



UNIVERSITE SULTAN MOULAY  
SLIMANE Faculté des Sciences et  
Techniques Béni-Mellal



Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques

Formation Doctorale : Ressources Naturelles, Environnement et Santé (RNES)

**THÈSE réaliser par**

**QARRAEY Imane**

**Pour l'obtention du grade de**

**DOCTEUR**

**Discipline : Biologie**

**Spécialité : Génie de l'environnement**

***La codigestion des margines et du fumier de volaille dans  
l'optique d'une valorisation énergétique et agronomique***

**Soutenance le 08 Février 2022**

**Devant le jury composé de :**

- **Monsieur Abderrazak EL HARTI**, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal, **Président** ;
- **Monsieur Mohamed HAFIDI**, Professeur, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, **Rapporteur** ;
- **Madame Hafida HANINE**, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal, **Rapporteur** ;
- **Monsieur Abderrahmene EL GHMARI**, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal, **Rapporteur** ;
- **Monsieur Aziz HASIB**, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal, **Examineur** ;
- **Monsieur Aziz OUATMANE**, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal, **Directeur de Thèse**.

# Remerciement

*A Monsieur Aziz OUATMANE, directeur de thèse, et responsable de l'Equipe Agro ressources, Bioénergie et Environnement de la faculté des sciences et techniques Béni Mellal, je vous dois le meilleur accueil que vous m'avez réservé dans votre laboratoire, et la mise à ma disposition de tous les moyens pour me permettre de réaliser mes recherches dans les meilleures conditions. Vous m'avez tant aidé et supporté au moment où j'en avais le plus besoin.*

*Merci pour votre gentillesse, votre soutien permanent et ta grande disponibilité tout au long de la durée de cette thèse. Votre rigueur scientifique et votre exigence ont sans aucun doute contribué au bon déroulement de cette étude. Aucun mot ne pourrait exprimer mes remerciements et ma vive gratitude, et que le présent travail soit un faible témoignage de ma très haute reconnaissance et mon profond respect.*

*Je remercie également tous mes collègues de l'Equipe Agro ressources, Bioénergie et Environnement pour leurs soutiens inconditionnels et l'ambiance du travail créée au sein du laboratoire.*

*Merci à mes parents, sans qui je ne serais pas là aujourd'hui. Merci pour votre Soutien indéfectible, votre présence pendant toutes ces années passées et celles à venir. Merci à mes frères, qui sont toujours là pour moi. Merci pour votre amour, votre patience, et votre soutien.*

## Résumé :

L'utilisation de déchets agricoles et agroindustriels comme le fumier de volaille et les margines pour la production de biogaz présente des avantages environnementaux significatifs en termes de protection de l'environnement, de production de chaleur, d'énergie et de son utilisation comme biocarburant. Les installations de biogaz peuvent contribuer de manière significative au développement durable dans les zones rurales, ainsi que fournir aux agriculteurs de nouvelles possibilités de revenus. La transformation de ces déchets organiques en énergie renouvelable, est effectuée grâce à la technologie de la méthanisation appelée aussi digestion anaérobie un procédé biologique de dégradation de la matière organique en absence d'oxygène on obtient comme produit fini du biogaz composé principalement du méthane ( $\text{CH}_4$ ), du dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et du  $\text{H}_2\text{S}$  et d'autres gaz, et d'un digestat quand peut utiliser comme fertilisant.

Le premier objectif de la présente étude est d'étudier la codigestion anaérobie des margines et du fumier de volaille afin de déterminer le rapport de mélange approprié en mettant l'accent sur la contribution de la charge organique totale et des margines. Les résultats ont montré que le potentiel biochimique de méthane maximal a été enregistré avec la monodigestion du fumier de volaille avec un pic de biogaz de 410,48 mL/gSV à 5,38 gSV/L. Dans les conditions semi-continues, l'augmentation du rapport des margines a amélioré le rendement en biogaz jusqu'à une alimentation totale de 1,57 gSV/L.j, atteignant une production maximale de  $215,85 \pm 23,56$  mL/gSV.j. La codigestion des margines et du fumier de volaille était possible jusqu'à une contribution critique SV des margines de 40% à 50%.

Le deuxième objectif est d'étudier l'effet de la recirculation du digestat sur la performance du réacteur, puis l'effet de la digestion anaérobie sur la composition du digestat et leurs effets fertilisants. Les résultats montrent que de bonnes performances ont été obtenues dans le cas des digesteurs sans recirculation pour lesquels la production journalière de biogaz était de l'ordre de 78,92 mL/gSV.j et 184,13 mL/L.j. La recirculation du digestat a un effet négatif qui a été principalement attribué à une charge organique au-delà de 3,37 gSV/L.j. La phytotoxicité du digestat de la codigestion anaérobie des margines et du fumier de volaille avec et sans recirculation a été testée sur des graines de luzerne. L'évaluation de la qualité physico-chimique et de la toxicité biologique, l'application du test de germination, montre que 10% est la meilleure dilution du digestat pour les deux réacteurs.

Mots clés :

Digestion anaérobie ; Co-digestion ; Fumier de volaille ; les margines ; Semi-continu ; Potentiel biochimique de méthane, biogaz, recirculation, digestat, phytotoxicité.

## Abstract

---

The use of agricultural and agro-industrial wastes such as poultry manure and vegetable water for the production of biogas has significant environmental advantages in terms of environmental protection, production of heat, energy and its use as biofuel. Biogas plants can significantly contribute to sustainable development in rural areas and provide farmers with new income opportunities. The transformation of this organic waste into renewable energy, is carried out thanks to the technology of anaerobic digestion also called anaerobic digestion a biological process of degradation of the organic matter in the absence of oxygen we obtain as finished product of the biogas composed mainly of methane (CH<sub>4</sub>), carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and H<sub>2</sub>S and other gases, and a digestate when can use as a fertilizer.

The first objective of this study is to study the anaerobic co-digestion of vegetable water and poultry manure in order to determine the appropriate mixing ratio with emphasis on the contribution of total organic load and vegetable water. The results showed that the maximum biochemical methane potential was recorded with the monodigestion of poultry manure with a biogas peak of 410.48 mL / gVS to 5.38 gVS / L. Under semi-continuous conditions, increasing the vegetable water ratio improved the biogas yield up to a total feed of 1.57 gVS / Lj, reaching a maximum production of 215.85 ± 23.56 mL / gVS. j. Codigestion of vegetable waters and poultry manure was possible up to a critical VS contribution of vegetable waters of 40% to 50%.

The second objective is to study the effect of digestate recirculation on the performance of the reactor, then the effect of anaerobic digestion on the composition of the digestate and their fertilizing effects. The results show that good performance was obtained in the case of digesters without recirculation for which the daily production of biogas was of the order of 78.92 mL / gVS.d and 184.13 mL / L.d. The recirculation of the digestate has a negative effect which has been mainly attributed to an organic load above 3.37 gVS / L.d. The phytotoxicity of the digestate from the anaerobic codigestion of vegetable water and poultry manure with and without recirculation was tested on alfalfa seeds. The evaluation of the physico-chemical quality and the biological toxicity, the application of the germination test, shows that 10% is the best dilution of the digestate for the two reactors.

### **Keys words :**

Anaerobic digestion ; Co-digestion; Poultry manure; Olive Mill Wastewater ; Semi-continuous; Biochemical methane potentiel, biogas, recirculation, digestate, phytotoxicity.

## Liste des communications et publications :

---

Ce travail de thèse a fait l'objet des communications et publications suivantes :

### **Publications dans des journaux internationaux a comité de lecture (journaux indexés scopus) :**

- 1. Qarraey i., Moujanni a. and Ouatmane a.(2021) : Batch and semi-continuous anaerobic codigestion of Olive mill wastewaters and diluted poultry manure: A laboratory scale optimal ratio evaluation Journal of Environment and Waste Management Article sous impression. code: IJEW-58069**
- 2. Moujanni, a., Qarraey i , and ouatmane, a. (2018). Anaerobic codigestion of urban solid waste fresh leachate and domestic wastewaters: biogas production potential and kinetic. Environmental engineering research, 24(1), 38-44**
- 3. Moujanni, a., Qarraey i, and ouatmane, a. (2022). Biogas recovery from fresh Landfill leachates by using a coupled air stripping-up follow anaerobic sludge blanket (uasb) Process. Environmental engineering research, 27(1), 12-20.**

### **Communications orales dans des congrès internationaux**

- 4. I. Qarraey, A. Ouatmane, A.Moujanni , Anaerobic batch Codigestion of olive mill wastewater and poultry manure: kinetics and biogas production, 2nd international balkan agriculture congress, Turkey 16-18 may 2017.**
- 5. I.QarrAey, A. Moujanni, A. Ouatmane, Semi-continuous anaerobic Codigestion of OMWW and poultry manure: a laboratory scale optimal ratio evaluation. The 4 th Eurasia waste management symposium from 2 to 4 may 2018.**
- 6. A. Moujanni, A. Ouatmane, A. Ghamouh, I. qarraey, effects of sanitary landfill leachate recirculation on biogas production and waste stabilization. A laboratory scale study, the 2017 edition of the conference wastes: solutions, treatments and opportunities, faculty of Engineering of the University of Porto from 25 to 26 September 2017.**
- 7. A. Moujanni, I.QarrAey, A. Ouatmane, Anaerobic Codigestion of fresh leachate and domestic wastewaters: biogas production potential and kinetics. The 4 th Eurasie waste management symposium Istanbul turkey from 2 to 4 may 2018.**

## **Communications par affiche dans des congrès internationaux**

- 1. I. Qarrey, A. Ouatmane, A.Moujanni, Étude du potentiel de production en biogaz des déjections animales dans les provinces de Beni-Mellal et Fkih Ben Saleh, la 1ère conférence méditerranéenne sur la méthanisation, le biogaz et la valorisation énergétique des déchets, MedConf'01, FST-Béni Mellal, 1-2 Juin 2016.**
- 2. A. Moujanni, A. Ouatmane, A. Ghamouh, I. Qarraey, Unité de méthanisation territoriale à l'échelle de l'agropole de Béni Mellal Maroc, COP 22 Marrakech Maroc, 07 -18 novembre 2016.**

## Sommaire :

---

<b>Introduction générale.....</b>	<b>12</b>
<b>I.La digestion anaérobie : .....</b>	<b>15</b>
<b>1. Les phases de la méthanisation : .....</b>	<b>16</b>
.1.1 L'hydrolyse : .....	16
.1.2 L'acidogénèse : .....	17
.1.3 L'acétogénèse .....	17
.1.4 La méthanogénèse : .....	18
<b>2. Les paramètres de fonctionnement de la digestion anaérobie : .....</b>	<b>18</b>
1.1 Température : .....	18
1.2 pH et la capacité tampon : .....	19
1.3 Les acides gras volatiles AGV : .....	20
1.4 Temps de rétention hydraulique (TRH) : .....	21
1.5 L'azote ammoniacal : .....	21
1.6 Le mode de fonctionnement : .....	22
1.7 Le rapport déchet/inoculum : .....	22
1.8 Le Rapport Carbone/Azote (C/N) : .....	23
1.9 L'agitation : .....	23
<b>3. Les types des digesteurs utilisés dans la digestion anaérobie : .....</b>	<b>23</b>
.3.1 Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) .....	23
.3.2 Bioréacteurs à membranes anaérobies (MBR) .....	24
.3.3 Réacteurs à cuve agitée en continu (CSTRs) .....	24
<b>4. La co-digestion : .....</b>	<b>25</b>
.4.1 Les facteurs affectant la codigestion anaérobie .....	25
<b>2. La composition et les caractéristiques physico-chimiques des margines : .....</b>	<b>28</b>
<b>3. Toxicité des margines : .....</b>	<b>28</b>
<b>4 Impact sur le milieu naturel : .....</b>	<b>29</b>
<b>II.Les procédés de traitement des margines : .....</b>	<b>29</b>
<b>1. Les traitements biologiques : .....</b>	<b>30</b>
1.1 Traitement aérobie : .....	30
1.2 Traitement anaérobie : .....	31
<b>2. Les traitements physiques : .....</b>	<b>32</b>
<b>I.Le gisement en fumier de volailles :.....</b>	<b>35</b>
<b>II Caractérisation de fumier de volaille : .....</b>	<b>35</b>
<b>1. Les nutriments : .....</b>	<b>35</b>
<b>2. Les métaux lourds :.....</b>	<b>36</b>
<b>3. Les agents pathogènes : .....</b>	<b>36</b>
<b>III Fumier de volaille : Impact environnemental : .....</b>	<b>36</b>
<b>IV La gestion du fumier de volaille : .....</b>	<b>37</b>
<b>1. La digestion anaérobie du fumier de volailles : .....</b>	<b>38</b>

<b>V. La Qualité du digestat à usage agricole :</b>	<b>39</b>
<b>VI. Les Etapes de la croissance bactérienne :</b>	<b>41</b>
<b>VII. Cinétique de production :</b>	<b>42</b>
<b>I. Introduction :</b>	<b>50</b>
<b>II. Matériels et Méthodes :</b>	<b>52</b>
1. Origine du matériel brut et ces caractéristiques :	52
2. Protocole expérimental :	53
• Les tests PBM :	57
3. Les paramètres analysés :	59
<b>III. Résultats et Discussion :</b>	<b>59</b>
1. Le Potentiel Biochimique en Méthane (PBM) :	59
2. Les expériences en semi-continue :	64
2.1 Rendement en biogaz	64
2.2 . Acides gras volatils (AGV) et pH	67
<b>VI. Conclusion :</b>	<b>69</b>
<b>IV. Introduction :</b>	<b>71</b>
<b>II. Matériels et Méthodes :</b>	<b>72</b>
1. Opération des digesteurs :	73
2. Prétraitement aérobie :	74
3. Inoculation :	74
4. Méthodes d'analyse :	75
<b>III. Résultats et discussion :</b>	<b>75</b>
1. Caractérisation physico-chimiques des substrats :	75
a. Performance du réacteur :	76
<b>III. Conclusion :</b>	<b>79</b>
<b>I. Introduction :</b>	<b>81</b>
<b>II Matériels et Méthodes :</b>	<b>82</b>
1. Evaluation phytotoxique des digestats :	82
2. Les analyses physico-chimiques :	83
3. Analyses microbiologiques :	83
<b>III Résultats et discussion :</b>	<b>83</b>
1. Evaluation de la capacité fertilisante :	83
<b>IV Conclusion :</b>	<b>87</b>
<b>Conclusion général</b>	<b>87</b>
<b>Références bibliographiques.</b>	<b>89</b>
<b>Annexe</b>	<b>99</b>



## Liste des figures :

---

Figure 1: Les étapes de la digestion anaérobie. ....	16
Figure 2: Etapes de la croissance d'une culture bactérienne .....	42
Figure 3: dispositif expérimental de l'unité de Digestion anaérobie .....	55
Figure 4: Conditions opérationnelles de codigestion semi-continue.....	59
Figure 5: Production cumulative de biogaz des essais du PBM de la co-digestion des margines et des FV à différentes rapports de mélange.....	62
Figure 6 : <i>Graphique du potentiel de production de biogaz (A) et du pourcentage d'inhibition par rapport à la charge organique initiale pour les tests digestion au mode batch (tous les rapports de mélange margines/FV).....</i>	64
Figure 7: VS de la contribution des margines à 50% d'inhibition du PBM par rapport au rapport de FV .....	64
Figure 8: Évolution quotidienne de la production de biogaz pendant la codigestion semi-continue des margines/FV avec augmentation progressive de la charge organique.....	66
Figure 9: Production de biogaz, pH et concentrations totales de AGV des effluents pendant la codigestion semi-continue des margines et de FV. ....	68
Figure 10 : <i>la production journalière de biogaz pour les digesteurs avec et sans recirculation du digestat lors de la digestion semi-continue des OMWW avec un rapport C/N de 20 .....</i>	77
Figure 11: évolution de la concentration en SV pour les digesteurs avec recirculation du digestat pendant le mode semi-continu. ....	78
Figure 12: Evolution du pH lors de la co-digestion des margines et fumier de volaille. ....	78
Figure 13: Evolution de la concentration en AGV lors de la co-digestion des margines et du fumier de volaille en mode semi-contin .....	79
Figure 14: schéma du traitement général. ....	82

# Liste des tableaux

---

Tableau 1: Le potentiel en fumier de volaille selon les provinces. ....	35
Tableau 2:Description des modèles production cumulée de méthane .....	43
Tableau 3:Équations de modèles de production cumulée de méthane.....	46
Tableau 4:caractéristiques physico-chimiques du matériel utilisé Margines et Fientes de Volailles .....	52
Tableau 5:: Caractérisation physicochimiques des différents mélanges utilisés dans les expériences de la mono et la codigestion .....	54
Tableau 6:Caractérisation physicochimiques de l'inoculum .....	56
Tableau 7: Paramètres Gompertz modifiés pour les rapports Margines / FV utilises .....	63
Tableau 8: Rendement de biogaz pendant l'expérience en semi-continue .....	67
Tableau 9: Caractéristiques physico-chimiques des margines et du FV.....	73
Tableau 10: Caractérisation physicochimiques de l'inoculum.....	75
Tableau 11: caractéristiques ues physico-chimiques et microbiologiques des digestats .....	84

## *Partie bibliographique*

## Introduction générale :

---

Au cours de ces dernières années, la filière oléicole au Maroc a soulevé un intérêt sans précédent. Avec une production actuelle en huile d'olive de 100.000 à 120.000 Tonnes, le Maroc se place au 6<sup>ème</sup> range mondial après l'Espagne, l'Italie, la Tunisie la Turquie, et la Grèce. La nécessité de produire une huile de qualité, avec le minimum impact négatif sur l'environnement, est essentielle pour qu'elles puissent rester concurrentielles sur le marché de l'huile d'olive. De plus l'image de pollueur peut nuire à l'entreprise et peut l'exposer à des sanctions en fonction de la législation qui devient de plus en plus astreignante. En effet la conséquence de cette importante production d'huile d'olive et le développement de l'industrie oléicole qui génère des quantités importantes des margines ce qui pose de sérieux problème environnementaux puisque ce dernier ne subissent aucun traitement et elles sont souvent déversées dans les égouts d'assainissement, stockées dans des bassins d'évaporation et/ ou épandus directement sur le sol sans aucun contrôle.

La diversité des climats et des sols, en plus la richesse environnemental et naturelle offre à la région de Béni-Mellal-Khénifrat de nombreuses opportunités agricoles, et lui permet d'avoir une agriculture très variée. La région est connu depuis longtemps pour les grandes cultures telles que l'oléiculture dont la superficie est de 560.000 hectare, elle est considérés l'une des plus grandes zone productrice d'huile d'olive au Maroc, l'élevage occupe aussi une place très importante. Ces deux activités génèrent des quantités importantes de déchets organiques qui sont majoritairement rejetés sans aucune forme de traitement ou de valorisation ce qui constitue une source de nuisances pour l'homme et son environnement (pollution du sol, pollution d'eaux, et pollution d'atmosphères), mais également est de façon paradoxale une ressource renouvelable dont il convient de tirer parti dans le triple objectif : réduire son impact sur l'environnement valoriser son potentiel énergétique , agronomique et donc économique.

La digestion anaérobie est une technologie appropriée pour traiter les déchets solides et les eaux usées, et elle a été considérée comme une technologie de valorisation énergétique et agronomique. Des progrès importants ont été réalisés dans tous les domaines de la gestion des déchets, mais l'introduction de la digestion anaérobie dans le traitement des déchets est l'un des développements technologiques les plus réussis et innovants observés au cours des deux dernières décennies dans le domaine de la gestion des déchets (De Bere, 2000), et elle à devenue

pleinement acceptée comme méthode éprouvée et même préférée pour la phase de biodégradation intensive des fractions organiques. La digestion anaérobie des déchets organiques attire de plus en plus l'attention de nos jours, et présente un intérêt croissant car elle offre la possibilité de résoudre certains des problèmes liés à la réduction de la quantité de déchets organiques, tout en diminuant l'impact environnemental et en facilitant un développement durable de l'approvisionnement énergétique (Yadvika, 2005). Dans la digestion anaérobie, les matières organiques sont dégradées par les bactéries, en l'absence d'oxygène, qui les convertissent en un mélange de méthane et de dioxyde de carbone le biogaz. En plus le digestat ou le lisier du digesteur est riche en ammonium et autres nutriments utilisés comme engrais organique. La production de biogaz par digestion anaérobie offre des avantages importants par rapport à d'autres formes de production de bioénergie. La limitation du dioxyde de carbone et d'autres émissions par le biais de réglementations sur les émissions, et de subventions sur l'énergie de la biomasse fait de la digestion anaérobie une technologie plus attrayante et compétitive pour la gestion des déchets (Adekunle and Okolie, 2015).

La digestion anaérobie est la plus populaire de toutes les méthodes, biologiques ou autres, dans le traitement des eaux usées des moulins à huile (les margines). Cependant, plusieurs facteurs affectent la performance et la stabilité du processus de digestion anaérobie ; parmi eux, la concentration élevée des margines en composés phénoliques, et sa faible teneur en azote. Pour que cette digestion anaérobie déroule dans les meilleures conditions une source d'azote supplémentaire est nécessaire. Le coût élevé des sources d'azote inorganiques non durables telles que l'urée et d'autres composés suggère l'utilisation de sources organiques alternatives d'azote telles que le lactosérum (Dareioti et al., 2009), le fumier de vache (Dareioti et al., 2010), et les boues activées (Athanasoulia et al., 2012). Le fumier de volaille a une teneur en azote plus élevée que celle de divers types de déchets organiques il peut être mélangé avec les margines dans une proportion qui améliore l'équilibre en éléments nutritifs, et le rapport C / N qui devrait être compris entre 20 et 30 comme recommandé pour un fonctionnement stable de la digestion anaérobie (Khoufi et al., 2015).

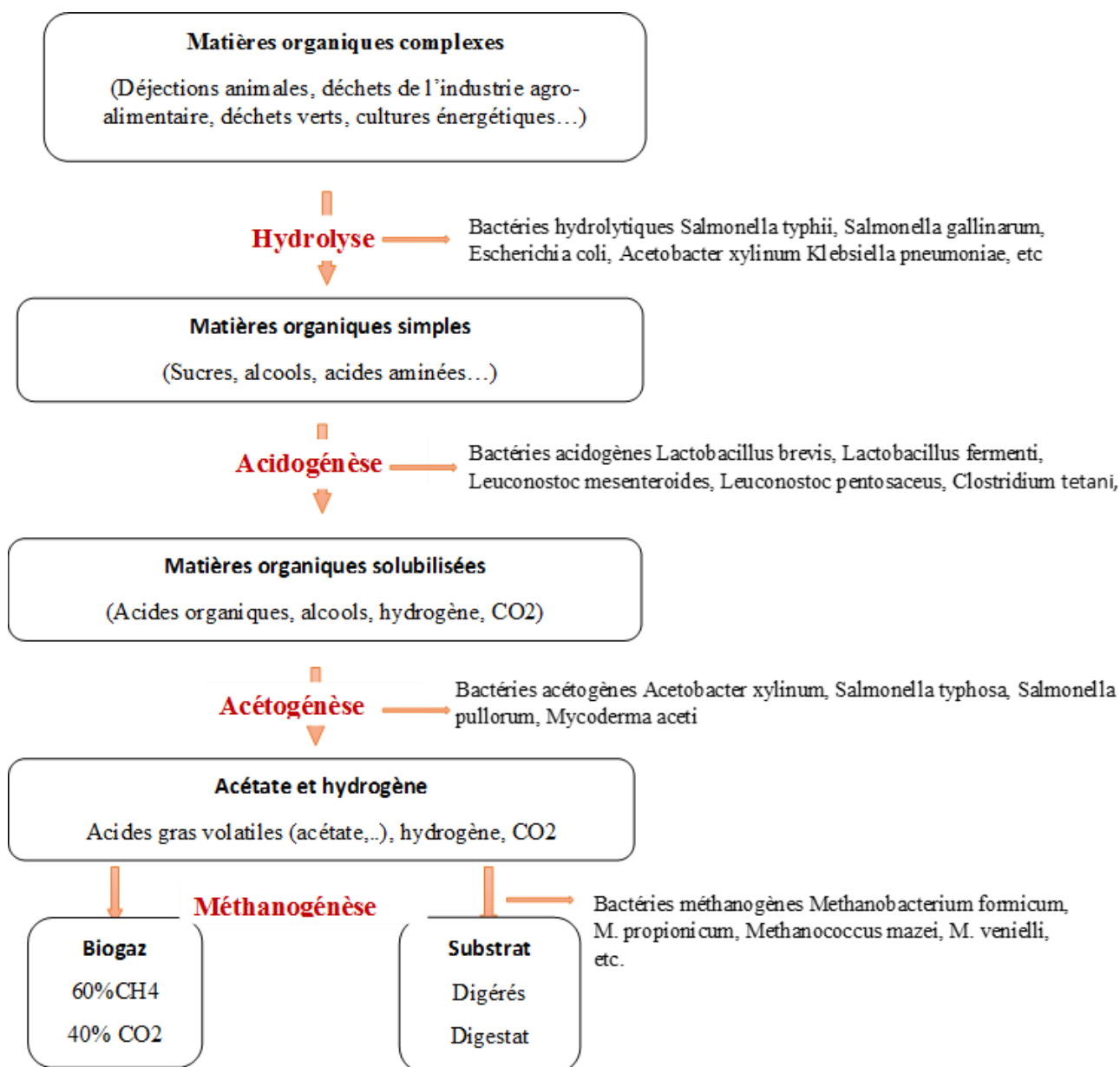
La digestion anaérobie du fumier de volaille s'avère être une option d'élimination viable. La plupart des études sur la digestion anaérobie des déchets de volaille et de bétail ont été menées dans différents types de réacteurs anaérobies pour différentes gammes de paramètres de fonctionnement tels que le temps de rétention hydraulique, le taux de charge organique et la température. L'influence de ces paramètres est cependant très importante, car des niveaux excessifs d'ammoniac, de substances toxiques, de sulfures et de métaux lourds, des niveaux de

pH ou de température instables peuvent fortement inhiber l'activité métabolique des bactéries méthanogènes, entraînant l'échec du processus (Sakar et al., 2009).

C'est dans ce cadre que le principale objectif de ce travail est la co-digestion des margines et du fumier de volailles dans l'optique d'une valorisation énergétique et agronomique.

## **I La digestion anaérobie :**

La digestion anaérobie est souvent considérée comme un processus complexe, la digestion elle-même est basée sur un processus de réduction consistant en un certain nombre de réactions biochimiques se déroulant dans des conditions anoxiques (Aslanzadeh). La formation de méthane dans la digestion anaérobie comprend quatre étapes différentes : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse. Généralement dans un processus de digestion anaérobie, l'étape de limitation de vitesse peut être définie comme l'étape qui provoque l'échec du processus sous contrainte cinétique imposée (Aslanzadeh). La plupart des chercheurs signalent que la limitation de vitesse pour un substrat organique complexe est l'étape d'hydrolyse (Fernandes et al., 2009; Valo et al., 2004) en raison de la formation de sous-produits toxiques (composés hétérocycliques complexes) ou d'acides gras volatils non désirables les acides gras volatiles (AGV) formés pendant l'étape d'hydrolyse : alors que la méthanogénèse est l'étape de limitation de vitesse pour les substrats facilement biodégradables (Adekunle and Okolie, 2015; Lu et al., 2008). La figure 1 illustre les grandes étapes de la digestion anaérobie.



*Figure 1: Les étapes de la digestion anaérobie.*

## 1. Les phases de la méthanisation :

### 1.1 L'hydrolyse :

Pendant l'hydrolyse les composés organiques polymérisés, principalement insolubles, tels que les carbohydrates, les protéines, et les graisses sont décomposées en monosaccharides, acides aminés, et en acides gras respectivement. Cette étape de la méthanogénèse passe à travers des enzymes extracellulaires du groupe d'hydrolases (amylases, protéases et lipases) produites par des souches appropriées de bactéries hydrolytiques. (Ali Shah et al., 2014)

L'hydrolyse de polymères difficilement décomposables, c'est-à-dire de cellulose et de cellulocotons est considérée comme étape qui limite le taux de digestion des déchets. Lors de



la digestion des déchets solides, seulement 50% des composés organiques subissent une biodégradation. Pour la partie restante reste dans son état primaire en raison du manque d'enzymes participant à la dégradation (Conrad, 1999; Parawira et al., 2008).

Le taux d'hydrolyse dépend de plusieurs paramètres tels que la taille des particules, le pH, la production d'enzymes, diffusion et adsorption d'enzymes sur les particules de déchets soumis à la digestion du processus. L'hydrolyse réalisée par les bactéries du groupe des anaérobies relatifs des genres comme Streptococcus et Enterobacterium.

### **.1.2 L'acidogénèse :**

Au cours de Cette étape les bactéries acidogènes transforment les monomères issus de l'étape d'hydrolyse en acides gras volatils (AGV) (ex : acétique, propionique, butyrique, valérique), en alcool (ex : éthanol), en acides organiques (ex : lactique) et en hydrogène et dioxyde de carbone. Ce processus peut être divisé en deux types : l'hydrogénation et la déshydrogénation. La voie de base de transformations passe à travers les acétates, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>, alors que d'autres produits de l'acidogénèse jouent un rôle insignifiant (Ali Shah et al., 2014). A la suite de ces transformations, les bactéries méthanogènes peuvent utiliser directement les nouveaux produits en tant que substrats et source d'énergie. L'accumulation d'électrons par des composés tels que le lactate, l'éthanol, le propionate, le butyrate, les acides gras volatils plus élevée est la réponse de la bactérie à une augmentation de la concentration d'hydrogène dans la solution. Les nouveaux produits ne peuvent pas être utilisés directement par les bactéries méthanogènes et doivent être convertis par les bactéries obligatoires produisant de l'hydrogène dans le processus appelé acétogénèse (Ali Shah et al., 2014).

Parmi les produits de l'acidogénèse, il y a l'ammoniac et l'hydrogène sulfuré qui donnent une odeur intense désagréable pour cette phase du processus (Arbon, 2002; Claassen et al., 1999)

### **.1.3 L'acétogénèse**

Dans ce processus les bactéries acétogènes, y compris Syntrophomonas et Syntrophobacter convertis Les intermédiaires métaboliques produits lors de l'acidogénèse (AGV, alcools, acides organiques, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>) en acétate, hydrogène, et CO<sub>2</sub> qui peut être utilisé par les bactéries méthanogènes (Ali Shah et al., 2014). Cette étape ne constitue pas une étape limite de la fermentation méthanique, car la vitesse de doublement des bactéries (d'environ une heure) ainsi que les cinétiques enzymatiques sont rapides. Les Methanobacterium suboxydans décomposent l'acide pentanoïque en acide propionique, alors que les Methanobacterium propionicum décomposent l'acide propionique en acide acétique (Ali Shah

et al., 2014). L'acétogénèse est une phase qui dépeint l'efficacité de la production de biogaz, car 70% du méthane apparaît dans le processus de réduction des acétates. Par conséquent, les acétates sont un produit intermédiaire clé du processus de digestion du méthane. En phase d'acétogénèse, environ 25% d'acétates sont formés et environ 11% d'hydrogène est produit dans le processus de dégradation des déchets (Ali Shah et al., 2014).

#### **.1.4 La méthanogénèse :**

La méthanogénèse constitue l'étape de réduction finale du processus de méthanisation, elle consiste en la production de méthane par des bactéries méthanogènes. Le méthane dans cette phase du procédé est produit à partir de substrats issus des phases précédentes, à savoir l'acide acétique, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> et le formiate et le méthanol, la méthylamine ou le diméthylsulfde. Bien que peu de bactéries soient capables de produire du méthane à partir d'acide acétique, la grande majorité du CH<sub>4</sub> résultant du processus de digestion du méthane résulte de la conversion de l'acide acétique par des bactéries méthaniques hétérotrophes (Verstraete et al., 2002). Seulement 30% du méthane produit dans ce procédé provient de la réduction du CO<sub>2</sub> réalisée par des bactéries autotrophes du méthane. Au cours de ce processus, H<sub>2</sub> est utilisé, ce qui crée de bonnes conditions pour le développement de bactéries acides qui donnent lieu à des acides organiques à courte chaîne en phase d'acidification et par conséquent à une production trop faible de H<sub>2</sub> en phase acétogène. Une conséquence de ces conversions peut être un gaz riche en CO<sub>2</sub>, car seule sa partie insignifiante sera convertie en méthane (Griffin et al., 1998) et (Karakashev et al., 2005).

## **2. Les paramètres de fonctionnement de la digestion anaérobie :**

La digestion anaérobie est un processus biologique nécessitant des conditions optimales pour obtenir une bonne dégradation des substrats et une bonne production de biogaz. Toutefois, la nature, l'origine, la composition et la quantité des substrats ainsi que la richesse en microorganismes et l'origine de l'inoculum peuvent modifier le procédé en ralentissant la production de biogaz voire en l'arrêtant complètement.

### **1.1 Température :**

La température est un paramètre clé dans la digestion anaérobie. Trois gammes de température définissent trois modes de conduite du procédé : psychrophilie (< 20 °C), mésophilie (entre 30 °C et 40 °C), thermophilie (entre 50 et 60 °C).

Des changements de température et/ou bien le passage d'une température à l'autre, induisent des dynamiques de populations différentes et par conséquent une chute de la production de

biogaz (Khalid et al., 2011). L'acclimatation et le développement de nouveaux microorganismes ainsi sélectionnés demandent du temps avant de produire à leur tour une quantité de biogaz stable (Béline et al.).

La plupart des études ont convenu que le taux hydrolytique/acidogène est proportionnel à l'augmentation de la température (He et al., 2012; Van et al., 2019). De plus, par rapport aux conditions mésophiles, les régimes thermophiles ont entraîné une destruction accrue des agents pathogènes qui pourrait avoir un impact grave sur le réacteur et l'environnement (Kim et al., 2003). Par conséquent, la température thermophile semble meilleure que la température mésophile. Cependant, (Kozuchowska and Evison, 1995) ont rapporté que les opérations mésophiles fournissaient une condition plus stable que l'opération thermophile dans l'acidification des déchets de café. (Komemoto et al., 2009) ont même signalé que le taux de solubilisation des déchets alimentaires était significativement plus élevé dans des conditions mésophiles que dans d'autres. Ainsi, en ce qui concerne l'énergie et l'efficacité, la température mésophile dans la plage de 35 à 37°C est toujours préférée à utiliser pour l'hydrolyse/l'acidogénèse des déchets organiques

### **1.2 pH et la capacité tampon :**

Le pH est le deuxième paramètre clé influençant le développement des microorganismes et les réactions métaboliques. Les bactéries les plus sensibles aux variations de pH sont les acétogènes et les méthanogènes. Le pH affecte également l'activité enzymatique (Béline et al.).

La plage de pH idéale pour la digestion anaérobie est très étroite : pH 6,8–7,2. Le taux de croissance des méthanogènes est considérablement réduit au-dessous de pH 6,6 (Mosey and Fernandes, 1989), tandis qu'un pH excessivement alcalin peut entraîner la désintégration des granules microbiens et l'échec du processus (Sandberg and Ahring, 1992). Le pH varie au cours du procédé de la digestion anaérobie par les produits des différentes réactions notamment le carbone et les acides gras modifiant les pH optimaux des étapes de la digestion anaérobie soit un pH optimal pour l'acidogénèse compris entre 5,5 et 6,5 et un pH optimal pour la méthanogénèse compris entre 7 et 8 (Khalid et al., 2011). La gamme de pH optimal pour le traitement anaérobie se situe entre 5,5 et 8,5. La gamme de pH peut varier en fonction des conditions d'opération notamment les substrats utilisés et la température de fonctionnement peuvent influencer sur le pH (Béline et al.).

Le pH a des effets directs sur le couple ammoniac/ammonium. En effet, une augmentation de pH conduit à une augmentation de la forme ammoniac dans le milieu et par conséquent une inhibition du procédé de digestion.

La capacité tampon est souvent appelée alcalinité dans la digestion anaérobie, qui est l'équilibre des ions dioxyde de carbone et bicarbonate qui offre une résistance aux changements rapides et significatifs du pH, elle est donc proportionnel à la concentration en bicarbonate. La capacité tampon est une méthode plus fiable pour mesurer le déséquilibre du digesteur que les mesures directes du pH, c'est un indicateur de bon fonctionnement du procédé, et son suivi permet d'anticiper un changement de pH (Béline et al.). Une meilleure capacité tampon est obtenue en réduisant le taux de charge organique, mais une approche plus rapide consiste à ajouter des bases fortes ou des sels de carbonate pour éliminer le dioxyde de carbone de l'espace gazeux et le convertir en bicarbonate. (Guwy et al., 1997) L'ajout direct de bicarbonate est plus précis, car la conversion du dioxyde de carbone en bicarbonate nécessitera un délai pour que l'équilibre des gaz se produise, ce qui pourrait entraîner un surdosage. Il a également été démontré que le rapport entre l'inoculum et l'alimentation peut être modifié pour maintenir un pH constant (Nallathambi Gunaseelan, 1995).

### **1.3 Les acides gras volatiles AGV :**

Tous les lipides présents dans les déchets alimentant les digesteurs anaérobies se trouvent généralement sous forme d'esters de triglycérides et sont rapidement hydrolysés en acides gras libres lors de la digestion. Ces acides gras à longue chaîne comprennent les acides stéarique, oléique, linoléique, palmitique et myristique, représentent 90% de l'hydrolyse initiale des graisses, ils sont rapidement dégradés en AGV à chaîne plus courte (Stafford, 1982). Aussi La désamination des acides aminés et la fermentation des glucides produisent des acides gras, acides, formique, acétique, propionique, butyrique, valérique, caproïque et lactique. Toute accumulation de VFA peut réduire le pH du réacteur et réduire la production de méthane (Stafford, 1982).

Les trois acides les plus courants produits lors de la dégradation anaérobie de substrats organiques complexes sont l'acétate, le propionate et le butyrate. L'acide acétique est généralement présent à des concentrations plus élevées que les autres acides gras lors de la digestion anaérobie (Wang et al., 1999). Il a été démontré que de fortes concentrations d'acétate retardent la dégradation primaire des matières organiques, mais n'affectent pas l'activité des bactéries méthaniques. Des concentrations d'acide propionique supérieures à 3000 mg.l<sup>-1</sup> ont

déjà été démontrées comme étant à l'origine d'une défaillance du digesteur (Ward et al., 2008), mais (Pullammanappallil et al., 2001) ont constaté que l'acide propionique était un effet plutôt qu'une cause d'inhibition des processus anaérobies. Il a été démontré aussi que la surveillance des acides gras, en particulier du butyrate et de l'isobutyrate, indique la stabilité du procédé car une augmentation des acides gras peut indiquer une surcharge du taux de charge organique.

#### 1.4 Temps de rétention hydraulique (TRH) :

Le temps de rétention ou de résidence hydraulique ou HRT correspond à la durée pendant laquelle le substrat reste dans le digesteur. Les temps de résidence typiques pour la digestion anaérobie vont de 15 à 90 jours. Il varie en fonction de la technologie, de la température et du substrat (Farrow). Par exemple la digestion du lisier de porc (riche en graisses) est généralement plus rapide que la digestion du fumier de bovin (riche en cellulose et en hémicellulose) (Sakar et al., 2009).

#### 1.5 L'azote ammoniacal :

L'azote ammoniacal est le produit final de la digestion anaérobie des protéines, de l'urée et des acides nucléiques (González-Fernández and García-Encina, 2009). Contrairement à l'importance de l'ammoniac pour la croissance bactérienne à faible concentration, une concentration élevée d'ammoniac peut causer une perturbation grave des performances du processus anaérobie, entraînant une diminution importante des activités microbiennes (Liu et Sung, 2002; Zhang et al., 2011). L'inhibition du processus de la digestion anaérobie est généralement indiquée par la diminution des taux de production de méthane à l'état d'équilibre et par l'augmentation des produits de digestion intermédiaire, tels que les concentrations d'acides gras volatils (AGV). La toxicité se manifeste par une cessation totale de l'activité méthanogène (Calli et al., 2005; Sung et Liu, 2003). Un digesteur anaérobie présente certaines similitudes avec le rumen des bovins. Dans le rumen, l'absorption de l'ammoniac à travers la paroi du rumen semble empêcher l'apparition de concentration inhibitrices (Chaucheyras-Durand et al., 2008). La stabilité d'un processus anaérobie dépend du maintien d'un équilibre biochimique délicat entre les microorganismes acidogènes et méthanogènes. L'instabilité de la digestion anaérobie peut être due à l'accumulation de concentrations d'AGV avec une diminution concomitante de la production de méthane. Une telle situation instable peut résulter des niveaux de TAN. jusqu'à 1500–7000 mg/L (Hejnfelt and Angelidaki, 2009).

## **1.6 Le mode de fonctionnement : Fonctionnement continu ou discontinu**

La digestion anaérobie peut être mise en œuvre soit en continu, soit par lots. Pendant le fonctionnement par lots, la biomasse est ajoutée au digesteur avec l'inoculum (matériel précédemment digéré avec une population de microbes méthanogènes) et reste dans le système pendant la durée de la digestion. Le fonctionnement en continu, dans lequel le substrat est constamment ajouté au réacteur, peut être mis en œuvre de deux manières : dosage en continu du substrat mélangé, dans lequel la cuve est agitée en continu et le substrat ajouté au même débit que le digestat est éliminé, ou le dosage en substrat à écoulement continu. Contrairement au dosage de substrat mélangé en continu, pendant le dosage à écoulement piston, tout le substrat reste dans le digesteur pendant la même durée (entrée/sortie séquentielle) (Farrow).

Dans un système continu, le digestat est constamment éliminé et le biogaz est produit systématiquement. Les digesteurs stables fonctionnant selon un schéma posologique continu auront tendance à se stabiliser; à ce moment, le dosage du substrat et la production de biogaz resteront constants (Farrow).

Pendant le fonctionnement par lots, la production de biogaz a tendance à suivre une distribution normale ou gaussienne, avec un pic après la stabilisation des populations microbiennes dans le digesteur et une diminution après la décomposition de la majorité de la matière organique (Farrow) .

## **1.7 Le rapport déchet/inoculum :**

L'inoculation, en relation avec la digestion anaérobie, est un processus par lequel un substrat est mélangé avec un matériau préalablement digéré pour fournir une population initiale de bactéries/archaea.(Di Maria et al., 2012) ont rapporté les effets du rapport déchets/inoculum lors de la digestion de la fraction organique des déchets solides municipaux (OFMSW). Des rapports déchets/inoculum compris entre 1: 1 et 1: 3 ont été étudiés. Les résultats ont montré une augmentation de la production d'énergie de 100 kWh / tonne à 380 kWh / tonne de fraction de masse organique. Cependant, l'augmentation de la teneur en inoculum augmente les coûts d'exploitation, car une augmentation du pourcentage d'inoculum entraîne une augmentation de la taille des réacteurs ainsi que des coûts de chauffage. L'optimisation économique a montré que le rapport idéal entre déchets et inoculum était compris entre 1: 1,5 et 1: 2,5 (Di Maria et al., 2012).

### **1.8 Le Rapport Carbone/Azote (C/N) :**

Le carbone et l'azote sont deux sources importantes de nourriture pour les bactéries anaérobies, pour la production d'énergie, et également pour la construction de la nouvelle structure cellulaire (Jain et al., 2015). Le processus de digestion anaérobie est sensible au rapport (C/N) qui indique le niveau de nutriments d'un substrat (Mao et al., 2015). Un rapport C/N élevé entraînera une insuffisance d'azote pour maintenir la biomasse cellulaire et un manque d'apport d'azote ammoniacal dans le digesteur (Mao et al., 2015). En revanche, un faible rapport C/N conduira à une possible inhibition de Archae par le  $\text{NH}_4^+$  dans le digesteur (Mao et al., 2015). Le rapport optimal C/N dans la digestion anaérobie se situerait entre 20 et 35, le rapport 25 étant le plus utilisé (Mao et al., 2015; Panichnumsin et al., 2010).

### **1.9 L'agitation :**

L'agitation est parmi les paramètres clé du bon fonctionnement du processus de fermentation, puisqu'une agitation optimisée permet d'assurer une bonne homogénéisation du mélange et de favoriser ainsi le contact entre les microorganismes et le substrat, pour une meilleure dégradation de la matière organique (Hajji and Rhachi, 2016). L'agitation n'est pas toujours continu; il est souvent intermittent et peut être actif plusieurs fois par jour ou plusieurs fois par heure, avec des apports énergétiques de 10 à 100 W hm<sup>3</sup>, déterminés par le type de réacteur, le type d'agitateur utilisé et la valeur totale en solides de la matière première (Burton and Turner, 2003). Pour mélanger le contenu d'un réacteur, des hélices peuvent être utilisées si la matière première présente une viscosité suffisamment basse. Certains réacteurs à l'échelle pilote ont utilisé une vis dans un tube central pour effectuer un mouvement descendant, tandis que certains digesteurs européens utilisent un principe similaire pour effectuer le mouvement ascendant à partir d'une hélice située au bas du digesteur, à travers un tube d'aspiration central. Pour éviter le besoin de pièces mobiles dans le réacteur, la recirculation du biogaz par le bas du réacteur ou le mélange hydraulique par recirculation du digestat avec une pompe peuvent être utilisés pour obtenir un mélange adéquat (Ward et al., 2008).

## **3. Les types des digesteurs utilisés dans la digestion anaérobie :**

### **.3.1 Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB)**

Les systèmes de couverture de boues anaérobies à flux ascendant (UASB) sont des digesteurs à taux de croissance élevé, utilisés de manière conventionnelle pour le traitement des eaux usées. Les UASB fonctionnent sur la base de la formation d'une couverture de boue granulaire en suspension dans le réservoir. Le flux ascendant des déchets, compensé par la sédimentation

causée par la gravité, entraîne la suspension de microorganismes anaérobies dans le digesteur. À l'aide de flocculant, des granulés de boues recouverts de bactéries anaérobies se forment. Après la maturation (typiquement 3 mois), les granules de boues forment des biofilms compacts. Les UASB ne peuvent pas être utilisés avec des substrats fortement solides tels que le fumier, car il est impossible de suspendre les micro-organismes dans le digesteur avec un flux d'influent solide (Farrow).

### **.3.2 Bioréacteurs à membranes anaérobies (MBR)**

Les bioréacteurs à membrane (MBR) consistent en un processus membranaire associé à un digesteur de croissance en suspension. Les MBR sont conçus pour avoir un diamètre de pore membranaire inférieur à celui des archaea anaérobies ; Donc, maintenant, une grande population de microbes dans le réacteur. Les MBR peuvent être configurés avec une membrane interne/immergée ou une membrane externe/latérale. Ce dernier nécessite une étape de pompage intermédiaire pour déplacer le substrat vers une unité de filtration à membrane séparée. Les MBR sont couramment utilisés pour le traitement des eaux usées et des déchets solides à faible teneur en matières solides, car les particules présentes dans le flux entrant peuvent obstruer la membrane. Les MBR ne conviennent pas aux applications de digestion à haute teneur en solides (Farrow).

### **.3.3 Réacteurs à cuve agitée en continu (CSTRs)**

CSTR est le digesteur le plus couramment utilisé pour le traitement anaérobie des déchets d'animaux. Du matériel frais est mélangé avec du matériel partiellement digéré tout au long du processus. Généralement, un moteur externe fournit un couple pour un agitateur situé dans le digesteur. Cependant, cette méthode d'agitation n'est possible que pour les substrats à faible viscosité (4-12% MS) (MAAARO, 2013) et, par conséquent, convient à la plupart des lisiers. Un mélange efficace facilite le transfert de masse entre la biomasse microbienne active et la matière première, la libération des bulles de gaz piégées dans le milieu et empêche la sédimentation des particules particulières (Ward et al., 2008). Le substrat est alimenté à un taux fixe et le digestat est éliminé simultanément. L'effluent d'un CSTR contient des composants en proportion de leur population en solution (Farrow). Par conséquent, une partie de l'effluent est un substrat incomplètement digéré. Une alternative aux mélangeurs à hélice est le mélangeur à tube à vis, qui convient aux substrats plus visqueux. Des régimes d'agitation par tube à vis sont utilisés dans 90% des digesteurs anaérobies à la ferme actuellement en activité en Allemagne (Weiland, 2010).



## **4. La co-digestion :**

La codigestion anaérobie est un processus où deux ou plusieurs substrats et mélanges de co-substrats sont anaérobiquement dégradés. L'utilisation d'une variété de substrats rend le processus plus stable. De nombreux chercheurs ont hâte d'étudier la codigestion en utilisant divers mélanges de déchets industriels, agricoles, et municipaux (Tasnim et al., 2017). La principale préoccupation du processus de codigestion est l'amélioration de la production de biogaz et de méthane. De plus, la codigestion peut améliorer la stabilisation des processus, l'équilibre des nutriments et les effets synergiques des micro-organismes, et peut réduire les émissions de gaz à effet de serre et les coûts de traitement (Henard et al., 2017). Quelques caractéristiques clés, comprenant les caractéristiques du co-substrat, les inhibitions provoquées par le co-substrat et le taux de charge organique, peuvent influencer librement le système de codigestion (Xie et al., 2016). Un choix inapproprié de co-substrats, compositions et états de fonctionnement peut entraîner un déséquilibre du système et réduire la génération de méthane. Par conséquent, un modèle mathématique complet de codigestion est obligatoire pour la recherche à l'échelle du laboratoire et la conception et l'exploitation à grande échelle. La modélisation mathématique du processus de codigestion peut prévoir les impacts de la proportion de mélange de deux co-substrats ou plus, des charges organiques et de la technique de choix des eaux usées, et peut minimiser la consommation d'énergie et le temps de la procédure (Poggio et al., 2016) .

Plusieurs travaux scientifiques parlant de la codigestion des déchets liquides et solides ont été publiés. Des auteurs montrent que la codigestion des déchets de pommes de terre et des déchets de porcs génère le maximum de méthane tandis que la co-digestion du fumier de vache et des déchets de poulet donne un minimum de méthane sous état mésophile (Siddique and Wahid, 2018). (Cavinato et al., 2010) montrent que le rendement en méthane et la performance du processus ont été significativement améliorés lorsque les cultures énergétiques codigérées avec du fumier, mais un faible rendement en méthane lorsqu'elle est digérée toute seule (Hinken et al., 2008; Pobeheim et al., 2010). Une autre étude montre que le processus de codigestion des boues d'épuration avec des porcs à 30% a considérablement augmenté la production de biogaz de près de 40%, par rapport à celle des boues d'épuration seules (Borowski et al., 2014).

### **.4.1 Les facteurs affectant la codigestion anaérobie**

Les performances optimales de la digestion anaérobie dépendent de plusieurs paramètres. Pour l'optimisation de la technique de génération de méthane du système de codigestion, les

propriétés chimiques des eaux usées, les paramètres de fonctionnement (température, pH, taille des particules, rapport C/N, le taux de charge organique et le temps de rétention hydraulique, etc.), les tests de Potentiel Biochimique de Méthane (PBM) seront les paramètres clés. De plus, des conditions stables sont nécessaires pour maximiser les performances des microbes pour la production de biogaz à l'intérieur du réacteur. L'application de modèles mathématiques conjointement avec ces paramètres peut maximiser la production de méthane à partir du système de codigestion (Siddique and Wahid, 2018).

## *Partie II : La problématique des margines*

# **I. Problématique environnementale générée par les margines :**

## **1. Gisement en margines :**

La qualité et la quantité des margines dépend de plusieurs facteurs, notamment le processus d'extraction de l'huile, du taux de maturation du fruit et de sa variété, ainsi que des conditions climatiques. Dans les provinces de Béni-Mellal et de Fkih Ben Salah on estime que la production de 8074.94 tonnes d'huiles d'olive par ans est accompagnés de 24917.63 tonnes des margines.

## **2. La composition et les caractéristiques physico-chimiques des margines :**

Les margines présentent une composition plus au moins variable et qui dépend du type de processus, des procédures opérationnelles locales, de la maturité des fruits, du temps de stockage, et de la méthode d'extraction de l'huile. Les margines sont en effet des effluents très acides, avec des valeurs de pH comprise entre 4.0 et 6.5, ils se caractérisent par un couleur dense qui varie du brun au noir en fonction du stade de dégradation, de l'origine olive et de la quantité de matière solide et de composés phénoliques (Hamdi, 1993). Les margines contiennent généralement plus de polluants organiques et de phénols. Ils se caractérisent également par des quantités élevées de DCO pouvant atteindre 178g/L, et par un faible rapport de biodégradabilité de la DBO5/DCO en raison de la présence de composés phénoliques toxiques excessifs (Asses et al., 2009; Neffa et al., 2014).

Plusieurs études ont révélé une carence des margines en azote et en phosphore pour un traitement anaérobie efficace (Gunay and Karadag, 2015). Ils ont généralement une faible teneur en azote inférieure à 0,2% de DCO, tandis que l'ion ammonium varie de 5,5% à 45% (Gianico et al., 2013). Tandis que les quantités de  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ , et  $Fe^{2+}$  changent en raison de la méthode d'extraction de l'huile, de la nature des sols, de l'engrais et de la qualité de l'eau utilisée en extraction (Gunay and Karadag, 2015).

## **3. Toxicité des margines :**

Les eaux résiduaires de l'industrie oléicole « les margines » sont des eaux qui ne sont pas toxique pour l'être humain. Par contre, ces eaux paraissent avoir une certaine toxicité pour la microflore et la faune aquatique. Les margines sont des effluents contenant plusieurs composés phénoliques qui sont responsables de leur coloration noire, et qui ont des propriétés phytotoxiques et antimicrobien (González et al., 1990) . D'après (Perez et al., 1986) l'effet inhibiteur des margines est particulièrement prononcé contre la sporulation des bactéries du sol.

Certains composés phénoliques inhibent la croissance des bactéries en dénaturant leurs protéines cellulaires, en abîmant leurs membranes et en affaiblissant leur tension superficielle, ce qui augmente l'action antibactérienne (IBOUKHOULEF, 2014).

#### **4 Impact sur le milieu naturel :**

Les margines sont des eaux acides extrêmement chargées en matière organique particulièrement les composées phénoliques qui exercent une activité antibactérienne et phytotoxique trop élevée. (Benlemlih, 2003) rapporte qu'un mètre cube des margines provoque une pollution égale à celle de 1 500 personnes en un jour. D'autant plus que le taux de matières en suspension est 100 fois supérieur à celui des eaux usées domestiques. (Cossu et al., 1993) ont montré également que la DCO des margines est 200 à 400 fois supérieure à celle d'une eau usée typiquement municipale. Le rejet de ces eaux posent un sérieux problème environnemental surtout dans les pays du bassin méditerranéen, ils diminué la concentration de l'oxygène dissous dans le milieu aquatique. Les composés phénoliques s'oxydent facilement par l'oxygène du milieu en subissant une qu'ionisation, ce qui rend l'environnement irrespirable avec une asphyxie de toute vie aquatique (Benlemlih, 2003). Ce phénomène entraîne donc une dégradation de la qualité des eaux de surface en inhibant le développement des microorganismes spécialement les bactéries (Capasso et al., 1995).

D'un autre côté, L'épandage direct des effluents d'huileries d'olive sur les sols provoque un colmatage des sols et une diminution de leur qualité. Les composés phénoliques, les acides organiques, le pigment catécholamélaninique et la haute salinité (conductivité élevée) peuvent causer des effets phytotoxiques sur les oliviers (F.A.O, 1983) ; provoquent une diminution de la matière sèche, diminuant la disponibilité de l'azote, en plus de leur toxicité pour certains micro-organismes. Les acides, les éléments minéraux et les substances organiques aboutissent à une destruction de la capacité d'échange cationique du sol (CEC), par la suite, une réduction de la fertilité du sol. Ainsi que La forte acidité des margines a un impact négatif sur le sol et ses constituants. La microflore bactérienne du sol peut être détruite suite à l'acidification du milieu. Par ailleurs le caractère visqueux des margines entraîne la formation d'un dépôt huileux qui provoque l'imperméabilisation du sol dans un premier lieu et son asphyxie par la suite.

## **II. Les procédés de traitement des margines :**

La gestion des déchets des huileries (les margines) est un enjeu majeur pour la préservation de l'environnement et de la santé humaines. Afin de le préserver, il est nécessaire de mettre en place

des moyens considérables et qui répondant aux normes exigées pour le stockage, le traitement, et ou la valorisation de ces déchets. Jusqu'à présent la plupart des propriétaires des unités d'extraction d'huile d'olive ne sont pas informés ou ignorent les effets dangereux du rejet des margines dans l'environnement.

## **1. Les traitements biologiques :**

Les traitements biologiques des eaux usées sont les processus les plus appliqués dans le monde entier. Ils sont considérés comme respectueux de l'environnement, fiables, et dans la plupart des cas rentables. Le traitement biologique est capable d'éliminer la matière organique et les nutriments inorganiques, mais des précautions doivent être prises dans la sélection des micro-organismes utilisés et dans leur adaptation au traitement des margines, car les substances phénoliques inhibent les micro-organismes (Paraskeva and Diamadopoulos, 2006). Les méthodes les plus couramment étudiées sont ;

### **1.1 Traitement aérobie :**

Le traitement aérobie est une technologie couramment utilisée dans le traitement des eaux usées. La difficulté de traitement des margines par ce processus réside dans le fait que les margines en des concentrations élevées de matière organique, et de composés phénoliques, donc pour que le processus ne soit pas inhibé les margines doivent être diluées avant de procéder à leur traitement soit avec de l'eau soit avec des eaux usées domestiques.

(Benitez et al., 1999, 1997) ont examiné la dégradation aérobie des margines dans un réacteur à boues activées discontinu complètement mélangé après adaptation des micro-organismes . Des taux d'abattement de DCO de l'ordre de 58 et 68% ont été observés pour des DCO initiales correspondantes de 65 à 98 g.L-1, et des réductions entre 81 et 84% pour une DCO initiale de 22 g.L-1. L'élimination du phénol était de 90% dans toutes les expériences. Des taux d'élimination de la DBO5 de 45 à 77% pour des temps de rétention de 2.5 à 4.5 jours ont également été signalés.

Un système de zone humide construit à écoulement horizontal souterrain à l'échelle pilote a été étudié pour le traitement des margines et il a été montré qu'une dilution de 1:10 des margines prétraité physico-chimiquement a permis d'obtenir une réduction de DCO et des phénols de l'ordre de 74.1% et 83.4% respectivement. La recirculation de l'effluent a encore amélioré les performances du système (del Bubba et al., 2004).

## 1.2 Traitement anaérobie :

Le traitement anaérobie est le procédé le plus utilisé pour le traitement des margines à cause de leur charge élevée en matière organique, mais la stabilité d'un réacteur anaérobie pourrait être maintenue par des niveaux adéquats d'alcalinité, mais dans la plupart des cas, les margines n'ayant pas une alcalinité suffisante, donc l'ajout des produits chimiques alcalins tels que,  $\text{Ca(OH)}_2$  (Azbar et al., 2009),  $\text{NaHCO}_3$  (Gharsallah et al., 1999) , et  $\text{Ca(HCO}_3$ ) (Dareioti et al., 2009), l'ajout d'ammonium, et ou bien le co-traitement des margines avec des eaux usées alcalines est nécessaire.

La digestion anaérobie des margines présente aussi le problème qu'ils sont connue depuis longtemps par l'influence de plusieurs paramètres, tels que, le pH, la faible teneur en azote, et la concentration élevé en composés phénoliques, donc des sources externes d'azotes, ou bien le mélange des margines avec des autres déchets riches en nutriments améliore considérablement les performances des réacteurs (Gunay and Karadag, 2015), réduit les problèmes d'inhibition et de fonctionnement.

Plusieurs études ont été réalisées afin que cette digestion anaérobie déroule dans les meilleurs conditions, parmi les biotechnologies étudiées on peut citer :

La codigestion des margines avec certains résidus agro-alimentaires tels que lactosérum du fromage et le lisier de poules pondeuse a été étudiés utilisant la méthode de Potentiel Biochimique de Méthane (PBM). Elle a été démontré que la codigestion des margines avec le lisier de poules pondeuse améliore la production de biogaz de 2.56, 2.06, et 1.93 pour les concentrations 3, 10, et 30 g/l (Azbar et al., 2009).

Dans une autre étude une digestion anaérobie des margines avec le lisier de volailles ont été réalisée en utilisant un procédé à deux étapes. Dans la première étape des tests de PBM ont été réalisé on mode discontinue et sous différentes rapports de mélange margines/lisier de volailles. Les meilleurs rendements de production de biogaz et de biodégradabilité ont été obtenus avec des proportions de lisier de volailles de 10% et 30%. Afin de définir le rapport de mélange le plus efficace et de déterminer le rendement de réacteur sous différentes charges organique, un test de confirmation a été mis en place dans un réacteur de type JLR on mode semi-continue, ils ont trouvés que la codigestion de 70% des margines avec 30% lisier de volaille donne les meilleurs rendements on méthane (Khoufi et al., 2015).

Une autre étude est menée sur l'effet du rapport C/N sur la digestion anaérobie des margines brute et diluée ont été réalisées. Trois rapports C/N ont été étudiés (25, 30, et 13) en utilisant de l'urée comme source d'azote. Les résultats montrent que l'augmentation du rapport C/N augmente le taux de dégradation des substances organiques et de l'activité méthanogène (Benlemlih, 2003).

## **2. Les traitements physiques :**

Des simples processus physiques tels que la dilution, l'évaporation, la distillation, la centrifugation, et la filtration ont été utilisés pour le traitement des margines, mais aucun de ces processus seul ne peut réduire à des limites acceptables la charge organique, et la toxicité des margines.

La dilution est très souvent utilisée avant le traitement biologique pour réduire la toxicité par rapport aux micro-organismes responsables de la dégradation de la matière organique. L'évaporation et la sédimentation peuvent concentrer les margines à des proportions de 70 à 75%, ce qui nécessite des traitements supplémentaires. De plus le problème des odeurs dans les zones ouvertes de sédimentations et d'évaporation (Paredes et al., 1999; Ursinos and Padilla, 1992). L'application de la distillation solaire des margines a montré que le taux d'abattement de la DCO est de 80% dans le distillat, alors que la teneur en eau du concentré était de 15% pour un temps de rétention de 9 jours (Potoglou et al., 2004). La centrifugation et la filtration augmentent le pH et la Conductivité et éliminent les matières organiques par séparation et exclusion des phases respectivement (Paraskeva and Diamadopoulos, 2006).

Pour les méthodes de traitements thermiques irréversibles telles que la combustion, la co-combustion et la pyrolyse ont également été étudiés comme des moyens permettant la transformation énergétique. Pour la combustion et la pyrolyse présentent les avantages de réduire le volume des déchets et de permettre la récupération d'énergie, mais elles nécessitent des installations coûteuses et peuvent entraîner l'émission de substances toxiques dans l'atmosphère (Paraskeva and Diamadopoulos, 2006).

Habituellement, une combinaison de processus physiques ou souvent une combinaison de processus physiques associée à des technologies de coagulation/floculation ou d'adsorption conduit à une élimination plus efficace de la matière organique. L'application d'une sédimentation suivie d'une centrifugation puis d'une filtration (Al-Malah et al., 2000) a montré qu'après la centrifugation, la DCO était réduite de 21% et la DBO5 de 15%. Une filtration



supplémentaire n'a éliminé aucune DCO, mais une réduction supplémentaire de 16% de la DBO5 a été observée. L'adsorption des margines sur de l'argile activée a permis une réduction de la DCO et de la teneur en phénol de l'ordre de 71% et de 81% respectivement. L'équilibre d'adsorption/désorption nécessite des précautions particulières, car les matières organiques et les phénols commencent à se désorber après un certain temps de contact. La combinaison de quatre étapes de traitement, à savoir la décantation, la centrifugation, la filtration et l'adsorption sur charbon actif (Azzam et al., 2004), a permis d'obtenir une élimination maximale du phénol de 94% et une élimination maximale de la matière organique de 83%. Une étude de l'effet du traitement à la chaux sur différents types des margines après un processus classique de coagulation/floculation/sédimentation/filtration (Aktas et al., 2001), utilisant une gamme de doses de chaux allant de 10 à 40 g.L<sup>-1</sup>, a révélé que le dosage de la chaux correspondant à une augmentation du pH de 12 a donné les performances optimales, aboutissant à une élimination de 62 à 73% de phénol selon le procédé utilisé pour l'extraction de l'huile d'olive. On a également observé plus de 40% d'élimination de la DCO et environ 95% d'élimination de graisse et d'huile.

..

### *Partie III : Problématique du fumier de volailles*

# I Le gisement en fumier de volailles :

Les données de la production potentielle en fumier de volailles ont été collectées auprès de l'Office National de Sécurité des produits Alimentaires. Ils ont montrées que les provinces de Béni-Mellal et Fkih Ben Saleh disposent d'un potentiel mobilisable estimé à environ 21685,96 Tonnes/an de fientes de volailles.

Tableau 1: Le potentiel en fumier de volaille selon les provinces.

Les provinces	Type d'activité	Nombre de bâtiment	Nombre de tête/an	Fumier t/an
Béni-Mellal	Poulet de chair	134	4559200	8206.56
Fkih Ben Saleh	Poulet de chair	276	7488800	13479.4

## II Caractérisation de fumier de volaille :

Les caractéristiques physiques du fumier de volaille varient en fonction des méthodes utilisées pour élever la volaille, notamment : régime alimentaire, pratiques de logement et matériaux de literie. L'une des exploitations avicoles les plus courantes est la production de poulets à griller (appelés poulets de chair), dont le poids sur le marché varie de 1,8 à 1,9 kg (Salminen and Rintala, 2002). Au cours de la production de poulets de chair, la production de litière (matières fécales et litière) est d'environ 2 kg/poulet de chair (Salminen and Rintala, 2002).

Le fumier de volaille contient des quantités considérables d'éléments nutritifs tels que l'azote, le phosphore et d'autres substances excrétées telles que les hormones, les antibiotiques, les agents pathogènes et les métaux lourds introduits par l'alimentation animale (Alexandratos). La lixiviation et le ruissellement de ces substances peuvent potentiellement contaminer les eaux de surface et les eaux souterraines.

### 1. Les nutriments :

Les animaux élevés dans les systèmes de productions intensives consomment des quantités considérables de protéines et de substances azotés. La conversion de l'azote alimentaire en produits animaux est relativement inefficace, 50 à 80% de l'azote est excrété (J. Arago et al., 2001). Les émissions d'azote provenant du fumier prennent quatre formes principales : l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ), le diazote ( $\text{N}_2$ ), l'oxyde nitreux ( $\text{N}_2\text{O}$ ) et le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). Pour le phosphore

est un élément essentiel pour la croissance des animaux. Contrairement à l'azote, le phosphore est relativement stable une fois attaché aux particules du sol et ne pénètre pas par le sol dans les eaux souterraines. Il ne pose aucun risque pour l'environnement sauf en tant que nutriment ; il limite l'activité biologique dans les ressources en eau et s'accumule dans le sol lorsqu'il est appliqué en excès. Les émissions de phosphore provenant du fumier se présentent sous une forme principale: le phosphate ( $P_2O_5$ ) (Gerber et al.).

## **2. Les métaux lourds :**

Le fumier de volailles contient des quantités appréciables de métaux potentiellement toxiques tels que l'arsenic, le cuivre et le zinc (Bolan et al., 2004). Lorsqu'ils sont en excès, ces éléments peuvent devenir toxiques pour les plantes, nuire aux organismes qui se nourrissent de ces plantes et pénétrer dans les systèmes aquatiques par le ruissellement et la lixiviation en surface (Gupta and Charles, 1999). Pour les oligo-éléments sont introduits dans les régimes alimentaires des volailles, soit involontairement par le biais d'aliments contaminés, soit volontairement, en tant qu'additifs alimentaires pour répondre aux besoins des animaux ou, dans des proportions beaucoup plus grandes, en tant que médicaments vétérinaires ou facteurs de croissance(Gerber et al.).

## **3. Les agents pathogènes :**

Le fumier contient également des agents pathogènes, en particulier s'ils sont mal gérés. Les parasites tels que *Cryptosporidium* et *Giardia* spp. peut facilement se propager du fumier à l'eau et peut rester viable dans l'environnement pendant de longues périodes (Gerber et al.)

## **III Fumier de volaille : Impact environnemental :**

La gestion de fumier de volaille est une préoccupation importante dans les grandes fermes de notre pays. La pollution du sol et de l'eau par les éléments nutritifs, les agents pathogènes, et les métaux lourds est généralement causée par une mauvaise gestion du fumier et se produit là où le fumier est entreposé.(Gerber et al. 2005) résumant certains des principaux impacts potentiels de l'élevage intensif sur les terres et les ressources en eau :

- eutrophisation des eaux de surface, causée par l'apport de substances organiques et d'éléments nutritifs provenant des eaux usées de production, des eaux de ruissellement ou des fuites provenant des installations de stockage et de manutention - affectant les écosystèmes aquatiques et la qualité de l'eau potable.

- lessivage des nitrates et transfert possible d'agents pathogènes dans les eaux souterraines - nuisant à la qualité de l'eau potable.

- accumulation d'éléments nutritifs et d'autres éléments dans le sol en raison de l'application continue de quantités excessives de fumier.

- impacts de la pollution sur les écosystèmes sensibles aux nutriments, entraînant une perte de biodiversité.

Dans la plupart des cas, les changements structurels dans le système de production ont un impact plutôt négatif sur les pratiques de gestion du fumier. En particulier, l'augmentation de l'échelle de production et la concentration géographique à proximité des zones urbaines entraînent des déséquilibres dramatiques terres/bétail, entravant les options de recyclage du lisier. En effet, dans de telles conditions, les coûts de transport associés au transport du fumier sur le terrain sont prohibitifs.

Aussi les mauvaises odeurs provenant des installations avicoles sont une source qui attire les mouches, les rongeurs et autres parasites qui créent des nuisances locales et sont porteurs de maladies. L'odeur provenant des opérations d'alimentation animale n'est pas causée par un composé unique, mais plutôt par un grand nombre de composés contributifs, notamment l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ), les composés organiques volatils (COV) et le sulfure d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ) (IEEP 2005).

#### **IV La gestion du fumier de volaille :**

Actuellement, les techniques de gestion du fumier de volaille les plus largement appliquées sont l'épandage, le compostage et l'incinération (Abouelenien et al., 2009). Le fumier aussi est soit recyclé sur des terres cultivées appartenant à l'élevage, soit collecté par un transformateur qui le revend brut, ou bien il le transforme en compost ou en granulés utilisés comme aliment pour animaux, en particulier pour les poissons et les bovins.

L'incinération est un processus de destruction thermique qui a généralement des taux d'inactivation microbienne très élevés (Salminen and Rintala, 2002). Cependant, la production de Gaz à Effet de Serre (GES), ainsi que de dioxines et de furannes, rend ce processus indésirable du point de vue environnemental.

Le compostage, processus de décomposition aérobie, est généralement effectué au sein d'andains ou de réacteurs. Les émissions de GES, de phosphates et d'autres contaminants dans

l'air, l'eau et le sol sont des risques importants associés au compostage (Carucci et al., 2005; Salminen and Rintala, 2002). De plus, l'émission de composés ammoniacaux volatils lors du compostage peut réduire la teneur en azote du produit, réduisant ainsi la valeur du compost en tant qu'engrais.

## **1. La digestion anaérobie du fumier de volailles :**

La digestion anaérobie du fumier de volailles est rarement mise en œuvre en raison de trois obstacles majeurs :

- Le premier est l'hétérogénéité du substrat qui consiste dans la présence des plumes et d'autres particules de grande taille particulièrement non digestible entraîne des complications en ce qui concerne le mélange mécanique, ainsi que l'accumulation des matières non digestibles dans le digesteur.
- Pour le deuxième obstacle c'est la haute teneur en solides du substrat, la teneur élevée en matière du fumier de volailles est généralement supérieure à 25% de la matière solide, cela rend la digestion conventionnelle irréalisable sans la mise en œuvre de grande dilution, car l'utilisation de ce dernier entraîne souvent un processus économiquement irréalisable en raison des besoins les plus importants du digesteur.
- Le dernier obstacle est la teneur élevée en azote dont la concentration est comprise entre 3 à 5% N en poids sec, cela due principalement à la concentration élevée du fumier de volailles en acide urique, provoquant généralement une instabilité du procédé à cause de l'accumulation d'ammoniac et à l'ammonification ultérieure (inhibition des archées méthanogènes).

La digestion anaérobie sèche ou digestion anaérobie à l'état solide, a généralement lieu à des concentrations de matière sèche (MS) supérieure à 15% est constituée une alternative aux technologies de digestion conventionnelles. Cette digestion constitue une option économiquement viable pour la digestion du fumier de volailles.

En comparaison avec d'autres substrats tels que, le lisier, le fumier de bovins, les boues d'épuration, et les déchets alimentaires qui nécessitent peu ou pas de dilution pour obtenir un substrat pompable qu'on peut traiter que par digestion classique, le fumier de volailles à généralement un MS supérieure à 25% , nécessite une grande dilution pour être traité par digestion classique.

(Adderley et al., 1976) ont signalé que la température et la dilution optimales pour une meilleure fermentation du fumier de volailles étaient respectivement de 25°C et 2.5% en poids de solides totaux. Ils ont conclu que les taux de production de méthane et de stabilisation des déchets pourraient être améliorés en considérant la sensibilité des bactéries méthanogènes aux changements de température. Converse et al. (1977) ont étudié la performance d'un gros digesteur anaérobie dans le traitement du fumier de volaille. Dans l'étude, la production de méthane d'un digesteur anaérobie de 96.5 m<sup>3</sup> traitant du fumier de volaille à 35 ° C a été évaluée. L'étude a conclu que la production de gaz était de 55–74 m<sup>3</sup>.jours<sup>-1</sup>, avec une teneur en méthane de 55–63% pour une alimentation de 1,6–2,0 kg VS m<sup>-3</sup> jour<sup>-1</sup> avec des temps d'immobilisation de 30 à 52 jours. (Webb and Hawkes, 1985) ont mené une étude expérimentale sur la digestion anaérobie du fumier de volaille afin d'observer la variation du rendement en gaz en fonction de la concentration d'influent et des niveaux d'azote ammoniacal. Ils ont constaté que les rendements en gaz pour la litière de volaille étaient de 0,245 à 0,372 m<sup>3</sup> de biogaz kg<sup>-1</sup> VS à des temps de rétention de 29 et 12 jours et que les concentrations de VS dans l'influent étaient de 4 et 1%, respectivement. L'étude a également révélé qu'à 37 °C, à un TRS de 30 jours et 2,53% de VS entrant, une valeur de 0,627 m<sup>3</sup> de biogaz par kg de VS avait été obtenue dans la littérature.

(Kalyuzhnyi et al., 1998) ont effectué des recherches à l'échelle de laboratoire utilisant deux réacteurs de type UASB, dont le volume de travail est de 2.6L, pour but d'examiner l'adéquation des réacteurs au prétraitement de la fraction liquide du fumier de volaille en terme d'efficacité du traitement sur la réduction totale de la DCO et la production du méthane. Dans cette étude la température de fonctionnement des réacteurs a été maintenue à 35°C. les deux réacteurs ont étéensemencés avec 800 mL ( environ 35g de matière solides en suspension volatiles) de boues provenant d'un réacteur UASB traitant des eaux usées synthétiques ( glucose-acétate), l'étude a révélé que le taux de production de biogaz au niveau du taux de la charge organique était de 11 à 12 g de DCO L<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup> et THS de 1 à 2 jours était d'environ 3,5 à 3,6 L<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup> avec une teneur en méthane de 79–81% et un pH des effluents d'environ 8. Donc, les deux réacteurs ont démontré une stabilité de fonctionnement optimale avec un traitement efficacité (TE) de 70–75% sur la réduction totale de la DCO.

## **V. La Qualité du digestat à usage agricole :**

De point de vue environnemental et économique, l'application de digestat issue de la dégradation anaérobie de la matière organique en tant qu'engrais organique ou amendement du sol, semble être la meilleure option pour son recyclage, car il contient des quantités importantes de nutriments (Albuquerque et al., 2012a; Astals et al., 2012). De plus dans certains cas, la vente du digestat peut générer des revenus supplémentaires. Les propriétés du digestat sont conditionnées par la matière première, le développement du processus anaérobie dans le digesteur et le post-traitement du digestat. Dans certains cas, le principal risque qui affecte la qualité du digestat est l'ajout d'un co-substrat au digestat instable (restant une concentration élevée de matière organique facilement biodégradable), car la stabilité du digestat est un facteur primordial, l'utilisation de digestats instables peut provoquer une immobilisation de l'azote et / ou un épuisement de l'oxygène en raison d'une augmentation excessive de l'activité microbienne du sol (Albuquerque et al., 2012b, 2012a). Néanmoins, il y a peu de consensus sur les paramètres et les seuils à utiliser pour évaluer la stabilité du digestat. Bien que de nombreux paramètres aient été suggérés comme indicateurs de la stabilité du digestat, pour les déchets semi-solides, les indices respirométriques semblent plus adéquats (Astals et al., 2012). Plus précisément, la stabilité du digestat a été évaluée par la demande biochimique en oxygène sur 5 jours ( $DBO_5$ ) (Albuquerque et al., 2012a; Astals et al., 2012, 2013), par index respirométrique dynamique (Mata-Alvarez et al., 2014) et par le potentiel de post-méthanisation (Comino et al., 2010; Seppälä et al., 2013; Xie et al., 2012). Cependant, ces techniques prennent relativement beaucoup de temps et plusieurs efforts ont donc été déployés pour mettre au point des procédures plus rapides d'évaluation de la stabilité du digestat. Malgré ce fait, l'utilisation de digestat dérivés de la digestion anaérobie de fumier dans le sol peut dépendre de ses propriétés chimiques, de stabilité et d'hygiène.

Du point de vue de l'agriculture, des paramètres tels que le pH, la salinité, les nutriments et les métaux lourds sont les propriétés chimiques les plus importantes à prendre en compte. (Albuquerque et al., 2012c), ont évalué 12 digestats (6 fumier de poulets et 6 fumier de vache), et ont constaté que les digestats de fumier de poulets avaient des valeurs de conductivité supérieures à celles de vache, les ions Cl, Na et Ca ayant une concentration plus élevée. Il convient de noter que des doses élevées ou des applications continues de digestat à haute salinité peuvent entraîner une accumulation excessive de sel dans le sol, ce qui pourrait inhiber la croissance des plantes (Albuquerque et al., 2012c; Restrepo et al., 2013). En ce qui concerne les métaux lourds, (Demirel et al., 2013) ont signalé des concentrations élevées de Zn, Cu et Ni dans le fumier de volaille. La présence de ces métaux lourds est due à l'utilisation accrue



aliments commerciaux, qui contiennent de nombreux produits chimiques destinés à favoriser des taux de croissance optimaux et à prévenir les maladies du bétail. De manière générale, bien que cela dépende de la caractérisation du co-substrat, l'utilisation de déchets agro-industriels comme co-substrats peut aider à réduire la concentration de certains éléments (notamment les métaux lourds) (Demirel et al., 2013; Heaven et al., 2011).

## **VI. Les Etapes de la croissance bactérienne :**

La croissance microbienne se traduit par une augmentation en taille ou en nombre des microorganismes. Pour provoquer une croissance microbienne dans une culture, il faut fournir aux cellules initiales les nutriments nécessaires et des conditions environnementales favorables. Si les conditions sont favorables à la croissance, l'évolution de la population microbienne suit toujours le même profil.

La Figure 2 décrit la courbe de croissance d'une culture bactérienne et ses différentes phases (Delhalle et al., 2012) :

**1. la phase de latence ( $\lambda$ ) :** cette phase correspond à l'adaptation de l'inoculum ( $N_0$ ) à son nouvel environnement. Durant cette période, la vitesse de croissance est nulle ( $\mu = 0$ ),

**2. la phase d'accélération :** les bactéries commencent à se multiplier pour atteindre progressivement la vitesse maximum de croissance ( $\mu_{max}$ ) ( $0 < \mu < \mu_{max}$ ),

**3. la phase exponentielle :** la vitesse de croissance des bactéries est maximum ( $\mu = \mu_{max}$ ),

**4. la phase de décélération :** la vitesse de croissance devient progressivement nulle ( $\mu_{max} > \mu > 0$ ),

**5. la phase stationnaire :** la vitesse de croissance est nulle ( $\mu = 0$ ) et la culture atteint sa densité maximale ( $N = N_{max}$ ) avec, parfois, une phase ultérieure de décroissance de la population.

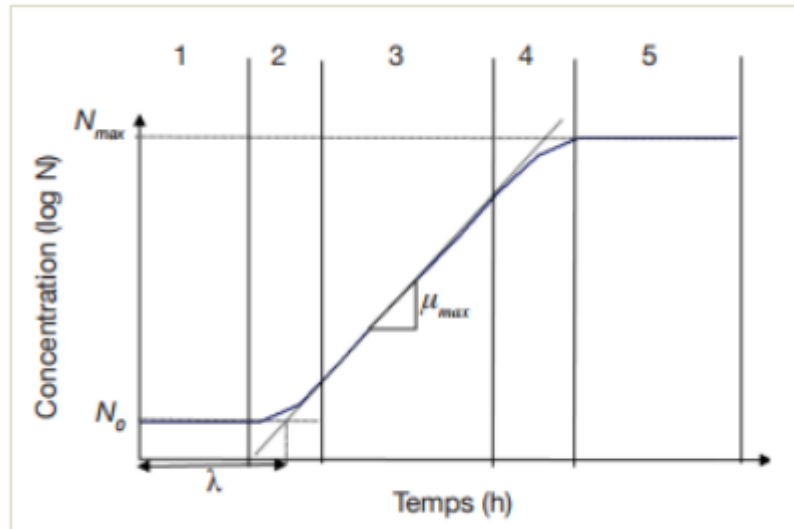


Figure 2: Etapes de la croissance d'une culture bactérienne

## VII. Cinétique de production :

La cinétique de production de biogaz représente la variation de la production en fonction du temps. Il se compose de modèles mathématiques modifiés pour introduire des paramètres biologiques dans le modèle. De nombreux modèles ont été utilisés pour évaluer la production cumulée de méthane. Le tableau ci-dessous donne une description de quelques-uns qui feront l'objet de nos travaux de recherche.

**Tableau 2:Description des modèles production cumulée de méthane**

Modèles	Description du Modèle	Observation	Avantages	Inconvénients
<b>Logistique (articles et Puissance, 2017 ; Altas, 2009 ; Li et al., 2012 ; Kafle et Chen, 2016)</b>	La fonction logistique correspond à la forme globale de production cinétique de méthane, une première augmentation exponentielle et une stabilisation finale au niveau maximum de production. Ce modèle suppose que le taux de production de méthane est proportionnel à la quantité de méthane produite. Le modèle néglige certains paramètres physico-chimiques et donne une estimation du retard de phase. L'utilisation de ce modèle en fonction de la température ou du pH optimal, permet de réduire le temps de retard	Quatre paramètres d'entrée du modèle : 1. Production potentielle de méthane 2. Taux spécifique de production de méthane 3. Temps de retard de phase 4. Temps de digestion finale	Le modèle donne la production potentielle de méthane, la production maximale de méthane et le délai de production dans diverses conditions, sur la base de la courbe de production cumulée de méthane.	Difficile à mettre en œuvre avec des substrats complexes.
<b>Gompertz (Ware and Power, 2017 ; Altas, 2009; Jagadish et al.,</b>	Le méthane produit est fonction de la croissance bactérienne dans les digesteurs discontinus. L'équation de Gompertz modifiée lie la production cumulée de	Quatre paramètres d'entrée du modèle : 1. Potentiel de production de méthane	Le modèle donne le potentiel de production de méthane, la production maximale de méthane et le délai de production dans diverses conditions,	Difficile à mettre en œuvre sur substrat complexe

<p><b>2012; Kafle and Chen, 2016)</b></p>	<p>méthane et le temps de digestion par la production potentielle de méthane, le taux maximal de production de méthane et la durée de la phase de retard. Cette équation a été identifiée comme un bon modèle expérimental de régression non linéaire et couramment utilisée dans la simulation de l'accumulation de méthane. Ce modèle a les mêmes données d'entrée que la logistique et présente le même principe d'utilisation.</p>	<p>2. Taux spécifique de production de méthane 3. Temps de retard de phase 4. Temps de digestion finale</p>	<p>sur la base de la courbe de production cumulée de méthane.</p>	
<p><b>Transfert (articles et Puissance, 2017 ; Li et al., 2012)</b></p>	<p>Le modèle de transfert a la même forme que Gompertz ; la seule différence est le signe négatif au niveau exponentiel. Nous trouverons des courbes qui ont une distribution à deux membres : négative et positive.</p>	<p>Quatre paramètres d'entrée du modèle :</p> <p>1. Potentiel de production de méthane 2. Taux spécifique de production de méthane 3. Temps de retard de phase 4. Temps de digestion finale</p>	<p>Le modèle calcule la production potentielle de méthane, la production maximale de méthane et le délai de production dans diverses conditions, en fonction de la courbe de production cumulée de méthane.</p>	<p>La fonction de transfert prédit une production maximale de gaz basée exclusivement sur la production de CH<sub>4</sub>, en négligeant les autres gaz formés par le méthane.</p>

Tableau 3: Équations de modèles de production cumulée de méthane

Nom du modèle	Équations du modèle	Description des paramètres
<b>Logistique</b>	$y = A / (1 + \exp[-\frac{4 \cdot \mu m}{A} (\lambda - t) + 2])$	<p><b>y</b> : Production cumulée de méthane (mLCH<sub>4</sub>g<sup>-1</sup> SV<sup>-1</sup>)</p> <p><b>A</b> : potentiel de production de méthane (mLCH<sub>4</sub>g<sup>-1</sup> SV<sup>-1</sup>),</p> <p><b>μm</b> : taux spécifique de production de méthane en μm (mLCH<sub>4</sub>g<sup>-1</sup> SV<sup>-1</sup>j<sup>-1</sup>)</p> <p><b>λ</b> : temps de retard de phase (j),</p> <p><b>t</b> : temps d'incubation (j)</p>
<b>Gompertz</b>	$y = A \cdot \exp\left(-\exp\left[\frac{\mu m \cdot e}{A} (\lambda - t) + 1\right]\right)$	<p><b>y</b> : Production cumulée de méthane (mLCH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>SV<sup>-1</sup>),</p> <p><b>A</b> : potentiel de production de méthane (mLCH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>SV<sup>-1</sup>),</p> <p><b>μm</b> : taux spécifique de production de méthane (mLCH<sub>4</sub>g<sup>-1</sup>SV<sup>-1</sup>j<sup>-1</sup>)</p> <p><b>e</b> : exp (1) = 2 7182</p> <p><b>λ</b> : temps de retard de phase (j),</p> <p><b>t</b> : temps d'incubation (j),</p>
<b>Transfert</b>	$y = A \cdot \exp\left(-\exp\left[1 - \frac{\mu m \cdot e}{A} (\lambda - t)\right]\right)$	<p><b>y</b> : Production cumulée de méthane (mLCH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>SV<sup>-1</sup>),</p> <p><b>A</b> : potentiel de production de méthane (mLCH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>SV<sup>-1</sup>),</p> <p><b>μm</b> : taux spécifique de production de méthane (mLCH<sub>4</sub>g<sup>-1</sup>SV<sup>-1</sup>j<sup>-1</sup>)</p> <p><b>e</b> : exp (1) = 2 7182</p> <p><b>λ</b> : temps de retard de phase (j),</p> <p><b>t</b> : temps d'incubation (j),</p>



## **L'objectif du travail :**

L'objectif du présent travail est le traitement anaérobie des margines et du fumier de volaille dans l'optique d'une valorisation énergétique et agronomique.

L'étude se décompose en 3 parties principales :

- La première partie du travail consiste dans une première étape en la détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'ensemble du substrat étudié et de déterminer par la suite le pouvoir méthanogène de ces derniers. Dans une seconde étape d'étudier l'effet du mode opératoire sur la production journalière de biogaz.
- La deuxième partie du travail consiste en l'étude de l'effet de la recirculation du digestat sur la production de biogaz.
- Pour la troisième et la dernière partie est dédiée à l'étude de l'effet germinante, de l'aspect hygiénique, et à la caractérisation physico-chimique des digestats récupérés pour une valorisation agronomique de ces derniers.



***Chapitre I : Etude du Potentiel Biochimique de Méthane (PBM) et de l'effet du mode opératoire sur la production de biogaz :***

# I Introduction :

Au Maroc l'oléiculture a connue un développement important, elle occupe une superficie de plus de 1.07 million d'hectare, dont la production d'olive estimée à près de 2 millions tonnes, et de 200.000 tonnes d'huile d'olive au titre de l'accompagnement agricole 2018-2019, environ 4.03% de cette production est actuellement fournie par les provinces Béni-Mellal et Fkih Ben Saleh qui concentre environ 2000 plants d'olive. Avec le développement de ce secteur et la demande accrue en l'huile d'olive sur les marchés internes et externes et du fait que la plupart basés sur des processus discontinus qui produit d'énormes quantités d'eau usées qui est dont le rejet anarchique peut menacer l'environnement. Selon les statistiques régionales, le facteur d'impact sur l'environnement de l'industrie oléicole régionale est estimé à environ 6844.4 tonnes de DCO et à 614.21 tonnes de phénols totaux directement rejetés dans les cours d'eau et dans la nature.

Plusieurs procédés de traitement ont été étudiés afin de remédier le problème des margines, y compris : les technologies physiques, chimiques, et biologique, mais peu de procédés sont actuellement utilisés à grande échelle en raison des contraintes économiques. Parmi les traitements étudiés, la digestion anaérobie qui a été considérée comme l'une des traitements les plus prometteurs, car elle offre la possibilité de produire de l'énergie verte et de décomposer les composés toxiques contenus dans ces eaux usées et pourrait permettre une élimination sans danger pour l'environnement (Wu et al., 2019). Du fait que les margines sont très riches en carbone dissous avec une valeur de DCO allant jusqu'à 200 g/L ; ils sont donc considérés comme une source importante et attrayante de la bioénergie (Khoufi et al., 2015). Mais plusieurs facteurs affectant la performance et la stabilité de la digestion anaérobie des margines, en particulier la concentration élevée en composés phénoliques et la faible teneur en azote et le rapport C/N élevé (Kougiyas et al., 2014). La monodigestion anaérobie des margines sans apport de nutriments ni de dilution est impossible, même si de nombreux succès en laboratoire ont été rapportés dans la littérature. De nombreux auteurs ont recommandé de digérer les margines avec d'autres déchets et des sources riches en azote pour compenser leur faible teneur en azote (Zarkadas et al., 2019), et afin de remédier à la rétrogradation anaérobie.

La codigestion anaérobie est une méthode de traitement dans laquelle deux types différents de déchets organiques sont mélangés et traités ensemble dans une seule installation (Alatrisme et al., 2006) La raison d'utiliser un mélange de deux déchets différents dans le processus de

codigestion anaérobie est de profiter de l'abondance d'un composé spécifique dans un type de déchets pour compenser sa pénurie dans l'autre type de déchets, et donc d'augmenter la biodégradabilité, et la production de méthane (Alatriste et al., 2006). La digestion anaérobie des margines brut ont eu une efficacité de traitement inférieure en termes d'élimination des composés organiques, de production de biogaz et de stabilité du processus, ce qui pourrait être attribué à la toxicité des phénols pour les bactéries méthanogènes, et ou au manque d'azote (Atif et al., 2020), pour ces raisons, la codigestion des margines était proposée afin d'améliorer les performances de la digestion anaérobie, en mélangeant les margines avec d'autres substrats riches en azote, principalement du fumier animal, des résidus agro-industriels. (Gannoun et al., 2016) a montré que les margines co-digérés avec le fumier de porc à différents rapports de mélange, 40:60 et 50:50 (margines : fumier de porc), a révélé une excellente stabilité du digesteur, même à des charges organiques plus élevées, avec augmentation du rendement en méthane. De même, (El Gnaoui et al., 2020) ont montré que la meilleure performance de digestion anaérobie était enregistrée pour un rapport de mélange de (déchet alimentaires : margines) de (80:20) avec un rendement maximum en méthane et une biodégradation de  $302,16 \pm 03,04$  mLCH<sub>4</sub>/ VS et  $86 \pm 04,7\%$  respectivement. Aussi (Khoufi et al., 2015), ont montré que le pic de performance de codigestion au mode Batch et semi-continu a été signalé à un rapport volumétrique des margines et de fumier de volaille de 30:70 et à un rapport de charge organique de 1:1 et une charge DCO de 9,5 g/L.j respectivement.

La codigestion des margines et du fumier de volaille est théoriquement assez intéressante en raison des possibilités de compensation des nutriments entre ces deux déchets mais aussi de la dilution possible des constituants toxiques, en l'occurrence l'ammonium et le phénol. Cependant, le choix des ratios de cogestion est généralement basé sur divers paramètres, soit sur les rapports volumétriques, la charge en DCO, les charges organiques totaux ou simplement les proportions de disponibilité territoriale du fumier de volaille et des margines (Rabii et al., 2019). Par conséquent, en tant que codigestion, le succès peut dépendre directement d'une caractéristique brute spécifique de chaque déchet utilisé, en particulier la teneur en solides volatils, l'azote total, l'ammonium et les phénols. Le rapport volumétrique et l'identification de la gamme volatile solide sont essentiels, mais ces paramètres sont insuffisants à eux seuls pour indiquer des conditions de codigestion appropriées et sûres dans l'ensemble. Pour éviter des conclusions confuses, il semble essentiel de les combiner avec d'autres indicateurs qui conditionnent le succès de la codigestion des margines et de fumier de volaille.

L'objectif de la présente étude est de déterminer les rapports de mélange margines/fumier de volaille appropriés en mettant l'accent sur l'identification de la plage de concentration d'entrée correspondante en ce qui concerne les principaux paramètres anaérobies clés. L'étude était donc basée sur un test en mode batch avec une large gamme de rapports de mélange puis en mode semi-continu avec le rapport de démarrage et d'alimentation appropriés identifiés par le test de batch. Pour permettre une adaptation microbienne anaérobie maximale, et une biodégradation des composés organiques, le test semi-continu a été opéré à des rapports progressifs des margines.

## **II. Matériels et Méthodes :**

### **1. Origine du matériel brut et ces caractéristiques :**

Tous les déchets utilisés dans ce travail provenaient localement. Le fumier de volaille était collecté auprès d'une petite ferme avicole locale, il était composé principalement de volailles et de plumes de poulet avec une teneur en humidité d'environ 37%. Afin d'éviter d'éventuelles erreurs liées à l'humidité et à la biodégradation, la totalité de la quantité collectée a été séchée à l'air à une température du laboratoire, puis tamisée pour éliminer les plumes grossières. Après homogénéisation mécanique, des échantillons ont été retirés pour l'analyse et pour les expériences de Batch, le reste a été stocké dans un sac d'échantillonnage en plastique scellé à 4°C jusqu'à utilisation pour le test de digestion ultérieur (expérience semi-continue). Les margines ont été collectés d'une usine de production d'huile d'olive utilise des procédés d'extraction en trois phases discontinus traditionnels. Le jour de la réception des déchets, une aliquote de 500 ml a été utilisée pour l'analyse et le reste a été conservé à 4°C jusqu'à leur utilisation. La composition de base et les caractéristiques des margines et du fumier de volaille utilisés sont rapportées dans le tableau 1.

**Tableau 4:caractéristiques physico-chimiques du matériel utilisé Margines et Fientes de Volailles**

Substrat Paramètres	Margines	Fumier de volaille
Teneur en eau (%)	95 ± 0.28	37 ± 0.21
Matière sèche	83.2 ± 7.80 g/L	26.34 ± 0.89% (base humide)
pH	5.16 ± 0.11	7.15 ± 0.07
Alcalinité (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	1587 ± 53.03	5524 ± 142.83
Conductivité (ms/cm)	28.52 ± 1.57	7.32 ± 0.04
DCO	96 ± 3.18 g/L	Nd
Azote Total	0.42 ± 0.07 g/L	3.22*± 0.15
Ammonium (NH <sub>4</sub> )	0.11 ± 0.06 g/L	1.54*± 0.33
phénols totaux	8.63 ± 0.26 g/L	Nd
Volatil Solid (VS)	79.15 ± 4.70 g/L	44.4*± 0.17

\* : matière sèche

## 2. Protocole expérimental :

Le protocole expérimental utilisé pour adopter la codigestion anaérobie des margines et du fumier de volaille est articulé en trois étapes:

- **Etape 1 :**

- Prélèvement et transport des échantillons des margines et du fumier de volaille au laboratoire ;

- Préparation des mélanges margines et fumier de volaille (0→15% Margines et 1→4% MS fumier de volaille).

- Caractérisation physicochimiques des mélanges préparés;

- **Etape 2 :**

- Prétraitement aérobie des mélanges pendant 48 heures avec ajustement du pH

- **Etape 3 :**

- Inoculation de boue;

- Réalisation des tests de Potentiel Biochimique de Méthane (PBM);

- **Etape 4 :**

- Test de codigestion en mode semi-continue.

- a) **Etape 1 : prélèvement et caractérisation des échantillons**

Après prélèvement et caractérisation de chaque substrat, des mélanges margines/fumier de volaille en étaient préparés. Quatre charges de fumier (1%, 2%, 3% et 4%) et quatre rapports volumétriques des margines pour chaque charge massique (0%, 5%, 10% et 15%), ont été utilisées. Le tableau ci-dessous montre les caractéristiques d'entrée de chaque rapport de mélange :

**Tableau 5:: Caractérisation physicochimiques des différents mélanges utilisés dans les expériences de la mono et la codigestion**

Fumier de volaille (%)	Margines (%)	Total Volatile Solide g/L	pH initial	Azote Total g/L	Ammonium g/L
1	0	3,58	6,06	0.32	0,154
	5	14	5,83	0.34	0,159
	10	17,32	5,62	0.36	0,164
	15	20.75	5,47	0.38	0,17
2	0	5.99	6,47	0.64	0,308
	5	16.36	6,5	0.66	0,313
	10	26	6,03	0.68	0,318
	15	35	5,73	0.70	0,324
3	0	9.19	6,79	0.96	0,462
	5	24.14	6,4	0.98	0,467
	10	33.25	6,22	1	0,472
	15	40	5,96	1.02	0,478
4	0	14.76	6,99	1.28	0,616
	5	37.25	6,28	1.30	0,621
	10	40	6,03	1.32	0,626
	15	46	5,97	1.34	0,632

**b) Etape 2: prétraitement aérobie**

Dans cette étape les différents rapports de mélange sont prétraités par aération pendant 48H avec ajustement du pH.

**c) Etape 3: Test BMP**

- **Système expérimental :**

Le système utilisé pour les tests du Potentiel Biochimique de Méthane (PBM) est constitué des éléments suivants :

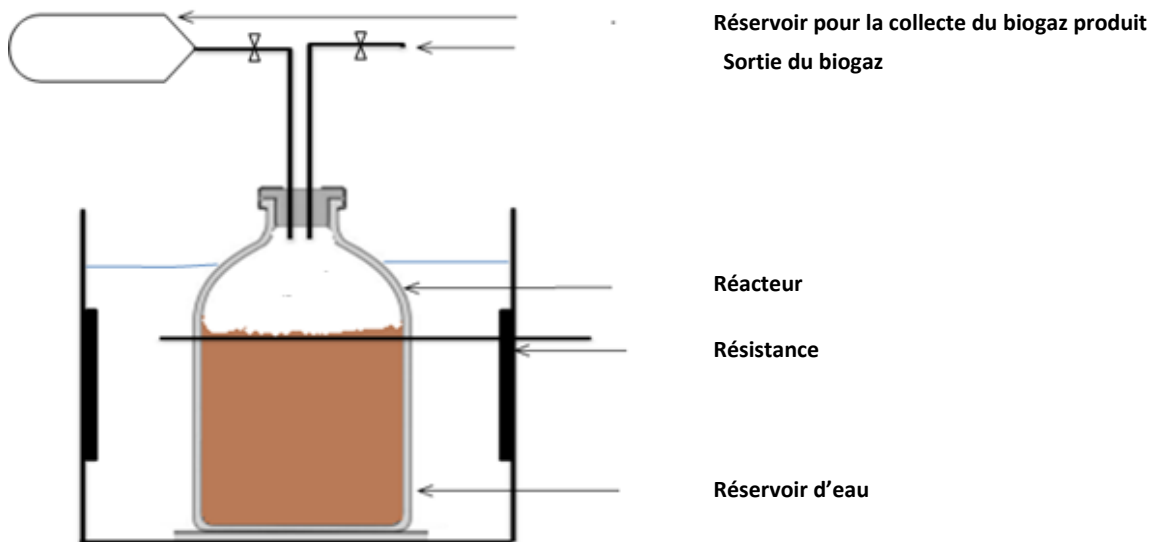


Figure 3: dispositif expérimental de l'unité de Digestion anaérobie

- **Description de la diapositive :**

- ❖ **Le Digesteur :**

Le digesteur utilisé consiste essentiellement en une bouteille en plastique de forme cylindrique et d'une capacité de 1.5L, équipée d'un réservoir pour la collecte du biogaz produit, et d'un orifices qui sert à la fois pour l'injection de gaz inerte azote (N<sub>2</sub>), pour but d'échapper et d'évacuer le digesteur d'oxygène et d'assurer les conditions d'anaérobiose, et à la sortie du biogaz généré pendant le processus de digestion anaérobie. L'unité de digestion a été submergée dans un réservoir d'eau équipé par des résistances, et maintenu à 32°C.

- ❖ **Le système de chauffage :**

Le système de chauffage utilisé dans cette expérience consiste en un réservoir d'eau équipé par des résistances dans lequel l'unité de digestion a été submergée. La température des digesteurs est maintenue à 32°C dans les conditions mésophiles, et le contrôle de la température est réalisé par un thermomètre gradue.

- ❖ **Mesure du biogaz produit :**

Le biogaz produit est mesuré par la méthode de déplacement d'une colonne d'eau à pression atmosphérique le principe de cette méthode consiste en le biogaz formé est conduit au moyen d'un tuyau dans une burette rempli d'eau positionnée verticalement, l'eau s'échapper arrivent dans une éprouvette verticale, remonte le long de la colonne d'eau que la burette contient pour

mesurer le volume du biogaz généré il suffit de mesurer le volume d'eau déplacé pour connaître le volume de biogaz qui a déplacé cette eau.



- **Inoculation :**

L'ajout d'un inoculum d'ensemencement, lors du démarrage des tests du PBM, met à disposition une biomasse microbienne active qui permet d'éviter des cas d'inhibition liés en particulier à une accumulation d'AGV et/ou à une baisse de pH, et il favorise un état d'équilibre de l'ensemble du processus de digestion anaérobie. Il existe différents types d'inoculum peuvent correspondre à des digestats liquides ou solides, à des boues de stations d'épuration, des fumiers, des lisiers, d'un liquide issu d'un précédent cycle de digestion anaérobie. L'origine de l'inoculum influe sur les quantités et les espèces microbiennes présentes (De la Rubia et al., 2018). Ainsi la production de méthane et le temps de latence de la cinétique de production sont directement modulés par l'origine et la quantité de l'inoculum introduite dans le réacteur. Une meilleure stabilité du processus est assurée par un inoculum acclimaté et stable. L'inoculum utilisé dans cette étude provient de la boue d'un réacteur UASB pilote alimenté par un mélange du lixiviat et des margines.

**Tableau 6:Caractérisation physicochimiques de l'inoculum**

Paramètres	Inoculum
pH	7.5
TKN	0.03 g/L
Volatile Solde (VS)	1.79*

\* : % matière sèche.



- **Les tests PBM :**

La digestion anaérobie a été effectuée dans des réacteurs de laboratoire d'une capacité de 1.5 litre, avec un volume de travail de 1.3 litre. La combinaison de chaque mélange a été préparée en diluant le poids correspondant de fumier de volaille et de volume des margines et 100 ml d'inoculum avec de l'eau désionisée à 1.3 litre. Les charges solides volatiles totales et les charges solides volatiles spécifiques des margines variaient de 3.58 à 46 gVS/L et de 3.95 à 11.87 gVS/L respectivement. Pour compenser la faible alcalinité des margines, le pH de tous les mélanges a été ajusté à une valeur neutre (7), puis les réacteurs ont été rincés avec du N<sub>2</sub> pendant 3-4 min pour garantir des conditions d'anaérobiose, ensuite les réacteurs ont été incubés à température contrôlée 32°C au bain-marie. Pour maintenir une digestion appropriée, les réacteurs ont été agités 2 min deux fois par jour sur la base d'un test préliminaire. Un réacteur à blanc contenant uniquement de l'eau désionisée et un inoculum a été incubé dans les mêmes conditions. La production de biogaz a été mesurée à trois jours d'intervalle à une température standard de 0°C. La digestion a été maintenue pendant 50 jours jusqu'à absence de production de biogaz.

- **Évaluation de la cinétique du biogaz :**

On a supposé que la cinétique de la production de biogaz en condition discontinue correspondait au taux de croissance spécifique des bactéries de méthanogénèse dans le digesteur (Syaichurrozi et al., 2013). La production cumulée de biogaz pour tous les réacteurs discontinus a ensuite été contrôlée en ajustant les données expérimentales au modèle cinétique de Gompertz en utilisant l'équation (1) suivante :

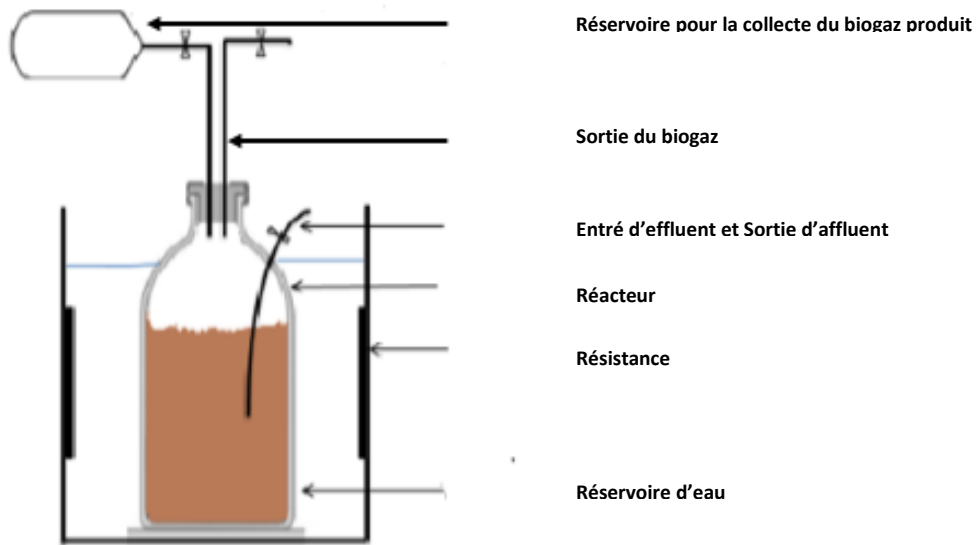
$$P = A \exp\{-\exp[(\mu \cdot e / A)(\lambda - t) + 1]\}$$

Où, A : présente le potentiel de production de biogaz (mL / g VS),

$\mu$  : le taux de production maximum de biogaz (mL / g VS / jour) et

$\lambda$  : le temps minimum requis pour produire le biogaz (jour).

#### d) Etape 4 : Test de codigestion en mode semi-continu:



Le réacteur utilisé pour les tests en semi-continu est le même que pour les tests en batch, avec le même volume total et le même volume de travail, la seule différence réside dans le fait que le réacteur utilisé pour les tests en semi-continus est équipé d'un dispositif émergé qui sert à la fois au retrait des effluents et à l'alimentation des affluents. La température de fonctionnement a également été maintenue à 32°C. Pendant le période de démarrage, le réacteur a été exploité pendant 33 jours en mode batch, alimenté avec du fumier de volaille seul à la meilleure charge organique trouvée dans les tests de PBM : 5,38 gVS/L, qui correspondait à la charge massique 2%. Ensuite, les conditions de fonctionnement ont été changées en mode semi-continu pendant lequel le réacteur a été alimenté en premier avec seulement 2% fumier de volaille. Après avoir atteint l'état d'équilibre, l'alimentation est passée au mélange Margines/Fumier de volaille avec une augmentation progressive du rapport volumétrique des margines de 0% à 20%. La digestion de chaque rapport de mélange a été exécutée pendant une période de temps de 33 jours comme décrit dans la figure 1. Pendant la période de digestion, le réacteur a été mélangé 5 min deux fois par jour à 5 heures d'intervalle : un premier mélange pour améliorer la digestion et un second pour permettre l'homogénéisation du réacteur pendant une décharge intermittente quotidienne et opération d'alimentation. Le temps de rétention hydraulique a été fixé à 20 jours. Les effluents rejetés ont été analysés en continu pour la surveillance du pH et de la concentration des acides gras volatils (AGV), et le biogaz produit a été mesuré par la méthode du déplacement de l'eau à trois jours d'intervalle.

Batch monodigestion du FV	Codigestion semi-continue				
(5.38 g VS/L)	0 à 33	33 à 66	66 à 99	99 à 132	: Période (jours)
	0/2	5/2	10/2	20/2	: rapport margines/FV
	0.79	1.18	1.57	2.35	: VS Total (g/L.d)
	0	0.39	0.79	1.58	: VS des margines (g/L.d)

***Figure 4: Conditions opérationnelles de codigestion semi-continue***

### 3. Les paramètres analysés :

Tous les paramètres analysés ont été effectués conformément à la méthode standard pour l'examen de l'eau et des eaux usées (Rodier 2014). La teneur en eau et la matière sèche ont été déterminés en séchant les échantillons à 105 ° C pendant 24h, la teneur en solides volatils (VS) a été déterminée après séchage des échantillons à 105 ° C pendant 72h puis incinération pendant une nuit à 550 ° C. L'azote total (TKN) et l'ammonium ont été déterminés par la méthode de Kjeldhal et le pH et la conductivité électrique par le pH-mètre et le conductimètre Hanna. La teneur en phénol a été déterminée par la méthode de Singleton et par 1999, citées par Wolfe et par 2003 (Rodier 2014), et la demande chimique en oxygène (DCO) a été mesurée par spectrophotomètre après une digestion totale avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et du dichromate de potassium à 150 ° C pendant 2h. La concentration en acides gras volatils a été déterminée par titration et l'alcalinité par titration acide avec de l'acide chlorhydrique. La production de biogaz a été mesurée par colonne de déplacement d'eau à la pression atmosphérique et à une température ambiante de 25 ± 3 ° C. (voir l'annexe).

## III. Résultats et Discussion :

### 1. Le Potentiel Biochimique en Méthane (PBM) :

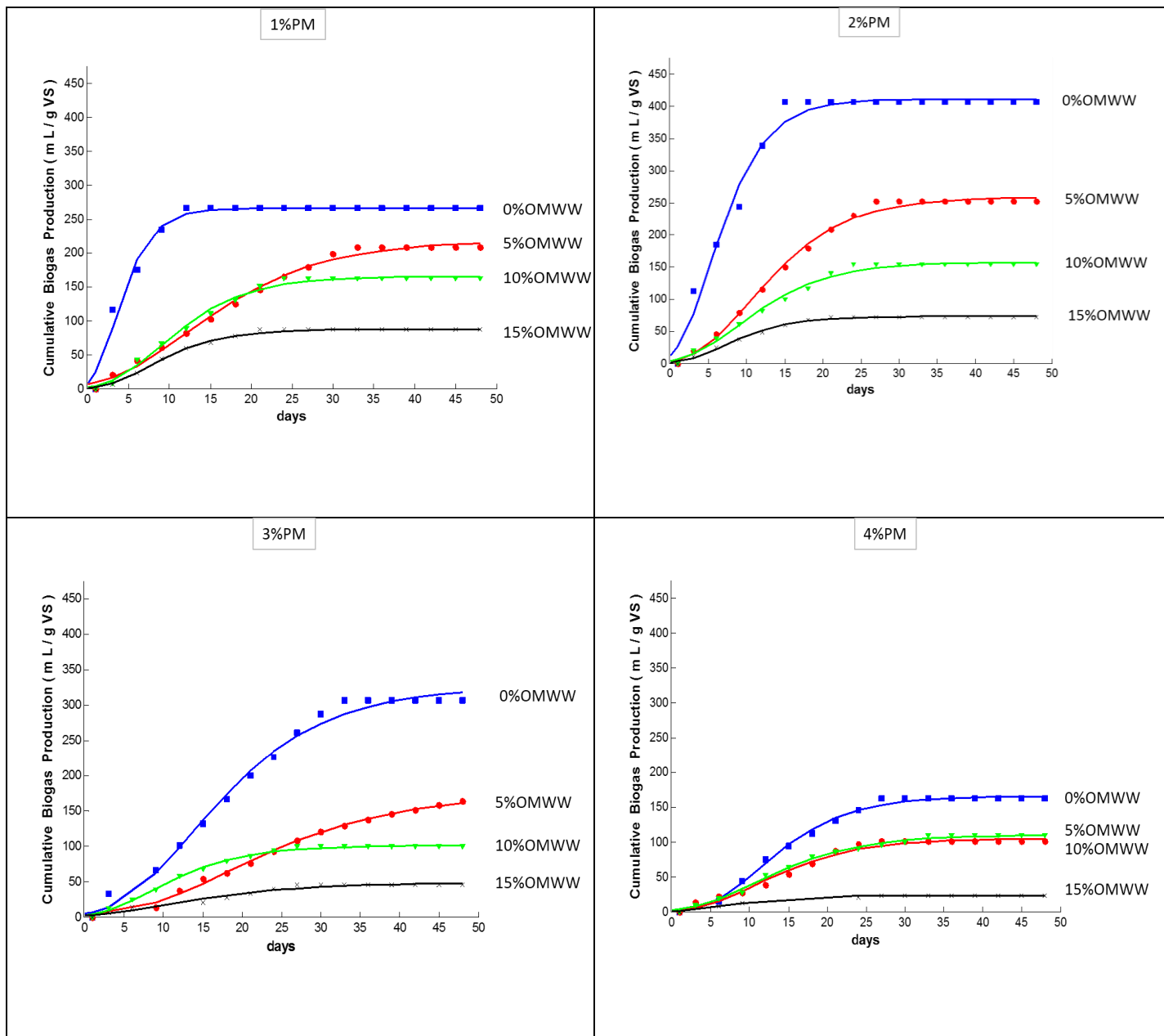
Les rendements et le potentiel du biogaz selon les tests Batch et l'équation de Gompertz modifiée sont illustrés dans la figure 5 et le tableau 7. Les résultats expérimentaux et simulés ont montré un bon ajustement avec de forts coefficients de corrélation. La comparaison des ratios a montré que le rendement de biogaz le plus élevé était atteint pour la monodigestion de fumier de volaille. Il a été remarqué aussi qu'une faible charge de fumier de volaille (1% FV) et une charge élevée (4% FV) donnent un faible rendement en biogaz. La performance

maximale a été enregistrée pour 2% FV avec un rendement de biogaz de 410,48 mL/gSV et un taux de production quotidien de biogaz de 36,85 mL/gSV.j. En termes de charge organique, une monodigestion appropriée des FV était possible dans la plage de 5,38 à 9,19 gSV/L (2 à 3% des FV). Les gammes d'entrée correspondantes d'azote total et d'ammonium étaient de 0,32 à 1,34 g/L et de 0,154 à 0,632 g/L, respectivement. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par (Farrow et al., 2017) qui ont trouvé une augmentation du rendement en biogaz de 30% (470 - 607 L/kg SV) lors des tests de digestion par lots des FV.

Pour la présente étude, la diminution de la production de biogaz observée à une charge élevée de FV (4% FV), pourrait être attribuée à un effet de surcharge et/ou à l'accumulation d'ammonium qui représentent généralement les principaux inhibiteurs potentiels de la digestion anaérobie du FV comme indiqué dans la littérature (Sampaio, Gonçalves et Marques, 2011; Markou, 2015). Même si la concentration globale d'ammonium d'entrée était maintenue à un niveau relativement bas, l'augmentation de la charge organique SV augmente la charge en composés protéiques et cela peut conduire à une accumulation d'ammonium et d'ammoniac libre jusqu'à un seuil inhibiteur, comme l'ont rapporté d'autres auteurs (Khoufi , Louhichi et Sayadi, 2015).

Les résultats de la codigestion ont montré que l'augmentation du rapport volumétrique des margines pour chaque rapport de fumier de volaille affectait négativement le processus de digestion anaérobie. En outre, il a été remarqué que le rendement en biogaz diminuait avec l'augmentation du ratio des margines ou du fumier de volaille. Le PBM enregistré variait d'un maximum de 258,8 à un faible rapport de mélange et un minimum de 23,38.mL/gVS en combinant un rapport élevé. Des rendements acceptables avec une valeur comprise entre 218,21 et 258,8 ml/g de SV étaient possibles aux rapports de mélange les plus bas : 1 à 2 % de fumier de volaille et 5 % des margines. À l'inverse, à un ratio élevé de fumier de volaille, l'ajout des margines, même en faible proportion, a entraîné une forte inhibition du processus de codigestion. Les charges organiques totales par rapport au PBM ont montré une corrélation négative linéaire significative quels que soient les ratios de digestion (figure 6). Ces résultats suggèrent que la charge organique totale était le principal paramètre clé de la codigestion et que l'inhibition de la codigestion pourrait être attribuée principalement à l'effet de surcharge et aux accumulations d'acide. Une conclusion similaire a été rapportée par d'autres auteurs pour lesquels la charge organique peut influencer considérablement le processus de codigestion et pourrait conduire à une accumulation rapide et inappropriée d'acides étant le principal inhibiteur

de digestion indépendamment des déchets Caractéristiques (Sampam, Gonçalves et Marques, 2011 ; El Gnaoui et al., 2020b). Sur la base du PBM maximale, le seuil de 50 % d'inhibition a été observé à une charge organique total de 10 à 20 gVS/L selon le ratio de Fumier de Volaille (Figure 7) : il correspondait à une contribution de charge organique des margines de 45,80 %, 22,17 %, 16,42 %, et 16,37 % pour le ratio de fumier de volaille 1, 2, 3 et 4 % respectivement, comme indiqué à la figure 3b. Par conséquent, l'effet inhibiteur des margines a été clairement amplifié par l'augmentation de la charge de fumier de volaille, entraînant un effet synergique négatif évident. Ces résultats sont en désaccord avec ceux de (Khoufi, Louhichi et Sayadi, 2015) selon lesquels la codigestion a stimulé le processus de digestion anaérobie et a permis des conditions optimales de codigestion par lots avec un ratio de mélange de 70 % des margines et de 30 % de fumier de volaille. De même (Gannoun et al., 2016) a montré que la codigestion des margines avec les Déchets de Porc (DP) à différents rapports de mélange 40:60 et 50:50 (margines: DP), améliore le rendement en méthane et révèle une excellente stabilité du digesteur, même à des charges organiques plus élevées. L'effet négatif des margines sur la codigestion a cependant été mis en évidence par de nombreuses autres études en bon accord avec la présente étude. L'ajout des margines au fumier de bétail (Rubio et al., 2019) et aux boues activées (Alrawashdeh et Al-Essa, 2019) a provoqué une inhibition des méthanogènes et une défaillance du réacteur. Il a également été signalé qu'une contribution de charge organique des margines supérieure à 40 % a entraîné des effets inverses et négatifs et réduit considérablement les performances de codigestion des margines et du fumier de volaille (Li, Liu et Sun, 2015). L'effet négatif synergique entre les margines et le fumier de volaille à une charge organique élevée pourrait être attribué à une interaction négative impliquant une surcharge, des effets spécifiques au phénol et à l'ammonium. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par (Astals et al., 2014).

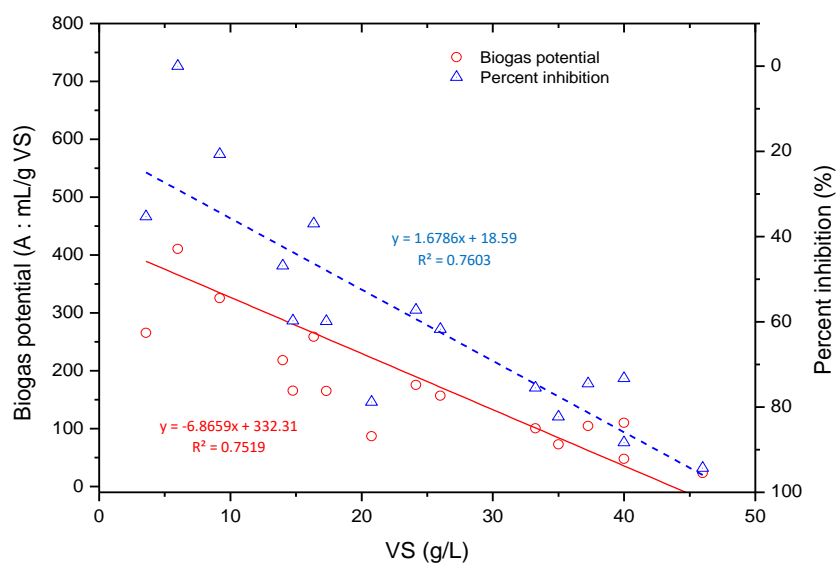


***Figure 5: Production cumulative de biogas des essais du PBM de la co-digestion des margines et des FV à différentes rapports de mélange.***

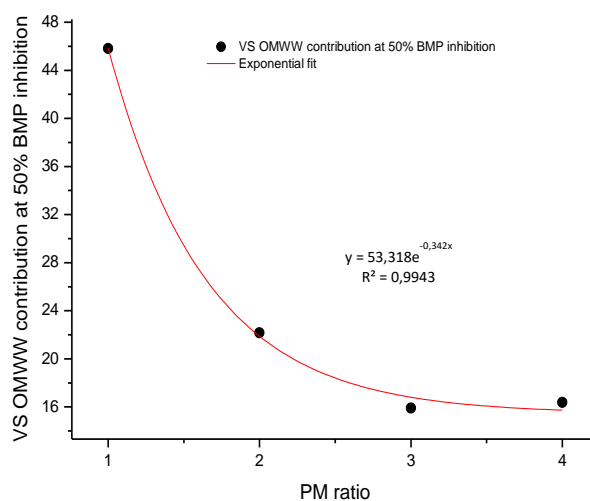
-

*Tableau 7: Paramètres Gompertz modifiés pour les rapports Margines / FV utilises*

PM(%)	Codigestion parameters				Gompertz data			
	% margins	Total SV g/L	NTK d'entré g/L	Ammonium d'entré g/L	R <sup>2</sup>	A:mL/gVS	μ :mL/gVS .d	λ:(Days)
1	0	3.58	0.32	0.154	0.998	265.56	38.69	0.70
	5	14.00	0.34	0.159	0.997	218.21	8.63	2.60
	10	17.32	0.36	0.164	0.997	164.8	10.27	2.81
	15	20.75	0.38	0.17	0.994	86.95	6.65	2.64
2	0	5.38	0.64	0.308	0.993	410.48	36.85	1.04
	5	16.36	0.66	0.313	0.998	258.80	13.79	3.47
	10	26.00	0.68	0.318	0.996	157.0	8.77	2.21
	15	35.00	0.70	0.324	0.998	72.82	5.40	1.89
3	0	9.19	0.96	0.462	0.996	325.6	12.85	4.39
	5	24.14	0.98	0.467	0.998	175.53	5.261	6.09
	10	33.25	1.00	0.472	0.998	100.6	5.73	2.09
	15	40.00	1.02	0.478	0.986	47.877	1.91	1.78
4	0	14.76	1.28	0.616	0.998	165.24	9.59	4.76
	5	37.25	1.30	0.621	0.993	104.73	5.31	3.59
	10	40.00	1.32	0.626	0.997	109.82	5.37	3.06
	15	46.00	1.34	0.632	0.995	23.381	1.66	1.71



**Figure 6 : Graphique du potentiel de production de biogaz (A) et du pourcentage d'inhibition par rapport à la charge organique initiale pour les tests digestion au mode batch (tous les rapports de mélange margines/FV)**



**Figure 7: VS de la contribution des margines à 50% d'inhibition du PBM par rapport au rapport de FV**

## 2. Les expériences en semi-continue :

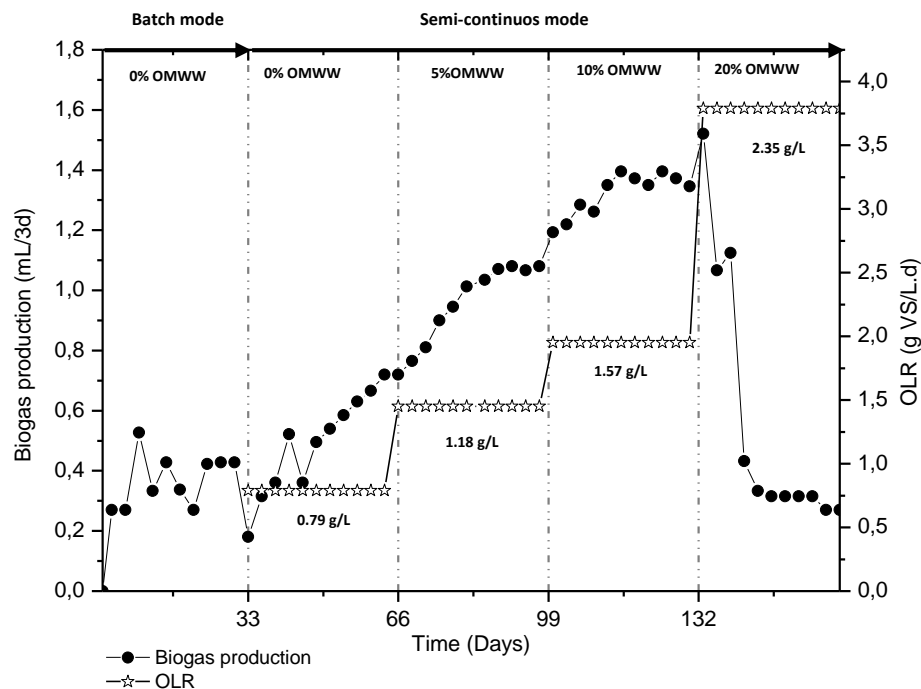
### 2.1 Rendement en biogaz

La digestion anaérobie en mode semi-continu est basée sur un déchargement cyclique intermittent et un biochargement de biomasse transformée et de biomasse brute à une période donnée. Il est généralement plus pratique que le mode batch car il empêche l'accumulation



d'inhibiteur potentiel et maintien des conditions globales favorables à la croissance bactérienne (Park et al., 2018). Selon des travaux récents (Chan, de Toledo et Shim, 2018), une alimentation intermittente peut améliorer les performances de codigestion, en particulier grâce au métabolisme actif de la DCO et des AGV. La monodigestion du fumier de poulet a montré qu'une alimentation intermittente à 7 jours d'intervalle et un rapport volume/chargement de 10 % était 33,5 % plus efficace en termes de rendement en méthane par rapport au procédé par lots (mode périodique de 45 jours) (Baltrėnas et Kolodynskij, 2020). De plus, il a été recommandé de mélanger le fumier de poulet avec d'autres déchets et d'augmenter la quantité de biocharge nouvellement chargée de 10 % à 15 %. Pour la présente étude, les résultats de la codigestion des margines et du fumier de volaille en mode semi-continu utilisant un court intervalle intermittent sont illustrés à la figure 8 et au tableau 8. Pendant la période de démarrage du lot, le rendement quotidien moyen en biogaz était de 95,17 mL/L. du réacteur. Lorsque les conditions de fonctionnement sont passées en mode semi-continu basé sur un approvisionnement intermittent de 3 jours avec 23 % de biochargement, le procédé a conduit à une augmentation significative du rendement en biogaz. Pour la monodigestion du fumier de volaille à une charge organique de 0,79 gSV/L.j, la production journalière moyenne de biogaz a augmenté progressivement pour atteindre  $125,25 \pm 17,18$  mL/L.j et  $158,54 \pm 10,54$  mL/gVS.j. Par la suite, lorsque le réacteur a commencé à être alimenté avec un mélange margines/fumier de volaille, la production moyenne de biogaz continue d'augmenter jusqu'à 10 % du ratio des margines pour atteindre un état stable en même temps. A 20% de taux d'alimentation, la codigestion est déstabilisée et la production de biogaz a fortement chuté. Le rendement en biogaz enregistré était de  $244,40 \pm 24,46$ ,  $338,89 \pm 27,37$  et  $146,32 \pm 16,58$  mL/L.j pour les rapports de mélange de 5/2, 10/2 et 20/2 (margines/fumier de volaille) respectivement. En termes de charge organique VS, la codigestion avait une performance maximale à une charge organique VS totale de 1,57 gVS/L.j et une forte inhibition à une charge plus élevée. Le maximum biogaz enregistré était de  $215,85 \pm 23,56$  mL/gVS.j et de  $338,89 \pm 27,37$  mL/L.d. Ces résultats sont proches de ceux rapportés dans la littérature pour la codigestion semi-continue des fumiers de volaille/margines. Le rendement en biogaz est généralement de l'ordre de  $0,7 \pm 0,4$  à  $1,2 \pm 0,3$  L/L réacteur.j (Thanos et al., 2020b), ce qui est très comparable à nos résultats. Des résultats similaires ont également été rapportés par la récente cogestion continue des margines et des Déchets Alimentaires (DA) pour lesquels le rapport de mélange optimal était de 20 % margines/80% DA à une charge organique de  $2,0 \pm 0,1$  kgVS/m-3.j (El Gnaoui et al., 2020b). Ces résultats suggèrent que le succès de la codigestion des fumiers de volaille et

des margines pourrait être limité à une faible charge organique et à des faibles rapports volumique des margines. Cependant, d'autre étude a révélé que la codigestion des margines avec différents types de déchets riches en azote, y compris le fumier de volaille (Khoufi, Louhichi et Sayadi, 2015), les boues activées (Alrawashdeh et Al-Essa, 2019) et le fumier de porc (Azaizeh et Jadoun, 2010) était également possible à des charges très élevées. Bien que l'augmentation de la charge organique puisse augmenter le rendement du biogaz, il a été rapporté qu'elle a un effet négatif et diminue les performances de digestion en raison de la surcharge et de l'accumulation d'acides (Serrano et al., 2019). Sous alimentation continue et semi-continue, la défaillance du réacteur est également très probable à 2 gVS/L.j comme charge critique (Serrano et al., 2019), ce qui est en bon accord avec nos travaux.



**Figure 8: Évolution quotidienne de la production de biogaz pendant la codigestion semi-continue des margines/FV avec augmentation progressive de la charge organique**

Concernant la codigestion anaérobie des FV et des margines qui sont des déchets potentiellement défavorables, il semble que la question des rapports de mélange volumétrique, du taux de charge organique et de la contribution spécifique des solides volatils des margines soient des paramètres clés. En se concentrant sur l'effet spécifique des margines, la présente étude a montré que la performance maximale correspond à un rapport volumétrique de 10 % et une contribution Solide volatile des margines de 50 % à une charge organique de 1,57 gVS/L.d.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux de (Gelegenis et al., 2007), selon lesquels la production de biogaz était légèrement plus élevée lorsque les margines étaient ajoutées aux fumier de volaille diluées jusqu'à une contribution critique solide volatile des margines de 40%. Des rapports volumétriques plus élevés ont récemment été rapportés dans le cas de la codigestion de fumier de volaille et des margines (Khoufi, Louhichi et Sayadi, 2015). Ils ont déclaré que la codigestion optimale dans le réacteur à boucle à jet semi-continu a été obtenue à un rapport volumétrique de 70 % margines/30 % fumier de volaille à une charge organique de 9,5 gCOD/L.j et 1: 1 VS.

La comparaison des tests semi-continus et batch a montré que le changement des conditions opératoires en mode semi-continu avait un effet positif sur la codigestion anaérobie des de fumier de volaille et des margines, et que L'ajout des margines jusqu'à 10 % à un taux de fumier de volaille de 2 % améliore la production de biogaz, contrairement au condition de batch. Cela a été attribué à l'effet de la décharge et de la dilution des métabolites inhibiteurs potentiellement produits, en particulier les AGV, comme rapporté par (Gonçalves, Freitas et Marques, 2012). Dans le même temps, l'échec de digestion observé à un ratio de 20% a confirmé le fait que le processus de codigestion reste très sensible à l'ajout des margines et que les conditions appropriées étaient également limitées à une gamme étroite de ratios de mélange margines/fumier de volaille comme pour le mode batch.

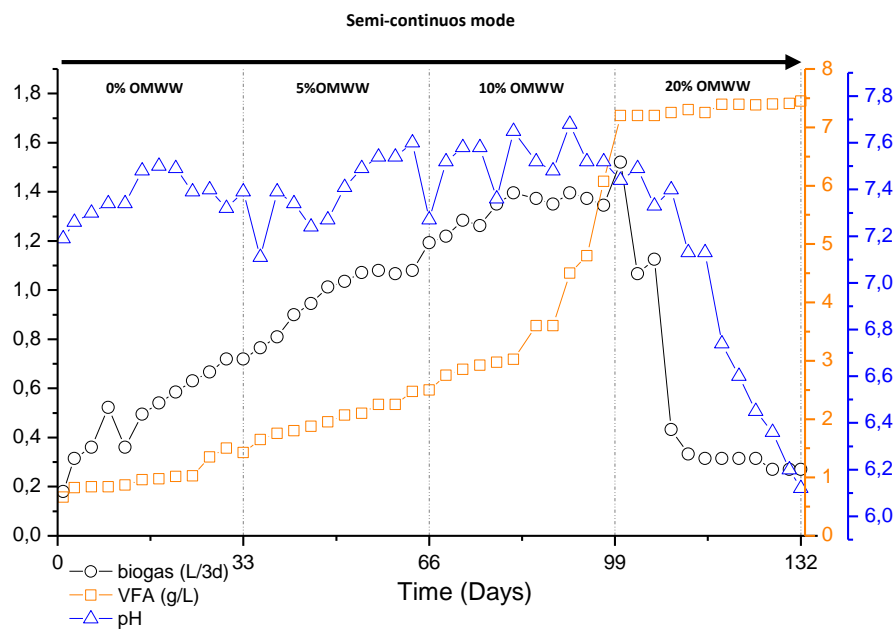
**Tableau 8: Rendement de biogaz pendant l'expérience en semi-continue**

Rapport Margines/fumier de valaille	Charge organique gSV/L.j	Contribution SV des margines (%)	Rendement moyen en biogas mL/L.j	La production moyen en biogas mL/gSV <sub>alimentation.j</sub>
2/0	0.79	0	125.25 ± 17.18	158.54 ± 10.45
2/5	1.45	33.05	244.40 ± 24.46	207.85 ± 20.48
2/10	1.95	50.31	338.89 ± 27.37	215.85 ± 23.56
2/20	3.79	67.23	146.32 ± 16.58	62.26 ± 7.42

## 2.2 . Acides gras volatils (AGV) et pH

Les AGV et le pH dans un digesteur anaérobie sont généralement considérés comme des indicateurs clés de la progression et de la stabilité de la digestion anaérobie. Ils sont également faciles à utiliser à l'échelle pilote et permettent en même temps une surveillance adéquate. La détermination des AGV et du pH de l'effluent de sortie est illustrée à la figure 9. Le contrôle

continu du pH est important pour surveiller la stabilité du réacteur. Les bactéries fermentaires peuvent fonctionner efficacement sur une large gamme de pH, c'est-à-dire entre pH 4,0 et 8,0 tandis que les bactéries méthanogènes sont fonctionnellement actives dans une gamme de pH de 6,5 à 7,5 (Srisowmeya et al., 2020). Un pH bas favorise la production d'AGV, tandis qu'un pH plus élevé favorise la production d'ammoniac (Kumar and Samadder, 2020). D'après la figure 9, au début du processus de digestion anaérobie le pH était relativement stable pour un faible rapport des margines, mais une légère diminution a été observée lorsque le réacteur a commencé à être alimenté avec 20% margines. La concentration des AGV a montré la même tendance globale avec une augmentation significative à mesure que le ratio des margines augmente, cela peut s'expliquer par la faible biodégradabilité du mélange et l'augmentation de la charge organique, qui fournit des conditions de croissance défavorables aux archées méthanogènes. Par conséquent, ces résultats ont montré que les conditions semi-continues permettaient la co-digestion à un rapport relativement plus élevé des margines et cela pourrait être attribué à la dilution continue des AGV et de l'ammonium produits.



**Figure 9: Production de biogaz, pH et concentrations totales de AGV des effluents pendant la codigestion semi-continue des margines et de FV.**

## **VI. Conclusion :**

La codigestion anaérobie des margines et du fumier de volaille a été étudiée en mode batch et semi-continu. dans le test batch, le meilleur rendement en biogaz a été enregistré pour la monodigestion des fumier de volaille à 2%. Cette charge a été testée en mode semi-continu avec une augmentation progressive du rapport volumétrique des margines. Les résultats prouvent que la codigestion anaérobie optimale pourrait être atteinte jusqu'à un rapport volumétrique des margines de 10 % et un taux de charge global de 1,57 gSV/L.j avec une contribution de charge organique des margines jusqu'à 50 %. Ce travail a également conduit à la conclusion que les fumiers de volaille et les margines sont des inhibiteurs potentiels et que leur mélange peut entraîner un effet négatif synergique à une charge relativement faible et qu'une prudence particulière doit être accordée à la contribution totale et spécifique des Solides Volatiles pour la codigestion anaérobie des fumiers de volaille et des margines.

*Chapitre II : Etude de l'effet de la recirculation de digestat sur la production de biogaz.*

# **I Introduction :**

De nos jours, avec la promotion des vertus bénéfiques pour la santé de l'huile d'olive la demande ne cesse d'augmenter soit sur les marchés internes ou externes, et par conséquent la production croit constamment, suivis par énormes production des margines. Le rejet direct de ces eaux usées ou leurs utilisations traditionnelles pour l'enrichissement du sol, et la fertilisation des cultures est un dégât environnemental. Le développement des techniques de remédiation de ces eaux difficilement traitables est en cours de développement. L'application de la digestion anaérobie pour le traitement des margines est le traitement le plus économiquement et écologiquement fiable, mais ce traitement est connu depuis longtemps par l'influence de nombreux paramètres tels que, le pH, la concentration élevé en composés phénoliques, et la faible teneur des margines en azote. Pour que cette digestion déroule dans les bonnes conditions les margines peuvent être soit dilué soit mélangé avec d'autre substrat riche en azote (Gunay and Karadag, 2015). Néanmoins la dilution peuvent d'une part diminuer la production de biogaz par unité de volume de fermenteur, d'autre part, augmente la consommation d'eau et le cout de traitement (Benlemlih, 2003). De plus cela, réduit le temps de rétention hydraulique (TRH) et augmente considérablement le volume d'effluent. En comparaison avec de nombreux déchets animales et industriels, le fumier de volailles est un substrat riche en azote qui améliorerait la digestion anaérobie des margines en recevoir des quantités de biogaz élevées associées à une teneur élevés en éléments nutritifs dans le digestat, (Procházka et al., 2012; Sheng et al., 2013) ont rapportés qu'au cours du processus de digestion, de l'azote est libéré dans le liquide en fonction du pH, de la charge organique et de la température; Cela peut entraîner une concentration élevée d'ammoniac libre dans le digesteur. L'accumulation d'ammoniac a pour effet d'inhiber la méthanogènes, en réduisent leur activité acétoclastique et hydrogénotrophe (Markou, 2015). Les méthanogènes inhibés ne peuvent pas consommer les acides gras volatils produits lors de l'acidogénèse / acétogénèse, tandis que les acides gras volatils continuent à être produits et accumulés dans le digesteur (Franke-Whittle et al., 2014). Le deuxième paramètre opérationnel qui présente un grand intérêt pour la codigestion des margines et du FV est la charge organique, car l'addition des FV augmente à la fois la teneur en DCO et la teneur en ammonium qui peut augmenter le risque de surcharge. Selon (Khoufi et al., 2015), les FV devraient être mélangées aux margines dans des proportions appropriées pouvant améliorer

l'équilibre en éléments nutritifs et le rapport C / N de départ du mélange tout en maintenant des conditions de méthanogénèse favorables.

La recirculation de la fraction liquide du digestat a eu un effet bénéfique bien connu dans des conditions de digestion anaérobie continue et semi-continue, c'est un promoteur, car elle permet de réduire, voire d'éliminer totalement le rejet de la fraction liquide du digestat. (Hu et al., 2014) ont indiqué que le recyclage des effluents méthanogènes dans un réacteur d'acidification pourrait améliorer la capacité tampon et la stabilité du système, et que l'hydrolyse des déchets organiques pourrait être grandement encouragée. Cependant, après une longue période de recirculation, certains problèmes peuvent survenir en raison de la possible accumulation d'azote ammoniacal ( $\text{NH}_3^+$ ), d'acides gras volatils (AGV), d'intermédiaires non biodégradables et d'autres substances inhibitrices. (Nordberg et al., 2007) ont signalé que l'accumulation de composés organiques et inorganiques lors de la recirculation du digestat liquide accompagnée d'une diminution progressive du rendement en méthane, cette accumulation de matière organique entraînait une augmentation du taux d'AGV. En outre (Hartmann and Ahring, 2005), on observe également que la recirculation du digestat liquide pourrait éventuellement entraîner une inhibition du processus en raison de l'accumulation de solides, due à la faible dégradation des solides pendant la recirculation.

Le but de ce travail est d'étudier la codigestion des margines et de fumier de volaille en mettant l'accent sur l'effet de la recirculation du digestat sur les performances du réacteur et la caractérisation physicochimique de la fraction liquide du digestat et de son potentiel fertilisant.

## **II). Matériels et Méthodes :**

Tous Les déchets utilisés dans cette étude est d'une source locale. Les margines sont provient d'une huilerie équipée par unité d'extraction traditionnel fonctionne on mode discontinu, pour le fumier de volailles (FV) recueillies d'une petite ferme de volaille. Après leur arrivée au laboratoire, elles ont été séchées à une température de 35 ° C pour réduire leur concentration en azote. Les caractéristiques physicochimiques des margines et du FV après le stripping à l'ammoniac sont mentionné dans le tableau 1.

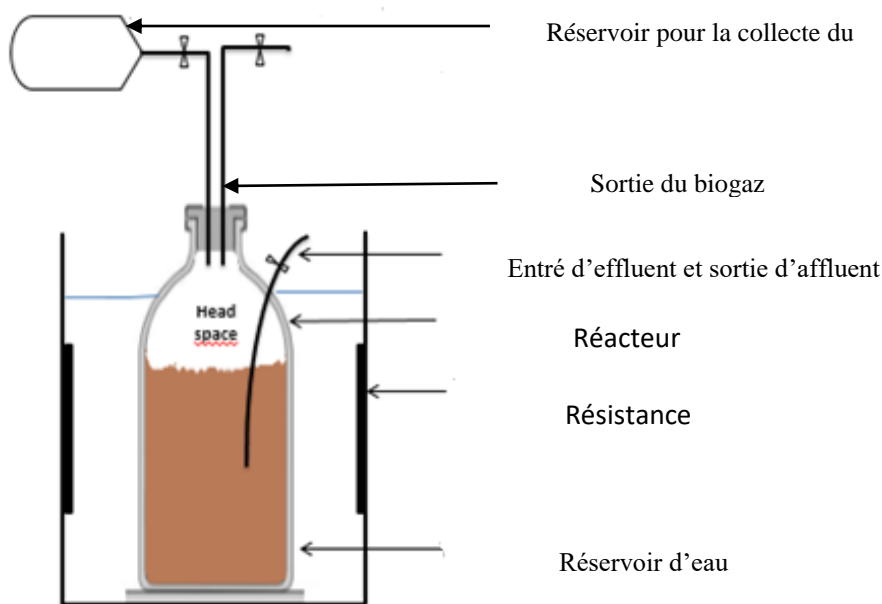


**Tableau 9: Caractéristiques physico-chimiques des margines et du FV.**

Substrate Parameters	OMWW	PM
Total solide	83.2 ± 7.80 g/L	26.34 ± 0.89% (wet basis)
pH	5.16 ± 0.11	7.15 ± 0.07
Alkalinity (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	1587 ± 53.03	5524 ± 142.83
Conductivity (ms/cm)	28.52 ± 1.57	7.32 ± 0.04
COD	96 ± 3.18 g/L	Nd
TNK	0.42 ± 0.07 g/L	3.22*± 0.15
Ammonium (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	0.11 ± 0.06 g/L	1.54*± 0.33
Total phenols	8.63 ± 0.26 g/L	Nd
Volatile Solid (VS)	79.15 ± 4.70 g/L	44.4*± 0.17

### **1. Opération des digesteurs :**

Six digesteurs à l'échelle de laboratoire de 1.3 L ont été utilisés dans cette étude afin d'étudier l'effet de la recirculation du digestat liquide sur les performances du digesteur. À cette fin, trois digesteurs avec recirculation de digestat liquide ont été comparés à trois autres sans recirculation ; tous ont été alimentés avec un rapport volumétrique des margines de 5% et un rapport C / N ajusté à 20 en utilisant le FV comme source d'azote. Au cours de la phase de démarrage, les digesteurs ont été fonctionnés en mode batch jusqu'à ce que des conditions stables soient atteintes, ce qui est démontré par une constante production de biogaz. Après les conditions de fonctionnement ont été modifiées en mode semi-continu en utilisant le même rapport de mélange. La température d'incubation a été maintenue à 32 ° C et le temps de rétention hydraulique (HRT) a été fixé à 20 jours, par extraction de 300 ml par 3 jours de déchets digérés (ce qui équivalent à 100 ml/jour), à l'aide d'une pompe à eau et une alimentation manuelle du même volume retiré à l'aide d'un entonnoir en plastique. Pour les digesteurs avec recirculation du digestat, le rapport de retour était d'environ 1/1 (150 mL de digestat et 150 mL d'aliment).



## 2. Prétraitement aérobie :

Le traitement aérobie a été réalisé dans des bouteilles en plastique avec un volume de 1.5 L, dont le contenu a été homogénéisé au moyen d'un agitateur magnétique. L'air provenant d'un compresseur a été injecté par le bas du réacteur, et la température a été maintenue à 32°C. Le processus d'aération a été mené en mode discontinu (par lots) sans ajout de bactérie aérobie spécifique, l'injection d'air activant la croissance des microorganismes aérobies déjà présents dans les échantillons des margines et du Fumier de volaille.

## 3. Inoculation :

L'inoculum utilisé pour la co-digestion des margines et de Fumier de volaille a été collecté à partir d'un inoculum acclimaté mésophile normalisé à partir d'un réacteur UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) à l'échelle du laboratoire. L'inoculum acclimaté était un mélange de lixiviat et des margines. Après traitement aérobie des mélanges préparés margines/ FV chaque réacteur a été inoculé avec un volume de 100 ml d'inoculum.

**Tableau 10: Caractérisation physicochimiques de l'inoculum.**

<b>Paramètres</b>	<b>Inoculum</b>
<b>pH</b>	<b>7.5</b>
<b>TKN</b>	<b>0.03 g/L</b>
<b>Volatile Solde (VS)</b>	<b>1.79*</b>

\* : % matière sèche.

#### **4. Méthodes d'analyse :**

Toutes les déterminations analytiques ont été effectuées selon les méthodes standard pour l'examen de l'eau et des eaux usées (Rodier et al., 2009). La teneur en solides volatils (VS) a été déterminée après séchage des échantillons à 105 ° C pendant 72h et inflammation pendant une nuit à 550 ° C. L'azote total (TKN) et l'ammonium ont été déterminés par la méthode de Kjeldhal et le pH et la conductivité électrique par le pH-mètre et le conductimètre Hanna. La teneur en phénol a été déterminée en équivalent d'acide galique et la demande chimique en oxygène (DCO) a été mesurée par spectrophotométrie après une digestion totale avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et du dichromate de potassium à 150 ° C pendant 2h. La concentration en acides gras volatils a été déterminée par titration et l'alcalinité par titration acide avec de l'acide chlorhydrique. La production de biogaz a été mesurée par colonne de déplacement d'eau à la pression atmosphérique et à une température ambiante de 25 ± 3 ° C, la composition en biogaz a été mesurée par un détecteur infrarouge SEWERIN MULTITEC 500 pour les teneurs en CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>S....

### **III. Résultats et discussion :**

#### **1. Caractérisation physico-chimiques des substrats :**

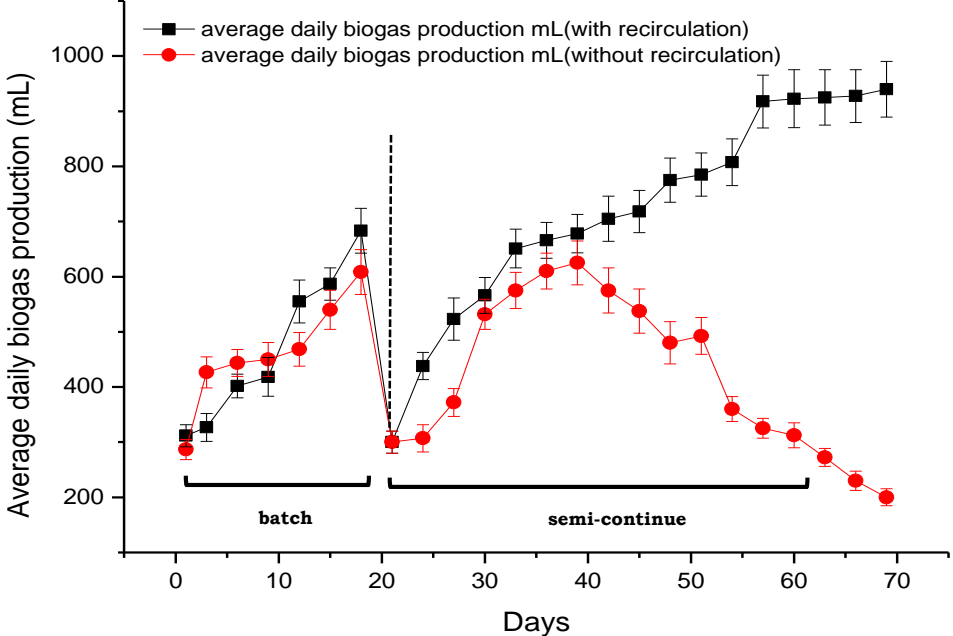
Dans un premier temps, il était important de déterminer les différentes caractéristiques physico-chimiques de chaque substrat utilisé pour l'alimentation des digesteurs. Le tableau (1) présente les caractéristiques des margines et du Fumier de Volailles (FV). Les données analytiques montrent que les margines avaient une teneur élevée en DCO, ce qui en fait un substrat intéressant pour la production de biogaz (Camarillo and Rincón, 2012; Fezzani and Cheikh, 2007; Khoufi et al., 2015). De plus, les margines présentaient une concentration élevée en composés phénoliques qui entraînait une inhibition des bactéries méthanogènes, dont la concentration était de 8,63 g / L. Par conséquent, il n'est pas optimal de l'utiliser seul comme substrat pour la production de biogaz (Milanese et al., 2014). Pour le FV, la concentration

d'azote est élevée et pourrait être utilisée pour compenser la faible teneur en azote dans les margines (<1 000 mg / L). Le pH du FV était de 7,32, alors que celle des margines était significativement acide. Pour cela, le FV peuvent être utilisée comme co-substrat pour ajuster le pH et le rapport C / N des margines, selon (Li et al., 2015) le rapport C / N approprié pour la digestion anaérobie se situe dans la plage de 20 -30.

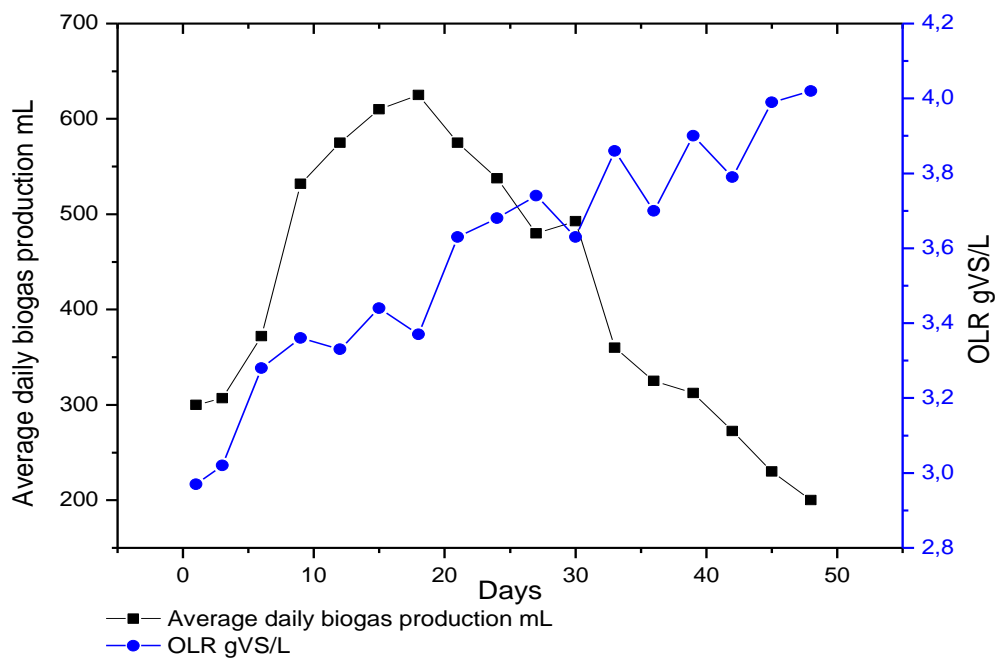
### **a. Performance du réacteur :**

Les résultats représentant l'effet de la recirculation du digestat sur la production quotidienne de biogaz ont été illustrés à la figure 1. Pendant la période de démarrage du batch, le rendement en biogaz était d'environ 120,26 mL/L.j, mais avec le passage au mode semi-continu, une diminution a été observé au début du procédé pour les deux réacteurs avec et sans recirculation du digestat, mais après quelques temps, la production de biogaz reprend à être augmentée de manière significative, ce qui signifie que le nouveau substrat introduit dans le réacteur nécessite un peu de temps pour se dégrader et s'acclimater dans son nouveau milieu. Le réacteur sans recirculation du digestat a enregistré un rendement quotidien de biogaz de 184,13 mL/L.j, avec un taux de charge organique quotidien de 2,34 gVS/L.j. pour celles avec recirculation du digestat une fois la charge organique augmente en parallèle la production de biogaz diminue (figure 2), cela signifie que la recirculation du liquide provoque une accumulation de substances organiques et inorganiques, conduisant à une inhibition de l'hydrolyse et de la méthanogénèse (Nordberg et al., 2007). aussi, la recirculation du liquide a augmenté la concentration en AGV à des seuils supérieurs au seuil d'inhibition de la méthanogénèse (Borowski et al., 2014) ce qui a modifié l'environnement du réacteur (Franke-Whittle et al., 2014). Plusieurs études ont rapporté que l'accumulation des AGV abaisse généralement le pH à un niveau très bas, ce qui limite encore l'activité de la méthanogénèse, et elles ont également rapporté que la toxicité des AGV diminue considérablement avec l'augmentation du pH (Appels et al., 2008), mais dans ce cas et avec la recirculation du liquide, le pH n'a jamais diminué, mais au contraire, il est resté stable (pH variant de 7 à 8,5) (Figure 3), ces résultats sont significatifs du fait de la forte concentration d'ammonium dans le digesteur et sont en accord avec ceux trouvés par (Wu et al., 2016). De plus, la co-digestion des margines et du fumier de volaille pourrait être inhibée par l'ammoniac, qui a été libéré pendant la digestion. La concentration en ammoniac total et libre, qui pourrait inhiber le processus de digestion anaérobie, n'a pas été établie. Du fait de la libération d'ammoniac, l'inhibition des méthanogènes ne permet pas de consommer les AGV produits lors de l'acidogénèse/acétogénèse, alors que les

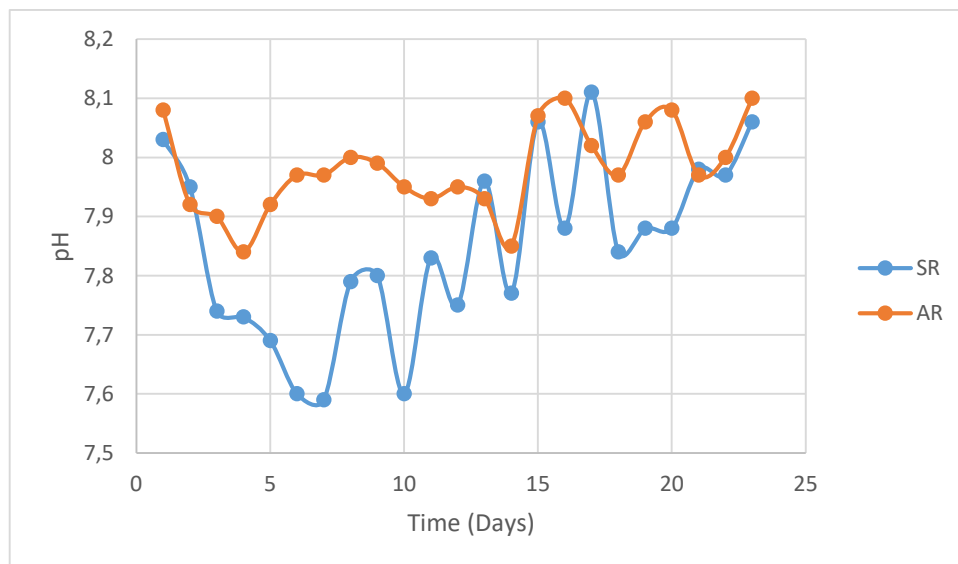
AGV continuent d'être produits et accumulés dans le réacteur (Markou, 2015). L'accumulation d'ammoniac avec les AGV a finalement un effet synergique négatif sur la production de biogaz.



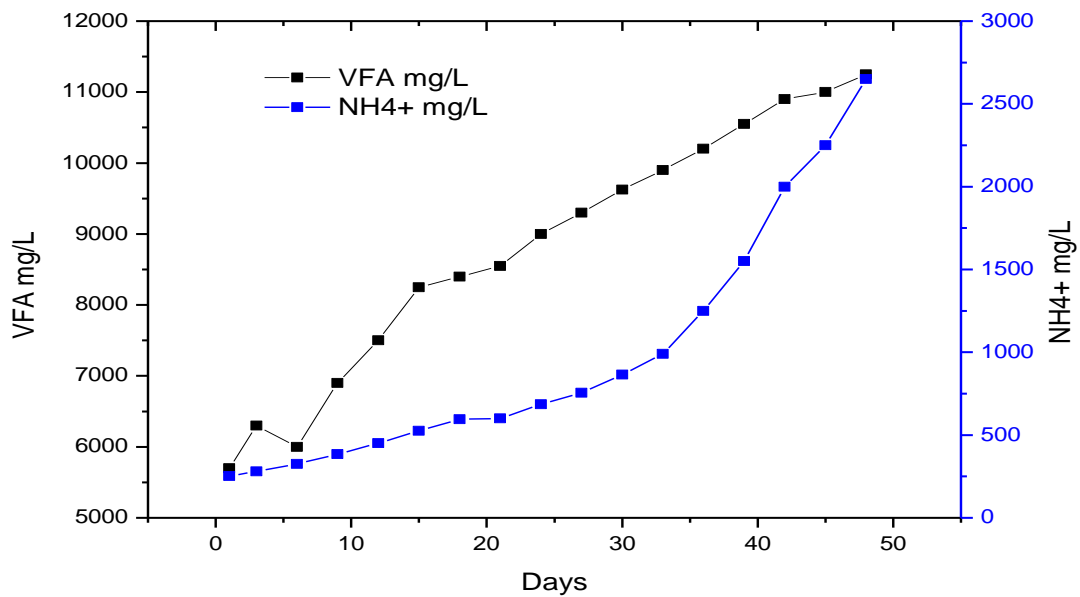
***Figure 10 : la production journalière de biogaz pour les digesteurs avec et sans recirculation du digestat lors de la digestion semi-continue des OMWW avec un rapport C/N de 20***



***Figure 11: évolution de la concentration en SV pour les digesteurs avec recirculation du digestat pendant le mode semi-continu.***



***Figure 12: Evolution du pH lors de la co-digestion des margines et fumier de volaille.***



***Figure 13: Evolution de la concentration en AGV lors de la co-digestion des margines et du fumier de volaille en mode semi-continu***

### III. Conclusion :

L'utilisation recyclée de la suspension liquide digérée comme liquide de dilution dans la charge solide s'est avérée être une bonne alternative pour gérer la grande quantité d'effluent digéré généré. La recirculation du digestat an tant que stratégie pour diluer les déchets avant de les alimenter dans les digesteurs anaérobie, et de réduire la possibilité de rejeter la partie liquide de l'effluent dans l'environnement n'a pas bien fonctionnée dans ce cas. d'après les résultats obtenus ont conclu qu'avec la recirculation du digestat liquide, à une charge au-delà de 3.63 g VS/l/jr à un effet négative sur la production quotidienne de biogaz, et a entraîné une augmentation importante des AGV qui indique un déséquilibre entre la solubilisation du substrat et le processus de production de méthane.

## *Chapitre III : les tests de phytotoxicité*



# I Introduction :

L'intensification des activités agricoles et agro-industrielles dans les provinces de Beni-Mellal et de Fkih Ben Saleh, telles que l'aviculture et l'extraction de l'huile d'olive, génère d'énormes quantités de déchets organiques et de sous-produits qui posent un grave problème environnemental. La gestion de ces déchets représente un enjeu important pour une gestion durable de l'environnement. L'application de la digestion anaérobie permet de traiter la biomasse générée tout en transformant un problème de déchets en une source de richesse. Ce bioprocédé a le double avantage de constituer un procédé durable pour la gestion des déchets et de produire de l'énergie renouvelable et un fertilisant tout en réduisant les émissions de gaz à effet de serre (Styles et al., 2016)

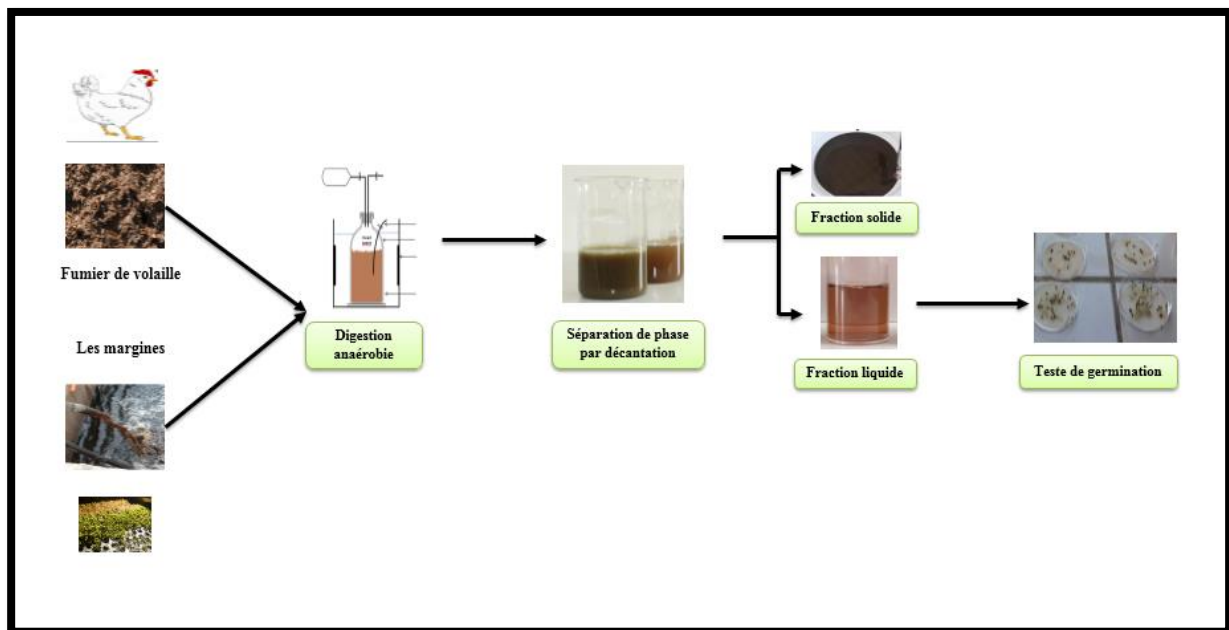
Dans ces dernières années le secteur de la méthanisation a connu un fort développement entraînant la production de grandes quantités de co-produit appelé le digestat qui est une suspension liquide à épaisse contenant des composés organiques non dégradés et des micro-organismes. Il est enrichi en composés minéraux tels que l'azote ; le potassium et le phosphore (Madsen et al., 2011), et il est généralement utilisé en tant qu'amendement organique ou fertilisant. La fraction solide des digestats est utilisée soit d'une manière directe dans l'épandage agricole et ou après leur compostage. Comme elle peut être séchée ou transformée en granules pour être commercialisée sous forme de bio-engrais (Drosg et al.) ou utilisée comme combustible solide (Kratzeisen et al., 2010; Pedrazzi et al., 2015). Tandis que la fraction liquide des digestats peut contenir jusqu'à 90-95% de la masse totale des digestats bruts (Sheets et al., 2015) lorsque les digesteurs sont opérés en voie liquide. Ils présentent généralement un potentiel de biogaz résiduel très faible (Carrere et al.), mais une concentration élevée en DCO, en azote total (TN) et en azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) ainsi que des teneurs importantes en d'autres nutriments (Xia and Murphy, 2016).

Le présent travail, consiste à produire un biofertilisant liquide à l'échelle pilote à partir des digestats de deux digesteurs, un avec recirculation du digestat et l'autre sans recirculation, alimentés avec un mélange des margines et du FV. Les deux digesteurs fonctionnant à une température mésophile 32°C. L'objectif principal de ce travail est d'examiner la faisabilité d'application de la fraction liquide des digestats récupérés dans la fertigation goutte à goutte, pour cela ce travail était décomposé en deux parties la première consiste à évaluer la capacité phytotoxique de la fraction liquide du digestat, et la deuxième à déterminer quelques critères

de qualité physico-chimiques et microbiologiques que devrait posséder un substrat de culture.

## II Matériels et Méthodes :

Les digestats ont été recueillis des deux digesteurs mésophiles traitant un mélange des margines et du FV, avec et sans recirculation du digestat. Après les digestats ont été stockés dans des bouteilles pour but de séparation de phase par décantation. Le schéma de traitement général est illustré dans la figure 1.



*Figure 14: schéma du traitement général.*

### 1. Evaluation phytotoxique des digestats :

Dont le but d'étudier le pouvoir fertilisant du jus liquide issu de la biométhanisation des margines et du FV, des tests de phytotoxicité sur les graines de Luzerne ont été réalisés. Quatre digestats ont été étudiés, deux ont été prélevés des digesteurs sans recirculation et les deux autres des digesteurs avec recirculation de digestat. Ensuite, chaque digestat a été décanté pour servir de séparation de phase ; après le surnageant de chacun, a été dilué 10, 25, 35 et 50% avec de l'eau, afin de déterminer la dilution optimale donnant le taux de germination le plus élevé. A cet effet, les tests de germination ont été réalisés dans des boîtes de Pétri contenant deux couches de papier filtre entre lesquelles les graines de la Luzerne sont placées d'une manière

homogène, fertilisées avec le liquide préparé, puis incubées à une température de 25 ° C. hydraté chaque jour en prenant soin de ne pas le tremper.

## **2. Les analyses physico-chimiques :**

Toutes les déterminations analytiques ont été effectuées selon la méthode standard. L'ammonium a été déterminé par la méthode de Kjeldhal et le pH et la conductivité électrique par le pH-mètre et le conductimètre Hanna. Le dosage des éléments chimiques le potassium (K), le calcium (Ca) et le sodium (Na) à l'aide d'un photomètre à flamme. Le phosphore totale a été déterminé par

## **3. Analyses microbiologiques :**

Pour déterminer l'aspect hygiénique du digestat étudié, nous avons concentré sur l'analyse microbiologique des bactéries pathogènes telles que Salmonella et Staphylococcus. Pour l'analyse des staphylocoques, un échantillon de 1 ml de chaque digestat a été mis en suspension dans 10 ml d'une solution aqueuse stérile de peptone, chaque suspension a été soumise à une série de dilutions décimales allant de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-5</sup>. La numération microbienne a été réalisée par une numération cellulaire évaluée en déterminant le nombre d'unités formant des colonies selon la norme ISO 7218 (1985). Pour Salmonella, il a été testé en trois étapes : un pré-enrichissement dans lequel 1 ml d'échantillon est mélangé avec 10 ml d'eau peptonée stérile, cette dernière est incubée à 37 ° C pendant 20 heures. Un enrichissement de 0,1 ml du premier enrichissement est effectué dans 10 ml de bouillon Rappaport, puis incubé à 42 ° C pendant 24 heures. L'isolement consiste en l'inoculation de 1 ml du bouillon d'enrichissement sur un milieu sélectif, le milieu utilisé dans cette étude est le SS, puis en incubation à 37 ° C pendant 24 à 48 heures.

## **III Résultats et discussion :**

### **1. Evaluation de la capacité fertilisante :**

L'évaluation de la qualité fertilisante des digestats récupérés à son état concentré et dilués avec de l'eau à différentes proportions ont étaient présenter dans le tableau (11).

Tableau 11: caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des digestats.

Proprieties	Without recirculation								With recirculation							
	I				II				I				II			
The dilution (%)	10	25	35	50	10	25	35	50	10	25	35	50	10	25	35	50
Germination rate (%)	100	60	40	0	100	55	10	0	100	50	30	0	100	60	10	0
pH	7.37	7.44	7.52	8.10	8.29	8.35	8.83	8.91	7.95	8.36	8.74	9.18	8.09	8.36	8.73	9.21
Cond	1415	4.58	6.36	6.95	770	1529	4.17	5.5	1312	2281	4.92	5.73	1091	2013	5.11	6.23
NTK mg/mL	0.65	1.6	2.35	3.3	3.1	7.5	10	13.5	0.5	1.8	2.7	4	1.2	3	3.99	7.5
Total phosphorus mg/L	5.5	5.44	5.33	5.25	5.21	5.75	5.27	6.04	6.14	5.38	6.6	5.27	5.89	4.8	5.31	5.21
Potassium K <sup>+</sup> mg/L	61	53	23	51	10	71	65	46	50	68	23	34	40	28	31	34
Ammonium NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	300	780	950	1550	350	787.5	1002.5	1500	300	800.5	1025	1400	400	900	1250	1800
Salmonella	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Staphylococcus log UFC/ml	7.07	8.47	7.61	7.77	7.89	7.29	7.43	7.59	7.38	7.78	7.93	8.08	6.41	6.82	6.96	7.12

Les résultats du taux de germination l'augmentation de la concentration du digestat induit une diminution du taux de graines germées. La concentration la plus faible du digestat (10 %) a le pourcentage de germination des graines le plus élevé de 100 %, et apporte des améliorations significatives par rapport à l'eau (témoin). Une diminution significative commence à une concentration de 25 %. Cependant, à 50 % du digestat, la germination était complètement inhibée. Pour confirmer ces résultats, une caractérisation physico-chimique a montré que le pH a des valeurs légèrement alcalines ( $> 7,3$ ). La tendance s'accroît au fur et à mesure que la digestion anaérobie progresse (Alburquerque, de la Fuente et Bernal, 2012). De plus, le pH est également conditionné par l'ajout de bases fortes pour contrôler le pH et la capacité tampon du système de digestion anaérobie (Ward et al., 2008). Pour la conductivité électrique (CE), (Soumaré et al., 2002) indique que, pour les substrats de culture, le (CE) doit être inférieur à 3 ms/cm. selon le tableau 1, 50% et 35% du digestat ont les valeurs CE les plus élevées, ce qui explique leur effet phytotoxique sur les graines de luzerne, tandis que 10% et 25% ont un CE conforme à la norme.

Concernant les concentrations en nutriments, les principaux éléments sont N, K et P. La principale propriété des produits de digestion est qu'une grande partie de l'azote est sous forme inorganique, représentant  $\text{NH}_4^+$ . Cette forme d'azote peut facilement être perdue en raison de la volatilisation de l'ammoniac pendant le stockage et de sa propagation en raison du pH alcalin de la matière digérée (Sommer et Husted, 1995). De plus, le  $\text{NH}_4\text{-N}$  est rapidement nitrifié dans le sol dans des conditions favorables. Il est largement disponible pour les cultures, mais peut également être lessivé par le profil du sol, ce qui peut entraîner une pollution des eaux souterraines. Dans la présente étude, les concentrations de nutriments tels que N et K se situaient dans la fourchette indiquée par d'autres auteurs (B., 1950). Alors qu'une contribution en P est nécessaire. Ainsi, pour éviter la phytotoxicité et tirer le meilleur parti des nutriments, le digestat peut être appliqué en même temps que l'eau d'irrigation agissant comme diluant.

L'hygiène est un autre aspect biologique important de la qualité du digestat. La salmonelle est l'un des agents pathogènes qui peuvent se propager dans l'environnement par les boues animales et les boues d'épuration (Coelho et al., 2018). Les souches de salmonelles qui peuvent être nocives pour l'homme proviennent principalement d'animaux utilisés dans les produits alimentaires tels que les porcs, les bovins et les volailles (Kagambèga et al., 2013). Dans notre étude, *Salmonella* spp. n'a pas été détecté dans tous les digestats (tableau 2). cela signifie que les acides gras volatils jouent un rôle important dans l'inactivation de *Salmonella* spp. Dans les

systèmes de digestion anaérobie, les AGV sont présents sous forme d'AGV libres et d'AGV ionisés, dont l'équilibre dépend du pH et de la température. Les mécanismes d'inhibition des AGV sur la croissance des agents pathogènes comprennent la variation de l'électrophysiologie, le métabolisme de la cellule, l'acidification du cytoplasme et la variation de la pression osmotique (Jiang et al., 2020). par contre, la concentration de staphylocoques dans les digestats était significativement plus élevée que la concentration initiale contenue dans le fumier brut, ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par (Boko, 2017). Cela signifie que les agents pathogènes ne sont pas affectés pendant la digestion anaérobie car ce processus est effectué à basse température. ceci confirme l'augmentation des quantités de germes mésophiles pathogènes (Boko, 2017).

## **IV Conclusion :**

La valorisation agronomique du digestats de la biométhanisation industrielle et agricole appliquée aux margines et aux fumiers de volaille s'avère écologiquement intéressante et révélé être un moyen efficace de fournir des engrais. Cependant le contenu déséquilibré du digestats nécessite leur analyse avant de pouvoir être intégrés dans les programmes de fertilisation. Par conséquent la caractérisation du digestat est une tache inévitable pour déterminer les taux d'application, le risque de phytotoxicité, la nécessité d'un traitement de stabilisation avant l'application au sol.

## Conclusion générale

Le rejet des margines non traitées et extrêmement chargées en matières organiques pose un problème écologique majeur pour les pays producteurs de l'huile d'olive. En raison de la charge organique fortement toxique, l'acidité du pH et la forte demande chimique et biologique en oxygène (DBO, DCO), ils exercent donc une activité polluante très élevée, comme déjà montré dans plusieurs études. Cette situation écologique nous a incités à réaliser une étude expérimentale basée sur le traitement de ce déchet. Plusieurs études utilisant des procédés de traitement physico-chimique, thermique, et biologique ont été réalisées afin de remédier le problème des margines, mais peu de procédés sont actuellement utilisés à grande échelle en raison des contraintes économiques. La digestion anaérobie des margines reste le traitement le plus économiquement et écologiquement fiable, mais à cause de la faible teneur des margines en azote, une combinaison des margines avec d'autre co-substrat riche en azote est nécessaire. Le co-substrat utilisé est le fumier de volaille.

L'objectif général de cette étude est de proposer un procédé de traitements jugés plus simples et plus adaptés aux conditions locales de la région. Les principaux résultats techniques obtenus peuvent être récapitulés en différents points :

### **Etude du potentiel biochimique du méthane et de l'effet du mode opératoire :**

L'étude consiste dans un premier temps à étudier le PBM de quatre rapports volumiques des margines et quatre charges massiques de fumier de volaille (1, 2, 3, et 4%) pour chaque rapport volumique des margines au mode batch. Puis les conditions opérationnelles ont été changées au mode semi-continue, avec le meilleur rapport de mélange obtenu dans les tests de batch, en augmentant le rapport de mélange des margines jusqu'à 20%.

Les résultats des tests de PBM ont montré que le rendement de biogaz le plus élevé était obtenu pour la monodigestion du fumier de volaille à une charge massique de 2%. Les tests de digestion au mode semi-continue prouvent que la codigestion optimale était atteinte jusqu'à 10%, et un taux de charge organique de 1.57 gSV/L/j, avec une contribution de charge organique des margines de 40 à 50%.

### **Etude de l'effet de recirculation du digestat liquide sur la performance du réacteur :**

Cette partie consiste à étudier l'effet de la recirculation en comparant trois réacteurs avec recirculation du digestat avec trois autres sans recirculation du digestat, tous alimentés par un



rapport volumique des margines de 5% et un rapport C/N ajuster à 20%. Les résultats obtenus montrent que de bonnes performances ont été obtenues dans le cas des digesteurs sans recirculation pour lesquels la production journalière de biogaz était de l'ordre de 78,92 mL/gVS.j et 184,13 mL/L.j. La recirculation du digestat a un effet négatif qui a été principalement attribué à une charge organique au-delà de 3,37 g SV/L.j.

#### **Etude de l'effet phytotoxique des digestats :**

Cette partie consiste à évaluer la phytotoxicité des digestats récupérés après digestion anaérobie des margines et du fumier de volaille avec et sans recirculation du digestat liquide, sur les graines de Luzerne. Les résultats, montre que 10% est la meilleure dilution du digestat pour les deux réacteurs.

## Les références bibliographiques :

- Abouelenien, F., Nakashimada, Y., and Nishio, N. (2009). Dry mesophilic fermentation of chicken manure for production of methane by repeated batch culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 107, 293–295.
- Adderley, A.E., Smith, I.E., and Probert, S.D. (1976). Anaerobic fermentation of poultry manure. *Applied Energy* 2, 163–173.
- Adekunle, K.F., and Okolie, J.A. (2015). A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *ABB* 06, 205–212.
- Aktas, E.S., Imre, S., and Ersoy, L. (2001). Characterization and lime treatment of olive mill wastewater. *Water Research* 35, 2336–2340.
- Alatrisme-Mondragón, F., Samar, P., Cox, H.H.J., Ahring, B.K., and Iranpour, R. (2006). Anaerobic Codigestion of Municipal, Farm, and Industrial Organic Wastes: A Survey of Recent Literature. *Water Environment Research* 78, 607–636.
- Alburquerque, J.A., de la Fuente, C., and Bernal, M.P. (2012a). Chemical properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 160, 15–22.
- Alburquerque, J.A., de la Fuente, C., Campoy, M., Carrasco, L., Nájera, I., Baixauli, C., Caravaca, F., Roldán, A., Cegarra, J., and Bernal, M.P. (2012b). Agricultural use of digestate for horticultural crop production and improvement of soil properties. *European Journal of Agronomy* 43, 119–128.
- Alburquerque, J.A., de la Fuente, C., Ferrer-Costa, A., Carrasco, L., Cegarra, J., Abad, M., and Bernal, M.P. (2012c). Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass and Bioenergy* 40, 181–189.
- Alexandratos, N. *World Agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision*. 154.
- Ali Shah, F., Mahmood, Q., Maroof Shah, M., Pervez, A., and Ahmad Asad, S. (2014). Microbial Ecology of Anaerobic Digesters: The Key Players of Anaerobiosis. *The Scientific World Journal* 2014, 1–21.
- Al-Malah, K., Azzam, M.O.J., and Abu-Lail, N.I. (2000). Olive mills effluent (OME) wastewater post-treatment using activated clay. *Separation and Purification Technology* 20, 225–234.
- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., and Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science* 34, 755–781.
- Arbon, I.M. (2002). Worldwide use of biomass in power generation and combined heat and power schemes. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part A: Journal of Power and Energy* 216, 41–57.
- Aslanzadeh, S. Pretreatment of cellulosic waste and high-rate biogas production. 168.
- Asses, N., Ayed, L., Bouallagui, H., Sayadi, S., and Hamdi, M. (2009). Biodegradation of different molecular-mass polyphenols derived from olive mill wastewaters by *Geotrichum candidum*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63, 407–413.
- Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., and Mata-Alvarez, J. (2012). Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate. *Bioresource Technology* 110, 63–70.

- Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., and Mata-Alvarez, J. (2013). Thermophilic co-digestion of pig manure and crude glycerol: Process performance and digestate stability. *Journal of Biotechnology* 166, 97–104.
- Athanasoulia, E., Melidis, P., and Aivasidis, A. (2012). Optimization of biogas production from waste activated sludge through serial digestion. *Renewable Energy* 47, 147–151.
- Atif, K., Haouas, A., Aziz, F., Jamali, M.Y., Tallou, A., and Amir, S. (2020). Pathogens Evolution During the Composting of the Household Waste Mixture Enriched with Phosphate Residues and Olive Oil Mill Wastewater. *Waste Biomass Valor* 11, 1789–1797.
- Azbar, N., Tutuk, F., and Keskin, T. (2009). Biodegradation performance of an anaerobic hybrid reactor treating olive mill effluent under various organic loading rates. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63, 690–698.
- Azzam, M.O.J., Al-Malah, K.I., and Abu-Lail, N.I. (2004). Dynamic Post-treatment Response of Olive Mill Effluent Wastewater Using Activated Carbon. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 39, 269–280.
- B., H. (1950). Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Population (French Edition) 5, 764.
- Béline, F., Benbelkacem, H., de Conférences, M., Lyon, I., Cochet, N., Escudié, R., Lamy, E., de Conférences, M., Peu, P., Pommier, S., et al. Étude de verrous scientifiques et technologiques pour la compréhension et l'optimisation du procédé de méthanisation voie sèche discontinu de sous-produits d'origine agricole. 260.
- Benitez, F.J., Beltran-Heredia, J., Torregrosa, J., and Acero, J.L. (1999). Treatment of olive mill wastewaters by ozonation, aerobic degradation and the combination of both treatments. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 74, 639–646.
- Benitez, J., Beltran-Heredia, J., Torregrosa, J., Acero, J.L., and Cercas, V. (1997). Aerobic degradation of olive mill wastewaters. *Applied Microbiology and Biotechnology* 47, 185–188.
- Benlemlih, M. (2003). Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. 182.
- Bolan, N., Adriano, D., and Mahimairaja, S. (2004). Distribution and Bioavailability of Trace Elements in Livestock and Poultry Manure By-Products. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 34, 291–338.
- Borowski, S., Domański, J., and Weatherley, L. (2014). Anaerobic co-digestion of swine and poultry manure with municipal sewage sludge. *Waste Management* 34, 513–521.
- del Bubba, M., Checchini, L., Pifferi, C., Zanieri, L., and Lepri, L. (2004). Olive Mill Wastewater Treatment by a Pilot-Scale Subsurface Horizontal Flow (SSF-h) Constructed Wetland. *Annali di Chimica* 94, 875–887.
- Burton, C.H., and Turner, C. (2003). *Manure Management: Treatment Strategies for Sustainable Agriculture* (Editions Quae).
- Camarillo, R., and Rincón, J. (2012). Effect of inhibitory compounds on the two-phase anaerobic digestion performance of diluted wastewaters from the alimentary industry. *Chemical Engineering Journal* 193–194, 68–76.
- Capasso, R., Evidente, A., Schivo, L., Orru, G., Marcialis, M.A., and Cristinzio, G. (1995). Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *Journal of Applied Bacteriology* 79, 393–398.

- Carrere, D.H., Narbonne, I., and Noyola, D.A. Characterization of liquid fraction of digestates after solid- liquid separation from anaerobic co-digestion plants. 240.
- Carucci, G., Carrasco, F., Trifoni, K., Majone, M., and Beccari, M. (2005). Anaerobic Digestion of Food Industry Wastes: Effect of Codigestion on Methane Yield. *Journal of Environmental Engineering* *131*, 1037–1045.
- Cavinato, C., Fatone, F., Bolzonella, D., and Pavan, P. (2010). Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: Comparison of pilot and full scale experiences. *Bioresource Technology* *101*, 545–550.
- Chaucheyras-Durand, F., Walker, N.D., and Bach, A. (2008). Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Animal Feed Science and Technology* *145*, 5–26.
- Claassen, P.A.M., van Lier, J.B., Lopez Contreras, A.M., van Niel, E.W.J., Sijtsma, L., Stams, A.J.M., de Vries, S.S., and Weusthuis, R.A. (1999). Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology* *52*, 741–755.
- Comino, E., Rosso, M., and Riggio, V. (2010). Investigation of increasing organic loading rate in the co-digestion of energy crops and cow manure mix. *Bioresource Technology* *101*, 3013–3019.
- Conrad, R. (1999). Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments. *FEMS Microbiology Ecology* *28*, 193–202.
- Cossu, R., Blakey, N., and Cannas, P. (1993). Influence of Codisposal of Municipal Solid Waste and Olive Vegetation Water on the Anaerobic Digestion of a Sanitary Landfill. *Water Science and Technology* *27*, 261–271.
- Dareioti, M.A., Dokianakis, S.N., Stamatelatou, K., Zafiri, C., and Kornaros, M. (2009). Biogas production from anaerobic co-digestion of agroindustrial wastewaters under mesophilic conditions in a two-stage process. *Desalination* *248*, 891–906.
- Dareioti, M.A., Dokianakis, S.N., Stamatelatou, K., Zafiri, C., and Kornaros, M. (2010). Exploitation of olive mill wastewater and liquid cow manure for biogas production. *Waste Management* *30*, 1841–1848.
- De Bere, L. (2000). Anaerobic digestion of solid waste: state-of-the-art. *Water Science and Technology* *41*, 283–290.
- De la Rubia, M.A., Villamil, J.A., Rodriguez, J.J., and Mohedano, A.F. (2018). Effect of inoculum source and initial concentration on the anaerobic digestion of the liquid fraction from hydrothermal carbonisation of sewage sludge. *Renewable Energy* *127*, 697–704.
- Demirel, B., Göl, N.P., and Onay, T.T. (2013). Evaluation of heavy metal content in digestate from batch anaerobic co-digestion of sunflower hulls and poultry manure. *Journal of Material Cycles and Waste Management* *15*, 242–246.
- Di Maria, F., Sordi, A., and Micale, C. (2012). Optimization of Solid State Anaerobic Digestion by inoculum recirculation: The case of an existing Mechanical Biological Treatment plant. *Applied Energy* *97*, 462–469.
- Drosg, B., Fuchs, W., Seadi, T.A., Madsen, M., and Linke, B. Nutrient Recovery by Biogas Digestate Processing. 40.
- El Gnaoui, Y., Sounni, F., Bakraoui, M., Karouach, F., Benlemlih, M., Barz, M., and El Bari, H. (2020). Anaerobic co-digestion assessment of olive mill wastewater and food waste: Effect of mixture ratio

on methane production and process stability. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 8, 103874.

Farrow, C. Anaerobic Digestion of Poultry Manure: Implementation of Ammonia Control to Optimize Biogas Yield. 144.

Farrow, C. Anaerobic Digestion of Poultry Manure: Implementation of Ammonia Control to Optimize Biogas Yield. 144.

Farrow, C., Crolla, A., Kinsley, C., and McBean, E. (2017). Anaerobic digestion of poultry manure: Process optimization employing struvite precipitation and novel digestion technologies. *Environ. Prog. Sustainable Energy* 36, 73–82.

Fernandes, T.V., Klaasse Bos, G.J., Zeeman, G., Sanders, J.P.M., and van Lier, J.B. (2009). Effects of thermo-chemical pre-treatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 100, 2575–2579.

Fezzani, B., and Cheikh, R.B. (2007). Thermophilic anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with olive mill solid wastes in a tubular digester. *Chemical Engineering Journal* 132, 195–203.

Franke-Whittle, I.H., Walter, A., Ebner, C., and Insam, H. (2014). Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities. *Waste Management* 34, 2080–2089.

Gannoun, H., Omri, I., Chouari, R., Khelifi, E., keskes, S., Godon, J.-J., Hamdi, M., Sghir, A., and Bouallagui, H. (2016). Microbial community structure associated with the high loading anaerobic codigestion of olive mill and abattoir wastewaters. *Bioresource Technology* 201, 337–346.

Gerber, P., Chilonda, P., Franceschini, G., and Menzi, H. (2005). Geographical determinants and environmental implications of livestock production intensification in Asia. *Bioresource Technology* 96, 263–276.

Gerber, P., Opio, C., and Steinfeld, H. Poultry production and the environment – a review. 27.

Gharsallah, N., Labat, M., Aloui, F., and Sayadi, S. (1999). The effect of *Phanerochaete chrysosporium* pretreatment of olive mill waste waters on anaerobic digestion. *Resources, Conservation and Recycling* 27, 187–192.

Gianico, A., Braguglia, C.M., Mescia, D., and Mininni, G. (2013). Ultrasonic and thermal pretreatments to enhance the anaerobic bioconversion of olive husks. *Bioresource Technology* 147, 623–626.

González, M.D., Moreno, E., Quevedo-Sarmiento, J., and Ramos-Cormenzana, A. (1990). Studies on antibacterial activity of waste waters from olive oil mills (alpechin): Inhibitory activity of phenolic and fatty acids. *Chemosphere* 20, 423–432.

González-Fernández, C., and García-Encina, P.A. (2009). Impact of substrate to inoculum ratio in anaerobic digestion of swine slurry. *Biomass and Bioenergy* 33, 1065–1069.

Griffin, M.E., McMahon, K.D., Mackie, R.I., and Raskin, L. (1998). Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. *Biotechnology and Bioengineering* 57, 342–355.

Gunay, A., and Karadag, D. (2015). Recent developments in the anaerobic digestion of olive mill effluents. *Process Biochemistry* 50, 1893–1903.

Gupta, G., and Charles, S. (1999). Trace elements in soils fertilized with poultry litter. *Poultry Science* 78, 1695–1698.

- Guwy, A.J., Hawkes, F.R., Wilcox, S.J., and Hawkes, D.L. (1997). Neural network and on-off control of bicarbonate alkalinity in a fluidised-bed anaerobic digester. *Water Research* 31, 2019–2025.
- Hajji, A., and Rhachi, M. (2016). Effet de l'agitation sur la digestion anaérobie des déchets ménagers et assimilés en régime mésophile. 8.
- Hamdi, M. (1993). Future prospects and constraints of olive mill wastewaters use and treatment: A review. *Bioprocess Engineering* 8, 209–214.
- Hartmann, H., and Ahring, B.K. (2005). Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure. *Water Research* 39, 1543–1552.
- He, M., Sun, Y., Zou, D., Yuan, H., Zhu, B., Li, X., and Pang, Y. (2012). Influence of Temperature on Hydrolysis Acidification of Food Waste. *Procedia Environmental Sciences* 16, 85–94.
- Heaven, S., Salter, A.M., and Banks, C.J. (2011). Integration of on-farm biodiesel production with anaerobic digestion to maximise energy yield and greenhouse gas savings from process and farm residues. *Bioresource Technology* 102, 7784–7793.
- Hejnfelt, A., and Angelidaki, I. (2009). Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products. *Biomass and Bioenergy* 33, 1046–1054.
- Henard, C.A., Smith, H.K., and Guarnieri, M.T. (2017). Phosphoketolase overexpression increases biomass and lipid yield from methane in an obligate methanotrophic biocatalyst. *Metabolic Engineering* 41, 152–158.
- Hinken, L., Urban, I., Haun, E., Urban, I., Weichgrebe, D., and Rosenwinkel, K.-H. (2008). The valuation of malnutrition in the mono-digestion of maize silage by anaerobic batch tests. *Water Science and Technology* 58, 1453–1459.
- Hu, Y., Shen, F., Yuan, H., Zou, D., Pang, Y., Liu, Y., Zhu, B., Chufo, W.A., Jaffar, M., and Li, X. (2014). Influence of recirculation of liquid fraction of the digestate (LFD) on maize stover anaerobic digestion. *Biosystems Engineering* 127, 189–196.
- Husain, A. (1998). Mathematical models of the kinetics of anaerobic digestion—a selected review. *Biomass and Bioenergy* 14, 561–571.
- IBOUKHOULEF, H. (2014). Traitement des margines des huileries d'olive par les procédés d'oxydation avancée basés sur le système Fenton-like (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Cu).
- IEEP 2005 (1978). COMPANY LIMITED BY GUARANTEE AND NOT HAVING A SHARE CAPITAL: ARTICLES OF ASSOCIATION OF THE AUSTRALIAN PSYCHOLOGICAL SOCIETY PRELIMINARY. *Australian Psychologist* 13, 71–87.
- J. Arogo, P.W. Westerman, A.J. Heber, W.P. Robarge, and J.J. Classen (2001). Ammonia in Animal Production - A Review. In 2001 Sacramento, CA July 29-August 1,2001, (American Society of Agricultural and Biological Engineers), p.
- Jain, S., Jain, S., Wolf, I.T., Lee, J., and Tong, Y.W. (2015). A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 52, 142–154.
- Kalyuzhnyi, S., Fedorovich, V., and Nozhevnikova, A. (1998). Anaerobic treatment of liquid fraction of hen manure in UASB reactors. *Bioresource Technology* 65, 221–225.

- Karakashev, D., Batstone, D.J., and Angelidaki, I. (2005). Influence of Environmental Conditions on Methanogenic Compositions in Anaerobic Biogas Reactors. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 331–338.
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., and Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management* 31, 1737–1744.
- Khoufi, S., Louhichi, A., and Sayadi, S. (2015). Optimization of anaerobic co-digestion of olive mill wastewater and liquid poultry manure in batch condition and semi-continuous jet-loop reactor. *Bioresource Technology* 182, 67–74.
- Kim, M., Gomec, C.Y., Ahn, Y., and Speece, R.E. (2003). Hydrolysis and acidogenesis of particulate organic material in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion. *Environmental Technology* 24, 1183–1190.
- Komemoto, K., Lim, Y.G., Nagao, N., Onoue, Y., Niwa, C., and Toda, T. (2009). Effect of temperature on VFA's and biogas production in anaerobic solubilization of food waste. *Waste Management* 29, 2950–2955.
- Kougiyas, P.G., Kotsopoulos, T.A., and Martzopoulos, G.G. (2014). Effect of feedstock composition and organic loading rate during the mesophilic co-digestion of olive mill wastewater and swine manure. *Renewable Energy* 69, 202–207.
- Kozuchowska, J., and Evison, L.M. (1995). VFA Production in Pre-Acidification Systems without pH Control. *Environmental Technology* 16, 667–675.
- Kratzeisen, M., Starcevic, N., Martinov, M., Maurer, C., and Müller, J. (2010). Applicability of biogas digestate as solid fuel. *Fuel* 89, 2544–2548.
- Kumar, A., and Samadder, S.R. (2020). Performance evaluation of anaerobic digestion technology for energy recovery from organic fraction of municipal solid waste: A review. *Energy* 197, 117253.
- Lay, J.-J., Lee, Y.-J., and Noike, T. (1999). Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. *Water Research* 33, 2579–2586.
- Li, K., Liu, R., and Sun, C. (2015). Comparison of anaerobic digestion characteristics and kinetics of four livestock manures with different substrate concentrations. *Bioresource Technology* 198, 133–140.
- Lu, J., Gavala, H.N., Skiadas, I.V., Mladenovska, Z., and Ahring, B.K. (2008). Improving anaerobic sewage sludge digestion by implementation of a hyper-thermophilic prehydrolysis step. *Journal of Environmental Management* 88, 881–889.
- Lyberatos, G., and Skiadas, I.V. MODELLING OF ANAEROBIC DIGESTION - A REVIEW. 14.
- Madsen, M., Holm-Nielsen, J.B., and Esbensen, K.H. (2011). Monitoring of anaerobic digestion processes: A review perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15, 3141–3155.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., and Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 45, 540–555.
- Markou, G. (2015). Improved anaerobic digestion performance and biogas production from poultry litter after lowering its nitrogen content. *Bioresource Technology* 196, 726–730.
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M.S., Fonoll, X., Peces, M., and Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 36, 412–427.

- Milanese, M., de Risi, A., de Riccardis, A., and Laforgia, D. (2014). Numerical Study of Anaerobic Digestion System for Olive Pomace and Mill Wastewater. *Energy Procedia* 45, 141–149.
- Mosey, F.E., and Fernandes, X.A. (1989). Patterns of Hydrogen in Biogas from the Anaerobic Digestion of Milk-Sugars. *Water Science and Technology* 21, 187–196.
- Mu, Y., Yu, H.-Q., and Wang, G. (2007). A kinetic approach to anaerobic hydrogen-producing process. *Water Research* 41, 1152–1160.
- Nallathambi Gunaseelan, V. (1995). Effect of inoculum/substrate ratio and pretreatments on methane yield from Parthenium. *Biomass and Bioenergy* 8, 39–44.
- Neffa, M., Hanine, H., Lekhlif, B., Ouazzani, N., and Taourirte, M. (2014). Improvement of biological process using biocoagulation–flocculation pretreatment aid in olive mill wastewater detoxification. *Desalination and Water Treatment* 52, 2893–2902.
- Nordberg, A., Jarvis, A., Stenberg, B., Mathisen, B., and Svensson, B. (2007). Anaerobic digestion of alfalfa silage with recirculation of process liquid. *Bioresource Technology* 98, 104–111.
- Panichnumsin, P., Nopharatana, A., Ahring, B., and Chaiprasert, P. (2010). Production of methane by co-digestion of cassava pulp with various concentrations of pig manure. *Biomass and Bioenergy* 34, 1117–1124.
- Paraskeva, P., and Diamadopoulos, E. (2006). Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 81, 1475–1485.
- Parawira, W., Read, J.S., Mattiasson, B., and Björnsson, L. (2008). Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy* 32, 44–50.
- Paredes, C., Cegarra, J., Roig, A., Sánchez-Monedero, M.A., and Bernal, M.P. (1999). Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes. *Bioresource Technology* 67, 111–115.
- Pedrazzi, S., Allesina, G., Belló, T., Rinaldini, C.A., and Tartarini, P. (2015). Digestate as bio-fuel in domestic furnaces. *Fuel Processing Technology* 130, 172–178.
- Perez, J.D., Esteban, E., Gomez, M., and Gallardo-Lara, F. (1986). Effects of wastewater from olive processing on seed germination and early plant growth of different vegetable species. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 21, 349–357.
- Pobeheim, H., Munk, B., Johansson, J., and Guebitz, G.M. (2010). Influence of trace elements on methane formation from a synthetic model substrate for maize silage. *Bioresource Technology* 101, 836–839.
- Poggio, D., Walker, M., Nimmo, W., Ma, L., and Pourkashanian, M. (2016). Modelling the anaerobic digestion of solid organic waste – Substrate characterisation method for ADM1 using a combined biochemical and kinetic parameter estimation approach. *Waste Management* 53, 40–54.
- Potoglou, D., Kouzeli-Katsiri, A., and Haralambopoulos, D. (2004). Solar distillation of olive mill wastewater. *Renewable Energy* 29, 569–579.
- Procházka, J., Dolejš, P., Máca, J., and Dohányos, M. (2012). Stability and inhibition of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen. *Appl Microbiol Biotechnol* 93, 439–447.



- Pullammanappallil, P.C., Chynoweth, D.P., Lyberatos, G., and Svoronos, S.A. (2001). Stable performance of anaerobic digestion in the presence of a high concentration of propionic acid. *Bioresource Technology* 78, 165–169.
- Rabii, A., Aldin, S., Dahman, Y., and Elbeshbishy, E. (2019). A Review on Anaerobic Co-Digestion with a Focus on the Microbial Populations and the Effect of Multi-Stage Digester Configuration. *Energies* 12, 1106.
- Restrepo, A.P., Medina, E., Pérez-Espinosa, A., Agulló, E., Bustamante, M.A., Mininni, C., Bernal, M.P., and Moral, R. (2013). Substitution of Peat in Horticultural Seedlings: Suitability of Digestate-Derived Compost from Cattle Manure and Maize Silage Codigestion. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 44, 668–677.
- Sakar, S., Yetilmezsoy, K., and Kocak, E. (2009). Anaerobic digestion technology in poultry and livestock waste treatment — a literature review. *Waste Management & Research* 27, 3–18.
- Salminen, E., and Rintala, J. (2002). Anaerobic digestion of organic solid poultry slaughterhouse waste – a review. *Bioresource Technology* 83, 13–26.
- Sandberg, M., and Ahring, B.K. (1992). Anaerobic treatment of fish meal process waste-water in a UASB reactor at high pH. *Applied Microbiology and Biotechnology* 36.
- Seppälä, M., Pyykkönen, V., Väisänen, A., and Rintala, J. (2013). Biomethane production from maize and liquid cow manure – Effect of share of maize, post-methanation potential and digestate characteristics. *Fuel* 107, 209–216.
- Sheets, J.P., Yang, L., Ge, X., Wang, Z., and Li, Y. (2015). Beyond land application: Emerging technologies for the treatment and reuse of anaerobically digested agricultural and food waste. *Waste Management* 44, 94–115.
- Sheng, K., Chen, X., Pan, J., Kloss, R., Wei, Y., and Ying, Y. (2013). Effect of ammonia and nitrate on biogas production from food waste via anaerobic digestion. *Biosystems Engineering* 116, 205–212.
- Siddique, Md.N.I., and Wahid, Z.Ab. (2018). Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. *Journal of Cleaner Production* 194, 359–371.
- Sommer, S.G., and Husted, S. (1995). The chemical buffer system in raw and digested animal slurry. *J. Agric. Sci.* 124, 45–53.
- Soumaré, M., Demeyer, A., Tack, F.M.G., and Verloo, M.G. (2002). Chemical characteristics of Malian and Belgian solid waste composts. *Bioresource Technology* 81, 97–101.
- Srisowmeya, G., Chakravarthy, M., and Nandhini Devi, G. (2020). Critical considerations in two-stage anaerobic digestion of food waste – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 119, 109587.
- Stafford, D.A. (1982). The effects of mixing and volatile fatty acid concentrations on anaerobic digester performance. *Biomass* 2, 43–55.
- Styles, D., Dominguez, E.M., and Chadwick, D. (2016). Environmental balance of the UK biogas sector: An evaluation by consequential life cycle assessment. *Science of The Total Environment* 560–561, 241–253.
- Syaichurrozi, I., Budiyo, and Sumardiono, S. (2013). Predicting kinetic model of biogas production and biodegradability organic materials: Biogas production from vinasse at variation of COD/N ratio. *Bioresource Technology* 149, 390–397.

- Tasnim, F., Iqbal, S.A., and Chowdhury, A.R. (2017). Biogas production from anaerobic co-digestion of cow manure with kitchen waste and Water Hyacinth. *Renewable Energy* 109, 434–439.
- Thanos, D., Maragkaki, A., Venieri, D., Fountoulakis, M., and Manios, T. (2020). Enhanced Biogas Production in Pilot Digesters Treating a Mixture of Olive Mill Wastewater and Agro-industrial or Agro-livestock By-Products in Greece. *Waste Biomass Valor.*
- Ursinos, J.A.F.R. de, and Padilla, R.B. (1992). Use and treatment of olive mill wastewater: current situation and prospects in Spain. *Grasas y Aceites* 43, 101–106.
- Valo, A., Carrère, H., and Delgenès, J.P. (2004). Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion: Pre-treatment of waste activated sludge. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79, 1197–1203.
- Van, D.P., Fujiwara, T., Leu Tho, B., Song Toan, P.P., and Hoang Minh, G. (2019). A review of anaerobic digestion systems for biodegradable waste: Configurations, operating parameters, and current trends. *Environmental Engineering Research* 25, 1–17.
- Verstraete, W., Doujami, F., Volcke, E., Tavernier, M., Nollet, H., and Roels, J. (2002). The Importance of Anaerobic Digestion for Global Environmental Development. *Doboku Gakkai Ronbunshu* 97–102.
- Wang, Q., Kuninobu, M., Ogawa, H.I., and Kato, Y. (1999). Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy* 10.
- Ward, A.J., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., and Jones, D.L. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology* 99, 7928–7940.
- Webb, A.R., and Hawkes, F.R. (1985). The anaerobic digestion of poultry manure: Variation of gas yield with influent concentration and ammonium-nitrogen levels. *Agricultural Wastes* 14, 135–156.
- Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85, 849–860.
- Wu, D., Li, L., Zhao, X., Peng, Y., Yang, P., and Peng, X. (2019). Anaerobic digestion: A review on process monitoring. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 103, 1–12.
- Wu, S., Ni, P., Li, J., Sun, H., Wang, Y., Luo, H., Dach, J., and Dong, R. (2016). Integrated approach to sustain biogas production in anaerobic digestion of chicken manure under recycled utilization of liquid digestate: Dynamics of ammonium accumulation and mitigation control. *Bioresource Technology* 205, 75–81.
- Xia, A., and Murphy, J.D. (2016). Microalgal Cultivation in Treating Liquid Digestate from Biogas Systems. *Trends in Biotechnology* 34, 264–275.
- Xie, S., Wu, G., Lawlor, P.G., Frost, J.P., and Zhan, X. (2012). Methane production from anaerobic co-digestion of the separated solid fraction of pig manure with dried grass silage. *Bioresource Technology* 104, 289–297.
- Xie, S., Hai, F.I., Zhan, X., Guo, W., Ngo, H.H., Price, W.E., and Nghiem, L.D. (2016). Anaerobic co-digestion: A critical review of mathematical modelling for performance optimization. *Bioresource Technology* 222, 498–512.
- Yadvika (2005). 05/02147 Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques — a review. *Fuel and Energy Abstracts* 46, 315–316.

Zarkadas, I.S., Zachariou, S., Stamou, I., Kaldis, F.V., Lioti, M., and Sarigiannis, D.A. (2019). Anaerobic Digestion of Olive Mill Wastewater: Focusing on the Effect of Nitrogen Source. *Clean - Soil, Air, Water* 47, then.

# Annexe :

# **Annexe 1. Détermination du taux de matière sèche (MS) et de matière organique (MO)**

## **1. Objectifs**

Définir le taux de matière sèche et de matière organique d'échantillons solide ou liquide.

## **2. Principe**

La matière brute (MB) d'un échantillon est constituée d'eau, de matière sèche (MS) composée elle-même de matière organique (MO) et de matière minérale (MN). Les teneurs en matières sèches et organiques sont déterminées par différence de masse après passage à différentes températures. L'évaporation de l'eau en plaçant les échantillons à 105 °C pendant 12 h correspond à la détermination de la teneur en matière sèche. L'incinération de ces échantillons à 550 °C pendant 2 h permet d'obtenir un résidu de matière minérale. Grâce aux pesées, la teneur en matière organique peut être calculée (APHA, 1988). Les résultats sont exprimés en pourcentage et en pourcentage de MS pour la MO.

## **3. Matériels :**

- Étuve à 105 °C (Memmert, Allemagne)
- Four à moufle à 550 °C (Nabertherm, Allemagne)
- Balance de précision +/- 0,001 g (Mettler Toledo, Suisse)
- Creuset en porcelaine
- Dessiccateur
- Spatule

## **4. Mode opératoire**

- Préparation des creusets •
- Les creusets sont préalablement séchés dans une étuve à 105 °C pendant 12 h puis placés dans un dessiccateur jusqu'à utilisation.
- Préparation des échantillons
- Aucune préparation préalable des échantillons n'est nécessaire
- Pesées et séchage.

## **5. Échantillons liquides**

- Prendre et annoter un creuset séché au préalable et placé dans le dessiccateur
- Peser à vide ce creuset et faire la tare sur la balance de précision
- Noter la masse,  $m_0$ , de ce creuset

- Mettre dans ce creuset entre 10 et 20 g d'échantillon liquide, bien homogénéisé au préalable (Gy, 1988). Noter la masse d'échantillon introduite,  $m_1$
- Placer le creuset rempli dans l'étuve à 105 °C pendant 12 h
- Sortir le creuset de l'étuve et le placer dans le dessiccateur
- Attendre le refroidissement du creuset jusqu'à température ambiante
- Peser le creuset et noter la masse,  $m_2$
- Placer le creuset dans le four à moufle sans préchauffage
- **Attention** : Bien repérer l'emplacement correspondant à chacun des creusets, car après un passage à 550 °C les annotations réalisées avec le marqueur seront effacées.
- Allumer l'extraction au-dessus du four à moufle
- Allumer l'appareil et laisser 2 h à 550 °C
- Éteindre le chauffage et laisser refroidir porte ouverte jusqu'à une température inférieure à 150 °C
- Placer les creusets dans le dessiccateur en notant bien l'ordre de l'emplacement dans le four à moufle et le placement dans le dessiccateur (rappel : les annotations au marqueur sont effacées).
- Peser les creusets et noter le poids,  $m_3$ .

## 6. Échantillons solides

- Prendre et annoter une barquette en aluminium séchée au préalable et placée dans le dessiccateur Peser à vide cette barquette et faire la tare sur la balance
- Noter la masse,  $m_0$ , de cette barquette
- Mettre dans cette barquette environ 100 g d'échantillon solide, bien homogénéisé au préalable (Gy, 1988). Noter la masse d'échantillon introduite,  $m_1$
- Placer la barquette remplie dans l'étuve à 105 °C pendant 12 h
- Sortir la barquette de l'étuve et la placer dans le dessiccateur
- Attendre le refroidissement jusqu'à température ambiante
- Peser la barquette et noter la masse,  $m_2$
- Prendre un creuset au préalable séché et refroidi dans un dessiccateur
- Peser et tarer le creuset sur la balance de précision. Noter sa masse,  $m_3$
- Introduire dans ce creuset l'échantillon séché à 105 °C et coupé grossièrement au préalable au moyen de ciseaux. Noter la masse d'échantillon introduite,  $m_4$
- Placer le creuset dans le four à moufle sans préchauffage

- Attention : Bien repérer l'emplacement correspondant à chacun des creusets, car après un passage à 550 °C les annotations réalisées avec le marqueur seront effacées
- Allumer l'extraction au-dessus du four à moufle
- Allumer l'appareil et laisser 2 h à 550 °C
- Éteindre le chauffage et laisser refroidir porte ouverte jusqu'à une température inférieure à 150 °C
- Placer les creusets dans le dessiccateur en notant bien l'ordre de l'emplacement dans le four à moufle et le placement dans le dessiccateur (rappel : les annotations au marqueur sont effacées)
- Peser les creusets et noter le poids,  $m_5$ .

## 7. Calculs

### Échantillons liquides :

$$\% \text{ MS} = m_1 / (m_2 - m_0)$$

$$\text{et } \% \text{ MO (MS)} = (m_2 - m_0) - (m_3 - m_0) / (m_2 - m_0).$$

### Échantillons solides

$$\% \text{ MS} = m_1 / (m_2 - m_0)$$

$$\text{et } \% \text{ MO (MS)} = (m_4 - (m_5 - m_3)) / (m_4).$$

## Annexe 2. Détermination du pH et de la conductivité

### 1. Objectifs

Déterminer le pH et la conductivité d'un échantillon liquide ou solide.

### 2. Principe

Pour le pH, une tension électrique (U) est générée lorsque la sonde du pH-mètre est plongée dans une solution aqueuse. L'équilibre entre la solution et la sonde correspond à une fonction affine décroissante soit  $U = (a - b \cdot \text{pH})$  avec a et b des coefficients dépendant de la nature des électrodes, des solutions, de la température. L'étalonnage du pH-mètre ajuste ces valeurs.

Pour la conductivité, son principe est basé sur la différence de potentiel des solutions. La mesure de la résistance de la solution à analyser s'effectue entre deux plaques de platine. La conductivité va varier en fonction de la concentration en ions de la solution. L'unité est le  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

### 3. Matériel

- PH-mètre (Mettler Toledo, Suisse)
- Plaque agitatrice (Heidolph, Allemagne)
- Solution étalon pH = 7 et pH = 4 (Sctarlab, Espagne)
- KCl 3 mol.L<sup>-1</sup>.(Mettler Toledo, Suisse)
- Conductimètre (Mettler Toledo, Suisse)
- Solutions d'étalonnage (1413  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ; 12.88  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) (Mettler Toledo, Suisse)
- 2 béchers (20 mL ; 100 mL)
- Papier absorbant
- Eau distillée

### 4. Mode opératoire

#### 4.1 Calibration des appareils par des solutions commerciales

##### .pH-mètre

- Allumer le pH-mètre



- Nettoyer la sonde du pH-mètre avec de l'eau distillée et sécher-la avec du papier absorbant
- Appuyer sur « Cal » et placer la sonde dans la solution commerciale de calibration pH=7
- Agiter soit manuellement soit avec un barreau aimanté et une plaque agitatrice
- Attendre la stabilisation de la valeur ( )
- Nettoyer la sonde avec de l'eau distillée et sécher la sonde
- Appuyer sur « Cal »
- Placer la sonde dans la solution de calibration pH = 4
- Agiter soit manuellement soit avec un aimant et une plaque agitatrice
- Attendre la stabilisation ( )
- Nettoyer la sonde avec de l'eau distillée et sécher la sonde

## Conductimètre

- Allumer le conductimètre
- Nettoyer la sonde du conductimètre avec de l'eau distillée et la sécher avec du papier absorbant
- Appuyer sur « Cal » et placer la sonde dans la solution commerciale à 1413  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ .
- Agiter soit manuellement soit avec un barreau aimanté et une plaque agitatrice
- Attendre la stabilisation de la valeur
- Nettoyer la sonde avec de l'eau distillée et sécher la sonde
- Faire de même avec la solution d'étalonnage à 12.88  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

### 4.2. Échantillons liquides

- Mettre 20 mL d'échantillon liquide dans un bécher
- Placer un barreau aimanté, mettre le tout sur une plaque agitatrice à 250 rpm
- Mettre la sonde de pH dans l'échantillon (Attention : l'aimant ne doit pas toucher la sonde)
- Appuyer sur « Read » et attendre la stabilisation de la valeur ( )
- Noter la valeur
- Nettoyer la sonde avec de l'eau distillée et sécher la sonde.
- Placer la sonde du conductimètre dans l'échantillon
- Attendre la stabilisation de la valeur et la noter

- Nettoyer la sonde avec de l'eau distillée et sécher la sonde

#### 4.3. Échantillons solides

- Mettre 3 g d'échantillon solide dans un bécher
- Ajouter 20 mL d'eau distillée désionisée
- Mettre la sonde de pH dans l'échantillon (Attention : l'aimant ne doit pas toucher la sonde)
- Appuyer sur « Read » et attendre la stabilisation de la valeur ( )
- Noter la valeur
- Nettoyer la sonde avec de l'eau distillée et sécher la sonde
- Placer la sonde du conductimètre dans l'échantillon
- Attendre la stabilisation de la valeur et la noter
- Nettoyer la sonde avec de l'eau distillée et sécher la sonde.

#### 4.4. Éteindre les appareils

- Bien nettoyer les sondes
- Mettre la sonde du pH-mètre dans une solution KCl 3 mol.L<sup>-1</sup>
- Mettre la sonde du conductimètre dans de l'eau distillée
- Éteindre les appareils

**Nota :** les valeurs sont déjà corrigées par la température

### **Annexe 3. Dosage de l'azote totale et l'azote ammoniacal**

L'azote total Kjeldahl (NTK) prend en compte deux formes d'azote : l'azote organique total et l'azote ammoniacal. Cette analyse ne prend pas en compte les nitrites et les nitrates.

- **Dosage de l'azote total**

- 1. Minéralisation**

La phase de minéralisation est réalisée en milieu acide ( $H_2SO_4$ ), avec ajout de catalyseur de minéralisation (de sulfate de potassium). L'échantillon est mis à chauffage pendant 30 minutes à  $150^\circ C$ , 30 minutes à  $220^\circ C$ , 30 minutes à  $280^\circ C$  et finalement deux heures à  $370^\circ C$  jusqu'à apparition de fumées blanches, toute cette opération est réalisée dans un appareil de digestion (minéralisation)

- 2. Distillation**

Après minéralisation, l'échantillon est placé dans le système d'entraînement de la vapeur avec l'ajout de 50 mL de d'hydroxyde de sodium à 400 g/L. Le distillat est recueilli dans une fiole erlenmeyer contenant 10 mL d'acide borique à 10 g/L.

- 3. Dosage**

L'ammoniac est ensuite dosé par une solution d'acide sulfurique (0,05 mol/L), en présence de l'indicateur coloré de Tashiro. Les résultats sont exprimés en (g) d'azote par litre d'échantillon

- **Dosage de l'azote ammoniacal**

La concentration en ions  $NH_4^+$  est déterminée selon le même principe, sans effectuer l'étape de minéralisation.

#### **Annexe 4. Demande chimique en oxygène (DCO)**

La DCO correspond à la consommation d'oxygène nécessaire à l'oxydation complète de la matière organique du substrat. Elle est mesurée selon une méthode normalisée décrite par (Rodier et al., 1996). Après avoir décanté l'échantillon pendant une durée de 2h, il est ensuite filtré par un filtre de diamètre 0.45 micromètre.

La matière organique retenue dans l'échantillon est oxydée en milieu acide ( $H_2SO_4$ ), en présence de sulfate d'argent ( $Ag_2SO_4$ ) jouant le rôle de catalyseur d'oxydation et de sulfate de mercure (II) permettant de complexer les ions chlorure, par excès de bichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ). Après 2 heures de digestion à 150 °C, la DCO est déterminée par le dosage en retour, l'excès de bichromate est dosé par une solution de sulfate de fer et d'ammonium en présence d'un indicateur coloré (Ferroïne) par dosage colorimétrique.

#### **Annexe 5. Dosage des acides gras volatils (AGV)**

Divers composés connus sous le nom d'acides gras volatils (AGV) sont produits en tant que substrats intermédiaires lorsqu'une matière organique est dégradée dans ces conditions anaérobies. Par ailleurs, ces AGV peuvent, à une concentration supérieure à 3000 mg/L inhiber le processus de méthanisation (Moletta, 1989, 2008; Vedrenne, 2007). En d'autres termes, une surcharge ou une présence des substances inhibitrices dans un réacteur anaérobie réduit l'activité des biomasses méthanogènes et provoque une accumulation des acides gras volatils qui à leur tour augmentent l'acidité dans le réacteur en réduisant le pH (Lahav et al., 2002).

Il convient donc de faire de temps en temps un contrôle de comportement dynamique de ces AGV afin de pouvoir agir sur le réacteur pour maintenir son activité à une valeur optimale. Cela trouve la justification en ce sens que la concentration en AGV constitue un bon indicateur d'évaluation de la stabilité ou de stress du réacteur anaérobie (Moletta, 2008). La revue de la littérature montre que plusieurs techniques ont été développées et utilisées pour doser ces AGV. On peut citer notamment, la méthode colorimétrique (Montgomery et al., 1962), les méthodes chromatographiques (HPLC, GC), (Hey et al., 2013; Ibrahim et al., 2014) et les méthodes titrimétriques (Anderson and Yang, 1992; Buchauer, 1998; Hey et al., 2013; Lahav et al., 2002; Lahav and Morgan, 2004; MOOSBRUGGER et al., 1993). Quoique les méthodes chromatographiques soient les plus fiables, elles ne sont pas d'accès facile, du fait qu'elles exigent des équipements spécialisés et coûteux. La méthode colorimétrique est simple mais

moins précise (Buchauer, 1998). La technique de titrage par contre, offre les avantages d'être simple, moins coûteuse, rapide et fiable. Une méthode de dosage par titration reportée par (Rodier et al., 1996), consiste à acidifier un volume (v) d'eau jusqu'à pH 3,5 avec de l'acide sulfurique (par exemple 0,1 M), puis chauffer jusqu'à ébullition pendant quelques minutes (3 minutes est une durée habituellement conseillée). Après refroidissement, le dosage de l'acidité est réalisé par de la soude 0,1 M :

- Jusqu'à pH 4 (volume V de soude correspondant),
- Puis en continuant jusqu'à pH 7 (volume cumulé de soude V').

La teneur en AGV est alors donnée par l'expression :

$$AGV \text{ (mg/L d'acide acétique)} = \frac{(V' - V) \cdot 6000}{V}$$

### **Annexe 6. Dosage d'autres éléments minéraux**

Le dosage des éléments chimiques a touché aussi le potassium (K), le calcium (Ca) et le sodium (Na) à l'aide d'un photomètre à flamme. Il nécessite une minéralisation et une préparation des solutions d'étalonnage, la minéralisation étant une étape commune, seulement la nature et la solution d'étalonnage diffèrent d'un paramètre chimique à un autre.

On pèse 10 ml de chaque substrat (avec trois répétitions pour chacun) dans une capsule en porcelaine et on les mets dans le four à moufle pour subir une calcination (2 heures à une température de 220 °C et 6 heures à une température de 550 °C). Après refroidissement, on ajoute 2 ml d'acide chlorhydrique 'HCl' concentré dans chaque capsule.

On chauffe les substrats dans le bain à sable jusqu'à l'évaporation totale de l'acide. On ajoute 5 ml d'acide chlorhydrique (N/10) et on filtre les solutions obtenues dans des fioles jaugées de 100 ml et on ajoute l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. On passe les échantillons dans le photomètre à flamme après avoir passé les solutions d'étalonnage appropriées à chaque élément minéral.