

## Les tests de potentiel méthanogène

### .1.1 LES ETAPES PREALABLES AU TEST EN LABORATOIRE

Une fois l'échantillonnage des déchets, substrat ou inoculum, réalisé, plusieurs étapes sont à franchir au laboratoire.

Afin de déterminer la quantité de substrat et d'inoculum qu'il faudra introduire dans chaque batch, il est nécessaire, dans un premier temps, de connaître la teneur en matière sèche (MS) ainsi que la teneur en matière sèche volatile (MSV) de l'échantillon prélevé sur le site.

#### .1.1.1 Détermination de la MS et de la MSV :

La première étape du test consiste à déterminer la teneur en matière sèche (MS) et en matière sèche volatile (MSV) des échantillons à tester, ainsi que celle des inoculum utilisés. En ce qui concerne l'inoculum, les mesures dépendront du type d'inoculum utilisé. En effet, pour un inoculum de type lixiviat de décharge, la connaissance de sa DCO (demande chimique en oxygène) nous permettra de calculer la quantité de lixiviat à introduire dans les batch sans avoir à passer par la détermination de sa MSV. Par contre, pour un inoculum de type boue de STEP (station d'épuration urbaine) le calcul de la MSV sera nécessaire. Afin d'augmenter la précision de nos résultats, il sera réalisé, pour chaque échantillon, trois répétitions.

#### Protocole :

1. Peser la coupelle en aluminium vide,
2. Peser la coupelle contenant l'échantillon,
3. Passer à l'étuve à 105°C jusqu'à ce que le poids reste constant (48 heures),
4. Peser la coupelle après l'étuve,
5. Passer cette même coupelle au four à 480°C, 6 heures,
6. Peser après le four.

#### Calcul de la matière sèche (MS) :

La matière sèche est déterminée par la norme NF U44-171. Elle est exprimée en pourcentage de poids frais. Soit :

$M_1$  : Masse de l'échantillon avant le passage à l'étuve,

$M_2$  : Masse de l'échantillon après étuvage.

$$MS = 100 \times \frac{M_2}{M_1}$$

### Calcul de la matière sèche volatile (MSV) :

La matière sèche volatile est déterminée par la norme NF U446160. Elle est exprimée en pourcentage de poids frais. Soit :

$M_3$  : Masse de l'échantillon après calcination.

$$MSV = 100 \times \frac{M_2 - M_3}{M_1}$$

Les valeurs de pesées sont entrées dans un tableur Excel permettant de faire le lien entre l'ensemble des paramètres nécessaires à la mise en place des TPM.

#### **.1.1.2 Le ratio Inoculum / Substrat :**

Les recherches bibliographiques ont montré que la production de biogaz était optimale pour le ratio : 1/3 de la MSV totale du batch apportée par l'inoculum, 2/3 de la MSV apportée par le substrat, avec une quantité totale de 12g de MSV par batch. Nous étudierons cependant les effets d'un changement de ratio avec différents inoculum testés.

Dans le cas où la MSV d'un échantillon est très faible (entre 0 et 15% de l'échantillon brut), il peut être nécessaire de diminuer les quantités de MSV par batch mais en gardant les proportions initiales de 2/3 de la MSV apportée par le substrat, 1/3 par l'inoculum.

#### **.1.1.3 Détermination des densités**

La densité est un paramètre qu'il est nécessaire de connaître puisqu'elle entre en jeu dans de nombreux calculs relatifs aux TPM. La détermination de la densité apparente du substrat et de l'inoculum se fait en pesant un volume donné d'échantillon. On utilise la relation :

**densité apparente** = masse échantillon brut / volume échantillon brut

Le calcul de la densité réelle nécessiterait l'utilisation d'un échantillon broyé très finement, de manière à ce que les particules ne laissent aucun vide.

Dans le cas où la densité du déchet ne peut être déterminée on prendra la valeur de 1 par défaut.

## **.1.2 PREPARATION DES BATCH**

#### **.1.2.1 Matériel**

Les erlenmeyers (réacteurs de type batch) sont reliés à une colonne en métacrylate contenant une solution acide (cf. Figure 1). Le biogaz produit fait descendre le niveau du liquide de garde. Il permet ainsi une mesure visuelle du volume de biogaz produit. Une

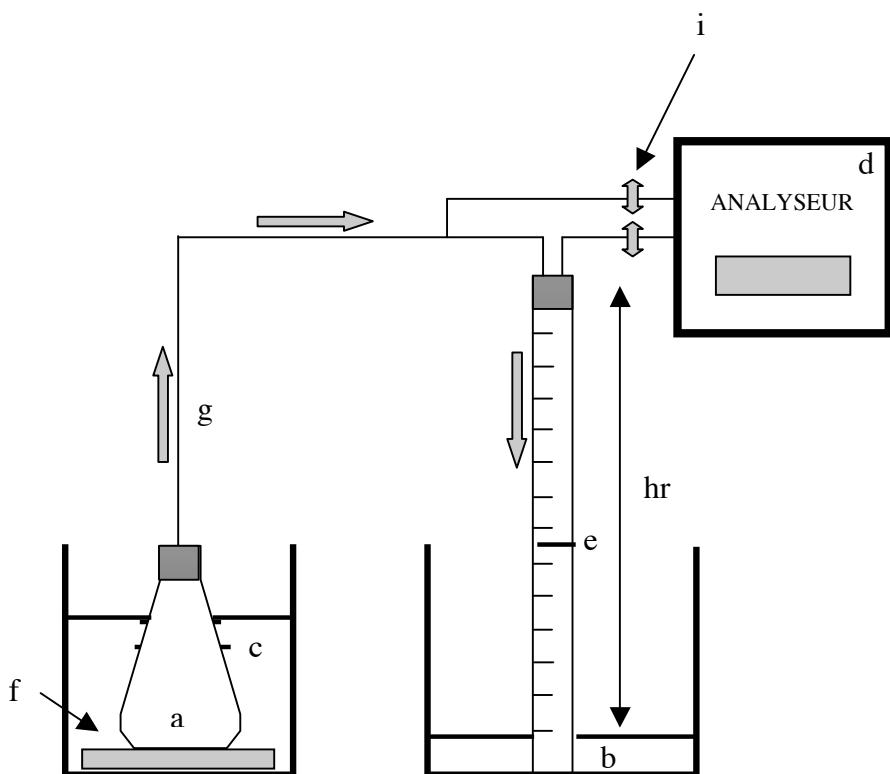
## CHAPITRE 1 : Le Test de Potentiel Méthanogène

analyse de la composition de ce biogaz peut être effectuée à l'aide d'un analyseur à infrarouge. Le liquide de garde de la colonne est une solution à pH = 2 saturée en sel (5% d'acide citrique, 20% de NaCl) permettant de réduire au maximum la dissolution du CO<sub>2</sub>.

Le nombre de batch :

- ⇒ 3 batch par milieu différent,
- ⇒ 3 batch en témoins contenant l'inoculum seul.

Le schéma du montage est présenté à la page suivante (Cf. Figure 1).



- a : réacteur de type batch,
- b : bac de réserve du liquide de garde,
- c : bain marie thermostaté,
- d : analyseur de gaz à infrarouge,
- e : hauteur de mesure, niveau du ménisque,
- hr : hauteur de référence
- f : agitateur,
- g : dégagement gazeux,
- i : pinces (robinets).

**Figure 1:** Description d'un fermenteur de type batch (cf. photos page 33)

### **.1.2.2 Améliorations apportées au matériel expérimental**

Un des objectifs de ce travail a été de rechercher, de chiffrer et de mettre en place du matériel plus fiable et d'utilisation plus pratique pour le test. En effet les premiers résultats obtenus en 1998, ont montré qu'il était nécessaire d'apporter une solution aux problèmes d'entrées intempestives d'oxygène dans les batch.

L'ensemble des coûts de l'expérimentation en laboratoire sont présentés en ANNEXE 7 (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

Les modifications ont porté sur :

- Les bouchons à l'extrémité des colonnes : il est possible qu'ils entrent en contact direct avec la solution acide des colonnes. Cette attaque entraînerait le dessèchement du bouchon et donc une diminution de l'étanchéité du système. L'ensemble des bouchons a donc été remplacé.
- Les pinces plastiques : utilisées pour obturer les tubes de branchement de l'analyseur entre les analyses. Elles ont été remplacées par des robinets métalliques, plus pratiques d'utilisation et plus fiables vis à vis des entrées d'oxygène.

Les entrées intempestives d'oxygène qui altéraient les résultats ont ainsi été solutionnées. En effet, les 24 batch actuellement en fonction sont parfaitement fiables du point de vue de l'étanchéité.

### **.1.2.3 Protocole de préparation des batch**

1. Dans l'rlenmeyer de 500ml : Mesurer ( $\frac{8 \times 100}{MSV_{sub}}$ ) ml de substrat, dans le cas où l'on veut 2/3 de 12g de MSV,
2. Ajouter l'inoculum, ( $\frac{4 \times 100}{MSV_{ino}}$ ) ml d'inoculum, dans le cas où l'on veut 1/3 de 12g de MSV,
3. Compléter à 400ml avec de l'eau distillée,
4. Mesurer le pH et le potentiel rédox,
5. Balayer à l'azote le batch et les tuyaux (cf. photos page 33),
6. Fermer hermétiquement l'rlenmeyer,
7. Placer l'rlenmeyer dans un bain marie à 40°C,
8. Remonter la colonne d'eau à zéro,
9. Ouvrir la pince reliant l'rlenmeyer à la colonne de mesure du biogaz.

## **.1.3 MESURES DU BIOGAZ PRODUIT**

### **.1.3.1 Matériel utilisé**

- Analyseur infrarouge (cf. photos page 33), permettant de mesurer le pourcentage de CH<sub>4</sub>, et de CO<sub>2</sub> présent dans le biogaz produit,
- Analyseur électromagnétique, permettant la mesure de l'O<sub>2</sub>,
- Une bouteille d'azote industriel.

### **.1.3.2 Améliorations à apporter concernant le matériel d'analyse**

Le matériel d'analyse des gaz utilisé aujourd'hui est un appareil portable adapté aux mesures de terrain, il nous renseigne sur la présence d'un nombre restreint de gaz (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, O<sub>2</sub>) produit par le mélange et est relativement peu précis. Il serait donc intéressant d'envisager de remplacer cet analyseur par un appareillage plus adapté aux expérimentations en laboratoire. Une étude bibliographique a été menée afin de répertorier le matériel d'analyse utilisé dans d'autres laboratoires pour les mesures de gaz issus des TPM.

**Bibliographie concernant les moyens analytiques :**

- INRA de Villeneuve d'Ascq :

Gaz analysés :

- Azote
- Gaz carbonique
- Méthane
- Hydrogène
- Sulfure d'hydrogène

Leur analyse qualitative et quantitative est faite par chromatographie en phase gazeuse (PYE UNICAM GCD). Le détecteur est un catharomètre. Il s'agit d'une chromatographie d'adsorption gaz-solide sur une colonne de 2.5 mètres de long et 4mm de diamètre intérieur remplie de Porapack S (VAN HUYSTEN 1967). Les températures d'analyse sont 60°C, 50°C et 100°C respectivement pour la colonne et le détecteur. On injecte dans la colonne environ 500 micro-litres d'échantillon prélevé directement dans les digesteurs, à la seringue, à travers le septum. L'appareil est étalonné par injection de mélange gazeux témoins.

- INSA de Toulouse :

La composition gazeuse est déterminée par chromatographie en phase gazeuse, en utilisant un chromatographe Hewlett Packard 5890 série 2. Deux colonnes en parallèle sont utilisées : une colonne de séparation de type -Haye Sep D 100- 120mesh et un tamis moléculaire de 5ä Scott Mix 237. Le détecteur est à conductivité thermique. L'hélium est le gaz vecteur à un débit de 94 et 114 ml/mn pour la colonne et le tamis moléculaire respectivement. L'étalonnage est fait à l'oxygène (100%), l'azote (100%), le CO<sub>2</sub> (100%) et le méthane (99%).

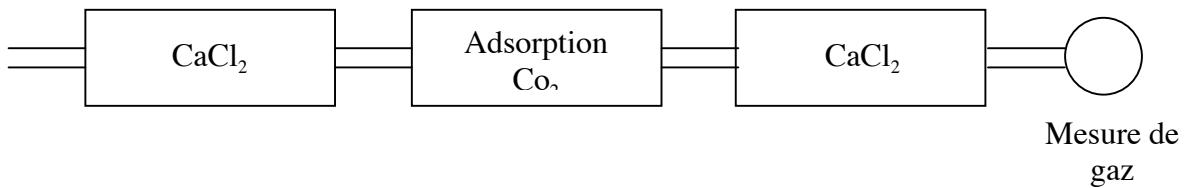
Les températures de fonctionnement sont les suivantes :

- Température d'injection : 100°C
- Température de détecteur : 140°C
- Température du four : 60°C

- Université de Montpellier :

La meilleure séparation est obtenue sur une colonne de porapack T, une température de four de 60°C et une température d'injection de 25°C.

- Laboratoire de microbiologie d'Amsterdam :



Le gaz de sortie passe à travers du CaCl<sub>2</sub> pour retenir l'eau, et un adsorbeur de gaz carbonique. Le méthane est analysé sur un chromatographe utilisant :

- Colonne porapack S
- 80-100 mesh, longueur 2 m
- diamètre intérieur 4 mm
- température 23°C

L'Hydrogène est identifié par un spectrographe de masse.

- Université de Manitoba (Canada) :

Le gaz est recueilli dans une solution saturée en Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> contenant 5% en volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>4</sub> et dosé sur chromatographe Fisher Hamilton :

- Colonne dual 30% DEHS
- 60-80 mesh
- chromosorb P et un tamis moléculaire 40-60 mesh.

(AGENCE FINANCIERE DE BASSIN, 1981)

- Université de Lulea (Suède) :

Le gaz est collecté à l'aide d'une seringue. L'aiguille est insérée à travers le septum. Le CO<sub>2</sub> est déterminé en injectant 5ml de gaz dans un catharomètre rempli de NaOH à 1M, avec lequel le CO<sub>2</sub> est dissous. La réduction de volume est présumée correspondre au CO<sub>2</sub>. Les gaz sont ensuite analysés à plusieurs reprises avec un analyseur IR Multi-gas Monitor, Type 1302 Brüel & Kjaer (CHEN et al, 1995).

Cette étude bibliographique permet de définir de manière plus précise le matériel susceptible de correspondre à l'analyse des gaz produits lors des TPM au laboratoire.

### **.1.3.3 Protocole utilisé pour les analyses de gaz**

Pour le protocole suivant, notons que l'on utilise l'analyseur de gaz actuel (analyseur infrarouge et électromagnétique).

## CHAPITRE 1 : Le Test de Potentiel Méthanogène

1. Relever la température ambiante,
2. Remuer l'rlenmeyer pour favoriser la production de biogaz,
3. Fermer la pince d'accès à l'rlenmeyer,
4. Mesurer le niveau de la colonne,
5. Purger le tuyau d'entrée de l'analyseur à l'azote pour chasser l'air résidant jusqu'à la disparition sur l'écran de l'analyseur des 3 gaz mesurés,
6. Brancher l'analyseur sur les tuyaux de la colonne,
7. Bien vérifier que le circuit est clos,
8. Ouvrir les pinces ou robinets de sortie,
9. Déclencher la pompe interne de l'analyseur et pomper jusqu'à stabilisation de la composition du gaz (1 mn environ),
10. Fermer les pinces de sorties,
11. Remonter le niveau à zéro à l'aide de la pompe à vide,
12. Ouvrir la pince d'accès à l'rlenmeyer.

Réaliser une mesure par batch quotidiennement, jusqu'à l'observation d'une production négligeable de méthane (environ 1 mois).

Lorsque le TPM est terminé :

1. Mesurer le pH et le potentiel rédox,
2. Réaliser un bilan carbone.

### **.1.3.4 Interprétation des mesures**

Les volumes de biogaz produits et mesurés pour chacun des batch doivent ensuite être normalisés, corrigés en température et en pression de manière à s'affranchir des variations de ces paramètres dans le milieu. Les volumes produits sont exprimés en « Normo m<sup>3</sup> ».

- Volume non corrigé :

$$V_1 = V_m + (h_n \times ce)$$

V<sub>m</sub> : volume mort,

h<sub>n</sub> : hauteur de mesure,

ce : coefficient d'étalonnage de la colonne de mesure en ml/cm.

- Volume corrigé en température :

$$V_2 = \frac{V_1 \times 273}{273 + t_{amb}}$$

T<sub>amb</sub> : température ambiante au moment de la mesure.

- Volume corrigé en pression :

$$V_3 = \frac{V_2 \times (1013 - (h_r - h_n) \times d_{liq})}{1013}$$

d<sub>liq</sub> : densité du liquide de garde,

h<sub>r</sub> : hauteur de référence.

**Le volume de biogaz produit peut ainsi s'écrire :**

$$V = V_3 - \frac{V_m \times (273 \times 1013 - h_r \times d_{liq})}{(273 + t_1) \times 1013}$$

Dans un deuxième temps une autre correction aura lieu sur les volumes produits ; elle nous permettra d'estimer les volumes de biogaz produit par le substrat seul, en déduisant la production de l'inoculum seul à celle du mélange inoculum/substrat.

### **Erreurs de mesures :**

Afin de préciser les résultats, une estimation du pourcentage d'erreur fait au cours de l'expérimentation a été calculé. Pour cela chaque étape du protocole a été étudié. On trouve une erreur relative à la mesure de :

$$\epsilon = \pm 13\%$$

### **.1.3.5 Bilan carbone**

Le bilan carbone final, permet de calculer la proportion de matière organique dégradée lors du Test de Potentiel Méthanogène.

#### **.1.3.5.1 Protocole**

1. Déterminer le carbone organique total de l'échantillon et de l'inoculum **avant le TPM**,
2. **Après arrêt du TPM**, déterminer le COT du batch. Si la détermination du COT n'est pas possible, réaliser une MSV sur 100ml de mélange présent dans le batch après avoir bien homogénéisé.

#### **.1.3.5.2 Méthode de calcul**

##### COT initial :

Si le COT n'est pas déterminé expérimentalement, il est possible d'en faire une estimation « grossière » en utilisant des références bibliographiques. En effet, le rapport théorique MSV / COT, basé sur l'analyse de la fraction organique des sols, est généralement estimé à 1.74 (DUCHAUFFOUR, 1995).

$$COT_i(g) = \frac{MSV_i(g)}{1.74}$$

##### Carbone dégradé :

Connaissant la production de CO<sub>2</sub> (= x<sub>1</sub>) et de CH<sub>4</sub> (= x<sub>2</sub>) en litre et les masses volumiques du CO<sub>2</sub> (d = 1.92 g/L) et du CH<sub>4</sub> (d = 0.74 g/L), on peut déterminer la production en g :

$$Y_1 (\text{CH}_4) = x_1 \times d_{\text{CH}_4}$$

$$Y_2 (\text{CO}_2) = x_2 \times d_{\text{CO}_2}$$

On peut alors calculer la quantité de carbone présent dans le biogaz produit :

$$M_{\text{CO}_2} = 44 \text{ g/mol} \text{ et } M_{\text{CH}_4} = 16 \text{ g/mol}$$

Masse de carbone seul dans le dégagement gazeux (g) :

$$Y = (Y_1 \times \frac{12}{16}) + (Y_2 \times \frac{12}{44})$$

##### COT final :

$$COT_f(g) = \frac{MSV_f(g)}{1.74}$$

## CHAPITRE 1 : Le Test de Potentiel Méthanogène

$$COT_f + \text{Carbone dégradé} = COT_i$$

$$\text{Carbone dégradé} = \text{biogaz}$$

$$COT_f = \text{Digestat}$$

$$\text{Perte (erreur relative)} = COT_i - (\text{carbone dégradé} + COT)$$

## CHAPITRE 1 : Le Test de Potentiel Méthanogène