



HAL
open science

Vers la compréhension des réactivités biologiques de consortia microbiens anaérobies dans des conditions limitées par le transfert : Applications aux procédés anaérobies de traitement et de valorisation du carbone issu de résidus solides ou gazeux

Claire Dumas

► **To cite this version:**

Claire Dumas. Vers la compréhension des réactivités biologiques de consortia microbiens anaérobies dans des conditions limitées par le transfert : Applications aux procédés anaérobies de traitement et de valorisation du carbone issu de résidus solides ou gazeux. Génie des procédés. Institut National Polytechnique de Toulouse, 2024. tel-04936609

HAL Id: tel-04936609

<https://hal.science/tel-04936609v1>

Submitted on 12 Feb 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Habilitation à diriger des recherches

Vers la compréhension des réactivités biologiques de consortia microbiens anaérobies dans des conditions limitées par le transfert :

Applications aux procédés anaérobies de traitement et de valorisation du carbone issu de résidus solides ou gazeux

Soutenue le 7 Juin 2024

Diplôme délivré par l'Institut National Polytechniques de Toulouse

Claire Dumas

*Chargée de recherches INRAE
Toulouse Biotechnology Institute (TBI)*

JURY

Anne Trémier	Directrice de recherches INRAE	OPAAL Rennes	Rapporteuse
Théodore Bouchez	Directeur de recherches INRAE	PROSE Antony	Rapporteur
Stéphane Delaunay	Professeur des Universités ENSAIA	LRGP Nancy	Rapporteur
Jérôme Morchain	Professeur des Universités INSA	TBI Toulouse	Examineur

Renaud Escudié	Directeur de recherches INRAE	LBE Narbonne	Examineur
Pierre Fontanille	Professeur des Universités UCA	Institut Pascal Clermont-Ferrand	Examineur
Benjamin Erable	Chargé de recherches CNRS	LGC- Toulouse	Parrain INP

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION	9
II.	NOTICE INDIVIDUELLE	10
A.	État civil et coordonnées	10
B.	Titre universitaires et cursus	10
C.	Parcours professionnel	10
D.	Activités d'enseignements et de valorisation	11
E.	Intervention en milieu scolaires	11
F.	Activités au sein de collectif (LBE, TBI, départements d'appartenance : EA et CEPIA/TRANSFORM)	11
G.	Comités et réseaux scientifiques	12
H.	Activités liées a la recherche	12
H.1.	Participation à des comités, editorial board, organisation de colloques et séminaires	12
H.2.	Relecture journaux,	12
H.3.	Evaluation de projets nationaux	12
H.4.	Jurys de thèses en tant qu'examinateur	12
H.5.	Jurys de concours en tant qu'examinateur	13
I.	Implications dans des programmes de recherches	13
I.1.	Projets et échanges internationaux	13
I.2.	Partenaire de projets nationaux	13
J.	Animation de recherche et responsabilités collectives	15
K.	Actions de valorisation, brevets, logiciels/matériels diffuses, autres réalisations	16
L.	Encadrement d'étudiants	16
M.	Liste de publications et congrès	18
III.	SYNTHESE DES TRAVAUX DE RECHERCHE et OBJECTIFS	28
III.1.	Principales étapes de mon parcours de recherches	28
III.2.	Objectifs et questions scientifiques traitées	31
III.3.	Digestion anaérobie de résidus solides	32
III.3.1.	Contexte et enjeux de la digestion anaérobie de résidus solides	32
III.3.2.	Effet de la composition biochimique des substrats sur le rendement de production de méthane	33
a)	Cas des macro-algues marines	33
b)	Cas de la biomasse lignocellulosiques : en particulier la paille de blé	36
III.3.3.	Effet de la structure du substrat (bioaccessibilité) sur les performances : les prétraitements comme technique de compréhension de ce rôle et amélioration du potentiel méthane	42
III.3.4.	Impact de la teneur en solides (transfert eau vers solide) sur les voies microbiologiques	46
III.3.5.	Impact du type et de la quantité de micro-organismes sur le procédé et ses performances :	48
a)	Effet du taux d'inoculation (en réacteur opéré en mode batch)	48
b)	Adaptation d'inoculum afin de maximiser la cinétique de dégradation (en réacteur opéré en mode semi-continu)	49
c)	Effet du type d'inoculum : cas d'inoculum issus de l'intestin d'insectes	50
III.4.	Fermentation de résidus solides	52
III.4.1.	Contexte et enjeu de la fermentation des déchets solides	52
III.4.2.	Impact des conditions opératoires sur les performances, le type de produits et les populations microbiennes de la fermentation.	53
a)	Fermentation de résidus solides en conditions non limitantes	54
b)	Fermentation de résidus solides en conditions de limitation en eau	58
III.4.3.	Fermentation en réacteur à lit percolant	60
a)	Étude de l'écoulement au sein d'un lit de déchets (conditions abiotiques)	60

b)	Fermentation en réacteur a lit percolant : impact de la recirculation en eau sur le taux d'extraction des produits	61
III.5.	Méthanation biologique et fermentation gazeuse : réduction du CO ₂ en méthane ou acides organiques.	63
III.5.1.	Contexte et enjeux de la méthanation biologique et fermentation gazeuse	63
III.5.2.	Etude de la limitation par le transfert de gaz vers le liquide (et autres limitations potentielles)	65
III.5.3.	Étude de la compétition entre archées méthanogènes et bactéries acidogènes en présence de substrat gazeux	69
IV.	TRAVAUX EN COURS ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE	74
IV.I.	Intensification d'un procédé de fermentation	74
IV.II.I	Extraction de produits de fermentation- cas des déchets solides	74
IV.II.II	Amélioration du transfert de masse - cas de ma méthanation/fermentation gazeuse	75
IV.II.	Compréhension des interactions microbiennes	77
IV.III.	Interaction entre les micro-organismes : cas de la fermentation gazeuse	77
IV.IV.	Interaction entre les micro-organismes et les éléments minéraux : cas de la bio précipitation induite par les micro-organismes	80
IV.I.	Perspectives dans le cadre de l'animation de la recherche	82
V.	CONCLUSION	83
VI.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES CITEES DANS LE DOCUMENT	86

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma récapitulatif de la démarche de recherche mise en oeuvre au cours de mes travaux.....	30
Figure 2 : Compétences A) scientifiques B) d'animation /transversales développées au cours de mes activités de recherche et leur évolution au cours des années.	30
Figure 3 : Représentation du potentiel méthane de chaque fraction de la paille de blé (axe principal) ; pourcentage de l'abondance en masse de chaque fraction au sein de la paille. (Axe secondaire). <i>Source J. C. Motte</i>	37
Figure 4 : Représentation schématique de l'évolution de la biomasse microbienne au sein des tissus de la paroi de la paille blé tout au long de la réaction de méthanisation en voie sèche. <i>Source J. C. Motte</i>	38
Figure 5 : Photos au microscope électronique à transmission de l'évolution de la biomasse microbienne au sein des tissus du sclérenchyme de la paille de blé tout au long d'une expérience de méthanisation par voie sèche. <i>Source J. C. Motte</i>	38
Figure 6 : Photos au microscope électronique à transmission de l'évolution de la biomasse microbienne au sein des tissus du parenchyme de la paille de blé tout au long d'une expérience de méthanisation par voie sèche. <i>Source J. C. Motte</i>	39
Figure 7 : Profils CE-SSCP des communautés microbiennes en fonction du compartiment et en comparaison des conditions initiales et finales du milieu. (a) Bactéries. (b) Archées. <i>Source J. C. Motte</i>	41
Figure 8 : Représentation sous forme d'analyse en composantes principales de la dynamique de compartimentation bactérienne (16S) des profils CE-SSCP. (S) Compartiment soluble. (P) Compartiment particulaire. <i>Source J. C. Motte</i>	41
Figure 9 : Méthodologie employée pour les enrichissements, sélection des consortia microbiens acidogènes. Une comparaison des types d'inoculum a été effectuée par ajout d'un inoculum extérieur ou utilisation simple de micro-organismes endogènes. <i>Source L. Digan</i>	54
Figure 10. Distribution des métabolites pour chaque condition de pH et à la fin de chaque batch (B1, B2, B3) pour les réacteurs non inoculés (ENDO) et inoculés (EXO). La répartition est basée sur leur concentration en gDCO/L. <i>Source L. Digan</i>	56
Figure 11: répartition des Communautés microbiennes dans les réacteurs non inoculés (ENDO) et inoculés (EXO) pour chaque condition de pH. les analyses ont été effectuées au temps initial (T0) et final de chaque batch (B1 (T1), B2 (T2) and B3 (T3)). les analyses ont été effectuées au niveau du genre et seuls les 10 genres dominants ont été représentés. <i>Source L. Digan</i>	57
Figure 12 A) : Rendements finaux des métabolites et valeurs de pH initiales et finales pour chaque batch (B1, B2 ET B3) et CONDITION de TS. La catégorie « autres » comprend tous les métabolites qui ne sont pas des AGVs B) Distribution des métabolites en fin de batch (B1, B2 ET B3) à chaque condition de TS pour les réacteurs non inoculés (ENDO) ET inoculés avec un inoculum extérieur (EXO). <i>Source L. Digan</i>	59
Figure 13 : Représentation de l'évolution des micro et macro porosités au sein du lit de déchets. <i>Source L. Digan</i>	61
Figure 14 : Schéma et photographie du pilote de percolation. <i>Source A. Vignes</i>	62
Figure 15 : Schéma de principe présentant le couplage entre la méthanisation et la méthanation biologique (source projet HYCABIOME. <i>Source Solagro</i>	64
Figure 16 : Pourcentage de méthane (%) selon de la productivité en méthane (mlCH ₄ /Lréacteur/h) en fonction du type de contacteurs G/L testés. <i>Source Y. Rafrafi</i>	66
Figure 17: Abondance relative des dix genres majoritaires présents dans la communauté microbienne tout au long de l'expérience ? analyses effectuées avec rANOMALY (Theil and Rifa, 2021). <i>Source L. Laguillaumie</i>	66
Figure 18: Schéma représentant les processus biologiques lors de la mise en oeuvre du réacteur de méthanation biologique et expliquant les phénomènes d'accumulation d'acides organiques. <i>Source L. Laguillaumie</i>	67
Figure 19 A) Concentration en AGV dans le réacteur pendant l'expérimentation de long terme de méthanation biologique en colonnes à bulles : acétate (cercles bleus), propionate (cercles noirs triangles), butyrate (cercles	

jaunes), isobutyrate (cercles orange), méthylbutyrate et isovalérate (cercles verts). Des lignes verticales rouges délimitent les deux phases durant lesquelles la production de méthane n'était pas proportionnelle au flux d'H ₂ /CO ₂ . B) Rapport des flux d'H ₂ / CO ₂ (losanges noirs), et P _{H₂} en bar (cercles bleus) pendant les périodes 1 et 2 du processus de méthanation biologique. <i>Source L. Laguillaumie.</i>	68
Figure 20 : Principales réactions biologiques prises en compte dans le système. <i>Source L. Laguillaumie.</i>	69
Figure 21 : A) Rendements de conversion des électrons en considérant l'acétate et le méthane produits par rapport au H ₂ consommé en e-molproduit/e-molH ₂ au cours des quatre séries de batchs successifs (T0 à T3) réalisés à 25 °C et 35 °C, sous limitation de transfert de masse ou non. B) Abondance relative des taxons détectés dans les consortiums microbiens enrichis, au niveau du genre, générée avec le paquetage rANOMALY dans R. MTL signifie limitation du transfert de masse. <i>Source L. Laguillaumie.</i>	71
Figure 22 : représentation et photo du réacteur continu utilisé dans le cadre de cette étude sur la fermentation gazeuse. un apport continu de gaz en CO ₂ et H ₂ est effectué, ainsi qu'un apport continu de milieux de cultures. <i>Source L. Laguillaumie et M. Peyre-Lavigne.</i>	72
Figure 23: Taux de dilution (j-1) en bleu les homoacétogènes (HAC), en rouge les méthanogènes (HM). les productivités sont en mmolC/L/j. <i>Source L. Laguillaumie.</i>	73
Figure 24: representation of the relative abundance of microorganisms at species level A)1 st experiment- B) 2 nd experiment – Duplicate. <i>Source L. Laguillaumie.</i>	78
Figure 25: representation of the metabolic interactions between three selected microorganisms presents in our consortium in the relative abundance found in 16S analysis (cf Figure 24). <i>Source iMEAN.</i>	79
Figure 26: Représentation globale de l'activité des souches bactériennes anaérobies phototrophes sulfureuses dans le cadre de la précipitation induite par les micro-organismes. <i>Source M.Carrier.</i>	80
Figure 27 Métabolisme de <i>Allochromatium vinosum</i> et photos de la culture <i>Source M.Carrier.</i>	81

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : prix sur le marché de divers produits chimiques pouvant être obtenus à partir de cultures mixtes de micro-organismes dégradant des résidus solides ou du CO ₂ issu de (Moscoviz et al., 2018)	51
Tableau 2 : Composition de la fraction fermentescible des ordures ménagères selon la composition modérée de l'ademe (MB: Matière brute) Tableau 4	54
Tableau 3: Paramètres cinétique et thermodynamiques des principales réactions considérées dans le cadre de la méthanation biologique.....	70
Tableau 4 : Composition complète des OMR sans et avec ventilation des éléments fins (ADEME 2010) utilisés dans le cadre des manipulations en lit percolant abiotique	84

I. INTRODUCTION

Le traitement et la valorisation des déchets sont essentiels pour répondre à la crise environnementale actuelle, marquée par une surconsommation et donc une production excessive de déchets. Les déchets, qu'ils soient industriels, domestiques ou agricoles, ont un impact négatif sur l'air, l'eau et les sols, nécessitant des politiques environnementales axées sur des pratiques durables de traitement et de valorisation. L'innovation technologique et la sensibilisation du public sont indispensables pour relever ces défis mondiaux complexes et assurer un avenir viable pour les générations futures. Dans ce contexte, le traitement biologique des déchets par des communautés mixtes de micro-organismes émerge comme une solution écologique et durable, utilisant les processus naturels de décomposition pour convertir les déchets organiques en compost, biogaz ou molécules plateformes. Cette approche favorise une économie circulaire en réduisant les émissions de gaz à effet de serre et en produisant des fertilisants naturels et des molécules de haute qualité. Parallèlement, les consortia microbiens, des communautés complexes de micro-organismes, offrent un potentiel considérable notamment en interagissant entre eux de manière synergique. Les avancées technologiques, comme le séquençage à haut débit ou les analyses métaboliques, permettent une identification approfondie de ces communautés microbiennes et de leur fonctionnement, ouvrant la voie à des applications innovantes dans divers secteurs. L'étude et surtout l'exploitation des consortia microbiens est nécessaire pour relever les défis environnementaux et sanitaires actuels, tout en préservant les ressources naturelles.

Mes recherches se sont depuis 2007 concentrées sur l'étude des communautés mixtes anaérobies de micro-organismes, encore appelés, écosystèmes microbiens ou consortia pour le traitement et surtout la valorisation de résidus, déchets, effluents vers des vecteurs énergétiques ou chimiques (molécules plateformes), s'inscrivant dans ce qui est aujourd'hui appelé les bioraffineries industrielles.

J'ai choisi de commencer ce mémoire par une notice individuelle, récapitulant les activités de recherches, administratives et transversales. Par la suite une partie introductive présente mon parcours de recherches et les objectifs traités au cours de ma carrière. J'ai ensuite rassemblé la présentation détaillée de mes activités de recherche autour de deux axes principaux : la description des travaux de recherches effectués au Laboratoire de biotechnologie de l'Environnement (LBE), portés majoritairement sur la méthanisation des résidus solides, puis les travaux effectués après ma mobilité au TBI dédiée principalement à la production d'acides organiques à partir de déchets solides ou de gaz par des consortia microbiens. Enfin la dernière partie de manuscrit est consacrée à la présentation des recherches en cours sur la transformation des résidus solides et des substrats gazeux (CO₂, CO, H₂...) par des consortia microbiens et une description des perspectives envisagées pour les prochaines années.

II. NOTICE INDIVIDUELLE

A. État civil et coordonnées

Claire Dumas

Née le 29 Avril 1981 à Perpignan, Pacsée, 2 enfants

Ingénieur et Docteur en Génie des procédés industriels et Environnement de l'INSA de Toulouse
et de l'INP de Toulouse respectivement.

Chercheur CRCN INRAE au sein du département TRANSFORM

Toulouse Biotechnology Institute (TBI)

135 avenue de Rangueil

31077 Toulouse cedex 4 – FRANCE

+33 (0) 5 67 04 88 49

+33 (0) 6 32 67 55 74

claire.dumas@insa-toulouse.fr, Claire.Dumas@inrae.fr

https://www.researchgate.net/profile/Claire_Dumas

https://www.linkedin.com/profile/public-profile-settings?trk=prof-edit-edit-public_profile

<https://orcid.org/0000-0002-1224-6054>

B. Titres universitaires et cursus

2007 : Doctorat en Génie Chimique et Environnement – Institut National Polytechnique (INP) – Toulouse

2004 : Master en Génie Chimique et Environnement – Institut National des Sciences Appliquées (INSA) -Toulouse

2004 : Ingénieur en Génie Chimique et Environnement - Institut National des Sciences Appliquées (INSA)– Toulouse.

C. Parcours professionnel

Depuis Septembre 2014 : Chercheur à Toulouse Biotechnology Institute (TBI)- Toulouse (France). Travaux sur i) les interactions entre les substrats solides et les micro-organismes pendant la fermentation solide mais aussi sur l'écoulement de lixiviat dans un lit de déchets ii) sur la sélection microbienne de consortia acidogène dans le cas de la fermentation des déchets iii) et de la compétition microbienne au sein des consortia lors de la valorisation/transformation de gaz (CO₂ notamment) vers la production de molécules plateformes pour la chimie et pour la production d'énergie.

Septembre - Décembre 2010 : Séjour à l'Advanced Water Management Center - University of Queensland - Brisbane (Australia) en collaboration avec D. Batstone et P. Jensen.

Septembre 2008 - Aout 2014 : Chercheur au Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE) en charge des recherches portant sur la « caractérisation et la transformation biologique des résidus organiques solides » (agricoles, municipaux, algues ...) par digestion anaérobie - Narbonne (France)

2007-2008 : Post-doctorat au Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés (LISBP)-Toulouse (futur TBI) « Étude et modélisation de la digestion anaérobie des boues : effet d'un co-traitement aérobie hyperthermophile sur la biodégradabilité des boues.»

2004-2007 : Doctorat en Génie Chimique et environnement– Laboratoire de génie chimique (LGC)
– Toulouse. « Catalyse électromicrobienne dans les piles à combustibles »

2004 : Stage de DEA au Laboratoire d'Ingénierie des Procédés (LIPE)- Toulouse. "Modélisation et simulation numérique des bilans de population de floccs sous MATLAB

2003 : Stage – Centre de recherche d'UNILEVER - Vlaardingen (Netherlands). « Étude de la rhéologie de l'amidon au sein d'un procédé innovant d'injection de vapeur lors de la fabrication de soupes pour la stérilisation et le gonflement des amidons »

D. Activités d'enseignements et de valorisation

- Cours au sein de l'école d'été de l'EUR BIOECO . « La méthanation biologique » (2h) (Juin 2023)
- EIP Purpan. Janvier 2023 Cours "La méthanisation » (2h)
- Webinaire sur la méthanation Biologique (2020 CTBM)
- Formation auprès de professionnels de la société SEPPIC (2h) sur « L'hydrolyse de la biomasse lignocellulosique » (2019)
- Enseignement au sein de l'INSA de Toulouse (2015 à 2017 et 2019) -> Travaux pratiques en thermodynamique (environ 60 heq. TD).
- Enseignement au sein de la licence professionnelle "Ecodépoll" Narbonne (2012-2013). Cours « La digestion anaérobie des substrats solides ». (5h)
- Institut Universitaire Technologique de Génie Chimique de Narbonne (2008-2013) – Travaux pratiques en opérations unitaires (environ 60 heq. TD).
- Institut Universitaire Technologique de Génie Chimique de (2004-2008) – Travaux pratiques en opérations unitaires (environ 60 heq. TD).
- Enseignement au sein de l'INSA de Toulouse (2004-2008) Travaux pratiques en Excel / Access et electrochemistry (environ 60heq. TD).

E. Intervention en milieu scolaires

- École primaire de Pechbusque. Octobre 2022 : « le cycle de l'eau, son acheminement et traitement »

F. Activités au sein de collectif (LBE, TBI, départements d'appartenance : EA et CEPIA/TRANSFORM)

Les premières années de ma carrière je me suis investis dans le laboratoire (LBE) dans les formations des nouveaux utilisateurs aux différentes techniques expérimentales du laboratoire. Je participais au suivi expérimental et aux formations d'appareils analytiques spécifiques, en lien avec mes activités de recherche : analyse de gaz par chromatographie gazeuse, spectromètre infrarouge (moyen infrarouge (FTIR), analyse des fibres selon VAN SOEST...

J'étais la représentante du laboratoire pour l'institut Carnot 3BCAR.

Depuis 2018, je suis membre du conseil scientifique (CS) de TBI, dans un premier temps comme suppléante de Mathieu Spérandio, responsable de l'équipe SYMBIOSE, puis depuis 2021 en tant que titulaire.

Depuis 2022, j'anime avec Gilles Hébrard le Groupe de travail du laboratoire sur le CO₂ (son utilisation valorisation) qui regroupe chercheurs et enseignants chercheurs travaillant sur le sujet (organisation des réunions, animations des réunions, lien avec la direction)

Depuis 2017, je suis animatrice du département TRANSFORM (détaillé en paragraphe J). Je suis également impliquée dans le conseil scientifique de département TRANSFORM (suppléante de J. P. Delgenès depuis 2022). Je suis, à ce titre, membre de la commission scientifique spécialisée Sciences

et Ingénierie des Aliments, des Matériaux, Produits Biosourcés & Ressources d'origine résiduaire (CSS SIAM&R).

G. Comités et réseaux scientifiques

Je suis animatrice au sein du RESeau Matière Organique (RESMO), réseau multi-instituts : participation au montage de 3 écoles chercheur/séminaire entre 2009 et 2014 et du futur séminaire qui a eu lieu à Dijon en Mars 2024. J'ai donc fait partie du comité de sélection des séminaires.

Je suis membre du conseil scientifique de la conférence WASTEENG : celle qui a eu lieu en 2022 à Copenhague au Danemark et celle qui aura lieu en 2024 à Sendai au Japon.

H. Activités liées à la recherche

H.1. Participation à des comités, editorial board, organisation de colloques et séminaires

J'ai été membre du comité éditorial de *Frontiers in Energy* en tant qu'éditeur associé. Nous avons publié un « research topic » sur la méthanation biologique et un édito sur ce sujet. Depuis je suis sollicitée pour participer à d'autres comités éditoriaux mais je préfère décliner ces offres de la part d'éditeurs reconnus comme « prédateurs ».

H.2. Relecture journaux,

Je suis rapporteur dans plusieurs journaux : *Bioresource technology*, *Bioresource technology reports*, *Frontiers in microbiology*, *Frontiers in bioenergy*, *Frontiers in sustainable foodsystems*, *Fuel*, *International journal of hydrogen energy*, *Industrial crops and products*, *journal of applied phycology*, *Waste and biomass valorization*, *Waste management*, *Waste Management and research*.

H.3. Évaluation de projets nationaux

J'ai évalué : 3 projets ANR, 2 projets ADEME, 1 du département TRANSFORM (preuve de concept)

H.4. Jurys de thèses en tant qu'examineur

Sandra Constant (ICGM) (27 Septembre 2012) (École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier) : From the extraction of lignin to its valorization

Wendy Laperriere (LBE) (28 Novembre 2017) : Évaluation des limites physiques d'un digesteur biogaz pour une utilisation flexible dans un réseau local de production d'énergie

Poehere Chong (LGC) (23 Novembre 2018) : Ingénierie électrochimique pour déchiffrer les mécanismes de formation des biofilms électroactifs.

Aline Lebranchu (LRGP) (18 décembre 2017) : Intensification de la méthanisation par ajout d'hydrogène »

Yin Zhu (LGC) (16 Mars 2020) : Evaluation of nanofiltration for the extraction of Volatile Fatty Acids from fermentation broth

Ana Karen Sanchez (SayFood) (24 Juin 2020) : Extractive bioconversion of 3-hydroxypropionic acid: limiting mechanisms and integrated process optimization

Lucia Braga Nan (LBE) (1 Avril 2021) : Biométhanation *in situ* : nouvelles connaissances sur la réponse de la communauté microbienne à l'ajout d'H₂

Vincent Ke Sen Ngu (17 Novembre 2022) : Modélisation multi-échelle de bioréacteurs gaz-liquide : Application à la méthanation biologique

Florent Bouchon (PROSE) (20 Septembre 2023) : Développement et propriétés de biofilms électroactifs en conditions hydrodynamiques contrôlées.

César Quintela Garcia (19 Mars 2024) (DTU-DK) : Mixed-culture gas fermentation to butyric and caproic acid in continuous systems: synergies and competitions

H.5. Jurys de concours en tant qu'examineur

J'ai été membre du comité de sélection pour le concours de maître de conférences de l'université Aix Marseille en 2011, du concours de CRCN INRAE en 2021, de 3 concours de MCF pour l'INSA de Toulouse (2 postes) et de l'université de Clermont auvergne en 2024.

I. Implications dans des programmes de recherches

I.1. Projets et échanges internationaux

Entrants :

- Accueil d'une doctorante campus France (2010 : Vidhya Prabhudessai)
- Accueil d'un chercheur colombien pendant 2 mois (2018 : Oscar Rubio),
- Visite de Mohammad Taherzadeh financée par le département TRANSFORM (Février 2020), à la suite de mon séjour dans leur laboratoire en 2019. Des dépôts de projets Marie Curie sont en cours d'évaluation pour un co-encadrement de post-doctorant

Sortants

EU ANAMIX : déplacement de 2,5 mois à l'AWMC Brisbane

- Mission internationale 3BCAR Brésil (1 semaine Nov 2015), UNICAMP-Campinas ; Department of Biotechnology USP-Lorena ; Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) –Campinas
- Mission internationale 3BCAR Suède (1 semaine Avril 2019) visite d'une semaine en suède KTH : Zeynep Cetecioglu et Boras University : Mohammad Taherzadeh
- Échange avec Hariklia Gavala and Ioannis Skiadas du DTU. Une doctorante de notre équipe, Léa Laguillaumie, a pu rester à DTU pendant 3 mois grâce au financement du Carnot 3BCAR. Cette collaboration a été valorisée via la publication d'un article scientifique commun et de mon invitation à la soutenance de thèse d'un étudiant de DTU.

I.2. Partenaire de projets nationaux

Coordination de projets nationaux

Année	Appel à projets	Nom	Partenaires
2024-2027	ANR	CABIOCA: CAptation du dioxyde de carbone par précipitation induite BIOlogiquement de CARbonate	GeT Toulouse, CRITT GPTE, TBI
2022-2023	TWB PreComp	GAS2ORGANICS: Proof of Concept of an integrated process coupling microbial production and membrane separation of organic acids and alcohols from CO ₂	LGC – TBI
2021	MITI CNRS INRAE	CABIOCA: CAptation du dioxyde de carbone par précipitation induite BIOlogiquement de CARbonate	GeT Toulouse, CRITT GPTE, TBI
2018-2020	REGION OCCITANIE	HYDROMET: HYDROgénation du CO ₂ renouvelable pour la production de METHane	LPCNO, LCC, TBI
2017-2020	3BCAR	RECOVER: pRocEss COupling fermentation and separation for solid WastE valoRization	TBI, LBE, LGC, IMFT, CRITT GPTE
2013-2014	3BCAR	INSYME: Utilisation de consortia enzymatique provenant des microbiotes intestinaux insectes	LGC, LBE, TBI

		phytophage pour la dégradation de résidus lignocellulosiques	
2012-2013	3BCAR	PEACE2: : prétraitement de biomasses lignocellulosique par broyage et pyrogazéification pour leur valorisation en méthane	IATE, BioWooEB, LBE

Dépôt de projets en cours d'évaluation partenaire

PEPR SPLEEN CARBIOCEM – GeT Toulouse, LMDC, CRBE, Sorbonne Université, TBI

PEPR BBEST CARACOL – DEEP, IFPEN, TBI

Partenaire dans des projets nationaux

Année	Appel à projets	Nom	Partenaires
2024-2026	3BCAR	HYMEC: Électrolyseur Microbien Hybride pour la Production d'Hydrogène et la Valorisation d'Effluents de Fermentation	LGC – TBI
2023-2025	Région Occitanie	BIOGAZOVERT: Filière biogaz en Occitanie : une approche interdisciplinaire pour un cercle vertueux.	LCC, CIRIMAT, ART DEV, LPCNO, IEM, LGC ICGM, TBI
2023-2026	France 2030-PEPR BBEST	OPTISFUEL: "New Proofs of Concept to OPTimize Sustainable FUEL production"	IFPEN, CEA, TBI
2023-2025	ANR	TANGO: Transition de l'assainissement urbain vers une nouvelle gestion de la matière organique	AIA LeSommer, Toulouse Métropole, LEESU, Solagro, Meiko, CRITT GPTE, TBI
2022-2025	3BCAR	HYSSYH: Synthèse bioélectrochimique d'hydrogène soluble pour améliorer la réduction hybride [métal micro-organismes] du CO ₂ en synthons	LGC – TBI
2020-2022		PLAINENERGIE: Transformer nos déchets résiduels en gaz renouvelable	CCPA, SM PIPA, Groupe Séché, GRT gaz, Provademse, DEEP, ENOSIS, CRITT GPTE, TBI
2020-2023	ANR	LOOP4PACK : Sustainable bioplastics from agro-industrial residues to close the packaging loop	IATE, McCain, CRITT Bioindustries, EuraMaterials, TBI
2017-2021	ANR	THERMOMIC: Un cadre thermodynamique pour la modélisation de la croissance et des dynamiques microbiennes	PROSE, LBE, CRITT GPTE, TBI
2015-2018	ADEME	HYCABIOME: HYdrogen and CARbon dioxyd conversion by BIOlogical METHanation	Solagro, Hespul, Enosis, CRITT GPTE, TBI
2015-2019	ANR	HIGHSOLIDS: Production de synthons par de consortia microbiens à partir de biomasse lignocellulosique : Évaluation de l'impact du	IATE, LBE, BIA, TBI

		prétraitement par extrusion-réactive sur le procédé de production de biomolécules à fortes teneurs en solides.	
2009-2012	ANR	ANAMIX: Caractérisation des paramètres rhéologiques et des transferts pour l'amélioration des procédés de méthanisation par voie sèche.	DEEP, Valorga, LBE
2009-2012	ANR	WINSEAFUEL: Production de macroalgues en pleine mer pour une valorisation en biométhane et autres bioproduits	BIOCAR, CEVA, Aleor, naskeo, Montpellier SupAgro, LBE
2010-2011	3BCAR	PEACE 1: prétraitement de biomasses lignocellulosique par broyage et pyrogazéification pour leur valorisation en méthane	IATE, BioWOOEB, LBE
2009	CASDAR	EQUIVALOR	INERIS, LBE, CUMA Pays de l'Oise; Ecurie de Compiègne

Dépôt de projets ANR refusés

Mod2Ferm (AAPG2017)→ ANR JCJC TBI IMFT

INPROVFA (AAPG2020)→LGC, SayFood, TBI, Refusé en étape 2

Dépôt projets EU refusés

Participants à des dépôts de projets internationaux /EU : ValUrBio, MICROVAL, deux MSCA (2022 2023 avec l'université de Boras)

J. Animation de recherche et responsabilités collectives

Depuis 2017, que je m'investis dans le collectif INRAE et notamment dans l'animation du département TRANSFORM. J'ai tout d'abord été impliquée dans l'animation du SSD 2018-2021 au sein du Défi2, dédié aux opérations unitaires. Depuis 2021, le SSD a évolué et je suis impliquée avec Ana Villares sur la thématique de « raisonner fonction et non le produit." Je suis également impliquée dans le conseil scientifique de département TRANSFORM (suppléante de J. P. Delgenès depuis 2022). Je suis, à ce titre, membre de la commission scientifique spécialisée Sciences et Ingénierie des Aliments, des Matériaux, Produits Biosourcés & Ressources d'origine résiduaire (CSS SIAM&R).

Depuis 2018, je suis membre du conseil scientifique (CS) de TBI, dans un premier temps comme suppléante de Mathieu Spérandio, responsable de l'équipe SYMBIOSE, puis depuis 2021 en tant que titulaire (puis que désormais j'endosse cette responsabilité).

Depuis janvier 2021, je suis responsable de l'équipe SYMBIOSE qui comporte 5 chercheurs/enseignant chercheurs, 2 ingénieurs d'études et une dizaine de doctorants/post-doctorants. Notre équipe travaille en très étroite collaboration avec un centre technique, le CRITT GPTE, qui comprend 5 ingénieurs de recherche, deux ingénieurs d'étude, et un assistant ingénieur. Ce centre réalise des prestations de services pour les entreprises et des études et participe également à de nombreux programmes de recherches en collaborations avec les chercheurs de l'équipe Symbiose. Puisque nous partageons les mêmes laboratoires, le personnel du CRITT GPTE participe à l'organisation quotidienne du laboratoire. Mon rôle d'animatrice d'équipe s'étend donc jusqu'au personnel du CRITT.

Depuis 2022, j'anime, avec Gilles Hébrard, le groupe de travail du laboratoire sur la thématique du CO₂ (son utilisation et valorisation) qui regroupe chercheurs et enseignants chercheurs travaillant sur le sujet (organisation et animations des réunions, comptes-rendus, lien avec la direction,

proposition de financements de projets ou équipement utile pour développer la thématique et/ou la visibilité de nos recherches).

K. Actions de valorisation, brevets, logiciels/matériels diffusés, autres réalisations

METHABIO : Procédé et Dispositif pour la production de méthane » déposé le 07 Avril 2020 sous le n° WO2020/208042. Brevet déposé entre ENOSIS et l'INSA de Toulouse.

L. Encadrement d'étudiants

Post- doctorants

2010-2011 : Gwenaëlle Jard : Caractérisation biochimique et méthanisation des macro-algues

2011-2012 : David Jackowiack : Digestion anaérobie des macro-algues et inhibitions

2013-2014 : Amandine Galès : Conception et maintenance de consortia microbiens et d'activités enzymatiques à partir du tube digestif d'insectes phytophages pour dégrader la matière lignocellulosique

2017-2019 : Yan Rafrafi : Etude et suivi d'un pilote de méthanation biologique

2022-2023 : Léa Laguillaumie : Vers la compréhension de la transformation microbienne du CO₂ en acides organiques et d'alcools par des communautés mixtes.

2024-2026 : Léa Laguillaumie : Produire des acides gras moyennes chaînes à partir de H₂ et CO₂

2024-2027 Marawit Tesfa : Bio-précipitation de carbonates de calcium par des bactéries phototrophes

Thèses en co-encadrement / co direction

2009-2012 : Amel Abbassi Guendouz : Lien entre paramètres procédés, micro-organismes et performances de la digestion anaérobie sèche (2012)

2009-2013 : Vidhya Prabhudessai Inde - France ; Production d'énergie durable à partir des déchets alimentaires solides d'une petite communauté (séjour de 8 mois au LBE)

2010-2013 : Jean-Charles Motte : Digestion anaérobie des résidus lignocellulosiques secs : étude dynamique de la relation entre les paramètres du procédé, les caractéristiques du substrat et l'écosystème microbien (2013).

2015-2018 : Emeline Flajollet : Production de Synthons à partir de résidus lignocellulosiques avec des consortia microbiens : Impact du prétraitement réactif par extrusion et teneur en eau.

2016-2019 : Laura Digan : Production de molécules plateformes issues de la fermentation à l'état solide pour valoriser les déchets organiques urbains

2018-2022 : Léa Laguillaumie : Etude de la compétition entre homoacétogènes et méthanogènes hydrogénotrophes dans des cultures mixtes anaérobies pour la production d'acétate à partir de H₂/CO₂: une approche expérimentale et de modélisation.

2019-2022 : Julie Figueras : Biométhanation du syngaz, étude cinétique et mise en œuvre à l'échelle pilote » / co-encadrement avec laboratoire DEEP de l'INSA de Lyon (Pierre Buffière et Hassen Benbelkasssem)

2019-2023: Matteo Castiello : Production de P(3HB-co-3HV) avec une teneur élevée en HV par des consortia microbiens sélectionnés en cultures continues"

2021-2024 : Morgane Carrier : Stockage et utilisation du CO₂ par précipitation de carbonate de calcium induite par voie biologique dans le cycle phototrophe du soufre

2021-2024 : Robin Caveriviere : Procédé intensifié pour la production par voie biologique d'acides organiques et d'alcools à partir de CO₂/ co-encadrement avec laboratoire LGC de Toulouse (Hélène Roux de Balmann)

2022-2025: Juan Diego Cavalajino : / co-direction avec laboratoire LGC de Toulouse (Benjamin Erable)->dérogation pour être en co-direction. Synthèse bioélectrochimique d'hydrogène soluble pour améliorer la réduction hybride [métal micro-organismes] du CO₂ en synthons

2024-2027: Anne-Laure Borg (thèse CIFRE ENGIE) : / co-encadrement avec laboratoire LGC de Toulouse (Benjamin Erable). "Caractérisation et optimisation d'un procédé de conversion bioélectrochimique du CO₂ en Biométhane"

Ingénieur d'études

2010-2011: Elodie Drané : Effect of parietal composition and thermo- mechanical pretreatment of gramineae on their performance for the production of bio- ethanol and methane

Stagiaires de master 1 & 2

2009 : Nabil Chériet : Mise en place d'un modèle prédictif de biogaz à partir de déchets organiques

2010 : Benoit Vassal : Comprendre la cinétique de dégradation des entre-nœuds de la paille de blé lors de la digestion anaérobie

2011 : Marine Bittel : prétraitement enzymatique de la biomasse pour la production de biogaz à partir de résidus agricoles

2011 : Kevin Préau : Quel mix pour une valorisation énergétique optimale des déchets bruts

2012 : Sebastiao Braz de la Faria : Prétraitement de la biomasse lignocellulosique pour améliorer les performances de la digestion anaérobie : attaque enzymatique en conditions solides

2012: Nicolas Beaufls : Impact de la structure de la biodégradation de la paille de blé par un écosystème de digestion anaérobie.

2013: Nicolas Beaufls : Prétraitement de la biomasse lignocellulosique pour améliorer les performances de la digestion anaérobie : attaque enzymatique en conditions élevées de solides.

2012-2013 : Lucile Chatellard : Utilisation de consortia microbiens enzymatiques issus du tube digestif d'insectes phytophages pour dégrader la matière lignocellulosique

2013 : Marie-Lou Hillion : Impact du prétraitement thermomécanique sur la biodisponibilité des molécules organiques.

2013 : Nicolas Lopez- Ferber : Faisabilité d'une méthode de méthanisation sèche de paille de blé

2014 Lynda Semalli : Caractérisation de l'activité et de la structure des consortia de dégradation microbienne et enzymatique des résidus lignocellulosiques issus des systèmes digestifs des insectes phytophages

2014 : Ying Zhang : Quantification d'ADN sur paille de blé et détachement de mirco-organismes sur substrat solide.

2015 Anaïs Licari : Production de carboxylates à partir de consortia microbiens : impact de la colonisation microbienne des substrats lignocellulosiques

2016 : Sophie Jacquemin : Développement d'une technique de visualisation de mirco-organismes sur résidus lignocellulosiques

2016 : Daniela Patinier : Effets des paramètres du procédé sur la fermentation des déchets en acides organiques

2016 : Lea Ledaine : Optimisation de la technique FISH sur substrat solide et analyse d'images

2017 : Camille Petrognani : fermentation des eaux solides : effet du pH sur le spectre AGV

2019 : Constance Laloye : Mise en oeuvre de test d'activités pour la caractérisation de l'inoculum de méthanisation biologique

2020: Aymeric Vignes: Optimisation de production d'acides organiques à partir d'ordures ménagères dans un réacteur à lit percolant

2021: Aurélien Catalan: Fermentation gazeuse de CO₂ et H₂ pour la production d'acétate

2023: Marion Blanchard: Etude des activités hydrogénophiles : comparaison de substrats : formate vs. H₂

2024 : Margot Grad : Etude de l'impact des apports nutritionnels sur les activités hydrogénophiles de bactéries acétogènes et archées méthanogènes .

2024 Todor Ruzic : Sélection et culture de bactéries soufrées pourpres pour la séquestration du CO₂ par bioprécipitation de bicarbonates de calcium

M. Liste de publications et congrès

44 articles, 7 articles en premier auteur, 13 en dernier auteur, h-index: 27 (google scholar),
Chapitre d'ouvrages (2) ; Communication orales (57)

Articles scientifiques

1. Figueras, J.; Benbelkacem, H.; Dumas, C.; Buffiere, P. Inhibitions from Syngas Impurities: Impact of Common Tar Components on a Consortium Adapted for Syngas Biomethanation. *Waste and Biomass Valorization* 2024, 15 (4), 2427–2437.
2. Pavas, J. C. A.; Robles-Rodríguez, C. E.; Morchain, J.; Corrales, D. C.; Dumas, C.; Cockx, A.; Aceves-Lara, C. A. Economic Multi-Objective Dynamic Optimization (EMODO) as a Decision-Making Tool in Biomethanation Process. *Chemical Engineering Transactions* 2023, 105, 193–198.
3. Ngu, V.; Fletcher, D. F.; Kavanagh, J. M.; Rafrafi, Y.; Dumas, C.; Morchain, J.; Cockx, A. H₂ Mass Transfer—A Key Factor for Efficient Biological Methanation: Comparison between Pilot-Scale Experimental Data, 1D and CFD Models. *Chemical Engineering Science* 2023, 268, 118382.
4. Laguillaumie, L.; Peyre-Lavigne, M.; Grimalt-Alemany, A.; Gavala, H.; Skiadas, I.; Paul, E.; Dumas, C. Controlling the Microbial Competition between Hydrogenotrophic Methanogens and Homoacetogens Using Mass Transfer and Thermodynamic Constraints. *Journal of Cleaner Production* 2023, 414, 137549.
5. Figueras, J.; Benbelkacem, H.; Dumas, C.; Buffiere, P. Syngas Biomethanation: Study of Process Performances at High Syngas Flow Rate in Pressurized Stirred Column. *Bioresource Technology* 2023, 376, 128936.
6. Figueras, J.; Benbelkacem, H.; Dumas, C.; Buffiere, P. Syngas Biomethanation: In a Transfer Limited Process, Is CO Inhibition an Issue? *Waste Management* 2023, 162, 36–42.
7. Acosta-Pavas, J. C.; Robles-Rodríguez, C. E.; Morchain, J.; Corrales, D. C.; Dumas, C.; Cockx, A.; Aceves-Lara, C. A. Switching Multi-Objective Dynamic Optimization (MODO) for the Production of Value-Added Products. In *Computer Aided Chemical Engineering*; Elsevier, 2023; Vol. 52, pp 583–588.
8. Acosta-Pavas, J. C.; Robles-Rodríguez, C. E.; Morchain, J.; Dumas, C.; Cockx, A.; Aceves-Lara, C. A. Dynamic Modeling of Biological Methanation for Different Reactor Configurations: An Extension of the Anaerobic Digestion Model No. 1. *Fuel* 2023, 344, 128106.
9. Laguillaumie, L.; Rafrafi, Y.; Moya-Leclair, E.; Delagnes, D.; Dubos, S.; Spérandio, M.; Paul, E.; Dumas, C. Stability of Ex Situ Biological Methanation of H₂/CO₂ with a Mixed Microbial Culture in a Pilot Scale Bubble Column Reactor. *Bioresource Technology* 2022, 354, 127180.
10. Acosta-Pavas, J. C.; Robles-Rodríguez, C. E.; Méndez, C. A. S.; Morchain, J.; Dumas, C.; Cockx, A.; Aceves-Lara, C. A. Dynamic Multi-Objective Optimization Applied to Biomethanation Process. *Chemical Engineering Transactions* 2022, 96, 319–324.
11. Acosta-Pavas, J. C.; Morchain, J.; Dumas, C.; Ngu, V.; Cockx, A.; Aceves-Lara, C. A. Towards Anaerobic Digestion (ADM No. 1) Model's Extensions and Reductions with In-Situ Gas Injection for Biomethane Production. *IFAC-PapersOnLine* 2022, 55 (20), 635–

640.

12. Rafrafi, Y.; Laguillaumie, L.; Figueras J. Dumas, C. Biological Methanation of H₂ and CO₂ with Mixed Cultures: Current Advances, Hurdles and Challenges. *Waste and Biomass Valorization* 2021, 12, 5259–5282.
13. Paul, E.; Bessière, Y.; Dumas, C.; Girbal-Neuhauser, E. Biopolymers Production from Wastes and Wastewaters by Mixed Microbial Cultures: Strategies for Microbial Selection. *Waste and Biomass Valorization* 2021, 12, 4213–4237.
14. Figueras, J.; Benbelkacem, H.; Dumas, C.; Buffière, P. Biomethanation of Syngas by Enriched Mixed Anaerobic Consortium in Pressurized Agitated Column. *Bioresource Technology* 2021, 338, 125548.
15. Dumas, C.; Ottosen, L. D. M.; Escudié, R.; Jensen, P. Biological Methanation or (Bio/Syn)-Gas Upgrading. *Frontiers in Energy Research*, 2020, 8, 30.
16. Digan, L.; Horgue, P.; Debenest, G.; Dubos, S.; Pommier, S.; Paul, E.; Dumas, C. An Improved Hydrodynamic Model for Percolation and Drainage Dynamics for Household and Agricultural Waste Beds. *Waste management* 2019, 98, 69–80.
17. Gales, A.; Chatellard, L.; Abadie, M.; Bonnafous, A.; Auer, L.; Carrère, H.; Godon, J.-J.; Hernandez-Raquet, G.; Dumas, C. Screening of Phytophagous and Xylophagous Insects Guts Microbiota Abilities to Degrade Lignocellulose in Bioreactor. *Frontiers in Microbiology* 2018, 9, 2222.
18. Camarasa, C.; Chiron, H.; Daboussi, F.; Della Valle, G.; Dumas, C.; Farines, V.; Flourey, J.; Gagnaire, V.; Gorret, N.; Léonil, J.; others. INRA's Research in Industrial Biotechnology: For Food, Chemicals, Materials and Fuels. *Innovative Food Science & Emerging Technologies/Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2018, 46, 140–152.
19. Constant, S.; Barakat, A.; Robitzer, M.; Di Renzo, F.; Dumas, C.; Quignard, F. Composition, Texture and Methane Potential of Cellulosic Residues from Lewis Acids Organosolv Pulping of Wheat Straw. *Bioresource technology* 2016, 216, 737–743.
20. Motte, J.-C.; Sambusiti, C.; Dumas, C.; Barakat, A. Combination of Dry Dark Fermentation and Mechanical Pretreatment for Lignocellulosic Deconstruction: An Innovative Strategy for Biofuels and Volatile Fatty Acids Recovery. *Applied Energy* 2015, 147, 67–73.
21. Motte, J.-C.; Watteau, F.; Escudié, R.; Steyer, J.-P.; Bernet, N.; Delgenes, J.-P.; Dumas, C. Dynamic Observation of the Biodegradation of Lignocellulosic Tissue under Solid-State Anaerobic Conditions. *Bioresource technology* 2015, 191, 322–326.
22. Dumas, C.; Damasceno, G. S. G.; Barakat, A.; Carrère, H.; Steyer, J.-P.; Rouau, X. Effects of Grinding Processes on Anaerobic Digestion of Wheat Straw. *Industrial Crops and Products* 2015, 74, 450–456.
23. Constant, S.; Basset, C.; Dumas, C.; Di Renzo, F.; Robitzer, M.; Barakat, A.; Quignard, F. Reactive Organosolv Lignin Extraction from Wheat Straw: Influence of Lewis Acid Catalysts on Structural and Chemical Properties of Lignins. *Industrial Crops and Products* 2015, 65, 180–189.
24. Motte, J.-C.; Trably, E.; Hamelin, J.; Escudié, R.; Bonnafous, A.; Steyer, J.-P.; Bernet, N.; Delgenès, J.-P.; Dumas, C. Total Solid Content Drives Hydrogen Production through Microbial Selection during Thermophilic Fermentation. *Bioresource technology* 2014, 166, 610–615.
25. Motte, J.-C.; Escudié, R.; Hamelin, J.; Steyer, J.-P.; Bernet, N.; Delgenes, J.-P.; Dumas, C. Substrate Milling Pretreatment as a Key Parameter for Solid-State Anaerobic Digestion Optimization. *Bioresource technology* 2014, 173, 185–192.
26. Motte, J.-C.; Escudié, R.; Beaufiles, N.; Steyer, J.-P.; Bernet, N.; Delgenès, J.-P.; Dumas, C. Morphological Structures of Wheat Straw Strongly Impacts Its Anaerobic Digestion.

- Industrial Crops and Products 2014, 52, 695–701.
27. Motte, J.-C.; Trably, E.; Escudié, R.; Hamelin, J.; Steyer, J.-P.; Bernet, N.; Delgenes, J.-P.; Dumas, C. Total Solids Content: A Key Parameter of Metabolic Pathways in Dry Anaerobic Digestion. *Biotechnology for biofuels* 2013, 6, 1–9.
 28. Motte, J.-C.; Escudié, R.; Bernet, N.; Delgenes, J.-P.; Steyer, J.-P.; Dumas, C. Dynamic Effect of Total Solid Content, Low Substrate/Inoculum Ratio and Particle Size on Solid-State Anaerobic Digestion. *Bioresource technology* 2013, 144, 141–148.
 29. Monlau, F.; Barakat, A.; Trably, E.; Dumas, C.; Steyer, J.-P.; Carrère, H. Lignocellulosic Materials into Biohydrogen and Biomethane: Impact of Structural Features and Pretreatment. *Critical reviews in environmental science and technology* 2013, 43 (3), 260–322.
 30. Jard, G.; Marfaing, H.; Carrère, H.; Delgenès, J.-P.; Steyer, J.-P.; Dumas, C. French Brittany Macroalgae Screening: Composition and Methane Potential for Potential Alternative Sources of Energy and Products. *Bioresource technology* 2013, 144, 492–498.
 31. Jard, G.; Dumas, C.; Delgenes, J.; Marfaing, H.; Sialve, B.; Steyer, J.; Carrère, H. Effect of Thermochemical Pretreatment on the Solubilization and Anaerobic Biodegradability of the Red Macroalga *Palmaria Palmata*. *Biochemical engineering journal* 2013, 79, 253–258.
 32. Abbassi-Guendouz, A.; Trably, E.; Hamelin, J.; Dumas, C.; Steyer, J. P.; Delgenès, J.-P.; Escudié, R. Microbial Community Signature of High-Solid Content Methanogenic Ecosystems. *Bioresource technology* 2013, 133, 256–262.
 33. Quéménéur, M.; Bittel, M.; Trably, E.; Dumas, C.; Fourage, L.; Ravot, G.; Steyer, J.-P.; Carrère, H. Effect of Enzyme Addition on Fermentative Hydrogen Production from Wheat Straw. *International journal of hydrogen energy* 2012, 37 (14), 10639–10647.
 34. Jard, G.; Jackowiak, D.; Carrère, H.; Delgenès, J.-P.; Torrijos, M.; Steyer, J.-P.; Dumas, C. Batch and Semi-Continuous Anaerobic Digestion of *Palmaria Palmata*: Comparison with *Saccharina Latissima* and Inhibition Studies. *Chemical engineering journal* 2012, 209, 513–519.
 35. Abbassi-Guendouz, A.; Brockmann, D.; Trably, E.; Dumas, C.; Delgenès, J.-P.; Steyer, J.-P.; Escudié, R. Total Solids Content Drives High Solid Anaerobic Digestion via Mass Transfer Limitation. *Bioresource technology* 2012, 111, 55–61.
 36. Erable, B.; Duțeanu, N. M.; Ghangrekar, M. M.; Dumas, C.; Scott, K. Application of Electro-Active Biofilms. *Biofouling* 2010, 26 (1), 57–71.
 37. Dumas, C.; Perez, S.; Paul, E.; Lefebvre, X. Combined Thermophilic Aerobic Process and Conventional Anaerobic Digestion: Effect on Sludge Biodegradation and Methane Production. *Bioresource Technology* 2010, 101 (8), 2629–2636.
 38. Carrère, H.; Dumas, C.; Battimelli, A.; Batstone, D. J.; Delgenes, J. P.; Steyer, J.-P.; Ferrer, I. Pretreatment Methods to Improve Sludge Anaerobic Degradability: A Review. *Journal of hazardous materials* 2010, 183 (1–3), 1–15.
 39. Dumas, C.; Mollica, A.; Féron, D.; Basseguy, R.; Etcheverry, L.; Bergel, A. Checking Graphite and Stainless Anodes with an Experimental Model of Marine Microbial Fuel Cell. *Bioresource technology* 2008, 99 (18), 8887–8894.
 40. Dumas, C.; Basseguy, R.; Bergel, A. Microbial Electrocatalysis with *Geobacter Sulfurreducens* Biofilm on Stainless Steel Cathodes. *Electrochimica acta* 2008, 53 (5), 2494–2500.
 41. Dumas, C.; Basseguy, R.; Bergel, A. Electrochemical Activity of *Geobacter Sulfurreducens* Biofilms on Stainless Steel Anodes. *Electrochimica Acta* 2008, 53 (16), 5235–5241.
 42. Dumas, C.; Basseguy, R.; Bergel, A. DSA to Grow Electrochemically Active Biofilms of *Geobacter Sulfurreducens*. *Electrochimica Acta* 2008, 53 (7), 3200–3209.

43. Coufort, C.; Dumas, C.; Bouyer, D.; Liné, A. Analysis of Floc Size Distributions in a Mixing Tank. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 2008, 47 (3), 287–294.
44. Dumas, C.; Mollica, A.; Féron, D.; Basséguy, R.; Etcheverry, L.; Bergel, A. Marine Microbial Fuel Cell: Use of Stainless Steel Electrodes as Anode and Cathode Materials. *Electrochimica acta* 2007, 53 (2), 468–473.

Chapitre d'ouvrages

Moletta R., La méthanisation, ed. lavoisier. Chapitre sur La méthanation biologique (Renaud Escudié, Yan Rafrafi, Julie Figueras, Sébastien Pommier, Pierre Buffière, Claire Dumas, Jean-Philippe Delgenès). A paraître

Dumas C., Sperandio M. (2019). Une production de méthane à partir de dioxyde de carbone et d'électricité renouvelable. In : *Inventer l'avenir. L'ingénierie se met au vert.* np, <https://hal.inrae.fr/hal-02483855>

Communication orales:

1. Laguillaumie L., Dubos S., Bounouba M., Peyre-Lavigne M., Paul E., Dumas C. – IWA AD 18 (Istanbul, Turkey) 2024 Présentation orale. Experimental and modelling study of the production of acetate from H₂/ CO₂ in continuous reactors with microbial consortia »
2. M. Carrier, C. Dumas, M. Peyre-Lavigne, M. Sperandio, 14th European Congress of Chemical Engineering and 7th European Congress of Applied Biotechnology, 17 - 21 septembre 2023. ECCE&ECAB 2023 (ecce-ecab2023.eu)
3. J Figueras, H Benbelkacem, C Dumas, P Buffière. Biométhanation: valorisation du syngaz issu de la pyrogazéification de déchets. 18ème congrès de la Société Française de Génie des Procédés
4. Acosta-Pavas, J.C., Robles-Rodríguez, C.E., Dumas, C., Cockx, A., Morchain, J., Aceves-Lara, C.A. (2023). Use of Support Vector Machine to Fault Detection in Biomethanation Process., 19th International Conference. DCAI 2022. Lecture Notes in Networks and Systems, vol 583. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-20859-1_18
5. - Laguillaumie L., Grimalt-Aleman A., Peyre-Lavigne M., Skiadas I., Gavala H., Paul E., Dumas C. – WasteEng (Copenhagen, Denmark) 2022 Présentation orale. « Enrichment method in successive batches for homoacetogens isolation within a microbial mixed culture grown on H₂/ CO₂ »
6. Laguillaumie L., Grimalt-Aleman A., Peyre-Lavigne M., Skiadas I., Gavala H., Paul E., Dumas C. – JRI Biogaz et Méthanisation (Lyon, France) 2022 Présentation orale. « Compétitions microbiennes dans le cadre de la valorisation du biogaz en méthane et acide acétique » -
7. Laguillaumie L., Rafrafi Y., Dubos S., Bounouba M., Moya-Leclair E., Paul E., Dumas C. – IWA RR (Ankara, Turkey) 2021 Présentation orale – visioconférence (covid). Enrichment of chemolithotrophic microbial mixed cultures (MMC) in a H₂/ CO₂ fermentation CSTR for value-added chemicals synthesis. »
8. Juan C. Acosta-Pavas, Jérôme Morchain, Claire. Dumas, Vincent. Ngu, Arnaud. Cockx, César A. Aceves-Lara, Towards Anaerobic Digestion (ADM No. 1) Model's Extensions and Reductions with In-situ Gas Injection for Biomethane Production, IFAC-PapersOnLine, Volume 55, Issue 20, 2022, Pages 635-640, ISSN 2405-8963, <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2022.09.167>.
9. Laguillaumie L., Rafrafi Y., Paul E., Mengelle E., Dubos S., Bounouba M., Delagnes D., Dumas C. – Sardinia symposium (Cagliari, Italy) 2021 Présentation orale. Orientation of

- biogas recovery towards the production of methane or organic acids in anaerobic mixed cultures biogas, methane, organic acids, anaerobic digestion »
10. Rafrafi Y., Laguillaumie L., Contreras V., Lefebvre X., Mengelle E., Delagnes D., Dubos S., Bounouba M., Paul E., Spv©randio M., Palmade S., Guerre V., Dumas C. - WasteEng2020 (Guelph, Canada) 2021 Présentation orale - visioconfv©rence (covid) Methane or organic acids production? Identification of key parameters for driving biological methanation processes. "
 11. Figueras J., Benbelkacem H., Dumas C., Buffière P. (2020-11-19). Biométhanation du syngas - Mise en œuvre à l'échelle pilote. Presented at : Codegepra - Journée Scientifique, Clermont-Ferrand, France (2020-11-19), <https://hal.inrae.fr/hal-03369534>
 12. Dumas C., Laguillaumie L., Rafrafi Y., Paul E., Gonzalez B., Lefebvre X., Sperandio M., Bounouba M., Delagnes D., Dubos S., Mengelle E. (2020-09-24). Stratégies d'orientation de consortia microbiens pour la production de CH₄ ou de biomolécules à partir de CO₂ . Presented at : Webinaire, Toulouse, France (2020-09-24), <https://hal.inrae.fr/hal-02967402>, OA
 13. Laguillaumie L., Rafrafi Y., Paul E., Mengelle E., Dubos S., Bounouba M., Delagnes D., Dumas C. (2020-09-08). Stratégies d'orientation de la valorisation du biogaz vers la production de méthane ou d'acides organiques en culture mixte anaérobie. Presented at : Journées Recherche Innovation Biogaz et Méthanisation 2020, Toulouse, France (2020-09-08), <https://hal.inrae.fr/hal-02967413>, OA
 14. Dumas C., Paul E., Bessiere Y., Sperandio M., Pommier S., Lefebvre X., Peyre Lavigne M. (2019-04-23). Valorization of solid wastes into energy and biobased products : taming microbial consortia to desired products. Presented at : International Seminar, Stockholm, Suède (2019-04-23 - 2019-04-25), <https://hal.inrae.fr/hal-02483853>
 15. Digan L., Horgue P., Debenest G., Pommier S., Paul E., Dumas C. (2019-09-30). AN IMPROVED HYDRODYNAMIC MODEL FOR PERCOLATION AND DRAINAGE DYNAMICS IN LEACH BED REACTORS. Presented at : Sardinia Symposium 2019, Santa Maria di Pula, Italie (2019-09-30), <https://hal.inrae.fr/hal-02967417>, OA
 16. Digan L., Dubos S., Paul E., Pages C., Trably E., Roux-de Balman H., Dumas C. (2018-07-02). Acidogenic fermentation of household solid waste: bacterial enrichment at controlled pH. Presented at : 7. International Conference on Engineering for Waste and Biomass Valorisation (WasteEng2018), Prague, Tchéquie (2018-07-02 - 2018-07-05), <https://hal.inrae.fr/hal-02154338>
 17. Dumas C., Lefebvre X., Rafrafi Y., Sperandio M., Dubos S., Delagnes D. (2018-11-05). Power to Gas - Biological methanation key technology for energy transition. Presented at : WORKSHOP TRANSENER, Toulouse, France (2018-11-05 - 2018-11-07), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02483847>
 18. Dumas C., Digan L., Paul E., Roux H. (2018-10-29). Process coupling fermentation and extraction for the valorization of urban residues into organic chemical building blocks. Presented at : 11. Sino-French International Workshop on Contaminated Soil Remediation: Innovations for the Circular Economy by Recycling Secondary Resources, Guangzhou, Chine (2018-10-29 - 2018-11-02), <https://hal.inrae.fr/hal-02483836>
 19. Dumas C., Paul E., Bessiere Y., Pommier S., Lefebvre X., Peyre Lavigne M., Sperandio M. (2018-10-29). Valorization of organic wastes (and sludge) into valuable products :Development of coupled bioprocesses involving mixed cultures. Presented at : 11. Sino-French International Workshop on Contaminated Soil Remediation: Innovations for the Circular Economy by Recycling Secondary Resources, Guangzhou, Chine (2018-10-29 - 2018-11-02), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02790894>

20. Dumas C., Rafrafi Y., Lefebvre X., Delagnes D., Sperandio M., Contreras Morena V., Palmade S., Guerré V. (2018-10-29). Biological methanation of H₂ and CO₂: long-term lab pilot experiments. Presented at : 11. Sino-French International Workshop on Contaminated Soil Remediation: Innovations for the Circular Economy by Recycling Secondary Resources, Guangzhou, Chine (2018-10-29 - 2018-11-02), <https://hal.inrae.fr/hal-02483835>
21. Digan L., Paul E., Roux De-Balmann H., Dumas C. (2017-07-11). Process coupling fermentation and extraction for the valorization of urban residues into organic chemical building blocks. Presented at : 16. Congrès de la société française de génie des procédés (SFGP 2017), Nancy, France (2017-07-11 - 2017-07-13), <https://hal.inrae.fr/hal-01605607>
22. Dumas C., Sperandio M., Lefebvre X., Rafrafi Y., Delagnes D., Contreras V., Palmade S. (2017-05-15). Bioreactors development for gaseous substrate conversion: keys of methanation. Presented at : French Federation of Biotechnology - Bioreactors Symposium 2017, Lille, France (2017-05-15 - 2017-05-16), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-01605442>
23. Dourmad J.-Y., Dumas C., Houot S. (2017-11-30). Le carbone et les éléments minéraux. Presented at : Journées Recyclage en Agriculture : Recyclage des produits organiques en agriculture : comment mettre en synergie les recherches portant sur les différentes étapes, de la production jusqu'au retour au sol ? Journée d'animation scientifique organisée par les départements EA, CEPIA, MICA et PHASE, Paris, France (2017-11-30 - 2017-11-30), <https://hal.inrae.fr/hal-02791435>
24. Digan L., Horgue P., Pommier S., Debenest G., Paul E., Dumas C. (2016-11-14). Hydraulic and chemical characterization of household wastes leach bed reactor for VFA production. Presented at : 6. International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venise, Italie (2016-11-14 - 2016-11-17), <https://hal.inrae.fr/hal-01605676>
25. Abbassi-Guendouz A., Trably E., Dumas C., Brockmann D., Delgenès J.-P., Steyer J.-P., Escudie R. (2015-11-15). Effect of mass transfer in dry anaerobic digestion systems. Presented at : 14. World Congress on Anaerobic Digestion (AD14), Viña del Mar, Chili (2015-11-15 - 2015-11-18), <https://hal.inrae.fr/hal-02739745>, OA
26. Gales A., Godon J.-J., Abadie M., Lazuka A., Auer L., Dumas C., Hernandez Raquet G. (2015-02-03). Taming lignocellulosic degradation activity of consortia from phytophagous insects guts in batch reactors: microbial diversity and enzymatic activities kinetics. Presented at : International Conference on Anaerobic Digestion. AD Technology and Microbial Ecology for Sustainable Development (ADTech2015), Chiang Mai, Thaïlande (2015-02-03 - 2015-02-06), <https://hal.inrae.fr/hal-01163003>
27. Flajollet E., Barakat A., Dumas C., Dumon C., Escudié R., Guillon F., Hernandez Raquet G. (2015-10-26). Impact du pré-traitement par le procédé d'extrusion réactive sur la diversité fonctionnelle d'un consortia microbien responsable de la transformation de la lignocellulose à haute teneur en solides. Presented at : 3. Colloque de Génomique Environnementale, Montpellier, France (2015-10-26 - 2015-10-28), <https://hal.inrae.fr/hal-01605423>
28. Barakat A., Escudié R., Guillon F., Dumas C., Monlau F., Bonnin E., Carrère H., O'Donohue M., Hernandez Raquet G. (2015-06-15). Synthons production from lignocellulosic biomass by microbial consortia: assessing the impact of innovative reactive-extrusion pre-treatment and high-solid load processes. Presented at : Biorefinery for Food, Fuels and Materials, BFFM2015, Montpellier, France (2015-06-15 - 2015-06-17), <https://hal.inrae.fr/hal-01605427>
29. Chatellard L., Gales A., Lazuka A., Auer L., Abadie M., Carrère H., Godon J.-J., O'Donohue

- M., Hernandez Raquet G., Dumas C. (2015-11-15). Biomimetic approach for developing lignocellulose valorization bioprocess using insect microbiome. Presented at : 14. World Congress on Anaerobic Digestion (AD14), Viña del Mar, Chili (2015-11-15 - 2015-11-18), <https://hal.inrae.fr/hal-02743649>, OA
30. Dumas C., Chatellard L., Gales A., Lazuka A., Auer L., Hernandez Raquet G., Carrère H., Steyer J.-P., Godon J.-J., O'Donohue M. (2014-04-28). Exploring enzymatic behaviour in xylo- and phytophagous insects consortia. What could be learned from Nature ?. Presented at : 36. Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, Clearwater Beach, États-Unis (2014-04-28 - 2014-05-01), <https://hal.inrae.fr/hal-01150808>, OA
31. Quemeneur M., Bittel M., Trably E., Dumas C., Fourage L., Ravot G., Steyer J.-P., Carrère H. (2014-07-08). Enhanced fermentative hydrogen production from wheat straw by enzyme mixture addition. Presented at : Conférence internationale DERBI 2014, Perpignan, France (2014-07-08 - 2014-07-10), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02795926>
32. Motte J.-C., Escudie R., Bernet N., Delgenès J.-P., Dumas C., Steyer J.-P. (2013-06-25). Impact of high solid content, particles size and low inoculation on the solid state anaerobic digestion of wheat straw. Presented at : 13. World Congress on Anaerobic Digestion: Recovering (bio) Resources for the World. AD13, Santiago de Compostela, Espagne (2013-06-25 - 2013-06-28), <https://hal.inrae.fr/hal-02745329>
33. Abbassi-Guendouz A., Trably E., Dumas C., Brockmann D., Steyer J.-P., Delgenès J.-P., Escudie R. (2013-10-08). Rôle du transfert de matière dans la limitation de la digestion anaérobie par voie sèche. Presented at : XIVe congrès SFGP 2013, Lyon, France (2013-10-08 - 2013-10-10), <https://hal.inrae.fr/hal-02750328>
34. Motte J.-C., Escudie R., Steyer J.-P., Hamelin J., Bernet N., Delgenès J.-P., Dumas C. (2013-11-19). Structuration spatiale des communautés microbiennes au cours de la dégradation et de la conversion de la lignocellulose en biogaz. Presented at : Journées thématiques du Réseau National Biofilm, Les Biofilms, Remue-Ménage aux Interfaces, Pau, France (2013-11-19 - 2013-11-21), <https://hal.inrae.fr/hal-02805556>
35. Motte J.-C., Trably E., Escudie R., Bernet N., Delgenès J.-P., Steyer J.-P., Dumas C. (2013-08-05). Impact of high solid content on mesophilic and thermophilic biohydrogen production from lignocellulosic residues. Presented at : Bio H₂ 2013, Montreal, Canada (2013-08-05 - 2013-08-07), <https://hal.inrae.fr/hal-02811085>
36. Bioteau T., Dumas C., Peu P. (2013-10-16). Quels nouveaux gisements pour la méthanisation agricole et méthodes de caractérisation. Presented at : Journées Recherche et Industrie - biogaz méthanisation, Narbonne, France (2013-10-16 - 2013-10-18), <https://hal.inrae.fr/hal-02599683>
37. Jard G., Jackowiak D., Carrère H., Delgenès J.-P., Torrijos M., Steyer J.-P., Dumas C. (2013-06-25). Anaerobic digestion of macroalgae: *Palmaria palmata* and *Saccharina latissima*. Presented at : 13. World Congress on Anaerobic Digestion: Recovering (bio) Resources for the World. AD13, Santiago de Compostela, Espagne (2013-06-25 - 2013-06-28), <https://hal.inrae.fr/hal-02748251>
38. Dumas C., Quemeneur M., Bittel M., Trably E., Fourage L., Ravot G., Steyer J.-P., Carrère H. (2012-06-04). Hydrogen production from wheat straw by dark fermentation : Impact of enzymatic pretreatment and enzyme addition. Presented at : 8. International Conference on Renewable Resources and Biorefineries (RRB-8), Toulouse, France (2012-06-04 - 2012-06-06), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02747112>
39. Motte J.-C., Trably E., Escudie R., Delgenès J.-P., Bernet N., Dumas C. (2012-11-12). Impact of water content on the hydrogen production from lignocellulosic residues by dark

- fermentation. Presented at : Venice 2012 - 4. International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venise, Italie (2012-11-12 - 2012-11-15), <https://hal.inrae.fr/hal-02745519>, OA
40. Constant S., Motte J.-C., Barakat A., Dumas C., Quignard F., Di Renzo F. (2012-07-08). Isolation of lignin from wheat straw in the presence of Lewis acids and production of lignin oligomers by redox catalysis. Presented at : International Conference on "Advances in Catalysis for Biomass Valorization", Thessalonique, Grèce (2012-07-08 - 2012-07-11), <https://hal.inrae.fr/hal-02749960>
 41. Quemeneur M., Bittel M., Trably E., Dumas C., Fourage L., Ravot G., Steyer J.-P., Carrère H. (2012-06-03). Enhanced fermentative hydrogen production from wheat straw by enzyme mixture addition. Presented at : 19. World Hydrogen Energy Conference - WHEC 2012, Toronto, Canada (2012-06-03 - 2012-06-07), <https://hal.inrae.fr/hal-02745875>
 42. Carrère H., Quémeneur M., Bittel M., Trably E., Dumas C., Steyer J.-P. (2012-11-27). Utilisation d'enzymes pour intensifier la production de biohydrogène par fermentation à partir de résidus lignocellulosiques. Presented at : Pollutec 2012, Lyon, France (2012-11-27 - 2012-11-30), <https://hal.inrae.fr/hal-02811305>
 43. Jard G., Dumas C., Delgenès J.-P., Marfaing H., Sialve B., Steyer J.-P., Carrère H. (2012-09-10). Production of methane from seaweeds: *Plamaria palmata*. Presented at : WasteEng 2012 : 4. International Conference on Engineering for Waste and Biomass Valorisation, Porto, Portugal (2012-09-10 - 2012-09-13), <https://hal.inrae.fr/hal-02746786>
 44. Dumas C., Prabhudessai V. A., Torrijos M., Mutnuri S., Steyer J.-P. (2011-10-03). Characterization of food solid wastes for predicting methane potential and degradability. Presented at : 13. International Waste Management and Landfill Symposium, Cagliari, Italie (2011-10-03 - 2011-10-07), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02745020>
 45. Carrère H., Monlau F., Barakat A., Dumas C., Battimelli A., Steyer J.-P. (2011-05-11). Intérêt des prétraitements pour la méthanisation de la biomasse lignocellulosique. Presented at : Séminaire Bioénergie Sud, Nîmes, France (2011-05-11 - 2011-05-11), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02744470>
 46. Carrère H., Monlau F., Barakat A., Dumas C., Steyer J.-P. (2011-03-29). Biogas from lignocellulosic biomass : interest of pretreatments. Presented at : International Congress Progress in Biogas II, Stuttgart, Allemagne (2011-03-29 - 2011-04-01), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02749537>
 47. Abbassi A., Trably E., Hamelin J., Dumas C., Delgenes J. P., Steyer J.-P., Escudie R. (2011-09-14). Influence of total solids on bacterial and archaeal communities in semi-dry and dry anaerobic digestion. Presented at : 1. International Conference on Biogas Microbiology, Leipzig, Allemagne (2011-09-14 - 2011-09-16), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02746311>
 48. Dumas C. (2011-09-12). Analyses du biogaz de digesteurs. Presented at : Ecole technique Analyse des gaz, Arles, France (2011-09-12 - 2011-09-16), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-01190341>
 49. Monlau F., Barakat A., Latrille E., Dumas C., Steyer J.-P., Carrère H. (2011-10-03). Impact of chemical composition and structural features on methane potential of lignocellulosic substrates. Presented at : 13. International Waste Management and Landfill Symposium, Cagliari, Italie (2011-10-03 - 2011-10-07), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02744655>
 50. Dumas C., Ghizzi G., Rouau X., Carrère H., Steyer J.-P. (2010-10-31). Wheat straw milling effect on biogas production. Presented at : 12th World Congress on anaerobic digestion, Guadalajara, Mexique (2010-10-31 - 2010-11-04), conférence invitée.

<https://hal.inrae.fr/hal-02758180>

51. Abbassi-Guendouz A., Trably E., Dumas C., Hamelin J., Delgenes J. P., Steyer J.-P., Escudie R. (2010-11-08). Influence of total solid concentration on anaerobic digestion : from wet to dry technology. Presented at : Venice 2010 - Third International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venise, Italie (2010-11-08 - 2010-11-11), <https://hal.inrae.fr/hal-02751137>
52. Dumas C., Ghizzi G., Rouau X., Carrère H., Steyer J.-P. (2010-03-28). Wheat straw milling effect on biogas production. Presented at : 1. Symposium on Biotechnology Applied to Lignocelluloses, Reims, France (2010-03-28 - 2010-04-01), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02755522>
53. Berger S., Couturier C., Métivier S., Dumas C., Lefebvre X., Sperandio M., Hébrard G., Guerré V., Palmade S., Jedliczka M., Joos M. (2017-05-22). HyCaBioMe (HYdrogen and CARbon dioxide conversion by BIOlogical Methanation) - Prefiguration of a preindustrial pilot of a biological methanation plant coupled to an anaerobic digester. Presented at : 4. International Conference on Renewable Energy Gas Technology, Pacengo (Verona), Italie (2017-05-22 - 2017-05-23), <https://hal.inrae.fr/hal-01605679>
54. Basset C., Constant S., Robitzer M., Dumas C., Barakat A., Di Renzo F., Quignard F. (2015-09-06). Lewis-Acid-Catalysed organosolv lignin extraction from wheat straw. Presented at : CATALYSIS FOR RENEWABLE SOURCES: FUEL, ENERGY, CHEMICALS, Catania, Italie (2015-09-06 - 2015-09-11), <https://hal.inrae.fr/hal-01837414>
55. Basset C., Constant S., Robitzer M., Dumas C., Barakat A., Di Renzo F., Quignard F. (2015-09-06). Lewis-acid catalysed organosolv lignin extraction from wheat straw. Presented at : 3. International Conference catalysis for renewable sources: fuel, energy, chemicals, Catania, Italie (2015-09-06 - 2015-09-11), <https://hal.inrae.fr/hal-01837432>, OA
56. Dumas C., Perez Fabiel S., Paul E., Lefebvre X. (2013-06-25). Exploring synergism between anaerobic mesophilic and aerobic hyperthermophilic populations for an increased sludge biodegradation. Presented at : 13. World Congress on Anaerobic Digestion: Recovering (bio) Resources for the World. AD13, Santiago de Compostela, Espagne (2013-06-25 - 2013-06-28), <https://hal.inrae.fr/hal-01268041>
57. Dumas C., Ghizzi Damasceno da Silva G., Rouau X., Carrère H., Steyer J.-P. (2012-06-01). Wheat straw milling effect on biogas production. Presented at : SPECTROMAD 2012. Spectroscopic Measurements in Anaerobic Digestion, Belvaux, Luxembourg (2012-06-01 - 2012-06-01), <https://hal.inrae.fr/hal-02804041>

Communications techniques ou de transfert :

1. Dumas C., Ghizzi Damasceno da Silva G., Rouau X., Carrère H., Steyer J.-P. (2012-06-01). Wheat straw milling effect on biogas production. Presented at : SPECTROMAD 2012. Spectroscopic Measurements in Anaerobic Digestion, Belvaux, Luxembourg (2012-06-01 - 2012-06-01), <https://hal.inrae.fr/hal-02804041>
2. Dumas C., Escudié R., Rafrafi Y., Delgenès J.-P., Trably E., Braga Nan L., Figeac N., Lefebvre X., Sperandio M., Dubos S., Delagnes D. (2019-03-12). La méthanation biologique : Nouvelle brique technologique dans des filières de production de gaz renouvelable. Presented at : Forum 3BCAR Bioénergie, Paris, France (2019-03-12 - 2019-03-12), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-02789330>
3. Dumas C., Berger S. (2016-11-10). HYdrogen and CARbon dioxyd conversion by BIOlogical MEthanation Conversion de l'hydrogène et du dioxyde de carbone par méthanation biologique. Presented at : Rencontres Régionale Hydrogène (Région Occitanie), Toulouse, France (2016-11-10 - 2016-11-10), conférence invitée.

<https://hal.inrae.fr/hal-01605608>

4. Dumas C., Carayon G. (2016-06-28). HYdrogen and CARbon dioxyd conversion by BIOlogical Methanation Conversion de l'hydrogène et du dioxyde de carbone par méthanation biologique. Presented at : Conférence internationale DERBI et Journées Nationales sur l'Énergie Solaire 2016, Pôle de compétitivité DERBI, Perpignan/Toulouse, France (2016-06-28 - 2016-06-30), <https://hal.inrae.fr/hal-01605678>
5. Carrère H., Pot D., Brancourt M., Dumas C., Sambusiti C., Bonnal L., Steyer J.-P., Höfte H. (2015-02-03). Développement de nouvelles variétés de biomasse ligno-cellulosique adaptées aux filières de valorisation : potentiel méthanogène de différentes variétés de sorgho et miscanthus et prétraitements. Presented at : Journées Recherche Industrie Biogaz-Méthanisation (JRI2015), Rennes, France (2015-02-03 - 2015-02-06), conférence invitée. <https://hal.inrae.fr/hal-01163001>

III. SYNTHÈSE DES TRAVAUX DE RECHERCHE et OBJECTIFS

III.1. Principales étapes de mon parcours de recherches

Après avoir obtenu un diplôme d'ingénieur et un diplôme d'études approfondies (DEA) en Génie des procédés et Environnement de l'INSA (Institut National des sciences Appliquées) de Toulouse en 2004, j'ai réalisé mon doctorat au sein du Laboratoire de Génie Chimique (LGC) de Toulouse. Soutenu en décembre 2007, ce doctorat portait sur la « catalyse électromicrobienne dans les piles à combustibles » sous la direction d'Alain Bergel et Régine Basséguy.

Je ne vais pas présenter mes travaux de thèses dans ce manuscrit. Je préciserai juste que cette thématique des piles à combustibles microbiennes ou biofilms électro-actifs en 2004 venait de voir le jour. On venait de découvrir que des pilis chez *Geobacter* pouvait être conducteurs et que certaines bactéries communiquaient directement avec des électrodes (Reguera et al., 2005). J'ai donc démarré mon activité de recherche au sein d'un domaine totalement nouveau ce qui était très moteur et exaltant. Par ailleurs, je faisais partie d'un collectif de jeunes chercheurs participant au même projet européen. Mes premiers pas dans la recherche ont été très facilités et positifs ce qui rend tout de suite le domaine de la recherche très attrayant. Mon travail de thèse portait particulièrement sur l'impact des matériaux d'électrodes sur le transfert d'électrons des bactéries (souche pure anaérobie de *Geobacter sulfurreducens*) vers l'électrode (solide) au cours de l'oxydation de l'acétate ou la réduction du fumarate dans les piles à combustible. Au cours de cette thèse, j'ai développé des compétences en (bio)électrochimie, étude et analyse des biofilms, culture pure de micro-organismes anaérobies,

Par la suite, j'ai effectué un post doctorat au sein de l'équipe SYMBIOSE du Laboratoire d'Ingénierie Systèmes Biologiques et Procédés (LISBP)¹ sur l'étude d'un traitement thermophile micro-aérobie pour le traitement des boues de station d'épuration par méthanisation et en particulier l'impact de ce traitement sur des molécules minoritaires ayant un fort impact sur l'environnement (micropolluants). Ce programme faisait partie d'un programme ANR DIGUE² dont les partenaires étaient SUEZ et en particulier le CIRSEE, et SOLAGRO. Pendant ce post doc de 8 mois, je me suis familiarisé avec la modélisation (modèle ADM1 sous Matlab) et surtout à l'étude expérimentale de pilotes de production de boues (2 pilotes de plus de 15L) et de leur traitement par méthanisation (un digesteur d'environ 10L). J'ai aussi travaillé sur l'étude de la dégradation de micropolluants par digestion anaérobie et l'impact d'un traitement micro-aérobie thermophile sur leur dégradation. Cette expérience en méthanisation et suivi de pilotes m'ont permis de postuler et d'être admise au concours de chargée de recherche INRA au sein du Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE).

Au sein du projet d'unité du LBE centré autour de la bioraffinerie environnementale, mes recherches portaient sur la caractérisation biochimique et physique des résidus organiques afin de comprendre, optimiser, les processus de méthanisation et prédire leur biodégradabilité. La caractérisation biochimique des résidus solides permet par exemple d'apporter des réponses sur la recherche du mélange optimal (Codigestion) ou sur les procédés à mettre en œuvre et les prétraitements éventuels à envisager pour une meilleure valorisation énergétique.

¹ devenu Toulouse Biotechnology Institute TBI

² nouvelles filières de DIGestion anaérobie des boUes pour la gestion des risques Environnementaux (maîtrise des substances prioritaires et valorisation des produits finaux) – DIGUE

Mon activité s'est donc focalisée sur l'étude de la déconstruction des résidus solides au sein de procédés biologiques de digestion anaérobie mettant en jeu des consortia microbiens. Aussi, la compréhension des interactions entre le substrat (résidus solides), les micro-organismes (consortia microbiens) et le procédé lui-même ont été au cœur de mon activité (Figure 1). Dans cette première partie de ma carrière, réalisée au LBE, c'est par une approche basée sur le génie des procédés mais surtout de caractérisation biochimique que je me suis attachée à répondre à ces enjeux scientifiques. Outre des études sur la méthanisation de résidus spécifiques tels que les macro-algues marines, ou la fraction fermentescible des ordures ménagères, j'ai surtout concentré mes activités sur l'étude de substrats lignocellulosiques, constituants importants des résidus agricoles et part très importante de la biomasse à valoriser. Dans ce cadre, les recherches se sont concentrées sur un substrat modèle, la paille de blé. J'ai travaillé dans un premier temps sur des systèmes de méthanisation dits humides (saturés en eau) pour m'orienter par la suite sur des systèmes concentrés en solides (dit en voie sèche), qui sont plus adaptés au traitement des résidus solides. Les procédés de méthanisation par voie humide permettent que les réactions ne soient pas limitées par le transfert de masse (réacteur parfaitement agité et totalement immergé). Au cours de ces cinq années, les études réalisées et les résultats obtenus ont permis de comprendre comment les caractéristiques biochimiques de la matière limitaient le procédé global. Au cours de ces années, j'ai aussi pu développer des compétences dans le domaine des prétraitements et analyses biochimiques des résidus solides.

En 2013-2014, j'ai effectué une demande de mobilité géographique (pour raison familiale) qui s'est accompagnée d'une mobilité thématique³. Le début de l'année 2014 a été consacré à la définition de mon nouveau projet de recherche au sein du TBI et de l'équipe Symbiose. Depuis 2014, je m'attache à comprendre et analyser les couplages entre les phénomènes de transfert et la réactivité biologique pour la production de molécules plateformes (les acides organiques) à partir de déchets solides. Ces derniers sont des intermédiaires réactionnels de la digestion anaérobie. Contrairement aux précédentes recherches, dont l'objectif était de favoriser et accroître la production de méthane, ici l'objectif est de favoriser l'accumulation des acides organiques. Il faut donc supprimer/limiter l'activité méthanogène. Il est donc important de comprendre les compétitions microbiennes qui peuvent avoir lieu entre la production des acides organiques lors de l'acidogénèse et la consommation de ses derniers lors de la méthanogénèse. Cet objectif a été abordé par une approche d'ingénierie des consortia. L'ingénierie des consortia consiste à sélectionner des populations microbiennes via la définition d'un design de procédés et de leur conduite (choix d'un enchaînement de procédés, application de conditions opératoires (continues ou séquencées), additions ou suppression composés chimiques...).

La première partie de mes recherches au TBI a porté sur la fermentation de résidus lignocellulosiques et sur la fermentation d'ordures ménagères en acides organiques. Enfin, depuis 2017, avec l'enjeu fort de traitement et de valorisation du CO₂, mes recherches se sont orientées vers l'utilisation et la transformation biologique de substrats gazeux. L'utilisation de gaz en tant que substrat, par rapport aux résidus solides, induit une hyper sélection des activités microbiennes ainsi que des réductions de possibles produits obtenus, et permet donc scientifiquement, au delà de l'enjeu de traitement et de valorisation des gaz, de s'attacher à comprendre de façon plus approfondie les processus microbiens (compétitions, interactions, limitations, inhibitions etc...).

³ avec changement de département de rattachement (du département EA : Environnement et Agronomie vers le département CEPIA : Caractérisation et Élaboration des Produits Issus de l'Agriculture désormais département TRANSFORM).

Depuis ma mobilité mes compétences disciplinaires en génie des procédés ont été clé dans le développement de mes travaux.

Le fil conducteur de mes travaux est donc la compréhension et l'amélioration de la réactivité biologique au sein de procédés limités par des phénomènes de transferts (transfert d'eau au sein d'un solide dans le cadre de la fermentation solides de déchets ou transfert de gaz vers le liquide lors de l'étude de la méthanation biologique ou de fermentation gazeuse). Ils s'articulent autour d'un triptyque composé du substrat /des micro-organismes et du procédé (paramètres opératoires) (Figure 1).

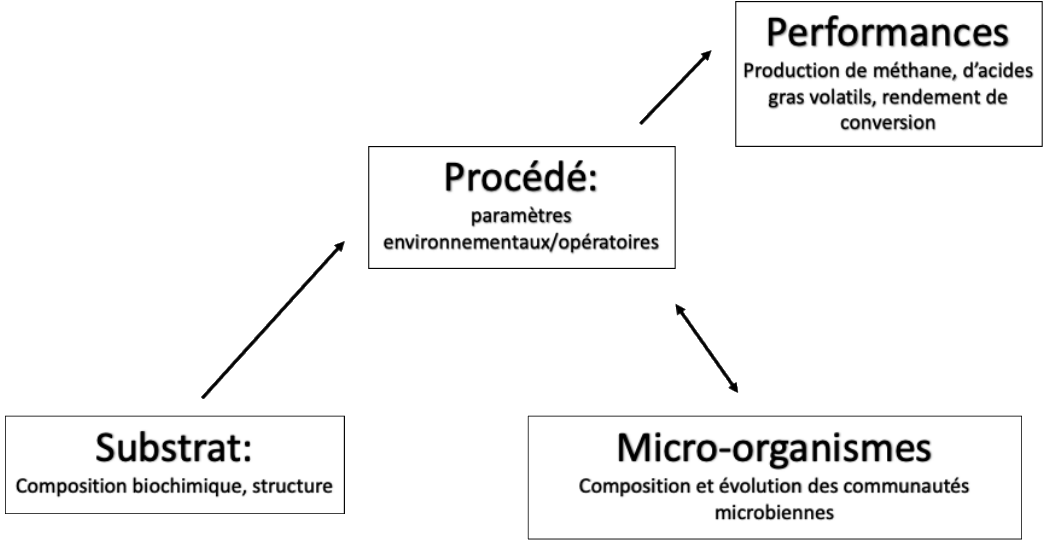


Figure 1 : Schéma récapitulatif de la démarche de recherche mise en oeuvre au cours de mes travaux

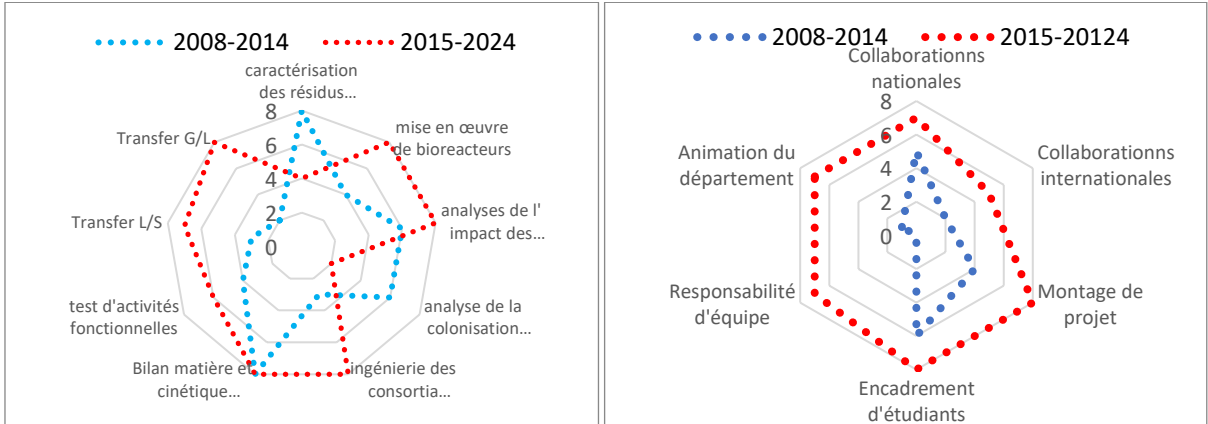


Figure 2 : Compétences A) scientifiques B) d'animation/transversales développées au cours de mes activités de recherche et leur évolution au cours des années.

III.2. Objectifs et questions scientifiques traitées

J'ai décliné ici mes activités de recherches, effectuées depuis mon recrutement en 2008, autour de deux grands thèmes qui se répartissent sur deux périodes : l'une avant et l'autre après ma mobilité géographique et thématique effectuée en 2014.

Le premier objectif fut de comprendre comment la composition et la structure d'un substrat pouvait impacter la déconstruction de ce dernier lors de la digestion anaérobie et comment l'améliorer pour accroître la production de méthane, qu'ils soient opérés à des taux de matières sèches élevés ou non. Le second objectif visait davantage à comprendre comment sélectionner des communautés microbiennes fonctionnelles au sein de cultures mixtes. Pour cela l'utilisation de leviers d'action de conditions environnementales est privilégiée afin de comprendre et orienter le métabolisme du consortium microbien vers une fonction définie (production de méthane, d'acides organiques, ...). Ma démarche scientifique a pour objectif de développer des outils expérimentaux qui peu à peu s'accompagne de travaux de modélisation que je réalise en collaboration.

Durant ces années, les questions auxquelles je me suis attachée de répondre étaient :

Concernant la digestion anaérobie pour la production de méthane :

- Quel est l'impact de 1) la composition des substrats solides, 2) la structure sur la cinétique de dégradation et le potentiel méthane ?
- Est-ce que le taux d'inoculation influence la cinétique de dégradation et le potentiel méthane ?
- Est-ce que la cinétique et le taux de dégradation sont impactés par certains paramètres de procédés tel que la température, le taux de matières sèches et le type de mélange ?

Concernant la production d'acides organiques à partir de déchets et de gaz

- Comment orienter la sélection des populations microbiennes capables de produire des acides organiques, du méthane au sein de milieux limités par le transfert d'eau /de gaz ?
 - Est-il possible d'orienter les voies métaboliques de production d'acides organiques au sein de milieux limités par le transfert d'eau /de gaz ?
 - Est-ce que la modélisation peut nous aider à comprendre et optimiser ces réactions ?
-

L'objectif des paragraphes suivants est de retracer mon parcours en présentant un descriptif de mes activités scientifiques tout en illustrant au travers de quelques exemples choisis, les réponses que j'ai tenté d'apporter aux différentes questions de recherches que je me suis posées. Au cours de ce descriptif, je m'attacherai à montrer aussi comment ces travaux menés par des étudiants que j'ai pu encadrer ont pu orienter le devenir de ces étudiants. Cette évolution au cours des années me conduit aujourd'hui à formuler de nouvelles orientations de recherche tout en continuité. C'est dans ce contexte que je sollicite cette habilitation à diriger des recherches.

PARTIE 1

III.3. Digestion anaérobie de résidus solides

III.3.1. Contexte et enjeux de la digestion anaérobie de résidus solides

Les activités humaines génèrent un grand part de déchets solides qu'ils soient d'origine domestiques, agricoles ou industrielles. Les filières de traitements et de valorisation sont nécessaires pour réduire leur impact sur l'environnement. La digestion anaérobie (DA) ou méthanisation est une voie de valorisation qui permet la transformation de la matière organique en un biogaz énergétique, composé de méthane et de dioxyde de carbone, par l'intermédiaire d'un écosystème microbien complexe. Ce procédé est notamment adapté aux résidus d'élevages (fumiers), agricoles (résidus de culture) ou boues de stations d'épuration, ou aux déchets ménagers. Toutefois, les compositions et structure de ces résidus solides peuvent parfois réduire leur dégradation, il est donc important de comprendre ces phénomènes de limitations.

Au sein de cette section, je m'attache à décrire les travaux que j'ai pu mener pour contribuer à la compréhension de l'impact de la composition du substrat, et de sa structure, sur les cinétiques ou les rendements de production de méthane. Une part importante des études présentées dans cette partie font référence à la dégradation de la paille de blé, pris comme modèle de biomasse lignocellulosique. La plupart des résultats obtenus font référence à des procédés de digestion anaérobie par voie solide, procédés de choix pour la dégradation des déchets à fortes teneurs en matières sèches. Ces procédés sont des systèmes dont les réactions biologiques sont limitées par le transfert de matière (eau). Certaines études ont été effectuées au sein de procédés non limités par le transfert d'eau (procédés de digestion anaérobie ou de production de bio-hydrogène en voie humide/ liquide).

Un procédé dit en voie liquide est un procédé au sein duquel la matrice est pompable, ce dernier peut contenir de fortes charges et / ou des solides en suspension. Les systèmes de digestion en voie humide se caractérisent par une concentration en solides totaux (TS) inférieure à 10 %. Ce sont des procédés anaérobies que l'on retrouve afin de stabiliser et réduire la production de boues produits dans les stations d'épuration ou pour la digestion anaérobie de déchets contenant une quantité importante d'eau. Les technologies de digestion en voie solide (TS > 20 %) ou semi solide (10 % < TS < 20 %) sont des procédés de choix afin de réduire les apports en eau dans le cadre du traitement de déchets solides à faible teneur en eau et ainsi réduire la taille des digesteurs (Rocamora et al., 2020). Les seuils de taux de TS mentionnés sont toutefois à prendre avec des pincettes puisque qu'ils peuvent varier selon le type de substrat concerné.

Le rôle de la composition et de la structure d'un intrant joue un rôle important en digestion anaérobie, que ce soit sur la quantité de méthane qui peut être obtenue ou sur la vitesse à laquelle les réactions biologiques peuvent avoir lieu (Azbar et al., 2001; Desbois and Lotti, n.d.; Xu et al., 2019).

La composition biochimique des substrats, leur teneur en nutriments ou minéraux, en composés lignocellulosiques (e.g. ratio cellulose/ lignine) ont été reliés au potentiel de dégradation et cinétique de production de méthane. Des traitements physiques et ou chimiques des substrats ont également permis de faire varier la structure du substrat sans modifier la composition et ainsi déterminer quel en était l'impact sur les voies de transformations biologiques en méthane. Par ailleurs, des finalités de valorisation autre que la valorisation méthane ont pu être envisagées dans les cas où cette dernière ne serait pas pertinente. Les paramètres biochimiques limitants le procédé global ont été déterminés. Ainsi, des verrous à la dégradation, liés à la quantité de fraction soluble du substrat, la teneur en

lignine du substrat, la cristallinité de la cellulose ou encore la présence de cires sur les biomasses lignocellulosiques ont pu être identifiés.

Cette partie présente les résultats essentiels obtenus dans le cadre de la dégradation et valorisation de substrats tels que des macro-algues marines, ou des résidus lignocellulosiques et notamment la paille de blé, pris comme substrat modèle.

Lors de mon arrivée au sein du LBE, j'ai été intégré aux programmes de recherches déjà acceptés et qui démarraient (ANR WINSEAFUEL, Projet CASDAR EQUIVALOR...). Ceci m'a permis de me former aux techniques de caractérisation et de suivi de réacteur, de participer à l'encadrement d'étudiants pour ensuite me permettre de développer mes propres projets de recherche.

III.3.2. Effet de la composition biochimique des substrats sur le rendement de production de méthane

Projets : Résultats de plusieurs projets ayant contribué à cette section : EQUIVALOR (CASDAR), WINSEAFUEL (ANR), Thèse de J.C.Motte.

Ma contribution : J'ai participé à la coordination et à la gestion des projets, à l'encadrement des doctorants et post-doctorants.

Partenariats : Centre d'études de Valorisation des Aigues (CEVA) , Laboratoire Sol Environnement (LSE)

a) Cas des macro-algues marines

Dans le cadre du programme de recherche WINSEAFUEL financé par l'ANR (2008-2011), nous avons travaillé au sein du LBE sur le concept de bioraffinerie des macro-algues. Ce projet visait à évaluer le potentiel offert par la culture de macro-algues en mer à proximité de parcs d'éoliennes offshore. En effet, ces parcs permettent de profiter de lieux abrités, en pleine mer, propices à la culture d'algues. Aussi, l'exploitation des éoliennes permet de mutualiser les transports entre le littoral et la pleine mer pour la récolte d'algues et la maintenance des éoliennes.

Le consortium du projet regroupait des acteurs allant de la culture des macro-algues (société ALEOR), la caractérisation et la transformation /valorisation matière et ou énergie (CEVA, LBE). L'analyse de cycle de vie (LBE / Univ. Montpellier) et économique de chaque filière de valorisation ont également été évalués. Ce projet était coordonné BIOCAR filiale du groupe GDF Suez. Sur la partie caractérisation biochimique des macro-algues, les travaux de recherches au LBE ont été réalisés en étroite collaboration avec le Centre d'Études et de Valorisation des Algues (CEVA) de Pleubian. L'étude au sein du projet s'est concentrée sur 10 algues candidates : vertes, brunes, rouges. L'étude de la composition biochimique des algues a permis d'optimiser l'identification des meilleures voies de valorisation (produits spécifiques pour l'industrie agroalimentaire, ou l'industrie chimique ou encore la production d'énergie c'est-à-dire le biométhane).

Les algues marines sont constituées de polysaccharides à faible teneur en cellulose et sans lignine (Morand et al., 1991). La composition biochimique des macro-algues en termes de fibres, teneur en minéraux, lipides et glucides dépend de l'espèce et de la saison (MacArtain et al., 2007). Leur composition diffère selon leur origine : des algues rouges, brunes ou vertes (Rinaudo, 2007). Les macro-algues étudiées dans cette étude ont été sélectionnées en fonction de leur présence naturelle sur les côtes bretonnes françaises, de leur capacité à être cultivées et de leur capacité à être transformées en produits alimentaires (additifs,...) (Draget et al., 2005) et/ou énergétiques (méthane) (Wei et al., 2013). Dix macro-algues issues des côtes bretonnes (France) ont été sélectionnées : algues brunes (*Undaria pinnatifida* (Up), *Saccorhiza polyschides* (Sp), *Sargassum muticum* (Sm), *Saccharina latissima* (Sl), *Himantalia elongata* (He)), algues rouges (*Gracilaria*

verrucosa (Gv), *Palmaria palmata* (Pp), *Asparagopsis armata* (Aa)) et algues vertes (*Codium tomentosum* (Ct), *Ulva lactuca* (Ul)). La caractérisation biochimique consistait à déterminer la composition biochimique : minéraux, fibres, protéines, lipides, glucides (composition totale et individuelle), polyphénols, sels, et à proposer la meilleure voie de valorisation (énergie, alimentation, industrie agroalimentaire, etc), essentiellement valorisation alimentaire, en alginates, en polyphénols et en méthane.

Valorisation Alimentaire

Les analyses ont identifié *Palmaria palmata* et *Ulva lactuca* parmi les algues comestibles comme riches en protéines, *U. lactuca* ayant également une teneur importante en fibres. Cependant, le rapport Na/K élevé d'*U. lactuca* (1,9) est préjudiciable à la santé. Des rapports Na/K inférieurs (0,5 à 0,6) ont été observés pour *P. palmata*, *S. latissima* et *G. verrucosa*. *G. verrucosa* se distingue comme un légume d'origine marine prometteur en raison de sa teneur élevée en protéines (134 g/kgTS) et en fibres (427 g/kgTS), ainsi que d'un rapport Na/K favorable.

Extraction d'alginates

L'alginate, ingrédient clé de l'industrie alimentaire, possède des propriétés épaississantes utilisées dans les sauces et les soupes. Les algues brunes sont riches en alginates, *Himanthalia elongata* ayant la concentration la plus élevée (350 g/kgTS). Cependant, son rapport mannuronate et guluronate (M/G), indicateur du pouvoir épaississant, est plus faible (1,4) ce qui réduit ses propriétés épaississantes. De plus, *H. elongata* est une algue comestible savoureuse, il est donc conseillé d'utiliser l'algue entière en alimentation. Par conséquent, le meilleur candidat pour l'extraction d'alginates pourrait être *S. latissima* avec 242 g/kgTS d'alginates ou particulièrement *S. polyschides* (teneur totale en alginate 163 g/kgTS et rapport M/G égal à 1,2).

Extraction de polyphénol

Les polyphénols, aux propriétés antioxydantes, sont précieux pour les additifs alimentaires. *Sargassum muticum*, bien qu'étant une espèce envahissante, offre une teneur importante en polyphénols (19,8 g/kgTS). *Himanthalia elongata* avec 7,3 g/gTS de polyphénols est recommandée pour la culture afin d'obtenir des polyphénols.

En résumé, *P. palmata* est intéressante pour l'alimentation (riche en nutriments) et pour la digestion anaérobie. *S. latissima* pourrait être utilisée pour l'extraction d'alginates (242g/kgTS, rapport entre l'acide mannuronique et guluronique M/G = 1,4) et *Sargassum muticum* pour l'extraction de polyphénols (19,8 g/kgTS).

Méthanisation

Afin de pouvoir les valoriser en méthanisation, les macro-algues doivent contenir une proportion de matière organique importante, si possible faible en fibres et minéraux, riches en sucres. En complément de ces analyses biochimiques, des potentiel méthane (réacteur batch) ont été réalisés. Ceux-ci ont permis de sélectionner les algues candidates à tester en réacteur continu (semi continu). Du point de vue de la composition biochimique, l'algue qui semble être la plus avantageuse pour la digestion anaérobie est *P. palmata* en raison de sa faible teneur en fibres, sa faible concentration en minéraux, sa forte teneur en matière organique et en glucides. Ces critères ont été validé par un potentiel méthane de 0,279 LCH₄/gMV. *U. lactuca* semble également être un bon substrat pour la digestion anaérobie, de la même façon sa composition biochimique peut expliquer son potentiel méthane élevé de 0,239 LCH₄/gMV. Cependant, sa teneur très élevée en sulfate (122 g/kgTS) est problématique pour la méthanisation en raison de la compétition entre méthanogènes et bactéries

sulfato-réductrices (Peu et al., 2011). *S. Latissima* possède un potentiel méthane de 0,209 LCH₄/gMV. La plus faible production de méthane (hormis *A. armata*) a été observée avec *S. muticum*. Cette algue est la plus riche en fibres, de plus, elle contient une faible quantité de glucides et de protéines. Ces résultats montrent que les fibres végétales (ici algale) sont des composés lentement ou difficilement biodégradable en conditions anaérobies. Le potentiel méthane de l'algue *A. Armata* s'est avéré nul avec pour hypothèse le fait que cette algue contient des inhibiteurs de la méthanisation (halogénés). Ce résultat peut être dû à des composés antibactériens comme les composés halogénés lipophiles présents dans cette algue (Genovese et al., 2012) et ont signalé la présence de composés antibactériens.

Cette partie du travail a donné lieu à la rédaction d'un article scientifique :

Jard, G., H. Marfaing, H. Carrère, J. P. Delgenes, J. P. Steyer, et C. Dumas. « French Brittany macroalgae screening: Composition and methane potential for potential alternative sources of energy and products ». *Bioresource Technology* 144 (septembre 2013): 492-98. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.114>.

L'objectif par la suite était de tester un nombre restreint d'algues en réacteur continu pour voir le comportement du réacteur anaérobie sur long terme, et de déterminer les charges maximales applicables (gMV/Lreacteur/j). Parmi les algues initialement sélectionnées, 3 algues appartenant à une catégorie différente (une algue de chaque famille : brunes, rouges, vertes) ont été choisies en fonction de leur valeur de potentiel méthane (les plus élevés) ; à savoir : *Palmaria palmata* (0,279 LCH₄/gMV) et *Saccharina latissima* et *Ulva lactuca* (0,239 LCH₄/gMV).

Les objectifs de cette étude étaient de savoir quelle charge organique pourrait être appliquée en alimentation au sein des réacteurs et quelle production de méthane pouvait être obtenue. Une des caractéristiques des macro-algues est qu'elles sont cultivées en milieu marin à forte teneur en sel. Il est donc important de pouvoir évaluer l'impact de la quantité de sels présents dans les algues sur leur transformation biologique en méthane. Du fait de l'alimentation semi-continu des réacteurs et de l'accumulation possibles des sels dans le milieu réactionnel, la question de l'inhibition par les sels s'est alors posée (notamment K et Na). Cette seconde étude a donné lieu à la publication d'un deuxième article. Nous avons également étudié l'impact du changement de substrat (type d'algues) selon la saisonnalité.

Alors qu'en réacteur batch (BMP) l'algue *P. Palmata* présentait le meilleur potentiel méthane, en réacteurs semi-continus les meilleures performances ont été obtenues avec *S. Latissima*.

La charge a pu être augmentée au cours des 182 jours d'alimentation jusqu'à 408gMV/kgMES/j.

A partir de cette charge, l'accumulation de cations et en particulier du potassium et du sodium se sont révélées inhibitrices pour les archées méthanogènes.

Des expériences supplémentaires en réacteurs batch ont permis de valider cette inhibition en montrant qu'à partir 13g/L de potassium et 4.1g/L de sodium, la vitesse de production de méthane est réduite de plus de 50%.

Ce travail nous a permis de détecter quelles pourrait être les algues valorisables en méthane. Également, des pistes de codigestion entre les algues ont pu être dressées, notamment de la codigestion d'*U. Lactuca* qui est riche en soufre. D'un point de vue plus fondamental, ces études m'ont permis d'acquérir des connaissances en caractérisation biochimiques et en inhibition de micro-organismes par les éléments minéraux (sels).

Ces travaux ont été publiés dans *Chemical Engineering Journal*.

Jard, G., D. Jackowiak, H. Carrère, J. P. Delgenes, M. Torrijos, J. P. Steyer, et C. Dumas. « Batch and semi-continuous anaerobic digestion of *Palmaria palmata*: Comparison with *Saccharina latissima* and inhibition studies ». *Chemical Engineering Journal* 209 (15 octobre 2012): 513-19. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.08.010>.

b) Cas de la biomasse lignocellulosiques : en particulier la paille de blé

La biomasse lignocellulosique (LC) résiduaire représente une ressource intéressante pour les procédés de transformation. Les procédés biologiques et en particulier la digestion anaérobie ou fermentation de ces substrats constituent des voies de valorisation pour la production d'énergie et/ou de molécules d'intérêt. Cette biomasse est très diverse et peut être constituée de résidus de cultures, d'effluents d'élevage, ou encore de cultures dédiées (Cultures Intermédiaires à Vocation Énergétique : CIVE). Du fait de la diversité des substrats, afin de pouvoir tirer des conclusions relativement génériques, les études que j'ai menées ont pris pour modèle la paille de blé.

L'objectif était de comprendre les processus qui se déroulent au cours de la digestion anaérobie de résidus lignocellulosiques et notamment d'éclaircir l'interaction entre la composition du substrat et sa dégradation anaérobie (paramètres de procédés et aussi micro-organismes). La caractérisation biochimique des substrats et la mise en relation avec le potentiel méthanogène était la base de toutes nos recherches, afin de définir des critères biochimiques clés, génériques à diverses familles de substrat (lignocellulosiques ou non) et de procédés (humides ou secs).

Des verrous à la dégradation, liés à la quantité de fraction soluble du substrat, la part de lignine du substrat, la cristallinité de la cellulose ou encore la présence de cires sur les biomasses lignocellulosiques ont pu être identifiés.

Le rôle des micro-organismes de la digestion anaérobie, leur développement et structuration sur le substrat pour le dégrader ont également été étudiés. Pour cela, deux types d'approche ont été mises en place : i) un suivi microscopique (MET) a rendu possible la visualisation de la dégradation du substrat, de la croissance et localisation des micro-organismes, ii) un protocole de compartimentation a été développé permettant de caractériser la biomasse microbienne planctonique et les micro-organismes attachés au substrat LC.

La paille a été séparée en 5 fractions caractéristiques : les entrenœuds, les feuilles, les nœuds, les paillettes et les rachis. La composition biochimique des différentes fractions a été caractérisée par :

- un fractionnement selon VAN SOEST, qui permet de déterminer la part de composé extractibles à l'eau et au détergent (protéines, lipides, sucres et les petites parties des parois cellulaires (Sun, 2010), puis la part d'hémicellulose, celle de la cellulose, et enfin de la lignine ;
- une analyse des sucres constituant la paille après hydrolyse acide,
- une analyse proche infrarouge afin de déterminer la cristallinité de la cellulose.

Une analyse en composante principale nous a permis de classer les fractions selon leur composition biochimique. Les entre-nœuds sont caractérisés par des teneurs élevées en lignine et en cellulose, le rachis par des hémicelluloses et un compartiment soluble dans les détergents élevés et les nœuds par des composés hautement solubles dans l'eau. La fraction de paillettes possède une distribution lignocellulosique intermédiaire. Enfin, les feuilles ont des teneurs élevées en eau et en détergent (10 % et 9 %), mais des teneurs relativement faibles en lignine et en cellulose (6 % et 41 %, respectivement). Ainsi, les entre-nœuds et les feuilles présentent une composition lignocellulosique opposée, alors qu'ils représentent les principaux constituants de la paille.

Les feuilles et les rachis sont les fractions les plus riches en minéraux et donc contenant moins de matière organique. Le rapport C/N s'est révélé également assez différents entre les composés : les entrenœuds sont très riches en carbone (C/N de 389 g/g).

Tous ces paramètres biochimiques ont été mis en regard de la production de méthane et d'hydrogène lors de la dégradation de ces substrats (La production d'hydrogène dans ce cas peut être vu comme le potentiel de dégradation rapide du substrat). Les fractions de la paille les plus méthanogènes sont dans l'ordre croissant les nœuds > entrenoeuds > paillettes > rachis > feuilles avec des potentiels allant de 140 à 242 NmLCH₄/ gMV.

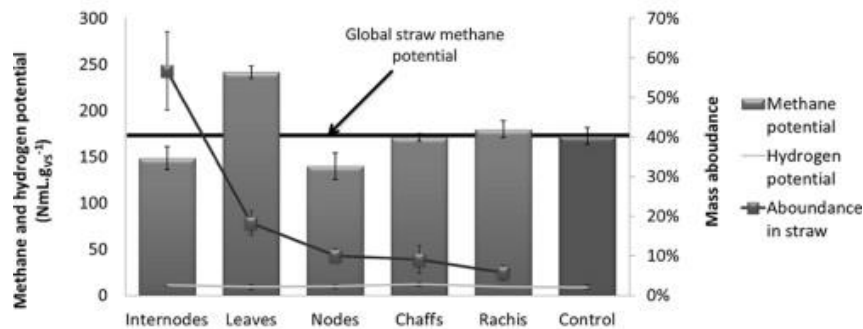


Figure 3 : Représentation du potentiel méthane de chaque fraction de la paille de blé (axe principal) ; pourcentage de l'abondance en masse de chaque fraction au sein de la paille. (Axe secondaire). Source J. C. Motte

Cependant, aucune corrélation significative avec la biodégradabilité et la composition biochimique n'a été obtenue. Cela suggère qu'outre l'analyse biochimique de la lignocellulose, une analyse de la structure est nécessaire pour évaluer la bioaccessibilité des molécules et ainsi mieux estimer la biodégradabilité de la lignocellulose.

Cette étude a permis de démontrer que la paille de blé, qui est un modèle de biomasse lignocellulosique, et donc sa dégradation sont hétérogènes.

L'étude de la digestion anaérobie à l'échelle microscopique a également montré que certains tissus ont été récalcitrants. Le but de cette étude était d'observer et de comprendre la dégradation microbienne de la structure lignocellulosique de la paille de blé au cours de la DA. Pour cela, une évaluation précise de la cinétique et des performances du procédé par analyse biochimique a été complétée d'observations microscopiques. Aussi, des échantillons de paille de blé ont été prélevés en dynamique, conservés dans de la résine, puis observés au microscope électronique à transmission (MET). Ces observations ont été réalisées au Laboratoire Sol et Environnement de Nancy en collaboration avec Françoise Watteau.

Nous avons pu identifier que la phase soluble de la paille ainsi que les cellules des parenchymes sont rapidement dégradées, bien que leur accès ne soit pas toujours facilité. L'épiderme de la paille est relativement difficile à attaquer par les micro-organismes par la présence de la cuticule recouverte de cire et d'une teneur importante en silice. Nous avons également montré ici que les tissus lignifiés pouvaient être attaqués par les micro-organismes mais cela très tardivement (à la fin de l'expérience).

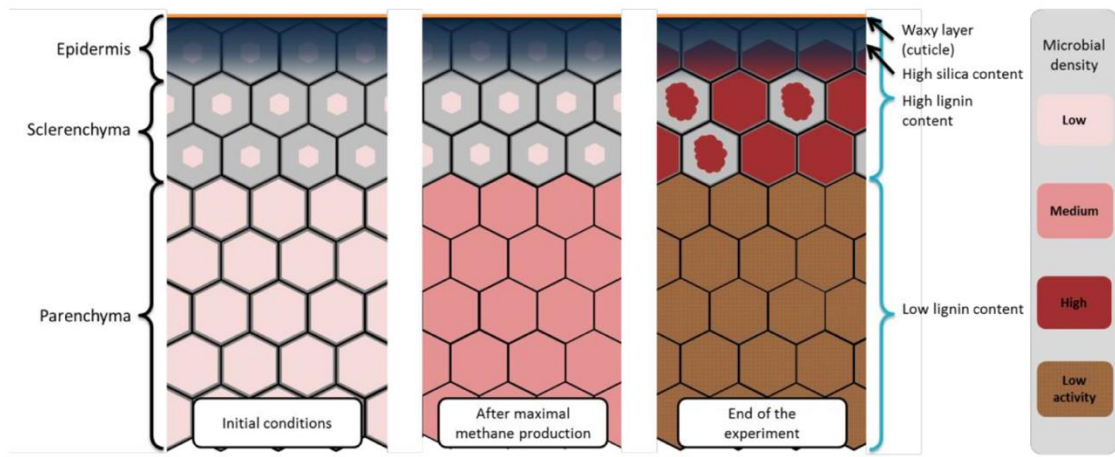


Figure 4 : Représentation schématique de l'évolution de la biomasse microbienne au sein des tissus de la paroi de la paille blé tout au long de la réaction de méthanisation en voie sèche. *Source J. C. Motte*

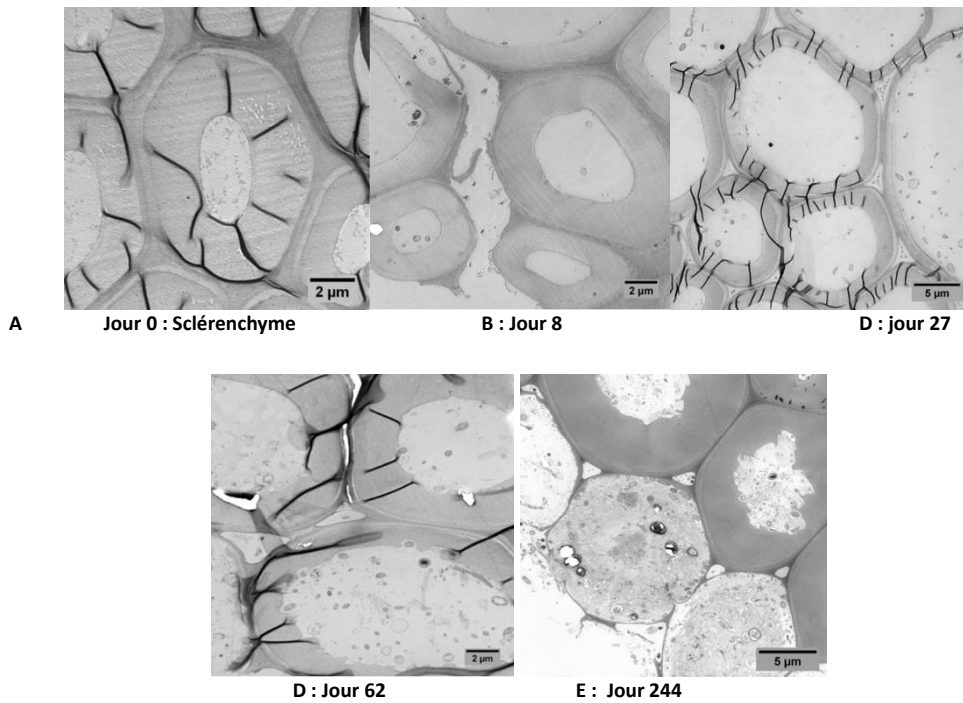
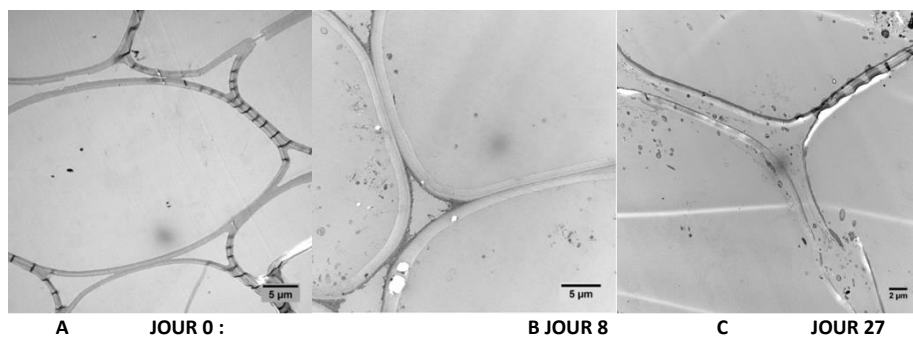


Figure 5 : Photos au microscope électronique à transmission de l'évolution de la biomasse microbienne au sein des tissus du sclérenchyme de la paille de blé tout au long d'une expérience de méthanisation par voie sèche. *Source J. C. Motte*



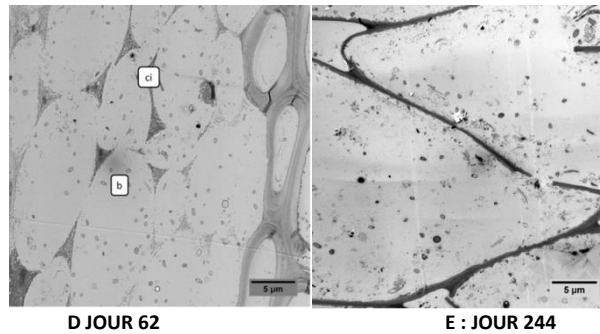


Figure 6 : Photos au microscope électronique à transmission de l'évolution de la biomasse microbienne au sein des tissus du parenchyme de la paille de blé tout au long d'une expérience de méthanisation par voie sèche. Source J. C. Motte

Ces travaux ont été publiés dans *Industrial Crops and Products* et présentés lors de conférence internationale

Publication : Motte, J.-C., R. Escudié, N. Beauflis, J.-P. Steyer, N. Bernet, J.-P. Delgenès, et C. Dumas. « Morphological structures of wheat straw strongly impact its anaerobic digestion ». *Industrial Crops and Products* 52 (Janvier 2014): 695-701. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.038>.

Conférence : Florian Monlau, Abdellatif Barakat, Eric Latrielle, Claire Dumas, Jean-Philippe Steyer, et al.. Impact of chemical composition and structural features on methane potential of lignocellulosic substrates. 13. International Waste Management and Landfill Symposium, Oct 2011, Cagliari, Italy. (hal-02744655)

En parallèle de ses observations, un protocole de compartimentation de la biomasse microbienne a permis de comprendre comment les micro-organismes se structurent sur le substrat et de les différencier. Le protocole développé repose sur une triple compartimentation liée à la taille des particules auxquelles les micro-organismes sont associés : le particulaire ($> 30 \mu\text{m}$), l'intermédiaire (de $3 \mu\text{m}$ à $30 \mu\text{m}$) et le soluble ($< 3 \mu\text{m}$). Ces échantillons ont été comparés au milieu initial et au digestat final non compartimentés. L'ADN de ces échantillons a été extrait et analysé pour évaluer la structure des communautés microbiennes par CE-SSCP (Capillary Electrophoresis Single-stranded conformation polymorphism). Les communautés microbiennes ont été analysées afin d'étudier dynamiquement leur différenciation vis-à-vis du substrat et au cours de l'avancement de la réaction (Figure 8). En termes de communautés, le compartiment intermédiaire s'est révélé être très proche du compartiment soluble. Aussi par la suite, seuls les résultats du soluble ont été analysés en profondeur (Figure 7).

L'analyse en composante principale permet de visualiser les différences entre les communautés, en dynamique et sur les fractions soluble et particulaire (Figure 8). Nous avons remarqué que les populations microbiennes au sein des fractions solubles restent proches de celles présentes dans le prélèvement initial. Seules les populations microbiennes au sein des fractions particulaires se regroupent à partir du jour 92. Ainsi, ces résultats nous suggèrent que les populations microbiennes sur la fraction particulaire se différencient de celles de l'inoculum et s'enrichissent probablement en

populations hydrolytiques. On note d'ailleurs que les profils SSCP des bactéries entre le point initial et le point final se simplifient, la diversité microbienne diminue (l'indice de Simpson⁴ évolue de 4,5 à 3,1 entre le compartiment initial et particulaire) et l'augmentation d'intensité des pics traduit un enrichissement en certaines populations est constaté (Figure 7).

Il aurait été intéressant d'analyser les communautés microbiennes pour valider ces hypothèses et déterminer les espèces ou familles qui se développent dans les différents compartiments.

⁴ L'indice de Simpson est un indice permettant de mesurer la diversité d'un milieu, créé par Edward Simpson en 1949, en calculant la probabilité que deux individus sélectionnés au hasard appartiennent à la même espèce. Plus cet indice est proche de 1, plus le peuplement est homogène.

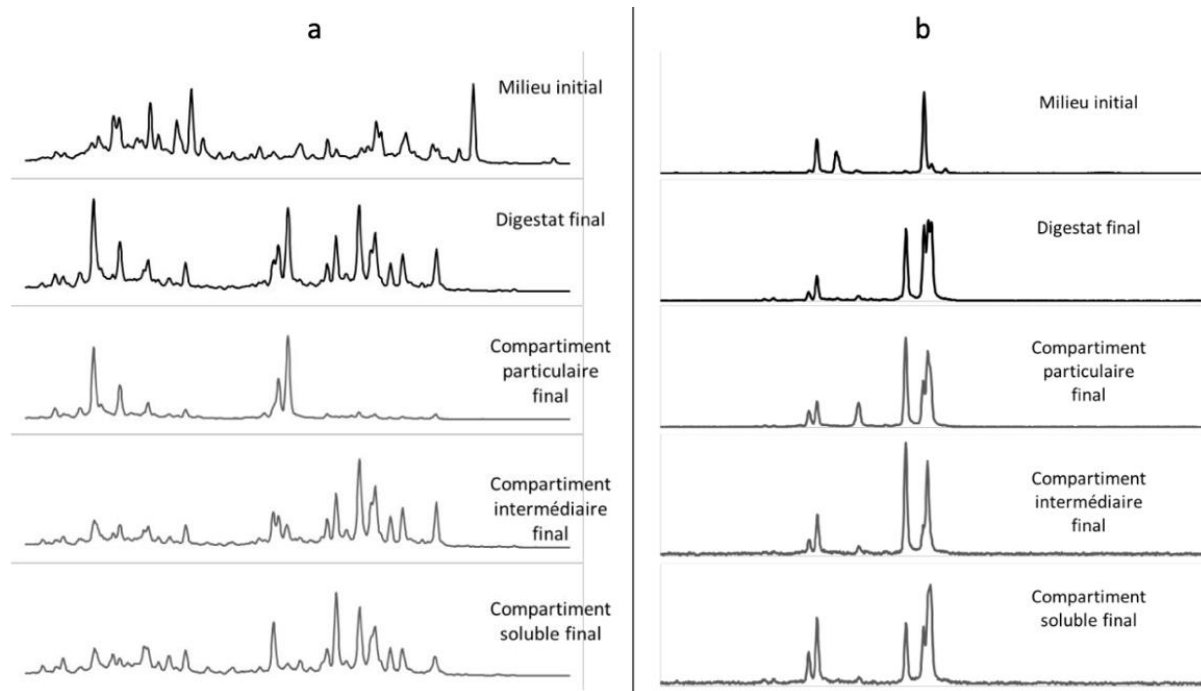


Figure 7 : Profils CE-SSCP des communautés microbiennes en fonction du compartiment et en comparaison des conditions initiales et finales du milieu. (a) Bactéries. (b) Archée. Source J. C. Motte

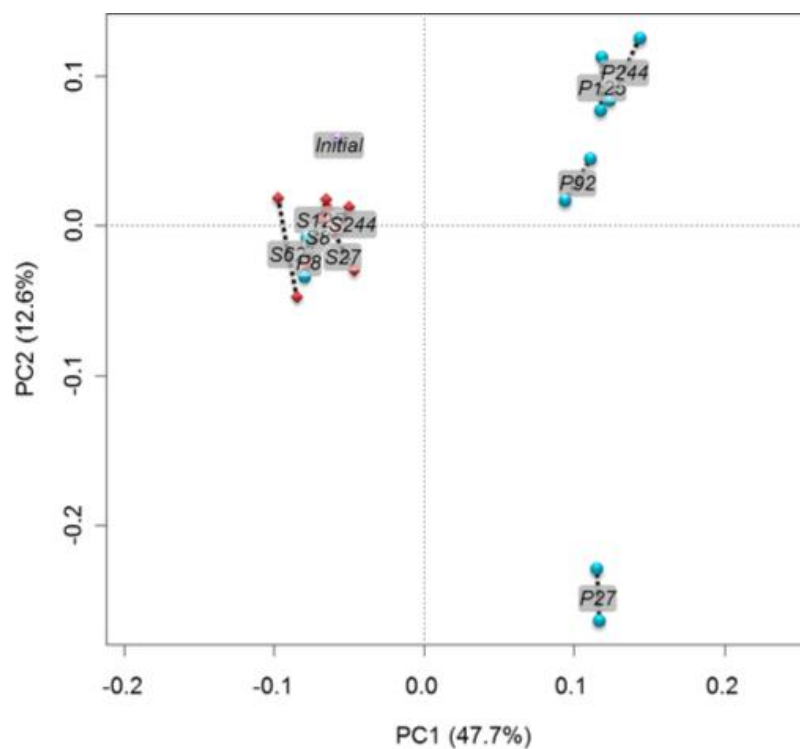


Figure 8 : Représentation sous forme d'analyse en composantes principales de la dynamique de compartimentation bactérienne (16S) des profils CE-SSCP. (S) Compartiment soluble. (P) Compartiment particulaire. Source J. C. Motte

Que retenir de ces travaux ?

La composition des substrats impacte fortement les cinétiques de dégradation et le potentiel méthane : notamment la composition en matières organiques/minérale et les teneurs en lignine (pour les biomasses LC). Certaines molécules spécifiques peuvent être inhibitrices pour les micro-organismes que ce soit en faible concentration (composés toxiques) ou à la suite d'une exposition cumulée importante (ex : inhibition par les sels).

La lignocellulose, ici la paille de blé, est composé de divers organes, de compositions différentes ce qui engendre alors des variations de cinétiques de dégradation et de potentiel méthane.

Certains composés difficilement dégradables limitent l'accès aux composés plus facilement dégradables.

La colonisation des micro-organismes sur le substrat semble être corrélée à sa dégradation, cette colonisation s'effectue en fonction de la composition du substrat. Au cours de la dégradation les communautés présentes sur le substrat semble se spécifier et se différencier de celles présentes dans le liquide.

Les travaux présentés dans ce paragraphe ont permis de mettre en place de nouvelles collaborations scientifiques avec des laboratoires de recherche, des industriels. Ils ont été menés par 2 post-doctorats (G. Jard, D. Jackowiak), 1 doctorant (J.C. Motte), 1 stagiaire (N. Beaufils) et ont été publiés dans 4 articles scientifiques. À la suite de leurs travaux de post-doctorat, G. Jard a été recrutée en tant qu'enseignant-chercheur à l'Ecole d'Ingénieurs de Purpan (EIP) (Toulouse). J.C. Motte, quant à lui, est devenu responsable du pôle procédé secs sur la plateforme de valorisation de protéines végétales IMPROVE (Amiens) de 2015 à 2023 et est désormais responsable portefeuille projet R&D dans la société InVivo. N. Beaufils a poursuivi ses études en Master recherche puis en thèse avant de devenir enseignant-chercheur à l'EIP de Toulouse.

Après avoir analysé l'impact de la composition du substrat sur les cinétiques de dégradation et sur le potentiel méthane, et comme le montrent les résultats présentés sur les limitations des micro-organismes à accéder au substrat au sein de fractions spécifiques de la biomasse lignocellulosique, il paraît important de s'attacher plus en détails à l'impact de cette structure sur la dégradation.

Pour cela les prétraitements physiques (mécaniques, thermiques) ont été appliqués et ont permis de modifier la structure la biomasse. Ici il est donc supposé que ce traitement n'engendre pas de modification de la composition (sauf si réaction d'oxydation). Nous avons travaillé sur plusieurs types de substrats (macro-algues, diverses biomasse lignocellulosique), toutefois, pour clarifier les résultats et conclusions obtenues je présenterai en détails uniquement les résultats obtenus sur la paille de blé, les autres résultats se trouvent pour la plupart dans les articles publiés.

III.3.3. Effet de la structure du substrat (bioaccessibilité) sur les performances : les prétraitements comme technique de compréhension de ce rôle et amélioration du potentiel méthane

Projets: Plusieurs projets ont contribué à cette section: Thèse J. C. Motte, projet 3BCAR PEACE1 & 2, GDR BIOMATPRO (Stage de Sebastiao Braz de la Faria) en collaboration avec l'Institut Charles Gerhardt (ICG) de Montpellier.

Ma contribution: J'ai encadré la thèse de J. C. Motte, le stage de S. Braz, et M. L. Hillion

Collaborations: IATE, BioWooEB, ICGM

Dans le cadre de nos études sur la dégradation de la paille de blé, substrat modèle de biomasse lignocellulosique, nous sommes attachés à étudier l'impact du broyage (type de broyage, taille de particules) sur les performances de la digestion anaérobie à l'état solide qui sont des réactions biologiques limitées par le transfert de matière. Les expériences réalisées en digestion anaérobie à l'état liquide avaient surtout pour but de caractériser l'impact de la structure dans des conditions non limitantes. Les études expérimentales ont été menées en utilisant des réacteurs à l'échelle laboratoire et de la paille de blé comme substrat.

Deux procédés de broyage ont été comparés (le broyage à couteaux et le broyage centrifuge) ainsi que différentes tailles de broyage. La paille de blé a d'abord été broyée à l'aide d'un broyeur à couteaux (Retsch SM2000, Haan, Allemagne) équipé d'un tamis de 2,0 mm suivi de 4 étapes successives de broyage centrifuge (Retsch ZM200, Haan, Allemagne) à l'aide de tamis de 1, 0,5, 0,25 et 0,12 mm. Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec le laboratoire Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes (IATE) de Montpellier et dans le cadre de la thèse de Gabriella Ghizzi encadré par Xavier Rouau (Dumas et al., 2015).

Les caractéristiques biochimiques, physiques et de biodégradation des fractions obtenues ont été étudiées par différentes méthodes :

- analyse granulométrique et de surface spécifique (en supposant les particules sphériques),
- spectroscopie moyen infrarouge et diffraction à rayons X (DRX), afin de caractériser les rapports entre les différents polymères de la biomasse (lignine/cellulose, lignine/xylans, lignine / (cellulose + hémicellulose)),
- comportement de l'échantillon vis à vis de l'eau : solubilité dans l'eau et capacité de rétention d'eau
- analyse de la biodégradabilité anaérobie par mesure du potentiel méthane avec un inoculum non adapté au substrat et en réacteurs batch avec un inoculum adapté au substrat complexe.
-

Cinq fractions contrastées de diamètre moyen 759, 421, 206, 88, 48 μm ont été obtenues.

Nous avons montré que le broyage permet de réduire la cristallinité de la cellulose (mesures DRX) jusqu'à un diamètre moyen de 200 μm puis en deçà de cette valeur celle-ci n'est plus impactée. Un effet positif a également été suggéré concernant l'interaction des particules avec l'eau. En effet, la réduction de la taille des particules augmente la solubilité et diminue la capacité de rétention d'eau et la proportion d'eau liée dans les particules. Le broyage, même ultrafin n'a aucun impact sur la quantité totale de méthane. Toutefois, le changement des caractéristiques de la paille permet d'augmenter les cinétiques de production de méthane dans les essais BMP et sur les réacteurs batch. Ces travaux ont démontré la présence d'un diamètre médian seuil (autour de 200 μm) en-dessous duquel la réduction de taille des particules n'a plus d'impact voire présente plusieurs inconvénients. Même si l'augmentation de la solubilisation de petites molécules dans des milieux saturés en eau permet d'accroître l'accessibilité de ces éléments aux micro-organismes, la libération des molécules solubles pourrait être trop rapide par rapport à leur assimilation par les archées méthanogènes et donc générer une accumulation d'AGV.

En particulier, ces phénomènes pourraient devenir problématiques dans des systèmes où l'eau est limitante comme la fermentation ou la digestion anaérobie solide. Il est donc nécessaire de trouver un compromis entre l'augmentation de la solubilité et la prévention de l'accumulation d'AGV due à la réduction de la taille des particules. Comprendre comment la réduction de la taille des particules affecte la dynamique de la digestion anaérobie en voie solide (solid state anaerobic digestion : SS-AD) devient alors primordial.

Par ailleurs, il est important d'étudier également à partir de quel taux de matières sèches ou solides totaux (TS) les risques d'accumulation d'acides organiques, préjudiciables à la méthanogenèse,

surviennent. Sachant tout de même, que cette valeur va fortement être dépendante du type de substrats et de sa structure et également du taux d'inoculation. Aussi, une étude a été menée afin de combiner l'impact de la taille des particules (110µm à 1,45mm), de la quantité de matières sèches (15 à 25%TS), et du taux d'inoculation (28 à 47 gMVinoc/gMVsubs), ceci sous forme de plan d'expérience (J.-C. Motte et al., 2014).

La SS-AD de trois fractions de paille de diamètre moyen 1,45 mm (broyage grossier) , 700 µm (broyage moyen) et 110 µm (broyage fin) a été évaluée en termes de performances du procédé (production de méthane et conversion du substrat), d'activité de fermentation (accumulation de métabolites) et d'adaptation microbienne (suivi SSCP des bactéries et archées), grâce à une méthode d'échantillonnage originale qui évite l'ouverture du bioréacteur, et donc toutes perturbations de la réaction biologique (une demande de brevet avait été effectué sur ce point qui n'a pu aboutir). L'hydrolyse et la fermentation du substrat (production d'acides organiques), la conversion des acides en méthane ou leur activité d'inhibition (le cas échéant), a ainsi pu être suivie jusqu'à la fin de la réaction.

Les effets de réduction de la taille des particules ont été principalement observés pour un broyage fin du substrat avec une augmentation de la fraction soluble (27,4 % contre 10,4 % pour le broyage grossier) et une accélération de la conversion du substrat (environ 30 % plus rapide. Toutefois, ici aussi il apparaît que le risque d'acidification est également accru (J. -C. Motte et al., 2014), malgré l'utilisation d'un rapport Substrat/Inoculum (S/X) recommandé de 3 en base de matières volatiles (MV) (Cui et al., 2011). L'acidification est causée par l'accumulation d'AGV (Motte et al., 2013a), qui est la conséquence de la transformation des composés facilement assimilables contenus dans la phase hydrosoluble (Motte et al., 2013a; Shi et al., 2013).

La gestion du flux de métabolites initial, de l'alcalinité pour maintenir un pH stable dans le milieu est un élément clé lors du démarrage de la réaction biologique. Puisque l'acidification est causée par la transformation des produits facilement fermentescibles en AGV, la consommation de ces acides organiques par l'acétogenèse et la méthanogenèse doit être suffisante. Pour cela, le taux d'inoculation doit être ajusté pour permettre un apport suffisant de biomasse microbienne apte à contrer la production de métabolites. Nous avons montré que ce taux n'impacte pas directement le potentiel de production de méthane du substrat mais est critique pour assurer le démarrage des digesteurs. Une fois le démarrage de la méthanogenèse assurée, le système devient dépendant de la teneur et de l'état de l'eau. La baisse de performances associée à l'augmentation des matières sèches est progressive et dépendante du substrat. Ainsi, la phase liquide est au cœur de la conduite des digesteurs, et elle est à la fois dépendante de la quantité d'eau dans le milieu mais aussi des propriétés du substrat et de sa capacité à être humidifié (rétention d'eau).

La caractérisation matière en amont du procédé de méthanisation m'a permis de comprendre quels étaient les critères biochimiques limitants le procédé global. Ainsi, des verrous à la dégradation, liés à la quantité de fraction soluble du substrat, la part de lignine du substrat, la cristallinité de la cellulose ou encore la présence de cires sur les biomasses lignocellulosiques ont pu être identifiés. Le broyage a montré sa capacité à accroître la cinétique de la dégradation du potentiel méthane. Si un broyage fin a prouvé son efficacité pour augmenter la cinétique de réaction, une gestion spécifique des composés hydrosolubles est nécessaire pour éviter l'acidification du milieu. Outre la gestion initiale des flux grâce à un taux d'inoculation plus élevé, Il est alors nécessaire de repenser les procédés pour proposer des stratégies de circulation ou d'extraction des molécules solubles. Les procédés en deux étapes peuvent être une solution intéressante, permettant de séparer hydrolyse et fermentation de la méthanogenèse.

Une autre solution réside dans le développement des lits percolant (lit de déchets au travers duquel un liquide circule du haut en bas, par gravité). Nous verrons par la suite que nous avons étudié ce type de procédés dans le cadre de la fermentation par voie solide. (paragraphe III.4)

D'autres prétraitements de substrats ont été étudiés et ne seront pas présentés en détail au sein de ce manuscrit d'HDR. Ils font l'objet de publications scientifiques : 2 reviews, 2 publications ; ou de travaux de stage (M ; Bittel, M.-L. Hillion). Nous avons notamment comparé différents types de prétraitements : chimiques, physiques, thermochimiques, mais également enzymatique.

L'ensemble de ces travaux ont donné lieu à plusieurs publications

Jard, G., C. Dumas, J. P. Delgenes, H. Marfaing, B. Sialve, J. P. Steyer, et H. Carrère. « Effect of thermochemical pretreatment on the solubilization and anaerobic biodegradability of the red macroalga *Palmaria palmata* ». *Biochemical Engineering Journal* 79 (15 octobre 2013): 253-58. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.08.011>.

Motte, J. -C., R. Escudié, J. Hamelin, J. -P. Steyer, N. Bernet, J. -P. Delgenes, et C. Dumas. « Substrate milling pretreatment as a key parameter for Solid-State Anaerobic Digestion optimization ». *Bioresource Technology* 173 (décembre 2014): 185-92. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.015>.

Motte, Jean-Charles, Cecilia Sambusiti, Claire Dumas, et Abdellatif Barakat. « Combination of dry dark fermentation and mechanical pretreatment for lignocellulosic deconstruction: An innovative strategy for biofuels and volatile fatty acids recovery ». *Applied Energy* 147 (1 juin 2015): 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.02.042>.

Dumas, Claire, Gabriella Silva Ghizzi Damanesco, Abdellatif Barakat, Hélène Carrère, Jean-Philippe Steyer, et Xavier Rouau. « Effects of grinding processes on anaerobic digestion of wheat straw » In press (2015). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.043>.

Carrère, H., C. Dumas, A. Battimelli, D.J. J Batstone, Jean Philippe Delgenès, J.P. P Steyer, I. Ferrer, et H. Carrere. « Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. » *Journal of hazardous materials* 183, n° 1-3 (novembre 2010): 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.06.129>.

Monlau, F., A. Barakat, E. Trably, C. Dumas, J.P. Steyer, et H. Carrère. « Lignocellulosic Materials Into Biohydrogen and Biomethane: Impact of Structural Features and Pretreatment ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 43, no 3 (janvier 2013): 260-322. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.604258>.

Quéméneur M., Bittel M., Trably E., Dumas C., Fourage L., Ravot G., Steyer J.-P., Carrère H. (2012-07). Effect of enzyme addition on fermentative hydrogen production from wheat straw. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37 (14), 10639 - 10647, <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.04.083>, <https://hal.inrae.fr/hal-01809613>

Constant S., Barakat A., Robitzer M., Di Renzo F., Dumas C., Quignard F. (2016-09). Composition, texture and methane potential of cellulosic residues from Lewis acids organosolv pulping of wheat straw. *Bioresource Technology*, 216, 737-743, <https://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.019>, <https://hal.inrae.fr/hal-01330682>, OA

Constant S., Basset C., Dumas C., Renzo F. D., Robitzer M., Barakat A., Quignard F. (2015). Reactive Organosolv Lignin Extraction from Wheat Straw: Influence of Lewis Acid Catalysts on Structural and Chemical Properties of Lignins. *Industrial Crops and Products*, 65, 180-189, <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.009>, <https://hal.inrae.fr/hal-01093037>, OA

Que retenir de ces travaux ?

Les prétraitements notamment par broyage permettent de modifier la structure de la paille de blé en rendant accessibles des certaines molécules au micro-organismes.

Ces prétraitements impactent positivement les cinétiques de dégradation en augmentant notamment la fraction soluble du substrat.

Un broyage trop fin du substrat est à éviter dans le cas de la digestion anaérobie par voie solide : les composés solubilisés sont rapidement transformés par les acidogènes ce qui entraîne une accumulation locale d'acides organiques préjudiciable à la méthanogenèse.

Les travaux présentés dans ce paragraphe ont été menés en collaboration avec plusieurs laboratoires de recherches (IATE, CIRAD, ICG) mais également des industriels. La réalisation a été effectuée par des post-doctorants (G.Jard), des doctorants présents chez les collaborateurs (G. Ghizzi Damanesco, S. Constant) ou que j'ai pu encadrer (J.C. Motte), 1 stagiaire (M. Bittel) et moi-même. Ils ont donné lieu à 9 articles scientifiques dont 2 reviews.

III.3.4. Impact de la teneur en solides (transfert eau vers solide) sur les voies microbiologiques

Projets: Plusieurs projets ont contribué à cette section: Thèse de J.C. MOTTE, ANR ANAMIX
Ma contribution: J'ai co-encadré les thèse de J.C. Motte, et co-encadré la thèse d'A. Abbassi-Guendouz

Collaborations: DEEP INSA de LYON,

Le teneur en solides ou teneur en matières sèches (TS) est un critère global qui ne caractérise pas forcément de façon précise comment l'eau est répartie et le rôle de cette dernière sur le procédé. Notamment les études que je présente ici visaient à déterminer l'impact de cette teneur en solide sur la cinétique de dégradation et le potentiel méthane global. Le transfert de matière et notamment celui de l'eau est impacté par cette teneur en solide. Nous le verrons, ceci engendre des limitations des réactions de dégradation du substrat, des modifications des voies métaboliques et donc des quantités et des types de produits obtenus (hydrogène, méthane, voire acide organiques).

Les premiers travaux que nous avons pu mener ont eu lieu dans le cadre du programme ANR ANAMIX coordonné par P.Buffière de l'INSA de Lyon et ayant pour coordinateur local au LBE Renaud Escudié. Dans ce cadre Abbassi-Guendouz, a été recruté en doctorat avec pour directeur de thèse R.Escudié . J'ai pu participer à l'encadrement de cette thèse et au projet ANR ANAMIX. Ses travaux ont examiné l'impact de la teneur en solides totaux sur la digestion anaérobie à haute teneur en solides d'ordures ménagères.

Le rôle de la teneur en solides totaux (TS) sur la digestion anaérobie a été étudié dans des réacteurs discontinus sur une gamme allant de 10 % à 35 % TS. Étant donné l'hétérogénéité du milieu, quatre répétitions biologiques ont été réalisées. Le suivi de la production totale de méthane a montré une

diminution avec des concentrations de TS passant de 10 % à 25 % de TS. A 30%TS, deux comportements ont été observés : deux replicats ont montrés des performances similaires à celles à 25 % TS alors que pour les deux autres répétitions, la production de méthane a été inhibée comme observé à 35 % TS. Cette différence suggérait qu'une teneur en TS de 30 % correspondait à un seuil au-dessus duquel la méthanogenèse était fortement inhibée. Le modèle de digestion anaérobie n° 1 (ADM1) a été utilisé pour décrire les données expérimentales. Les simulations ont montré que la limitation du transfert de masse liquide/gaz pouvait expliquer la faible production de méthane à haute TS, et que les constantes de vitesse d'hydrolyse diminuaient légèrement avec l'augmentation de TS.

Ce résultat a montré la nécessité d'aborder les limitations de transfert de masse pour améliorer l'efficacité globale des processus de digestion anaérobie par voie sèche.

Par la suite, et dans le cadre de la thèse de J. C. Motte, nous avons étudié l'importance de la teneur totale en solides en tant que paramètre clé dans les voies métaboliques au cours de la digestion anaérobie sèche. Pour cela nous nous sommes attachés aux premières étapes de la digestion anaérobie à savoir l'hydrolyse l'acidogenèse et l'acétogenèse avec analyse de la production d'hydrogène.

L'étude met en évidence que la variation de la teneur en TS a une influence considérable sur la distribution des voies métaboliques, et donc sur les produits obtenus que ce soit en terme de production de méthane et d'acides gras volatils.

A des taux de matières sèches inférieur à 20% de TS, les principaux produits sont de l'acétate, du butyrate et de l'hydrogène. En revanche, au-dessus de 20%TS, les spectres de produits évoluent et un des produits majoritaires devient le lactate suivi de l'acétate, le butyrate et l'hydrogène. Ceci s'explique probablement par la résistance de certains micro-organismes aux conditions environnementales appliquées, à savoir diminution de la teneur en eau ce qui engendre des augmentations de concentrations locales en produits organiques tels que les acides organiques. Alors que les conditions de faibles teneurs en TS favorisent les espèces appartenant à la classe des *Clostridia*, connues comme étant productrices d'hydrogène, pour des conditions de teneurs en solides supérieures à 20% TS ce sont préférentiellement des bactéries lactiques thermophiles plus résistantes et adaptées aux milieux acides qui sont sélectionnées.

Ainsi, que ce soit dans le cadre de la méthanisation des ordures ménagères ou de la biomasse lignocellulosique, nos résultats ont montrés que des teneurs en matières sèches supérieures à 20%TS modifiaient les produits obtenus du fait de la sélection de micro-organismes spécifiques résistants aux conditions de faibles teneurs en eau.

L'ensemble de ces travaux ont donné lieu à plusieurs publications

Abbassi-Guendouz, Amel, Doris Brockmann, Eric Trably, Claire Dumas, Jean-Philippe Delgenès, Jean-Philippe Steyer, et Renaud Escudié. « Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation. » *Bioresource technology* 111 (mai 2012): 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.174>.

Motte, Jean-Charles, Eric Trably, Renaud Escudié, Jérôme Hamelin, Jean-Philippe Steyer, Nicolas Bernet, Jean-Philippe Delgenes, et Claire Dumas. « Total Solids Content: A Key Parameter of Metabolic Pathways in Dry Anaerobic Digestion ». *Biotechnology for Biofuels* 6, n° 1 (22 novembre 2013): 164. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-164>.

Motte, Jean-Charles, Eric Trably, Jérôme Hamelin, Renaud Escudié, Anaïs Bonnafous, Jean-Philippe Steyer, Nicolas Bernet, Jean-Philippe Delgenès, et Claire Dumas. « Total solid content drives

hydrogen production through microbial selection during thermophilic fermentation ». Bioresource Technology 166 (août 2014): 610-15. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.078>.

Que retenir de ces travaux ?

Des teneurs en solides inférieures à 20%TS sont favorables à la production de méthane. Au-dessus de ce seuil de teneurs en matières sèches, les produits obtenus évoluent au détriment de la production de méthane et en faveur de la production d'acides organiques. De plus, au-dessus de 30% de TS, le taux de conversion est fortement impacté.

Les travaux présentés dans ce paragraphe ont été menés en collaboration avec plusieurs laboratoires de recherches (DEEP, LBE) mais également des industriels. La réalisation a été effectuée par des doctorants présents que j'ai pu encadrer (J.C.Motte) ou co-encadré (A. Abassi-Guendouz). Ils ont donné lieu à 3 articles scientifiques.

III.3.5. Impact du type et de la quantité de micro-organismes sur le procédé et ses performances :

Projets: Plusieurs projets ont contribué à cette section: Thèse de J.C. MOTTE, ANR WinSeaFuel, 3BCAR INSYME

Ma contribution: J'ai co-encadré les thèses de J.C. Motte, les post-doctorats de G. Jard, D. Jackowiack, A. Galès, le stage de L. Chatellard, L. Semali,

Collaborations: CEVA, ALEOR, BIOCAR, TBI,

Jusqu'ici je vous ai surtout présenté des résultats de travaux dont l'objectif était d'étudier l'influence du substrat mais également de paramètres environnementaux/opératoires sur les cinétiques et les rendements de la méthanisation. Nous avons vu que des paramètres tels que les teneurs en matières sèches avaient un impact sur les performances et surtout sur le type de micro-organismes que nous sélectionnons et les voies métaboliques mises en jeu au sein du consortium.

Aussi, une question légitime était de comprendre si le type et la quantité initialement apportée de micro-organismes (inoculum) exerçait une influence sur le procédé et si tel était le cas de pouvoir la caractériser.

a) Effet du taux d'inoculation (en réacteur opéré en mode batch)

L'effet de la quantité d'inoculum ajouté (par rapport à la quantité de substrat présente) a été étudié dans le cadre de la thèse de J-C Motte, dans des conditions de digestion anaérobie en voie solide, sur un substrat lignocellulosique modèle.

Pour cela un plan d'expérience en analysant les effets de la teneur en solides, du ratio inoculum/substrat et de la taille des broyats de paille de blé mais également l'interaction entre ces paramètres.

Les résultats suggèrent que la réaction peut être séparée en trois phases : la phase d'adaptation (du jour 0 au jour 40), la phase de croissance (du jour 40 au jour 140) et la phase de stabilisation (du jour 140 au jour 273), ce qui avait également été observé par (Abbassi-Guendouz et al., 2012).

Le rapport S/X est le facteur qui a le rôle prépondérant au démarrage des réactions en SS-AD. En effet, un S/X relativement faible permet au système de faire face à la production initiale de produits issus de la fermentation. Cette quantité est d'autant plus importante que la phase soluble des particules est grande, ce qui est le cas des particules fines. Après la phase de démarrage ou adaptation, la teneur en TS devient le facteur prédominant associé à la taille des particules. Ceci suppose que l'ajustement de la teneur en TS et de la granulométrie pourrait optimiser les performances de la digestion anaérobie (DA) par voie sèche notamment par une action sur la compartimentation de l'eau car la teneur en TS et la réduction de taille des particules modifient la quantité d'eau liée au substrat (paragraphe III.3.3).

L'ensemble de ces travaux ont donné lieu à une publication

Motte, J. -C., R. Escudié, N. Bernet, J. -P. Delgenes, J. -P. Steyer, et C. Dumas. « Dynamic effect of total solid content, low substrate/inoculum ratio and particle size on solid-state anaerobic digestion ». *Bioresource Technology* 144 (septembre 2013): 141-48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.057>.

b) Adaptation d'inoculum afin de maximiser la cinétique de dégradation (en réacteur opéré en mode semi-continu)

En plus du rôle prépondérant de la quantité d'inoculum sur la digestion anaérobie, notamment lors de la phase de démarrage, nous avons montré qu'un inoculum adapté au type de substrat et aux conditions environnementales de la dégradation permettait de limiter les inhibitions potentielles et de favoriser la dégradation. Nous avons pu valider cela à la fois sur des procédés de DA en voie solide et liquide.

Dans le cas de la digestion anaérobie des macro-algues marines, le risque réside dans la concentration en sel du substrat qui pouvait à terme, dans le cas d'une alimentation continue, être inhibiteurs pour les micro-organismes.

L'article de Jard et al. (Jard et al., 2012) montre une inhibition de la méthanogenèse par le potassium et le sodium en réacteur semi-continu. Des expériences en réacteurs discontinus ont pu confirmer que le taux initial de production de méthane était réduit de 53% lorsque les concentrations de potassium et de sodium étaient équivalentes à celles observées lors d'une défaillance de la digestion anaérobie en réacteur semi-continu : 13,0 g.L⁻¹ pour le potassium et 4,1 g.L⁻¹ pour le sodium. Les meilleures performances obtenues lors de la DA de *P.palmata* (vs. *S.latissima*) peuvent être expliquées par une accumulation plus faible de cations. Des algues riches en potassium par rapport au sodium seront donc à privilégier. Lors de cette étude, nous avons également montré qu'après une phase d'acclimatation au substrat, la charge organique a pu être augmentée jusqu'à une limite spécifique à chaque substrat. Lors de chaque augmentation de charge organique, on constate, les premiers jours, une baisse du rendement de méthane mais que le rendement revient à sa valeur initiale voire supérieure après plusieurs jours d'alimentation. L'adaptation graduelle des micro-organismes au substrat permet de pouvoir atteindre des charges organiques plus élevée.

Dans le cas de fumier équin le risque d'inhibition réside dans la concentration en azote ammoniacal qui est relativement élevée au sein des fumiers. De la même façon que précédemment cité dans le cas des macro-algues marines, nous avons pu constater qu'une alimentation graduelle en substrat a permis d'adapter les micro-organismes et ainsi atteindre des charges organiques plus élevée. Ceci soulève bien l'importance de définir des stratégies d'alimentation adéquate selon les substrats

considérés et notamment d'opérer par palier croissant de charge organique lors du lancement du réacteur.

Ces travaux ont donné lieu à une publication déjà mentionnée
Jard, G., D. Jackowiak, H. Carrère, J. P. Delgenes, M. Torrijos, J. P. Steyer, et C. Dumas. « Batch and semi-continuous anaerobic digestion of *Palmaria palmata*: Comparison with *Saccharina latissima* and inhibition studies ». *Chemical Engineering Journal* 209 (15 octobre 2012): 513-19. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.08.010>.

c) Effet du type d'inoculum : cas d'inoculum issus de l'intestin d'insectes

Les caractéristiques de l'inoculum, son potentiel enzymatique notamment peut être avantageux pour la dégradation des résidus solides. Une stratégie est de s'inspirer de la nature pour aller chercher les enzymes et micro-organismes les plus adaptés au substrat à dégrader.

Des consortia microbiens produisant des cocktails enzymatiques spécifiques sont présents dans l'intestin des insectes phytophages et xylophages. Ils sont connus pour être les écosystèmes les plus efficaces pour dégrader la lignocellulose. La capacité de ces consortia à dégrader la biomasse (paille de blé) *ex vivo* dans des bioréacteurs anaérobies a été caractérisée en termes de performances des bioprocédés, d'activités enzymatiques et de structure de la communauté bactérienne. Un screening des potentialités des flores microbiennes issues de 5 insectes différents a été effectuée en réacteurs batch avec ajustement du pH initial à 7. Toutefois, la fermentation de la paille de blé a rapidement été bloquée par la chute du pH à 4,5. Ainsi, les consortia les plus performants ont été testés en réacteurs successifs à pH contrôlé à 8 (valeur proche de celles des intestins). La paille de blé a pu, dans ces conditions et sous 15 jours, être dégradée à 8,4, 10,5 et 21,0 % (% de la DCO initiale) pour les consortia issus des intestins de hanneton, de blattes et de criquets, respectivement.

Ces travaux ont donné lieu à la publication suivante
Gales, Amandine, Lucile Chatellard, Maider Abadie, Anaïs Bonnafous, Lucas Auer, Hélène Carrère, Jean-Jacques Godon, Guillermina Hernandez Raquet, et Claire Dumas. « Screening of Phytophagous and Xylophagous Insects Guts Microbiota Abilities to Degrade Lignocellulose in Bioreactor ». *Frontiers in Microbiology* 9 (2018): 14 p. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02222>.

Que retenir de ces travaux ?

Le taux d'inoculation des micro-organismes a logiquement un impact fort sur les réactions biologiques au démarrage. Ceci est particulièrement prononcé dans le cas de la digestion anaérobie des résidus solides en voie sèche.

Adapter un inoculum aux conditions de dégradation biologique de façon graduelle permet de repousser le seuil d'inhibition des micro-organismes.

Enfin, l'utilisation d'inoculum adapté au type de substrat (par exemple des micro-organismes issues de l'environnement où les substrats sont rencontrés : intestins, sédiments,...) permet de favoriser les cinétiques de dégradation et notamment hydrolytiques.

Les travaux présentés dans ce paragraphe ont été menés en collaboration avec plusieurs laboratoires de recherches (TBI, LBE) mais également le CEVA (Centre d'études de valorisation des algues) ou des industriels. La réalisation a été effectuée par un doctorant (J.C. Motte), et des post-doctorats que j'ai pu encadrer (G. Jard, D. Jackowiack, A. Galès). Ils ont donné lieu à 3 articles scientifiques.

PARTIE 2

Ma mobilité géographique s'est accompagnée d'une mobilité thématique. En effet, mes travaux se sont orientés vers la production d'acides organiques plutôt que la production de méthane tout en conservant les substrats solides en substrats d'intérêt.

Une des pistes de travaux étaient de mettre en place des systèmes de production d'acides organiques sous fortes concentrations en solides. Dans ces systèmes, les limitations habituellement rencontrées en fermentation des solides par des consortia microbiens (hydrolyse) sont accompagnées de limitations dues aux faibles teneurs en eau et particulièrement aux difficultés de transfert gaz/liquide ou liquide/solide, ou encore de mélange. Ainsi, il n'est pas rare de constater une accumulation des produits de fermentation et donc de fortes concentrations locales pouvant entraîner des inhibitions des micro-organismes (bactéries ou enzymes). Je proposais donc d'explorer des voies d'optimisation pour ce type de procédé en proposant des systèmes de mélange performants (percolation, recirculation...). Afin également d'éviter que les produits ne s'accumulent, je proposais de collaborer sur la mise en place de procédés d'extraction des acides organiques afin d'optimiser la fermentation.

Lors de mon intégration au sein de l'équipe SYMBIOSE DU LISBP (désormais TBI), en 2014, je me suis orientée vers l'étude de la fermentation de déchets solides non plus pour la production de méthane mais pour la production d'acides organiques et d'alcools.

En effet, comme le montre le Tableau 1 le prix du méthane est relativement faible comparé au prix des acides organiques.

Molécule	Prix du marché (€/kg)*	Prix du marché (€/k _{DCCO})*
PHA	2,2-5,00	1,38-3,14
1,3 – propanediol	1,76-3,00	1,05-1,79
Acide butyrique	1,67-2,09	0,92-1,15
Acide caproïque	1,88-2,09	0,85-0,95
Acide propionique	1,25-1,38	0,83-0,91
Acide lactique	0,84-1,51	0,79-1,41
Acide acétique	0,33-0,67	0,31-0,63
H ₂	1,50-5,00	0,19-0,63
Ethanol	0,30-1,50	0,14-0,72
CH₄	0,69-1,93**	0,17-0,48**

*excluant le transport

** Tarif d'achat pour l'injection de méthane dans le réseau de gaz naturel en France

Tableau 1 : prix sur le marché de divers produits chimiques pouvant être obtenus à partir de cultures mixtes de micro-organismes dégradant des résidus solides ou du CO₂ issu de (Moscoviz et al., 2018)

Lors de cette nouvelle orientation professionnelle mes recherches se sont tournées vers la sélection et l'orientation des populations microbiennes aux fonctions spécifiques : acidogènes pour la plupart des projets présentés (excepté dans le cas de la méthanation biologique). C'est ce qui est appelé **l'ingénierie des consortia microbiens** ou « **microbial consortia engineering** ». Ce concept est au cœur de toutes les recherches que je décline dans la suite de ce manuscrit. Par ailleurs, les recherches que j'ai menées sont caractérisées par la mise en œuvre de procédés limités par le transfert de matière (eau /gaz).

Aussi les questions de recherches de mes études furent :

- Comment orienter la sélection des populations microbiennes capables de produire des acides organiques, du méthane au sein de milieux limités par le transfert d'eau /de gaz ?
 - Est-il possible d'orienter les voies métaboliques de production d'acides organiques au sein de milieux limités par le transfert d'eau /de gaz ? Comment ?
 - Est-ce que la modélisation peut nous aider à comprendre et optimiser ces réactions ?
-

III.4. Fermentation de résidus solides

Projets: Plusieurs projets ont contribué à cette section : projet 3BCAR RECOWER, Thèse de L. Digan
Ma contribution : j'ai co-encadré la thèse de L. Digan, coordonné le projet national 3BCAR RECOWER, encadré les stages de C. Petrognani et A. Vignes.

Collaborations: LBE, LGC, IMFT, CRITT GPTE

Ce travail étant réalisé sur des déchets solides, et bien que je ne mette pas l'accent dans la suite de ces paragraphes sur la caractérisation des déchets, j'ai pu lors de ces études utiliser mon savoir-faire acquis au cours des précédentes années sur la caractérisation biochimique des solides ainsi que leur comportement vis-à-vis de l'eau. Par exemple, en plus de la caractérisation biochimique, nous avons caractérisé la partie facilement solubilisable lors de tests de lixiviation, analyser nos échantillons à la tomographie X pour en voir la structuration physique,

III.4.1. Contexte et enjeu de la fermentation des déchets solides

La bioéconomie se définit comme le développement d'une économie circulaire dont l'objectif est de produire des biens et services de manière durable, en limitant la production de déchets et la consommation de ressources fossiles et en favorisant leur substitution par des ressources renouvelables. En particulier dans le contexte de la bioéconomie liée aux résidus solides, la communauté scientifique s'accorde à dire qu'il est nécessaire de changer de paradigme en passant du traitement des déchets solides à la valorisation du carbone endogène en biomolécules et/ou en énergie. Schieb et al. (Schieb et al., 2015) suggèrent la nécessité d'augmenter le nombre de bioraffineries à 300-400, tant aux États-Unis qu'en Europe, pour que la bioéconomie industrielle réussisse. Dans ce contexte, le nombre de bioraffineries dans l'UE doit passer à 185 pour l'éthanol de deuxième génération, 50 pour les carburants biosourcés, 30 pour les éléments constitutifs chimiques biosourcés et 45 pour les plastiques biosourcés ("A Roadmap to a Thriving Industrial Biotechnology Sector in Europe," n.d.). Le développement de la bioéconomie locale circulaire dépend de la disponibilité de matières premières durables, y compris les résidus et les biodéchets urbains. Les résidus organiques tels que les biodéchets peuvent être bon marché et largement disponibles dans l'UE à l'heure actuelle. C'est pourquoi notre travail s'est porté sur les biodéchets solides, par exemple les déchets biodégradables des jardins et des parcs, les déchets alimentaires et de cuisine des ménages, des restaurants, des traiteurs et des commerces de détail, les déchets des usines de transformation des aliments. Même si les coûts totaux de la gestion des décharges dépassent 1 milliard d'euros par an, 40 % des biodéchets de l'UE finissent encore dans les décharges ("URBIOFIN Project," n.d.). Cependant, la législation de l'UE a demandé aux États membres de veiller à ce qu'à partir de 2030, tous les déchets susceptibles d'être recyclés ou valorisés, en particulier les déchets municipaux, ne soient plus acceptés dans une décharge ("Gestion des déchets et recyclage," n.d.). En outre, depuis le 31 décembre 2023, les biodéchets doivent être soit collectés séparément, soit recyclés à la source : les objectifs de recyclage des déchets d'emballages en bois et

en papier doivent atteindre respectivement 30 % et 85 %. Généralement, les biodéchets sont brûlés pour produire de l'énergie, transformés en compost ou utilisés en digestion anaérobie pour produire du biogaz. Les résidus organiques tels que les biodéchets sont également des ressources intéressantes pour la production de produits chimiques et de carburants car ils sont renouvelables et leur utilisation n'entre pas en concurrence avec l'utilisation des terres pour la production d'aliments (Coma et al., 2017).

Même si les molécules pétrosourcées restent économiquement compétitives, la production de produits biosourcés spécifiques peut offrir une valeur ajoutée et permettrait de réduire notre dépendance aux produits pétrosourcés. Les acides gras volatils ou à chaîne courte (AGVs, entre 2 et 6 carbones) obtenus à partir de la fermentation des biodéchets peuvent être transformés par la chimie verte en une grande variété de molécules. Les AGVs peuvent être considérés comme durables, neutres en carbone et renouvelables. Les AGVs ont diverses applications, telles que l'élimination biologique de l'azote, la production de biodiesel ou la synthèse de polymères complexes (Zhou et al., 2018). Ils présentent des perspectives économiques prometteuses, car ils présentent des avantages économiques beaucoup plus importants que la production d'énergie et ont des perspectives de marché croissantes (Bastidas-Oyanedel et al., 2015). A condition évidemment de développer de nouveaux procédés durables, à faible consommation d'énergie, d'eau et de produits chimiques.

Pour limiter les besoins en eau, le traitement et la transformation des déchets solides nécessitent le développement de procédés de fermentation à l'état solide, par ex. réacteurs à réacteur à lit percolant ou Leach Bed Reactor (LBR). Le fonctionnement du LBR permet d'économiser de l'eau et de l'énergie (pour le mélange par exemple). Ce type de procédé permet également de pouvoir récupérer les produits de fermentation dans le lixiviat et potentiellement de les extraire.

L'extraction des AGVs est considérée comme un obstacle majeur à surmonter pour le développement de la biotechnologie industrielle ("A Roadmap to a Thriving Industrial Biotechnology Sector in Europe," n.d.; Agler et al., 2011). Elle peut être réalisée avec un double objectif : améliorer la fermentation elle-même en atténuant une éventuelle inhibition des produits et récupérer les produits. La combinaison de l'extraction des produits avec la fermentation présente plusieurs avantages, notamment une productivité accrue du réacteur, une régulation plus facile du pH, la production et la récupération des produits de fermentation et la réduction des processus supplémentaires en aval (Wasewar et al., 2003).

Ainsi, je me suis attachée à mener des recherches dans le domaine de la fermentation des résidus solides (biodéchets/ordures ménagères) pour la production d'acides organiques de courtes chaînes. Je me suis également rapproché de chercheurs travaillant dans le domaine de l'extraction des produits pour favoriser les réactions. Ces travaux sont présentés dans les paragraphes suivants.

III.4.2. Impact des conditions opératoires sur les performances, le type de produits et les populations microbiennes de la fermentation.

Les travaux présentés dans cette partie se focalisent sur les réactions d'acidogénèse, premières étapes de la digestion anaérobie. Il s'agit donc de limiter les réactions de méthanogénèse en jouant sur les conditions opératoires du procédé (temps de séjour, pH, ..). Par ailleurs, bien que l'objectif soit de mettre en œuvre la fermentation de déchets solides (en l'occurrence ici des ordures ménagères) en réacteur à lit percolant, où les réactions biologiques sont limitées par le transfert en eau, les premières études biotiques ont été réalisées en réacteur parfaitement agité, où les déchets solides étaient totalement immergés. En effet, nous voulions déterminer dans un premier temps quel était l'impact du pH et de l'enrichissement microbien dans des conditions non limitantes.

a) Fermentation de résidus solides en conditions non limitantes

L'impact de certaines conditions opératoires, et microbiologiques telles que le pH et le type d'inoculum sur les performances de la fermentation, les voies métaboliques et les communautés microbiennes ont été explorées. En effet, les variations de pH ont des conséquences sur la thermodynamique des réactions biologiques et sur le métabolisme microbien et donc sur les produits obtenus en fin de processus (Amend and Shock, 2001; Jin and Kirk, 2018).

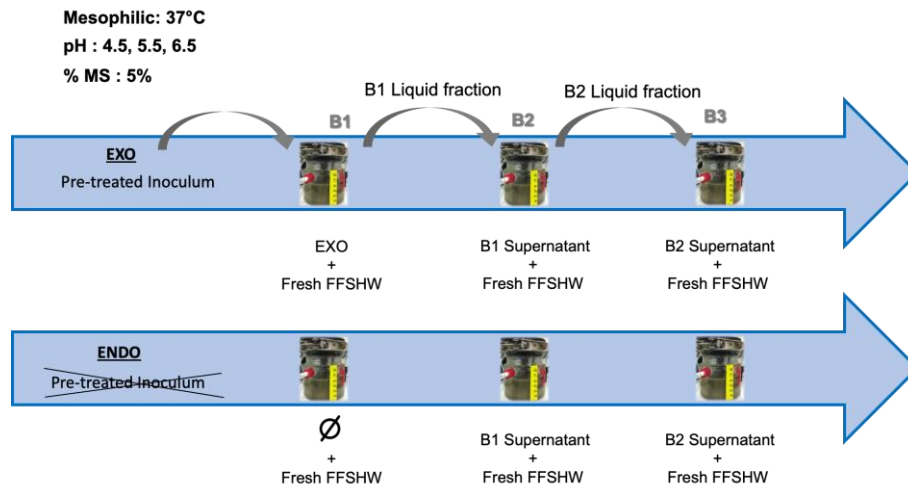


Figure 9 : Méthodologie employée pour les enrichissements, sélection des consortia microbiens acidogène. Une comparaison des types d'inoculum a été effectuée par ajout d'un inoculum extérieur ou utilisation simple de micro-organismes endogènes. Source L. Digan.

Les tests ont été menés en réacteurs opérés en mode batch et en voie liquide, de 1L de volume total (0,6L de volume utile) à pH fixe (régulé). Pour les réacteurs inoculés avec un inoculum extérieur, le batch n°1 était composé de déchets reconstitués : fraction fermentescible des ordures ménagères (Tableau 2) selon le MODECOM de l'ADEME (ADEME, 2017) (Tableau 3) et d'un inoculum prétraité thermiquement afin de supprimer les activités méthanogènes (issus de la station d'épuration de Narbonne). Le rapport substrat /inoculum (S_0/X_0) était de 20 gMV/gMV pour favoriser la croissance bactérienne. Les batchs suivants, B2 et B3, quant à eux, étaient inoculés avec du surnageant du batch précédent (B1) avec le même rapport S_0/X_0 .

Pour les réacteurs non inoculés, le batch 1 ne comportait que les déchets reconstitués alors que les batchs 2 et 3 étaient inoculés, comme précédemment, avec du surnageant du batch précédent.

Tableau 2 : Composition de la fraction fermentescible des ordures menageres selon la composition modecom de l'ademe (MB: Matière brute) Tableau 4

Les résultats obtenus montrent que l'ajout d'un inoculum extérieur ne modifie ni les cinétiques ni la production de métabolites de façon significative. Ceci peut être dû, d'une part, à l'ajout d'une faible quantité d'inoculum exogène par rapport à la quantité de substrat ou/et, d'autre part, au fait que les micro-organismes présents sur le substrat initial se développent plus facilement et plus rapidement que la flore exogène.

En revanche, l'enrichissement de populations par réacteurs batch successifs (*sequential batch reactor*: SBR) montre un gain significatif des cinétiques de productions d'acides organiques, ainsi qu'un accroissement de la quantité de DCO solubilisée.

Enfin, le paramètre ayant le plus d'impact se révèle être la valeur à laquelle le pH du milieu est régulée.

A pH acide (4,5), seules des réactions de solvantogénèse et de production de lactate semblent avoir lieu. Le lactate représente le produit principal (15 à 47 % de la DCO soluble) et l'éthanol est produit en quantités notables (7 à 15 %). Le butyrate (1 à 12 %) et l'acétate (4 à 11 %) sont les deux autres principaux métabolites. À pH 5,5, le butyrate est le produit principal (30 à 52 %), suivi de l'acétate (15 à 28 %) et du propionate (3 à 21 %). La fraction de DCO soluble non composée d'AGVs est d'environ 20 à 40% environ. À pH 6,5, l'acétate et le butyrate sont les principaux produits avec 31 à 44 % de la DCO soluble pour l'acétate et 30 à 37 % pour le butyrate. Le propionate est le troisième produit avec de 4-7 % à 23-18% selon les étapes de l'enrichissement.

En ce qui concerne l'enrichissement des populations en réacteurs successifs, les analyses de variance sur les résultats montre un impact non significatif de l'enrichissement sur la composition et répartition des métabolites. Certains métabolites produits en moindre quantité comme le propionate, augmentent avec l'enrichissement (de 4 % à 23 %DCO totale dans les réacteurs ENDO et de 7 % à 18 % DCO totale dans les réacteurs EXO). Par ailleurs, quel que soit le pH, la fraction de la DCO soluble non attribuée aux AGVs diminue avec l'enrichissement.

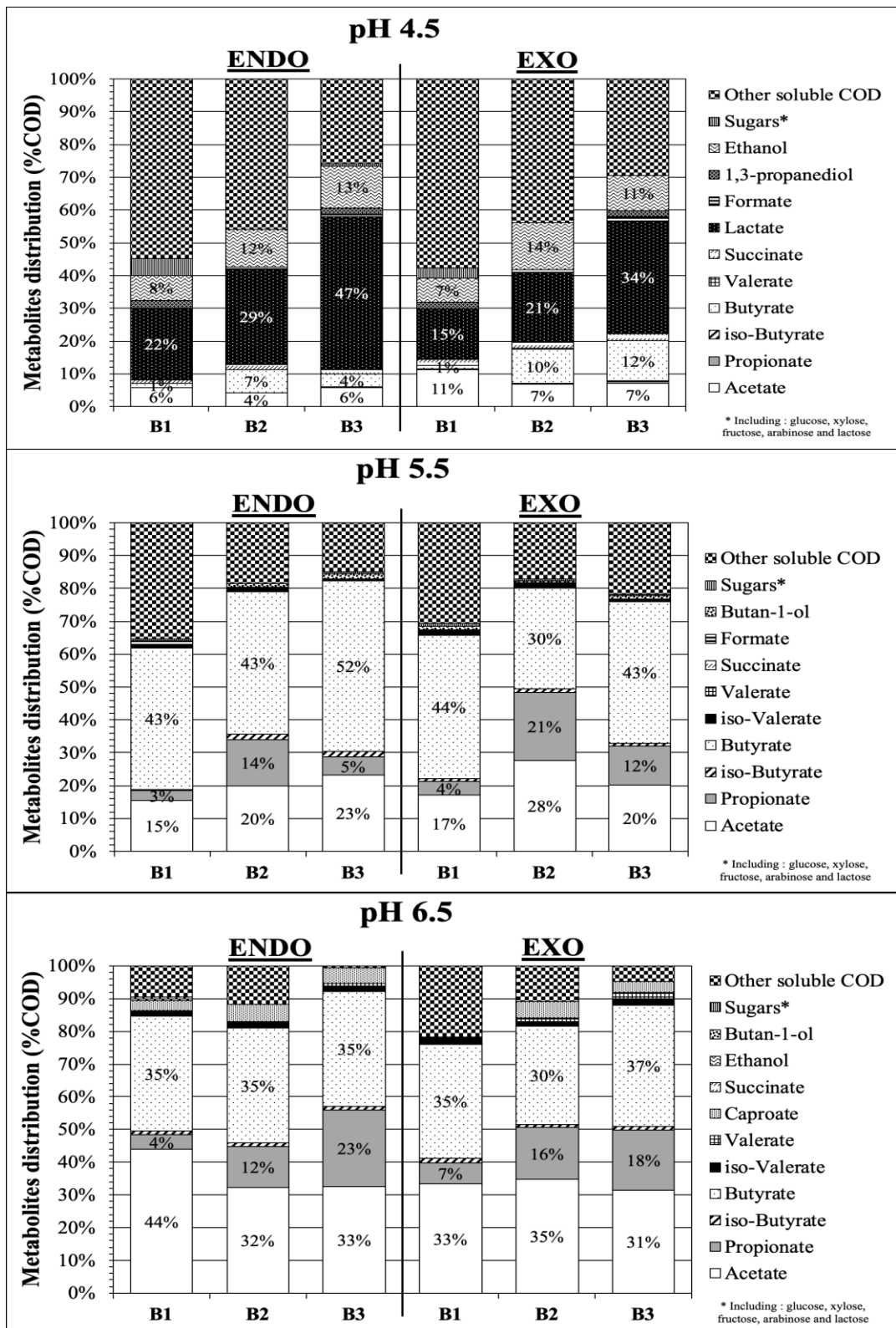


Figure 10. Distribution des métabolites pour chaque condition de pH et à la fin de chaque batch (B1, B2, B3) pour les réacteurs non inoculés (ENDO) et inoculés (EXO). la répartition est basée sur leur concentration en gDCO/L.. Source L. Digan.

Les populations microbiennes ont été analysées au moment initial et à la fin du cycle d'enrichissement ainsi que sur l'inoculum exogène initial. Les résultats montrent que les populations microbiennes présentes dans la phase liquide sont fortement impactées lors de l'enrichissement par

les conditions environnementales. Les abondances relatives des micro-organismes à l'échelle du genre ont été présentées en Figure 11. L'inoculum exogène initial contient une majorité de genres Autres « *Other* », montrant la grande diversité de genre microbien.

Au temps initial (B0), la communauté microbienne dans les réacteurs ENDO et EXO est composée de *Leuconostoc* (34 – 67 %) en majorité. Pour les réacteurs à pH 4,5 et 5,5 le second genre dominant est *Pseudomonas* (6 – 49 %) alors que pour les conditions à pH 6,5 le genre *Lactobacillales* est présent à environ 20% (19-23 %). Les *Lactobacillales* et *Leuconostoc* sont proches phylogénétiquement et sont souvent retrouvés dans les aliments fermentés, qui ici constituent une grande partie de notre substrat. Leur présence est aussi souvent corrélée à l'apparition de lactate

En ce qui concerne les pseudomonas, il est plus rare de les trouver dans des conditions anaérobies, elles disparaissent d'ailleurs après le temps initial.

À pH 4,5, le genre *Leuconostoc* initialement présent a disparu au cours de l'enrichissement laissant la place aux genres dominants *Lactiplantibacillus* et *Levilactobacillus*. Ces genres microbiens sont des bactéries lactiques hétéro-fermentaires qui produisent de l'acide lactique, du CO₂, de l'éthanol et de l'acide acétique, produits que nous avons pu détecter au sein de nos réacteurs. En revanche, à pH 5,5, le genre *Leuconostoc* a été maintenu dans les réacteurs (10 à 20 %). À pH 6,5, à la fin des cycles d'enrichissement, *Acinetobacter* domine dans tous les réacteurs (49 – 58 %), ainsi que le genre *Clostridium* (7 – 20 %). Ces deux genres bactériens sont souvent rencontrés la fermentation sombre. *Clostridium* est connu pour la production d'acétate (Noguer et al., 2022) et de butyrate (Babich et al., 2024)

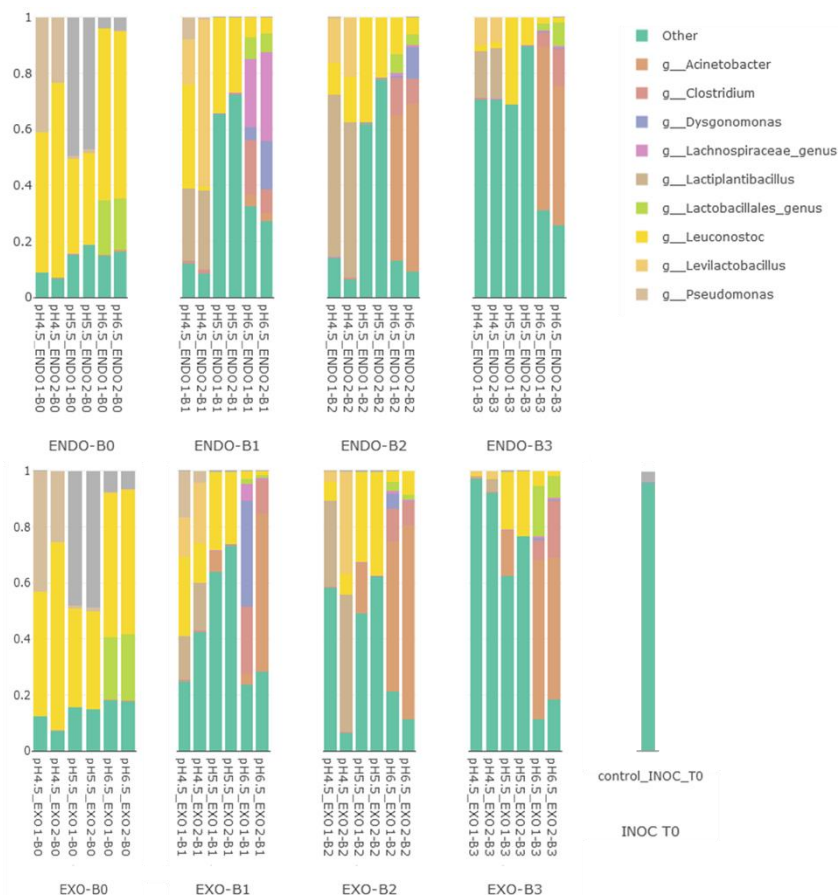


Figure 11: répartition des Communautés microbiennes dans les réacteurs non inoculés (ENDO) et inoculés (EXO) pour chaque condition de pH. les analyses ont été effectuées au temps initial (T0) et final de chaque batch (B1 (T1), B2 (T2) and B3 (T3)). les analyses ont été effectuées au niveau du genre et seuls les 10 genres dominants ont été représentés. Source L. Digan.

À pH 6,5, les populations se sont clairement déplacées au cours du premier cycle d'enrichissement. À pH 4,5 et 5,5, le taxon « autres », regroupant les taxons les moins abondants, augmente à 70-92% et 62-90% respectivement et traduisant une diversité accrue mais avec 1 à 3 genres dominants. À pH 4,5, les populations microbiennes changent peu avec les cycles d'enrichissement, ce qui indique une croissance et une évolution microbiennes relativement faibles dans ces conditions.

On note donc que le pH imposé influence considérablement la sélection des communautés bactériennes dans les réacteurs.

L'indice de Bray-Curtis a été calculé. Cet indice est compris entre 0 (les deux échantillons ont la même composition) et 1 (les échantillons sont totalement dissemblables). La diversité bêta en utilisant l'indice de Bray-Curtis représente la similarité entre les échantillons si on compare les conditions de pH et d'inoculum. Nous avons observé que l'indice entre les échantillons provenant d'une inoculation exogène et endogène, est inférieure à 1, signifiant que les communautés microbiennes sont similaires. En revanche, l'indice sur les échantillons analysés en fonction du pH du milieu est supérieur à 1, ce qui indique que les populations bactériennes sont différentes. L'ajout d'un inoculum exogène n'influence donc pas la sélection microbienne.

b) Fermentation de résidus solides en conditions de limitation en eau

Dans le précédent paragraphe, nous avons mis en évidence que l'apport d'un inoculum extérieur n'apporte pas d'avantages comparé à une fermentation grâce aux populations microbiennes indigènes des déchets. En revanche les enrichissements successifs ont permis d'améliorer les rendements de fermentation en spécialisant les populations

Les conditions de restrictions de teneur en eau au sein de procédés à « forte teneur en solides » engendrent des limitations de transfert de matière au sein de la matrice solide. Nous nous sommes donc attachés à vérifier que les résultats obtenus en conditions non limitantes en eau étaient les mêmes dans des conditions de fortes teneurs en solides (15 et 20% de TS). La stratégie de SBR (*Sequential Batch Reactor*) a été également appliquée (ré-inoculation via la fraction liquide du batch précédent avec un ratio initial substrat sur inoculum (S0/X0) de 20 gMV/gMV. Une régulation pH étant relativement compliquée en milieux fortement concentrés en solides, le pH n'a pas été régulé et a été mesuré lors des prélèvements d'échantillons. *In fine*, nous souhaitons déterminer dans quelle mesure la restriction de teneur en eau peut modifier les rendements de production d'acides ainsi que le spectre de métabolites produits. L'objectif final étant de pouvoir déterminer des stratégies optimales de mise en œuvre de la fermentation acidogène d'OMR en réacteur à lit percolant (leach bed reactor)

Dans cette étude, il a été observé que l'ajout d'un inoculum externe n'avait pas d'impact significatif sur le processus de fermentation acidogène (Figure 12). En revanche, l'acclimatation réalisée en trois batchs successifs a réussi à améliorer les performances fermentaires. Les rendements en métabolites sont passés d'environ 150 - 200 mgDCO/gDCOsubstrat à 250-300 mgDCO/gDCOsubstrat. Le processus d'acclimatation a été particulièrement bénéfique à des teneurs élevées en TS. Après le troisième batch, des rendements de production d'AGV plus élevés ont été atteints à 15 et 20 % TS qu'à 5 % TS. Par ailleurs, les populations microbiennes ont démontré une bonne résistance à des niveaux de concentration très élevés en AGV (jusqu'à La production des AGV à chaîne la plus longue a été observée à 15 et 20 % TS. Le changement dans la distribution des produits a été associé à la sélection d'espèces des familles *Ruminococcaceae* et *Lactobacillaceae*. Finalement, les performances les plus élevées ont été atteintes dans le test à 15%TS avec accumulation d'AGVs à chaîne plus longue que 2 carbones, où l'espace de tête était fréquemment renouvelé.

Pour réussir la fermentation acidogène des déchets dans des procédés solides tels que les réacteurs à lit percolant, une stratégie pourrait être d'utiliser un inoculum acclimaté, d'ajuster la teneur en TS à 15% par une gestion optimisée de la recirculation des lixiviats et d'en éliminer en continu une partie.

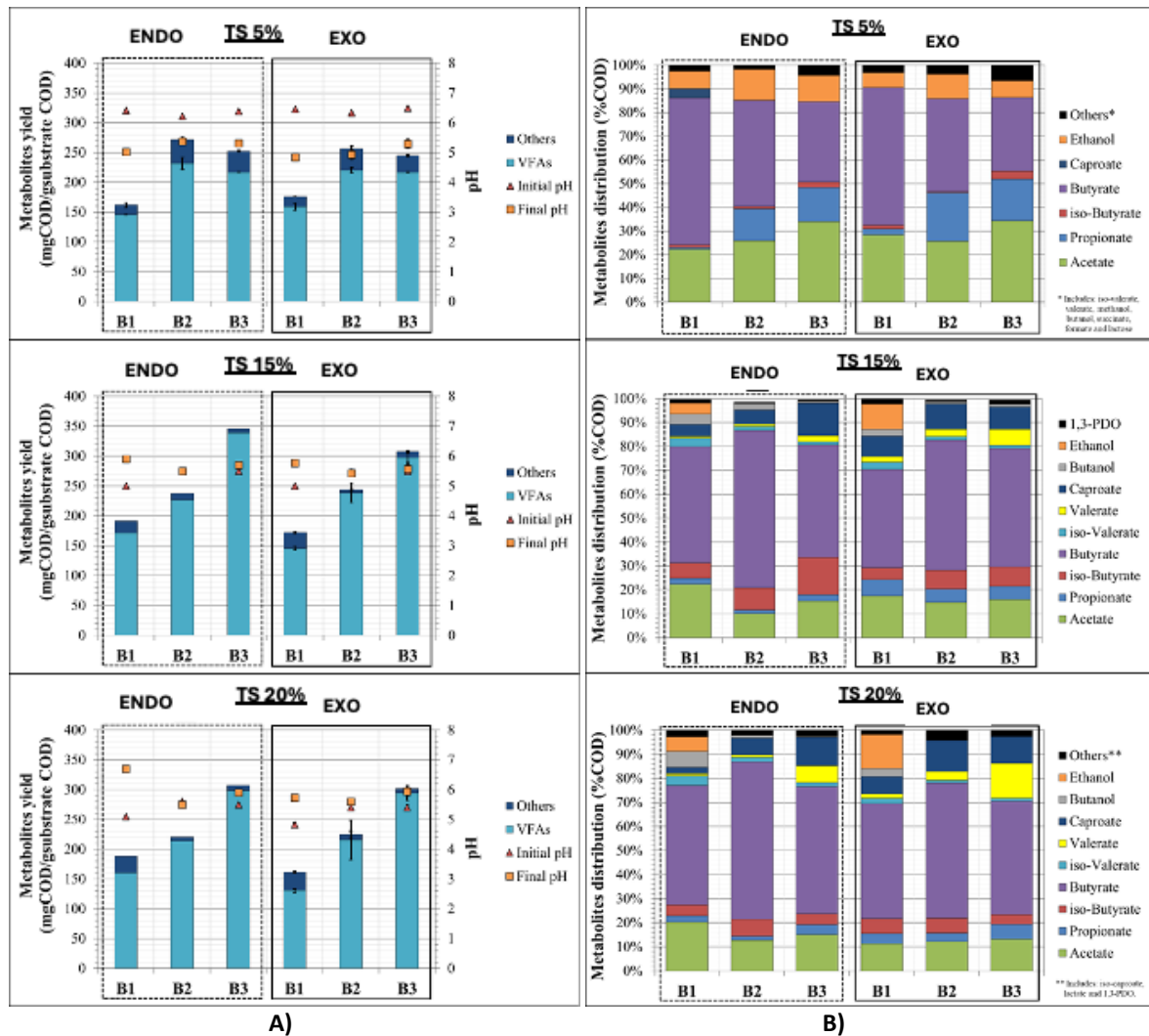


Figure 12 A) : Rendements finaux des métabolites et valeurs de pH initiales et finales pour chaque batch (B1, B2 ET B3) et CONDITION de TS. La catégorie « autres » comprend tous les métabolites qui ne sont pas des AGVs B) Distribution des métabolites en fin de batch (B1, B2 ET B3) à chaque condition de TS pour les réacteurs non inoculés (ENDO) ET inoculés avec un inoculum extérieur (EXO). Source L. Digan.

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

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

Que retenir de ces travaux ?

Cette étude sur fermentation de déchets solides en réacteur successifs (enrichissements) nous montre qu'il n'est pas nécessaire d'inoculer les déchets pour favoriser la dégradation de ceux-ci, que nous soyons en conditions limitantes en eau ou pas.

L'enrichissement des populations en revanche présente un intérêt fort pour l'amélioration de la dégradation, d'autant plus dans des conditions limitantes en eau. Les acides longues chaînes apparaissent lors des fermentations en fortes teneurs en (20%TS)

Les travaux présentés dans ce paragraphe ont été menés en collaboration avec plusieurs laboratoires de recherches (TBI, LBE). La réalisation a été effectuée par une doctorante (L. Digan) et une stagiaire (C. Petrognani). Ces travaux seront valorisés sous la forme de deux articles en cours de finalisation. À la suite de son doctorat, L. Digan a été recrutée en tant que chargée d'études chez SAPOVAL. C. Petrognani a effectué une thèse au CMET à l'Université de Gand.

III.4.3. Fermentation en réacteur à lit percolant

Afin de mettre en œuvre la fermentation au sein de réacteur à lit percolant, l'étude de l'écoulement liquide au sein du lit de déchets fut nécessaire (en conditions abiotiques). Pour cela nous nous sommes appuyés sur de précédents travaux (Shewani 2016) : (sur paille de blé et fumier bovin solide) et avons appliqué cela aux ordures ménagères. Ces travaux expérimentaux ce sont accompagné d'un travail de modélisation avec la collaboration de l'IMFT de Toulouse (P. Horgue et G. Debenest). Dans un second temps nous avons initié quelques manipulations sur la fermentation en lit percolant en conditions biotiques. Toutefois, ces tests furent très succincts et donc présentés brièvement. J'avais proposé un programme ANR pour poursuivre ces travaux qui a été refusé en étape 2 en 2020. Nous souhaitons investiguer à nouveaux ce sujet avec des collègues du CRITT-GPTE et allons proposer un nouveau projet cette année.

a) Étude de l'écoulement au sein d'un lit de déchets (conditions abiotiques)

Dans cette partie d'étude, nous avons mis en œuvre des expérimentations en conditions abiotiques visant à caractériser les phénomènes d'hydrodynamique intervenant dans un procédé de fermentation en réacteur à lit percolant. Ces expériences ont été inspirées du protocole mis au point dans la thèse de A.Shewani (Shewani, 2016; Shewani et al., 2015) auxquelles des ajustements ont toutefois été nécessaires en raison de la spécificité des substrats étudiés : dispositif d'injection, poids appliqué lors de l'immersion, durée de contact en phase d'immersion, ordre d'enchaînement des débits.

Tout d'abord, nous avons évalué la structure physique du lit de déchets (fractions de solide, de microporosité et de macroporosité) avec et sans compaction de celui-ci (par ajout de poids sur tout la surface du lit). La compaction des ordures ménagères a entraîné une réduction du volume de macropores au profit des micropores, comme cela avait déjà été observé dans la littérature.

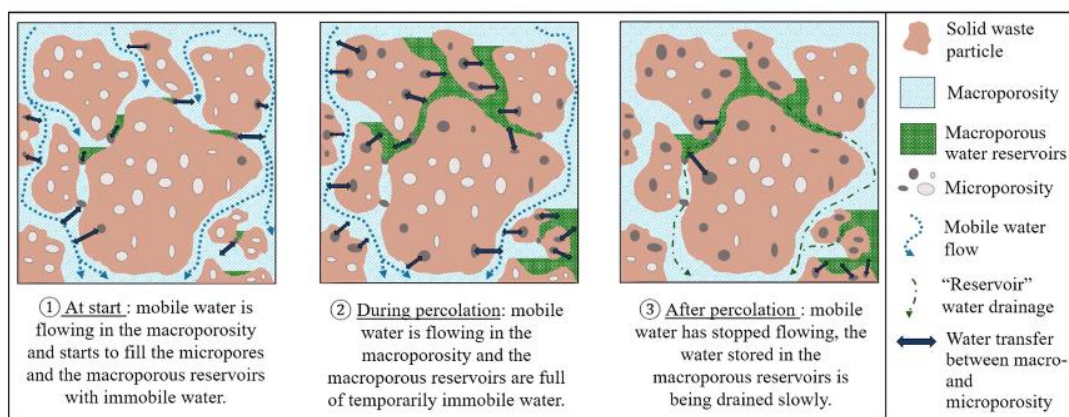


Figure 13 : Représentation de l'évolution des micro et macro porosité au sein du lit de déchets. Source L. Digan.

Par la suite, les dynamiques de remplissage des pores et l'évolution de la conductivité hydraulique du massif au cours des cycles de percolation ont également été estimées. Les réactions biologiques (hydrolytiques) ayant lieu au plus près de la matrice solide, l'eau présente au sein de la microporosité est indispensable pour que les micro-organismes se développent et dégradent la matière. L'eau des macropores quant à elle est nécessaire à l'écoulement de l'eau, qui va ensuite remplir les micropores puis la circulation du liquide permet de récupérer les produits de fermentation.

La connaissance de la répartition de l'eau au sein du lit et de l'écoulement de celle-ci sont utiles à la gestion du procédé en fonction des objectifs à atteindre, à savoir une récupération la plus rapide possible des métabolites produits, ou l'obtention d'une concentration élevée.

Ces expérimentations se sont appuyées sur le développement d'un modèle hydrodynamique développé lors de la thèse A. Shewani mais adapté au lit de déchets d'ordures ménagères. En effet, le modèle simplifié à double porosité sans capillaire n'a pas permis de reproduire complètement la dynamique de l'eau, notamment en phase de drainage. Ainsi, le modèle a été étendu en ajoutant une fraction immobile (réservoir) à la macroporosité ce qui a permis de simuler correctement la dynamique pour toutes les configurations et d'expliquer plus précisément le comportement du lixiviat et de l'eau lors des processus de lixiviation. La nouvelle description de l'écoulement de l'eau a mis en évidence la présence d'eau dans des réservoirs macroporeux. La modélisation s'est révélée comme un outil essentiel pour prévoir le comportement hydrodynamique d'un lit de déchet. Cela nous a permis notamment d'évaluer des coefficients de transfert d'eau de la macroporosité mobile vers la microporosité, mais aussi de la macroporosité mobile vers la macroporosité réservoir et inversement.

Ces résultats sont importants pour pouvoir optimiser la mise en place de la recirculation de lixiviat au sein du massif et l'extraction des produits de fermentation.

Ces travaux ont donné lieu à la publication suivante :

Digan, Laura, Pierre Horgue, Gérald Debenest, Simon Dubos, Sébastien Pommier, Etienne Paul, et Claire Dumas. « An improved hydrodynamic model for percolation and drainage dynamics for household and agricultural waste beds ». *Waste Management* 98 (1 octobre 2019): 69-80. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.027>.

b) Fermentation en réacteur à lit percolant : impact de la recirculation en eau sur le taux d'extraction des produits

Après avoir travaillé d'une part sur la fermentation d'ordures ménagères en conditions non limitantes (milieu agité totalement immergé), et d'autre part sur l'écoulement au sein d'un lit de déchets en conditions abiotiques, la suite de l'étude consistait à combiner les deux.

Nous avons mis en œuvre un réacteur de fermentation à lit percolant (12L) d'ordures ménagères résiduelles (OMR). Ce réacteur fonctionnait en conditions mésophiles (37°C) avec 2kg d'ordures ménagères reconstituées et 8,5L d'eau. Avant tout démarrage et parce que cela était préconisé lors de nos précédentes études en conditions abiotiques, une phase de mise en contact entre l'eau et les OMR a été effectuée (de 65h). Après cette phase un débit de recirculation du lixiviat de 1 l/h a été mis en place.

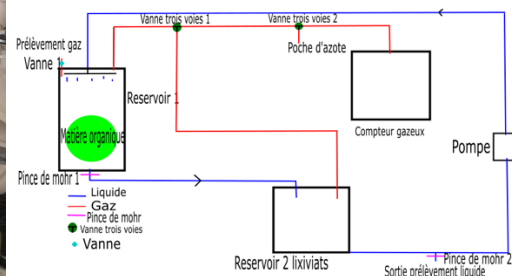


Figure 14 : Schéma et photographie du pilote de percolation. Source A. Vignes

Les expériences avaient pour objectif de déterminer si :

- il était possible de réaliser une fermentation sans produire du méthane et en l'absence d'ajout d'inhibiteurs.
- le pH devait être réajusté au cours de la fermentation car potentiellement trop bas et inhibiteur pour les micro-organismes.

Les principaux résultats ont montré qu'il était possible d'atteindre des concentrations en acides organiques jusqu'à 10g /l sans présence de méthane, le pH pouvant descendre jusqu' 5,3. Les composés produits étaient essentiellement de l'acétate (4,5g/l), du butyrate (4,3 g/L) mais également des acides organiques de chaînes plus longues comme le valérate (0,1g/L) ou l'hexanoate (0,6g/L). Par ailleurs, le lixiviat a dû être dilué avec une solution tampon (de 7 g/L de NaHCO₃) afin de faire remonter le pH (6.3) jusqu'à réduire les concentrations en acides organiques et permettre à la fermentation de se poursuivre et d'augmenter les productivités instantanées (relargage d'acides organiques).

Ces résultats nous ont permis d'émettre plusieurs hypothèses : les fortes concentrations en acides organiques présentes dans le lixiviat ne permettent pas de « drainer les acides présents dans le lit percolant, la dilution du lixiviat par du tampon permet ainsi de favoriser ainsi la libération des acides du lit vers le jus de fermentation. Les fortes concentrations en acides organiques défavorisent /inhibent la fermentation notamment par la baisse du pH.

Ces premiers résultats nous ont confortés dans l'idée de mettre en place ces procédés et cela a fait l'objet d'une demande de projet ANR en 2020 coordonnée par moi-même regroupant le LGC (équipe

GIMD) travaillant sur la séparation membranaire des produits de fermentation. Ce projet n'a malheureusement pas été retenu mais fera l'objet d'une nouvelle demande de financement porté par le CRITT PTE auprès de 3BCAR en 2024.

Que retenir de ces travaux ?

Les travaux présentés dans ce paragraphe ont été menés en collaboration avec plusieurs laboratoires de recherches (TBI, IMFT, LGC). La réalisation a été effectuée par une doctorante (L. Digan) et un stagiaire (A. Vignes). Ces travaux ont donné lieu à 1 publication. A. Vignes travaille désormais en tant qu'ingénieur chargé d'affaires, spécialisé dans la séparation membranaire chez ALTEN.

Après ces travaux sur la fermentation des déchets solides (ordures ménagères), mon activité s'est clairement orientée vers la valorisation du CO₂ de H₂ ainsi que du syngaz. Étant une thématique relativement nouvelle pour moi en 2015, j'ai préféré après 2019 me consacrer entièrement à la fermentation gazeuse et la méthanation biologique. Cela ne signifie pas que je ne reprendrais pas des activités dans le domaine des déchets solides. En effet, je suis impliquée dans le projet ANR TANGO (porté par Etienne Paul) visant à stabiliser les déchets avant collecte et produire de l'acide lactique et un projet 3BCAR devrait être déposé par le CRITT-GPTE sur le couplage de la production acide gras volatils et leur extraction du milieu.

III.5. Méthanation biologique et fermentation gazeuse : réduction du CO₂ en méthane ou acides organiques.

III.5.1. Contexte et enjeux de la méthanation biologique et fermentation gazeuse

Une étude parue en Janvier 2018 initiée par l'ADEME, pilotée conjointement par l'ADEME, GRDF et GRTgaz, dresse les possibilités d'*un mix de gaz 100% renouvelable en 2050* (“[Etude] Un mix de gaz 100% renouvelable en 2050 ?,” n.d.). En prenant en compte les rendements de conversion, le potentiel théorique de ressources primaires identifié pourrait produire jusqu'à 460 TWhPCS de gaz renouvelable injectable.

-30 % pourraient être fournis avec la filière mature de méthanisation, qui permet de convertir les intrants d'origine agricole, les biodéchets et les résidus d'algues pour produire jusqu'à 140 TWhPCS de gaz

-40 % pourraient être fournis par la filière pyrogazéification sur le bois et ses dérivés, les combustibles solides de récupération (CSR) et une faible fraction de résidus agricoles, pour produire jusqu'à 180 TWhPCS de gaz (7)

-30% pourraient être fournis par le power-to-gas dans le contexte d'un mix électrique 100% renouvelable visant à maximiser la production de gaz de synthèse, soit 140 TWhPCS de gaz

Il apparaît notamment que les quantités de CO₂ nécessaires à l'équilibrage du réseau électrique dans les scénarios intégrant une part d'électricité renouvelable variable égale ou supérieure à 80 %, pourraient être en majorité, voire intégralement, fournies par le gaz vert issu de méthanisation (biogaz) et de la gazéification. Selon ces mêmes scénarios, une majorité du biogaz produit serait injectée dans les réseaux de gaz naturel après épuration du CO₂ qu'il contient. La même unité d'épuration et d'injection de biométhane pourrait donc être utilisée pour injecter le méthane obtenu par méthanisation et celui issu de la méthanation biologique. La méthanation dite « biologique » est apparue comme particulièrement prometteuse : bien que plus récemment envisagée et donc moins avancée que la méthanation catalytique, elle présente de nombreux avantages.

La méthanation biologique couplée à la méthanisation peut fonctionner avec du biogaz à l'état brut, sans traitement particulier, il n'est pas nécessaire de récupérer du CO₂ issu de process industriels ou d'unités de combustion (Figure 15). Les filières couplant la méthanation biologique à la gazéification des déchets solides représente également un intérêt puisque le syngaz (gaz de synthèse composé d'H₂, CO₂, CO, CH₄) n'a pas forcément besoin d'être totalement traité de toutes les impuretés. En effet, les cultures mixtes microbiennes sont plus résistantes à ce genre de molécules (goudrons, ...) que les catalyseurs métalliques utilisés en méthanation catalytique. La méthanation biologique peut s'effectuer soit par injection directe d'hydrogène dans le méthaniseur (solution *in situ*), soit en utilisant un réacteur de méthanation dédié, alimenté en biogaz et en hydrogène (solution *ex situ*).

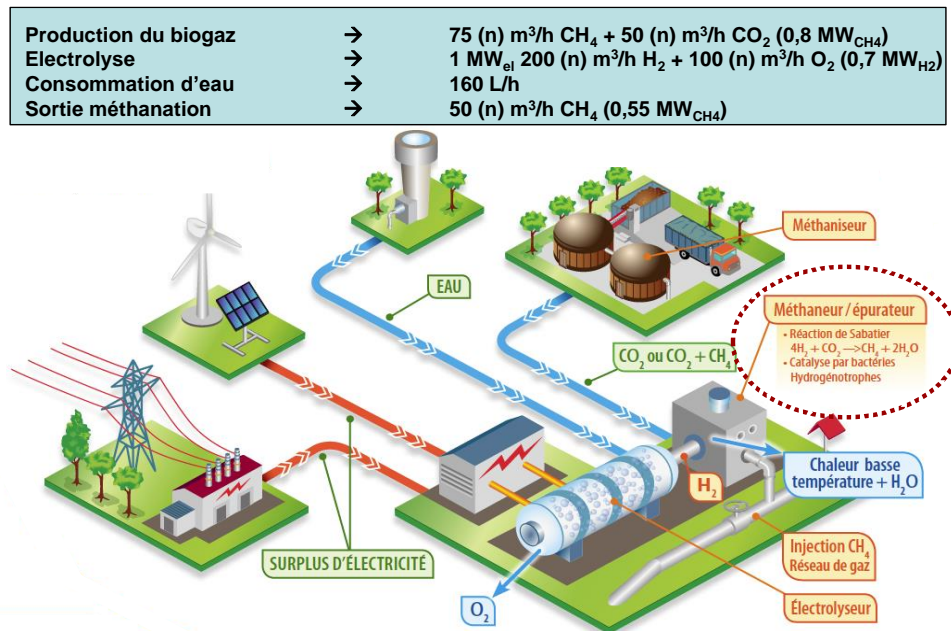


Figure 15 : Schéma de principe présentant le couplage entre la méthanisation et la méthanation biologique (source projet HYPABIOME. Source Solagro).

Il semble donc intéressant d'étudier un procédé permettant de traiter le CO₂ ou le syngaz en méthane via la méthanation, technologie également au service du Power to Gas. En effet ce couplage de technologies permet de produire du gaz à partir des déchets qu'ils soient facilement ou faiblement biodégradables. Les déchets sont, dans un premier temps, transformés en biogaz ou syngaz respectivement grâce la méthanisation et la (pyro)gazéification. Le CO₂ du biogaz ou le syngaz est ensuite transformé en méthane par voie biologique dans une unité de biométhanation

Je me suis consacré à l'étude de la méthanation biologique dite *ex situ*: cela signifie que contrairement à la méthanation biologique *in situ* où l'hydrogène est injecté directement dans le digesteur anaérobie, ici l'hydrogène et le CO₂ (issu du biogaz ou d'autres gaz fatals) sont injectés dans un réacteur dédié.

En plus du travail au sein de TBI sur la méthanation biologique de l' H₂ et du CO₂, j'ai participé à l'encadrement de thèses dont les résultats ne seront pas détaillés ici mais qui ont fait l'objet de plusieurs publications scientifiques). J'ai co-encadré la thèse de J. Figueras (thèse CIFRE ENOSIS) avec mes collègues de Lyon P. Buffière et H. Benbelkacem. Cette thèse fut dédiée à l'étude de la méthanation biologique du syngaz.

Je me suis également impliquée dans le suivi de la thèse de V. Ngu (2019-2022) et de J.C. Acosta (Bourse du ministère colombien 2020- 2023) avec l'équipe Transfert Interface Mélange (TIM) du

laboratoire TBI. Ces deux doctorants ont effectué respectivement une modélisation multi-échelle de bioréacteurs Gaz-Liquide appliqué à la méthanation, et une étude dynamique et multiphysique des couplages biologiques et des transferts gaz-liquide.

III.5.2. Etude de la limitation par le transfert de gaz vers le liquide (et autres limitations potentielles)

Projets : Plusieurs projets ont contribué à cette section: ADEME HYCABIOME, région Occitanie HYDROMET, Thèse de L. Laguillaumie, Thèse de J. Figueras, Thèse de V. Ngu

Ma contribution : j'ai encadré le post-doctorat de Y.Rafrafi, co-encadré la thèse de L. Laguillaumie, coordonné le projet national HYDROMET

Collaborations : LGC, LCC, HESPUL, SOLAGRO, DEEP, ENOSIS, CRITT GPTE

Depuis 2015, je me suis impliquée dans la valorisation/transformation du CO₂ par des consortia microbiens et notamment la méthanation biologique en m'impliquant dans le projet HYCABIOME (financé par l'ADEME).

Cette thématique était en rupture en 2015 et 9 ans après reste un domaine très compétitif. Cet axe de recherche est intéressant car il fait appel à des questions scientifiques à la fois en microbiologie et en génie des procédés. Quelques temps après le démarrage du projet HYCABIOME, j'ai pris en charge la thématique et est coordonnée le projet HYDROMET permettant de comparer les filières de méthanation (biologiques et thermochimiques). Au sein de ces deux projets, j'ai encadré un post-doctorant durant 2 ans (Y. Rafrafi : 2017-2019).

Nous avons travaillé sur la sélection microbienne de populations hydrogénotrophes méthanogènes et également sur la compréhension des phénomènes de transfert G/L, avec pour vision de les optimiser. Pour cela, nous avons développé un réacteur de type colonne à bulles fonctionnant à 55°C avec un apport continu d' H₂ et CO₂ et un recyclage de gaz pour maximiser le transfert. Le but de cette étude de long terme (plus de 400 jours de fonctionnement) était d'étudier la réactivité des communautés microbiennes au cours du procédé de méthanation dans un mode de fonctionnement dynamique avec notamment des variations de charge de gaz, l'intermittence de l'alimentation, l'évaluation de l'impact de limitations nutritionnelles sur les performances du procédé.

Plusieurs types de contacteurs G/L ont été testés : l'apport de gaz la colonne s'est effectué à travers quatre frittés poreux de 10 mm de diamètre et porosité comprise entre 100 et 160 µm. Par la suite, un fritté unique poreux avec les mêmes propriétés mais de 150 mm de diamètre a été mis en œuvre, occupant tout le bas de la colonne, ceci afin d'améliorer le transfert de masse gaz-liquide. Enfin, nous avons également testé un fonctionnement en double étage. Le réacteur était alors composé d'un premier étage en colonne à bulles puis d'un second étage constitué d'un réacteur à percolation (trickled bed réacteur- TBR). Dans cette dernière configuration, le gaz est apporté en bas de colonne à bulles recyclé toujours à partir du haut de la colonne à bulles. Le liquide quant à lui est soutiré en bas de colonne à bulles puis alimenté grâce à des distributeurs en haut de lit percolant. Ce dispositif a été breveté (brevet INSA-ENOSIS : Process and device for the production of methane WO FR WO2020208042A1).

Comme le montre la Figure 16, le procédé développé permet, pour un pourcentage de méthane dans le biogaz fixe, de multiplier la productivité par 10.

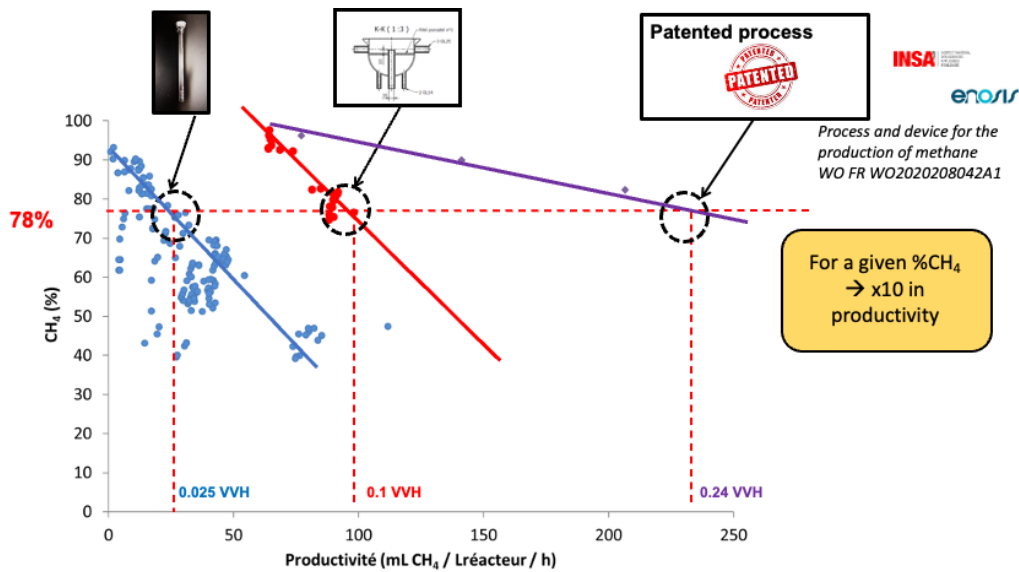


Figure 16 : Pourcentage de méthane (%) selon de la productivité en méthane (mLCH₄/Lréacteur/h) en fonction du type de contacteurs G/L testes. Source Y. Rafrafi

Je vais m’attarder un peu plus sur les résultats obtenus durant le fonctionnement en colonne à bulles car ils permettent de montrer la démarche que j’ai établie ces dernières années sur la réduction et valorisation du CO₂: à savoir soit limiter la production d’acides organiques afin d’optimiser la production de méthane soit supprimer la production de méthane afin de produire des molécules plateformes par autotrophie.

Tout d’abord, durant cette expérience long terme et comme nous l’avons vu sur la Figure 16, nous avons réussi à atteindre des productivités et des % de méthane très intéressants. Ceci est dû à l’enrichissement de l’inoculum initial en archées méthanogènes tout au long du processus. Cette sélection est illustrée dans la Figure 17.

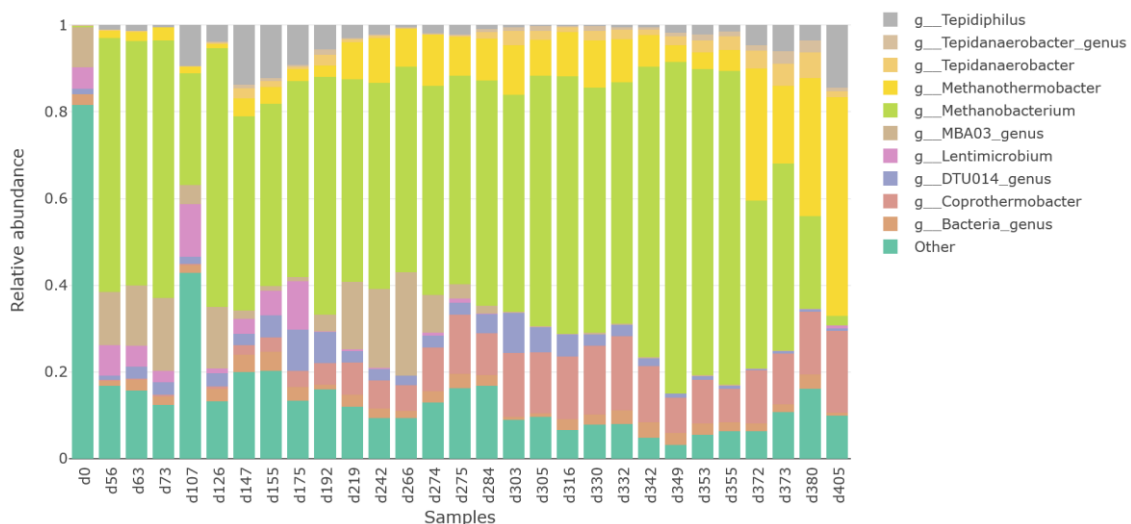


Figure 17: Abondance relative des dix genres majoritaires présents dans la communauté microbienne tout au long de l’expérience ? analyses effectuées avec rANOMALY (Theil and Rifa, 2021). Source L. Laguillaumie.

Des phénomènes intéressants et non désirables pour la production de méthane tel que l’accumulation d’acides organiques sont apparus en cours de fonctionnement. Ces périodes d’instabilité ont été attribuées à une limitation en sulfures. En effet, lorsque l’apport en sulfures est renouvelé, la stabilité du procédé est retrouvée, démontrant la réversibilité du système.

L'observation de l'apparition d'accumulation d'acides organiques en particulier d'acétate au cours des périodes a été attribuée aux bactéries homoacétogènes (HAC) dont l'activité semble être favorisée lors de l'augmentation de la disponibilité du H₂ et en raison de la limitation des méthanogènes (hydrogénophiles HM) (Figure 19). La dépendance des HAC à la pression partielle en H₂ déjà référencée (Agneessens et al., 2018; Fuentes et al., 2021; Karekar et al., 2022) a pu être confirmée dans cette étude. Les productivités en acétate restent faibles et ne représentent que 1 % de la DCO disponible, avec de grandes quantités de H₂ restent non converties. Par conséquent, les HAC n'ont pas été en mesure de dominer les HM. Un schéma récapitulatif du fonctionnement observé est proposé en Figure 18.

Cette observation dynamique a souligné que les HAC sont des opportunistes qui s'activent dès que les conditions sont favorables, c'est-à-dire que la disponibilité de H₂ augmente. Ceci est lié à la faisabilité thermodynamique des réactions. En effet, les HAC, comme la plupart des réactions anaérobies, fonctionne proche de l'équilibre thermodynamique. Les bactéries acétogènes ont ainsi développé un métabolisme très flexible, capable de consommer une large quantité de gamme de substrats et survivent dans des environnements très divers, ce qui explique que les acétogènes soient assez omniprésents dans la nature. La polyvalence des bactéries acétogènes a été documentée, de manière naturelle environnements, ils se développent principalement de manière hétérotrophe et passent à l'autotrophie dans H₂ concentré environnements (Drake et al., 2008; Karekar et al., 2022). En d'autres termes, ils sont capables de suivre la faisabilité thermodynamique de réactions pour récolter de l'énergie dans divers environnements. Dans le réacteur biologique de méthanation, ils se sont peut-être maintenus grâce aux produits de lyse, contribuant à la robustesse du processus sur de longues périodes. Aussi, leur taux de croissance et leurs concentrations sont probablement restés faibles rendant leur identification par séquençage de l'ARNr 16S difficile (Laguillaumie et al., 2022)

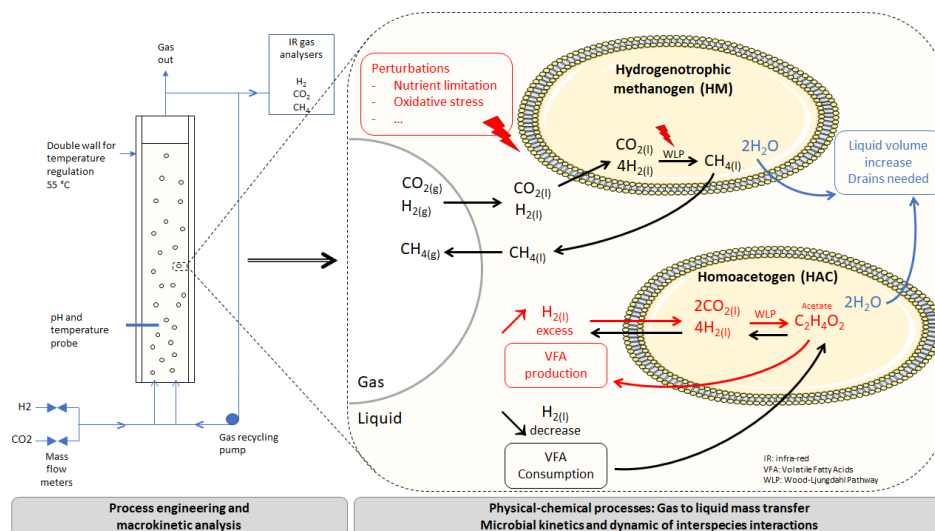


Figure 18: Schéma représentant les processus biologiques lors de la mise en oeuvre du réacteur de méthanation biologique et expliquant les phénomènes d'accumulation d'acides organiques. Source L. Laguillaumie.

Dans le cadre de cette expérimentation, des actions ont été entreprises pour retrouver une activité méthanogène et arrêter la production d'AGV, ce qui rend difficile l'interprétation de la compétition car l'état d'équilibre n'a pas été atteint.

Les consortia microbiens contiennent des micro-organismes homoacétogènes (HAC) capables de réduire le CO₂ en acétate. Cependant, l'un des freins à leur utilisation réside dans la compréhension et la gestion de leur diversité fonctionnelle. En particulier, gérer la compétition entre les HAC et les méthanogènes hydrogénéotrophes (HM) qui convertissent le CO₂ en méthane est crucial pour

produire sélectivement l'un ou l'autre des produits. Nous nous sommes donc intéressés à cette question lors de la thèse de L. Laguillaumie (2018-2022).

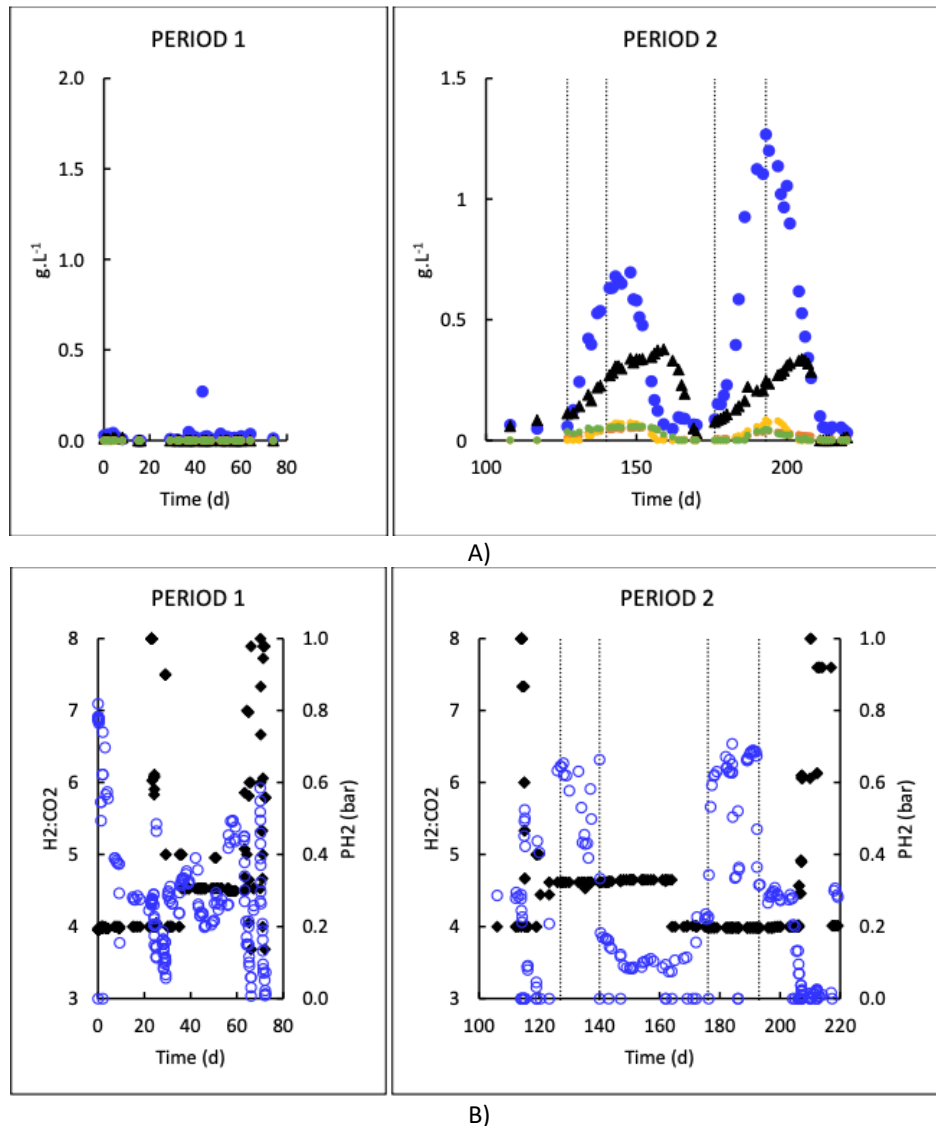


Figure 19 A) Concentration en AGV dans le réacteur pendant l'expérimentation de long terme de méthanation biologique en colonnes à bulles : acétate (cercles bleus), propionate (triangles noirs), butyrate (cercles jaunes), isobutyrate (cercles orange), méthylbutyrate et isovalérate (cercles verts). Des lignes verticales rouges délimitent les deux phases durant lesquelles la production de méthane n'était pas proportionnelle au flux d'H₂/CO₂. B) Rapport des flux d'H₂/CO₂ (losanges noirs), et P_{H₂} en bar (cercles bleus) pendant les périodes 1 et 2 du processus de méthanation biologique. *Source L. Laguillaumie.*

Ces travaux ont donné lieu à plusieurs publications :

Rafrafi, Y.; Laguillaumie, L.; Dumas, C. Biological Methanation of H₂ and CO₂ with Mixed Cultures: Current Advances, Hurdles and Challenges. *Waste Biomass Valor* 2020. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01283-z>.

Laguillaumie, L.; Rafrafi, Y.; Moya-Leclair, E.; Delagnes, D.; Dubos, S.; Spérandio, M.; Paul, E.; Dumas, C. Stability of Ex Situ Biological Methanation of H₂/CO₂ with a Mixed Microbial Culture in a Pilot Scale Bubble Column Reactor. *Bioresource Technology* 2022, 354, 127180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127180>.

III.5.3. Étude de la compétition entre archées méthanogènes et bactéries acidogènes en présence de substrat gazeux

Projets: Plusieurs projets ont contribué à cette section: GAS2ORGANICS, Thèse L. Laguillaumie
 Ma contribution: j'ai co-encadré la thèse de L. Laguillaumie, coordonné le projet national GAS2ORGANICS

Collaborations: LGC, DTU, CRITT GPTE

La thèse de L. Laguillaumie a débuté sur la thématique de la réduction de CO_2 par voie biologique (consortia microbiens) en Novembre 2018, soutenue par le département TRANSFORM de l'INRAE. L'objectif de ce travail de thèse était de comprendre la compétition microbienne entre homoacétogènes (HAC) et méthanogènes hydrogénotrophes (HM) apparue comme tant le verrou majeur à maîtriser. Afin de contrôler les compétitions microbiennes, il est nécessaire d'en comprendre l'origine, puis d'avoir une connaissance détaillée des différents micro-organismes impliqués. Particulièrement d'un point de vue métabolique, cinétique et énergétique, mais aussi de leurs besoins nutritionnels, et optimaux conditions de croissance ou de production. Le travail de thèse de L. Laguillaumie a débuté par l'analyse des phénomènes d'accumulation d'acides observés au sein réacteur de méthanation présenté dans le paragraphe précédent. Aussi, grâce aux premiers travaux de revues bibliographiques et expérimentaux, nous avons pu analyser plus précisément le métabolisme des populations d'intérêt et sur quels paramètres se focaliser : en l'occurrence, la température, la pression partielle en hydrogène, le temps de séjour et le pH se sont révélés comme des éléments permettant de favoriser l'une ou l'autre des populations (Rafrafi et al., 2020).

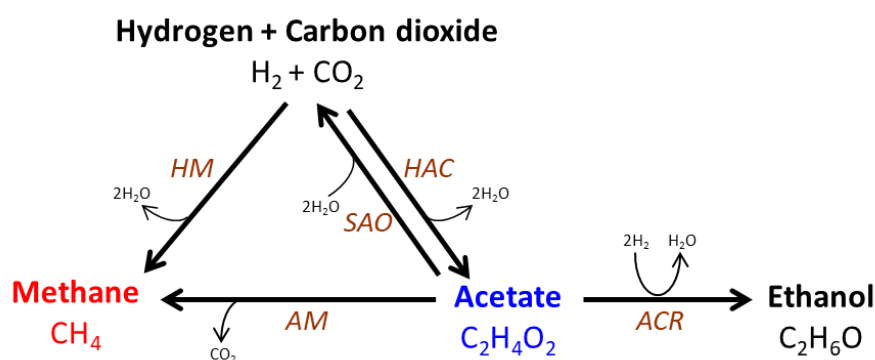


Figure 20 : Principales réactions biologiques prises en compte dans le système. Source L. Laguillaumie.

Le Tableau 1 et Figure 22 présentent les réactions et les principaux paramètres cinétiques et thermodynamiques des populations qui nous intéressent à savoir les MAC: méthanogènes acétotrophes, SAOB: Bactéries oxydant l'acétate syntrophiques, MH: méthanogènes hydrogénophiles et les HAC: acétogènes hydrogénophiles.

On note ici que la **réaction de méthanogenèse hydrogénophile est favorisé thermodynamiquement**, que les **acétogènes sont favorisées par une température mésophile**. Alors que les **conditions thermophiles favorisent les méthanogènes**. Enfin les fortes concentrations en hydrogènes favorisent les HAC ayant **une constante d'affinité plus importante que les méthanogènes**.

Tableau 3: Paramètres cinétique et thermodynamiques des principales réactions considérées dans le cadre de la méthanation biologique

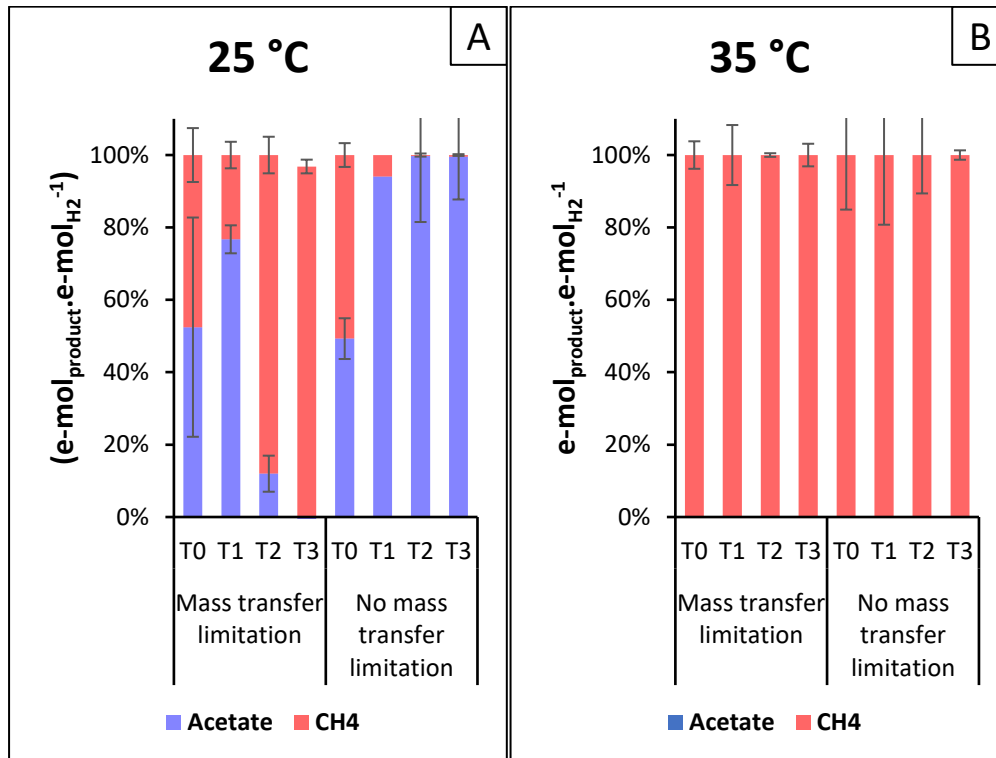
Population	Croissance μ_{max} (d ⁻¹)	Constante d'affinité K_s (mgCOD/L)	$\Delta rG0'$ (kJ/mol)	Réaction stoechiométrique
MH: méthanogènes hydrogénéophiles	0.02-2.6 (33-35 °C)	H_2 4.8x10 ⁻⁵ -0.6	- 131	4H ₂ + CO ₂ → CH ₄ + 2H ₂ O
	8-12 (55-60 °C)			
HAC: acétogènes hydrogénéophiles (<i>C. ljungdahlii</i> on CO/CO ₂ /H ₂ at 37 °C)	1.20-4.68	H_2 1.9-2.5	- 95	4H ₂ + 2CO ₂ → Acetate ⁻ + H ⁺ + 2H ₂ O
MAC: méthanogènes acétotrophes (mixed culture on acetate at 35 °C)	0.08-0.36	Acetate 165-185	- 36	Acetate ⁻ + H ⁺ → CO ₂ + CH ₄
SAOB: Bactéries oxydant l'acétate syntrophiques (<i>Thermacetogenium phaeum</i> 58 °C co-cultured with <i>Methanothermobacter thermoautotrophicus</i>)	0.73	0.15-0.3	+ 95	Acetate ⁻ + H ⁺ + 2H ₂ O → 4H ₂ + 2 CO ₂

Données issues de (Batstone et al., 2002; Koster and Koomen, 1988; Mohammadi et al., 2014; Pavlostathis and Giraldo-Gomez, 1991; Younesi et al., 2005)

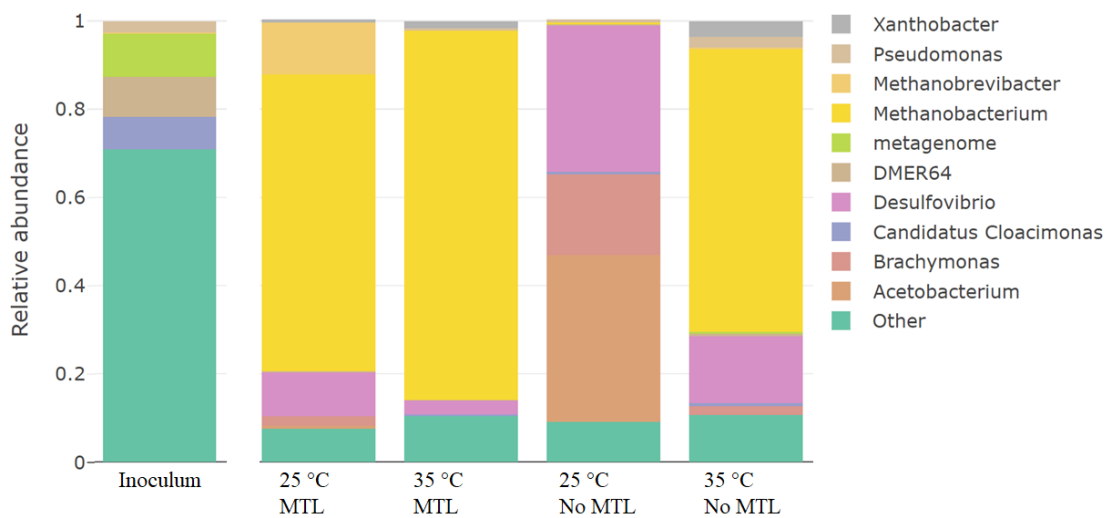
La première étude a été réalisée en réacteur SBR, en collaboration avec le DTU à Copenhague. Dans cette étude, les compétitions microbiennes ont été étudiées dans le cadre de la fermentation H₂/CO₂ avec des consortia microbiens. L'objectif était de favoriser le HAC et d'éliminer le HM. Pour cela des lots successifs ont été mis en œuvre, à 25 °C et 35 °C, dans différents cas de limitations du transfert de masse (G/L).

Premièrement, l'effet de la température a été observé, la production d'acétate n'ayant jamais été détecté lors des étapes d'enrichissement à 35 °C. Puis, à 25 °C et sous des conditions non limitantes de transfert, la HAC est restée la seule fonction métabolique identifiée lors des tests d'activité en fin des trois séries de batchs Cette méthode de culture a donc permis d'éliminer le HM du consortium microbien. Ceci s'explique par des cinétiques plus lentes pour les HM, entraînant leur perte au fil des batchs successifs. Dans des conditions de limitation par le transfert, en revanche, l'activité méthanogène se maintient.

Lors de l'analyse des populations microbiennes, l'effet de la température entre 25 °C et 35 °C sur le résultat de la compétition a été clairement démontré puisque la souche *Methanobacterium* (HM) a majoritairement été sélectionnée à 35°C comparée aux HAC. Aussi, en conditions de non-limitation par le transfert, la souche *Acetobacterium* (HAC) a pu coexister avec les souches *Methanobacterium* et *Methanobrevibacter* (HM) à 25 °C avec production simultanée de méthane et d'acétate.



A)



B)

Figure 21 : A) Rendements de conversion des électrons en considérant l'acétate et le méthane produits par rapport au H₂ consommé en e-molproduit/e-molH₂ au cours de quatre séries de batchs successifs (T0 à T3) réalisés à 25 °C et 35 °C, sous limitation de transfert de masse ou non. B) Abondance relative des taxons détectés dans les consortiums microbiens enrichis, au niveau du genre, générée avec le paquetage rANOMALY dans R. MTL signifie limitation du transfert de masse. Source L. Laguillaumie.

Ce comportement indique que, sous limitation de transfert de masse, les HM surpassent les HAC en raison de leur seuil de consommation de H₂ inférieur (constante d'affinité pour l'H₂ inférieur). À l'inverse, lorsque la limitation du transfert de masse est surmontée, HM et HAC peuvent croître. Comme les HAC ont des taux de croissance plus élevés, les HM peuvent être éliminées du système.

Les résultats sont significatifs dans le domaine de la fermentation gazeuse, ils fournissent des informations pertinentes sur la compétition microbienne entre HM et HAC et sa gestion des processus pour la production du produit souhaité.

La méthodologie développée peut être appliquée à d'autres systèmes anaérobies abritant des communautés similaires. Les AM et SAO n'ont pas été observés dans les tests d'activité à 35°C, principalement à cause d'une limitation thermodynamique de la réaction. Cependant, à 25 °C, la méthanogenèse acétogène était théoriquement possible mais non détectée. Selon la littérature, les AM présentent généralement des taux de croissance spécifiques plus faibles que les méthanogènes (HM), ce qui explique la difficulté pour cette population de se maintenir au cours des batchs successifs. Cependant, le genre *Desulfovibrio*, sulfato-réducteur, a été abondamment observé dans le consortium microbien enrichi en acétate. Il est probable que le développement des bactéries sulfato-réductrices ait permis de réduire le sulfate en S²⁻ en quantités significatives, permettant aux HM de pas être limitées au cours des tests. La prise en compte de ces bactéries sulfato-réductrices sera importante pour d'éventuelles optimisations de la méthode de sélection microbienne décrite ici, en vue de produire de l'acétate et d'autres consortiums microbiens anaérobies producteurs d'AGV.

Lors de la seconde étude nous avons évalué l'impact de paramètres opératoires sur la sélection d'un consortium acétogène et la productivité en acétate. Pour cela un réacteur continu sur le gaz et sur le liquide a été développé, permettant une fermentation gazeuse à des pressions partielles d' H₂ non limitantes et stables, avec des taux de transfert gaz vers liquide importants

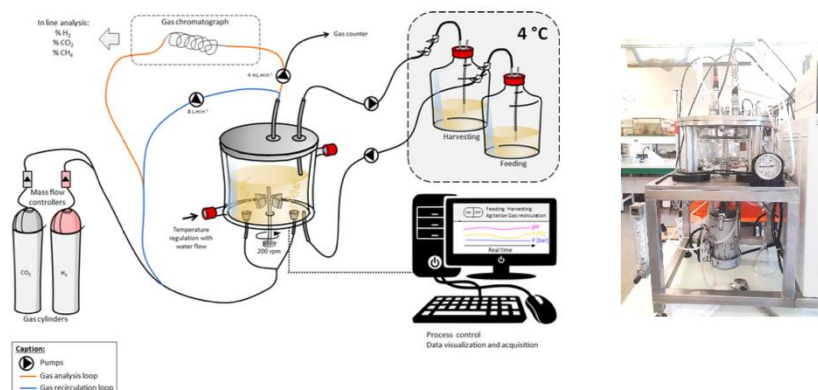


Figure 22 : représentation et photo du réacteur continu utilisé dans le cadre de cette étude sur la fermentation gazeuse. un apport continu de gaz en CO₂ et H₂ est effectué, ainsi qu'un apport continu de milieux de cultures. Source L. Laguillaumie et M. Peyre-Lavigne.

Plusieurs tests ont été réalisés sous plusieurs conditions de pH et de temps de séjour en conditions mésophiles et sous P_{H₂} constante. L'objectif étant de trouver les conditions de temps de séjour ou de taux de dilution (D), et de pH pour atteindre une productivité significative et analyser la sélection microbienne via l'analyse de communauté. La Figure 23 présente un résumé des conditions opératoires testées et des résultats obtenus lors des essais de fermentation gazeuse. Les productivités et les principales espèces microbiennes identifiées sont également présentés. Lors de ces tests, les conditions de pH et de temps de séjour constatées ont permis la croissance des homoacétogènes (bleu) et la limitation des méthanogènes (rouge), notamment avec des taux de dilution supérieurs à 0,2- 0,3 j⁻¹. Pour un pH plutôt neutre, des concentrations et des productivités élevées en acétate ont été atteintes (jusqu'à 296 mmolC/L/j). Il convient de souligner que ces expériences sont l'une des seules expériences de la littérature réalisant une sélection d'homoacétogènes à partir de H₂ et de CO₂ sans aucun traitement thermique ni ajout d'inhibiteurs.

Lors de ces essais le séquençage de l'ARN16S nous a permis de valider une forte sélection de micro-organismes acétogènes.

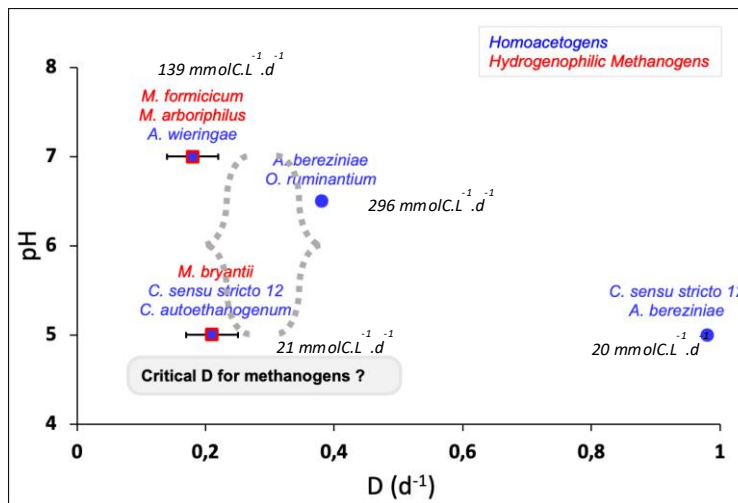


Figure 23: Taux de dilution ($j-1$) en bleu les homoacétogènes (HAC), en rouge les méthanogènes (HM). les productivités sont en mmolC/L/j . Source L. Laguillaumie.

Ces travaux ont donné lieu à la publication suivante :

Laguillaumie, L., Peyre-Lavigne, M., Grimalt-Alemany, A., Gavala, H. N., Skiadas, I. V., Paul, E., Dumas, C.: Controlling the Microbial Competition between Hydrogenotrophic Methanogens and Homoacetogens Using Mass Transfer and Thermodynamic Constraints. Journal of Cleaner Production 2023, 414, 137549. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137549>.

Que retenir de ces travaux ?

Le transfert de gaz en particulier de l'hydrogène est le phénomène qui limite majoritairement les réactions biologiques au cours de la méthanation biologique et fermentation gazeuse.

Le développement de réacteurs sous pression ou avec des contacteurs spécifiques permet de lever cette limitation.

La limitation du transfert de matière G/L est primordial dans la gestion de la compétition microbienne au sein de communautés mixtes. Il est possible de limiter (ou accroître en opposition) les activités méthano-gènes en combinant plusieurs paramètres opératoires (pH, temps de séjour, température)

Il me tient à cœur de former les étudiants et de leur montrer l'importance de communiquer sur leurs travaux que ce soit lors de conférences internationales (ou nationales) et de publications scientifiques dans des journaux de qualité. Ainsi, et pour exemple, L. Laguillaumie a publié 3 articles scientifiques, effectué un séjour de 3 mois au DTU (qui a donné lieu à une publication commune). V. Ngu a publié 2 articles et a été récompensé par le prix de thèse de l'ASTEE (Association scientifique et technique pour l'eau et l'environnement). J. Figueras a publié 5 articles. Ce sujet, assez fédérateur au niveau de l'équipe, a également été l'occasion de pouvoir collaborer avec les équipes de TBI et d'autres laboratoires dans diverses compétences disciplinaires (Hydrodynamique, Transfert G/L, Métabolisme...) et également des collaborations nationales et internationales.

IV. TRAVAUX EN COURS ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Jusqu' alors mes travaux ont porté sur la valorisation des déchets solides par digestion ou fermentation pour la production de molécules et/ou énergie via l'utilisation de consortia microbiens. J'ai également durant les dernières années, orienté mes activités sur la réduction du CO₂. Pour comprendre et optimiser ces procédés je me suis intéressée à comment la structure et la composition du substrat avait un impact sur sa dégradation par des micro-organismes, puis dans un second temps à comment orienter et sélectionner des communautés microbiennes ayant des fonctions spécifiques. Je me suis également attaché à les mettre en œuvre au sein de bioprocédés.

Dans cette section, je m'attache à présenter les travaux actuels qui me permettent ou m'ont permis de dresser les perspectives de recherches pour les prochaines années. Aussi, mon ambition est de poursuivre l'acquisition de connaissances sur le thème de la réactivité biologique au sein de procédés limités par le transfert d'eau ou de gaz en utilisant les méthodes de consortium engineering. J'aimerais toutefois apporter quelques modifications à la fois de développement de procédé et d'approches utilisées. En effet, il me semble important afin d'optimiser les productivités et intensifier les procédés, de tendre vers le développement de procédés intégrés ou hybrides couplant par exemple le bioprocédé à : i) d'autres bioprocédés (systèmes bioélectrochimique, couplage avec d'autres micro-organismes pouvant utiliser nos produits de pour production de molécules à plus forte valeur ajoutée), ii) des procédés de séparation de nos produits (membranaires ou chimiques). Par ailleurs le travail sur la réduction du CO₂ permet désormais de travailler sur des consortia microbiens très simplifiés et ainsi de pouvoir tenter de comprendre les interactions entre les espèces et donc aller vers une connaissance approfondie du métabolisme global de la communauté. Enfin, en particulier dans le cadre de la réduction du CO₂, analyser la capacité de certaines communautés à faire des biofilms tout en conservant les fonctions ciblées me paraît intéressant à comprendre, comme dans le cadre du développement de procédés à percolation pour l'amélioration du transfert de matière G/L.

Projets: Plusieurs projets ont contribué à cette section : TWBprécompétitif Gas2Organics, CabioCa, HYSSYH, OPTISFUEL, BIOGAZOVERT ,

Ma Contribution : je coencadre le post doctorat de L. Laguillaumie et Marawit Tesfa, le doctorat de R.Caverivière et de M.Carrier ; J.Diego Carvajalino, A.-L. Borg. Je coordonne le projet Gas2Organics, CabioCa.

Collaborations : LGC, GeT, ENGIE

IV.I. Intensification d'un procédé de fermentation

IV.II.I Extraction de produits de fermentation- cas des déchets solides

L'objectif est de proposer un couplage entre la fermentation acidogène solide et l'extraction des acides organiques produits en vue d'améliorer l'efficacité et la durabilité des bioprocédés. S'appuyant sur nos études antérieures telles que RECOWER (2017-2019), qui se sont concentrées sur des études distinctes de la fermentation solide et du fractionnement membranaire des AGV, je souhaiterai poursuivre ces travaux en proposant d'intégrer l'extraction des AGVS couplée à la fermentation en lit percolant de déchets pour obtenir un système cohésif et économiquement viable. Des études antérieures ont montré que les procédés membranaires peuvent être utilisés pour concentrer, récupérer et purifier des acides organiques à partir de jus de fermentation (Khunnonkwao et al., 2018). L'électrolyse a également été utilisé comme procédés de récupération *in situ* pour éliminer les acides organiques inhibiteurs (Jones et al., 2015). Mais il a également été souligné que les performances du processus varient considérablement en fonction des paramètres de fonctionnement, tels que le pH ou la composition des jus de fermentation (Umpuch et al., 2010).

J'avais coordonné le montage du projet ANR INPROVFA en 2020 avec pour partenaires le LGC-GIMD et SayFood. Ce projet n'a malheureusement pas été financé (Retraqué en phase 2). Avec le CRITT GPTE et le LGC, nous souhaiterions proposer à nouveau un projet pour évaluer la faisabilité du couplage de la fermentation acidogène solide avec l'extraction des AGV par la fermentation en lit percolant, étudier la modification du profil des AGV par séparation membranaire pour améliorer le rendement et la qualité du produit et explorer de plusieurs solutions d'extraction des AGVs (sélectives ou non) : procédé membranaires, distillation, utilisation de solvants.

Nous pourrions exploiter les données existantes et les modèles développés afin de développer un outil de calcul permettant de comparer les différentes solutions sur la base de plusieurs critères : fractionnement, degré de pureté, coût énergétique, empreinte environnementale, établir des scénarios (en fonction du gisement de déchet). Cet outil nous permettrait de pouvoir proposer des expériences complémentaires ciblées comme preuve de concept.

De mon côté, ce type de projet permettrait de poursuivre les travaux entrepris dans le domaine de la fermentation et de confirmer les résultats obtenus dans le cadre de RECOVER. D'un point de vue plus fondamental, il me paraît important d'évaluer l'impact de l'extraction des acides sur le procédé de fermentation lui-même, que ce soit sur les productivités mais aussi sur le type de molécules produites.

Ce type de projet auquel je participerai, serait coordonné par le CRITT GPTE.

IV.II.II Amélioration du transfert de masse - cas de la méthanation/fermentation gazeuse

Nous l'avons vu un des verrous majeurs dans le domaine de la méthanation biologique ou de la fermentation gazeuse réside dans la limitation biologique par le transfert de masse (G/L). Afin d'accroître le transfert de masse plusieurs options sont possibles : accroître l'aire d'échange (utilisation de lit percolant : tricklebed), accroître la pression du réacteur pour accroître la solubilisation des gaz. Une autre stratégie proposée est de produire de l'hydrogène sous forme soluble. Ce sont des options que nous proposons d'étudier dans les prochaines années.

$$T = k_L \cdot a \cdot (P \cdot H_G \cdot x_G - C_G)$$

T : taux de transfert de gaz vers le liquide ; $k_L a$: coefficient de transfert volumétrique ; P : pression du réacteur ; H_G : constante de Henry du gaz ; x_G : fraction du gaz dans le ciel gazeux ; C_G : concentration du gaz dans le liquide.

Après le dépôt de brevet avec la société ENOSIS, cette dernière a poursuivi son souhait de collaborer avec nous et en particulier avec le CRITT GPTE pour le développement de procédé à l'échelle pilote. La plateforme Solidia portée par l'INSA et la région Occitanie et gérée par le CRITT GPTE accueille actuellement un pilote de méthanation biologique double étage (environ 500L au total comprenant une colonne à bulles et un trickled bed) pouvant opérer sous pression. Dans ce cadre-là , ENOSIS, le CRITT-GPTE et TBI sont porteurs d'un projet financé par l'ADEME , DENOBIO (Démonstration à l'échelle industrielle du couplage des unités de méthanation biologique ENOBIO® avec une unité de méthanisation agricole située dans les Hauts-De-France) dont les objectifs scientifiques pour l'INSA sont d'affiner la compréhension des processus biologiques (activité biologique, transfert G/L, inhibitions), de renforcer le savoir-faire en matière de modélisation et optimiser les outils afférents (biologie en culture mixte et processus hydrodynamiques). De mon côté je serai impliquée dans l'amélioration de la compréhension des processus biologiques.

Je souhaiterai m'impliquer d'une part sur l'optimisation des milieux de culture et d'autre part dans la compréhension de l'analyse de la croissance micro-organismes sur les supports solides.

En ce qui concerne les apports nutritionnels, nous avons initié des travaux avec DEEP également dans le cadre d'un projet inter-INSA visant à optimiser les milieux de cultures pour les méthanogènes. En particulier, l'INSA de Lyon va s'intéresser à l'impact de certains éléments traces et de notre côté nous analyserons l'impact de la source de soufre sur la sélection microbienne et donc le métabolisme global du consortium.

Pour la partie croissance de biofilm, il me paraît important d'évaluer comment les micro-organismes colonisent les supports, comment se maintiennent-ils, et de comprendre les éventuelles compétitions entre les populations (archées méthanogènes, acétogènes, sulfato réductrices...) (Stams et al., 2005; Weijma et al., 2002). Est-ce que nous observerons des stratifications de populations sur ces supports, des variations de population tout au long de la colonne, les conditions environnementales changeant ? En effet le bas de la colonne sera plus riche en H₂ et CO₂ que le haut de la colonne.

Ces questions seront également posées dans le cadre de la fermentation gazeuse. En effet, je souhaiterais explorer ce genre de procédé également pour la production de molécules plateformes telles que l'éthanol et les acides gras moyennes chaînes. Dans les deux cas nous utilisons un substrat H₂ et CO₂ et pourrons donc établir des connaissances génériques dans le domaine. Nous avons déposé un programme PEPR B-BEST CARACOL avec le laboratoire DEEP de l'INSA de Lyon et l'IFPEN dont les objectifs sont de produire de l'éthanol à partir de syngaz (DEEP) et de H₂/ CO₂ seul (TBI). Nous nous intéresserons aux interactions microbiennes entre les micro-organismes eux-mêmes mais aussi avec l'environnement (cf IV.II). Par ailleurs nous souhaitons mettre en place des réacteurs biologiques de type trickled bed avec des mousses solides afin d'accroître le transfert gaz liquide. L'enjeu ici sera d'arriver à favoriser la croissance de micro-organismes produisant de l'éthanol sans que les archées méthanogènes ou les acétogènes ne prennent le dessus. En effet puisque nous rechercherons à faire croître les micro-organismes sous forme de biofilm le temps de séjour des micro-organismes sera allongé favorisant potentiellement les méthanogènes. Nous devrions également travailler avec des réacteurs batch sous pression pour accroître les productivités.

Enfin, je co-dirige la thèse de J. D. Carvajalino avec B. Erable du LGC pour mettre en place la synthèse bio-électrochimique de production d'hydrogène soluble pour améliorer la réduction microbienne métallique du CO₂. L'objectif original de ce travail est de scinder, en deux étapes, le procédé d'électrosynthèse microbienne et de fermentation gazeuse, en séparant physiquement la production de l'hydrogène de son utilisation par les communautés microbiennes fermentaires. L'intérêt du découplage est d'atteindre une concentration saturante en hydrogène soluble dans le milieu de fermentation liquide. Ensuite, ce milieu saturé en hydrogène, également riche en bicarbonate (HCO₃⁻), alimente en continu un bioréacteur anaérobie dans lequel est conduite une hydrogénation du CO₂ dans l'objectif de synthétiser en continu des molécules organiques de type acides organiques. Le travail à l'heure actuelle se focalise surtout sur la minimisation de la nucléation de bulles d'hydrogène à la surface de la cathode. Dans le cas où le flux de production d' H₂ soluble ne serait pas suffisant nous, nous orienterons vers l'étude d'une cathode fermentaire, à savoir inoculer un compartiment cathodique avec des micro-organismes spécialisés dans la fermentation gazeuse de CO₂ et H₂. Dans ce cas il faudra analyser l'impact de la présence de ces micro-organismes sur les rendements d'électrolyse.

Dans le cadre de la thèse d'A. L. Borg, thèse CIFRE avec le CRIGEN d'ENGIE, nous nous intéresserons aux différents mécanismes de transfert d'électrons vers les micro-organismes, qu'il soit direct ou indirect et c'est ce que nous tenterons d'éclaircir.

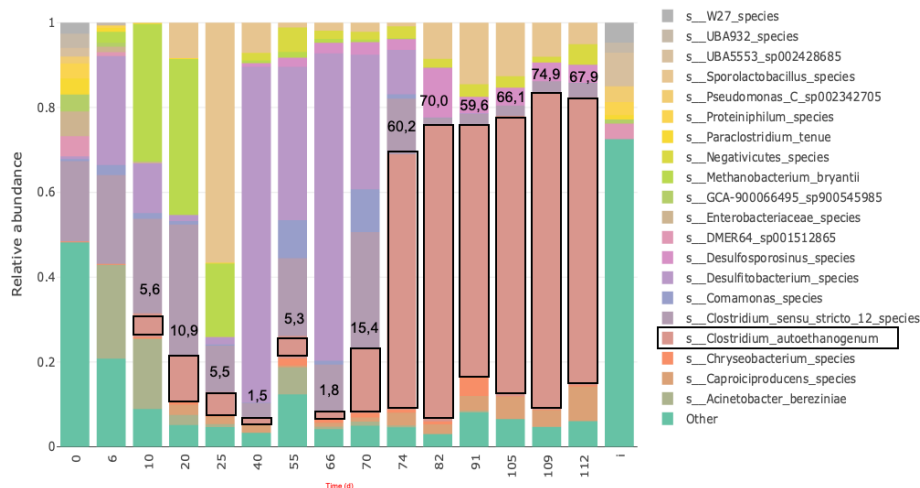
Au cours de ces études effectuées avec le LGC, je peux mettre à profit les notions acquises au cours de ma thèse dans le domaine des systèmes bio-électrochimiques

IV.II. Compréhension des interactions microbiennes

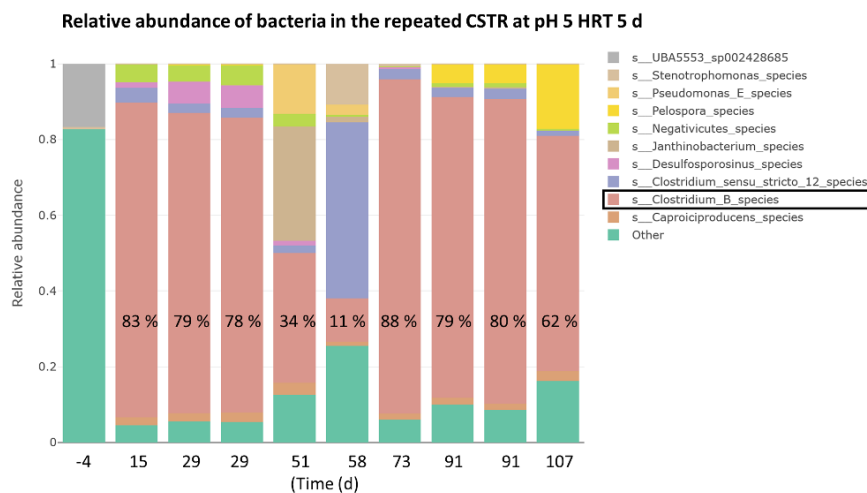
IV.III. Interaction entre les micro-organismes : cas de la fermentation gazeuse

Le travail que nous avons pu élaborer sur la méthanation biologique et la fermentation gazeuse nous a permis de travailler sur des écosystèmes microbiens relativement simplifiés (peu divers), faiblement chargé en matière en suspensions. Ceci nous a ouvert des nouvelles perspectives d'études et surtout la possibilité d'utiliser des approches méthodologiques alors impossible, ou très difficile à utiliser dans le cas de la digestion anaérobie ou du traitement des eaux résiduaires ou effluents. Par exemple mesurer des taux de croissance grâce à la densité optique semble alors envisageable puisque les milieux sont clairs et exempts de particules. Surtout le pan de recherche que nous avons pu commencer à explorer et que je souahiterai poursuivre, est la compréhension fine des interactions métaboliques entre les populations microbiennes.

Par exemple nous avons débuté ces travaux dans le cadre du post-doctorat de L. Laguillaumie et du projet Gas2Organics, et il reste encore beaucoup de chose à comprendre. Après avoir vérifié que la sélection microbienne était reproductible à pH 5, temps de séjour 5j et à 37°C (duplicats), nous avons analysé l'évolution des populations microbiennes au cours de la sélection (Figure 24). Lors de cet essai des limitations nutritionnelles sont apparues. Aussi à partir du jour 40 jusqu'au jours 100 environ plusieurs ajouts d'éléments ont été investigés (éléments qui n'était pas analysés en routine tels que le soufre, les autres oligo-éléments et les vitamines. Des injections supplémentaires de solutions de phosphate, de Na₂S et d'oligo-éléments dans le réacteur ont été effectuées quotidiennement de 40 à 60 jours. Ensuite, neuf vitamines ont été ajoutées à la composition du milieu minéral de 68 jours à la fin. Enfin, l'aluminium, le sélénium et le tungstène ont également été ajoutés au milieu minéral de 101 jours à la fin. Les ajouts de Na₂S, phosphate et éléments trace n'ont pas aidé à récupérer la concentration d'acétate prévue. Ceci indique que les éléments déjà présents dans le milieu minéral n'étaient pas limitants. Cependant, un enrichissement significatif de la communauté en *Desulfitobacterium sp.* a été observé (Figure 24). Certaines espèces de ces dernières utilisent l'hydrogène comme donneur d'électrons avec des seuils plus bas que HM et HAC. Elles utilisent également le sulfate comme accepteur d'électrons et sont souvent trouvées en association syntrophique avec des bactéries réduisant le sulfate (Spring and Rosenzweig, 2006; Villemur et al., 2006). Ici, il est plus probable que les sulfures, fournis en excès pendant cette période, se soient chimiquement oxydés en sulfates avec des traces d'oxygène qui pourraient pénétrer dans le système continu. Ces sulfates peuvent donc participer au maintien de *Desulfitobacterium sp.* dans le réacteur. Ensuite, une augmentation significative des concentrations d'acétate et de biomasse a été observée après l'ajout de vitamines au milieu minéral. A partir de ce moment, la communauté microbienne c'est enrichi en *Clostridium autoethanogenum* en l'espace de 6 jours (de 72,5 % *Desulfitobacterium sp.* à 60 % de *Clostridium autoethanogenum*). *C. autoethanogenum* est une espèce connue pour la conversion du CO en éthanol, et elle est utilisée à l'échelle industrielle en culture pure. Cependant, elle est également capable de se développer sur H₂/ CO₂ (Liew et al., 2016; Valgepea et al., 2018) .



A)



B)

Figure 24: representation of the relative abundance of microorganisms at species level A)1st experiment- B) 2nd experiment – Duplicate. Source L. Laguillaumie.

Ce test a été choisi pour réaliser les modèles de reconstruction métabolique avec la société IMEAN. Cinq espèces majeures ont été choisies pour commencer la modélisation *in-silico* du réseau métabolique du consortium : *Clostridium autoethanogenum*, *Caproicibacter fermentans*, *Syntrophomonadaceae* (après réanalyse des données à la place de *Pelospora*), *Acetonema longum*, *Desulfosporosinus youngiae*. A partir de l'étude du métabolisme individuel des souches un modèle métabolique du consortium a été proposé et confronté aux résultats expérimentaux, notamment à partir de trois des espèces choisies (Figure 25).

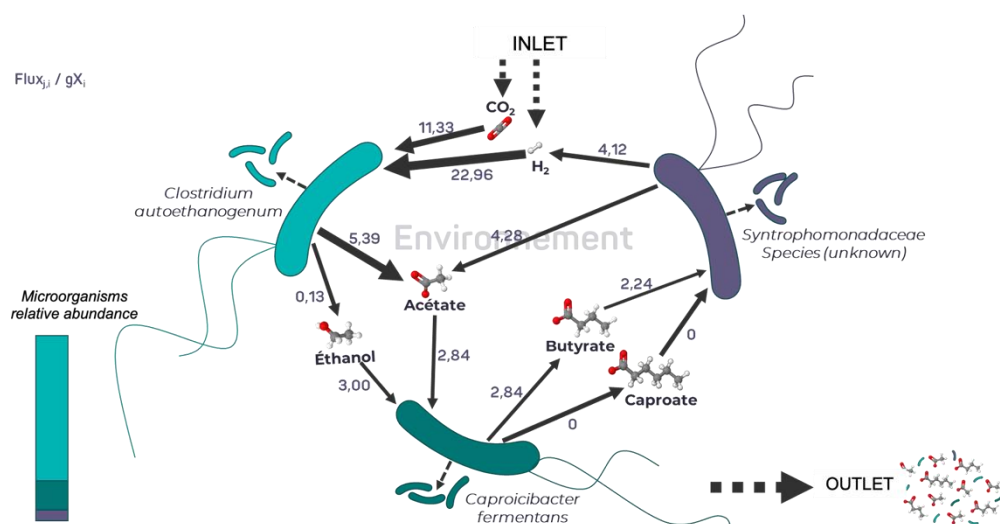


Figure 25: representation of the metabolic interactions between three selected microorganisms presents in our consortium in the relative abundance found in 16S analysis (cf Figure 24). Source iMEAN.

Cette approche permet de simuler de manière quasi exhaustive les réactions à l'état stationnaire et à l'échelle des cellules, dont le métabolisme a été reconstruit à partir de données génomiques. Pour simuler les interactions microbiennes entre différents modèles reconstruits, le logiciel Dynpop a été utilisé. Cette méthode permet également d'étudier minutieusement les besoins en nutriments de chaque micro-organisme et cela a été utilisé lors des simulations pour optimiser le milieu de culture pour la fermentation gazeuse.

Les simulations des interactions microbiennes (Figure 25) ont montré que la limitation en CO_2 favorise la production d'éthanol, étape clé des réactions d'allongement de chaîne. Compte tenu de ces résultats, une campagne expérimentale d'optimisation du ratio H_2/CO_2 a été entreprise et les premiers résultats montrent que le butyrate a commencé à s'accumuler dans le réacteur lorsque le ratio d'entrée H_2/CO_2 a été fixé à 6, montrant des réactions d'élongation de chaîne de l'acétate. Une analyse plus poussée du rapport H_2/CO_2 réel transféré, et une mesure de la concentration en H_2 soluble seront réalisées dans la perspective du projet Gas2Organics. Les simulations métaboliques ont également permis d'identifier les limitations nutritionnelles de la croissance de *Caproicibacter* (qui permet l'élongation de chaîne de l'acétate), tel que les éléments folate, H_2S et le pantothénate. Ces nutriments feront l'objet d'études spécifiques dans le cadre de futurs projets portant sur la fermentation gazeuse au TBI.

Cette compréhension du métabolisme microbien, en système simplifié, est primordiale pour pouvoir les intensifier et accroître notre connaissance des interactions entre les micro-organismes au sein des consortia microbiens. Je souhaite poursuivre les travaux que nous avons débuté au sein du projet Gas2Organics, et pour cela nous avons établi une collaboration avec l'Université de Santiago de Compostelle où L. Laguillaumie effectue un séjour dans le cadre de son post-doctorat pour mettre en œuvre des modélisations bioénergétiques (développée en fermentation acidogène par l'équipe de recherche espagnole) sur notre système de fermentation gazeuse. Par ailleurs, dans le cadre du groupe de travail de TBI sur le CO_2 , nous débutons une collaboration avec l'équipe de recherche Metasys (Stephanie Heux et Pierre Millard) sur qui nous pourrions nous appuyer pour les outils d'analyses (modélisation et caractérisation) du métabolisme microbien global du consortia. Un chercheur INRAE devrait être recruté en juin 2024 au sein de l'équipe, chercheur sur l'analyse métabolique et énergétique des consortia au sein de bioprocédés. Ce chercheur sera au cœur de cette compréhension des interactions microbiennes au sein des systèmes biologiques étudiés dans l'équipe.

IV.IV. Interaction entre les micro-organismes et les éléments minéraux : cas de la bio-précipitation induite par les micro-organismes

Dans le cadre de la stratégie nationale bas carbone (SNBC) (“Stratégie Nationale Bas-Carbone (SNBC),” n.d.) et des objectifs de décarbonation de l'énergie d'ici 2050, le développement de transformations et de productions d'énergie décarbonée est crucial, aussi en plus des recherches déjà menées sur la réduction du CO₂, je propose de m'investir dans des recherches sur la valorisation du CO₂ en carbonates de calcium/magnésium sous forme de roches en utilisant des consortia microbiens.

La précipitation des carbonates de calcium et de magnésium induite par l'activité microbienne est similaire à la formation naturelle des roches carbonatées (Bundeleva et al., 2014; Dupraz and Visscher, 2005; Pace et al., 2018; Shirokova et al., 2015). Cette précipitation est le résultat de l'augmentation du pH liée à l'activité microbienne et de l'interaction des cellules ou des exopolymères microbiens avec les ions divalents impliqués dans les précipitations (Dupraz and Visscher, 2005). Différentes activités microbiennes, telles que la photosynthèse des cyanobactéries et la réduction des sulfates par les bactéries sulfato-réductrices, participent à ce processus complexe. En présence de sels (calcium ou magnésium), la réduction des sulfates combinée à une activité phototrophe oxydant l'H₂S peut conduire à la précipitation de carbonates de sels (calcium ou magnésium) (Pace et al., 2018; Salek et al., 2013).

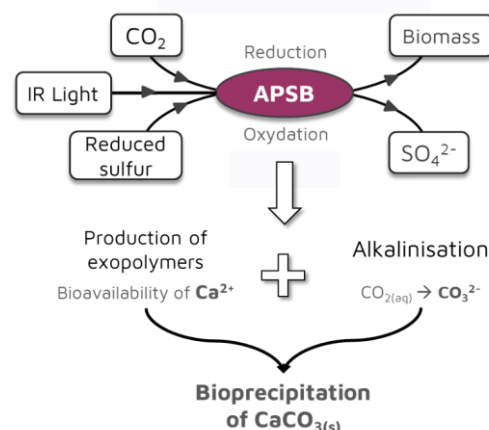


Figure 26: Représentation globale de l'activité des souches bactériennes anaérobies phototrophes sulfureuses dans le cadre de la précipitation induite par les micro-organismes. Source M.Carrier.

L'objectif est de sélectionner des populations de bactéries phototrophes sulfureuses (APSB) à partir de consortia microbiens environnementaux et d'étudier leur activité en termes de production d'exopolymères et de précipitation de carbonates en fonction de différentes conditions de croissance. Pour cela, au sein de la thèse de M. Carrier, nous avons tout d'abord débuté par l'analyse du métabolisme de souche pure d'APSB (*Allochromatium vinosum*) afin d'en établir les conditions de croissance (et donc de sélection) optimales. Les bactéries sulfureuses phototrophes anoxygéniques (APSB) peuvent favoriser la précipitation de minéraux carbonatés (Bundeleva et al., 2012). Cette étude en souche pure n'avait pour vocation que de valider nos outils d'analyses et systèmes de photobioréacteurs sur lesquels nous n'avions encore jamais travaillé.

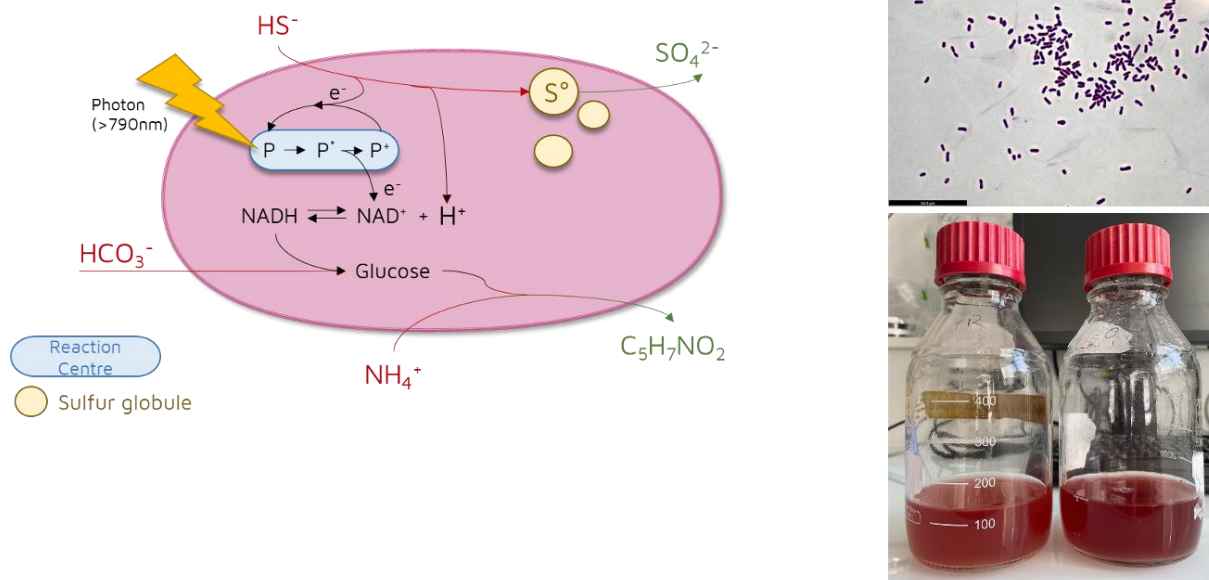


Figure 27 Métabolisme de *Allochromatium vinosum* et photos de la culture Source M.Carrier.

Nous souhaitons maintenant tester leur efficacité à bio-carbonater les lixiviats abiotiques et à générer des sous-produits intéressants, seuls ou en présence d'autres bactéries. Au sein du projet ANR CABIOCA (que je coordonne) mais aussi au sein du projet PEPR SPLEEN-CARBIOCEM (projet en cours d'évaluation) nous mettrons en place des photo-bioréacteurs (batchs et continus) afin de sélectionner les APSB, mais aussi des bactéries sulfato-réductrices (SRB) à partir de consortia microbiens naturels. Un suivi de la réduction du carbone inorganique et l'oxydation du soufre réduit (HS⁻) est nécessaire pour caractériser les activités microbiennes ainsi que la détermination de bilans de masse, notamment du soufre et du carbone, mais aussi de l'azote, du phosphore, du potassium, du calcium, du magnésium et du silicium. Enfin, analyser la cinétique de croissance microbienne pour évaluer l'impact de ces cultures sur leur écosystème (modification du pH, production d'EPS). Nous nous attacherons à quantifier la production d'EPS et à les caractériser. Des études au sein de l'équipes ont déjà été effectuées dans le domaine de la production d'exo-polymères (EPS) pour la production de floculant. Aussi les collaborations établies par le passé avec le Laboratoire de biotechnologies agroalimentaire et environnementale (LBAE) seront renouvelées. Les paramètres de fonctionnement seront explorés par une revue de la littérature afin de sélectionner certaines conditions optimales pour la croissance et la sélection microbienne et pour la précipitation de carbonates, c'est-à-dire (i) le type de lumière et son intensité (Capson-Tojo et al., 2020; Qi et al., 2018, 2017; Yu et al., 2021), (ii) la température, et (iii) la charge de CO₂ (ou d'ions carbonates). La diversité moléculaire des populations microbiennes sera caractérisée tout au long des expériences de sélection par l'analyse de l'ARN16S, en partenariat avec le Plateau Ecologie de TBI, la plateforme GeT-Biopuces de TBI et MetaToul FluxoMet. Une fois les consortia mis en place, nous testerons l'ajout de minéraux bruts sélectionnés dans le système à différentes densités de particules afin d'explorer leurs capacités en termes de biocarbonatation. Les précipités formés et/ou les matériaux exposés après les réactions seront analysés en termes de composition élémentaire, d'interaction, de minéralogie et d'observations au MEB pour étudier les interactions biomasse/précipité et leur localisation (intra ou extra cellulaire, interaction avec l'EPS).

IV.I. Perspectives dans le cadre de l'animation de la recherche

Depuis janvier 2021, je suis animatrice de l'équipe SYMBIOSE. J'ai eu à gérer de nombreux soucis de personnel et j'avoue que malgré tout, je commence à me sentir à l'aise dans cette gestion aussi, je souhaiterais, si les collègues sont d'accord, poursuivre sur un second mandat. Par la suite je laisserai la place à d'autres personnes de l'équipe.

En ce qui concerne l'animation au sein du département TRANSFORM, j'apprécie beaucoup ce travail de collaboration avec les collègues qui m'enrichi beaucoup. Je discuterai avec la cellule de direction pour voir s'il serait préférable de laisser place aux nouveaux ou pas. Et je libèrerai la place sans aucun souci le cas échéant. Mon implication au niveau du laboratoire devrait se poursuivre au niveau du CS et des GT.

V. CONCLUSION

Ce rapport met en évidence mes recherches axées sur le traitement, la valorisation des déchets, des résidus et des effluents, ainsi que sur l'utilisation du CO₂ pour réduire la pollution et développer de nouvelles voies innovantes pour la production d'énergie et de molécules substitutives aux molécules pétro-sourcées. Mon parcours professionnel à INRAE a débuté avec un focus sur la production d'énergie à partir de déchets par méthanisation, en réponse aux préoccupations environnementales telles que la préservation des ressources en eau, ce qui a impliqué l'utilisation de procédés en voie solide pour dégrader les déchets à faible teneur en eau. Mes premiers travaux ont porté sur la caractérisation et la compréhension de la dégradation et de la cinétique des procédés. Par la suite, j'ai orienté mes recherches vers la production de molécules et la valorisation des déchets par fermentation, en me penchant sur l'ingénierie des consortia microbiens pour optimiser les processus de fermentation. J'ai également exploré la possibilité de mettre en œuvre des procédés à plus grande échelle, voire hybrides, notamment dans le cadre de la méthanation biologique. Mon implication dans l'animation de la recherche s'est intensifiée au fil du temps, tant au niveau du département, du laboratoire que de mon équipe, justifiant ma demande d'habilitation à diriger des recherches et ma future candidature au concours de directeur de recherches à INRAE.

Tableau 4 : Composition complète des OMR sans et avec ventilation des éléments fins (ADEME 2010) utilisés dans le cadre des manipulations en lit percolant abiotique

Catégories	Sous-catégories	Composition sous-cat. (%)	Composition cat. sans ventilation des fines (%)	Composition cat. avec ventilation des fines (%)
1-Déchets putrescibles	Déchets alimentaires (restes de cuisine)	22.82%	30.93%	39.6%
	Produits alimentaires (sous emballage)	2.19%		
	Autres putrescibles	1.20%		
	Déchets de jardin	4.72%		
2-Papiers	Emballage papiers	1.19%	10.33%	10.5%
	Journaux, magazines et revues	2.97%		
	Imprimés publicitaires	3.00%		
	Papiers bureautiques	2.20%		
	Autres papiers	0.97%		
3-Cartons	Emballages cartons plats	3.10%	5.69%	5.7%
	Emballages cartons ondulés	2.43%		
	Autres cartons	0.17%		
4-Composites	Composites ELA	0.51%	1.69%	1.7%
	Autres emballages composites	0.87%		
5-Textiles	Petits appareils électroménagers	0.30%	2.32%	2.3%
	Textiles	2.32%		
6-Textiles sanitaires	Textiles sanitaires fraction hygiénique	6.15%	10.50%	10.6%
	Textiles sanitaires fraction papiers souillés	4.34%		
7-Plastiques	Films polyoléfines (PE/PP)	4.25%	11.43%	11.7%
	Bouteilles et flacons en PET	0.76%		
	Bouteilles et flacons en polyoléfines	0.64%		
	Autres emballages plastiques	3.58%		
	Autres plastiques	2.20%		
8-Combustibles non classés	Emballages en bois	0.36%	2.44%	2.6%
	Autres combustibles	2.08%		
9-Verre	Emballages en verre incolore	2.59%	5.75%	6.3%
	Emballage en verre de couleur	2.84%		
	Autres verres	0.32%		
10-Métaux	Emballages métaux ferreux	1.72%	2.87%	3.0%

	Emballages aluminium	0.38%		
	Autres métaux ferreux	0.49%		
	Autres métaux	0.27%		
11-Incombustibles non classés	Emballages incombustibles	0.11%	2.57%	5.3%
	Autres incombustibles	2.46%		
	Produits chimiques	0.42%		
12-Déchets ménagers spéciaux	Tubes fluorescents et ampoules basse consommation	0.01%	0.81%	0.8%
	Piles et accumulateurs	0.04%		
	Autres déchets ménagers spéciaux	0.34%		
13- Fines <20 mm	Fines <20 mm	12.67%	12.67%	0.0%

VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES CITEES DANS LE DOCUMENT

- A Roadmap to a Thriving Industrial Biotechnology Sector in Europe, n.d. . Renewable Carbon. URL <http://bio-based.eu/downloads/a-roadmap-to-a-thriving-industrial-biotechnology-sector-in-europe/> (accessed 5.18.20).
- Abbassi-Guendouz, A., Brockmann, D., Trably, E., Dumas, C., Delgenès, J.-P., Steyer, J.-P., Escudié, R., 2012. Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation. *Bioresource technology* 111, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.174>
- ADEME, 2017. MODECOM 2017 - Campagne nationale de caractérisation des déchets ménagers et assimilés.
- Agler, M.T., Wrenn, B.A., Zinder, S.H., Angenent, L.T., 2011. Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform. *Trends in Biotechnology* 29, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.11.006>
- Agneessens, L.M., Ottosen, L.D.M., Andersen, M., Berg Olesen, C., Feilberg, A., Kofoed, M.V.W., 2018. Parameters affecting acetate concentrations during in-situ biological hydrogen methanation. *Bioresource Technology* 258, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.102>
- Amend, J.P., Shock, E.L., 2001. Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 25, 175–243. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00576.x>
- Azbar, N., Ursillo, P., Speece, R.E., 2001. Effect of process configuration and substrate complexity on the performance of anaerobic processes. *Water research* 35, 817–29.
- Babich, O., Ivanova, S., Michaud, P., Budenkova, E., Kashirskikh, E., Anokhova, V., Sukhikh, S., 2024. Fermentation of micro- and macroalgae as a way to produce value-added products. *Biotechnology Reports* 41, e00827. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2023.e00827>
- Bastidas-Oyanedel, J.-R., Bonk, F., Thomsen, M.H., Schmidt, J.E., 2015. Dark fermentation biorefinery in the present and future (bio)chemical industry. *Rev Environ Sci Biotechnol* 14, 473–498. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9369-3>
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H., Vavilin, V.A., 2002. The IWA anaerobic digestion model N°1 (ADM1). *Water Science and Technology* 45, 65–73.
- Bundeleva, I.A., Shirokova, L.S., Bénézech, P., Pokrovsky, O.S., Kompantseva, E.I., Balor, S., 2012. Calcium carbonate precipitation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Chemical Geology* 291, 116–131. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.10.003>
- Bundeleva, I.A., Shirokova, L.S., Pokrovsky, O.S., Bénézech, P., Ménez, B., Gérard, E., Balor, S., 2014. Experimental modeling of calcium carbonate precipitation by cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. *Chemical Geology* 374–375, 44–60. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2014.03.007>
- Capson-Tojo, G., Batstone, D.J., Grassino, M., Vlaeminck, S.E., Puyol, D., Verstraete, W., Kleerebezem, R., Oehmen, A., Ghimire, A., Pikaar, I., Lema, J.M., Hülsen, T., 2020. Purple phototrophic bacteria for resource recovery: Challenges and opportunities. *Biotechnol Adv* 43, 107567. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107567>
- Capson-Tojo, G., Trably, E., Rouez, M., Crest, M., Bernet, N., Steyer, J.-P., Delgenès, J.-P., Escudié, R., 2018. Cardboard proportions and total solids contents as driving factors in dry co-fermentation of food waste. *Bioresource Technology, Bioconversion of Food Wastes* 248, 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.040>
- Coma, M., Martinez-Hernandez, E., Abeln, F., Raikova, S., Donnelly, J., Arnot, T.C., Allen, M.J., Hong, D.D., Chuck, C.J., 2017. Organic waste as a sustainable feedstock for platform chemicals. *Faraday Discuss* 202, 175–195. <https://doi.org/10.1039/c7fd00070g>
- Cui, Z., Shi, J., Li, Y., 2011. Solid-state anaerobic digestion of spent wheat straw from horse stall. *Bioresource technology* 102, 9432–9437. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.062>
- Desbois, S., Lotti, J., n.d. Determinant impact of waste collection and composition on anaerobic digestion performance : industrial results 291–297.
- Draget, K.I., Smidsrød, P.O., Skjold, P.G., 2005. Alginates from Algae. *Biopolymers online* 1–30. <https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol6008>
- Drake, H.L., Göbner, A.S., Daniel, S.L., 2008. Old Acetogens, New Light. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1125, 100–128. <https://doi.org/10.1196/annals.1419.016>
- Dumas, C., Silva Ghizzi Damanesco, G., Barakat, A., Carrère, H., Steyer, J.-P., Rouau, X., 2015. Effects of grinding processes on anaerobic digestion of wheat straw. *Industrial Crops and Products* In press. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.043>
- Dupraz, C., Visscher, P.T., 2005. Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. *Trends in Microbiology* 13, 429–438. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.07.008>
- [Etude] Un mix de gaz 100% renouvelable en 2050 ? [WWW Document], n.d. . ADEME Presse. URL <https://presse.ademe.fr/2018/01/etude-un-mix-de-gaz-100-renouvelable-en-2050.html> (accessed 4.25.24).
- Fuentes, L., Palomo-Briones, R., de Jesús Montoya-Rosales, J., Braga, L., Castelló, E., Vesga, A., Tapia-Venegas,

E., Razo-Flores, E., Ecthebehere, C., 2021. Knowing the enemy: homoacetogens in hydrogen production reactors. *Appl Microbiol Biotechnol* 105, 8989–9002. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11656-6>

Genovese, G., Faggio, C., Gugliandolo, C., Torre, a, Spanò, a, Morabito, M., Maugeri, T.L., 2012. In vitro evaluation of antibacterial activity of *Asparagopsis taxiformis* from the Straits of Messina against pathogens relevant in aquaculture. *Marine environmental research* 73, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2011.10.002>

Gestion des déchets et recyclage: le Conseil adopte de nouvelles règles [WWW Document], n.d. URL <http://www.consilium.europa.eu/fr/press/press-releases/2018/05/22/waste-management-and-recycling-council-adopts-new-rules/> (accessed 5.18.20).

Jard, G., Jackowiak, D., Carrère, H., Delgenes, J.P., Torrijos, M., Steyer, J.P., Dumas, C., 2012. Batch and semi-continuous anaerobic digestion of *Palmaria palmata*: Comparison with *Saccharina latissima* and inhibition studies. *Chemical Engineering Journal* 209, 513–519. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.08.010>

Jin, Q., Kirk, M.F., 2018. pH as a Primary Control in Environmental Microbiology: 2. Kinetic Perspective. *Front. Environ. Sci.* 6. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00101>

Jones, R.J., Massanet-Nicolau, J., Guwy, A., Premier, G.C., Dinsdale, R.M., Reilly, M., 2015. Removal and recovery of inhibitory volatile fatty acids from mixed acid fermentations by conventional electrodialysis. *Bioresource Technology* 189, 279–284. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.001>

Karekar, S., Stefanini, R., Ahring, B., 2022. Homo-Acetogens: Their Metabolism and Competitive Relationship with Hydrogenotrophic Methanogens. *Microorganisms* 10, 397. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020397>

Khunnonkwao, P., Jantama, K., Kanchanatawee, S., Galier, S., Roux-de Balman, H., 2018. A two steps membrane process for the recovery of succinic acid from fermentation broth. *Separation and Purification Technology* 207, 451–460. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.06.056>

Koster, I.W., Koomen, E., 1988. Ammonia inhibition of the maximum growth rate (μ_m) of hydrogenotrophic methanogens at various pH-levels and temperatures. *Appl Microbiol Biotechnol* 28, 500–505. <https://doi.org/10.1007/BF00268222>

Laguillaumie, L., Rafrafi, Y., Moya-Leclair, E., Delagnes, D., Dubos, S., Spérandio, M., Paul, E., Dumas, C., 2022. Stability of ex situ biological methanation of H₂/CO₂ with a mixed microbial culture in a pilot scale bubble column reactor. *Bioresource Technology* 354, 127180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127180>

Liew, F., Henstra, A.M., Winzer, K., Köpke, M., Simpson, S.D., Minton, N.P., 2016. Insights into CO₂ Fixation Pathway of *Clostridium autoethanogenum* by Targeted Mutagenesis. *mBio* 7, e00427-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.00427-16>

MacArtain, P., Gill, C., Brooks, M., Campbell, R., Rowland, I., 2007. Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition reviews* 65, 535–43.

Mohammadi, M., Mohamed, A.R., Najafpour, G.D., Younesi, H., Uzir, M.H., 2014. Kinetic Studies on Fermentative Production of Biofuel from Synthesis Gas Using *Clostridium ljungdahlii*. *The Scientific World Journal* 2014, e910590. <https://doi.org/10.1155/2014/910590>

Morand, P., Carpentier, B., Charlier, R.H., Mazé, J., Orlandini, M., Plunkett, B.A., de Waart, J., 1991. *Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential*. John Wiley & Sons, Chichester.

Moscoviz, R., Trably, E., Bernet, N., Carrère, H., 2018. The environmental biorefinery: state-of-the-art on the production of hydrogen and value-added biomolecules in mixed-culture fermentation. *Green Chem.* 20, 3159–3179. <https://doi.org/10.1039/C8GC00572A>

Motte, J.-C., Escudié, R., Beauvils, N., Steyer, J.-P., Bernet, N., Delgenes, J.-P., Dumas, C., 2014. Morphological structures of wheat straw strongly impacts its anaerobic digestion. *Industrial Crops and Products* 52, 695–701. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.038>

Motte, J.-C., Escudié, R., Hamelin, J., Steyer, J.-P., Bernet, N., Delgenes, J.-P., Dumas, C., 2014. Substrate milling pretreatment as a key parameter for Solid-State Anaerobic Digestion optimization. *Bioresource Technology* 173, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.015>

Motte, J.-C., Trably, E., Escudié, R., Hamelin, J., Steyer, J.-P., Bernet, N., Delgenes, J.-P., Dumas, C., 2013a. Total solids content: a key parameter of metabolic pathways in dry anaerobic digestion. *Biotechnology for Biofuels* 6, 164. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-164>

Motte, J.-C., Trably, E., Escudié, R., Hamelin, J., Steyer, J.-P., Bernet, N., Delgenes, J.-P., Dumas, C., 2013b. Total solids content: a key parameter of metabolic pathways in dry anaerobic digestion. *Biotechnology for Biofuels* 6, 164. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-164>

Noguer, M.C., Escudié, R., Bernet, N., Eric, T., 2022. Populational and metabolic shifts induced by acetate, butyrate and lactate in dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy* 47, 28385–28398. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.06.163>

Pace, A., Bourillot, R., Bouton, A., Vennin, E., Braissant, O., Dupraz, C., Duteil, T., Bundeleva, I., Patrier, P., Galaup, S., Yokoyama, Y., Franceschi, M., Virgone, A., Visscher, P.T., 2018. Formation of stromatolite lamina at the interface of oxygenic-anoxygenic photosynthesis. *Geobiology* 16, 378–398. <https://doi.org/10.1111/gbi.12281>

Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gomez, E., 1991. Kinetics of Anaerobic Treatment. *Water Science and Technology* 24, 35–59. <https://doi.org/10.2166/wst.1991.0217>

Peu, P., Sassi, J.-F., Girault, R., Picard, S., Saint-Cast, P., Béline, F., Dabert, P., 2011. Sulphur fate and anaerobic biodegradation potential during co-digestion of seaweed biomass (*Ulva* sp.) with pig slurry. *Bioresource technology* 102, 10794–802. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.096>

Qi, X., Ren, Y., Tian, E., Wang, X., 2017. The exploration of monochromatic near-infrared LED improved anoxygenic photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas* sp. for wastewater treatment. *Bioresource Technology* 241, 620–626. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.202>

Qi, X., Tian, E., Ren, Y., Wang, X., 2018. A weak infrared light strengthens anoxygenic photosynthetic bacteria activated sludge for the anaerobic biodegradation of polylactic acid in microbial fuel cell systems. *Polymer Degradation and Stability* 157, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.09.024>

Rafrafi, Y., Laguillaumie, L., Dumas, C., 2020. Biological Methanation of H₂ and CO₂ with Mixed Cultures: Current Advances, Hurdles and Challenges. *Waste Biomass Valor.* <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01283-z>

Reguera, G., McCarthy, K.D., Mehta, T., Nicoll, J.S., Tuominen, M.T., Lovley, D.R., 2005. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature* 435, 1098–1101. <https://doi.org/10.1038/nature03661>

Rinaudo, M., 2007. Seaweed polysaccharides, in: Elsevier (Ed.), *Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to Systems Biology*. New York, pp. 691–735.

Rocamora, I., Wagland, S., Villa, R., Simpson, E., Fernandez, O., Bajon-Fernandez, Y., 2020. Dry anaerobic digestion of organic waste: A review of operational parameters and their impact on process performance. *BIORESOURCE TECHNOLOGY* 299. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122681>

Salehizadeh, H., Yan, N., Farnood, R., 2020. Recent advances in microbial CO₂ fixation and conversion to value-added products. *Chemical Engineering Journal* 124584. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124584>

Salek, S.S., Kleerebezem, R., Jonkers, H.M., Witkamp, G., van Loosdrecht, M.C.M., 2013. Mineral CO₂ sequestration by environmental biotechnological processes. *Trends in Biotechnology, Special Issue: Celebrating 30 years of biotechnology* 31, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.005>

Schieb, P.-A., Lescieux-Katir, H., Thénot, M., Clément-Larosière, B., 2015. Biorefinery 2030: Future prospects for the bioeconomy. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-47374-0>

Shewani, A., 2016. Méthanisation discontinue en voie solide statique à percolation : caractérisation et modélisation d'un système réactif à double porosité. Doctorat Université de Toulouse.

Shewani, A., Horgue, P., Pommier, S., Debenest, G., Lefebvre, X., Gandon, E., Paul, E., 2015. Assessment of percolation through a solid leach bed in dry batch anaerobic digestion processes. *Bioresource Technology* 178, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.017>

Shi, J., Wang, Z., Stiverson, J.A., Yu, Z., Li, Y., 2013. Reactor performance and microbial community dynamics during solid-state anaerobic digestion of corn stover at mesophilic and thermophilic conditions. *Bioresource technology* 136, 574–81. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.073>

Shirokova, L.S., Kunhel, L., Rols, J.-L., Pokrovsky, O.S., 2015. Experimental Modeling of Cyanobacterial Bloom in a Thermokarst Lake: Fate of Organic Carbon, Trace Metal, and Carbon Sequestration Potential. *Aquat Geochem* 21, 487–511. <https://doi.org/10.1007/s10498-015-9269-8>

Spring, S., Rosenzweig, F., 2006. The Genera *Desulfitobacterium* and *Desulfosporosinus*: Taxonomy, in: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes: Volume 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*. Springer US, New York, NY, pp. 771–786. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_24

Stams, A.J.M., Plugge, C.M., de Bok, F. a. M., van Houten, B.H.G.W., Lens, P., Dijkman, H., Weijma, J., 2005. Metabolic interactions in methanogenic and sulfate-reducing bioreactors. *Water Sci Technol* 52, 13–20.

Stratégie Nationale Bas-Carbone (SNBC) [WWW Document], n.d. . Ministère Écologie Énergie Territoires. URL <https://www.ecologie.gouv.fr/strategie-nationale-bas-carbone-snbc> (accessed 7.10.22).

Sun, R.-C., 2010. Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels - 9780444532343|ScienceDirect.com.

Theil, S., Rifa, E., 2021. rANOMALY: AmplicoN wOrkflow for Microbial community AnaLYsis. *F1000Res* 10, 7. <https://doi.org/10.12688/f1000research.27268.1>

Umpuch, C., Galier, S., Kanchanatawee, S., Balmann, H.R., 2010. Nanofiltration as a purification step in production process of organic acids: Selectivity improvement by addition of an inorganic salt. *Process Biochemistry* 45, 1763–1768. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.01.015>

URBIOFIN Project [WWW Document], n.d. . URBIOFIN Project. URL <https://www.urbiofin.eu/> (accessed 5.18.20).

Valgepea, K., de Souza Pinto Lemgruber, R., Abdalla, T., Binos, S., Takemori, N., Takemori, A., Tanaka, Y., Tappel, R., Köpke, M., Simpson, S.D., Nielsen, L.K., Marcellin, E., 2018. H₂ drives metabolic rearrangements in gas-fermenting *Clostridium autoethanogenum*. *Biotechnology for Biofuels* 11, 55. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1052-9>

Villemur, R., Lanthier, M., Beaudet, R., Lépine, F., 2006. The *Desulfitobacterium* genus. *FEMS Microbiology Reviews* 30, 706–733. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00029.x>

Wang, Q., Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., 2015. Effect of initial total solids concentration on volatile fatty acid

production from food waste during anaerobic acidification. *Environmental Technology* 36, 1884–1891. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1015454>

Wasewar, K.L., Pangarkar, V.G., Heesink, A.B.M., Versteeg, G.F., 2003. Intensification of enzymatic conversion of glucose to lactic acid by reactive extraction. *Chemical Engineering Science* 58, 3385–3393. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(03\)00221-5](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(03)00221-5)

Wei, N., Quarterman, J., Jin, Y., 2013. Marine macroalgae: an untapped resource for producing fuels and chemicals. *Trends in biotechnology* 31, 70–7. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.10.009>

Weijma, J., Gubbels, F., Hulshoff Pol, L.W., Stams, A.J.M., Lens, P., Lettinga, G., 2002. Competition for H₂ between sulfate reducers, methanogens and homoacetogens in a gas-lift reactor. *Water Sci Technol* 45, 75–80.

Xu, N., Liu, S., Xin, F., Zhou, J., Jia, H., Xu, J., Jiang, M., Dong, W., 2019. Biomethane Production From Lignocellulose: Biomass Recalcitrance and Its Impacts on Anaerobic Digestion. *FRONTIERS IN BIOENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY* 7. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00191>

Younesi, H., Najafpour, G., Mohamed, A.R., 2005. Ethanol and acetate production from synthesis gas via fermentation processes using anaerobic bacterium, *Clostridium ljungdahlii*. *Biochemical Engineering Journal* 27, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2005.08.015>

Yousuf, A., Bastidas-Oyanedel, J.-R., Schmidt, J.E., 2018. Effect of total solid content and pretreatment on the production of lactic acid from mixed culture dark fermentation of food waste. *Waste Management* 77, 516–521. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.04.035>

Yu, S., Peng, L., Xu, Y., Song, S., Xie, G.-J., Liu, Y., Ni, B.-J., 2021. Optimizing light sources for selective growth of purple bacteria and efficient formation of value-added products. *Journal of Cleaner Production* 280, 124493. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124493>

Zhou, M., Yan, B., Wong, J.W.C., Zhang, Y., 2018. Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource Technology, Bioconversion of Food Wastes* 248, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>

