Bengtsson *et al.*, 2008), la production d'acide propionique a augmenté tandis que la production de l'acide acétique et de l'acide butyrique a diminué.

Dans une autre étude, lorsque le pH est passé de 6 à 8, le principal AGV produit à partir du milieu riche en glucose passe de l'acide butyrique aux acides acétique et propionique, et vice-versa (Horiuchi *et al.*, 2002; Horiuchi *et al.*, 1999). Cela peut être causé par le changement dans les populations microbiennes dominantes de *Clostridium butyricum* à pH 6 à *Propionibacterium* à pH 8 (Horiuchi *et al.*, 1999). Les conclusions de la recherche suggèrent jusqu'ici que le pH optimal pour la production d'AGV spécifique dépend fortement du type de déchets utilisés.

4.3 La charge organique

Le taux de charge organique (TCO) indique la quantité de déchets, qui peut être exprimée en termes de DCO, SV, MESV ou COD, introduite dans le réacteur quotidiennement par unité de volume du réacteur. Dans la littérature, l'influence du TCO sur la production des AGV est différente d'une étude à l'autre. En effet, au cours d'une fermentation acidogène des eaux usées de la synthèse à base chimique des produits pharmaceutiques (Oktem *et al.*, 2006), la concentration en AGVs augmente avec le TCO seulement dans l'intervalle de 7 à 13 g de DCO/L/j. Ainsi, une légère augmentation à 14 g de DCO/L/j a provoqué une chute de la concentration des AGVs de 3 410 mg/L (sous forme d'acétate) à 1 370 mg/L (sous forme d'acétate) (Oktem *et al.*, 2006). Par contre, la concentration des AGVs produits à partir des eaux usées de féculents augmente linéairement avec le TCO, allant de 1 g DCO/L/j à 32 g DCO/L/j (Yu, 2001). Lim *et al.* (2008) ont observé que la concentration des AGVs produits à partir des déchets alimentaires a augmenté avec le TCO de 5 g/L/j à 13 g/L/j, mais le fonctionnement du fermenteur à 13 g/L/j était instable car le bouillon de fermentation est devenu très visqueux à une charge élevée. Ainsi, dans une étude de la fermentation des résidus solides provenant d'une usine de production d'huile, sur une gamme de TOC de 3,2 à 15,1 g DCO/L/j, la concentration maximale d'AGV a atteint une valeur intermédiaire de 12,9 g DCO/L/j (Rincón *et al.*, 2008). L'étude de Nebot *et al.* (1995) a révélé que la fréquence d'alimentation inférieure à 3 fois par jour peut conduire à une plus forte concentration des AGVs par rapport à celle de 24 fois par jour. Cette alimentation moins fréquente offre aussi une exploitation des réacteurs plus facile et réduit l'usure des pompes d'alimentation.

4.4 Le temps de rétention hydraulique

Plusieurs études ont montré que l'application d'un TRH élevé est plus bénéfique pour la production des AGV (Bengtsson *et al.*, 2008; Sans *et al.*, 1995; Ben *et al.*, 2011) car les micro-organismes ont plus de temps pour réagir avec les déchets. Dans ce contexte, Fang et Yu (2000) ont montré que la production des AGVs à partir des eaux de laiterie a presque doublé lorsque le TRH a augmenté de 4 h à 12 h, et la nouvelle augmentation de 16 à 24 h a amélioré la production des AGVs de 6%. Ainsi, Sans *et al.* (1995) ont déduit que la production des AGVs à partir de la FODSM a augmenté avec le TRH dans un intervalle de 2-6 j. De même, le rendement et la productivité volumétrique des AGVs atteints en fermentation acidogène des

déchets alimentaires ont augmenté quand le TRH a augmenté de 96 h à 192 h (Lim *et al.*, 2008). Cependant, le TRH prolongé pourrait conduire à une production stagnante des AGVs (Lim *et al.*, 2008; Fang et Yu, 2000). Dinsdale *et al.* (2000) ont réalisé une co-fermentation de BA et de déchets de fruits/légumes dans laquelle la concentration des AGVs est passée de 4 400 mg/L à 6 100 mg/L lorsque le TRH est passé de 1 à 2 j. Pourtant, il n'y avait pas d'amélioration significative de la production des AGVs à un TRH élevé de 3 j (6 150 mg/L) et 4 j (6 620 mg/L).

4.5 Le temps de rétention des solides

L'effet du TRS sur la production des AGVs à partir des eaux usées a été testé dans différentes études. Salmiati *et al.* (2007) ont conclu que la concentration des AGVs produits à partir des effluents provenant de l'usine de production d'huile de palmier a considérablement augmenté pour un TRS de 6 j, mais a diminué avec un TRS de 7 j. Pendant ce temps, d'autres études (Yu et Fang 2001; Yu et Fang, 2002; Yu *et al.*, 2002) rapportent une application d'un TRS de 15 j dans la fermentation acidogène des eaux usées.

Cependant, la plupart des études ont trouvé qu'un TRS faible est le plus bénéfique pour la production d'AGV à partir des boues (Xiong *et al.*, 2012; Feng *et al.*, 2009; Miron *et al.*, 2000). En effet, il a été constaté que les conditions acidogènes prévalaient à un TRS ≤ 8 j tandis que l'état méthanogène a prévalu à un TRS ≥ 10 j au cours de la fermentation du BS (Miron *et al.*, 2000). Donc, un TRS faible peut empêcher la dominance des bactéries méthanogènes dans le réacteur anaérobie (Ferrer *et al.*, 2010). Cependant, le TRS doit être suffisamment long pour favoriser l'hydrolyse des boues. Par exemple, la fermentation acidogène de BA, dans laquelle l'augmentation du TRS est de 4 j à 12 j a conduit à une augmentation de concentration d'AGV de 44% (Feng *et al.*, 2009) car les substrats plus solubles résultant de l'hydrolyse de boues étaient disponibles.

Les études sur l'influence du TRS sur la composition des AGV sont rares et leurs résultats sont contradictoires. Par exemples, Yuan *et al.* (2009) ont trouvé, que lors de la fermentation de DS, le pourcentage d'acide acétique a diminué de 66 à 49% suite à une augmentation du TRS à partir de 5 j à 10 j tandis que le pourcentage d'acide propionique est resté pratiquement constant à 16-18%. Par contre, l'étude de Feng *et al.* (2009) a montré que, dans la fermentation acidogène des BA, l'augmentation du TRS de 4 j à 16 j influence le pourcentage de l'acide

acétique par une augmentation de 32% à 42%, et le pourcentage de l'acide propionique par une diminution de 24% à 14%.

4.6 Les additifs

Au cours des dernières années, les additifs tels que les inhibiteurs chimiques de méthanogenèse ont été utilisés pour améliorer la production des AGVs. Ces inhibiteurs peuvent améliorer la production des AGV par la suppression de l'activité des bactéries méthanogènes consommatrices d'AGV. Récemment, Liu *et al.* (2011) ont identifié les types d'inhibiteurs méthanogènes chimiques et leurs mécanismes d'inhibition. En bref, ils les ont classés en des inhibiteurs spécifiques et non spécifiques. Le premier type inhibe seulement les enzymes spécifiques existant dans les méthanogènes comme coenzyme M (inhibiteurs : 2 bromoethanesulfonate et 2 chloroethanesulfonate) et dans l'hydroxymethylglutary-SCoA réductase (inhibiteurs : mévastatine et lovastatine). Le deuxième type affecte l'activité des méthanogènes et des non-méthanogènes. Pour la production des AGVs, il est nécessaire d'évaluer et de préciser les effets (le cas échéant) de ces inhibiteurs, en particulier, ceux qui sont non-spécifiques, sur la viabilité des acidogènes.

En plus des inhibiteurs chimiques de méthanogenèse, les surfactants et les enzymes ont été aussi utilisés pour améliorer la production des AGVs à partir des boues. Les surfactants les plus couramment utilisés sont le dodécylsulfate de sodium (SDS) (Jiang *et al.*, 2007) et le dodécylbenzènesulfonate de sodium (SDBS). Ils sont connus pour leur bonne capacité de solubilisation et leurs effets hydrolytiques/solubilisation sur les déchets, mais ne sont pas considérés comme des agents de « prétraitement » parce qu'ils sont ajoutés au cours de la fermentation acidogène. Leur addition aux boues améliore la solubilisation des substances polymères extracellulaires (Jiang *et al.*, 2007), qui sont principalement des glucides et des protéines (Liu et Fang, 2002). Cela rompt aussi la matrice des boues entraînant la libération de plusieurs glucides et de protéines intérieures de régulation, ce qui fournit plus de substrats pour l'hydrolyse (Jiang *et al.*, 2007). Dans une étude utilisant les BA, la concentration maximale des AGVs a grimpé de 8 fois environ à partir de 339 mg DCO/L à 2 599 mg DCO/L quand 0,02 g/g de boues sèches de SSDB a été appliqué dans la fermentation. Mais, plus de temps est nécessaire pour atteindre la concentration maximale des AGVs à des doses de SSDB élevées, Cela peut être dû à l'effet toxique fort du surfactant ou à des bactéries acidogènes à des doses plus élevées. Jiang *et al.* (2007) ont montré que l'ajout de SSD à 0,05 g/g de boues sèches

augmente la concentration maximale des AGVs produits à partir des BA de 5 fois plus. Ainsi, ils ont observé que la concentration maximale des AGVs a augmenté avec la dose de SSD allant de 0,02 g/g de boues sèches à 0,3 g/g de boues sèches, mais, comme le SSDB, la production maximale des AGVs à une dose de SSD élevée nécessite plus de temps (Jiang *et al.*, 2007).

Loin de se limiter à un seul type de boues, l'ajout de SSDB a également influencé positivement la production des AGVs à partir de la co-fermentation des BA et des BP (Ji, 2010). L'utilisation combinée de surfactants et d'enzymes hydrolytiques (α -amylase et protéase neutre) avait été explorée pour améliorer la production des AGVs. Les résultats ont montré que le système protéase SSD- α -amylase neutre a surpassé les systèmes individuels en termes d'hydrolyse des boues et de production des AGVs (Luo *et al.*, 2011).

Chapitre 3 : Objectifs de recherche

L'objectif principal de cette recherche est la production des AGV à partir de la fermentation acidogène des boues d'épuration des eaux usées issues d'une usine de production de pâtes et papiers.

1. Objectifs de recherche

Les objectifs spécifiques de recherche pour la production des AGV sont les suivants :

- Évaluation de l'ajout d'additifs sous forme de sucres sur la production des AGV
- Évaluation du développement d'un inoculum sur la production des AGV
- Évaluation de la concentration en matière en suspension (MES) des boues fermentées
- Évaluation du pH de fonctionnement
- Évaluation de la température de fonctionnement.

2. Hypothèse de recherche

La production des AGV à partir des sucres purs tels que le glucose et le saccharose comme source principale de carbone pose un problème d'ordre éthique surtout en ce qui a trait à l'utilisation d'aliments pour produire des produits chimiques. D'après la littérature, une variété de déchets solides et liquides ont été étudiés pour évaluer leurs potentiels en tant que matières premières qui peuvent être à la base de la production des AGVs, notamment les boues d'épuration, vu qu'elles sont riches en matière organique. Pourtant, la présence des parois cellulaires et des polymères extracellulaires dans les boues imposent des barrières physiques et chimiques pour l'hydrolyse de la matière organique intracellulaire (Tang *et al.*, 2010), ce qui fait de l'hydrolyse une étape limitante dans la production des AGVs. Compte tenu de ce qui précède, un prétraitement thermo-alkalin des boues peut améliorer la productivité des AGVs. Pareillement, le pH de fonctionnement, la température, ainsi que des additifs utilisés ont de grands effets sur la concentration, le rendement et la composition des AGVs produits à partir de déchets.

Chapitre 4 : Démarche méthodologique

1. Procédure de production des AGVs par la fermentation acidogène

1.1 Échantillonnage et préparation des substrats de fermentation

Pour toutes les expériences, un seul type de boue d'épuration est utilisé. Il s'agit de boues secondaires provenant du traitement des eaux usées issues de l'usine de pâtes et papiers « Clermont et Alma ». Leur concentration en MES est généralement de 11 g/L. Une étape de décantation à 4°C a été nécessaire afin d'obtenir des concentrations en matière en suspension élevées (15-20 g/L). Pour atteindre 30 à 35 g/L de MES, il a été également nécessaire de centrifuger les boues après les avoir décantées.

Les caractéristiques physico-chimiques des boues tels que les solides totaux (ST), les matières en suspension (MES), les matières volatiles en suspension (MVES), le phosphore total (PT), l'azote total (NT) et le carbone total (CT) ont été déterminées et sont résumés dans le tableau 2.

1.2 Inoculum

Deux inocula différents ont été utilisés dans les différentes expériences.

1.2.1. Inoculum 1

L'inoculum 1 fait partie des boues anaérobies. Ce sont les boues d'épuration des eaux usées municipales provenant de la station de traitement de la base militaire de Valcartier (Québec, Canada).

1.2.2. Inoculum 2

L'inoculum 2 a été préparé à partir de la fermentation anaérobie des boues de papeteries, sous des conditions d'un pH=5, d'une température de 25°C et d'un volume de travail total de 5 L. Les boues à fermenter ont été hydrolysées et concentrées pour obtenir une concentration en matière en suspension (MES) de 20 g/L. Les boues ont été concentrées par centrifugation pendant 20 minutes à 8 000 rpm à l'aide d'une centrifugeuse RC 5C Plus de Sorvall (Asheville, Caroline du Nord, USA.) L'inoculation dans cette fermentation a été réalisée à partir de la même

boue fraîche (sans hydrolyse) à 40% (2L de boues fraîches/3L de boues hydrolysées) en ajoutant 9 g/L de sucre de table. L'inoculum a été acclimaté pendant 15 jours en retirant 50% de biomasse, à l'aide d'azote purgé pour garder l'état anaérobie, et en ajoutant 50% de boues fraîches, à chaque 3 jours.

Tableau 2 : Caractéristiques des boues d'épuration provenant du traitement des eaux usées issues de l'usine de pâtes et papiers.

Paramètres	Valeurs
pH	6,52 ± 0,01
	Concentration (g/L)
Solides totaux	13,02 ± 1,48
Matières en suspension	11,09 ± 0,93
Matières volatiles en suspension	9,05 ± 1,03
	Concentration (g/kg ST)
Ct	567 ± 14,61
Nt	15,14 ± 1,82
Pt	17,26 ± 0,29

2. Méthodologie expérimentale

Pour pouvoir atteindre les objectifs fixés, nous nous sommes basés sur la méthodologie décrite ci-après.

2.1 Évaluation de l'ajout d'additifs sous forme de sucres sur la production des AGVs à partir des boues provenant de l'usine de pâtes et papiers

Trois fermentations ont été réalisées avec des boues fraîches provenant du traitement des eaux usées issues de l'usine de pâtes et papiers, sous les mêmes conditions : un pH de 5, une température de 25°C, une concentration en matière en suspension (MES) de 20 g/L et un volume de travail total de 5 L. Des boues anaérobies provenant de la station de traitement de la base militaire de Valcartier ont été utilisées comme inoculum à 40% pour les 3 expériences. Trois additifs différents sous formes de sucre ont été ajoutés au début de chaque fermentation :

le glucose, le sucre de table et les eaux usées d'amidon (EUA), qui ont été utilisés à 9 g/L, dans l'expérience 1, 2 et 3 respectivement.

2.2 Évaluation du développement d'inoculum lors de la production des acides gras volatils

Sous les mêmes conditions : un pH de 5, une température de 25°C, une concentration en matière en suspension (MES) de 20 g/L et un volume de travail total de 5 L, deux nouvelles expériences ont été faites suites aux trois premières expériences. L'expérience 4 a été inoculée à 50% à partir de la biomasse issue de l'expérience 2 (alimentée avec le sucre de table), alors que l'expérience 5 a été inoculée à partir de la biomasse issue de l'expérience 1 (alimentée avec le glucose), à 50% également. Ces deux fermentations ont été opérées sans ajout d'additifs.

2.3 Évaluation du prétraitement, par hydrolyse alcaline, des boues sur la production des AGVs

Pour tester l'effet du prétraitement par hydrolyse alcaline sur la production des AGV, une fermentation a été réalisée suite à l'expérience 5, sous les mêmes conditions : un pH de 5, une température de 25°C, une concentration en matières en suspension (MES) de 20 g/L et un volume de travail total de 5 L. Les boues ont été hydrolysées et concentrées à 20 g/L avant la fermentation. L'inoculation a été effectuée à partir de la biomasse issue de l'expérimentation 4 à 50% et 9 g/L de sucre de table ayant été ajoutés au début de la fermentation.

2.4 Évaluation de la concentration des boues en matières en suspension (MES) des boues, du pH et de la température

Dans des petits fermenteurs, de même modèle et de même volume de travail de 3 L, quatre fermentations ont été réalisées à la fois, afin d'optimiser la concentration en matières en suspension (MES). Cette série a été effectuée avec des boues hydrolysées et sous les mêmes conditions de pH 5 et de température à 25°C, mais avec des concentrations en MES différentes (15 g/L, 20 g/L, 30 g/L et 35 g/L). Par la suite, une autre série de quatre nouvelles fermentations a été réalisée pour optimiser le pH. Donc, une concentration de 15 g/L a été fixée avec une température de 25°C mais en utilisant différents pH (4, 5, 6 et 10). Finalement, la dernière série a été faite à différentes températures (15°C, 25°C, 35°C et 45°C) et sous les même conditions

de pH : 10 et de concentration (MES : 15 g/L). Pour chaque série de fermentations, l'inoculation a été réalisée à partir de l'inoculum préparé, à 40%.

3. Méthodologie analytique

3.1 Hydrolyse

Pour les séries d'expériences d'optimisation des paramètres, les boues ont subi une hydrolyse thermo-alcaline avant leurs utilisations comme substrat de fermentations. Ce prétraitement a été conduit dans un hydrolyseur en acier inoxydable conçu par la compagnie EBR (Québec, Canada). Le volume de travail maximum est de 10 litres.

L'hydrolyseur est équipé d'un agitateur nécessaire lors de l'hydrolyse des boues. Le chauffage se fait par circulation de vapeur dans un serpentin ou encore par injection directe de vapeur vive dans les boues à partir de la base de la cuve. La vapeur provient d'une chaudière de 48 KW (Caloritech Inc., Edmonton, Alberta, Canada). Le suivi de la pression est réalisé avec un manomètre et les valeurs de pression peuvent, par la suite, être converties en valeur de température grâce à une liste de conversion appropriée.

Les hydrolyses ont été effectuées à une température de 140°C, pendant 30 min à pH 10. Les boues ont été préalablement concentrées à des valeurs supérieures à celles désirées pour la fermentation, car elles subissent un effet de dilution par la vapeur injectée au cours du processus. Par la suite, le pH des boues a été ajusté à 10,0 avec une solution de NaOH 4N. Les boues ont été, ensuite, chauffées jusqu'à environ 100°C par circulation de vapeur dans le serpentin. Une fois le point d'ébullition atteint, la température a été augmentée jusqu'à 140°C par injection directe de vapeur dans les boues. Le maintien de cette température pendant 30 minutes se fait manuellement en fermant et en ouvrant la valve régissant l'entrée de la vapeur dans l'hydrolyseur. Après refroidissement, le pH des boues a été réajusté à la valeur voulue avec une solution de H₂SO₄ 4N. Par la suite, les MES ont été mesurées pour ajuster les concentrations désirées.

3.2 Fermentation

3.2.1. Description des bioréacteurs

Les expériences de 1 à 6 ont été effectuées dans un bioréacteur en verre de 7,5 L (LABFORS 3, INFORS AG, Switzerland) dont le volume de travail est de 4 L. Ce réacteur est équipé d'un contrôleur d'agitation, d'aération, de température, de pH, de mousse et d'oxygène dissous (DO). Ce réacteur est relié à un ordinateur et peut être contrôlé à l'aide d'un logiciel. L'agitation est assurée au moyen d'un arbre d'agitation muni de deux pales de type RUSHTON et de trois contre-pales.

Le contrôle de la température est possible grâce à l'action combinée d'une jupette chauffante enveloppant la partie inférieure de la cuve et d'un tube réfrigérant (circulation d'eau froide) plongé à même le milieu de fermentation. La régulation de la température est soumise à des contrôles automatiques gérés par ordinateur.

La mesure du pourcentage en oxygène dissous et du pH est assurée par deux sondes reliées à des analyseurs numériques. L'addition des agents neutralisants (NaOH et H₂SO₄ 4N) s'effectue au cours de la fermentation par l'intermédiaire d'un contrôleur automatique afin de contrôler le pH. Ces agents chimiques sont injectés dans le milieu de culture à l'aide de pompes péristaltiques.

Les expériences d'optimisation sont effectuées dans 4 bioréacteurs en verre de 5 L (Biostat B plus, Sartorius Stedim Biotech, Allemagne) dont le volume de travail est de 3 L. Ces réacteurs sont équipés d'un contrôleur d'agitation, d'aération, de température, de pH, de mousse et d'oxygène dissous (DO). L'agitation est assurée au moyen d'un arbre d'agitation muni de deux pales de type RUSHTON et de trois contre-pales.

Une boucle de chauffage/refroidissement permet la circulation de l'eau à la température appropriée dans la double paroi, de façon à maintenir la température du bioréacteur. Cette régulation de température est soumise à des contrôles automatiques gérés par le contrôleur.

La mesure du pourcentage en oxygène dissous et du pH est assurée par deux sondes reliées à des analyseurs numériques. L'addition des agents neutralisants (NaOH et H₂SO₄ 4N) s'effectue au cours de la fermentation par l'intermédiaire d'un contrôleur automatique afin de contrôler le pH. Ces agents chimiques sont injectés dans le milieu de culture à l'aide de pompes péristaltiques.

3.2.2. Fermentation et échantillonnage

Après avoir hydrolysé les boues et ajusté les concentrations des MES et du pH désirés, les bioréacteurs ont été alimentés à la fois avec le volume nécessaire de boues hydrolysées et l'inoculum. Ils ont fonctionné par la suite pendant 48h. Des échantillonnages ont été effectués toutes les 6 heures. À chaque échantillonnage, 10 à 15 mL d'échantillon est conservés à 4°C dans des tubes stériles.

3.3 Analyse des échantillons recueillis

Les échantillons recueillis sont utilisés pour la détermination des solides totaux, des matières en suspension, des matières volatiles en suspension et pour la quantification des AGV.

3.3.1. Détermination des solides totaux (ST), des matières en suspension (MES) et des matières volatiles en suspension (MVES)

Les solides totaux (ST), les matières en suspension (MES) et les matières volatiles en suspension (MVES), ont été déterminés suivant la procédure décrite dans APHA-AWWA-WPCF (1989). Ainsi, pour la détermination des solides totaux (ST), trois échantillons de 10 mL de chaque échantillon requis sont déposés dans trois nacelles pré-pesées et placées dans une étuve à 105°C pour une durée de 24 heures. Par la suite, les nacelles sont pesées à nouveau. Le calcul des ST pour chaque échantillon s'effectue à l'aide de l'équation suivante :

$$\frac{\text{Poids nacelle après 24 heures à } 105^{\circ}\text{C (g)} - \text{Poids nacelle vide (g)}}{\text{Volume de l'échantillon de boues (L)}}$$

En ce qui concerne la moyenne des trois résultats obtenus, celle-ci est calculée par la suite. Pour la détermination des matières en suspension (MES), trois échantillons de 4 mL de chaque échantillon requis ont été centrifugés pendant 20 minutes à 9 000 rpm à l'aide d'une centrifugeuse RC 5C Plus de Sorvall (Asheville, Caroline du Nord, USA.). Le surnageant a été préparé pour les analyses des AGVs, alors que les culots ont été déposés dans des nacelles pré-pesées. De l'eau distillée est employée afin de bien rincer les tubes à centrifugation, de façon à s'assurer que tout le culot est transféré dans la nacelle. Les nacelles sont par la suite placées dans une étuve à 105°C pour une durée de 24 heures. La même procédure de calcul que pour la détermination des ST est par la suite appliquée.

Pour déterminer les matières volatiles en suspension (MVES), nous utilisons les mêmes trois nacelles que nous déposons dans un four à 550°C pour une durée de 15 minutes. Le calcul des MVES s'effectue de la façon suivante :

$$\frac{\text{Poids nacelle avant passage à } 550^{\circ}\text{C (g)} - \text{poids nacelle après passage à } 550^{\circ}\text{C (g)}}{\text{Volume de l'échantillon de boues (L)}}$$

Par la suite, nous calculons la moyenne des trois résultats obtenus.

3.3.2. La quantification des AGVs

Après la centrifugation des échantillons, le surnageant a été filtré avec une microfibre Whatmann GF/C, dont la taille des pores est de 0,45 µm. Le filtrat a été recueilli par la suite dans un flacon de chromatographie en phase gazeuse.

La composition des AGVs a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (GC. Agilent 7890B) avec détecteur FID et une colonne HP-INNOWax (30m x 250µm x 0,25µm). L'azote était le gaz porteur et le flux était de 1,5 mL/min. L'orifice d'injection et le détecteur sont maintenus à 260°C et 300°C, respectivement. Le four de GC a été programmé pour commencer à 120°C et à y rester pendant 1 minute, puis d'augmenter à un taux de 10°C/min jusqu'à 250°C et de tenir à 250°C pour un temps supplémentaire de 2 minutes. Le volume d'injection de l'échantillon était de 1.0 µL.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

1. Évaluation de l'ajout des additifs sous forme de sucre

Pour améliorer la productivité des bactéries acidogènes lors de l'acidification des boues provenant de l'usine des pâtes et papiers, trois types de sucre différents ont été utilisés pour activer la biomasse et par conséquent améliorer la production des AGVs (voir section 4.2.1). La figure 3 illustre l'évolution de la concentration des AGVs totaux en fonction du temps en ajoutant le glucose, le saccharose et les eaux usées riches en amidon. La concentration des trois sucres été de 9 g/L. La figure 4 présente les courbes de concentration de chaque composé d'AGV produit par rapport au temps.

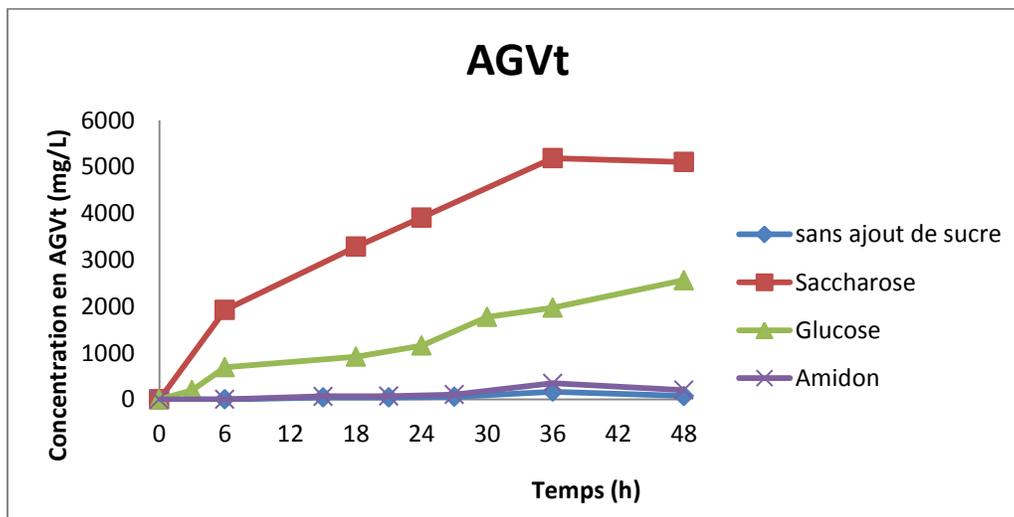


Figure 3 : Évolution de la production des AGVt en fonction du temps lors de trois fermentations qui utilisent différents sucres comme additifs.

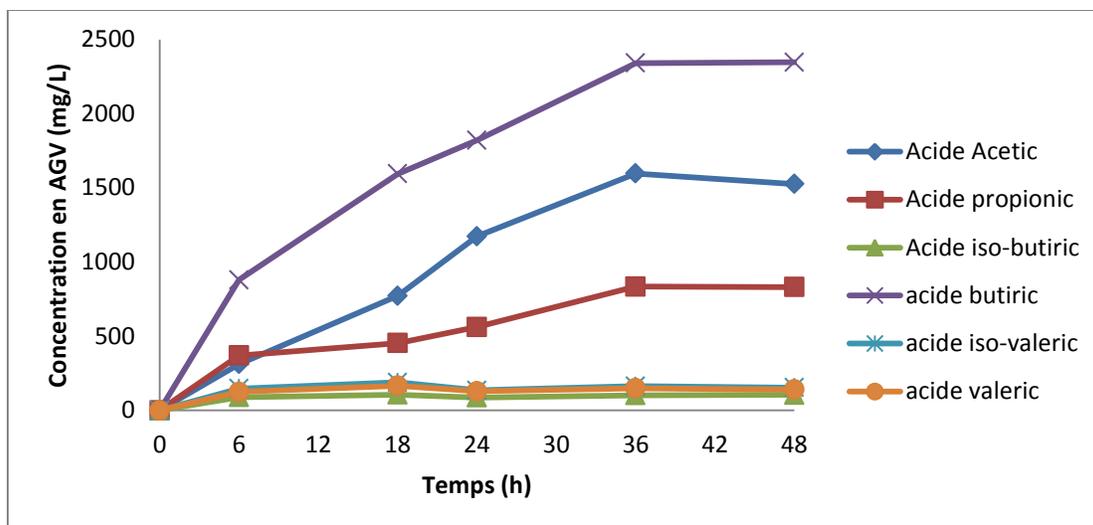


Figure 4 : Évolution des différents AGVs en fonction du temps lors de la fermentation utilisant le saccharose comme additif.

La figure 3 présente l'évolution de la concentration totale en mg/L d'AGV en fonction du temps pour les trois expériences utilisant des additifs sous forme de sucres. Durant la fermentation qui utilise le sucre de table, la concentration des AGVs a augmenté dans le temps pour atteindre un pic à 36h. Également, la concentration des AGVs pendant la fermentation utilisant le glucose, a connu une augmentation jusqu'à 48h. Cependant, la production des AGVs en ajoutant le sucre de table a été la plus importante pendant toutes les heures de la fermentation. Les concentrations maximales obtenues avec le sucre de table et le glucose étaient, respectivement, de 5 185,96 et de 2 562,7 mg/L. Toutefois, lors de la fermentation alimentée avec des eaux usées riches en amidon, la production des AGVs était très faible durant toutes les heures de la fermentation. Un maximum de 342,9 mg/L a été remarqué à la 36^e heure.

La figure 3 a montré que la production des AGVs était plus importante en utilisant le sucre de table, appelé aussi saccharose, comme additif. Ce dernier s'hydrolyse en glucose et en fructose en présence de l'eau et à une température modérée. Donc, une production supérieure des AGVs lors de l'utilisation du saccharose au lieu du glucose semble raisonnable, sachant que la quantité de sucre a été diluée avec de l'eau distillée sous une température modérée avant l'ajout. Chen *et al.* (2001) ont trouvé que le rendement en hydrogène obtenu lors de l'utilisation du saccharose comme substrat a dépassé celui obtenu par Taguchi *et al.* (1995) et par Kataoka *et al.* (1997) lors de la fermentation du glucose. Sachant que les concentrations élevées en hydrogène sont fortement dépendantes de la production des AGVs, surtout de l'acide butyrique (Chen *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2002; Cheong et Hansen, 2006).

La figure 3 a montré aussi que la production des AGVs lors de la fermentation des boues de traitement des effluents issues de l'usine de pâtes et papiers alimentée avec les eaux usées d'amidon était très faible, avec un maximum de 342,9 mg/L. Cela peut être expliqué par la complexité de la molécule du sucre d'amidon qui impose une étape d'hydrolyse nécessaire à son assimilation par les bactéries. Une étape de prétraitement des eaux usées d'amidon avant l'utilisation peut être efficace.

Dans des études qui ont été menées sur l'acidogénèse des eaux usées contenant du glucose (Zoetemeyer *et al.*, 1982; Cohen *et al.*, 1984), du saccharose (Chen *et al.*, 2001) et de l'amidon (Lay *et al.*, 1999), les résultats ont révélé que les conditions favorables de l'acidogénèse dépendent du substrat. Pourtant, les autres paramètres qui influencent la production des AGV à part le type du substrat, tel que les paramètres opérationnels, peuvent influencer significativement la production des AGVs (Gang Wang *et al.*, 2005). Ainsi, l'effet de la concentration du saccharose sur la production des AGVs n'était pas significatif dans plusieurs études (Yang *et al.*, 1994; Yu et Fang, 2000; Gang Wang *et al.*, 2005).

La figure 4 présente les courbes de concentrations de chaque composé d'AGV produit par rapport au temps, lorsque le sucre de table (saccharose) a été ajouté. Les AGVs principalement produits sont l'acide acétique, l'acide butyrique et l'acide propionique à des pourcentages de 30,8%, 16,1% et 45,1% par rapport au total des AGVs, respectivement. L'acide iso-butyrique, l'acide valérique et l'acide iso-valérique sont également produits mais à des quantités très faibles.

La figure 4 montre que les concentrations des acides acétique, butyrique et propionique ont toutes augmenté avec l'augmentation du temps de fermentation pour, finalement, atteindre un niveau maximum de 1 596,8 mg/L, 834,1 mg/L et 2 346 mg/L, respectivement. Donc, l'acide butyrique était le plus dominant et la production de chaque AGV indépendamment de l'autre a maintenu l'ordre suivant : acide butyrique > acide acétique > acide propionique.

L'acide butyrique était le plus dominant dans la production des AGVs et la production des AGV individuels a été maintenue dans l'ordre suivant : acide butyrique > acide acétique > acide propionique. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par plusieurs études (Chen *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2005; Perera et Nirmalakhandan, 2010) qui ont démontré que les acides acétique, propionique et butyrique sont les principaux produits de la fermentation acidogène du saccharose et l'acide butyrique est le plus dominant.

Au cours de la fermentation alimentée par le glucose, le principal acide produit était l'acide acétique dans un pourcentage de 82,7%. Les autres acides ont été produits à faibles quantités.

Les pourcentages de l'acide propionique et de l'acide butyrique étaient de 6% et de 4,6%, respectivement. Ainsi, la concentration maximale de l'acide acétique (2 562,7 mg/L) était supérieure à celle obtenue lors la fermentation utilisant le saccharose (1 596,8 mg/L). Également, Fernández *et al.* (2010) ont trouvé que l'acide acétique est le produit qui a la plus forte concentration lors de la fermentation du glucose.

Bien que l'acide acétique soit considéré comme un substrat très précieux pour la production de polyhydroxyalkanoates (PHA), un mélange de ce dernier, d'acide butyrique et d'acide propionique peut être plus efficace pour cette production, puisque la longueur de chaîne des AGV a une grande influence sur la composition, les propriétés mécaniques et l'application de PHA en résultant. Plusieurs études ont montré que les acides acétique et butyrique favorisent la production de 3-hydroxybutyrate (3HB) tandis que les acides propionique et valérique favorisent la synthèse de 3-hydroxyvalérate (3HV) (Lemos *et al.*, 2006; Albuquerque *et al.*, 2007; Bengtsson *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2011,). C'est ce qui explique l'importance d'avoir un mélange des principaux composés des AGVs et c'est ce qui démontre que l'utilisation de sucre de table (saccharose) était plus efficace.

2. Évaluation de l'utilisation des inocula développés

Deux autres expériences ont été réalisées suite aux trois premières expériences pour tester l'effet d'utilisation d'un inoculum développé, d'une part, et pour éviter l'utilisation de sucres, d'autre part. Les boues de l'expérience 4 ont été inoculées à 50%, à partir de la biomasse issue de l'expérience 2, dont le saccharose a été ajouté, alors que les boues de l'expérience 5 ont été inoculées à 50%, à partir de l'expérience 1 utilisant le glucose. La figure 5 présente les courbes de production des AGVt dans les expériences 4 et 5. La figure 6 illustre la réduction de la MVES calculée en mg/L, à différents temps de fermentation, pendant les expériences 1, 2, 4 et 5.

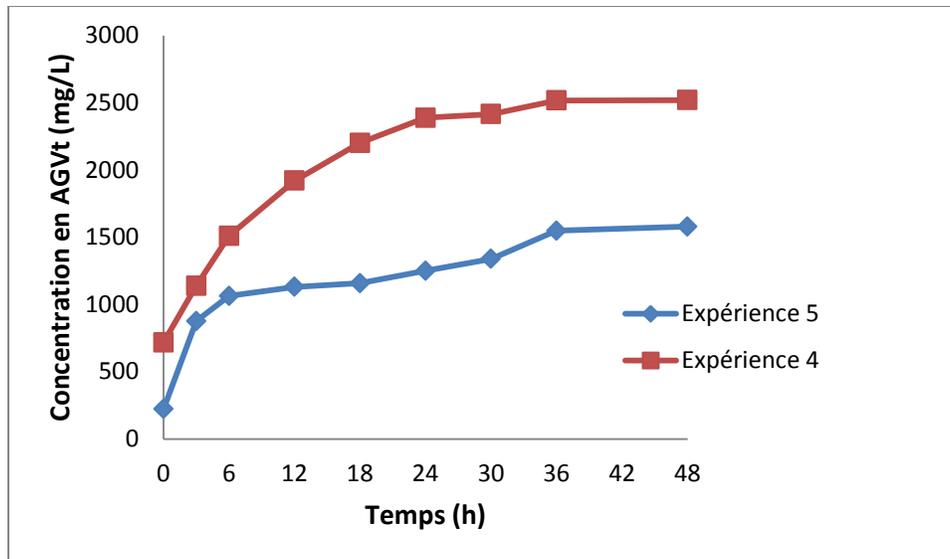


Figure 5 : Évolution de la concentration des AGVt en fonction du temps lors de deux fermentations inoculées à partir des biomasses des expériences 1 et 2 à 50% sans ajout de sucre.

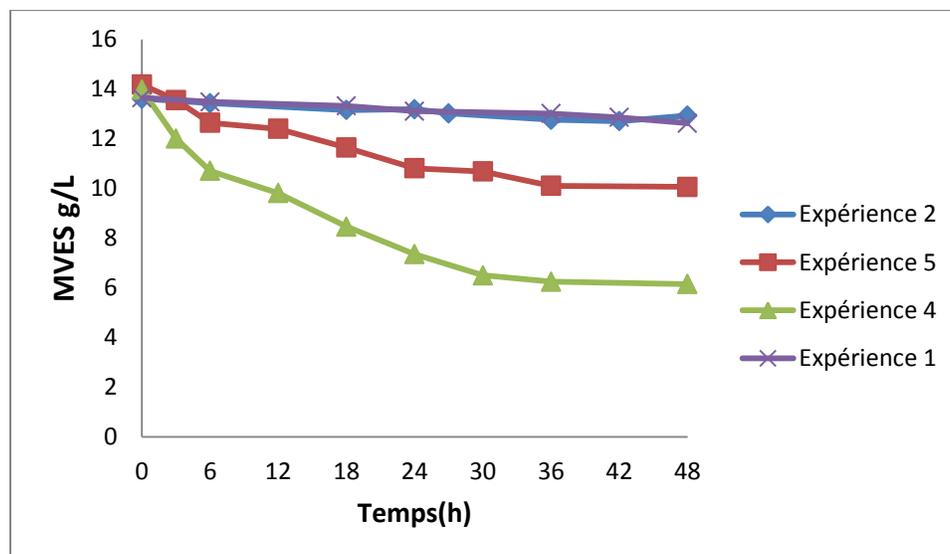


Figure 6 : Évolution de la concentration de la MVES en fonction du temps lors de quatre fermentations utilisant les mêmes conditions de pH et de température, mais avec des inoculations différentes.

Tableau 3 : Récapitulatif des conditions expérimentales des expériences 1, 2, 4 et 5

Expérience	pH	Température (°C)	Concentration en MES (g/L)	Additifs	Inoculum
1	5	25	20	Glucose	Boues anaérobies
2	5	25	20	Saccharose	Boues anaérobies
4	5	25	20	Sans additif	Biomasse de l'expérience 2
5	5	25	20	Sans additif	Biomasse de l'expérience 2

La figure 5, présente les courbes de productions des AGVs obtenues lors des expériences 4 et 5. Cette figure montre que la production des AGVt, lors de l'utilisation de l'inoculum développé par l'ajout du saccharose, a augmenté rapidement pour atteindre une concentration maximale de production enregistrée qui était de 2 519,2 mg/L en 36h. Lors de l'inoculation avec la biomasse activée par du glucose, la production des AGVt a connu une augmentation significative en 6h seulement. Après cette période, la production d'AGVt a connu une légère augmentation durant les 30h suivantes, pour atteindre, en fin de compte, un maximum de 1 579,2 mg/L. Ainsi, les résultats de la section 5.1 ont montré que la production des AGV a été supérieure lors de l'utilisation du saccharose par rapport à l'utilisation du glucose.

La figure 5 a montré que la production des AGVs, en utilisant un inoculum développé par l'ajout du saccharose, a augmenté rapidement dans le temps. Par contre, pendant l'expérience inoculée avec la biomasse activée par du glucose, la production n'a connu une augmentation significative que dans les premières 6h. Les résultats de la section 5.1 ont montré que la production des AGVs a été supérieure lors de l'utilisation du saccharose que lors d'utilisation du glucose. Nous pouvons constater que la production élevée dans l'expérience 4 est due, probablement, à l'inoculation à partir d'une biomasse active vis-à-vis la production des AGVs qui est riche en bactérie acidogène, puisque cet inoculum a été acclimaté dans des conditions acidogènes favorables.

La figure 6 illustre la réduction de la MVES à différents temps de fermentation, lors des expériences 1,2, 4 et 5. Nous constatons, d'après cette figure, qu'il y avait une réduction différente de la MVES pour les expériences 4 et 5. Généralement, une réduction très importante de MVES a été observée durant les 36h de l'expérience 4 avec un pourcentage d'environ 56%,

ce qui était très cohérent avec la production des AGV. Pour l'expérience 5, la réduction de la MVES était faible durant toutes les heures de la fermentation. Elle n'a pas dépassé 29%. Cette réduction ralentie n'était pas cohérente avec la production des AGVs pendant les premières 6h. Pour les expériences 1 et 2, il est clair qu'il n'y a pas eu de réduction significative dans la MVES.

La figure 6 a montré qu'il y avait une réduction très importante de la MVES pendant l'expérience 4, qui a atteint 56%, ce qui était très cohérent avec la production des AGVs. Pourtant, dans l'expérience 5, la réduction de la MVES était faible durant toutes les heures de la fermentation. Elle n'a pas dépassé 29%. Cette réduction ralentie n'était pas cohérente avec la production des AGVs pendant les premières 6h. L'augmentation rapide de production des AGVs, pendant seulement 6h au début de la fermentation, peut-être expliquée par la présence du glucose résiduel dans l'inoculum. Dans le cas des expériences 1 et 2, aucune réduction significative dans la MVES n'a été constatée. La production très élevée des AGVs durant ces deux fermentations est donc due à l'utilisation uniquement des sucres comme substrat pour la production des AGVs. Ceci est logique, puisque les molécules de sucres sont facilement assimilées par les bactéries.

Concernant la distribution de différents produits d'AGV, l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique étaient les produits principaux dans l'expérience 4, avec des pourcentages de 24,89%, 16,22% et 42,49%, respectivement. Cela reflète les résultats de l'expérience 2, où le saccharose était utilisé. Toutefois, pour l'expérience 5, le principal produit dans la composition des AGVs était l'acide acétique à 71,23%. Cette différence dans la distribution des composés d'AGV est la résultante de la diversité microbienne qui compose les deux inocula différents. Celui qui a été acclimaté avec le saccharose a donné les acides acétique, propionique et butyrique comme produits principaux, et celui qui a été acclimaté avec du glucose a donné seulement l'acide acétique comme produit principal.

La production des AGV était plus importante dans l'expérience 4. Cette expérience a été inoculée par la biomasse de l'expérience 2, qui a été activée par du saccharose. Ce qui explique le fait d'avoir les acides acétique, propionique et butyrique comme étant les produits principaux dans l'ordre suivant : acide butyrique > acide acétique > acide propionique.

3. Évaluation de l'utilisation des boues prétraitées

Une autre expérience a été ajoutée pour tester l'effet de l'utilisation des boues prétraitées. L'inoculation dans cette expérience a été réalisée à partir de la biomasse de l'expérience 4, 9

g/L de sucre de table étant ajouté au début de la fermentation. La figure 7 présente deux courbes de production des AGVt par rapport au temps, l'une à partir des boues hydrolysées en ajoutant du saccharose et l'autre à partir des boues fraîches en ajoutant la même quantité de saccharose. La figure 8 illustre la variation de MES et MVES dans les différents temps de fermentation, pour l'expérience utilisant les boues hydrolysées.

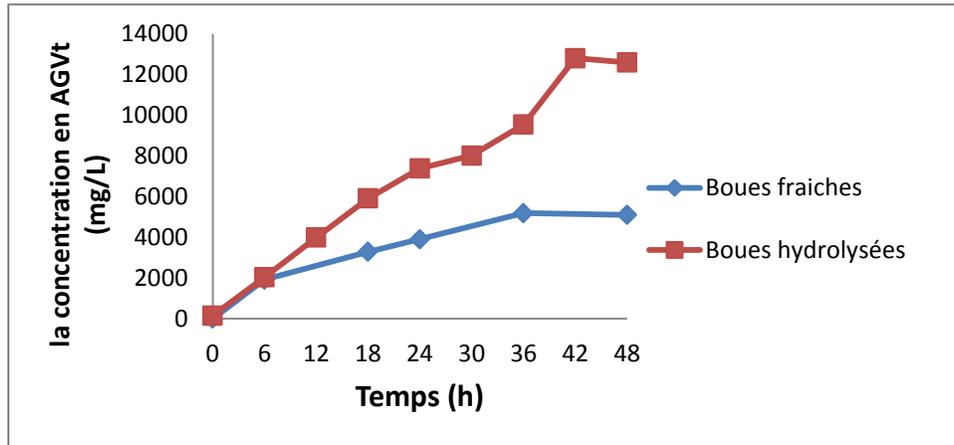


Figure 7 : Évolution de la production des AGVs en fonction du temps lors de la fermentation en utilisant du saccharose avec des boues fraîches et en utilisant du saccharose avec des boues hydrolysées.

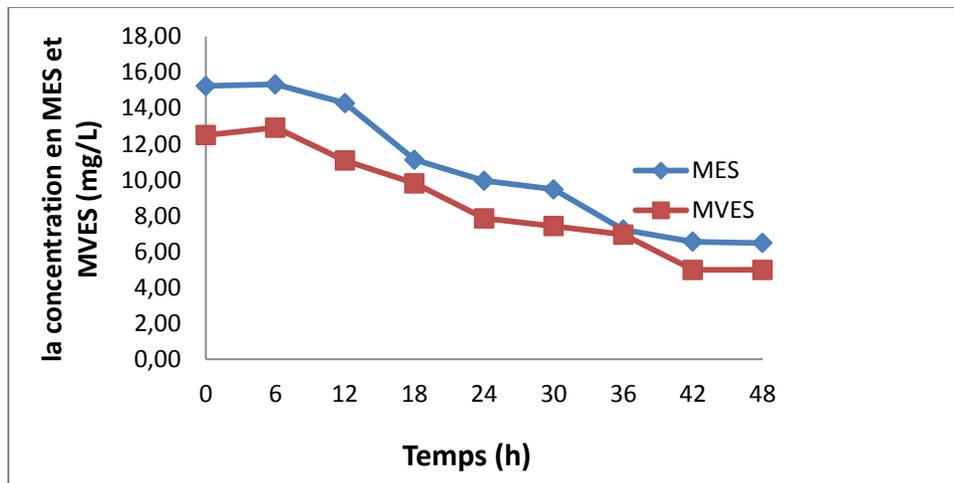


Figure 8 : Évolution de la MES et la MVES en fonction du temps lors de la fermentation en utilisant du saccharose avec des boues fraîches et en utilisant du saccharose avec des boues hydrolysées.

La figure 7 montre que, la production des AGVs à partir des boues hydrolysées était importante et a augmenté rapidement pendant les 36h de la fermentation. De même, lors de l'utilisation des boues fraîches, la production des AGVs a augmenté rapidement pendant les 36h. Pendant les premiers six heures de fermentation, nous avons constaté une même production des AGVs pour

les deux expériences comparées. Après les six heures de mesures, nous avons remarqué que l'expérience qui utilise des boues hydrolysées a affiché des valeurs élevées dépassant celle enregistrées par les boues fraîches. La production maximale dans l'expérience 6 était de 12 800 mg/L à l'heure de 36h, alors que dans l'expérience 2 elle était de 5 185,96 mg/L.

La figure 7 montre que la production des AGVs à partir des boues du traitement des effluents issues de l'usine de pâtes et papiers, qui sont hydrolysées, était beaucoup plus avantageuse. En effet, sa concentration maximale en AGVt a abouti à 12 800 mg/L, concentration qui était très importante dans tout ce travail. De plus, la figure 8 montre une réduction importante dans les MES et MVES des boues hydrolysées utilisées qui a atteint un maximum de 57% et 49%, respectivement après 42h de fermentation. La production des AGVs, qui était très élevée lors de la fermentation utilisant des boues hydrolysées, est due à l'utilisation à la fois du saccharose et de la MES des boues, comme substrat pour la production des AGVs. En outre, le prétraitement thermo-alcalin des boues permet l'hydrolyse des substances complexes présentes dans les boues et, par conséquent, permet également d'avoir des substances solubilisées et simples qui sont facilement assimilables par des bactéries.

La figure 8 illustre les variations des concentrations de la MES et la MVES en mg/L, selon les différents temps de fermentation, pour l'expérience utilisant les boues hydrolysées. Cette figure montre des réductions importantes dans les concentrations en MES et en MVES des boues hydrolysées utilisées qui atteignent un maximum de 57% et 49%, respectivement après 42h. La production des AGVs, très élevée lors de la fermentation utilisant des boues hydrolysées, est due à l'utilisation à la fois du saccharose et de la MES des boues, comme substrat pour la production des AGVs.

4. Évaluation de la concentration en MES

Pour évaluer l'effet de la concentration en MES des boues utilisées sur la production des AGV, quatre expériences ont été réalisées avec quatre concentrations en MES différentes : 15 g/L, 20 g/L, 30 g/L et 35 g/L. la figure 9 illustre l'évolution de la production des AGV pendant 48h en utilisant différentes concentrations en MES (15, 20, 30 et 35 g/L). Le tableau 4 résume l'effet de la concentration en MES sur le pourcentage en concentration des différents AGVs individuels par rapport aux AGVt et le tableau 5 montre le pourcentage en concentration de chaque AGV durant le temps en utilisant la concentration de 15 g/L.

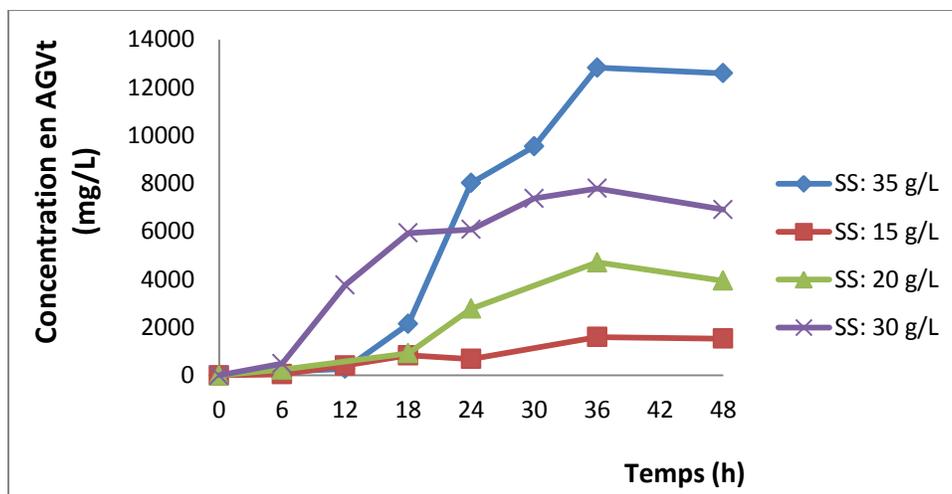


Figure 9 : Évolution de la concentration des AGVt en fonction du temps lors de quatre fermentations effectuées dans les mêmes conditions avec des différentes concentrations en MES différentes (15, 20, 30 et 35 g/L).

Tableau 4 : Effet de la concentration en MES sur le pourcentage en concentration de chaque AGV par rapport aux AGVt.

MES (g/L)	AGV (mg/L)	HAc (%)	HPr (%)	HBu (%)	i-HBu (%)	HVa (%)	i-HVa (%)
15	1 593,6	38,73	51,91	1,38	4,1	0	3,88
20	4 704,22	71,97	8,81	14,37	1,93	1,11	1,81
30	7 788,7	68,96	13,06	13,27	1,14	1,97	1,61
35	12 820,79	90,16	3,87	3,87	0,85	0,57	0,96

Note : HAc = acide acétique, HPr = acide propionique, HBu = acide butyrique, i-HBu = iso-butyrique, HVa = acide valérique, i-HVa = acide iso-valérique. Les données présentées sont la moyenne des essais en triple.

Tableau 5 : Variation du pourcentage en concentration de chaque AGV par rapport au temps à une concentration en MES de 15 g/L

Temps (h)	0	6	18	24	30	36	48
HAc (%)	0,00	73,81	67,49	48,50	73,21	38,73	37,83
HPr (%)	0,00	0,00	32,51	25,52	8,88	51,91	53,14
HBu (%)	0,00	26,19	0,00	1,92	7,35	4,10	5,17
i-HBu (%)	0,00	0,00	0,00	18,95	1,91	1,38	0,07
HVa (%)	0,00	0,00	0,00	5,11	8,66	3,88	3,80
i-HVa (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Note : HAc = acide acétique, HPr = acide propionique, HBu = acide butyrique, i-HBu = iso-butyrique, HVa = acide valérique, i-HVa = acide iso-valérique. Les données présentées sont la moyenne des essais en triple.

D'après la figure 9, lors de l'utilisation de la concentration 30 g/L en MES, la production des AGVs a eu une augmentation très rapide entre 6h et 18h de la fermentation et a dépassé celle obtenue par les 3 autres expériences; après, elle a commencé à ralentir en fonction du temps. Cependant, pour la concentration de 35 g/L, la production a augmenté très rapidement après 18h de fermentation et a dépassé celle obtenue par la fermentation utilisant la concentration 30 g/L. De même, pour la concentration de 20 g/L, la production a commencé à augmenter après 18h de fermentation jusqu'à 36h, mais elle était faible par rapport aux concentrations de 30 g/L et 35 g/L. Concernant l'expérience utilisant une concentration 15 g/L, la production était la plus faible. Pour les quatre expériences, le maximum de production a été obtenu à la trente-sixième heure d'opération (36h), soit : 12 820 mg/L, 7 788,7 mg/L, 4 704,22 mg/L et 1 593,6 mg/L, pour 15 g/L, 20 g/L, 30g/L et 35 g/L, respectivement.

Nous pouvons déduire que la concentration en MES des boues affecte très significativement la production des AGV. En effet, lors de l'utilisation des concentrations en MES très élevées de boues, soit 30 g/L et 35 g/L, la production a abouti à des concentrations très élevée d'AGV, soit 7 788,7 mg/L et 12 820,8 mg/L en AGVt, respectivement. Par contre, l'utilisation de 20 g/L et 15 g/L de boues a donné seulement 4 704,22 mg/L et 1 593,6 mg/L d'AGV respectivement. Aux premières heures des fermentations, la concentration des AGVt, dans les boues concentrées à 30 g/L, a augmenté rapidement et a même dépassé celle obtenue avec des boues concentrées à 35 g/L. Cependant, après 18h, la concentration a augmenté rapidement jusqu'à un maximum de 12 820,79 mg/L et 4 704,22 mg/L d'AGVt à 36h pour les fermentations utilisant 35 g/L et 20

g/L de concentrations en MES, respectivement. Pour celles utilisant des concentrations de 15 g/L et 30 g/L, l'augmentation était très faible. D'une façon générale, la production des AGV a été améliorée avec l'augmentation de la concentration en MES des boues.

Le tableau 3 résume l'effet du pH sur le pourcentage des AGV individuels par rapport aux AGVt. Pour les concentrations en MES de 20 g/L, 30 g/L et 35 g/L, l'acide acétique était le produit principal dans la composition des AGV à des pourcentages de 72%, 69% et 90%, respectivement. Cependant, à une concentration de 15 g/L en MES, les produits principaux étaient l'acide acétique et l'acide propionique. Le tableau 4 montre le pourcentage de chaque AGV durant le temps en utilisant la concentration de 15 g/L. D'après ce tableau, l'acide acétique était l'AGV dominant avec un pourcentage moyen de plus de 56% dans la plupart des temps de fermentations. Le pourcentage de l'acide propionique a augmenté rapidement à la fin de la fermentation et a même dépassé celui de l'acide acétique (53,14 et 37,83, respectivement). Donc, on constate que la concentration en MES avait une influence sur la distribution des AGV individuels, et c'est la concentration 15 g/L en MES qui donne un mélange d'acide acétique et d'acide propionique important.

Le tableau 3 a montré que l'acide acétique était le produit principal dans la composition des AGV, pour les concentrations de boues en MES de 20 g/L, de 30 g/L et de 35 g/L. Cependant, à une concentration de 15 g/L en MES, les produits principaux étaient l'acide acétique et l'acide propionique. Toutefois, le tableau 4 a montré que, lors de l'utilisation de la concentration de 15 g/L, l'acide acétique était l'AGV dominant avec un pourcentage moyen de plus de 56% dans la plupart des temps de fermentation. Mais, le pourcentage de l'acide propionique a augmenté rapidement à la fin de la fermentation et a même dépassé celui de l'acide acétique (53,14 et 37,83, respectivement). Donc, on constate que la concentration en MES avait une influence sur la distribution des AGV individuels, et c'est la concentration de 15 g/L en MES qui donne un mélange d'acide acétique et d'acide propionique important.

5. Évaluation du pH

5.1 Effet du pH sur la production des AGVt

Pour évaluer l'impact du pH sur la production des AGVs à partir de la fermentation acidogène des boues d'épuration des eaux usées provenant du traitement des effluents issues de l'usine

de pâtes et papiers, nous avons effectué des mesures pendant 48h, dont les résultats sont illustrés dans la figure 10.

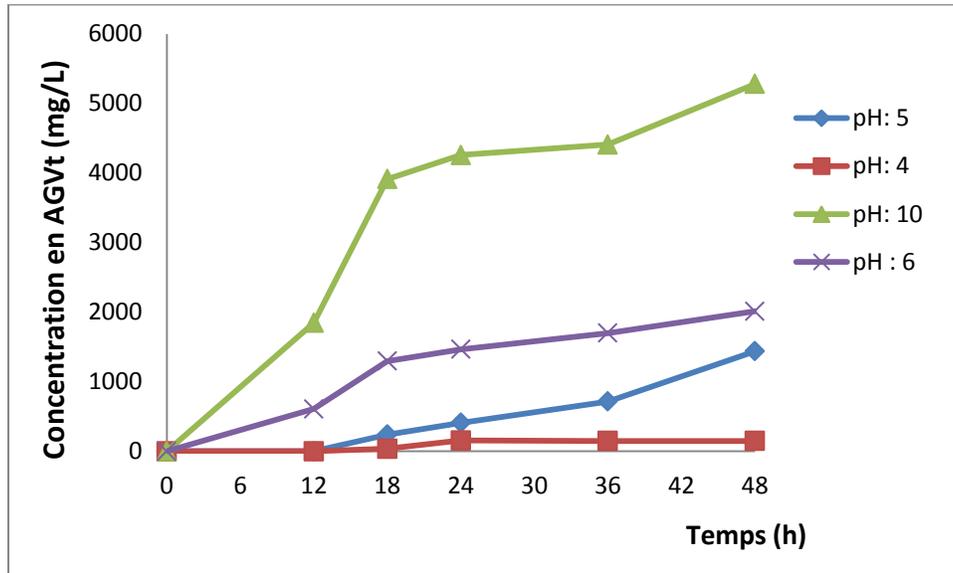


Figure 10 : Évolution de la production des AGVt en fonction du temps lors de quatre fermentations utilisant les mêmes conditions de concentration en MES et de température mais avec différents pH (4, 5, 6 et 10).

La figure 10 montre que les concentrations des AGV ont eu une augmentation pendant 48h, pour le pH alcalin (pH=10,0) et les deux pH proches de la neutralité (pH=5,0; 6,0). Pourtant, les concentrations à pH=10 étaient significativement plus élevées que celles des pH 5,0 et 6,0. À pH proche de l'acidité (pH=4,0) la production des AGVs était très faible durant toutes les 48h de la fermentation. La concentration maximale des AGV à des pH 4,0, 5,0, 6,0 et 10,0 étaient respectivement de 156,17 mg/L, 1 438,9 mg/L, 2 012,2 mg/L et 5 280,732 mg/L. Donc, la concentration maximale des AGV était obtenue au pH 10,0.

Les concentrations des AGV à pH alcalin (pH = 10,0) étaient significativement plus élevées que celles à des pH proches de la neutralité (pH = 5,0; 6,0) et celles du pH acide (pH = 4,0). En effet, la concentration maximale des AGV à des pH 4,0, 5,0, 6,0 et 10,0 étaient respectivement de 156,17 mg/L, 1 438,9 mg/L, 2 012,2 mg/L et 5 280,732 mg/L. Donc, la concentration maximale des AGV était obtenue au pH 10,0. Ces résultats sont similaires aux travaux de Wu *et al.* (2009) qui ont considéré le pH 10,0 comme une valeur optimale pour la production des AGV lors d'une fermentation anaérobie des boues primaires. De même, Chen *et al.* (2006) ont étudié l'effet du pH sur l'hydrolyse et l'acidification, de 4,0 jusqu'à 11,0, et les résultats expérimentaux ont montré que les conditions alcalines ont été utiles pour la production des AGV. Il est évident

que la production d'acides gras volatils à partir des boues peut être considérablement améliorée par le contrôle de la fermentation à un pH alcalin.

L'augmentation de la production des AGV dans des conditions alcalines a été attribuée aux deux raisons suivantes : premièrement, les conditions alcalines augmentent le taux d'hydrolyse des boues par ionisation des groupes chargés des substances polymères extracellulaires dans les boues. Cela provoque une forte répulsion entre les substances polymères extracellulaires (Nielsen et Jahn, 1999), ce qui entraîne la libération de glucides et de protéines pour l'environnement. Par conséquent, les substrats les plus solubles sont disponibles pour la production d'acides gras volatils dans des conditions alcalines (Wu *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009). La deuxième raison, c'est qu'un pH alcalin réduit empêche l'activité des bactéries méthanogènes qui consomment les AGV (Zhang *et al.*, 2009).

La production à pH 4,0 était extrêmement faible et cela pourrait être dû à l'inhibition de l'activité bactérienne acidogène par la forte acidité. Dans des études antérieures, les valeurs de pH optimales de fonctionnement des bioréacteurs pour l'acidification acide ont été généralement fixées entre 5,0 et 6,0 (Eastman et Ferguson, 1981; Zoetemeyer *et al.*, 1982), mais il convient de noter que ces études se limitent à des pH inférieurs à 7,0.

5.2 Effet du pH sur la distribution des AGV

Six AGV, à savoir l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique, l'acide valérique, l'acide iso-butyrique et l'acide iso-valérique sont tous détectés dans les expériences à pH contrôlé (pH 4,0 à 10,0). Le tableau 6 résume l'effet du pH sur le pourcentage en concentration des AGV individuels par rapport aux AGVt. Le tableau 6 montre le pourcentage concentration de chaque AGV durant le temps, à pH 10,0.

Tableau 6 : Effet du pH sur le pourcentage en concentration de chaque AGV par rapport aux AGVt

pH	AGVt (mg/L)	HAc (%)	HPr (%)	HBu (%)	i-HBu (%)	HVa (%)	i-HVa (%)
4	149,17	41,47	29,64	16,27	1,35	4,47	6,8
5	1 438,9	45,6	27,02	10,67	2,57	5,19	8,94
6	2 012,2	56,08	21,21	14,31	2,51	5,32	9,79
10	5 280,73	49,22	26,34	0,07	0,18	3,18	21,01

Note : HAc = acide acétique, HPr = acide propionique, HBU= acide butyrique, i-HBU= iso-butyrique, HVA= acide valérique, i-HVA= acide iso-valérique. Les données présentées sont la moyenne des essais en triple.

Tableau 7 : Variation du pourcentage de chaque AGV par rapport au temps à pH 10.0

Temps (h)	0	12	18	24	30	36	48
HAc (%)	0	55,52	55,13	50,06	51,09	49,22	0
HPr (%)	0	8,28	20,50	24,16	24,89	26,34	0
HBU (%)	0	5,12	2,87	1,36	0,53	0,18	0
i-HBU (%)	0	14,36	3,16	1,03	0,52	0,07	0
HVA (%)	0	9,08	14,16	19,44	20,94	21,01	0
i-HVA (%)	0	7,64	4,18	3,94	2,02	3,18	0

Note : HAc = acide acétique, HPr = acide propionique, HBU= acide butyrique, i-HBU= iso-butyrique, HVA= acide valérique, i-HVA= acide iso-valérique. Les données présentées sont la moyenne des essais en triple.

Six AGV; à savoir l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique, l'acide valérique, l'acide iso-butyrique et l'acide iso-valérique sont tous détectés dans les expériences à pH contrôlé (pH 4,0 à 10,0). Comme on le voit dans le tableau 6, l'acide acétique avait le pourcentage le plus élevé (41,47%, 45,6%, 56,08% et 49,22%) de pH 4,0 à pH 10,0. Ainsi, la concentration d'acide acétique maintenait l'ordre suivant : pH alcalin > pH neutre > pH acide. Le pourcentage d'acide propionique se situe entre 21,21% et 29,64% dans les différents pH contrôlés. Dans la plupart des cas, l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique sont les trois principaux produits. À pH 4,0, 5,0 et 6,0, les moyennes de ces trois AGV sont respectivement de 47,72%, 25,96% et 13,75% et, généralement, l'ordre de la concentration des AGV individuels est : l'acide acétique > l'acide propionique > l'acide butyrique > l'acide iso-valérique > l'acide valérique > l'acide iso-butyrique.

À pH 10,0, l'AGV dominant est l'acide acétique avec un pourcentage moyen de 52,21%. Le tableau 7 montre que les pourcentages d'acide propionique et d'acide iso-valérique ont augmenté avec le temps, alors que le pourcentage de l'acide butyrique a diminué rapidement. Ainsi, les acides acétique, propionique et iso-valérique sont les principaux produits à pH 10,0 et leur total moyen représentait 89,97% des AGVt. Plusieurs études ont également constaté que les trois premiers AGV étaient l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide iso-valérique, à pH 10,0 (Wang *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2009) mais des observations différentes ont été faites à un pH de 4,0, 5,0 et 6,0.

Le tableau 6 a montré que six AGV, à savoir l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique, l'acide valérique, l'acide iso-butyrique et l'acide iso-valérique sont tous détectés dans les expériences à pH contrôlé (pH 4,0 à 10,0). Cependant, l'acide acétique avait le pourcentage le plus élevé de pH 4,0 à pH 10,0. Ainsi, la concentration d'acide acétique maintenait l'ordre suivant : pH alcalin > pH neutre > pH acide. Dans la plupart des cas, l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique sont les trois principaux produits. À pH 10,0, l'AGV dominant est l'acide acétique. Ainsi, le tableau 6 a montré que les pourcentages d'acide propionique et d'acide iso-valérique ont augmenté avec le temps, alors que le pourcentage de l'acide butyrique a diminué rapidement. Ainsi, les acides acétique, propionique et iso-valérique sont les principaux produits à pH 10,0. Plusieurs études ont également constaté que les trois premiers AGV étaient l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide iso-valérique, à pH 10,0 (Wang *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2009) mais des observations différentes ont été faites à différentes valeurs de pH : 4,0, 5,0 et 6,0. Donc on peut constater que le pH affecte significativement la distribution des AGVs individuels.

6. Évaluation de la température

6.1 Effet de la température sur la production des AGV

L'effet de la température sur la fermentation des boues primaires a été étudié sur une gamme de température de 15°C à 45°C. Il est à noter que dans toutes ces expériences, les concentrations initiales de la MVES étaient pratiquement les mêmes (environ 15 g/L), principalement pour éliminer l'effet de la concentration initiale de la MVES sur la production des AGV. La figure 11 décrit l'évolution de la production des AGVt à différentes températures (15, 25, 35 et 45°C) et pendant 48h.

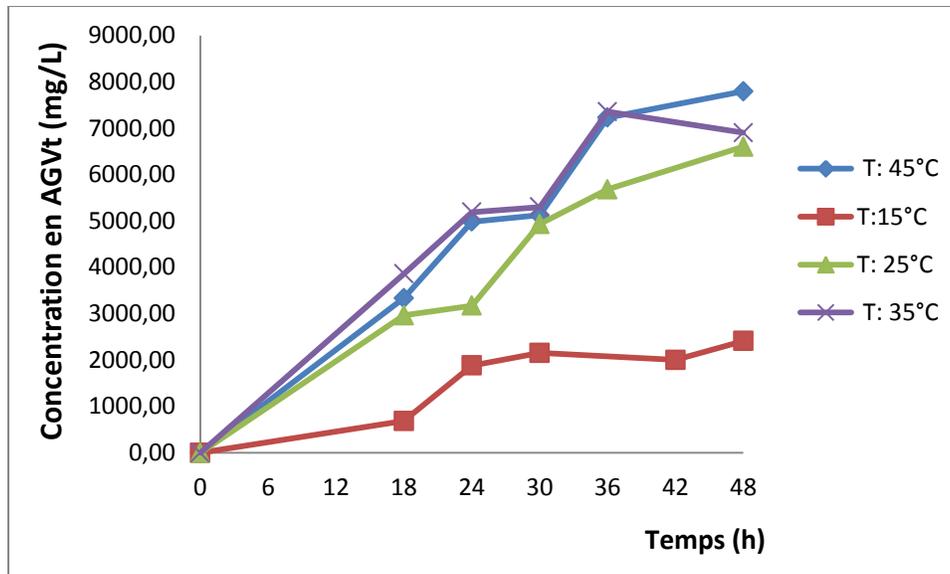


Figure 11: Évolution de la production des AGVt en fonction du temps lors de quatre fermentations utilisant les mêmes conditions de pH et de concentration en MES mais sous différentes températures (15, 25, 35 et 45°C).

La figure 11 montre que pour les quatre températures étudiées, la concentration des AGVs a augmenté pendant les 48h. Cette augmentation était ralentie lors de l'utilisation de la température à 15°C, avec un maximum de production des AGVs qui n'a pas dépassé 2 412 mg/L. Toutefois, pour les trois autres températures étudiées (25°C, 35°C et 45°C), la production était très importante et a augmenté rapidement jusqu'à des maximums de 6 601, 7 356,56 et 7 796,00 mg/L respectivement. On peut ainsi constater qu'il n'y a pas de variation significative de production des AGVs entre les températures de 45°C et 35°C. Pourtant, il y'a une augmentation très importante, d'environ 63% dans la production des AGVs, lorsqu'on a augmenté la température de fermentation de 15°C à 25°C, et une augmentation très légère dans la production des AGV entre 25°C et 35°C.

D'après la figure 11 donc, il est évident que la production des AGV a augmenté dans le temps pour toutes les températures étudiées, mais cette augmentation était très ralentie à une température de 15°C. Pourtant, dans les trois autres températures étudiées (25°C, 35°C et 45°C), la production était très importante et a augmenté rapidement. Généralement, aucune variation significative de production des AGV n'a été remarquée entre les températures de 35°C et 45°C. Cependant, on a observé une augmentation très importante, d'environ 63%, dans la production des AGV lorsqu'on a augmenté la température de fermentation de 15°C à 25°C. Ainsi, une augmentation très légère dans la production des AGV entre 25°C et 35°C a été remarquable.

Ces résultats concordent avec plusieurs études. Par exemples, ceux rapportés par Skalsky et Daigger (1995), qui ont constaté que le taux de production des AGV à 14°C était d'environ 42% inférieur à celui observé à 21°C. De même, Maharaj et Elefsiniotis (2001) ont rapporté 60% et 80% de diminution de concentrations des AGV lorsque la température est passée de 25°C à 16°C et 8°C respectivement. Donc, généralement, on peut constater que, dans les gammes de faibles températures (8°C-25°C), la concentration des AGV produits augmente avec l'augmentation de la température. Cette augmentation est due à la présence d'une grande quantité de glucides et de protéines solubles, qui sont le résultat de l'hydrolyse améliorée à une température supérieure (Zhang *et al.*, 2009). Toutefois, au-delà de 25°C, la température n'a pas d'influence significative sur la production des AGV. Ces résultats sont similaires aux travaux de Yua et H Fang (2003), qui ont trouvé que l'augmentation de la température de 37°C à 45°C ou 50°C n'a pas abouti à la diminution du degré d'acidification ou du taux de formation des AGV.

6.2 Effet de la température sur la production des AGV

Les pourcentages de chaque AGV sont résumés dans le tableau 8 qui illustre l'effet de la température sur le pourcentage de chaque AGV par rapport aux AGVt.

Tableau 8 : Effet de la température sur le pourcentage de chaque AGV par rapport aux AGVt

T (°C)	AGVt (mg/L)	HAc (%)	HPr (%)	HBu (%)	i-HBu (%)	HVa (%)	i-HVa (%)
15	2 411,9	43,82	24,51	17,91	1,29	9,52	2,96
25	6 601,01	41,66	23,76	19,18	3,08	9,36	2,96
35	7 356,56	43,5	23,08	19,9	1,69	8,63	3,21
45	7 796	40,3	26,86	19,59	1,95	8,45	2,85

Note : HAc = acide acétique, HPr = acide propionique, HBu = acide butyrique, i-HBu = iso-butyrique, HVa = acide valérique, i-HVa = acide iso-valérique. Les données présentées sont la moyenne des essais en triple.

Comme le montre le tableau 8, les principaux produits sont : l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique et l'acide valérique. Le pourcentage en concentration de l'acide acétique était dans une gamme de 40 à 44% avec une valeur moyenne de 42%, le pourcentage en concentration de l'acide propionique était dans une gamme de 23 à 27% avec une valeur moyenne de 24%, le pourcentage en concentration de l'acide butyrique était dans une gamme

de 18 à 20% avec une moyenne de 19% et le pourcentage en concentration de l'acide valérique était dans une gamme de 8,5 à 9,5% avec une valeur moyenne de 9%

Le tableau 8 a montré que, pour les produits principaux, l'acide acétique était dans une gamme de 40 à 44% avec une valeur moyenne de 42%, l'acide propionique de 23 à 27% avec une valeur moyenne de 24%, l'acide butyrique de 18 à 20% avec une moyenne de 19% et l'acide valérique de 8,5 à 9,5% avec une valeur moyenne de 9%. Ces résultats montrent que la température n'a pas d'effets significatifs sur la distribution des composés différents des AGV. De même, aucune variation significative dans la composition des AGV n'a été observée dans plusieurs études qui ont testé l'effet de la température sur la qualité des AGV générés.

Conclusion et recommandations

La présente étude confirme l'intérêt que présentent les boues d'épuration provenant de l'industrie papetière comme substrat alternatif pour la production des AGV. L'ensemble des stratégies explorées a permis d'améliorer cette production.

La première stratégie, qui était basée sur l'utilisation des additifs sous forme de sucre pour améliorer l'activité des bactéries acidogènes, a montré que le saccharose est le meilleur additif choisi et qu'il favorise la production des acides acétique, butyrique et propionique comme principaux AGV.

Ensuite, l'étude du développement d'inocula a permis de déterminer qu'un inoculum préparé à partir de boues provenant de l'usine de pâtes et papiers, avec l'utilisation du saccharose comme additif, et acclimaté dans des conditions acidogène favorables, améliore la production des AGV et aboutit à une réduction importante en MVES. De plus, l'hydrolyse thermo-alcaline des boues avant la fermentation a un effet bénéfique sur les performances du procédé de production des AGV. L'application du prétraitement thermo-alcalin a permis d'atteindre une concentration importante d'AGVt, et de contribuer à une réduction importante des concentrations en MES et en MVES des boues hydrolysées utilisées (57% et 49%, respectivement). Ces résultats peuvent montrer que le prétraitement a permis une augmentation de la biodisponibilité des éléments nutritifs suite à une dégradation des matières complexes contenues dans les boues.

Enfin, ces travaux ont également démontré que la concentration en MES des boues, le pH et la température affectent significativement la production des AGV, et les résultats ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'augmentation de la concentration en MES des boues a un effet positif sur la production des AGV. La production maximum (12 820,8 mg/L) observée a été obtenue dans les boues concentrées à 35 g/L de MES.
- Le pH 10,0 est le pH optimum pour la production des AGV à partir de la fermentation des boues provenant de l'usine de pâtes et papiers et les principaux AGV obtenus étaient : l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide iso-valérique.
- La concentration des AGV produits augmente avec l'augmentation de la température seulement dans les gammes de faible température. Au-delà de 25°C, la température n'a pas d'influence significative sur la production des AGV.

Généralement, la concentration en MES et le pH influencent la distribution des AGV. Pourtant, la température n'avait pas d'effets remarquables sur la distribution des différents AGV individuels.

En somme, les travaux réalisés au cours de cette étude démontrent le potentiel des boues d'épuration provenant de l'usine de pâtes et papiers pour la production des AGV. Cependant, il reste plusieurs travaux à mener afin de répondre aux questions soulevées lors de ces travaux et afin de poursuivre l'optimisation du procédé. Les recommandations pour des travaux ultérieurs sont les suivantes :

- Lors de prochains travaux, il serait souhaitable de mesurer les concentrations des hydrates de carbone et des protéines solubles à différents moments de la fermentation.
- Également, il serait intéressant d'étudier l'évolution de la variation de la concentration en DCO soluble au cours de la fermentation et la comparer avec la concentration des AGV produits. En effet, la demande chimique en oxygène (DCO) soluble est un paramètre qui représente le degré d'hydrolyse et de solubilisation effectuées par des bactéries acidogènes et le rapport AGV/DCO est une mesure de degré de succès de l'acidogénèse, représentant la quantité de matière solubilisée qui a été convertie en AGV (Maharaj, 1999).
- Au cours de ces travaux, les paramètres du prétraitement d'hydrolyse thermo-alkaline (pH, température et durée) proviennent de travaux antérieurs et n'ont pas été optimisés pour la production des AGV. Il serait souhaitable d'étudier de façon approfondie les paramètres de l'hydrolyse thermo-alkaline et aussi d'autres prétraitements et de choisir la méthode la plus productive et à faibles coûts.
- Il est suggéré d'entreprendre une étude sur l'évolution de la biomasse au cours des fermentations.
- Une optimisation du temps de rétention lors de la fermentation est aussi souhaitable.
- Finalement, une étude de production de PHA à partir des AGV produits devra être entreprise ultérieurement. Les boues provenant de l'usine de pâtes et papiers fermentées peuvent enrichir la communauté microbienne productrice de PHA.

BIBLIOGRAPHIE

Adriaans, B., B.S. Drasar. The isolation of *Fusobacterium* from tropical ulcers. *Epidem. Inf.*, 99 (1987), pp. 361–372

Ahn, J., S.G. Shin, S. Hwang. Effect of microwave irradiation on the disintegration and acidogenesis of municipal secondary sludge. *Chem. Eng. J.*, 153 (2009), pp. 145–150

Alam, S., D. Stevens, R. Bajpai. Production of butyric acid by batch fermentation of cheese whey with *Clostridium beijerinckii*. *J. Ind. Microbiol.*, 2 (1988), pp. 359–364

Albin, H.-J. Ahlgrim, P. Weiland. Biomethanation of solid and semi-solid residues from harvesting and processing of renewable feed stocks. *Biomass for Energy and Industry*, 5th E.C. Conference (1989)

Albuquerque, M.G.E., C. Torres, M.A.M. Reis. Polyhydroxyalkanoate (PHA) production by a mixed microbial culture using sugar molasses: effect of the influent substrate concentration on culture selection. *Water Res.*, 44 (2010), pp. 3419–3433

Albuquerque, M.G.E., M. Eiroa, C. Torres, B.R. Nunes, M.A.M. Reis. Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses. *J. Biotechnol.*, 130 (2007), pp. 411–421

Antonopoulos, E.G. Wene. Bioconversion of municipal solid waste and recovery of short-chain organic acids for liquid fuel production. Energy and Environmental System Division, Energy from Municipal Waste Program (1988)

Appels, L., J. Degrève, B.V.d. Bruggem, J.V. Impe, R. Dewil. Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation heavy metal release and anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.*, 101 (2010), pp. 5743–5748

Appels, L., J. Lauwers, J. Degrève, L. Helsen, B. Lievens, K. Willems *et al.* Anaerobic digestion in global bio-energy production: potential and research challenges. *Renew Sust Energ Rev*, 15 (9) (2011), pp. 4295–4301

Appels, L., S. Houtmeyers, J. Degrève, J.V. Impe, R. Dewil. Influence of microwave pre-treatment on sludge solubilization and pilot scale semi-continuous anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.*, 128 (2013), pp. 598–603

Bayr, S., P. Kaparaju, J. Rintala. Screening pretreatment methods to enhance thermophilic anaerobic digestion of pulp and paper mill wastewater treatment secondary sludge. *Chem. Eng. J.*, 223 (2013), pp. 479–486

Beccari, M., L. Bertin, D. Dionisi, F. Fava, S. Lampis, M. Majone, F. Valentino, G. Vallini, M. Villano. Exploiting olive oil mill effluents as a renewable resource for production of biodegradable

polymers through a combined anaerobic–aerobic process. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 84 (2009), pp. 901–908

Bengtsson, S., A. Werker, M. Christensson, T. Welander. Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater. *Bioresour. Technol.*, 99 (2008), pp. 509–516

Bengtsson, S., A.R. Pisco, M.A.M. Reis, P.C. Lemos. Production of polyhydroxyalkanoates from fermented sugar cane molasses by a mixed culture enriched in glycogen accumulating organisms. *J. Biotechnol.*, 145 (2010), pp. 253–263

Bengtsson, Simon, Jakob Hallquist, Alan Werker, Thomas Welander. (2008). Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: Effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production.

Bertin, L., M.C. Colao, M. Ruzzi, F. Fava. Performances and microbial features of a granular activated carbon packed-bed biofilm reactor capable of an efficient anaerobic digestion of olive mill wastewaters. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 48 (2004), pp. 413–423

Bolzonella, D., F. Fatone, P. Pavan, F. Cecchi. Anaerobic fermentation of organic municipal solid wastes for the production of soluble organic compounds. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 44 (2005), pp. 3412–3418

Bolzonella, D., P. Pavan, M. Zanette, F. Cecchi. Two-phase anaerobic digestion of waste activated sludge: effect of an extreme thermophilic prefermentation. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 46 (2007), pp. 6650–6655

Borja, R., C.J. Banks, E. Sánchez. Anaerobic treatment of palm oil mill effluent in a two-stage up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) system. *J. Biotechnol.*, 45 (1996), pp. 125–135

Bougrier, C., C. Albasi, J.P. Delgenès, H. Carrère. Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. *Chem. Eng. Process.*, 45 (2006), pp. 711–718

Bouzas, A., C. Gabaldón, P. Marzal, J.M. Peña-roja, A. Seco. Fermentation of municipal primary sludge: effect of SRT and solids concentration on volatile fatty acid production. *Environ. Technol.*, 23 (2002), pp. 863–875

Buffière, P., L. Delgadillo Mirquez, J.P. Steyer, N. Bernet, J.P. Delgenes. Anaerobic digestion of solid wastes needs research to face an increasing industrial success. *Int J Chem React Eng*, 6 (2008), p. A94.

Cai, M.L., Liu, J.X., Wei, Y.S., 2004. Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment. *Environmental Science & Technology* 38, 3195e3202.

Cesaro, A., V. Belgiorno. Sonolysis and ozonation as pretreatment for anaerobic digestion of solid organic waste. *Ultrason. Sonochem.*, 20 (2013), pp. 931–936

Cesaro, A., V. Naddeo, V. Amodio, V. Belgiorno. Enhanced biogas production from anaerobic codigestion of solid waste by sonolysis. *Ultrason. Sonochem.*, 19 (2012), pp. 596–600

Chae, K., M. Choi, J. Lee, K. Kim, I.S. Kim. Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.*, 100 (2009), pp. 3518–3525

Chen, C.C., C.Y. Lin, J.S. Chang. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. *Appl Microbiol Biotechnol*, 57 (2001), pp. 56–64

Chen, C.C., C.Y. Lin, M.C. Lin. Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process. *Appl Microbiol Biotechnol*, 58 (2002), pp. 224–228

Chen, Y.G., Randall, A.A., McCue, T., 2004. The efficiency of enhanced biological phosphorus removal from real wastewater affected by different ratios of acetic to propionic acid. *Water Research* 38, 27e36.

Chen, Y.G., S. Jiang, H.Y. Yuan, Q. Zhou, G. Gu, Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs, *Water Res.* 41 (2007) 683–689.

Chen, Yinguang, Su Jiang, Hongying Yuan, Qi Zhou, Guowei Gu. Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs. *Water Research*. Volume 41, Issue 3, February 2007, Pages 683–689

Cheong, Dae-Yeol, Conly L. Hansen. Acidogenesis characteristics of natural, mixed anaerobes converting carbohydrate-rich synthetic wastewater to hydrogen. *Process Biochemistry*. Volume 41, Issue 8, August 2006, Pages 1736–1745

Cheryan, M., S. Parekh, M. Shah, K. Witjitra. Production of acetic acid by *Clostridium thermoaceticum*. *Adv. Appl. Microbiol.*, 43 (1997), pp. 1–33

Choi, J., S.Y. Lee. Process analysis and economic evaluation for poly(3-hydroxybutyrate) production by fermentation. *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, 17 (1997), pp. 335–342

Chua, A.S.M., H. Takabatake, H. Satoh, T. Mino. Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater: effect of pH, sludge retention time (SRT), and acetate concentration in influent. *Water Res.*, 37 (2003), pp. 3602–3611

Climent, M., I. Ferrer, M.d.M. Baeza, A. Artola, F. Vázquez, X. Font. Effects of thermal and mechanical pretreatments of secondary sludge on biogas production under thermophilic conditions. *Chem. Eng. J.*, 133 (2007), pp. 335–342

Cohen, A., J.M. van Gemert, R.J. Zoetemeyer, A.M. Breure. Main characteristics and stoichiometric aspects of acidogenesis of soluble carbohydrate containing wastewater. *Process Biochem.*, 19 (1984), pp. 228–232

D'Addario *et al.*, 1992E. D'Addario, R. Pappa, B. Pientrangeli, M. Valdiserri The acidogenic digestion of the organic fraction of municipal solid waste for the production of liquid fuels. Proceedings of the International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste, Venice, Italy, 14–17 April 1992 (1992), pp. 241–250

De Lucas, A., L. Rodríguez, J. Villaseñor, F.J. Fernández. Biodegradation kinetics of stored wastewater substrates by a mixed microbial culture. *Biochem Eng J*, 26 (2–3) (2005), pp. 191–197

De Lucas, A., L. Rodriguez, J. Villaseñor, F.J. Fernández. Influence of industrial discharges on the performance and population of a biological nutrient removal process. *Biochem Eng J*, 34 (1) (2007), pp. 51–61

Demirel, B., O. Yenigun. Anaerobic acidogenesis of dairy wastewater: the effects of variations in hydraulic retention time with no pH control. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 79 (2004), pp. 755–760

Devlin, D.C., S.R.R. Esteves, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy. The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge. *Bioresour. Technol.*, 102 (2011), pp. 4076–4082

Dhar, B.R., G. Nakhla, M.B. Ray. Techno-economic evaluation of ultrasound and thermal pretreatments for enhanced anaerobic digestion of municipal waste activated sludge. *Waste Manage.*, 32 (2012), pp. 542–549

Dinsdale, R.M., G.C. Premier, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes. Two-stage co-digestion of waste activated sludge and fruit/vegetable waste using inclined tubular digesters. *Bioresour. Technol.*, 72 (2000), pp. 159–168

Dionisi, D., G. Carucci, M.P. Papini, C. Riccardi, M. Majone. Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. *Water Res.*, 39 (2005), pp. 2076–2084

Doğan, I., F.D. Sanin. Alkaline solubilization and microwave irradiation as a combined sludge disintegration and minimization method. *Water Res.*, 43 (2009), pp. 2139–2148

Du, Z., H. Li, T. Gu. A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol. Adv.*, 25 (2007), pp. 464–482

Eastman, J.A., J.F. Ferguson. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 53 (3) (1981), pp. 266–352

Ebner, H., Sellmer, S., Follmann, H., 1996. Acetic acid. In: Roehm, H.J., Reed, G. (Eds.), *Biotechnology, Products of Primary Metabolism*. Verlagsgesellschaft mbh, Germany, vol. 6, pp. 381–401

Elbeshbishy, E., H. Hafez, B.R. Dhar, G. Nakhla. Single and combined effect of various pretreatment methods for biohydrogen production from food waste. *Int. J. Hydrogen Energy*, 36 (2011), pp. 11379–11387

Elefsiniotis, P., D.G. Wareham, M.O. Smith. Use of volatile fatty acids from an acid-phase digester for denitrification. *J Biotechnol*, 114 (2004), pp. 289–297

Eskicioglu, C., A. Prorot, J. Marin, R.L. Droste, K.J. Kennedy. Synergetic pretreatment of sewage sludge by microwave irradiation in presence of H₂O₂ for enhanced anaerobic digestion. *Water Res.*, 42 (2008), pp. 4674–4682

Evans, P.J., H.Y. Wang. Effect of extractive fermentation on butyric acid production by *C. acetobutylicum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 32 (1990), pp. 393–397

Fang, H.H., Liu, H., 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Technology* 82, 87e93.

Fang, H.H.P., H.Q. Yu. Effect of HRT on mesophilic acidogenesis of dairy wastewater. *J. Environ. Eng.*, 126 (2000), pp. 1145–1148

Fdez-Güelfo, L.A., C. Álvarez-Gallego, D. Sales, L.I. Romero. The use of thermochemical and biological pretreatments to enhance organic matter hydrolysis and solubilization from organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *Chem. Eng. J.*, 168 (2011), pp. 249–254

Feng, L., H. Wang, Y. Chen, Q. Wang. Effect of solids retention time and temperature on waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under alkaline conditions in continuous-flow reactors. *Bioresour. Technol.*, 100 (2009), pp. 44–49

Feng, X., F. Chen, H. Xu, B. Wu, H. Li, S. Li, P. Ouyang. Green and economical production of propionic acid by *Propionibacterium freudenreichii* CCTCC M207015 in plant fibrous-bed bioreactor. *Bioresour. Technol.*, 102 (2011), pp. 6141–6146

Fernández, F.J., J. Villaseñor, D. Infantes. Kinetic and stoichiometric modelling of acidogenic fermentation of glucose and fructose. *Biomass and Bioenergy*. Volume 35, Issue 9, October 2011, Pages 3877–3883

Freguia, S., E.H. Teh, N. Boon, K.M. Leung, J. Keller, K. Rabaey. Microbial fuel cells operating on mixed fatty acids. *Bioresour. Technol.*, 101 (2010), pp. 1233–1238

Gang Wang, Yang Mu, Han-Qing Yu. Response surface analysis to evaluate the influence of pH, temperature and substrate concentration on the acidogenesis of sucrose-rich wastewater. *Biochemical Engineering Journal*. Volume 23, Issue 2, April 2005, Pages 175–184

Gannouna, H., H. Bouallaguia, A. Okbia, S. Sayadib, M. Hamdia. 2009. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of biologically pretreated abattoir wastewaters in an upflow anaerobic filter

Ghose, T.K., Bhadra, A., 1985. Acetic acid. In: MOO-Young, M. (Ed.), *Comprehensive Biotechnology*, vol. 3. Pergamon Press, Oxford, pp. 70–729

Ghosh, P., A.N. Samanta, S. Ray. COD reduction of petrochemical industry wastewater using Fenton's oxidation. *Can. J. Chem. Eng.*, 88 (2010), pp. 1021–1026

Gottschalk, G. 1979. Bacterial metabolism. Springer Series in Microbiology. Editor Mortimer P. Starr. Springer Verlag, Berlin.

Grady, C.P.L., G.T. Daigger, N.G. Love, C.D.M. Filipe. Biological Wastewater Treatment. (third ed.) CRC Press, Boca Raton (2011)

Han Qing Yua, Herbert H.P. Fangb. Acidogenesis of gelatin-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature

Hassan, M.A., Y. Shirai, N. Kusubayashi, M.I.A. Karim, K. Nakanishi, K. Hashimoto. The production of polyhydroxyalkanoate from anaerobically treated palm oil mill effluent by *Rhodobacter sphaeroides*. J. Ferment. Bioeng., 83 (1997), pp. 485–488

Holmes, P.A. Applications of PHB – a microbially produced biodegradable thermoplastic. Phys. Technol., 16 (1985), pp. 32–36

Hong, C., W. Haiyun. Optimization of volatile fatty acid production with co-substrate of food wastes and dewatered excess sludge using response surface methodology. Bioresour. Technol., 101 (2010), pp. 5487–5493

Hong, S.K., Y. Shirai, A.R.N. Aini, M.A. Hassan. Semi-continuous and continuous anaerobic treatment of palm oil mill effluent for the production of organic acids and polyhydroxyalkanoates. Res. J. Environ. Sci., 3 (2009), pp. 552–559

Horiuchi, J.I., Shimizu, T., Tada, K., Kanno, T., Kobayashi, M., 2002. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. Bioresource Technology 82, 209e213.

Hu, Z., H. Yu, J. Zheng. Application of response surface methodology for optimization of acidogenesis of cattail by rumen cultures. Bioresour. Technol., 97 (2006), pp. 2103–2109

J. Korean Inst. Res. Rec., 16 (2007), pp. 59–67 (in Korean), J. Coral, S.G. Karp, L.P.S. Vandenberghe, J.L. Parada, A. Pandey, C.R. Soccol. Batch fermentation model of propionic acid production by *Propionibacterium acidipropionici* in different carbon sources. Appl. Biochem. Biotech., 151 (2008), pp. 333–341

Ji, Z., G. Chen, Y. Chen. Effects of waste activated sludge and surfactant addition on primary sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation. Bioresour. Technol., 101 (2010), pp. 3457–3462

Jian, T., X. Zhang. Bioprocessing of slaughterhouse wastewater and its computerized control and supervising system. Resour. Conserv. Recycl., 27 (1999), pp. 145–149

Jiang, S., Y. Chen, Q. Zhou, G. Gu. Biological short-chain fatty acids (SCFAs) production from waste-activated sludge affected by surfactant. Water Res., 41 (2007), pp. 3112–3120

Jiang, S., Y. Chen, Q. Zhou. Effect of sodium dodecyl sulfate on waste activated sludge hydrolysis and acidification. Chem. Eng. J., 132 (2007), pp. 311–317

Jiang, S., Y. Chen, Q. Zhou. Influence of alkyl sulfates on waste activated sludge fermentation at ambient temperature. *J. Hazard. Mater.*, 148 (2007), pp. 110–115

Jiang, Y., L. Marang, J. Tamis, M.C.M. van Loosdrecht, H. Dijkman, R. Kleerebezem. Waste to resource: converting paper mill wastewater to bioplastic. *Water Res.*, 46 (2012), pp. 5517–5530

Jiang, Y., M. Hebly, R. Kleerebezem, G. Muyzer, M.C.M. van Loosdrecht. Metabolic modeling of mixed substrate uptake for polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Water Res.*, 45 (2011), pp. 1309–1321

Jiang, Y., M. Hebly, R. Kleerebezem, G. Muyzer, M.C.M. van Loosdrecht. Metabolic modeling of mixed substrate uptake for polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Water Res.*, 45 (2011), pp. 1309–1321

Jiang, Y., Y. Chen, X. Zheng. Efficient polyhydroxyalkanoates production from a waste-activated sludge alkaline fermentation liquid by activated sludge submitted to the aerobic feeding and discharge process. *Environ. Sci. Technol.*, 43 (2009), pp. 7734–7741

Karnayakage Rasika J. Perera, Nagamany Nirmalakhandan. Enhancing fermentative hydrogen production from sucrose. *Bioresource Technology*. Volume 101, Issue 23, December 2010, Pages 9137–9143

Kataoka N, Miya A, Kiriya K (1997) Studies on hydrogen production by continuous culture system of hydrogen producing anaerobic bacteria. *Water Sci Technol* 36:41–47

Kathirvale, S., M.N.M. Yunus, K. Sopian, A.H. Samsuddin. Energy potential from municipal solid waste in Malaysia. *Renew. Energy*, 29 (2003), pp. 559–567

Kim, D., E. Jeong, S. Oh, H. Shin. Combined (alkaline + ultrasonic) pretreatment effect on sewage sludge disintegration. *Water Res.*, 44 (2010), pp. 3093–3100

Kim, H.J., S.H. Kim, Y.G. Choi, G.D. Kim, T.H. Chung. Effect of enzymatic pretreatment on acid fermentation of food waste. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 81 (2006), pp. 974–980

Kim, H.J., Y.G. Choi, D.Y. Kim, D.H. Kim, T.H. Chung. Effect of pretreatment on acid fermentation of organic solid waste. *Water Sci. Technol.*, 52 (2005), pp. 153–160

Kim, H.S., J.W. Ahn, J.Y. Kim, J.Y. Kim, C.H. Shin, Method for treating of etching acid waste containing phosphoric acid, acetic acid and nitric acid, Korean Patent 20,050,003,996 (2005).

Kim, J., C. Park, T. Kim, M. Lee, S. Kim, S. Kim, J. Lee. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *J. Biosci. Bioeng.*, 95 (2003), pp. 271–275

Kim, J.Y., H.S. Lee, C.H. Shin, J.Y. Kim, H.S. Kim, J.W. Ahn. A study on the separation of acetic acid, nitric acid, and hydrofluoric acid from waste etching solution of Si wafer manufacturing process.

Kirk, R.E., D.F. Othmer, M. Grayson, D. Eckroth. Concise encyclopedia of chemical technology XIII. Wiley-Interscience, New York (1985)

Kirk-Othmer, 1991. Acetic acid and derivatives, In: Mary H.-G. (Ed.), Encyclopedia of Chemical Technology, A to Alkaloids, vol. 1, fourth ed. Wiley, New York, pp. 121–139

Kleerebezem, R., M.C.M. van Loosdrecht. Mixed culture biotechnology for bioenergy production. *Curr Opin Biotechnol*, 18 (2007), pp. 207–212

Lay, J.J., Y.J. Lee, T. Noike. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste *Water Res.*, 33 (1999), pp. 2579–2586

Lee, H.S., J.Y. Kim, J.Y. Kim, J.W. Ahn, S.S. So, D.H. Chung. A basic research on the separation of mixed acid containing acetic acid and nitric acid discharged from semiconductor manufacturing process. Digests of the 2006 fall meeting and 28th International Conference, KIRR, South Korea, November (2006), pp. 137–141

Lemos, P.C., C. Viana, N. Salgueiro, A.M. Ramos, J.P.S.G. Crespo, M.A.M. Reis. Effect of carbon source on the formation of polyhydroxyalkanoates (PHA) by a phosphate-accumulating mixed culture. *Enzyme Microb. Technol.*, 22 (1998), pp. 662–671

Lemos, P.C., C. Viana, N. Salgueiro, A.M. Ramos, J.P.S.G. Crespo, M.A.M. Reis. Effect of carbon source on the formation of polyhydroxyalkanoates (PHA) by a phosphate-accumulating mixed culture. *Enzyme Microb. Technol.*, 22 (1998), pp. 662–671

Lemos, P.C., L.S. Serafim, M.A.M. Reis. Synthesis of polyhydroxyalkanoates from different short-chain fatty acids by mixed culture submitted to aerobic dynamic feeding. *J. Biotechnol.*, 122 (2006), pp. 226–238

Levin, D.B., L. Pitt, M. Love. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29 (2004), pp. 173–185

Liang Z., L. Li, S. Li, Y. Cai, S.T. Yang, J. Wang. Enhanced propionic acid production from Jerusalem artichoke hydrolysate by immobilized *Propionibacterium acidipropionici* in a fibrous-bed bioreactor. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 35 (2012), pp. 915–921

Lim, S., B.J. Kim, C. Jeong, J. Choi, Y.H. Ahn, H.N. Chang. Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresour. Technol.*, 99 (2008), pp. 7866–7874

Lindley, N.D., P. Loubière, S. Pacaud, C. Mariotto, G. Goma. Novel products of the acidogenic fermentation of methanol during growth of *Eubacterium limosum* in the presence of high concentrations of organic acids. *J. Gen. Microbiol.*, 133 (1987), pp. 3557–3563

Liu, H., H.H.P. Fang. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. *J. Biotechnol.*, 95 (2002), pp. 249–256

- Liu, H., J. Wang, A. Wang, J. Chen. Chemical inhibitors of methanogenesis and putative applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 89 (2011), pp. 1333–1340
- Liu, H., J. Wang, X. Liu, B. Fu, J. Chen, H. Yu. Acidogenic fermentation of proteinaceous sewage sludge: effect of pH. *Water Res.*, 46 (2012), pp. 799–807
- Lu, J., B.K. Ahring, Effects of temperature and hydraulic retention time on thermophilic anaerobic pretreatment of sewage sludge, in: 4th International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste, Copenhagen, 2005, pp. 159–164.
- Lu, W., G. Lu, Y. Guo, Y. Guo, Y. Wang. Gas-phase hydrogenation of maleic anhydride to butyric acid over Cu/TiO₂/γ-Al₂O₃ catalyst promoted by Pd. *Catal. Commun.*, 4 (2003), pp. 177–181
- Luo, K., Q. Yang, J. Yu, X. Li, G. Yang, B. Xie, F. Yang, W. Zheng, G. Zeng. Combined effect of sodium dodecyl sulfate and enzyme on waste activated sludge hydrolysis and acidification. *Bioresour. Technol.*, 102 (2011), pp. 7103–7110
- Maharaj, I., 1999. Acid-phase anaerobic digestion of primary sludge: the role of hydraulic retention time (HRT), temperature and a starch-rich industrial wastewater, M.Sc. thesis. The University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Maharaj, I., P. Elefsiniotis. The role of HRT and low temperature on the acid-phase anaerobic digestion of municipal and industrial wastewaters. *Bioresour. Technol.*, 76 (2001), pp. 191–197
- Marin, J., K.J. Kennedy, C. Eskicioglu. Effect of microwave irradiation on anaerobic degradability of model kitchen waste. *Waste Manage.*, 30 (2010), pp. 1772–1779
- Mateu, A., J. Mata-Alvarez, R. Parés. Enterobacterial and viral decay experimental models for anaerobic digestion of piggery waste. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38 (1992), pp. 291–296
- McGhee, T.J. *Water Supply and Sewerage*. (sixth ed.) McGraw-Hill, Hightstown, NJ (1991)
- Michel-Savin, D., R. Marchal, J.P. Vandecasteele
- Miron, Y., G. Zeeman, J.B.V. Lier, G. Lettinga. The role of sludge retention time in the hydrolysis and acidification of lipids, carbohydrates and proteins during digestion of primary sludge in CSTR systems. *Water Res.*, 34 (2000), pp. 1705–1713
- Mizuno, O., R. Dinsdale, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes, T. Noike Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. *Bioresour Technol*, 73 (1) (2000), pp. 59–65
- Mohan, S.V., M.V. Reddy. Optimization of critical factors to enhance polyhydroxyalkanoates (PHA) synthesis by mixed culture using Taguchi design of experimental methodology. *Bioresour. Technol.*, 128 (2013), pp. 409–416
- Mohanakrishna, G., S.V. Mohan, P.N. Sarma. Utilizing acid-rich effluents of fermentative hydrogen production process as substrate for harnessing bioelectricity: an integrative approach. *Int. J. Hydrogen Energy*, 35 (2010), pp. 3440–3449

Mohanakrishna, G., S.V. Mohan, P.N. Sarma. Utilizing acid-rich effluents of fermentative hydrogen production process as substrate for harnessing bioelectricity: an integrative approach. *Int. J. Hydrogen Energy*, 35 (2010), pp. 3440–3449

MOLETTA, René *et al.*, La méthanisation, Tec&Doc, Lavoisier, avril 2008, 16x25, relié, 532 p. (ISBN 978-2-7430-1036-2)

Mumtaz, T., S. Abd-Aziz, N.A.A. Rahman, P.L. Yee, Y. Shirai, M.A. Hassan. Pilot-scale recovery of low molecular weight organic acids from anaerobically treated palm oil mill effluent (POME) with energy integrated system. *Afr. J. Biotechnol.*, 7 (2008), pp. 3900–3905

Nam, J., H. Kim, K. Lim, H. Shin. Effects of organic loading rates on the continuous electricity generation from fermented wastewater using a single-chamber microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.*, 101 (2010), pp. S33–S37

Park, C., C. Lee, S. Kim, Y. Chen, H.A. Chase. Upgrading of anaerobic digestion by incorporating two different hydrolysis processes. *J. Biosci. Bioeng.*, 100 (2005), pp. 164–167

Philip, S., T. Keshavarz, I. Roy. Polyhydroxyalkanoates: biodegradable polymers with a range of applications. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 82 (2007), pp. 233–247

Playne, M.J.. Propionic and butyric acids. M. Moo-Young (Ed.), *Comprehensive Biotechnology*, Pergamon Press, Oxford, UK (1985), pp. 731–759

Poh, P.E., M.F. Chong. Development of anaerobic digestion methods for palm oil mill effluent (POME) treatment. *Bioresour. Technol.*, 100 (2009), pp. 1–9

Reddy, M.V., S.V. Mohan. Influence of aerobic and anoxic microenvironments on polyhydroxyalkanoates (PHA) production from food waste and acidogenic effluents using aerobic consortia. *Bioresour. Technol.*, 103 (2012), pp. 313–321

Reis, M.A.M., L.S. Serafim, P.C. Lemos, A.M. Ramos, F.R. Aguiar, M.C.M. van Loosdrecht. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed microbial cultures. *Bioprocess Biosyst Eng*, 25 (2003), pp. 377–385

Rojas Oropeza, M., N. Cabirol, S. Ortega, L.P. Castro Ortiz, A. Noyola. Removal of (fecal indicator organisms and helminth eggs) from municipal biologic sludge by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion. *Water Sci. Technol.*, 44 (2001), pp. 97–101

Salehizadeh, H., M.C.M. van Loosdrecht. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnol. Adv.*, 22 (2004), pp. 261–279

Salsabil, M.R., J. Laurent, M. Casellas, C. Dagot. Techno-economic evaluation of thermal treatment, ozonation and sonication for the reduction of wastewater biomass volume before aerobic or anaerobic digestion. *J. Hazard. Mater.*, 174 (2010), pp. 323–333

Sans *et al.*, 1995C. Sans, J. Mata-Alvarez, F. Cecchi, P. Pavan, A. Bassetti. Volatile fatty acids production by mesophilic fermentation of mechanically sorted urban organic wastes in a plug-flow reactor. *Biores. Technol.*, 51 (1995), pp. 89–96

Sans, C., J. Mata-Alvarez, F. Cecchi, P. Pavan, A. Bassetti. Acidogenic fermentation of organic urban wastes in a plug-flow reactor under thermophilic conditions. *Bioresour. Technol.*, 54 (1995), pp. 105–110

Sans, C., J. Mata-Alvarez, F. Cecchi, P. Pavan, A. Bassetti. Volatile fatty acids production by mesophilic fermentation of mechanically-sorted urban organic wastes in a plug-flow reactor. *Bioresour. Technol.*, 51 (1995), pp. 89–96

Shahriari, H., M. Warith, M. Hamoda, K.J. Kennedy. Anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste combining two pretreatment modalities, high temperature microwave and hydrogen peroxide. *Waste Manage.*, 32 (2012), pp. 41–52

Shen, G.J., B.A. Annous, R.W. Lovitt, M.K. Jain, J.G. Zeikus. Biochemical route and control of butyrate synthesis in *Butyribacterium methylotrophicum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 45 (1996), pp. 355–362

Shih, J.C.H. (1987). Ecological benefits of anaerobic digestion. pp. 946–950

Skalsky, D.S., Daigger, G.T., 1995. Wastewater solids fermentation for volatile acid production and enhanced biological phosphorus removal. *Water Environment Research* 67,230e237.

Sneath, P.H.A. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2, Waverly Press, Baltimore (1986), pp. 1141–1200

Soh, A.L.A., H. Ralambotiana, B. Ollivier, G. Prensier, E. Tine, J.-L. Garcia. *Clostridium thermopalmarium* sp. nov., a moderately thermophilic butyrate-producing bacterium isolated from palm wine in Senegal. *Syst. Appl. Microbiol.*, 14 (1991), pp. 135–139

Sugaya, K., D. Tuse, J.L. Jones. Production of acetic acid by *Clostridium thermoaceticum* in batch and continuous fermentations. *Biotechnol. Bioeng.*, 28 (1986), pp. 678–683

Suh, Y. J. et Roussaux, P. “An LCA of alternative wastewater sludge treatment scenarios”, *Resources, Conservation and Recycling*, 35, 191-200 (2002).

Suwannakham, S., S.T. Yang. Enhanced propionic acid fermentation by *Propionibacterium acidipropionici* mutant obtained by adaptation in a fibrous-bed bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 91 (2005), pp. 325–337

Taguchi, F, Mizukami N, Taki TS, Hasegawa K (1995) Hydrogen production from continuous fermentation of xylose during growth of *Clostridium* sp. strain No-2. *Can J Microbiol* 41:536–540

Tang, B., L. Yu, S. Huang, J. Luo, Y. Zhuo. Energy efficiency of pre-treating excess sewage sludge with microwave irradiation. *Bioresour. Technol.*, 101 (2010), pp. 5092–5097

- Teng, S., Z. Tong, W. Li, S. Wang, G. Sheng, X. Shi, X. Liu, H. Yu. Electricity generation from mixed volatile fatty acids using microbial fuel cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 87 (2010), pp. 2365–2372
- Tiehm, A., K. Nickel, M. Zellhorn, U. Neis. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. *Water Res.*, 35 (2001), pp. 2003–2009
- Torres, M.L., M.d.C.E. Lloréns. Effect of alkaline pretreatment on anaerobic digestion of solid wastes. *Waste Manage.*, 28 (2008), pp. 2229–2234
- Van Gylswyk, N.O., H. Hippe, F.A. Rainey. *Pseudobutyrvibrio ruminis* gen. nov., sp. nov., a butyrate-producing bacterium from the rumen that closely resembles *Butyrvibrio fibrisolvens* in phenotype. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46 (1996), pp. 559–563
- Verrier *et al.*, 1987D. Verrier, F. Roy, G. Rosy. Two-phase methanization of solid vegetable wastes. *Biol. Wastes*, 22 (1987), pp. 167–177
- Wang, Y., Y. Zhang, J. Wang, L. Meng. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass Bioenergy*, 33 (2009), pp. 848–853
- Wu, H., D. Yang, Q. Zhou, Z. Song. The effect of pH on anaerobic fermentation of primary sludge at room temperature. *J. Hazard. Mater.*, 172 (2009), pp. 196–201
- Wu, Haiyan, Dianhai Yang*, Qi Zhou, Zhoubing Song. The effect of pH on anaerobic fermentation of primary sludge at room temperature. *Journal of Hazardous Materials* 172 (2009) 196–201
- Xiong, H., J. Chen, H. Wang, H. Shi. Influences of volatile solid concentration, temperature and solid retention time for the hydrolysis of waste activated sludge to recover volatile fatty acids. *Bioresour. Technol.*, 119 (2012), pp. 285–292
- Xu, G., S. Chen, J. Shi, S. Wang, G. Zhu. Combination treatment of ultrasonic and ozone for improving solubilization and anaerobic biodegradability of waste activated sludge. *J. Hazard. Mater.*, 180 (2010), pp. 340–346
- Xu, J., K. Sun, L. Zhang, Y. Ren, X. Xu. A novel synthesis route of butyric acid from hydrogenation of maleic anhydride over Pd/TiO₂ catalysts. *Catal. Lett.*, 107 (2006), pp. 5–11
- Yang, Q., K. Luo, X. Li, D. Wang, W. Zheng, G. Zeng, J. Liu. Enhanced efficiency of biological excess sludge hydrolysis under anaerobic digestion by additional enzymes. *Bioresour. Technol.*, 101 (2010), pp. 2924–2930
- Yu, H., H.H.P. Fang, G. Gu. Comparative performance of mesophilic and thermophilic acidogenic upflow reactors. *Process Biochem.*, 38 (2002), pp. 447–454
- Yu, H.Q., H.H.P. Fang. Acidogenic of gelatine-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. *Water Res.*, 37 (1) (2003), pp. 55–66

Yu, H.Q., H.H.P. Fang. Thermophilic acidification of dairy wastewater. *Appl. Microbiol. Biot.*, 54 (2000), pp. 439–444

Yuan, H.Y., Chen, Y.G., Zhang, H.X., Jiang, S., Zhou, Q., Gu, G.W., 2006. Improved bioproduction of short-chain fatty acids (SCFAs) from excess sludge under alkaline conditions. *Environmental Science & Technology* 40, 2025e2029.

Zhang, A., S. Yang. Propionic acid production from glycerol by metabolically engineered *Propionibacterium acidipropionici*. *Process Biochem.*, 44 (2009), pp. 1346–1351

Zhang, A., S.T. Yang. Engineering *Propionibacterium acidipropionici* for enhanced propionic acid tolerance and fermentation. *Biotechnol. Bioeng.*, 104 (2009), pp. 766–773

Zhang, B., L.-L. Zhang, S.-C. Zhang, H.-Z. Shi, W.-M. Cai. The influence of pH on hydrolysis and acidogenesis of kitchen wastes in two-phase anaerobic digestion. *Environ. Technol.*, 26 (2005), pp. 329–340

Zhang, P., Y. Chen, Q. Zhou. Waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under mesophilic and thermophilic conditions: effect of pH. *Water Res.*, 43 (2009), pp. 3735–3742

Zhang, P., Y. Chen, T. Huang, Q. Zhou. Waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation in the presence of SDBD in semi-continuous flow reactors: effect of solids retention time and temperature. *Chem. Eng. J.*, 148 (2009), pp. 348–353

Zheng, X.J., Yu, H.Q., 2004. Roles of pH in biologic production of hydrogen and volatile fatty acids from glucose by enriched anaerobic cultures. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 112, 79

Zhou, Y., M. Takaoka, W. Wang, X. Liu, K. Oshita. Effect of thermal hydrolysis pre-treatment on anaerobic digestion of municipal biowaste: a pilot scale study in China. *J. Biosci. Bioeng.*, 116 (2013), pp. 101–105

Zhu, L., P. Wei, J. Cai, X. Zhu, Z. Wang, L. Huang, Z. Xu. Improving the productivity of propionic acid with FBB-immobilized cells of an adapted acid-tolerant *Propionibacterium acidipropionici*. *Bioresour. Technol.*, 112 (2012), pp. 248–253

Zhuo, G., Y. Yan, X. Tan, X. Dai, Q. Zhou. Ultrasonic-pretreated waste activated sludge hydrolysis and volatile fatty acid accumulation under alkaline conditions: effect of temperature. *J. Biotechnol.*, 159 (2012), pp. 27–31

Zigová, J., E. Šturdík. Advances in biotechnological production of butyric acid. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 24 (2000), pp. 153–160

Zoetemeyer, R.J., J.C. van den Heuvel, A. Cohen. pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester. *Water Res.*, 16 (1982), pp. 303–311

Zoetemeyer, R.J., P. Arnoldy, A. Cohen, C. Boelhouwer. Influence of temperature on the anaerobic acidification of glucose in a mixed culture forming part of a two-stage digestion process. *Water Res.*, 16 (1982), pp. 313–321

Zong, W., R. Yu, P. Zhang, M. Fan, Z. Zhou. Efficient hydrogen gas production from cassava and food waste by a two-step process of dark fermentation and photo-fermentation. *Biomass Bioenergy*, 33 (2009), pp. 1458–1463

ANNEXES

Annexe 1 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du saccharose (expérience 1)

Temps (h)	0	6	18	24	36	48	Pourcentage (%)
A. acétique	0	312	772,5	1173,1	1596,8	1525,4	30,79
A. propionique	0	369,5	454	562,3	834,1	831,5	16,08
A. iso-butyrique	0	89	106	86,5	102,1	104,7	1,97
A. butyrique	0	879	1595	1821,2	2340,7	2346,3	45,13
A. iso-valérique	0	147	189	135,5	163,1	153,7	3,15
A. valérique	0	124,5	166,5	128,8	149,2	140,1	2,88
Total	0	1921	3283	3907,4	5186	5101,7	100,00

Annexe 2 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du glucose (expérience 2)

Temps (h)	0	3	6	18	24	30	36	48	%
A. acétique	0	30,3	283	683	858	1387	1622,53	2120	82,73
A. propionique	0	56,5	134,4	73,8	98,7	130,5	113,01	154,2	6,02
A. iso-butyrique	0	34,9	51,1	30,9	37,8	47,4	43,37	53	2,07
A. butyrique	0	21,5	109,4	59,4	78,4	101,2	96,34	118,3	4,62
A. iso-valérique	0	45,6	74	42,4	53,6	69,4	61,13	78,2	3,05
A. valérique	0	10	36,8	25,7	30,1	35,7	33,52	39	1,52
Total	0	198,8	688,7	915,2	1156,6	1771,2	1969,90	2562,7	100,00

Annexe 3 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation des EUA (expérience 3)

Temps (h)	0	6	15	21	27	36	48	%
A. acétique	0	0	0	0	0	48,6	39,38	14,17
A. propionique	0	0	0	0	0	95,7	45,39	27,91
A. iso-butyrique	0	0	28,8	23,1	41,2	37,1	12,28	10,82
A. butyrique	0	0	0	19	0	78,1	59,38	22,78
A. iso-valérique	0	0	33,6	24,9	60	53,4	27,38	15,57
A. valérique	0	0	0	0	0	30	13,29	8,75
Total	0	0	62,4	67	101,2	342,9	197,12	100,00

Annexe 4 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 1

Temps (h)	MVES (g/L)	% de réduction
0	13,65	
6	13,48	1,25
18	13,32	2,42
24	13,11	3,96
36	13,01	4,69
42	12,86	5,79
48	12,62	7,55

Annexe 5 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 2

Temps (h)	MVES (g/L)	% de réduction
0	13,61	
6	13,43	1,32
18	13,16	3,34
24	13,19	3,12
27	13,02	4,34
36	12,76	6,24
42	12,71	6,64
48	12,93	5,01

Annexe 6 : Production des AGVs, pendant 48h, au cours de l'expérience 4

Temps (h)	0	3	6	12	18	24	30	36	48	%
A. acétique	169,7	289,7	352,2	492,2	539,7	586,3	578,2	637,4	629,3	24,98
A. propionique	117,2	192,9	210	280	350	402,4	402,1	428,4	408,5	16,22
A. iso-butyrique	25,3	42,2	42,1	42,1	73	90,7	89,3	99,8	100,1	3,97
A. butyrique	334	508,3	793,1	993,1	1026,2	1061,3	1100	1079,5	1070,5	42,49
A. iso-valérique	41,4	66,8	65,1	65,1	109,3	142,7	142,4	157,6	167,4	6,64
A. valérique	29,4	48,5	48,2	48,2	103,4	104	103	113,9	143,4	5,69
Total	717,1	1138,5	1510,7	1920,7	2201,5	2387,3	2415,1	2516,6	2519,2	100,00

Annexe 7 : Production des AGVs, pendant 48h, au cours de l'expérience 5

Temps (h)	0	3	6	12	18	24	30	36	48	%
A. acétique	10	520,27	631,1	686,9	712,9	749,10	784	857	1124,8	71,23
A. propionique	28,3	125,49	164,2	168,5	171,8	190,00	190	163,5	164,3	10,41
A. iso-butyrique	63,2	40,65	45,7	56,3	47,8	48,00	47	88,5	65,3	4,14
A. butyrique	10	98,22	120,1	115,9	119	139,21	119	240,5	128,4	8,13
A. iso-valérique	100,7	65,34	71	74,8	75	88,33	140,5	140,5	73,3	4,64
A. valérique	10	26,54	30,7	28,3	31	35,09	58	58	23,1	1,46
Total	222,2	876,51	1062,8	1130,7	1157,5	1249,73	1338,5	1548	1579,2	100,01

Annexe 8 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 4

Temps (h)	0	3	6	12	18	24	30	36	48	%
A. acétique	10	520,27	631,1	686,9	712,9	749,10	784	857	1124,8	71,23
A. propionique	28,3	125,49	164,2	168,5	171,8	190,00	190	163,5	164,3	10,41
A. iso-butyrique	63,2	40,65	45,7	56,3	47,8	48,00	47	88,5	65,3	4,14
A. butyrique	10	98,22	120,1	115,9	119	139,21	119	240,5	128,4	8,13
A. iso-valérique	100,7	65,34	71	74,8	75	88,33	140,5	140,5	73,3	4,64
A. valérique	10	26,54	30,7	28,3	31	35,09	58	58	23,1	1,46
Total	222,2	876,51	1062,8	1130,7	1157,5	1249,73	1338,5	1548	1579,2	100,01

Annexe 9 : Réduction de la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 5

Temps (h)	MES (g/L)	% de réduction
0	14,18	
3	13,56	95,63
6	12,64	89,14
12	12,4	87,45
18	11,64	82,09
24	10,81	76,23
30	10,68	75,32
36	10,1052	71,26
48	10,0598	70,94

Annexe 10 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation des boues prétraitées (expérience 6)

Temps (h)	0	6	12	18	24	30	36	42	48
A. acétique	54,89	465,90	772,98	1174,50	2454,60	2728,80	3276,80	5558,70	5302,20
A. propionique	39,99	367,54	698,18	935,00	1027,30	1485,00	2461,80	3461,81	3485,02
A. iso-butyrique	9,99	17,77	29,19	38,00	121,90	95,00	109,00	108,96	95,05
A. butyrique	32,89	969,77	2382,22	3527,50	3480,10	3530,20	3495,70	3495,72	3530,19
A. iso-valérique	12,10	67,88	82,20	169,50	216,50	102,60	123,00	122,95	102,59
A. valérique	0,00	143,99	27,20	65,88	85,30	75,10	72,70	72,65	75,09
Total	149,85	2032,84	3991,97	5910,38	7385,70	8016,80	9538,90	12820,80	12590,10

Annexe 11 : Réduction de la MES et la MVES, pendant 48h, au cours de l'expérience 6

Temps (h)	MES (g/L)	% de réduction	MVES (g/L)	% de réduction
0	15,24		12,49	
6	15,32	-0,55	12,91	-2,74
12	14,27	6,33	11,08	9,27
18	11,11	27,07	9,81	17,61
24	9,94	34,74	7,85	30,43
30	9,47	37,88	7,42	33,31
36	7,22	52,60	6,94	36,40
42	6,55	57,01	4,98	49,32
48	6,48	57,51	4,98	49,32

Annexe 12 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 15 g/L en MES

Temps (h)	0	6	12	18	24	36	48
A. acétique	0	31	276,5	403,87	498,1	617,2	578,09
A. propionique	0	0	133,2	212,5	60,4	827,2	812,1
A. iso-butyrique	0	11	0	16	50	65,3	78,99
A. butyrique	0	0	0	157,79	13	22	1,09
A. iso-valérique	0	0	0	42,56	58,9	61,9	58
A. valérique	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	42	409,7	832,72	680,4	1593,6	1528,27

Annexe 13 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 20g/L en MES

Temps (h)	0	6	18	24	36	48
A. acétique	0	234,2	694,9	1789,79	3385,5	2743,08
A. propionique	0	0	135,247467	321,53	414,5	402,18
A. iso-butyrique	0	0	29	75,09	90,8128781	90,79
A. butyrique	0	0	23	498,58	675,964792	578,99
A. iso-valérique	0	0	38	57,98	85,0989406	89,1
A. valérique	0	0	0	32,91	52,3470389	40,07
Total	0	234,2	920,147467	2775,88	4704,22365	3944,21

Annexe 14 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 30 g/L en MES

Temps (h)	0	6	12	18	24	30	36	48
A. acétique	0	305,7	3074,69	4491,46	4862,9	4900,8	5370,70	5313
A. propionique	0	96,6	264,86	484,27	448,2	1092	1017,20	856,1
A. iso-butyrique	0	0	47,98	87,28	63,4	99,3	88,99	0
A. butyrique	0	84,4	308,87	694,41	583,6	1057,9	1033,30	735,6
A. iso-valérique	0	0	38,28	107,31	86	124,9	125,32	0
A. valérique	0	0	28,89	65,22	33,7	100,1	153,19	0
Total	0	486,7	3763,6	5930,00	6077,7	7374,9	7788,70	6904,8

Annexe 15 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la concentration de 35 g/L en MES

Temps (h)	0	6	12	18	24	30	36	48
A. acétique	0	164,56	271,2	1156,25	6728,8	8276,8	11558,7	11302,2
A. propionique	0	0	0	489,43	485	461,8	461,81	485,02
A. iso-butyrique	0	0	0	95,8	95	109	108,96	95,05
A. butyrique	0	0	0	290,95	530,2	495,7	495,72	530,18
A. iso-valérique	0	0	0	93,24	102,6	123	122,95	102,58
A. valérique	0	0	0	16	75,1	72,7	72,65	75,09
Total	0	164,56	271,2	2141,68	8016,7	9539	12820,79	12590,13

Annexe 16 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 4,0

Temps (h)	0	12	18	24	36	48	%
A. acétique	0	0	16,09	62,33	62,98	61,39	41,47
A. propionique	0	0	11,78	43,74	42,65	43,87	29,64
A. iso-butyrique	0	0		6,10	2,99	2,00	1,35
A. butyrique	0	0	9,76	24,17	22,13	24,08	16,27
A. iso-valérique	0	0	0	11,98	12,01	10,06	6,80
A. valérique	0	0	0	7,86	6,42	6,62	4,47
Total	0	0	37,63	156,18	149,18	148,02	100,00

Annexe 17 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 5,0

Temps (h)	0	12	18	24	36	48	%
A. acétique	0	0	100,1	311,11	505,5	656,2	45,60
A. propionique	0	0	96,1	3,72	130,3	388,8	27,02
A. iso-butyrique	0	0	0	15,61	2,5	37	2,57
A. butyrique	0	0	45,1	16,95	68,1	153,6	10,67
A. iso-valérique	0	0	0	20,91	0	128,6	8,94
A. valérique	0	0	0	41,99	13	74,7	5,19
Total	0	0	241,3	410,29	716,9	1438,9	100,00

Annexe 18 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 6,0

Temps (h)	0	12	18	24	36	48	%
A. acétique	0	508,6	705,8	658,9	879,66	1033,1	56,08
A. propionique	0	0	302	285,1	351,67	390,7	21,21
A. iso-butyrique	0	57,2	33,3	122,2	76,96	46,3	2,51
A. butyrique	0	0	113,3	143,7	164,86	263,7	14,31
A. iso-valérique	0	0	69,8	113	111,01	180,4	9,79
A. valérique	0	43,2	72,6	144,3	115,67	98	5,32
Total	0	609	1296,8	1467,2	1699,84	2012,2	109,23

Annexe 19 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation du pH 10,0

Temps (h)	0	12	18	24	36	48	%
A. acétique	0	1025,30	2157,20	2132,50	2252,90	2599,20	49,22
A. propionique	0	152,90	802,30	1029,00	1097,60	1390,90	26,34
A. iso-butyrique	0	94,60	112,30	58,10	23,50	9,43	0,18
A. butyrique	0	265,09	123,62	44,00	23,00	3,70	0,07
A. iso-valérique	0	167,62	554,10	828,10	923,50	1109,50	21,01
A. valérique	0	141,10	163,40	167,80	88,90	168,00	3,18
Total	0	1846,61	3912,92	4259,50	4409,40	5280,73	100,00

Annexe 20 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 15°C

Temps (h)	0	18	24	30	42	48	%
A. acétique	0	318,8	838,70	903,1	875,9	1056,8	43,82
A. propionique	0	252,7	471,20	529,6	469,9	591,2	24,51
A. iso-butyrique	0	0	33,65	19,6	43,6	31,2	1,29
A. butyrique	0	115	281,20	487,8	387,6	431,9	17,91
A. iso-valérique	0	0	74,28	79,8	98,1	71,3	2,96
A. valérique	0	0	185,49	133,5	130,2	229,5	9,52
Total	0	686,5	1884,51	2153,4	2005,3	2411,9	100,00

Annexe 21 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 25°C

Temps (h)	0	18	24	30	36	48	%
A. acétique	0	806,10	460,10	1500,60	1998,00	2749,87	41,66
A. propionique	0	624,00	687,30	1271,22	1566,00	1568,21	23,76
A. iso-butyrique	0	26,60	129,20	158,29	80,00	203,17	3,08
A. butyrique	0	1215,00	1202,70	1492,86	1378,00	1266,30	19,18
A. iso-valérique	0	72,70	561,40	66,76	131,55	195,39	2,96
A. valérique	0	219,50	134,30	442,74	529,00	618,08	9,36
Total	0	2963,90	3175,00	4932,47	5682,55	6601,01	100,00

Annexe 22 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 35°C

Temps (h)	0	18	24	30	36	48	%
A. acétique	0	1294,00	1568,00	1366,00	3200,00	2822,00	43,50
A. propionique	0	1730,00	1269,26	1950,00	1698,00	1511,00	23,08
A. iso-butyrique	0	61,00	209,95	203,00	124,00	198,00	1,69
A. butyrique	0	597,00	1176,00	1068,00	1464,00	1354,00	19,90
A. iso-valérique	0	91,00	171,63	195,00	236,00	226,00	3,21
A. valérique	0	87,00	796,16	518,00	634,56	793,00	8,63
Total	0	3860,00	5191,00	5300,00	7356,56	6904,00	100,00

Annexe 23 : Production des AGVs, pendant 48h, lors de l'utilisation de la température à 45°C

Temps (h)	0	18	24	30	36	48	%
A. acétique	0	757,00	2221,00	2178,00	3190,00	3142,00	40,30
A. propionique	0	1544,00	1572,00	1663,00	2083,00	2094,00	26,86
A. iso-butyrique	0	128,00	91,00	76,00	151,00	152,00	1,95
A. butyrique	0	467,00	591,00	602,00	1016,00	1527,00	19,59
A. iso-valérique	0	178,00	143,26	176,00	221,00	222,00	2,85
A. valérique	0	262,00	367,00	429,00	567,00	659,00	8,45
Total	0	3336,00	4985,26	5124,00	7228,00	7796,00	100,00