

THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : Sciences pour l'Environnement Gay Lussac

Secteur de Recherche : Géochimie Organique

Présentée par :

David KPOGBEMABOU

PROCEDE DE FABRICATION DE BIOCARBURANTS A PARTIR DE BIOMASSE

LIGNOCELLULOSIQUE BIOLOGIQUEMENT DESTRUCTUREE

Directeurs de Thèse :

A. AMBLÈS, Professeur, Université de Poitiers
L. LEMÉE, Ingénieur de recherche, Université de Poitiers

Soutenue le 06 Mai 2011

Devant la Commission d'Examen

JURY

Dr C. MASSIANI	Professeur, Université de Provence	Rapporteur
Dr J-R DISNAR	DR CNRS, Université d'Orléans	Rapporteur
Dr M. HALIM	Professeur, Université de Rabat	Examineur
Dr P. MAGNOUX	DR CNRS, Université de Poitiers	Examineur
Dr A. AMBLÈS	Professeur, Université de Poitiers	Examineur
Dr L. LEMÉE	Ingénieur de Recherche, Université de Poitiers	Examineur
Dr L. PINARD	Maître de Conférences, Université de Poitiers	Examineur
Dr F. BATAILLE	Ingénieur de Recherche, VALAGRO	Examineur

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX	10
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION GENERALE	12
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	15
INTRODUCTION	16
CHAPITRE I : COMPOSITION DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE	19
I. LA PAROI PRIMAIRE	19
I.1. LES GLUCIDES	19
I.2. LES SUBSTANCES PECTIQUES	22
I.3. LES PROTEINES	23
II. LA PAROI SECONDAIRE	23
II.1. LES LIGNINES	23
II.2. CUTINES, SUBERINES ET CIRES	25
III. LES AUTRES COMPOSES	27
CONCLUSION	28
CHAPITRE II : FRACTIONNEMENT DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE	29
I. FRACTIONNEMENT BIOCHIMIQUE : SEPARATION DES CONSTITUANTS LIGNOCELLULOSIQUES	29
II. FRACTIONNEMENT CHIMIQUE : SEPARATION DES DIFFERENTES FORMES DE MATIERE ORGANIQUE	31
II.2. LES LIPIDES	33
II.3. LES SUBSTANCES HUMIQUES	33
II.3.1. LES ACIDES « FULVIQUES »	35
II.3.2. LES ACIDES « HUMIQUES »	36
II.3.3. L'HUMINE	37
CONCLUSION	37
CHAPITRE III BIODEGRADATION DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE	39
I. PRINCIPE DE L'ELABORATION DU COMPOST	39
I.1. LES PHASES DU COMPOSTAGE	39
I.2. EVOLUTION DE LA MO AU COURS DU COMPOSTAGE	41
II. PARAMETRES DE BIODEGRADATION	43
II.1. LE BIO REACTEUR	43
II.2. LE CHOIX DES INTRANTS	43

II.3.	LE TAUX D'HUMIDITE	44
II.4.	L'AERATION	45
III.	PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES	45
III.1.	LA TEMPERATURE.....	45
III.2.	LE PH	46
III.3.	LA MINERALISATION	46
III.4.	LE TEST D'AUTO-ECHAUFFEMENT	46
IV.	CRITERES D'EVOLUTION MOLECULAIRE	46
IV.1.	LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER EN REFLEXION DIFFUSE (DRIFTS)	47
IV.2.	ANALYSES THERMIQUES GRAVIMETRIQUES ET DIFFERENTIELLES.....	49
IV.3.	LA THERMOCHIMIOLYSE ET LA PYROLYSE MULTISHOT	49
	CONCLUSION.....	50
	CHAPITRE IV : CONVERSION ENERGETIQUE DE LA BIOMASSE : LA LIQUEFACTION.....	51
I.	LES FILIERES DE CONVERSION	51
II.	CONDITIONS DE LIQUEFACTION	52
II.1.	ROLE DE LA TEMPERATURE.....	53
II.2.	ROLE DU SOLVANT	54
II.3.	ROLE DU CATALYSEUR ET DU GAZ REDUCTEUR	55
III.	LES DIFFERENTS PROCEDES DE LIQUEFACTION.....	55
III.1.	LA LIQUEFACTION DU BOIS.....	55
III.2.	LA LIQUEFACTION DES FRACTIONS DU BOIS	56
	CONCLUSION.....	57
	PARTIE 1 :	59
	DESTRUCTURATION DE LA BIOMASSE	59
	CHAPITRE I : CONDITIONS DE DESTRUCTURATION	61
I.	CHOIX DES INTRANTS	61
I.1.	COMPOSITION DES DEUX MELANGES	62
I.2.	CARACTERISATION DES INTRANTS.....	63
II.	PARAMETRES DE BIODEGRADATION	64
II.1.	LE TAUX D'HUMIDITE	64
II.2.	L'AERATION.....	64
III.	LE BIOREACTEUR.....	64
	CHAPITRE II : EVOLUTION DE LA BIOMASSE AU COURS DE LA DESTRUCTURATION.....	67

I. LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES	67
I.1. LA TEMPERATURE.....	67
I.2. LE PH	69
I.3. ANALYSE ELEMENTAIRE.....	70
II. ACTIVITE BIOLOGIQUE	73
II.1. L'AUTO ECHAUFFEMENT	73
II.2. LA MINERALISATION	75
III. EVOLUTION STRUCTURALE	75
III.1. LES ANALYSES THERMIQUES	75
III.2. LES ANALYSES SPECTROSCOPIQUES.....	79
CONCLUSION.....	82
CHAPITRE III : ETUDE MOLECULAIRE	83
I. LA THERMODESORPTION HEADSPACE-GC/MS	83
II. LA THERMOCHIMIOLYSE ET LA PYROLYSE MULTISHOT	86
III. COMPOSITION DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE AU COURS DE LA BIODEGRADATION	90
IV. FRACTIONNEMENT DE LA MOT DE LA BIOMASSE	92
IV.1. ANALYSE DES LIPIDES.....	95
IV.2. ANALYSE DES FRACTIONS HUMIQUES	110
IV.2.1. INDICE D'HUMIFICATION	110
IV.2.2. ANALYSES GLOBALES	112
IV.2.3. ANALYSE MOLECULAIRE	115
CONCLUSION.....	117
SYNTHESE DES RESULTATS DE DESTRUCTURATION	120
PARTIE 2 :	122
LIQUEFACTION DE LA BIOMASSE	122
INTRODUCTION	123
CHAPITRE I : OPTIMISATION DES CONDITIONS DE LIQUEFACTION.....	124
I. EFFET DE LA DUREE DE LIQUEFACTION	124
II. INFLUENCE DES PARAMETRES DE LIQUEFACTION	124
II.1. ROLE DU SOLVANT ET DU CATALYSEUR.....	124
II.2. INFLUENCE DES PARAMETRES DE LIQUEFACTION SUR LE TAUX DE CONVERSION 127	
II.3. ETUDE QUANTITATIVE.....	128

II.4.	ETUDE QUALITATIVE	129
II.5.	ETUDE MOLECULAIRE	131
III.	EFFET DE LA TEMPERATURE DE LIQUEFACTION.....	133
III.1.	ETUDE QUANTITATIVE.....	133
III.2.	ETUDE QUALITATIVE	135
III.2.1.	SUR L’HUILE DE SOLVOLYSE	135
III.2.2.	SUR L’HUILE DE SOLVOLYSE SOLUBLE DANS L’HEXANE	136
III.3.	ETUDE MOLECULAIRE	137
	CONCLUSION.....	139
	CHAPITRE II : EFFET DE LA DESTRUCTURATION SUR LA REACTION DE LIQUEFACTION	141
I.	REACTION DE LIQUEFACTION	141
II.	ANALYSE DES LIQUIDES	142
III.	CARACTERISATION DES PRODUITS SECONDAIRES DE SOLVOLYSE.....	152
III.1.	PYROLYSE DU RESIDU	152
III.2.	COMPOSITION ELEMENTAIRE DU RESIDU	153
	CHAPITRE III : LIQUEFACTION DES DIFFERENTES FRACTIONS HUMIQUES	156
I.	ANALYSE DES PRODUITS DE LIQUEFACTION	156
I.1.	ETUDE QUANTITATIVE.....	156
I.2.	ETUDE QUALITATIVE	159
II.	COMPOSITION DE L’HUILE DE SOLVOLYSE SOLUBLE DANS L’HEXANE	161
	SYNTHESE DES RESULTATS DE LIQUEFACTION DE LA BIOMASSE	166
	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	171
	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	Erreur ! Signet non défini.
	PARTIE EXPERIMENTALE	175
I.	MISE AU POINT DE LA BIODEGRADATION.....	176
I.1.	LA TEMPERATURE.....	176
I.2.	LE TAUX D’HUMIDITE	177
I.3.	L’AUTO ECHAUFFEMENT	177
I.4.	LE PH	177
I.5.	LE TAUX DE MATIERE ORGANIQUE.....	177
I.6.	LA MINERALISATION	178
II.	ECHANTILLONNAGE	178
III.	MISE AU POINT DE LA LIQUEFACTION	179
	REFERENCES	190

LISTE DES FIGURES

Figure 0-I Représentation schématique des parois primaire et secondaire	19
Figure I.1-I: Unités de base de la cellulose reliées par une liaison β -(1-4)-glycosidique	21
Figure I.1-II: Structure des monomères des hémicelluloses	22
Figure II.1-I Les trois monolignols constitutifs de la lignine	24
Figure II.1-II : Structure schématique de la lignine de hêtre (<i>Lüdemann, 1974</i>)	24
Figure II.2-I Modèle de la subérine de pomme de terre. Les connections indiquées sont respectivement C : polysaccharide ; P : groupe phénolique et S : subérine (<i>Bernards, 2002</i>)	26
Figure III-I: Structure générale des monomères des tannins condensés	27
Figure III-II: Structure des monomères des tannins hydrolysables	28
Figure I-I : Protocole de fractionnement biochimique de la biomasse lignocellulosique	30
Figure II-I : Fractionnement chimique des différentes formes de matière organique	32
Figure II.3-I Evolution de la matière organique fraîche (MOF) en sédiments	34
Figure II.3-II Evolution de la MO au cours du processus de "diagénèse précoce d'après Tissot et Welte, 1984	35
Figure II.3.1-I : Structure de l'acide fulvique (<i>Alvarez-Puebla et al., 2006</i>)	36
Figure II.3.2-I : Structure simplifiée d'un acide humique (<i>Stevenson, 1982</i>)	37
Figure I.1-I: Courbe théorique d'évolution de la température au cours de la déstructuration (<i>Maystre et al., 1994</i>)	41
Figure I.2-I : Quatre voies du processus d'humification selon Stevenson (1994)	42
Figure I-I Différentes voies de conversion de la biomasse	51
Figure II.1-I Mécanisme de déshydrogénation de la tétraline et le transfert d'hydrogène vers les radicaux	54
Figure I.1-I Composition initiale des deux biomasses	63
Figure I.2-I Pyrogrammes à 600°C du gazon (a) et de la paille (b) Erreur ! Signet non défini.	
Figure III-I Réacteur de déstructuration de la biomasse lignocellulosique	65
Figure I.1-I Evolution de la température au cours de l'essai 1	68
Figure I.1-II Evolution de la température (Essai 2)	69
Figure I.2-I Evolution du pH de l'essai au cours de la déstructuration	69
Figure I.3-I Evolution du rapport C/N au cours du temps dans l'essai 2	71
Figure I.3-II Evolution du rapport O/C de l'essai 2 au cours du temps	72
Figure I.3-III Evolution du rapport H/C de l'essai 2 au cours du temps	73
Figure II.1-I Température maximale de chaque prélèvement	74
Figure II.2-I Vitesse de minéralisation de la MO (essai 1)	75
Figure III.1-I Courbes ATD et ATG montrant l'évolution de la biomasse de l'essai 2 au cours de la biodégradation	77
Figure III.1-II Évolution du rapport R_{ATG}	78
Figure III.2-I Spectres DRIFT de la MOT à t=0, 8, 22, 36 et 85 jours au cours de l'essai 2 ...	79
Figure III.2-II Evolution du rapport R-IR1 au cours du temps	80
Figure III.2-III Evolution du rapport R-IR2 de l'essai 2 au cours du temps	81
Figure I-I Courant ionique total obtenu par Headspace de la biomasse de l'essai 2	84
Figure I-II Evolution du rapport phytol/cétone iC_{18} obtenu par Headspace (essai 2)	85
Figure II-I Pyrolyse 200°C de la MOT de l'essai 2	86
Figure II-II Evolution du rapport phytol/ cétone iC_{18} par pyrolyse 200°C au cours de l'essai 2.	87
Figure II-III Pyrolyse 600°C de la MOT de l'essai 2	88
Figure II-IV Pyrogrammes à 600°C en présence de TMAH de la MOT	89

Figure II-V Evolution du rapport acide gras ramifiés/acides gras linéaires de la MOT (produits de thermochoimolyse)	90
Figure III-I Evolution de la composition biochimique de la MOT	91
Figure III-II Evolution du rapport lignine/holocelluloses	92
Figure IV-I Résultats du fractionnement IHSS de la MO de l'essai 1 au cours de la biodégradation	93
Figure IV-II Résultats du fractionnement IHSS de la MO de l'essai 2 au cours de la biodégradation	94
Figure IV.1-I Protocole de fractionnement des lipides	96
Figure IV.1-II Evolution des quantités de fraction neutre, acide et polaire de l'essai 1	97
Figure IV.1-III Evolution des quantités de fraction neutre, acide et polaire de l'essai 2	97
Figure IV.1-IV Courant ionique total de la fraction lipidique après dérivation au cours de la déstructuration	98
Figure IV.1-V Distribution des hydrocarbures dans les lipides de l'essai 2 (fragmentogramme $m/z=71$)	100
Figure IV.1-VI Spectre de masse de l'acétate de l'octacosanol	101
Figure IV.1-VII Distribution des alcools dans les lipides de l'essai 2 (fragmentogramme $m/z=61$)	102
Figure IV.1-VIII Distribution des acides gras dans les lipides de l'essai 2 (fragmentogramme $m/z=74$)	104
Figure IV.1-IX Evolution du rapport ramifié/linéaires obtenu par GC/MS de la fraction lipidique de l'essai 2	105
Figure IV.1-X Spectre de masse de l'□□□-diester méthylique en C_{24}	105
Figure IV.1-XI Evolution des ω hydroxyacides	106
Figure IV.1-XII Distribution des α - ω - hydroxyacides acides dans les lipides de l'essai 2 ..	106
Figure IV.1-XIII Evolution du rapport mono/diacides au cours de la déstructuration	107
Figure IV.1-XIV Spectres de masse de β -sitostérol et du stigmastadiène	108
Figure IV.1-XV Spectres de masse de la friedéline et du lupéol	108
Figure IV.1-XVI Spectres de masse de l'amyrine sous ses deux formes α et β	109
Figure IV.1-XVII Chaîne biosynthétique conduisant aux α - et β -amyrines à partir de l'époxysqualène (<i>Mahato et Sen, 1997 ; Som, 2006</i>)	110
Figure IV.2.1-I Evolution de l'indice d'humification au cours de la biodégradation	112
Figure IV.2.2-I ATD/ATG de l'humine (a), des acides humiques (b) et des acides fulviques (c) de la biomasse déstructurées à 85 jours	114
Figure IV.2.2-II Spectres DRIFTS des fractions humiques et de la MOT de l'essai 2 à 85 jour de biodégradation	115
Figure IV.2.3-I Pyrogrammes des fractions humiques de la biomasse de l'essai 2 déstructurée à 85 jours	116
Figure IV.2.3-II Pyrogrammes en présence de TMAH des acides humiques de l'essai 2	117
Figure I-I Influence de la durée de liquéfaction à 420°C de B_{85} sur la quantité d'huile de solvolysé	124
Figure II.1-I Processus de réaction de la tétraline au cours de la liquéfaction	125
Figure II.1-II Quantité d'hydrogène cédée par la tétraline à 1g de B_{85} (THT)	126
Figure II.2-I Influence de la température et du catalyseur sur taux de conversion	127
Figure II.3-I Rendements en gaz, liquide et solide au cours de la liquéfaction à 380°C de B_{85}	128
Figure II.3-II Effet du catalyseur sur la quantité et la composition de l'huile de solvolysé ..	129
Figure II.5-I Rôle du catalyseur sur la composition de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane de B_{85} à 380°C	131

Figure II.5-II Composition moléculaire de la fraction d'huile de solvolysé soluble dans l'hexane avec catalyseur à 380°C.....	132
Figure II.5-III Distribution des alcanes des solubles de B ₈₅ avec et sans catalyseur à 380°C.....	132
Figure III.1-I Evolution des quantités des produits de réaction à différentes températures...	134
Figure III.1-II Effet de la température de liquéfaction sur la composition de l'huile de solvolysé.....	135
Figure III.3-I Influence de la température sur la composition de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane de B ₈₅	138
Figure III.3-II Influence de la température de liquéfaction sur la sélectivité des hydrocarbures aliphatiques au cours de la liquéfaction pendant 15 minutes de B ₈₅	139
Figure I-I Influence de la déstructuration de la biomasse sur les quantités des produits de liquéfaction.....	142
Figure II-I Evolution des fractions de l'huile de solvolysé en fonction de la durée de déstructuration.....	144
Figure II-II Influence de la déstructuration sur la composition des solubles dans l'hexane..	145
Figure II-III Influence de la déstructuration sur la nature des huiles de solvolysé soluble dans l'hexane.....	146
Figure II-IV Composés aromatiques (extraction d'ion m/z = 77) des solubles de B ₈₅	147
Figure II-V Distribution des aliphatiques (extraction d'ion m/z = 85) des lipides et des solubles de B ₈₅	148
Figure II-VI Evolution du rapport pristane/phytane au cours de la déstructuration.....	149
Figure II-VII Fragmentogramme montrant l'influence de la déstructuration sur les hydrocarbures linéaires des solubles (extraction d'ions m/z=85).....	150
Figure II-VIII Distribution des alcanes de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé de B ₀ à 380°C.....	151
Figure II-IX Distribution des alcanes aliphatiques de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé de B ₈₅ à 380°C.....	151
Figure III.1-I Pyrogrammes de B ₈₅ et du résidu de liquéfaction à 600°C avec et sans catalyseur.....	152
Figure I.1-I Taux de conversion de la biomasse (B ₈₅) et des substances humiques par solvolysé à 380°C.....	157
Figure I.1-II Influence des fractions liquéfiées sur la quantité de produits formés.....	158
Figure I.1-III Evolution des quantités d'huile de solvolysé soluble et insoluble dans l'hexane à 380°C de B ₈₅ et de ses fractions humiques.....	159
Figure II-I Composition en hydrocarbures des solubles de B ₈₅ et des fractions humiques....	162
Figure II-II Composition moléculaire des fractions d'huile de solvolysé soluble dans l'hexane.....	163
Figure II-III Extraction d'ion m/z=85 montrant la distribution des hydrocarbures aliphatiques de l'humine et de B ₈₅	164
Figure II-IV Distribution des alcanes avec Hu ₈₅ et B ₈₅	165
Figure 0-I Diagramme de Van Krevelen montrant la qualité de l'huile de solvolysé obtenue dans les conditions optimales de liquéfaction.....	167
Figure III-I Montage réactionnel de liquéfaction.....	179
Figure III-II Dispositif expérimental de pyrolyse analytique AS 5250.....	185
Figure Protocole IHSS.....	214

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Potentiel énergétique mondial des différentes catégories de biomasse.....	16
Tableau 2 Bandes d'absorption infrarouge de la matière organique (d'après <i>Barriuso ,1985; Chen et al., 1993, Stevenson ,1994</i>)	48
Tableau 3 Tableau montrant les quantités de carbone de l'essai 2 au cours du temps	70
Tableau 4 Evolution des proportions en carbone et en azote au cours de la déstructuration...	71
Tableau 5 Proportions en carbone oxygène et hydrogène au cours de la déstructuration.....	71
Tableau 6 Auto échauffement de la biomasse au cours du temps.....	74
Tableau 7 Pourcentage massique associé aux pertes des phénomènes exothermiques.....	76
Tableau 8 Evolution de la matière organique au cours de la biodégradation	78
Tableau 9 Evolution du rapport R-IR ₂ au cours de la déstructuration	81
Tableau 10 : Evolution des quantités des fractions obtenues par IHSS au cours de l'essai 1..	93
Tableau 11 : Evolution des quantités des fractions obtenues par IHSS au cours de l'essai 2..	95
Tableau 12 Evolution du taux de lipides au cours de la déstructuration	95
Tableau 13 : Evolution du rapport AH/AF au cours de la déstructuration.....	111
Tableau 14 Taux de MO obtenu par ATG des fractions humique à 85 jours	112
Tableau 15 Composition élémentaires des fractions de la MO à 85 jours	113
Tableau 16 Evolution des critères physico-chimiques d'évaluation de la maturité des biomasses biodégradées	120
Tableau 17 Critères liants l'évolution de la maturité avec la structure moléculaire	121
Tableau 18 Composition élémentaire de l'huile de solvolysé avec et sans catalyseur à 380°C	130
Tableau 19 Influence de la température sur la composition et le PCS de l'huile de solvolysé	136
Tableau 20 Influence de la température sur la composition élémentaire et le PCS des solubles	137
Tableau 21 Effet du temps de biodégradation sur la conversion de la réaction de liquéfaction	141
Tableau 22 Analyse élémentaire et pouvoir calorifique supérieur de l'huile de solvolysé....	143
Tableau 23 Analyse élémentaire de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane en fonction de la durée de déstructuration de la biomasse.....	144
Tableau 24 Composition élémentaire des résidus après réaction à 380°C.....	153
Tableau 25 Composition élémentaire et pouvoir calorifique des huiles de solvolysé obtenus avec différentes fractions humiques et la biomasse B ₈₅	160
Tableau 26 Composition élémentaire et pouvoir calorifique des solubles dans l'hexane obtenus avec différentes fractions humiques et la biomasse B ₈₅	161
Tableau 27 Quantité de composés utilisé au cours de la liquéfaction.....	180
Tableau 28 Indication pour l'utilisation de sulfite au cours de l'analyse van Soest	209

LISTE DES ABREVIATIONS

DRIFTS	:	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (Réflexion Diffuse) « Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform »
TEP		Tonne Equivalent Pétrole
UFIP		Union Française des Industries Pétrolières
CG		Chromatographie en phase gazeuse
MS		spectrométrie de masse
COV		Composés Organiques Volatils
IR		Spectroscopie Infra rouge
MO		Matière Organique
MOT		Matière Organique Totale
HDO		Hydro désoxygénation
Py		Pyrolyse
TMAH		Hydroxyde de Tétraméthylammonium
GC/MS		Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HS		Headspace
COT		Carbone Organique Totale
ATD		Analyse Thermique différentielle
ATG		Analyse Thermique Gravimétrique
AE		Analyse Élémentaire
HC		Hydrocarbures
CCM		Chromatographie sur Couche Mince
AH		Acides Humiques
AF		Acides Fulviques
Hu		Humine
CIT		Courant Ionique Total
THT		Taux d'Hydrogène Transféré
PCS		Pouvoir Calorifique supérieur
MOF		Matière Organique Fraîche

INTRODUCTION GENERALE

Selon les rapports (2001 et 2007) du Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution Climatique (GIEC), les océans stockent 93% du carbone total de la planète, soit environ 39200 Gt. Les 7% restant se répartissent entre les sols (2%), les cultures (1%), l'atmosphère (1%) et la biomasse lignocellulosique (3%) non alimentaire (forêts, rémanents forestiers, co-produits de l'industrie du bois, déchets ménagers). En ce qui concerne la France, l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) estime à 7 millions de tonnes le gisement de déchets verts, à 92 millions de tonnes le gisement de déchets agricoles et à environ 50 millions celui des co-produits issus de l'industrie du bois. La biomasse lignocellulosique constitue donc en France un énorme potentiel énergétique. La filière la plus couramment utilisée pour la valorisation de ces réserves de biomasse reste le compostage. Cette technique est certes peu coûteuse à mettre en place, mais cependant offre peu de débouchés (amendements au sol) et un prix de revient faible de l'ordre de 5€ la tonne. Si ces réserves de biomasse végétale terrestre étaient valorisées en énergie, elles pourraient produire une quantité totale d'énergie de l'ordre de 62 millions de tonnes équivalent pétrole (MTep) par an (*Ballerini., 2006*). En outre, la biomasse lignocellulosique est aussi utilisée dans la production d'énergie électrique (<7%). La production d'électricité est aussi possible par voie géothermique (2%), éolienne (2%), hydraulique (89%) et solaire (<1%) (*Observ'ER, 2004*). Toutefois, la biomasse et les déchets sont peu valorisés comparativement au potentiel qu'ils représentent, d'où l'importance de mettre au point un procédé permettant une valorisation de la totalité de la biomasse/déchet en énergie.

De plus, d'après l'Union Française des Industries Pétrolières (UFIP), la consommation de gazole en France a été de l'ordre de 31 MTep en 2005. Dans le même temps, la production française de gazole a représenté 21 Mtep au cours de cette même année. Ainsi, les raffineries françaises, optimisées pour produire des supercarburants sont obligées d'importer chaque année des quantités de plus en plus importantes de gazole. D'autre part, on estime à 150 milliards de Tep les réserves de pétrole soit environ une quarantaine d'années au rythme actuel. En outre, les perspectives de développement des agro carburants restent limitées du fait des différents problèmes d'ordre éthique et moral (utilisation de ressources alimentaires et de surfaces agricoles) qu'ils posent.

La valorisation de la biomasse lignocellulosique non alimentaire en bio carburant reste une alternative. En effet, cette matière lignocellulosique étant bon marché, le coût de production de biocarburant devrait donc être compétitif par rapport à celui des carburants fossiles. De plus, la part de biocarburant comme additif aux carburants d'origine fossile fixée par des directives européennes est en constante augmentation. En effet, le 8 avril 2003, le Parlement Européen a approuvé la Directive 2003/30/CE visant à stimuler le développement des biocarburants en Europe. Cette Directive fixe des objectifs croissants de consommation en biocarburants dans le domaine des transports. Ces consommations devront représenter au minimum 5,75 % (sur une base énergétique) des consommations globales d'essence et de gazole utilisés dans les transports en 2010.

La conversion de composés lignocellulosiques en bio carburant peut être obtenue suivant deux voies principales : la voie biochimique et la voie thermochimique. La voie biochimique consiste en une digestion anaérobie directe conduisant à la production de méthane et de gaz carbonique ou une fermentation permettant d'obtenir de l'éthanol. La voie thermochimique quant à elle est utilisée pour la production de carburants liquides à partir de matériaux lignocellulosiques via des processus de gazéification, de pyrolyse, de conversion hydrothermale et de liquéfaction.

L'originalité de la voie proposée dans ce travail consiste à intégrer en amont de l'étape hydro liquéfaction catalytique, un prétraitement biologique qui a pour but de modifier la matière organique et d'augmenter le taux de conversion en bio carburant. La biomasse déstructurée sera ensuite transformée par un procédé d'hydro liquéfaction catalytique conduisant à une huile de solvolysé. Cette voie d'obtention de biocarburants s'inscrit pleinement dans une logique de recyclage et de valorisation de la biomasse lignocellulosique non alimentaire.

Après une étude bibliographique, la première partie de ce travail va s'articuler autour de l'optimisation du processus de biodégradation de la biomasse lignocellulosique. La seconde partie sera quant à elle consacrée à l'hydroliquéfaction catalytique et à la caractérisation de la bio huile obtenue. Une meilleure connaissance de la composition de la biomasse déstructurée et du processus de liquéfaction permettra alors de déterminer la nature de la fraction de la biomasse la plus récalcitrante à la liquéfaction et ainsi d'orienter la biodégradation. D'un point de vue fondamental, la compréhension des processus de dégradation de la matière organique permettra à terme de mieux appréhender les mécanismes de transformation du carbone dans les sols.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

La biomasse est définie comme la masse totale de l'ensemble des êtres vivants occupant, à un moment donné, un biotope bien défini (*Demirbas et al., 2008*). Ce terme désigne à la fois des organismes ou micro organismes vivants qui peuvent évoluer au cours du temps (*Adani et al., 2008*). La biomasse d'une forêt comprend donc aussi bien les arbres, leurs oiseaux et leurs insectes que le sous-bois ou la faune microscopique du sol.

La biomasse végétale terrestre représente à elle seule un potentiel énergétique de l'ordre de 270 milliards de tonnes. Actuellement, seulement 5% de cette réserve énergétique est mobilisable, soit 13,5 milliards de tonnes ou 6 milliards de TEP (Tonne Equivalent Pétrole). Cette ressource mobilisable représente 26% de la consommation mondiale d'énergie primaire (source : Conseil mondial de l'énergie). Le Tableau 1 montre la répartition du potentiel énergétique des différentes catégories de biomasse mobilisables. On peut donc schématiquement distinguer trois sources de biomasse végétale terrestre : les cultures non alimentaires, les résidus ou déchets de culture et les rémanents forestiers et/ou provenant de l'industrie du bois (*Hoogwijk et al., 2003*).

Tableau 1 Potentiel énergétique mondial des différentes catégories de biomasse

Produits agricoles non alimentaires tels que la paille	5,3 Gt
Résidus de culture (coques de lupin, riz, etc.)	3,5 Gt
Rémanents forestiers, industrie du bois	4,3 Gt

Pour la France métropolitaine, la biomasse agricole et forestière constitue le gisement énergétique le plus prometteur (ressources abondantes et bien réparties sur le territoire). La ressource de biomasse lignocellulosique mobilisable pourrait ainsi fournir 15% de la consommation actuelle d'énergie primaire (30 Mtep/an). De plus, la forêt française qui occupe 27% du territoire (soit 15 millions d'hectares), est en croissance continue chaque année (entre 30 000 à 80 000 ha par an). Cependant, selon des estimations du Ministère de l'Agriculture Français, entre le tiers et la moitié de l'accroissement annuel de la biomasse forestière n'est pas valorisé (Rapport d'information du Sénat n° 436 2005-2006).

La biomasse peut être valorisée selon 3 différentes voies : la chimie fine, l'agriculture et l'énergie.

La valorisation de la biomasse en chimie a pour objectif d'obtenir des bioproduits parmi lesquels sont regroupés les agro-matériaux comme les biopolymères, les fibres, les matériaux de construction (biomatériaux) et les produits issus de la «chimie du végétal» comme les tensioactifs, lubrifiants, solvants (biomolécules). Les biomatériaux sont fabriqués à partir de produits et sous-produits des céréales (amidon, gluten), des oléagineux et protéagineux ainsi que des plantes fibreuses (cellulose) et présentent l'avantage d'être totalement biodégradables.

Une seconde voie de valorisation de la biomasse est celle associée au compostage (*Dumas, et al., 2010*). En effet cette voie de transformation comporte plusieurs avantages. Les substrats obtenus après compostage peuvent être utilisés en agriculture pour un amendement au sol en tant que composts. De plus, cette voie de valorisation présente un double intérêt car les quantités d'énergie sont du même ordre de grandeur que celles obtenues par la combustion simple de ces mêmes déchets (énergie primaire). En effet, une tonne de biomasse produit du méthane ayant une valeur énergétique de l'ordre de 4,2 GJ ; soit 0,2 tonne équivalent pétrole (TEP) (source : International Energy Agency).

Enfin, une troisième voie possible de valorisation de la biomasse est la production de bioénergies. D'un point de vue énergétique, la biomasse a été définie après le premier choc pétrolier (1973) comme une masse vivante de laquelle l'on peut obtenir de l'énergie par combustion ou fermentation (gaz de broussailles, gaz de fumier, feu de bois). Le carbone de la biomasse constitue ainsi la principale source d'énergie renouvelable (*Wackett et al., 2009*). Cette voie de valorisation de la biomasse concerne les biocarburants, les biocombustibles et les biogaz visant à remplacer le carbone fossile pour produire de la chaleur ou de l'électricité. Elle est connue depuis le début de l'ère automobile 1903-1926 (*Payen, J., 1982*).

Les biocarburants ou agro carburants de première génération sont obtenus à partir de cultures oléagineuses (colza, tournesol), de cultures sucrières (betterave, canne à sucre) et de céréales (*Rao et al., 1992*). Leur obtention nécessite l'utilisation de grandes surfaces agricoles et de matières premières alimentaires. De ce fait, les biocarburants de première génération entrent directement en compétition avec la filière alimentaire et peuvent contribuer à

accentuer la crise alimentaire. Afin de pallier ces problèmes, une deuxième voie d'obtention de biocarburants a été imaginée.

Les biocarburants de deuxième génération sont obtenus à partir de sous produits agricoles et agro-industriels (*Demirbas et al., 2006*). Ils permettent une valorisation de la totalité de la biomasse et conduisent donc à de meilleurs rendements. Un avantage supplémentaire est qu'ils n'entrent pas en compétition avec la filière alimentaire. Le potentiel énergétique théorique de cette voie est énorme mais la disponibilité réelle des matières premières reste limitée et les rendements de transformation faibles. De plus, les biocarburants obtenus par cette voie présentent un taux d'oxygène élevé qui nécessite une étape supplémentaire de désoxygénation (HDO) en aval du processus de production.

Les agro-carburants de première génération sont d'ores et déjà couramment utilisés dans tous les véhicules puisqu'ils sont incorporés respectivement dans l'essence et le gazole et ne nécessitent pas de modification des moteurs.

Chapitre I :**Composition de la biomasse lignocellulosique**

Les constituants de la biomasse lignocellulosique sont essentiellement des composés comme les glucides, les pectines, les protéines, les lignines, les terpènes, les stéroïdes, les tannins, les cutines, les subérines et les cires. Ils participent à la structure très complexe de la biomasse lignocellulosique qui comprend les parois primaire et secondaire (Figure 0-I).

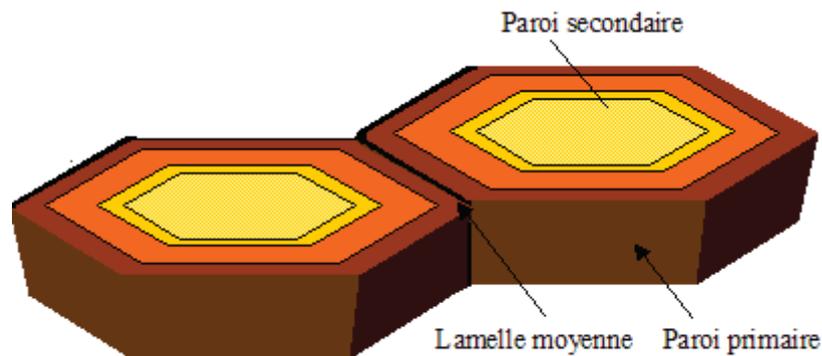


Figure 0-I Représentation schématique des parois primaire et secondaire

I. La paroi primaire

Structurellement, la paroi primaire se compose de glucides, de substances pectiques (ou pectines) et de protéines.

I.1. Les glucides

Les glucides, appelés aussi hydrates de carbone, sont des composés polyhydroxylés qui comprennent les oses communément appelés sucres simples, les holosides résultant de la polycondensation des sucres simples entre eux (oligosaccharides comprenant moins de 10 oses et polysaccharides) et les hétérosides qui sont des molécules complexes obtenues par association de sucres simples avec des substances non polymérisées (Arnaud, 1990).

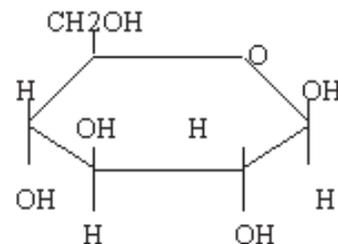
- ***Sucres simples***

Les sucres simples, appelés également monosaccharides ou oses, sont constitués de chaînes aliphatiques et ont pour formule brute $(C_nH_{2n}O_n)$. Ils possèdent plusieurs fonctions alcool et une fonction carbonyle. Les sucres simples sont très présents dans les végétaux. Abondants dans la matière lignocellulosique en décomposition, ils sont à la fois synthétisés et consommés par les microorganismes. Il est à noter que la présence de sucres simples au sein d'un substrat est conditionnée par des facteurs comme l'humidité et la température. Ils constituent la ressource principale en énergie des microorganismes (*Stevenson, 1994*).

- ***Polysaccharides***

Les polysaccharides constituent la forme principale des glucides dans la biomasse lignocellulosique (*Sparling et al., 1979; Stevenson, 1994*). Ce sont des homopolymères qui résultent de la condensation entre elles d'un grand nombre de molécules de sucres simples. Les polysaccharides sont d'origine végétale ou microbienne et ont une masse moléculaire très élevée. Dans la biomasse lignocellulosique ayant un niveau de décomposition avancé, les polysaccharides sont principalement issus du métabolisme microbien (*Stevenson, 1994*). La complexité de leur structure qui peut les rendre résistants aux attaques enzymatiques, leur adsorption sur des composés minéraux ou encore leur liaison avec des substances humiques peuvent conférer aux polysaccharides une certaine résistance à la biodégradation (*Stevenson, 1994*). Les polysaccharides d'origine végétale les plus abondants dans la biomasse lignocellulosique sont la cellulose et l'hémicellulose.

La cellulose est un polymère linéaire du glucose de formule moléculaire $(C_6H_{10}O_5)_n$ et de caractère cristallin dont le degré de polymérisation dépend de la matière végétale (coton, bois). Elle existe sous forme amorphe, ou sous forme cristalline plus résistante à la dégradation enzymatique et microbienne (*Stevenson, 1994*).



La cellulose qui constitue la paroi des cellules végétales est l'un des principaux constituants du bois. Elle est dégradée par des microorganismes aérobies et anaérobies tels que les champignons et les bactéries (*Smith et al., 1993; Duchaufour, 1997*). Les molécules de cellulose sont liées entre elles latéralement par des liaisons hydrogène entre les groupes hydroxyle et forment ainsi des fibrilles (*Elamin, 1992*).

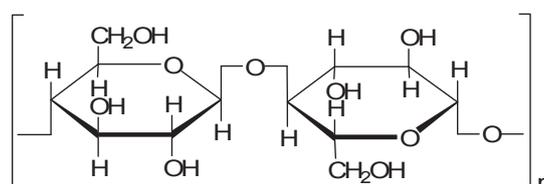
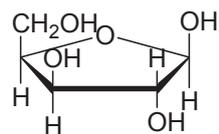
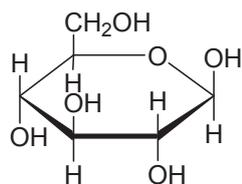


Figure I.1-I: Unités de base de la cellulose reliées par une liaison β -(1-4)-glycosidique

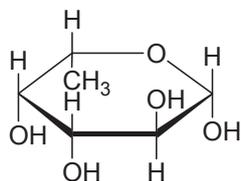
Les polysaccharides non cellulosiques sont souvent nommés hémicelluloses ou polyoses (*Kögel-Knabner, 2002*). Les hémicelluloses sont des hydrates de carbone semblables à la cellulose facilement hydrolysables du fait de leurs structures amorphes. Elles peuvent être aussi formées de polysaccharides alcalino-solubles et comportent différentes unités monomères : glucose, lactose, mannose, xylose et arabinose. Elles peuvent être linéaires ou ramifiées et sont, avec la cellulose, les structurants de la biomasse lignocellulosique.



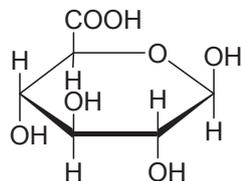
Pentose (xylose)



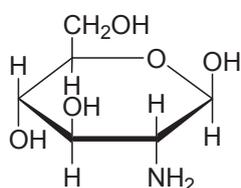
Hexose (glucose)



Desoxyhexose (Fucose)



Acide uronique (acide glucuronique)



Sucres aminé (glucosamine)

Figure I.1-II: Structure des monomères des hémicelluloses

I.2. Les substances pectiques

Les substances pectiques sont des polymères complexes de nature acide, présents en abondance dans la lamelle moyenne et la paroi primaire (Figure 0-I). Les pectines contiennent une forte proportion d'acide D-galacturonique, composant principal du squelette des chaînes. Historiquement, la première classification des pectines se basait sur leur solubilité. Cette méthode est désormais abandonnée. Une autre technique consiste en la digestion de la paroi végétale par des endo-polygalacturonases (dégradation de 12% de la paroi et de 50% des pectines), libérant des oligomères d'acide galactosyluronique avec des degrés de polymérisation variable, des homogalacturonanes et des rhamnogalacturonanes (types I et II). Ces composés sont ensuite isolables par chromatographie échangeuse d'ions.

I.3. Les protéines

Les protéines sont les éléments essentiels à la vie de la cellule : elles ont un rôle structurel et catalytique (enzymes). Les protéines sont des macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaînes linéaires ou cycliques d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques – CO-NH. Seules les plantes sont capables de réaliser la synthèse de protéines, qui seront dégradées en acides aminés puis recondensées en nouvelles protéines à chaque étape de la chaîne alimentaire.

Il est à noter que les protéines ne sont pas les seuls composés azotés présent dans la biomasse. L'azote peut se trouver également sous forme de fonctions amides qui peuvent provenir de macromolécules produites au terme de la réaction de Maillard.

II. La paroi secondaire

La paroi secondaire apparaît lorsque les cellules végétales perdent leur capacité à croître et à se diviser pour adopter une structure rigide (fabrication de lignines, les cutines, la subérine et les cires) et joue un rôle de soutien ou de transport de la sève brute.

II.1. Les lignines

Les lignines sont des composants caractéristiques de la paroi secondaire. Elles sont généralement considérées comme des polymères aromatiques amorphes tridimensionnelles très complexes, comportant un motif principal de type phénylpropane, qui est substitué de façon variable et agencé dans la molécule selon divers modes de liaisons. Les unités structurales de la lignine, appelées monolignols (*Harwood, 1997*), sont l'alcool 4-coumarylique (G pour gaïacylpropane), l'alcool coniférylique (H pour p-hydroxyphénylpropane), et l'alcool sinapylique (S pour syringylpropane). Autrement dit, les lignines sont des composés aromatiques de poids moléculaire élevé obtenus par polymérisation oxydante de trois monomères phénoliques : hydroxyphénol, guaiacyl et syringyl ayant pour précurseurs les alcools cinnamiques : coniféryliques, sinapyliques et p-coumaryliques (Figure II.1-I)

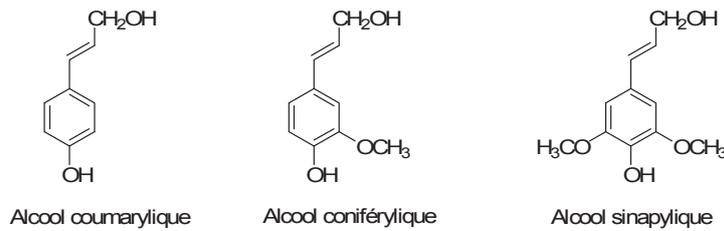


Figure II.1-I Les trois monolignols constitutifs de la lignine

Il existe plusieurs natures de lignine en fonction du type de plante. Les conifères (angiospermes) contiennent les monolignols H et G, les feuillus (gymnospermes) possèdent les monolignols G et S. De plus, les gymnospermes sont formées principalement d'unités guaiacyles (G), les angiospermes contiennent des lignines composées en quantités égales d'unités guaiacyles (G) et syringyles (S), tandis que les herbacées contiennent principalement des unités syringyles (S).

Ces monomères réagissent selon une réaction de polymérisation déshydrogénative afin de former une macromolécule tridimensionnelle contenant une multitude de liaisons C-C et de liaisons éther pour la plupart non hydrolysables (Figure II.1-II). La proportion de monomères et la nature des liaisons intermoléculaires sont très variables et dépendent de l'origine de l'échantillon.

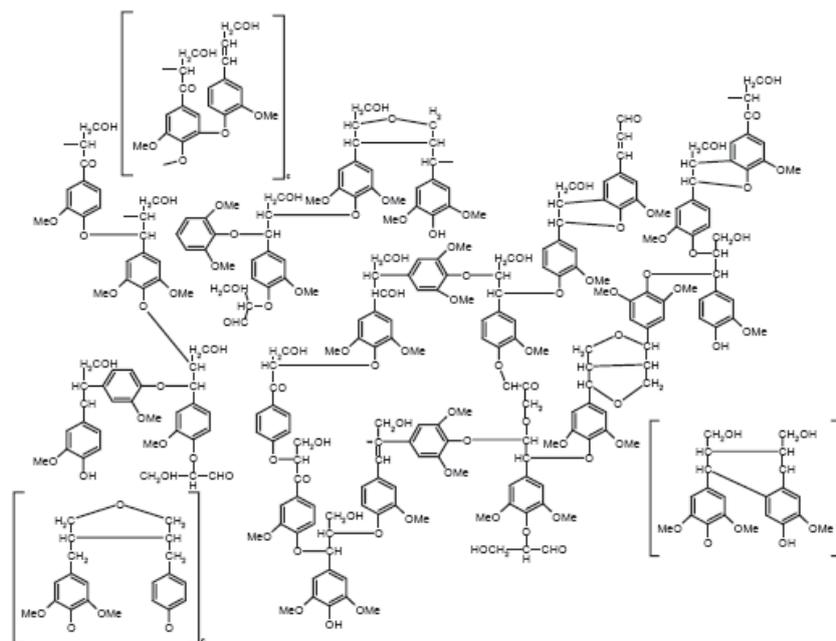


Figure II.1-II : Structure schématique de la lignine de hêtre (Lüdemann, 1974)

La polymérisation de la lignine se fait dans les parois cellulaires des végétaux par oxydation biologique. La nature diverse et variée des liaisons intramoléculaires et la complexité de leur structure confèrent aux lignines une importante résistance face à la dégradation microbienne.

La biodégradation des lignines, quelle que soit leur nature, se produit en milieu anaérobie et exclusivement par des champignons xylophages dont les plus efficaces sont les pourritures blanches (*Duchaufour, 1997*). L'action des champignons xylophages peut conduire à la minéralisation complète de la lignine. Il est à noter que les unités guaiacyles sont plus réfractaires à la biodégradation que les unités syringyles (*Reid, 1995*).

Les lignines peuvent être considérées comme des précurseurs des substances humiques et jouent donc un rôle très important dans le processus d'humification. Du fait de leur abondance, de leur rôle de précurseur et de leur résistance à la biodégradation, la caractérisation des lignines a une importance indiscutable dans la caractérisation de la biomasse lignocellulosique.

II.2. Cutines, subérines et cires

Les cutines subérines et cires se composent de chaînes aliphatiques de taille variable associées ou non à d'autres molécules de la paroi secondaire.

Les cutines sont des structures considérées comme étant plutôt aliphatiques, même si des études récentes ont montré la présence notable de composés aromatiques (*Deniau et al., 2001*). Elles ont été aussi identifiées dans des sédiments anciens (*Bajc et al., 2001*). Les cutines sont présentes dans les cuticules des plantes (*Baldock & Nelson, 2000*). Leur nature lipidique leur confère des propriétés hydrophobes.

La subérine, constituant principale des parois cellulaires du liège, est formée de composés aliphatiques et aromatiques. Contrairement à la cutine, elle peut posséder des monomères à longue chaîne carbonée (C₂₀-C₃₀) et en particulier des alcan-1-ols, des acides gras, des acides gras ω -hydroxylés, des acides α - , ω - dicarboxyliques de longueur de chaîne C₁₆ ou C₁₈. La subérine peut également contenir des acides phénoliques et notamment des

acides hydroxycinnamiques (*Bernards, 2002*) et est également présente dans les racines des plantes.

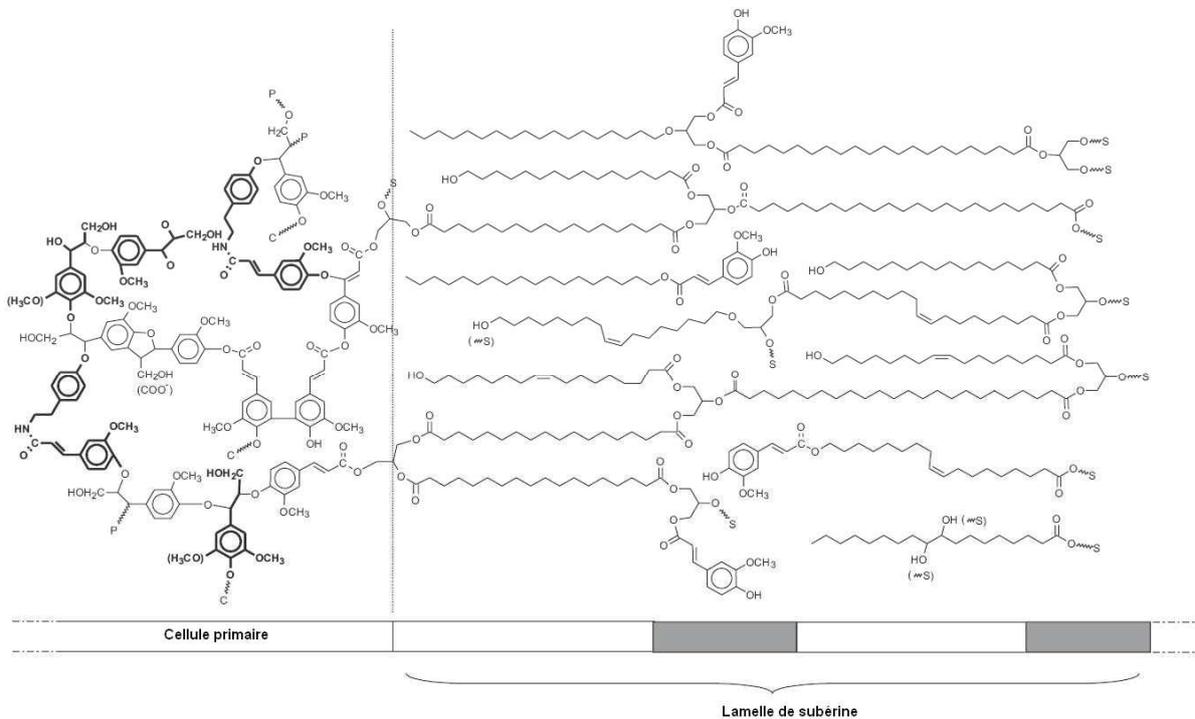


Figure II.2-I Modèle de la subérine de pomme de terre. Les connections indiquées sont respectivement C : polysaccharide ; P : groupe phénolique et S : subérine (*Bernards, 2002*)

Les cires sont un agglomérat d'acides gras saturés, de cétones, d'alcools et d'esters aliphatiques (*Harwood, 1997*). Les chaînes aliphatiques usuellement identifiées sont très longues (22 à 34 atomes de carbone).

De par leur structure chimique, la cutine et la subérine sont facilement dans les sols, les sédiments et la biomasse lignocellulosique biodégradée. Leurs produits de dégradation, les α - et ω -diacides, les hydroxyacides sont observés au cours de la biodégradation traduisant ainsi leur décomposition.

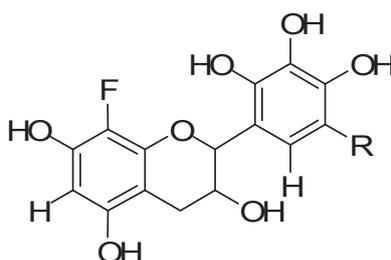
III. Les autres composés

- *Terpènes et stéroïdes*

Les terpènes sont des dérivés polymérisés de l'isoprène de formule brute C_5H_8 . Les terpènes sont très présents dans le règne végétal. De plus, du fait de l'alternance de simples et doubles liaisons (liaisons conjuguées) qui est caractéristique de la molécule, les terpènes peuvent interagir avec la lumière. Les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) sont principalement les constituants odorants des essences végétales (pinène, menthol, limonène), ils comptent de nombreux isomères. Les diterpènes ($C_{20}H_{32}$) quant à eux contiennent notamment l'acide abiétique (colophane) constituant principal de la résine de pin. Des composés aussi divers que le caoutchouc, la vitamine A1 ou le cholestérol sont constitués essentiellement de motifs terpéniques.

- *Tannins*

Les tannins sont des structures polyphénoliques que l'on retrouve dans pratiquement toutes les parties des végétaux. Leurs couleurs vont du blanc jaunâtre au brun et foncent à la lumière. Il existe deux catégories de tannins, les tannins hydrolysables dérivés de l'acide gallique et les tannins condensés ou non hydrolysables qui sont des bases de phénols (*Kögel-Knabner, 2002 ; Hernes et Hedges, 2000, 2004*).



F=H : Monomère
 F=Flavane : Dimère
 R=H : Unité procyanidine
 R=OH : Unité prodelphinidine

Figure III-I: Structure générale des monomères des tannins condensés

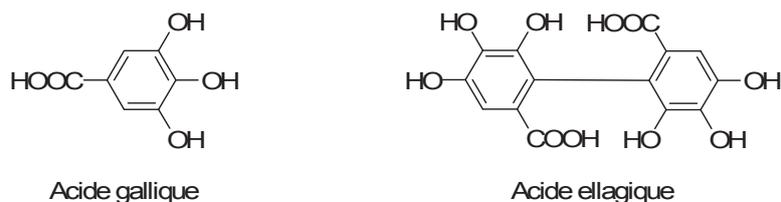


Figure III-II: Structure des monomères des tannins hydrolysables

De par leur structure et leur masse molaire variables, les tannins sont des composés résistants à la dégradation microbienne (*Deniau et al., 2001*).

Conclusion

Les matières organiques issues de la biomasse ou de sa transformation sont des mélanges extrêmement hétérogènes de macromolécules de nature très complexe. En effet, la biomasse lignocellulosique est composée des parois primaire et secondaire des végétaux. La paroi primaire constituée de composés facilement biodégradables joue un rôle important au cours de l'évolution de la biomasse. La paroi secondaire, formée de lignine et de composés réfractaires à la biodégradation, joue le rôle de structurant dans la biomasse. Toutefois, afin de déterminer la composition de la biomasse lignocellulosique il est nécessaire de la fractionner.

Chapitre II : **Fractionnement de la biomasse lignocellulosique**

Le fractionnement de la biomasse est une étape indispensable pour comprendre les phénomènes de transformation au cours de la biodégradation. Les protocoles utilisés sont basés sur

- des méthodes biochimiques permettant d'avoir accès aux différents constituants de la biomasse lignocellulosique,
- des méthodes chimiques permettant de suivre l'état de complexification de la matière organique (MO).

I. Fractionnement biochimique : séparation des constituants lignocellulosiques

Les constituants de la biomasse lignocellulosique peuvent être séparés en fonction de leur solubilité. Le fractionnement biochimique Van Soest (Figure I-I) permet ainsi de doser les différents constituants de la paroi primaire et secondaire (hémicelluloses, cellulose et lignines), par l'action successive de différents traitements, puis une minéralisation (*Henriksen & Breland, 1999*). Ils sont séparés par solubilisations successives à l'aide de différents détergents (*Van Soest & Wine, 1967, AFNOR 2005*). Cependant il ne permet pas la caractérisation des composantes lignocellulosiques de la biomasse biodégradée ou non, mais uniquement de suivre la biodégradabilité de celle-ci au cours du temps. La Figure I-I détaille le protocole (décrit en annexe1) de séparation des fractions lignocellulosiques de la MO de la biomasse.

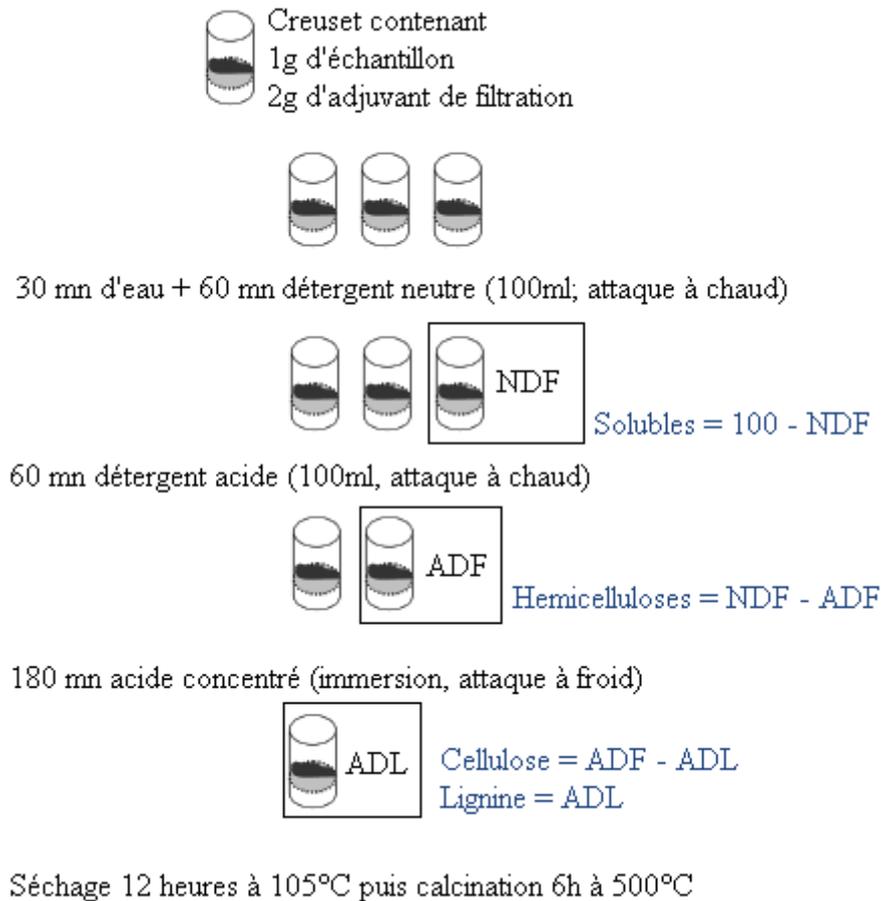


Figure I-I : Protocole de fractionnement biochimique de la biomasse lignocellulosique

Avec :

Fraction soluble : SOLU = 100-NDF

Hémicelluloses : HEMI = NDF-ADF

Cellulose: CELL =ADF-ADL

Lignine: LIGN = ADL

-Fraction soluble (NDF) extraite après une double hydrolyse à l'eau bouillante puis avec un détergent neutre (NDS). Le résidu contient la majeure partie de la paroi primaire. La fraction solubilisée contient des sucres, les acides organiques, les pectines, les lipides et l'amidon, des tannins et la majorité des protéines.

-Les **hémicelluloses** solubilisées à chaud dans un détergent acide (ADS). Les lipides et les protéines résiduels sont également éliminés lors de cette hydrolyse. Le résidu contient la quasi-totalité de la fraction lignocellulosique.

-La **cellulose** solubilisée à froid par hydrolyse dans l'acide sulfurique concentré.

-La **lignine** correspond au résidu après l'hydrolyse acide à chaud (éliminant les hémicelluloses) puis l'hydrolyse à froid à l'acide concentré.

Cette méthode est uniquement quantitative et ne permet pas d'analyse structurale, en particulier pour la fraction soluble extraite avec de l'eau chaude, puis à l'aide d'un détergent neutre. Pour y remédier, une nouvelle méthode d'extraction comprenant quatre étapes successives (extraction à l'eau chaude, à l'aide d'une solution de tétraborate de sodium, de dichlorométhane / méthanol et de résine de échangeuse) a été développée afin de déterminer la nature chimique de la fraction soluble (*Peltre et al., 2010*) et d'expliquer sa biodégradabilité. La méthode testée sur différents substrats permet d'extraire une quantité totale de fraction soluble équivalente à celle obtenue au cours du fractionnement Van Soest. (*Peltre et al., 2010*). La fraction extractible à l'eau chaude, composée essentiellement de polysaccharides (identifiés par pyrolyse GC/MS et spectroscopie FTIR) diminue au cours du compostage, indiquant une biodégradabilité élevée. L'augmentation observée de la fraction extractible avec le tétraborate de sodium au cours du compostage correspond à l'augmentation, pendant le compostage, de la fraction soluble du fractionnement Van Soest (*Peltre et al., 2010*). Ainsi, une nouvelle méthode de séparation biochimique non destructive basée sur le fractionnement Van Soest permet de caractériser les différentes fractions de la biomasse lignocellulosique. En effet, les détergents utilisés pour l'extraction peuvent être éliminés par dialyse (*Peltre et al., 2010*).

II. Fractionnement chimique : séparation des différentes formes de matière organique

La matière organique (MO) de la biomasse désigne la matière carbonée souvent biodégradable produite en général par des êtres vivants, végétaux, animaux, ou micro-organismes au cours du temps. Elle peut être aussi considérée comme l'ensemble des composés organiques issus de résidus d'organismes (végétaux ou animaux) à différents stades

de vie ou de décomposition. La méthode utilisée pour fractionner la MO de la biomasse lignocellulosique est adaptée de celle recommandée par la Société Internationale des "Substances Humiques" (IHSS) (*Calderoni & Schnitzer, 1984*). Ce fractionnement permet d'accéder aux substances « humiques ». La MO de la biomasse lignocellulosique déstructurée est alors séparée en quatre fractions en fonction de leurs solubilités successives (Figure II-I)

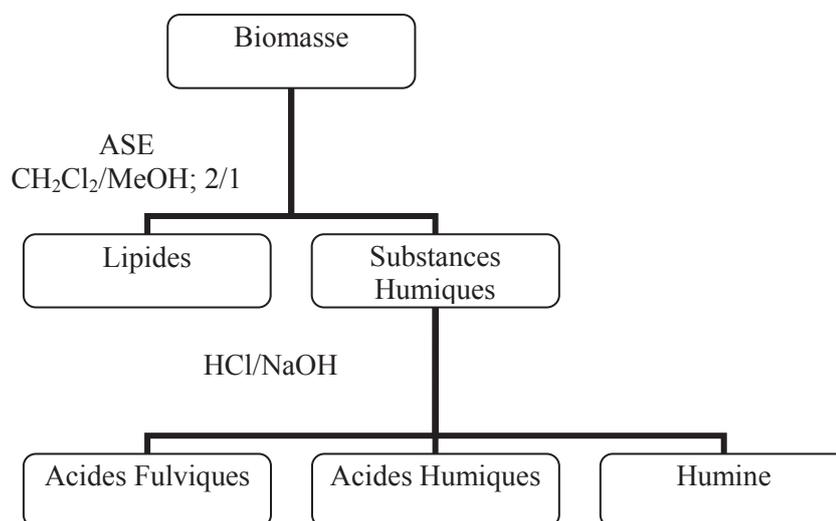


Figure II-I : Fractionnement chimique des différentes formes de matière organique

- Les lipides organosolubles sont extraits avec un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (v/v, 2/1) à l'aide un extracteur automatique de type ASE.
- Les « acides fulviques » (AF) et les « acides humiques » (AH) sont extraits en milieu alcalin
- Les « acides humiques » sont séparés de la fraction « acides fulviques » par précipitation en milieu acide
- La fraction restante insoluble est appelée l'« humine »

Le rapport des quantités « Acides Humiques »/ « Acides Fulviques » (AH/AF) définit un indice d'humification qui est considéré comme un bon indicateur de maturité de la MO.

Les substances humiques sont généralement les fractions majoritaires de la matière organique de la biomasse lignocellulosique. L'étude de ces fractions peu solubles voire

insolubles doit donner des informations essentielles sur les différents mécanismes de transformation de la MO au cours du temps. Cependant, l'analyse structurale de ces fractions est rendue particulièrement délicate de par leur grande complexité, leur hétérogénéité leur insolubilité et leur haut poids moléculaire.

II.2. Les lipides

Le terme lipides ne désigne pas un type spécifique de composés mais un ensemble hétérogène de molécules neutres (alcools, hydrocarbures...), acides et polaires ayant une propriété commune : elles sont organosolubles.

Les lipides proviennent majoritairement des végétaux - produits primaires synthétisés par les végétaux ou leurs produits de biodégradation sous l'action des micro organismes – un pool mineur de lipides a une origine typique bactérienne ou fongique (Duchaufour, 1997).

La biodégradabilité des lipides est variable et liée à des facteurs tels que la biodisponibilité. En général il est admis que les lipides sont très facilement biodégradés par les microorganismes, c'est-à-dire dès les premiers jours de déstructuration.

Les lipides totaux sont analysés par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (CG/SM) après acétylation des alcools et méthylation des acides (Naafs *et al.*, 2004, 2005; Nierop *et al.*, 2005). Du fait de la grande variété de composés et des quantités très variables, les chromatogrammes sont souvent complexes et difficiles d'interprétation. Une autre méthode consiste à fractionner les lipides totaux en familles de polarités et de fonctions chimiques (McCarthy *et Duthie*, 1962). Les acides carboxyliques et les alcools sont ensuite respectivement méthylés et acétylés avant d'être analysés.

II.3. Les substances humiques

Les substances humiques sont issues de la décomposition des déchets organiques animaux ou végétaux. De par leur présence dans tous les environnements terrestres et aquatiques, les substances humiques représentent la plus importante famille de matière organique complexe naturelle et forment la majorité de la MO des sols, des eaux naturelles, des tourbes et de la biomasse lignocellulosique (Kononova, 1962). Difficilement dégradables,

présentant une large gamme de masses molaires, elles constituent un mélange hétérogène de matières poly-dispersées et chimiquement réactives formées durant un processus d'humification très complexe. Elles sont le plus souvent fractionnées en trois grands groupes : Humine (Hu), Acides Humiques (AH) et Acides Fulviques (AF) qui sont classés selon leur taille (Barriuso *et al.*, 1985 ; Andreux, 1994 ; Busnot *et al.*, 1995).

Dans certaines conditions de dépôt, la matière organique fraîche (de type lacustre, marin ou continental) peut échapper au cycle du carbone et s'accumuler pour former de sédiments pétrologènes (Figure II.3-I). Sous l'influence de la température, de la pression et de certains microorganismes, ces molécules sont transformées puis altérées et conduisent à des hydrocarbures à longues chaînes.

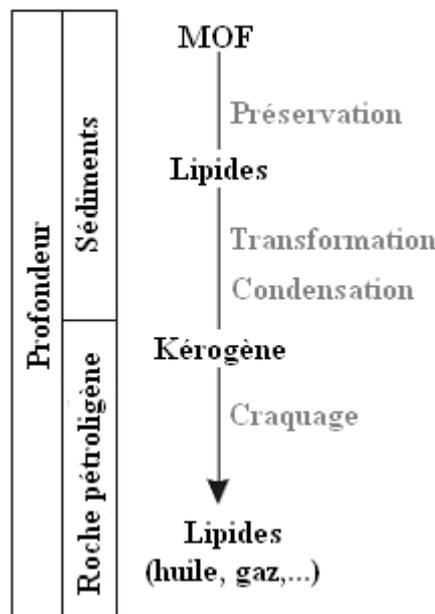


Figure II.3-I Evolution de la matière organique fraîche (MOF) en sédiments

Les transformations d'origine physique, chimique ou biologique qui conduisent à la MO sédimentaire sont regroupées sous le terme "diagenèse" (Figure II.3-II). La première étape de cette transformation, la diagenèse précoce fait intervenir des processus d'humification de la MO. La Figure II.3-II schématise l'évolution de la MO au cours du processus de sédimentation. En considérant les substances humiques (SH) comme étant la MO complexe de la biomasse, elles peuvent alors être intéressantes à valoriser comme précurseur de bio pétrole.

CH + AA + L : carbohydrates + acides aminés + lipides

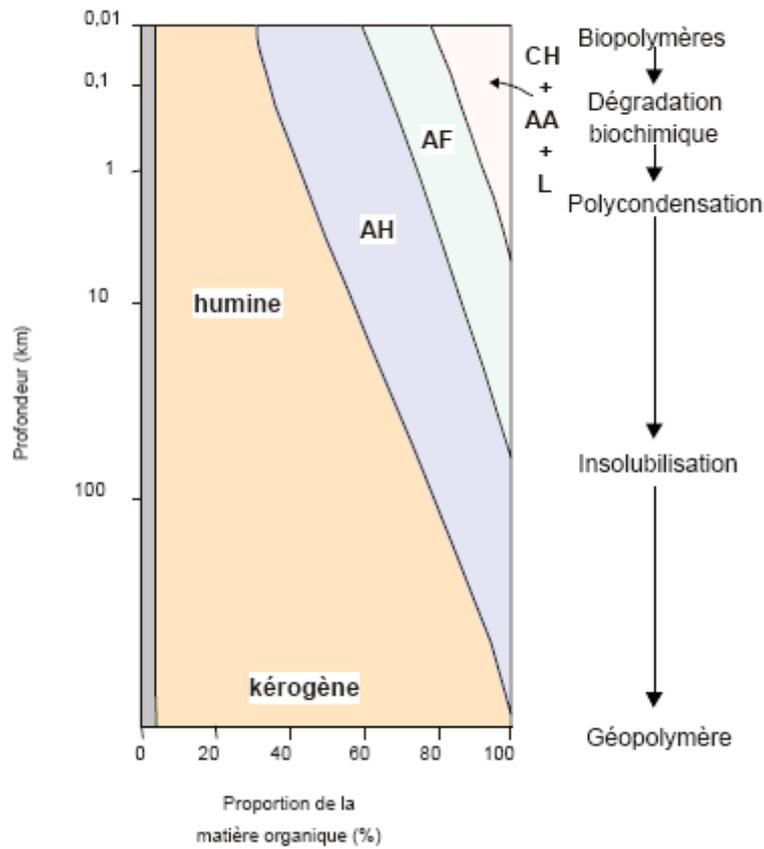


Figure II.3-II Evolution de la MO au cours du processus de "diagenèse précoce d'après Tissot et Welte, 1984

II.3.1. Les acides « fulviques »

Les « Acides Fulviques » AF ont une structure impliquant des noyaux aromatiques liés par des chaînes aliphatiques et des groupements fonctionnels à caractère acide (*De Paolis et al., 1997*) (Figure II.3.1-I). Ce sont des substances claires de couleur jaune à jaune-brun solubles dans l'eau et dans les solutions alcalines quel que soit le pH.

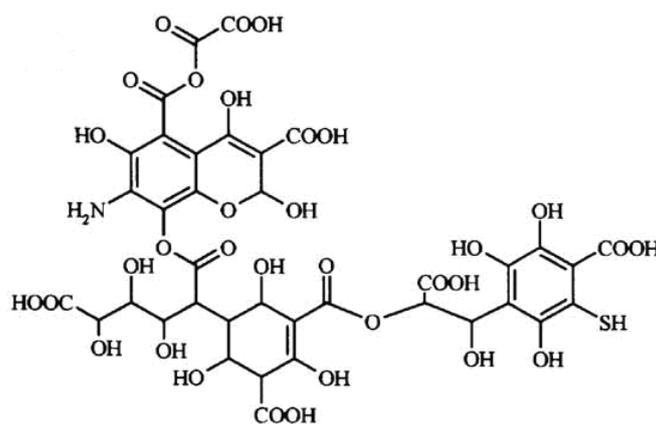


Figure II.3.1-I : Structure de l'acide fulvique (*Alvarez-Puebla et al., 2006*)

L'acidification de l'extrait alcalin permet de les séparer des « acides humiques » par précipitation de ces derniers.

II.3.2. Les acides « humiques »

Les « acides humiques » AH sont structurellement de larges complexes macromoléculaires ayant une apparence de couleur brun-noir, hydrosolubles en solution de pH supérieur à 2, ils sont généralement de structure hétérogène et principalement constitués de carbone, d'oxygène, d'hydrogène, d'azote et occasionnellement de soufre et de phosphore (*Kononova, 1961*). Ils peuvent être décrits comme des assemblages de résidus aromatiques et aliphatiques portant des groupes carboxyliques, phénoliques et alcoylés (Figure II.3.2-I). Malgré plusieurs décennies de recherche, la structure des acides humiques reste jusqu'à présent mal connue (*Twagiramungu, 2003*). Cependant, malgré cette difficulté de définir une structure type spécifique des acides humiques, il est indispensable de connaître les principales classes de groupements fonctionnels présents dans les acides humiques et responsables de leur réactivité. Ce sont essentiellement des groupements carboxyliques, phénoliques, alcooliques, carbonyles, des quinones, des cétones et des amines (*Twagiramungu, 2003*). La structure des acides humiques se présente donc sous forme d'un agrégat de corpuscules globulaires complexes et ramifiés (*Almendros et Sanz, 1992*).

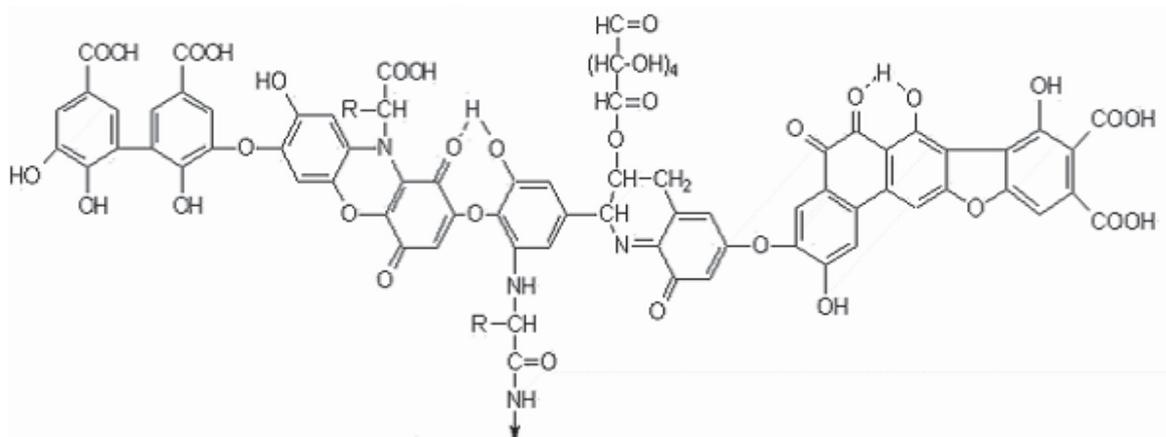


Figure II.3.2-I : Structure simplifiée d'un acide humique (*Stevenson, 1982*)

II.3.3. L'humine

L'« humine » Hu est une substance noire, insoluble dans l'eau en solution alcaline ou acide (*Stevenson, 1982*). Elle est décrite chimiquement comme ayant un caractère aliphatique significatif. Les entités composant l'Humine contiennent des aromatiques, des glucides, avec une partie aliphatique généralement plus importante que dans les acides « fulviques » et « humiques » correspondants et l'acide fulvique isolé du même échantillon (*Rice., 2000 ; Guignard, 2001 ; Som, 2006*)

Conclusion

La biomasse lignocellulosique est un matériau complexe et hétérogène. Elle est majoritairement constituée de lignine, cellulose et hémicelluloses accessible par fractionnement biochimique. En outre, de par sa complexité, il est nécessaire d'effectuer un fractionnement afin de pouvoir accéder à ses diverses formes de MO complexe et ainsi de suivre l'évolution moléculaire des composés qui la constituent. Le fractionnement IHSS a pour objectif la séparation de la biomasse lignocellulosique en quatre fractions en fonction de leurs solubilités successives : les lipides, les acides « fulviques », et acides « humiques » et l'« humine » et permet donc d'accéder au rapport acides humiques /acides fulviques (indice d'humification) qui est considéré comme un bon indicateur d'évolution de la MO.

Chapitre III

Biodégradation de la biomasse lignocellulosique

La biodégradation de la biomasse lignocellulosique s'accompagne de modifications structurales des substrats décomposés (*Stevenson 1992*) qui peuvent être suivies à l'aide de paramètres physico-chimiques. Le compostage quant à lui est un processus contrôlé de dégradation des constituants d'origine végétale ou animale par une succession de communautés microbiennes évoluant en conditions plutôt anaérobies dont l'activité conduit à l'élaboration d'une matière organique humifiée et stabilisée. C'est pour cette raison que la biodégradation de la biomasse est traditionnellement associée à une pratique naturelle de décomposition des déchets ou compostage (*Iglesias-Jimenez & Perez-Garcia, 1989*).

I. Principe de l'élaboration du compost

I.1. Les phases du compostage

La biodégradation de la biomasse est accompagnée de production de chaleur entraînant une élévation de la température (*Bach et al., 1987*). L'évolution théorique de la température (*Leclerc, 2001*) au cours du compostage est conditionnée essentiellement par les micro-organismes et leur action enzymatique. Elle permet de définir les différentes phases du compostage, largement décrites dans la littérature (*Célérier, 2008, Som et al., 2009*) sont les suivantes :

- La **phase mésophile** est la phase initiale de décomposition et est l'étape lente du processus. Durant les premiers jours, la présence de matière organique fraîche et biodégradable entraîne une colonisation du milieu par les bactéries. Cette phase est caractérisée par une température

proche de 40°C au sein de la biomasse. Au cours de cette phase, la production d'acides organiques entraîne une diminution du pH.

- Les réactions d'oxydation qui se produisent ensuite, entraînent une montée en température qui peut atteindre des valeurs de 60°C voire 75°C. Cette phase est appelée **phase thermophile** car seuls les micro-organismes thermorésistants (essentiellement des bactéries) peuvent survivre à ces hautes températures et permettre la dégradation des polymères. Cette phase est caractérisée par une importante perte de la matière organique sous forme de CO₂, et un assèchement de celle-ci lié à l'évaporation de l'eau.

- La **phase de refroidissement et de maturation** suit la phase thermophile. Le ralentissement de l'activité biologique est marqué par la diminution de la quantité de matières organiques bio disponibles. Cette phase de refroidissement peut être très progressive ou au contraire très rapide en fonction des conditions opératoires. Au cours de cette phase, le milieu est essentiellement colonisé par une flore microbienne dominée par des micro-organismes mésophiles. Cette phase est marquée par un pH qui se stabilise et une température qui redescend pour atteindre un palier.

La Figure I.1-I montre de façon complète l'ensemble des processus qui ont lieu au cours de la déstructuration de la MO.

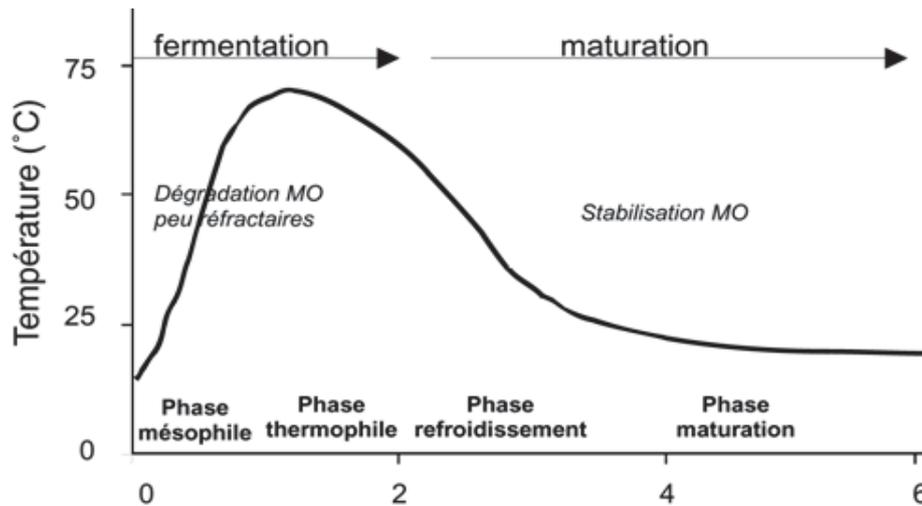


Figure I.1-I: Courbe théorique d'évolution de la température au cours de la déstructuration (Maystre et al., 1994).

Les deux premières phases sont des phases de dégradation des substances organiques et sont regroupées sous le nom de fermentation. Elles correspondent à une étape de dégradation intensive de la MO. Certains auteurs parlent même de fermentation aérobie (Sugahara & Ionoko, 1981; Harada et al., 1981; Godin, 1981; Iglesias-Jimenez & Perez-Garcia, 1989).

I.2. Evolution de la MO au cours du compostage

La biodégradation de la biomasse ou compostage est généralement associée au processus naturel d'humification de la MO. L'humification de la MO se traduit par une diminution de la biodégradabilité des substrats. C'est un processus long au cours duquel la MO se transforme soit par des processus purement biologiques (Drbohlav et al., 1994), soit par des processus biologiques suivis de processus purement chimiques (Stevenson, 1994) pour donner les substances humiques. Il existe 4 voies proposées de formation des substances humiques (Figure I.2-I).

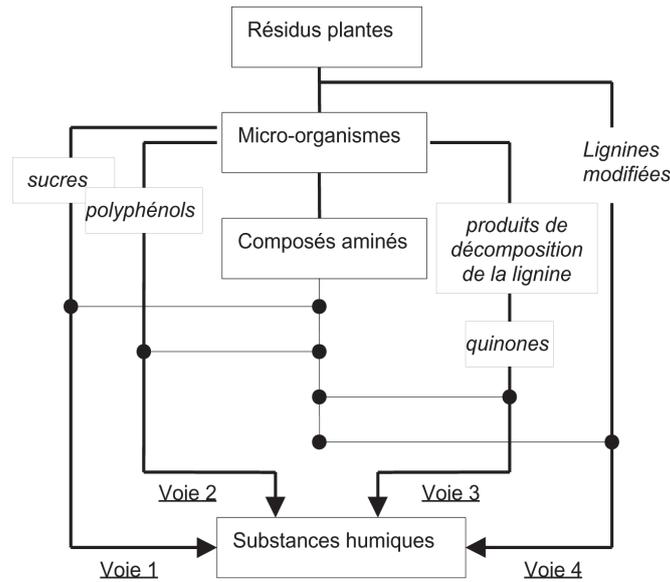


Figure I.2-I : Quatre voies du processus d'humification selon Stevenson (1994)

- La voie 1 est chimique et correspond à la réaction de Maillard. Les acides aminés en présence de sucres et à température élevée, brunissent en créant des molécules de composition semblable à l'humus.

- La voie 2 privilégie la formation de polyphénols à partir de la cellulose ou d'autres composés non ligneux, les polyphénols sont ensuite oxydés en quinones. Une étape de polymérisation permet ensuite d'obtenir les substances humiques.

- La voie 3 est une voie enzymatique. Les produits de dégradation microbienne de la lignine sont transformés en quinones. Ces quinones sont ensuite polymérisées avec ou sans composés aminés pour donner les substances humiques.

- La voie 4 est dite voie ligno-protéinique : les lignines sont dégradées de façon incomplète, provoquant une perte des groupes méthoxyles (OCH_3), la génération d'hydroxyphénols et l'oxydation des parties aliphatiques conduisant à la formation de groupes COOH .

II. Paramètres de biodégradation

Le compost est un milieu hétérogène caractérisé par des empilements différents induisant des différences de température et d'humidité (*Miller et al., 1989; Fermor, 1993*). Afin de favoriser la biodégradation, un travail mécanique de retournement et ré-humidification de la matière organique est réalisé lors de la phase de dégradation. La biodégradation réalisée dans un bioréacteur permet de contrôler différents paramètres et ainsi de jouer sur l'état de déstructuration des intrants..

II.1. Le bio réacteur

Un bioréacteur également appelé propageur, est une unité technologique dans laquelle peuvent se multiplier les micro-organismes (bactéries, champignons microscopiques). Il permet d'effectuer la transformation ou la bioconversion de biomasse en substrats biodégradés. Dans la littérature, plusieurs types de bioréacteurs ont été utilisés (*Lau et al., 1992, Mathur et al., 1993a, 1993b, Sadaka et El Taweel., 2003, Mason et Milke, 2005*) parmi lesquels nous pouvons distinguer :

- des réacteurs à aération naturelle ou statique simple et peu coûteuse (*Veeken et al. 2002*)
- des réacteurs à aération passive créée par une différence de température biomasse/air ambiant qui se traduit par le passage d'un flux laminaire d'air (*Nelson et al., 2007*)
- des réacteurs à aération active (forcée) munis d'une entrée d'air et d'une ventilation qui se fait généralement à la base du réacteur (*de Guardia et al., 2007*).

II.2. Le choix des intrants

Les intrants sont les différentes matières premières apportées, nécessaires au bon déroulement de l'activité bactérienne au cours de la biodégradation. Il est communément

admis dans la littérature que la biodégradabilité d'un substrat est étroitement liée à la nature des intrants qui le composent (*Cooperband et al., 2003 ; Said-Pullicino & Gigliotti, 2007*). Le rapport C/N est un indicateur qui permet de juger du degré d'évolution de la matière organique, c'est-à-dire de son aptitude à se décomposer plus ou moins rapidement. L'équilibre nutritionnel des microorganismes est en effet lié à un rapport C/N adéquat. Il est donc couramment admis que, plus le rapport C/N d'un produit est élevé, plus il se décompose lentement. Ainsi :

* $C/N < 15$: production d'azote (NH_3), la vitesse de décomposition s'accroît ; elle est à son maximum pour un rapport $C/N = 10$

* $15 < C/N < 30$: besoin en azote couvert pour permettre une bonne décomposition de la MOT.

* $C/N > 30$: Pas assez d'azote pour permettre la décomposition du carbone. La minéralisation est lente.

De plus, les proportions d'intrants doivent être choisies en début de déstructuration pour permettre d'atteindre un rapport C/N optimal en fin de déstructuration (*Bernal et al., 1998b ; Eggen & Vethe, 2001, Adani et al., 2008*). Il est à noter que *Larsen & McCartney (2000)* ont trouvé une biodégradation optimale avec un C/N de départ de 29 au cours de la biodégradation de déchets verts.

II.3. Le taux d'humidité

L'eau étant nécessaire à la vie des micro-organismes, une teneur minimale au cours du compostage est donc nécessaire. Par contre une limite maximale doit être fixée afin d'éviter la saturation en eau de la biomasse. L'humidité optimale pour une bonne biodégradation de la MO se situe généralement entre 50 et 70% de la masse totale (*Som et al., 2009 ; Richard et al., 2002 ; Willson, 1989*). Au cours de la biodégradation, une partie de l'eau peut s'évaporer du fait de l'échauffement de la MO. Des pertes de l'ordre de 50% du taux d'humidité initial sont fréquemment observées (*Sadake et El Taweel et al, 2003*), d'où l'importance de suivre la température au cours de la biodégradation afin de réajuster le taux d'humidité en cas d'assèchement des substrats.

II.4. L'aération

La présence d'oxygène dans le compost est nécessaire au maintien de l'activité bactérienne. Pour ce faire, l'aération de la biomasse au cours de la biodégradation est effectuée lors des retournements. En effet, chaque retournement est généralement suivi d'une reprise de l'activité microbienne, traduite par l'augmentation de la température (Kato et al., 2008). De plus, l'échauffement du compost n'est plus assuré lorsque l'oxygène lacunaire a été consommé créant ainsi des zones anaérobies. De telles zones anaérobies s'expliquent par une activité microbienne intense, consommatrice d'oxygène et génératrice de gaz carbonique ce qui entraîne un manque d'aération de la matière organique (Kirchmann & Widen, 1994; Beck-Friis et al., 2001).

III. Paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques permettent de suivre l'état de décomposition des substrats au cours du processus de biodégradation sont la température, le pH, la minéralisation et l'auto échauffement.

III.1. La température

La température ne peut être contrôlée au cours du compostage mais elle est étroitement liée à l'activité des microorganismes. Elle peut être donc considérée comme un bon critère d'évaluation de l'activité microbienne au sein du compost (Rynk 2003). En effet, la chaleur générée au sein de la biomasse au cours du compostage est essentiellement d'origine biologique, liée à l'activité bactérienne (Waksman et al., 1939 ; Veecken et al., 2000). Il est à noter que l'apport de chaleur extérieur est négligeable dans l'échauffement des composts, comparé à l'origine biologique (Finstein & Morris, 1975; Miller et al., 1989). Toutefois, des oxydations chimiques exothermiques peuvent également contribuer à l'échauffement de la MO.

III.2. Le pH

L'évolution du pH dépend de la nature des intrants et de la mise en œuvre du procédé. Le pH est un bon indicateur de l'état de décomposition et d'évolution de la MO. En effet, après une phase d'acidification, il devient de plus en plus basique au cours de la biodégradation du fait de la dégradation des acides par les micro-organismes. En outre, ce phénomène est accentué par la minéralisation de l'azote. A maturité la valeur du pH est généralement proche de 8 (*Venglovsky et al., 2005*). Cependant, il apparaît que dans la pratique il est très difficile de contrôler le pH au cours de la biodégradation (*Pagans et al., 2009*).

III.3. La minéralisation

La minéralisation est obtenue par incubation de la MO suivant une méthode standard, cette méthode normée permettant d'apprécier la vitesse de libération de CO₂ lorsque le matériau est décomposé par les microorganismes. Le CO₂ issu de la minéralisation de la matière organique est dosé à chaque renouvellement des pièges à CO₂. La vitesse de libération de CO₂ permet donc de déterminer la biodégradabilité ou stabilité de la MO (*Dousset et al., 1994*). En fin de biodégradation, la stabilité de la MO est due à une stabilisation de l'activité microbienne (*Bernal et al., 1998; Veeken et al., 2000*).

III.4. Le test d'auto-échauffement

Le test d'auto échauffement est un bon indicateur de l'activité biologique au sein de la MO. En effet l'augmentation de l'activité bactérienne se traduit par une augmentation de la température (*Franco et al., 2008*).

IV. Critères d'évolution moléculaire

IV.1. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier en réflexion diffuse (DRIFTS)

La spectroscopie infrarouge est une technique d'identification (Tableau 2) et de quantification classiquement utilisée pour la caractérisation de la biomasse (*Franco et al, 2008*). La spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier en réflexion diffuse (DRIFTS) est quant à elle une méthode d'analyse moléculaire mise en œuvre pour la caractérisation de matériaux globaux et est plus appropriée pour l'étude de composés hétérogènes (*Niemeyer et al., 1992*).

Tableau 2 Bandes d'absorption infrarouge de la matière organique (d'après *Barriuso, 1985; Chen et al., 1993, Stevenson, 1994*)

Fréquence (cm ⁻¹)	Assignment	Vibration	Commentaires
3700-3050	O-H libres des phénols (3650-3600) et liées (3400-3200). Aromatiques et aliphatiques N-H des amides et amines, primaires et secondaires (3500-3180) C-H aromatiques (3100)	Elongation Elongation Elongation	L'eau introduite par l'humidité de l'échantillon absorbe dans cette plage de fréquences. Cette large bande centrée à 3400 est difficilement interprétable.
2930-2920	C-H aliphatiques, asymétriques – CH ₂	Elongation	
2850	C-H aliphatiques, symétriques – CH ₂	Elongation	
2500	O-H des acides carboxyliques	Elongation	Fréquence absorbée par les carbonates CaCO ₃
1720	C=O des acides carboxyliques	Elongation	
1650-1600	C=C aromatiques C=O amides et quinones N-H amines primaires et amides	Elongation Elongation Déformation	
1525	C=C aromatiques N-H amines secondaires et amides	Elongation Déformation	Typique de la lignine
1430-1460	C-H aliphatiques, symétriques et asymétriques -CH ₂ et -CH ₃ , Aromatiques, et acides gras	Déformation	Fréquence absorbée par les carbonates CaCO ₃
1384	-NO ₃	Déformation	Pic très étroit
1320-1250	C-O phénoliques C-O des acides carboxyliques O-H des acides carboxyliques C-C aliphatiques	Elongation Elongation Déformation Elongation	
1170	C-O aliphatiques	Elongation	
1100-1020	C-C aliphatiques C-O polysaccharides	Elongation Elongation	Fréquence absorbée par la silice Si
874		Déformation	Fréquence absorbée par les carbonates CaCO ₃
870-600	C-H aromatiques		Massif non interprétable (nombreuses bandes dues au C-H aromatiques et l'absorption par des minéraux)

IV.2. Analyses thermiques gravimétriques et différentielles

Les analyses thermiques gravimétriques et différentielles sont des techniques d'analyse destructives qui consistent en la mesure de la variation de masse d'un échantillon en fonction de la température. Elles permettent également de suivre l'évolution de la différence de température entre l'échantillon étudié et un corps témoin inerte.

Les analyses thermiques sont réalisées simultanément sous air et permettent d'observer des phénomènes endothermiques ($\Delta T < 0$) correspondant à un changement d'état, par exemple l'évaporation de l'eau (déshydratation) et exothermiques ($\Delta > 0$) correspondant à la transformation de molécules organiques. Deux pics exothermiques (295-307°C et 436-469°C) correspondant respectivement à des composés aliphatiques et aromatiques sont observés lors de l'analyse d'un compost (*Dell'Abate et al., 2000*). Le rapport des pertes de masse associées au second pic exothermique sur celles associées au premier peut être calculé. Celui-ci augmente à mesure que le compost évolue ce qui montre que sa matière organique devient plus complexe (*Som, 2006 ; Som et al., 2009*).

IV.3. La thermochimie et la pyrolyse multishot

La pyrolyse est une méthode d'analyse rapide, directement applicable à un échantillon brut total (roche, sol, plante) ou aux fractions qui en sont issues. Elle a été utilisée pour l'étude des kérogènes de sédiments anciens (*Horsfield et al., 1993*), des lipides macromoléculaires des sols (*Gobé et al., 2000*), des tourbes (*Grasset, 2002; Guignard et al., 2005*) et des substances humiques (*Del Rio et Hatcher, 1998; González-Vila et al., 1995; van Bergen et al., 1997*). C'est une technique basée sur la décomposition de composés organiques par la chaleur (sans flamme, pour éviter l'oxydation et la combustion) permettant ainsi de libérer d'autres produits (gaz et matière) qui étaient auparavant piégés dans la matrice ou la constituait. La chaleur permet ainsi de casser les macromolécules et donc de produire des molécules organiques plus légères qui sont entraînées vers le GC/MS par un gaz vecteur, généralement l'hélium. Il existe plusieurs méthodes de pyrolyse. Les plus courantes sont la pyrolyse simple et la pyrolyse double-shot ou multishot qui permet de réaliser des pyrolyses en deux ou plusieurs étapes.

La thermochemiolyse correspond à une pyrolyse réalisée en présence d'un agent alkylant, souvent le TMAH (hydroxyde de tétraméthylammonium), et à une température plus basse qu'en pyrolyse classique. La thermochemiolyse est utilisée pour remédier à certains inconvénients de la pyrolyse classique et notamment à une perte importante d'informations structurales. Elle permet en effet d'éviter la décarboxylation des acides aromatiques et la déshydratation des groupements alcools (*Grasset et al., 2008*). Avant d'être pyrolysé à 600°C, l'échantillon est placé dans une solution de TMAH dans le méthanol (50/50 v/v). Cette technique de caractérisation moléculaire a déjà été appliquée à une grande variété de composés : résines naturelles et synthétiques, lipides, cires, dérivés du bois, polysaccharides, protéines, MOS, substances humiques, sédiments, kérogènes et colorants (*Challinor, 2001*).

Conclusion

La biodégradation de la biomasse végétale terrestre est un procédé biologique comparable au compostage qui transforme la MO des substrats en MO humifiée et stable. Ce pendant, elle permet d'obtenir une MO riche en carbone (*Moral et al., 2009, Mengchun Gao et al., 2010*). La décomposition des substrats peut être suivie à l'aide de paramètres physico-chimiques et permet de ce fait d'apprécier la biodégradabilité des substrats déstructurés. Il est à noter que la biodégradation peut s'effectuer en réacteur afin de mieux contrôler les transformations des substrats et ainsi de jouer sur l'état de décomposition de la biomasse lignocellulosique.

Chapitre IV : Conversion énergétique de la biomasse : La liquéfaction

I. Les filières de conversion

Les filières de conversion énergétique de la biomasse reposent essentiellement sur deux familles de procédés de conversion : la voie biochimique et la voie thermochimique (Figure I-I). La voie biochimique a recours à une action microbienne et enzymatique pour dégrader la biomasse tandis que la voie thermochimique est basée sur le craquage des biomolécules sous l'effet de la chaleur. Cette dernière regroupe la combustion, la pyrolyse et la gazéification. Selon la valorisation énergétique et la nature des produits de craquage désirés, une des voies thermochimiques sera préférée.

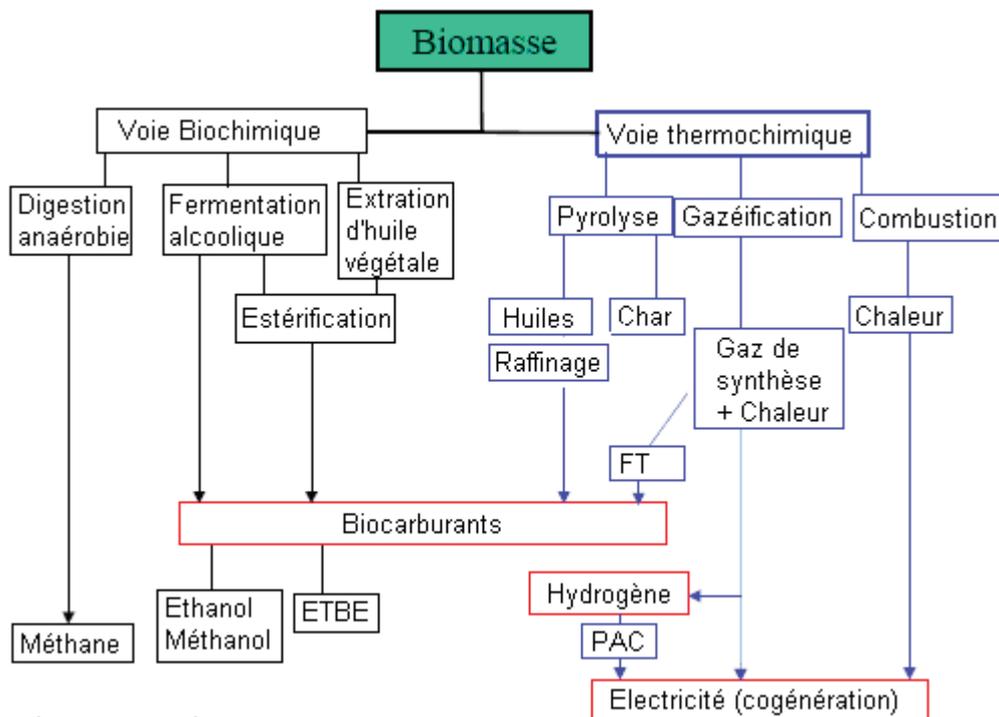


Figure I-I Différentes voies de conversion à des fins énergétiques de la biomasse

En ce qui concerne la voie thermochimique, la synthèse de fuel à partir des biomasses est effectuée soit par pyrolyse, soit par liquéfaction (*Lindblad, 1931*), soit par gazéification ou par conversion biologique (*Lee et al., 1997*). Il est à noter que les méthodes thermochimiques sont plus rapides que les voies biologiques. Cependant, la pyrolyse peut aboutir à des réactions de réticulation entre les hydrocarbures et les aromatiques causant la formation de nombreux produits secondaires instables ainsi que la formation de coke qui sera difficile à décomposer. Par ailleurs, la pyrolyse et la gazéification demandent des températures de réaction élevées contrairement au procédé de solvolysse / liquéfaction qui est effectué à des températures plus basses.

II. Conditions de liquéfaction

La liquéfaction est définie dans la littérature comme la transformation du charbon naturel en produits hydrocarbonés liquides (pétroles synthétiques, carburants, lubrifiants) par action de l'hydrogène. La première industrialisation du procédé de solvolysse/liquéfaction est due à Carl von Linde et peut s'appliquer à des produits à haut taux d'humidité. Un procédé idéal de liquéfaction serait celui pour lequel il y aurait élimination totale de l'oxygène de la biomasse avec en même temps obtention d'un pourcentage d'hydrogène suffisant pour que le produit (bio-pétrole) soit liquide. Les caractéristiques recherchées pour un bio-pétrole idéal largement décrites dans la littérature (*Wang et al., 2008*) sont les suivantes :

- l'énergie totale > 40 MJ/kg afin d'avoir un pouvoir calorifique suffisant pour une utilisation en tant que combustible,
- et le rapport H/C $> 1,5$ afin de ne pas avoir à ré-hydrogéner l'huile obtenue pour une utilisation comme combustible dans l'industrie de l'automobile,
- et enfin le taux d'oxygène $< 2\%$ afin de ne pas rajouter une voie supplémentaire de désoxygénation (HDO). Trois voies sont théoriquement possibles pour éliminer l'oxygène de la biomasse : la formation de CO, la formation d'H₂O et enfin la formation de CO₂.

L'élimination de CO entrainerait une élimination totale de l'oxygène et le produit de liquéfaction obtenu serait gazeux étant donné que le rapport atomique O/C = 1 dans la biomasse lignocellulosique.

Quant à l'élimination de l'oxygène sous forme de H₂O, elle réduirait le pourcentage d'hydrogène et conduirait à la formation de charbon ou de coke.

Ainsi, l'élimination de l'oxygène sous forme de CO₂ est le meilleur compromis théorique mais elle devrait être accompagnée d'une élimination de H₂O afin d'obtenir un produit de conversion liquide.

La liquéfaction directe consiste alors à transformer directement, par voie thermochimique, un solide en liquide sous l'effet de la température, du solvant et d'un gaz réducteur.

II.1. Rôle de la température

La température permet de déclencher une succession complexe de réactions chimiques permettant de libérer les polymères initialement présents dans les substrats. La température optimale de liquéfaction directe de la biomasse se situe entre 250°C et 450°C. En effet, en deçà de 250°C, les cinétiques réactionnelles sont trop lentes et au-delà, les phénomènes de dégradation thermique l'emportent sur les réactions de solvololyse et d'hydrogénolyse. Ainsi, au cours du procédé de liquéfaction de la biomasse, les réactions ioniques et les réactions radicalaires (Figure II.1-I) ont lieu simultanément dans le réacteur de liquéfaction sous l'effet de la température (*Kabyemela et al., 1998 ; Antal et al., 1991*).

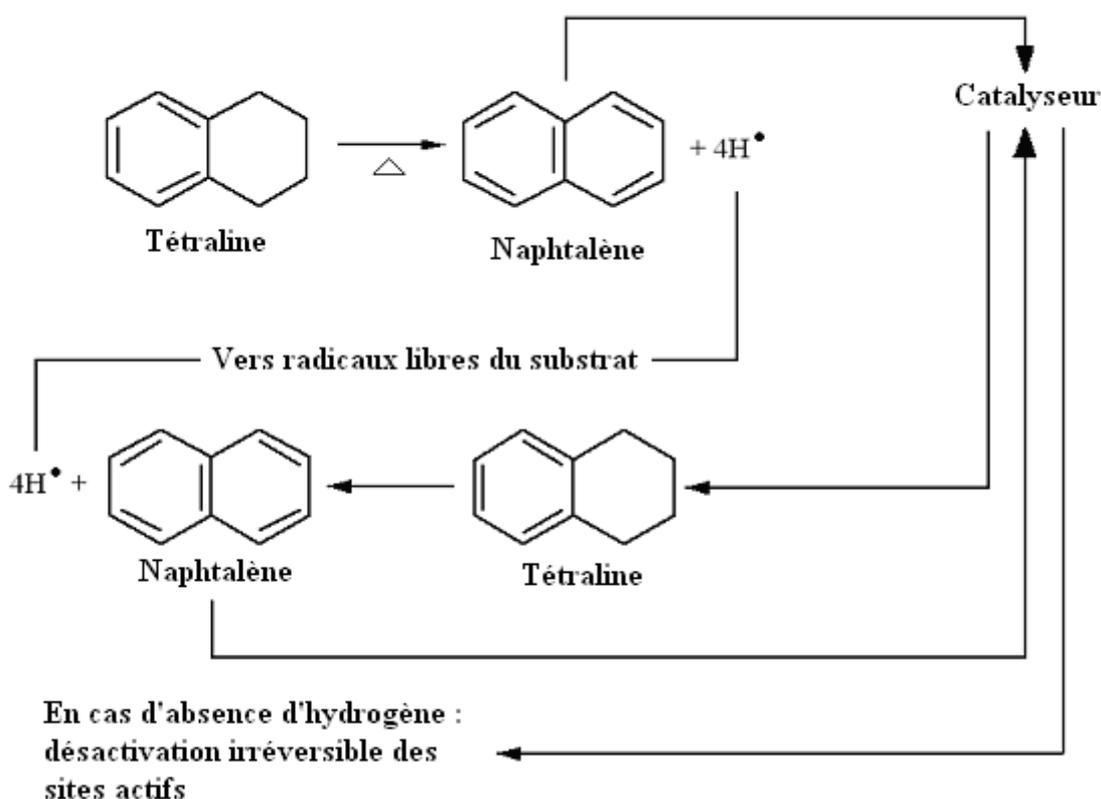


Figure II.1-I Mécanisme de déshydrogénation de la tétraline et le transfert d'hydrogène vers les radicaux.

La conversion par hydroliquéfication catalytique de matériaux lignocellulosiques finement divisés s'effectue sous l'action de gaz réducteur, en présence d'un solvant dispersant et quelquefois d'un catalyseur.

II.2. Rôle du solvant

L'étude bibliographique montre que les solvants susceptibles d'être utilisés sont nombreux (*Boocock et al., 1982, Demirbas et al., 2008*): acétone, éthanol, propanol, butanol, glycérol, eau, liquides ioniques, le phénol et les dérivés phénoliques (crésol, guaiacol). Le solvant choisi pour notre étude sera la tétraline car il empêche les réactions de recombinaison et les réactions réversibles par dilution des produits de réaction. Il favorise aussi les contacts entre le gaz, les réactifs et les intermédiaires réactionnels évitant ainsi leur condensation en produits plus lourds tel que le coke. La tétraline permet également d'éliminer l'oxygène sous

forme d'eau, ce qui conserve la teneur en carbone et donne une faible viscosité à l'huile produite.

II.3. Rôle du catalyseur et du gaz réducteur

Le gaz réducteur le plus couramment employé au cours de la liquéfaction est l'hydrogène. Le mécanisme de transfert d'hydrogène de l'hydrogène moléculaire en produits liquéfiés par la tétraline est expliqué en détail par Curann et al. (1967). Après avoir donné l'hydrogène, la tétraline se transforme en naphthalène et le naphthalène est transporté rapidement sur la surface du catalyseur où il sera hydrogéné à l'aide du gaz réducteur présent dans le milieu en régénérant la tétraline qui agit comme un transporteur d'hydrogène. L'hydrogène est libéré par la tétraline sous forme d'un radical libre. Ces radicaux sont adsorbés sur les sites actifs de la surface du catalyseur avec lesquels sont capables de réagir.

III. Les différents procédés de liquéfaction

Dans la littérature, la liquéfaction a été effectuée sur différents types de substrats. Elle a été menée à la fois sur le matériau global et sur les fractions le constituant. L'industrie du bois et notamment l'industrie papetière qui valorise depuis longtemps ces types de déchets sont des précurseurs en matière de liquéfaction du bois et de ses fractions lignocellulosiques.

III.1. La liquéfaction du bois

Les premières études sur la conversion directe de la biomasse en huile ont été effectuées par Rezzoug et Capart (2003) de la firme Lindblad. Le bois a été liquéfié par hydrogénolyse, dans un réacteur fermé, à une température de 450°C et à une pression initiale en hydrogène de 22 MPa. La liquéfaction directe du bois a été également étudiée par Faix (1988) et Boocock et al. (1986.). Ces chercheurs ont effectué des essais d'hydroliquéfaction du bois en utilisant un système d'autoclaves en cascade en faisant varier la température (320-400°C). En outre, Friedmann et al., (1971) du Pittsburg Energy Research Center ont effectué des essais d'hydroliquéfaction de bois finement divisé, ils ont remarqué qu'une conversion

totale du bois est observée à des températures de 300 à 340°C avec des rendements en huile de 40 à 55% et des teneurs en oxygène de l'huile comprise entre 12 et 17% selon la température de la réaction.

Plusieurs essais de liquéfaction directe du bois ont été effectués au Technical Research Center of Finland (VTT) par Mckeough et al., (1988). Ils ont montré qu'avec des solvants comme l'anthracène, la tétraline et le 1-méthylnaphtalène et des températures allant de 380°C à 420°C, le rendement en huile obtenu est de l'ordre de 70 à 80%.

Soyer et al., (1985) ont étudié la liquéfaction du bois en poudre à 340°C sous pression (H_2 et He), en utilisant comme solvant l'eau et en faisant varier les catalyseurs à base de fer. Ils obtiennent une conversion totale avec des rendements en huile de 40% et observent que la nature de gaz réducteur (hydrogène ou hélium) n'a pas grande influence sur la qualité de l'huile.

Chin et al. (1981) ont étudié l'hydroliquéfaction catalytique du bois en présence de cobalt à des températures de réaction comprises entre 340°C et 430°C. Ils obtiennent des rendements en huile de 47%, cette huile est riche en hydrocarbures (C_{16} à C_{24}).

Paulo et al. (1986) ont remarqué que la nature du gaz joue un rôle important quand le rapport tétraline/bois est faible ; pour une liquéfaction efficace et pour éviter l'utilisation de l'hydrogène, il est préférable d'augmenter le rapport tétraline/bois. La production de fractions légères est favorisée par la présence de l'hydrogène et de catalyseur tel que le platine.

La liquéfaction a été ensuite menée sur des fractions composant le bois afin de mieux comprendre les processus prenant place lors de la liquéfaction.

III.2. La liquéfaction des fractions du bois

De nombreuses expériences d'hydroliquéfaction de matériaux lignocellulosiques tels que la lignine ont été effectuées par Gupta et al. (1976). Ils ont montré la faisabilité de la conversion des ces matériaux en hydrocarbures en présence d' H_2 à 7 MPa à une température

de 425°C. Le solvant porteur employé est l'huile de paraffine et le catalyseur est la soude. Le rendement obtenu en huile est de 45%.

Un groupe de chercheurs de l'institut de Noguchi a converti le sulfonate de lignine (sous-produit de l'industrie du papier) en utilisant l'huile de « pasting » principalement constitué de phénol, à des températures allant de 370 à 430°C et une pression minimale en H₂ de 10 MPa en employant différents types de catalyseurs Fe, Ni et Pt sur charbon. Les auteurs ont obtenu une conversion totale de la lignine en liquide. L'huile produite contient 44% de monophénols.

Nicholas et al. (1985) ont liquéfié la cellulose en présence de tétraline, en utilisant Pd/Al₂O₃ comme catalyseur à des températures allant de 360°C à 400°C et à la pression initiale en hydrogène de 3 MPa. Ils ont obtenu une conversion complète de la cellulose en liquide à une température de 360°C avec un rendement en huile de 54%. Cette dernière contient 21% d'oxygène. Ils ont observé que l'augmentation de la température de 360 à 400°C favorisait la production du gaz et par conséquent diminuait le rendement en l'huile.

Conclusion

Les filières de conversion énergétique de la biomasse lignocellulosique ou non reposent essentiellement sur deux voies : la voie biochimique et la voie thermochimique. La voie thermochimique choisie pour l'étude de la conversion de la biomasse lignocellulosique biodégradable est la liquéfaction ou solvolysse catalytique. Le but est, dans un premier temps, de liquéfier une biomasse fragilisée par un prétraitement biologique et, dans un second temps, les substances humiques qui la composent. En effet, le procédé de liquéfaction, couramment utilisé dans l'industrie du bois a été employé pour la conversion du bois et des fractions lignocellulosiques le composant. Il est à noter que la liquéfaction directe fait intervenir plusieurs paramètres tels que la température de réaction, la nature du solvant, du catalyseur et l'ajout d'un gaz réducteur qui peuvent être optimisés afin d'augmenter les rendements en produits de solvolysse/liquéfaction.

PARTIE 1 :
DESTRUCTURATION DE LA BIOMASSE

Chapitre I :
Conditions de déstructuration

La première partie de ce travail a consisté à transformer la biomasse initiale afin de d'augmenter les rendement de liquéfaction et de diminuer la consommation d'hydrogène au cours de la liquéfaction. Il s'agissait de biodégrader la matière organique (MO) de la biomasse selon un processus de décomposition biologique proche du compostage.

Afin d'étudier au mieux l'influence de cette biodégradation sur la liquéfaction, il nous a fallu déterminer des conditions qui puissent être reproductibles. Pour cette raison, nous avons choisi de procéder en conditions contrôlées (bioréacteur). En effet, contrairement aux systèmes plus simples (plate forme de compostage), le bioréacteur permet de contrôler les paramètres de transformation (température, pH, aération, etc.), et de ce fait, il permet de récolter des informations de plus grande fiabilité.

I. Choix des intrants

Les intrants ont été choisis en fonction de leur disponibilité locale et de l'importance de valoriser certains d'entre eux. Deux essais ont été réalisés ; pour le premier, les intrants choisis ont été les suivants :

- déchets végétaux : paille, bois de châtaignier, coques de lupin, chanvre,
- bio-déchets : épluchures de fruits et légumes
- matériaux cellulosiques papier

Des intrants commerciaux ont été utilisés ; ces derniers ont été broyés à 200 μ m, humidifiés puis homogénéisés avant d'être introduits dans le réacteur.

Au cours du second essai, nous avons utilisé les intrants suivants avec des proportions bien définies :

- matériaux lignocellulosiques tels que la paille et bois, constituent la source de carbone
- bio déchets (source d'azote) : gazon.

Les intrants choisis ont été prélevés sur le site des espaces verts de l'Université de Poitiers afin d'avoir un apport de micro-organismes nécessaire à la biodégradation. Il est à noter que la paille de blé, une matière première commerciale, nous a été fournie par *VALAGRO*, une société spécialisée dans la valorisation industrielle des agro ressources. Contrairement au premier essai, les intrants ne sont pas broyés et de l'eau a été ajoutée pour humidifier la biomasse.

I.1. Composition des deux mélanges

Les deux essais de biodégradation ont été réalisés sur des mélanges de bois, gazon et paille dans des proportions variables afin d'avoir des valeurs de rapport C/N différentes en début de biodégradation. Du papier a été ajouté au cours de l'essai 1 pour son rôle de structurant afin de favoriser l'aération de la biomasse au cours du processus de biodégradation.

Pour l'essai 1, le rapport C/N initial est élevé (34). Le mélange est composé de gazon (3%), bois (9%), paille (67%) et papier (21%). La quantité de gazon, source d'azote, relativement faible explique le rapport C/N initial élevé.

Pour l'essai 2, le rapport C/N de départ est de 24. Le mélange est composé de gazon (45%), bois (38%) et paille (17%). La quantité importante de gazon explique l'obtention de ce rapport C/N adéquat à la biodégradation.

La Figure I.1-I montre la composition des deux mélanges avant la biodégradation.

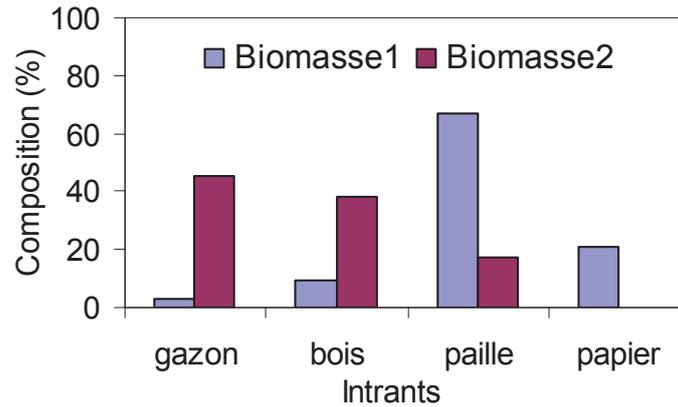


Figure I.1-I Composition initiale des deux biomasses

Le mélange initial a été broyé à 200 μ m au cours de l'essai 1. Une surpression ayant été constatée lors de ce premier essai, nous avons donc choisi de ne pas broyer le mélange initial de l'essai 2.

I.2. Caractérisation des intrants

Le gazon est riche en azote comme la plupart des déchets verts. Il représente dans notre cas l'apport essentiel en azote nécessaire pour la biodégradation contrairement à la paille qui constitue l'apport essentiel de carbone. La paille et le gazon ont été caractérisés par pyrolyse à 600°C (Figure I.2-I).

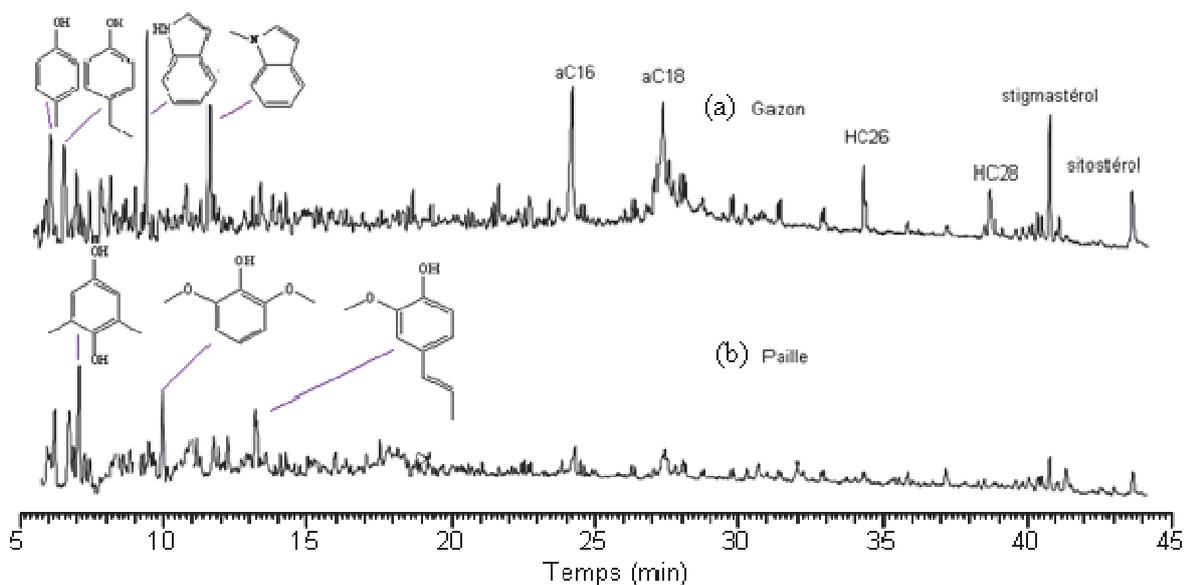


Figure I.2-I Pyrogrammes à 600°C du gazon (a) et de la paille (b)

L'analyse moléculaire de ces deux intrants montre que la paille est très riche en composés ligneux tandis que le gazon est constitué de composés azotés, d'hydrocarbures linéaires (HC), d'acides gras (aCn) et de quelques triterpènes tétracycliques-(β -sitostérol et stigmastérol).

II. Paramètres de biodégradation

II.1. Le taux d'humidité

Le taux d'humidité est contrôlé tout au long de la biodégradation. Il est maintenu constant tout au long de la déstructuration en l'ajustant manuellement à 60 % du poids de biomasse sèche. Pour ce faire, tous les deux jours, la mesure du taux d'humidité relative nous permet de calculer la quantité d'eau à ajouter.

II.2. L'aération

Afin de favoriser l'aération, le mélange initial est retourné 8 jours après le début du processus puis tous les 15 jours (22 et 36 jours). Ces retournements correspondent aux prélèvements effectués et sont suivis généralement d'une reprise de l'activité biologique. Cela se traduit par une montée en température au sein du bioréacteur (Kato *et al.*, 2008). Pour le processus de biodégradation, nous avons imposé une aération forcée partant de la base du réacteur et fixée à $250 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$. Cette aération permet de maintenir l'activité biologique nécessaire tout au long de la biodégradation (He *et al.*, 2000)

III. Le bioréacteur

La synthèse bibliographique nous a permis de distinguer plusieurs types de réacteurs de compostage dont les plus répandus sont ceux à aération naturelle, passive et forcée. Le réacteur (Figure III-I) utilisé pour la biodégradation de la biomasse lignocellulosique est en acier massif, de forme cylindrique ($V = 85 \text{ L}$, $H = 80 \text{ cm}$, $D = 40 \text{ cm}$) possédant une double

paroi afin de limiter les échanges thermiques avec le milieu extérieur. Une grille métallique placée à 5 cm du fond du réacteur permet de récupérer le lixiviat qui est évacué par une ouverture placée en bas du réacteur. Un thermocouple (sonde PT-1000) placé à mi-hauteur à l'intérieur du réacteur enregistre toutes les heures l'évolution de la température. Un débit d'air contrôlé fourni par un compresseur est appliqué à la base du réacteur assurant ainsi l'aération de la biomasse lignocellulosique tout au long de la biodégradation (*de Guardia et al., 2007*). Ainsi, la possibilité de contrôler le débit d'air permet à priori de maîtriser le processus de biodégradation. Il est à noter que deux essais ont été menés sur 5 kg de biomasse sèche, ils ont débuté au début du mois de juin 2008.

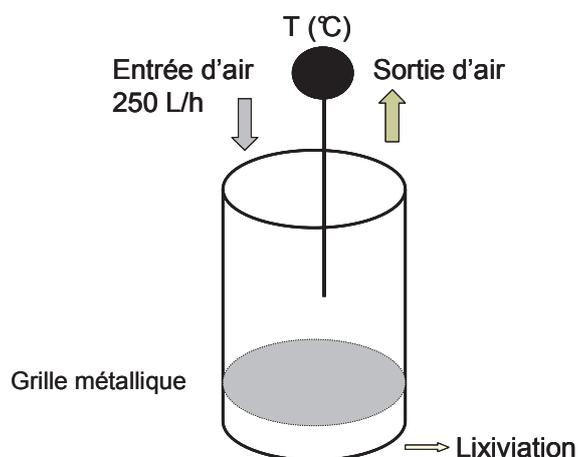


Figure III-I Réacteur de destruction de la biomasse lignocellulosique

Lors du remplissage du réacteur, aucun tassement manuel n'a été appliqué sur les mélanges afin de reproduire le plus naturellement possible le processus de compostage.

Chapitre II :**Evolution de la biomasse au cours de la déstructuration**

Les paramètres physico-chimiques permettant de suivre le processus de déstructuration de la biomasse sont : le pH, le rapport C/N, la quantité de carbone organique, le taux de matière organique. La mesure de la minéralisation et de l'auto échauffement permet d'apprécier l'activité biologique. La spectroscopie infrarouge et l'analyse thermique (ATD/ATG) permettent d'observer l'évolution de la matière organique (MO) de manière globale.

I. Les paramètres physico-chimiques**I.1. La température**

La température est un paramètre simple mais très utile à suivre. Elle est un bon indicateur de l'état de décomposition de la biomasse lignocellulosique et est étroitement liée à la quantité d'oxygène au sein de la MO. En effet l'activité bactérienne consommatrice d'oxygène entraîne une augmentation de la température au sein des mélanges déstructurés (*Yu et al., 2008*). Ainsi, la température au cours de la biodégradation peut donc nous indiquer si les paramètres choisis sont favorables au processus. D'autre part, lorsque la température n'évolue plus, on peut considérer que l'activité bactérienne atteint un équilibre et que l'essai peut être interrompu.

Pour chacun des deux essais, nous avons mesuré l'évolution de la température au sein du bioréacteur de déstructuration. La Figure I.1-I montre l'évolution de la température au cours du premier essai.



Figure I.1-I Evolution de la température au cours de l'essai 1

La température mesurée à mi-hauteur du réacteur de déstructuration au cours de l'essai n°1 augmente lors de chaque retournement. Ce phénomène est étroitement lié à l'apport d'oxygène qui en résulte. Toutefois, la température reste peu élevée et ne dépasse jamais 40°C. Le faible échauffement de la biomasse ainsi observé au cours de cet essai peut être en partie causé par le tassement naturel dû au broyage et aussi par l'air frais injecté par le compresseur. Des zones anaérobies sont ainsi créées et ralentissent fortement l'activité biologique consommatrice d'oxygène. Après 30 jours de biodégradation, la température atteint un palier qui traduit une stabilisation de l'activité biologique. L'essai 1 a donc été interrompu à 36 jours.

En ce qui concerne l'essai n°2, une forte augmentation de la température est observée dans les premiers jours (58°C) suivie d'une baisse et ensuite d'une stabilisation à partir de 50 jours. Chaque retournement est suivi d'une augmentation de la température (Figure I.1-II) qui traduit une reprise de l'activité biologique au sein du mélange déstructuré.

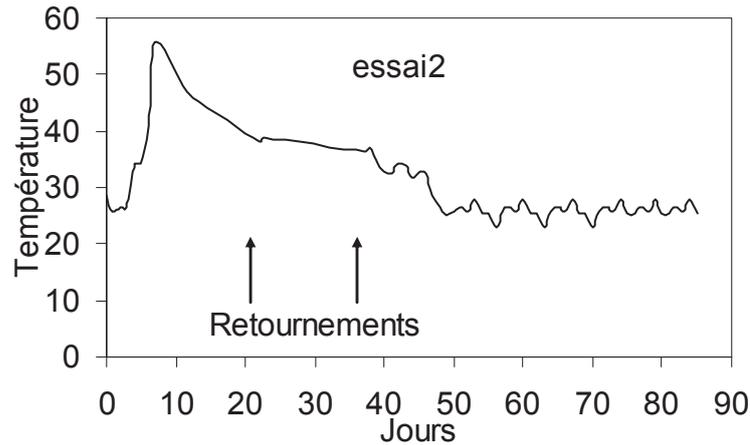


Figure I.1-II Evolution de la température (Essai 2)

I.2. Le pH

Le pH constitue un bon critère d'évaluation de l'état de biodégradation de la biomasse (Veeken *et al.*, 2000). Une aération efficace de la biomasse entraîne une décomposition plus rapide des acides et donc une augmentation du pH (Tang *et al.*, 2004). En effet, alors que pour l'essai 1 le pH est resté relativement stable (7 à 7,5), au cours de l'essai 2 il augmente sensiblement (6 à 8) avant d'atteindre un palier dès 50 jours traduisant ainsi une stabilisation de l'activité biologique (Figure I.2-I).

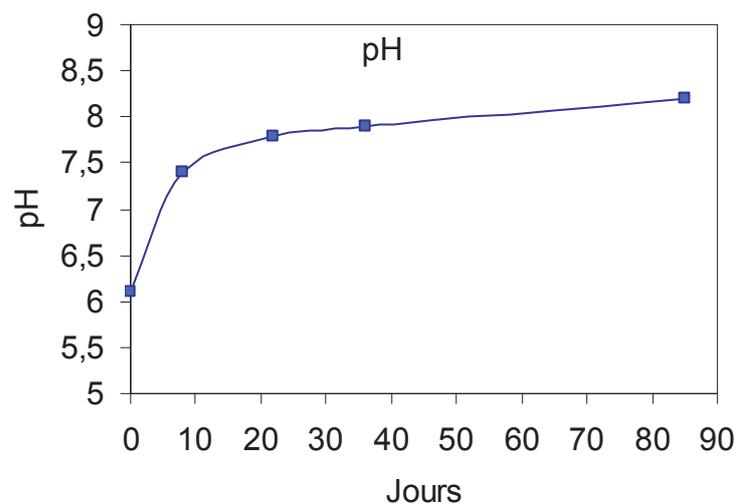


Figure I.2-I Evolution du pH de l'essai 1 au cours de la déstructuration (essai 2)

I.3. Analyse élémentaire

L'évolution des paramètres physico-chimiques tels que la température, le pH et les analyses élémentaires nous a permis d'évaluer la maturité de la MO. L'analyse élémentaire, effectuée sur 3 réplicats, montre une reproductibilité du taux de carbone d'un même échantillon (Tableau 3).

Tableau 3 Evolution des quantités de carbone de l'essai 2 au cours du temps

Jours	Quantité de carbone (g/kg)		
0	439	434	432
8	434	432	434
22	424	434	424
36	435	432	424
85	nd*	nd*	421

* nd : non déterminé

La quantité initiale de carbone de l'essai 1 est supérieure à celle de l'essai 2. Au cours de l'essai 1, la quantité de carbone diminue avant de se stabiliser après 22 jours tandis qu'au cours de l'essai 2 la quantité de carbone est relativement stable au cours du temps.

Il apparaît en outre que le rapport massique C/N de l'essai 1, trop élevé (C/N de 34) entraîne un démarrage lent du processus de biodégradation et un allongement de la durée de déstructuration. (Tuomela et al., 2000). D'autre part, les intrants fournis par notre partenaire, et habituellement utilisés pour la production de biopolymères n'ont pas favorisé la présence de micro organismes. En conséquence, le rapport C/N (Tableau 4) a peu diminué durant les 36 jours de l'essai 1.

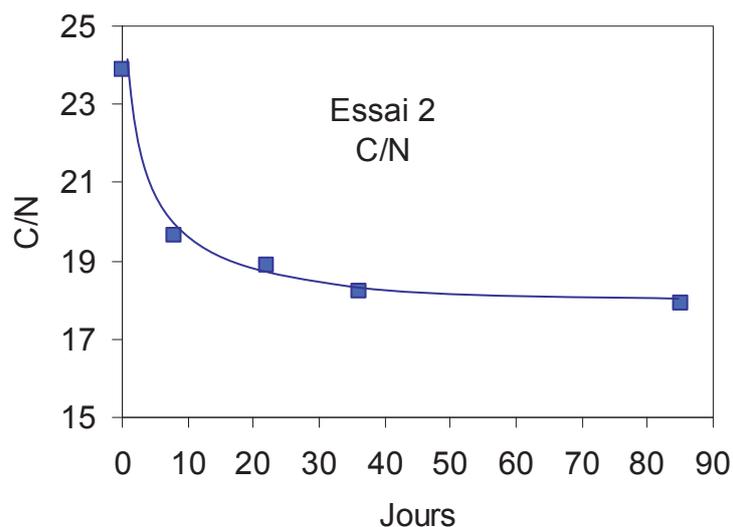


Figure I.3-I Evolution du rapport C/N au cours du temps dans l'essai 2

Tableau 4 Evolution des proportions en carbone et en azote au cours de la déstructuration

Jours	%C		%N		C/N	
	Essai 1	Essai 2	Essai 1	Essai 2	Essai 1	Essai 2
0	44,4	43,23	1,28	1,81	34,69	23,88
8	38,05	43,42	1,12	2,21	33,97	19,65
22	39,31	42,48	1,13	2,25	34,79	18,88
36	42,81	42,49	1,46	2,33	29,32	18,24
85	nd*	42,11	nd*	2,35	nd*	17,92

*nd non déterminé

Dans le cas de l'essai 2, nous avons choisi des intrants donnant un rapport C/N initial faible ($C/N < 25$) favorable à l'activité bactérienne (Droussi *et al.*, 2009). Dans ce cas, le rapport C/N diminue au cours de la biodégradation avant d'atteindre un palier après 36 jours (Figure I.3-I). Les résultats de l'analyse élémentaire des divers échantillons sont présentés dans le Tableau 5, ils permettent de calculer et de suivre l'évolution, au cours de la biodégradation, des rapports atomiques O/C (Figure I.3 II) et H/C (Figure I.3 III).

Tableau 5 Proportions en carbone oxygène et hydrogène au cours de la déstructuration

Jours	%C		%H		%O		O/C		H/C	
	essai1	essai2								
0	44,40	43,23	5,15	5,17	44,17	37,3	0,75	0,68	1,39	1,44
8	38,05	43,42	4,22	5,33	51,61	36,71	1,02	0,65	1,33	1,47
22	39,31	42,48	4,83	5,15	49,73	37,83	0,95	0,65	1,47	1,45
36	42,81	42,49	5,27	5,23	45,46	36,31	0,8	0,63	1,48	1,48
85	nd*	42,11	nd*	5,21	nd*	35,85	nd*	0,63	nd*	1,48

*nd non déterminé

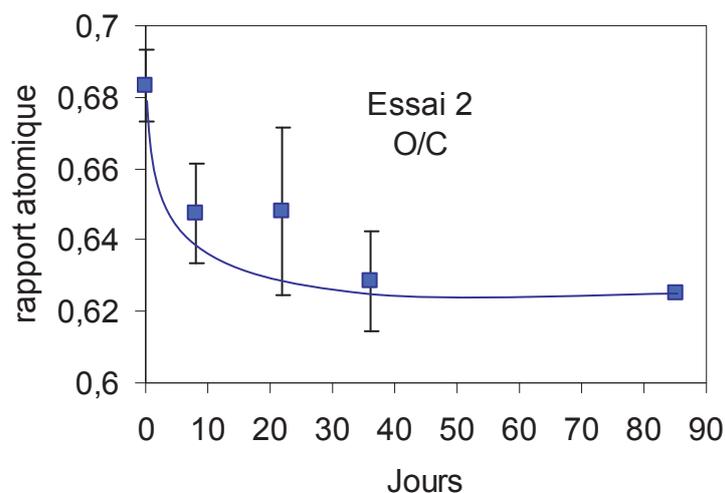


Figure I.3-II Evolution du rapport O/C de l'essai 2 au cours du temps

Le rapport O/C initial de l'essai 1 est supérieur à celui de l'essai 2. Cette différence s'explique par la composition initiale des deux biomasses. En effet, la proportion d'intrants riches en composés ligneux est importante dans l'essai 1 (76%) comparativement à l'essai 2 (55%). Le rapport O/C diminue pour l'essai 1 tandis que pour l'essai 2 il diminue légèrement avant de se stabiliser après 36 jours de déstructuration, indiquant ainsi qu'une partie de l'oxygène est transformé au cours de la biodégradation.

Le rapport atomique H/C (Figure I.3-III) est un bon indicateur du caractère aliphatique de la MO globale. En effet, une augmentation de ce rapport se traduit par une augmentation du caractère aliphatique donc une diminution des structures insaturées au sein de la MO (Roig *et al.*, 2006 ; Cayuela *et al.* 2006).

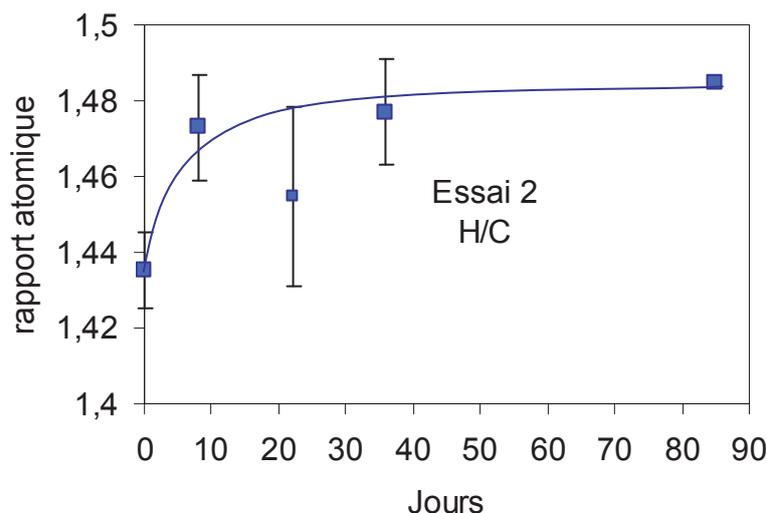


Figure I.3-III Evolution du rapport H/C de l'essai 2 au cours du temps

Le rapport H/C du mélange initial de l'essai 1 est supérieur à celui de l'essai 2. Cette différence indique une structure plus aliphatique du mélange initial de l'essai 2 par rapport à l'essai 1. Au cours du temps, le rapport H/C augmente (1,39 à 1,47) avant de se stabiliser pour l'essai 1 indiquant ainsi un caractère de plus en plus aliphatique de la MO.

Dans le cas de l'essai 2, le rapport H/C reste stable et varie peu au cours de la déstructuration. Cependant, l'écart important sur les valeurs obtenues et l'hétérogénéité du matériau incite à la prudence.

II. Activité biologique

II.1. L'auto échauffement

L'auto échauffement de la biomasse correspond à la température maximale mesurée sur une période de 3 jours. Pour ce faire, l'échantillon de biomasse déstructurée est placé dans un récipient isotherme (Dewar) et la température est relevée toute les 6 heures sur une période de 3 jours. La mesure de l'auto échauffement d'une biomasse constitue un bon indicateur de l'activité bactérienne (*Som, 2006*).

Au cours de l'essai 1, la valeur de l'auto échauffement la plus élevée obtenue est 27°C et est observée avec les échantillons prélevés à 8 et 22 jours (Tableau 6). Cependant, la température maximale atteinte reste faible traduisant une faible activité biologique.

Tableau 6 Auto échauffement de la biomasse au cours du temps

Jours	Essai 1	Essai 2
0	20	22,5
8	27	44
22	27,4	34,5
36	21,2	32
85	nd*	29

*nd non déterminé

Les échantillons prélevés lors du deuxième essai présentent un auto-échauffement significatif, 44°C (Figure II.1-I). Cet auto-échauffement traduit une activité biologique intense jusqu'à 36 jours. L'arrêt de l'auto-échauffement de la biomasse déstructurée au-delà de cette période indique une MO stabilisée.

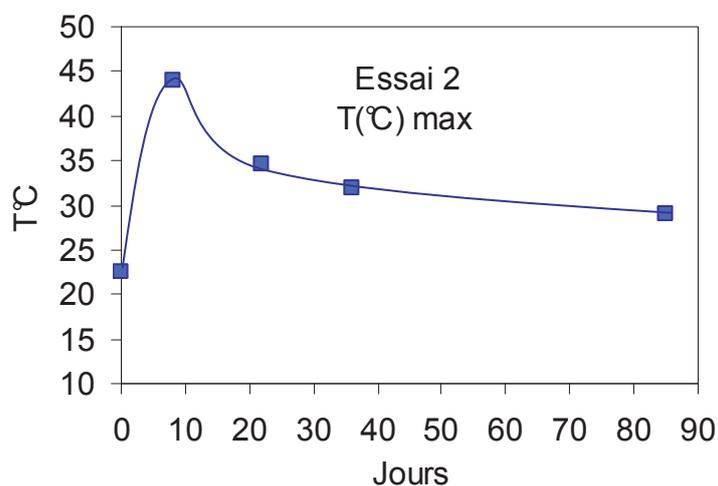


Figure II.1-I Température maximale de chaque prélèvement

II.2. La minéralisation

Les courbes de minéralisation (Figure II.2-I) permettent d'évaluer la vitesse de libération du carbone sous forme de CO₂. Cette vitesse de libération est conditionnée par la stabilité de l'échantillon, c'est-à-dire par l'activité biologique. Ainsi, la minéralisation constitue un bon critère d'évaluation de la maturité de la MO (Franco, 2003).

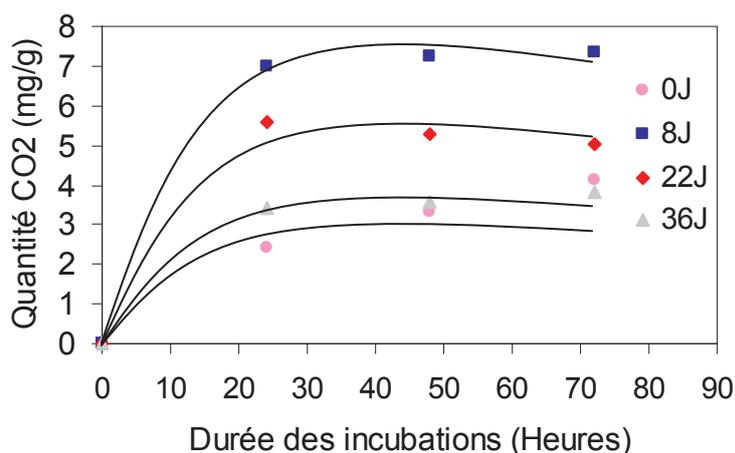


Figure II.2-I Vitesse de minéralisation de la MO (essai 1)

Les quantités de CO₂ dégagées pour les divers échantillons de l'essai 1 diminuent au cours de la déstructuration. De plus, ces quantités sont très faibles, ne dépassant pas 8 mg/g de substrat introduit. Il est à noter que, le mélange déstructuré à 8 jours (8J) a la plus forte minéralisation tandis que le mélange initial (0J) a une courbe de minéralisation très proche du mélange déstructuré à 36 jours (36J) qui correspond à une MO mature et stable. Ainsi, la MO de l'essai 1 peut être alors considérée comme stable, c'est-à-dire plutôt réfractaire à la biodégradation. Cette faible minéralisation corrèle bien avec le faible auto échauffement de la MO de l'essai 1.

III. Evolution structurale

III.1. Les analyses thermiques

Les Analyses Thermiques Différentielles (ATD) de l'essai 2 à différents temps de déstructuration sont réalisées sous atmosphère oxydante (air) et montrent des phénomènes

endothermiques et exothermiques. Dans un premier temps, un phénomène endothermique 70-100°C assimilé à la déshydratation de la matière organique totale (MOT) est observé (*Som et al., 2009*). Il est suivi de deux phénomènes exothermiques 290-305°C et 435-470°C associés à la décomposition de la MO complexe (Figure III.1-I).

Le premier pic exothermique correspond à la perte de masse associée aux structures aliphatiques tandis que le second pic exothermique a pu être attribué à l'oxydation des structures aromatiques (*Barros et al., 2007, Som et al., 2009*). L'intensité du premier phénomène exothermique diminue au cours de la déstructuration alors que celle du second augmente légèrement (Tableau 7). Ceci est dû à la plus grande biodégradabilité des composés aliphatiques, notamment les carbohydrates par rapport aux composés ligneux. Pour quantifier cette évolution, nous avons défini au laboratoire (*Som et al., 2009*) un rapport R_{ATD} comme étant le rapport des pertes de masse associées au 2nd phénomène exothermique sur celles associées au 1er (Figure III.1-II). Ainsi, le rapport (R_{-ATG}) des pertes de masse associées aux aromatiques sur celles associées aux aliphatiques (Figure III.1-II) nous permet d'avoir des informations sur l'évolution de la nature de la matière organique de la biomasse déstructurée.

Tableau 7 Pertes de masse (ATG) associées aux phénomènes exothermiques (ATD)

Jours	1 ^{er} pic exothermique (%)	2 nd pic exothermique (%)
0	65,03	14,27
8	62,62	14,78
22	55,27	18,03
36	56,10	19,61
85	57,98	16,93

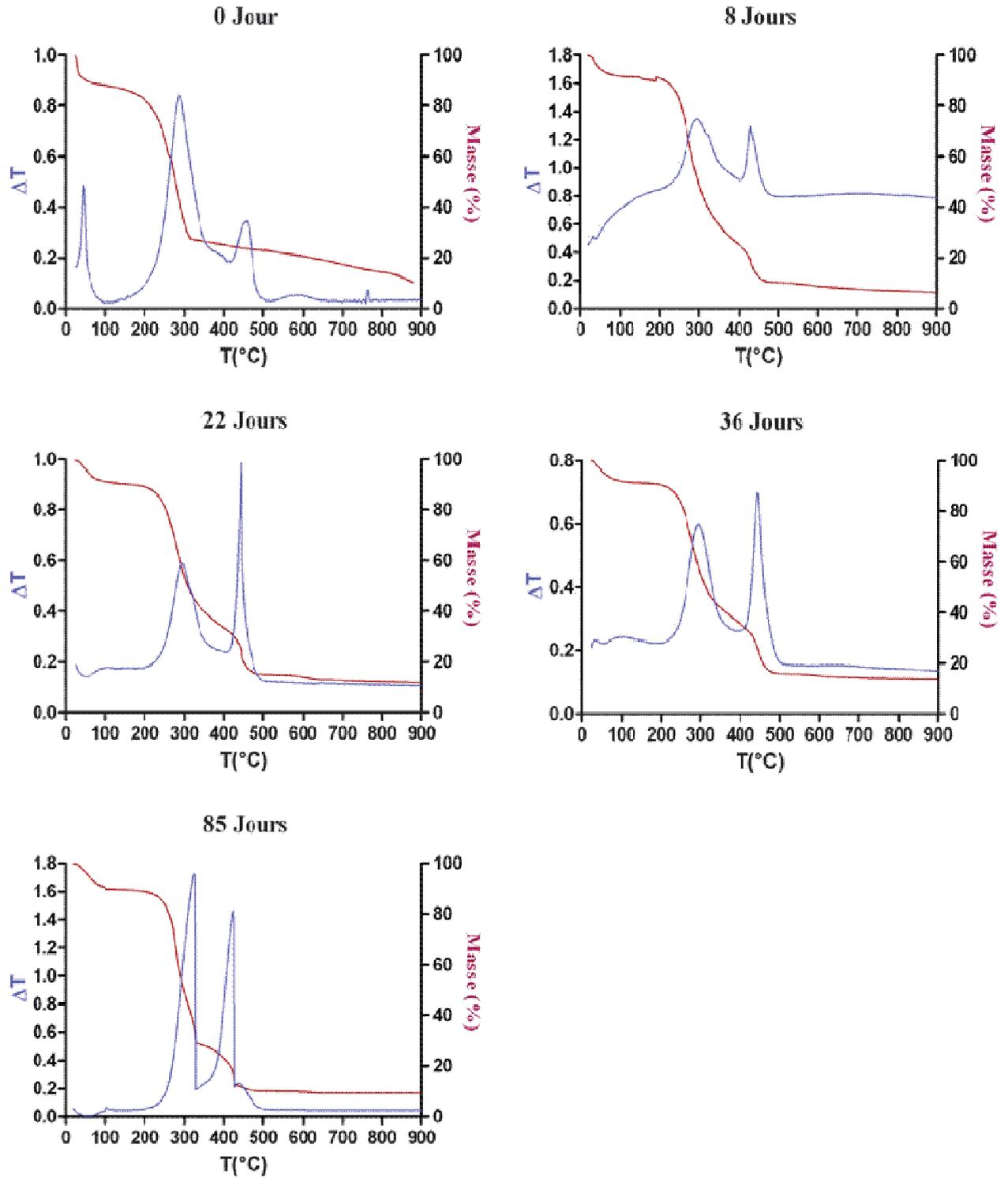


Figure III.1-I Courbes ATD et ATG montrant l'évolution de la biomasse de l'essai 2 au cours de la biodégradation

Le rapport R_{ATG} augmente au cours du temps, traduisant ainsi un caractère de plus en plus aromatique de la MO au cours de la biodégradation. Ainsi, nous pouvons conclure que la MO s'humifie au cours de l'essai 2. Les analyses élémentaires, confirment cette légère aromatisation de la MO de l'essai 2.

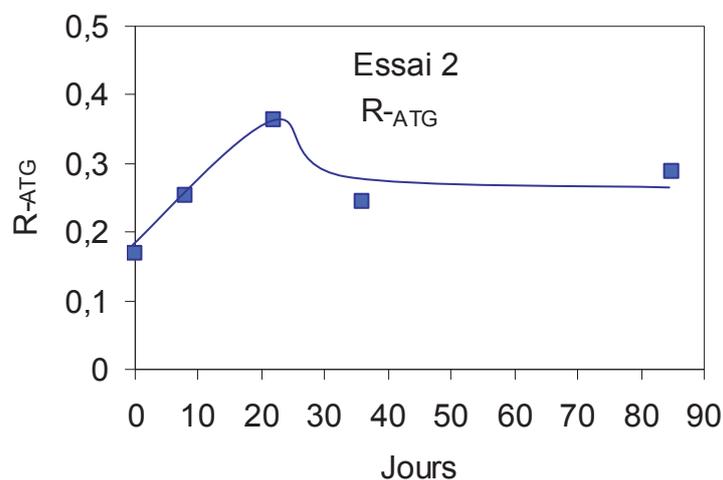


Figure III.1-II Évolution du rapport R_{ATG} au cours de la biodégradation (essai 2)

La biodégradation de la biomasse s'accompagne de minéralisation et donc d'une diminution du taux de MO (Tableau 8). En effet, les analyses thermogravimétriques permettent d'accéder au taux de matière organique, celui-ci peut cependant être obtenu par perte au feu à 550°C durant 7 heures.

Tableau 8 Evolution de la teneur en matière organique au cours de la biodégradation (%)

Temps (Jours)	Essai 1 ^a	Essai 2 ^a	Essai 2 ^b
0	94,1	92,7	79,3
8	92,7	89,4	77,4
22	88,3	89,1	75,3
36	87,2	88,7	75,7
85	nd*	88,9	74,9

* non déterminé

^a obtenu par perte au feu

^b obtenu par ATG

La teneur en MO initiale de l'essai 1 (94,1%) est supérieure à celle de l'essai 2 (92,7%). La perte de masse au cours de la déstructuration obtenue par perte au feu à 550°C est, de même, plus importante pour les échantillons de l'essai 1 (7%), comparativement aux échantillons de l'essai 2 (4,3%). On observe que, pour les échantillons déstructurés de l'essai 2, les pertes de masse obtenues par perte au feu (4,3%) et par ATG (4,5%) sont sensiblement identiques. La différence des quantités de MO initiale déterminées par ces deux techniques peut être liée à la température de combustion des échantillons qui est de 900°C en ATD-ATG contre 550°C pour la perte au feu.

III.2. Les analyses spectroscopiques

La structure chimique complexe de la matière organique rend l'interprétation des spectres IR délicate. Toutefois, l'observation des bandes associées aux liaisons C=C (1625 cm^{-1}), C-O (1056 cm^{-1}) et C-H (2920 cm^{-1}) permet de recueillir des informations sur la transformation de la matière organique (Stevenson, 1994; Baddi et al., 2004). La Figure III.2-I montre l'évolution des spectres IR obtenus au cours du temps sur l'essai 2.

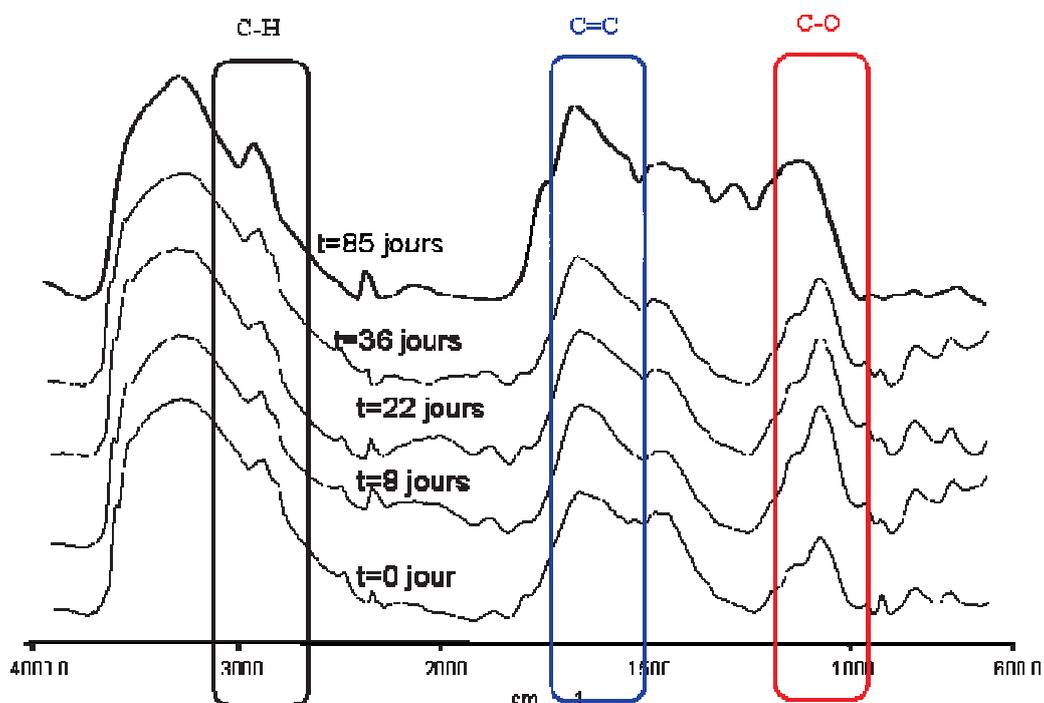


Figure III.2-I Spectres DRIFT de la MOT à t=0, 8, 22, 36 et 85 jours au cours de l'essai 2

La décomposition de la biomasse au cours de la biodégradation se traduit par une augmentation de l'intensité relative des bandes associées aux aromatiques par rapport à celles correspondant aux chaînes aliphatiques, aux polysaccharides et aux alcools. Le calcul des rapports des intensités en absorbance des bandes associés aux aromatiques et aux aliphatiques permet de mettre en évidence l'aromatisation de la matière organique au cours de la déstructuration. Ce rapport $R-IR_1$ (Figure III.2-II) correspond au rapport des intensités des pics associés aux liaisons C=C (1625 cm^{-1}) /pics associés aux aliphatiques (2920 cm^{-1}) (Som *et al*, 2009).

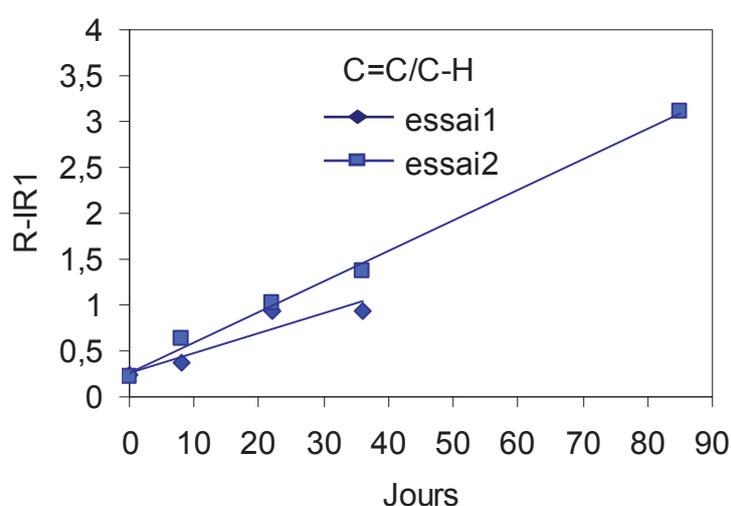


Figure III.2-II Evolution du rapport R-IR1 au cours du temps

Le rapport $R-IR_1$ augmente au cours des essais 1 et 2, la valeur est cependant plus importante pour l'essai 2. Ainsi, la décomposition de la biomasse au cours de la déstructuration se traduit par une augmentation de l'intensité des bandes associées aux aromatiques par rapport à celle correspondant aux courtes chaînes aliphatiques, aux polysaccharides et aux alcools, donc à une aromatisation, confirmant ainsi des résultats précédents (Som *et al*, 2009). Cette tendance à l'aromatisation est confirmée par l'analyse élémentaire et la thermogravimétrie.

Le rapport $R-IR_2$ correspond au rapport des intensités des bandes associées aux liaisons C-O (ν_{C-O} , 1056 cm^{-1})/bandes associées aux aliphatiques (ν_{C-H} , 2920 cm^{-1}). L'évolution du rapport $R-IR_2$ obtenu sur les échantillons des essais 1 et 2 nous donne une indication sur l'état d'oxydation de la MO au cours du temps (Tableau 9).

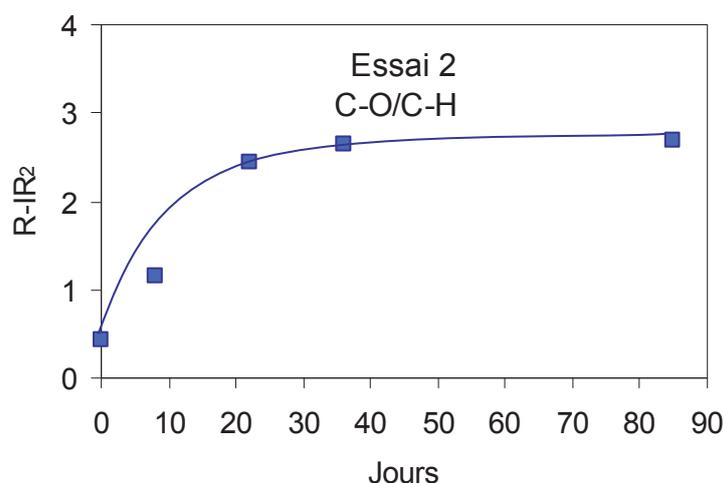
Tableau 9 Evolution du rapport R-IR₂ au cours de la déstructuration

Jours	Essai 1	Essai2
0	1,09	0,44
8	1,36	1,16
22	1,22	2,44
36	0,94	2,65
85	nd*	2,70

* non déterminé

Le rapport R-IR₂ (v_{C-O}/v_{C-H}) varie très peu au cours de l'essai 1 traduisant une faible oxydation de la MO. Ceci confirme les résultats de l'analyse élémentaire observés pour cet essai.

Par contre dans le cas de l'essai 2, une nette tendance à l'oxydation est observée du fait de l'augmentation relative des intensités des liaisons C-O (Figure III.2-III). Le rapport C-O/C-H augmente rapidement avant d'atteindre un palier après 36 jours de déstructuration. En effet, au cours du compostage, une évolution similaire a été observée par Grube et al. (2006), suggérant ainsi l'incorporation de structures aliphatiques ou la diminution de la proportion de carbohydrates au cours du temps. L'analyse élémentaire pour l'essai 2 ne permettait pas de conclure à une oxydation, montrant ainsi les limites d'une telle analyse.

**Figure III.2-III** Evolution du rapport R-IR₂ de l'essai 2 au cours du temps

Conclusion

Deux essais de déstructuration de la biomasse en conditions contrôlées (réacteur à aération forcée) ont été réalisés. L'évolution des paramètres physico-chimiques (pH, température et analyse élémentaire) montre une modification de la MO totale. L'analyse globale de la MO par ATD-ATG et Spectroscopie DRIFT montre des phénomènes d'oxydation et d'aromatisation de la MO de l'essai 2 traduisant une humification. Contrairement à l'essai 2, la MO de l'essai 1 évolue très peu au cours de la biodégradation (pas d'oxydation et d'aromatisation). Les tests d'auto-échauffement et les suivis de minéralisation montrent une activité biologique plus intense pour l'essai 2, confirmant la faible activité microbienne pour le premier essai. Après 36 jours de biodégradation, tous les paramètres suivis indiquent une stabilisation de l'activité biologique pour l'essai 2. Cette stabilisation est probablement liée à une plus faible teneur en carbone biodégradable. Afin de pouvoir suivre cette évolution de la MO au niveau moléculaire, des analyses plus fines ont été réalisées sur les échantillons prélevés au cours de l'essai 2.

Chapitre III :
Etude moléculaire

Les méthodes d'analyse moléculaire mises en œuvre pour étudier l'évolution de la matière organique (MO) sont la thermodésorption, la pyrolyse et la thermochimiolysse. Ces techniques sont couplées à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC/MS), permettant la séparation et l'identification structurale des composés produits.

I. La thermodésorption Headspace-GC/MS

La thermodésorption (Headspace) couplée à la GC-MS est une technique adaptée à l'analyse des composés organiques volatils (COV). En Headspace, l'échantillon est placé dans un récipient chauffé et agité afin de désorber les COV. Ceux-ci sont prélevés (dans l'espace de tête) à l'aide d'une seringue à gaz chauffée et injectés en GC/MS.

L'analyse des COV de l'essai 1 ne montre la présence que de quelques aldéhydes (hexanal, heptanal et octanal). Ceci (relativement à l'essai 2, voir ci-dessous) confirme le peu d'évolution de l'essai 1, point déjà noté dans le chapitre précédent.

La Figure I-I montre l'évolution des COV de l'essai 2 au cours de la biodégradation. Les composés identifiés sont listés en Annexe 8.

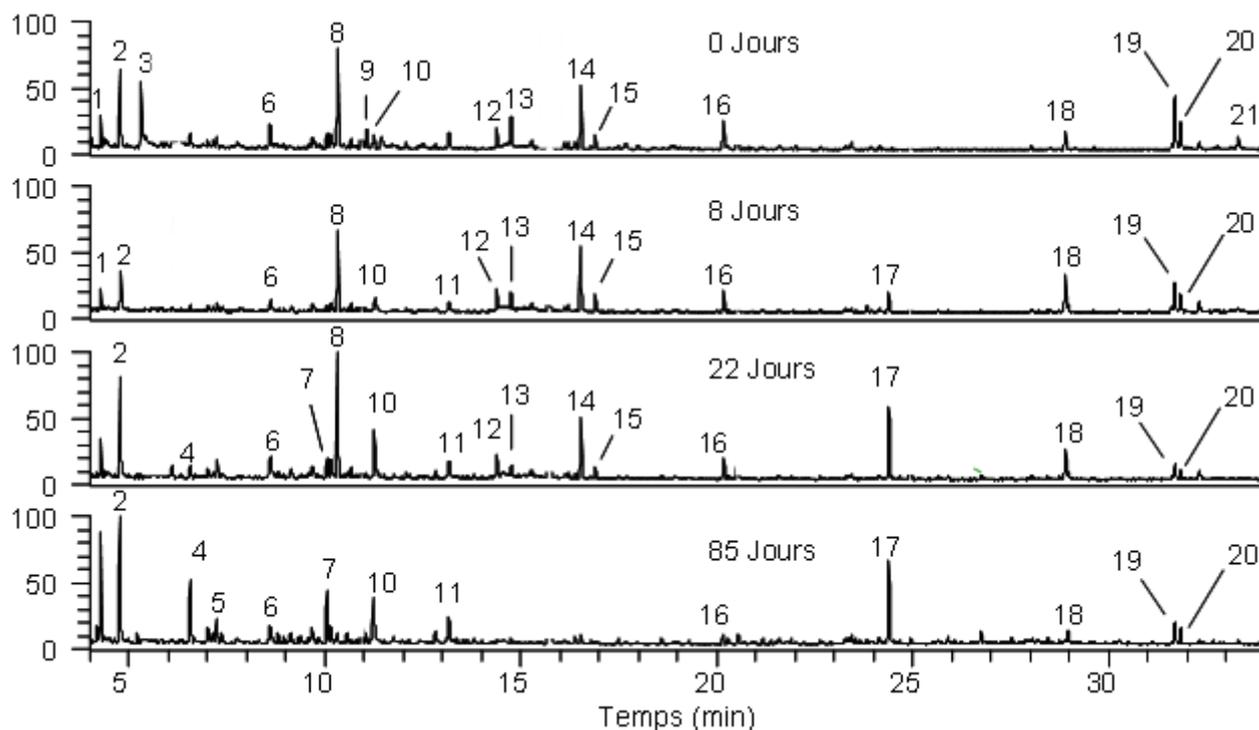


Figure I-I Courant ionique total obtenu par Headspace de la biomasse de l'essai 2

La désorption fournit des composés légers (Annexe 8) tels l'hexanal (2), l'heptanal (5), le furanal (3), le nonanal (11), l'ester méthylique de l'acide heptadécanoïque C_{17} (21), le naphtalène (13), le phytol (20), la cétone isoprénoïde C_{18} (19) et quelques hydrocarbures linéaires en C_{12} (14), C_{15} (17), C_{17} (18). De plus, nous observons avec la déstructuration l'apparition de composés aromatiques (2, 17). La quantité de COV désorbés, quant à elle, diminue au cours de la déstructuration traduisant l'évolution de la MO (*Adani et al., 2008*).

Le phytol (20), composé ubiquiste dans le milieu végétal provenant de la dégradation de la chlorophylle, a été identifié dans tous les échantillons de l'essai 2. La cétone isoprénoïde (19) en C_{18} (iC_{18}) est également présente. Elle provient très vraisemblablement de la dégradation microbienne du phytol (*Brooks et al., 1974*).

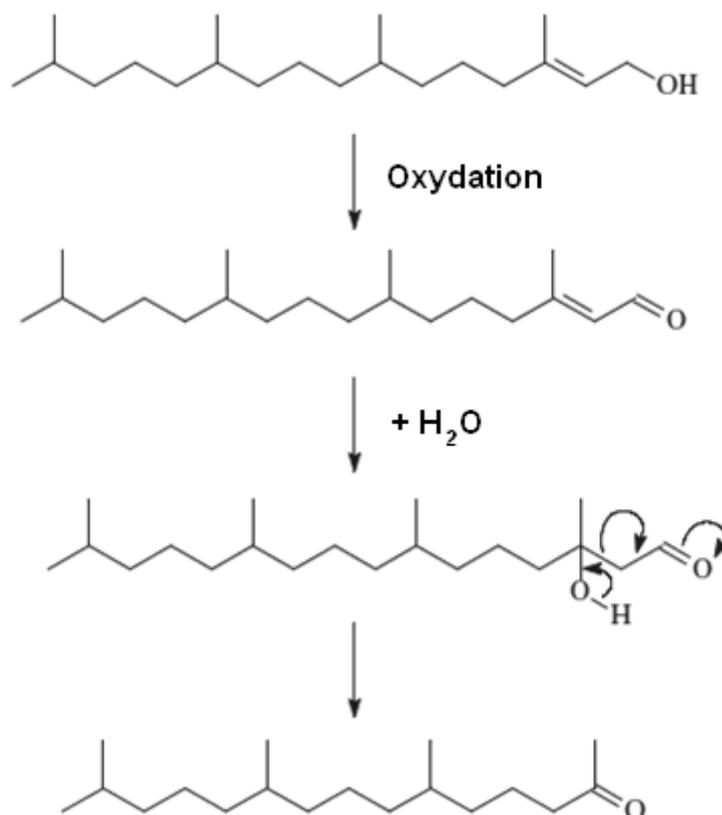


Schéma 1 : Mécanisme de dégradation microbienne du phytol (*Brooks et al., 1974*).

Le phytol et la cétone isoprénoïde iC_{18} sont différenciés en GC/MS par leur temps de rétention et leur spectre de masse. Le phytol diminue au profit de son produit probable d'oxydation, la cétone isoprénoïde iC_{18} (Figure I-II). Cette évolution peut être schématisée par la diminution du rapport phytol/cétone au cours du processus de biodégradation.

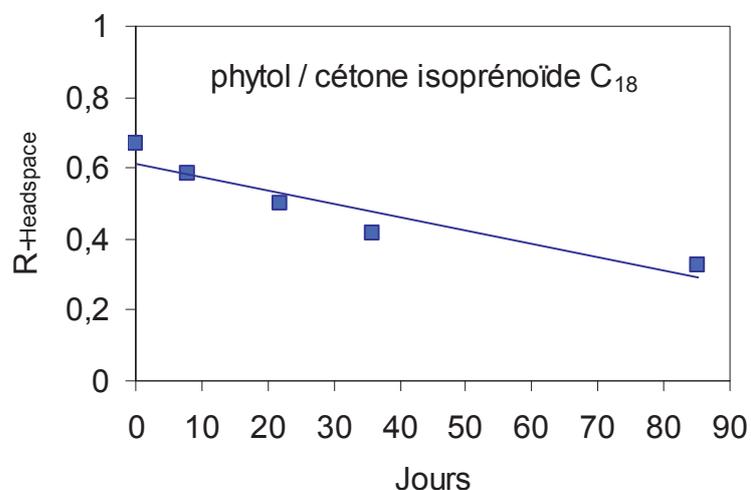


Figure I-II Evolution du rapport phytol/cétone iC_{18} obtenu par Headspace (essai 2)

II. La thermochimie et la pyrolyse multishot

Les échantillons de l'essai 2 ont été caractérisés par pyrolyse. La pyrolyse couplée à la GC/MS permet l'analyse de polymères synthétiques ou naturels. En fonction de l'énergie fournie à l'échantillon sous forme de chaleur, il est possible de casser des liaisons covalentes ou non-covalentes de type Van Der Waals. Comme cela a été précédemment indiqué, l'utilisation en mode multishot (deux pyrolyses à deux températures successives sur le même échantillon) permet de distinguer les molécules adsorbées sur le « polymère » des molécules participant à la structure même de ce polymère. Les échantillons sont pyrolysés à 200°C (Figure II-I) puis à 600°C (Figure II-III).

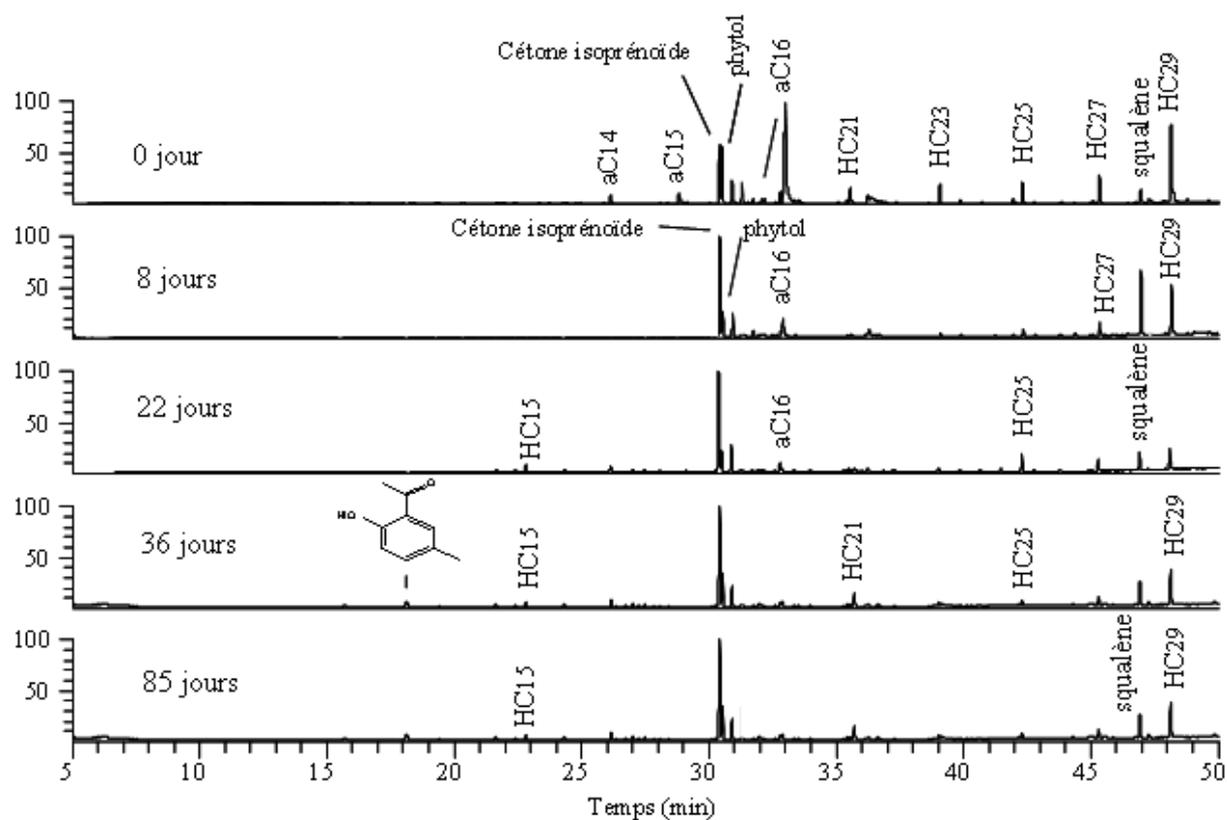


Figure II-I Pyrolyse 200°C de la MOT de l'essai 2

La pyrolyse à 200°C peut être comparée à une désorption thermique dynamique. Les molécules identifiées sur les mélanges initiaux sont essentiellement des molécules légères initialement piégées dans le réseau macromoléculaire telles que des hydrocarbures (HC)

aliphatiques linéaires allant du C₁₅ au C₂₉, la cétone isoprénoïde iC₁₈, le phytol et des acides gras anteiso aC₁₄-aC₁₆. L'évolution du rapport phytol/cétone isoprénoïde iC₁₈ est présentée sur la Figure II-II.

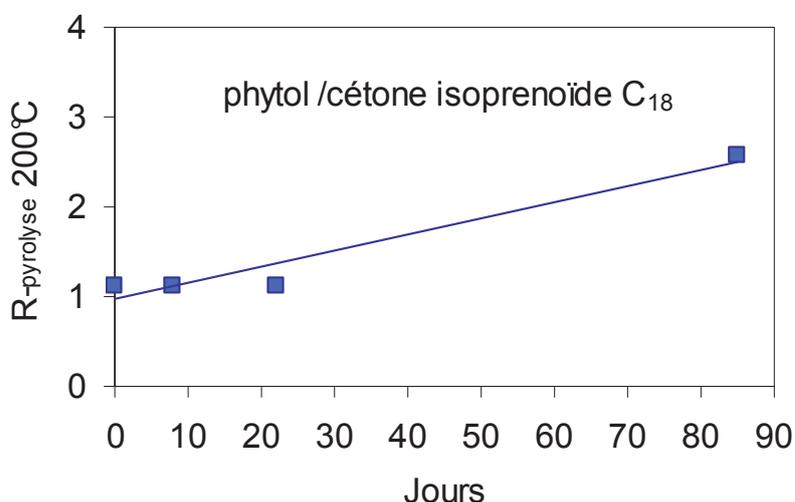


Figure II-II Evolution du rapport phytol/ cétone iC₁₈ par pyrolyse 200°C au cours de l'essai 2.

Contrairement à la désorption statique (Figure I-II), le rapport phytol/cétone isoprénoïde augmente au cours du processus de déstructuration. Cette augmentation peut s'expliquer par la différence de température de désorption. Au cours de la pyrolyse multishot, la température correspondant à la désorption est fixée à 200°C entraînant une moins grande stabilité de la cétone à cette température. D'autre part, un flux d'hélium balaie l'échantillon entraînant les produits au fur et à mesure de leur formation vers le GC/MS. En Headspace statique, le temps d'incubation est plus long entraînant une désorption plus importante du phytol.

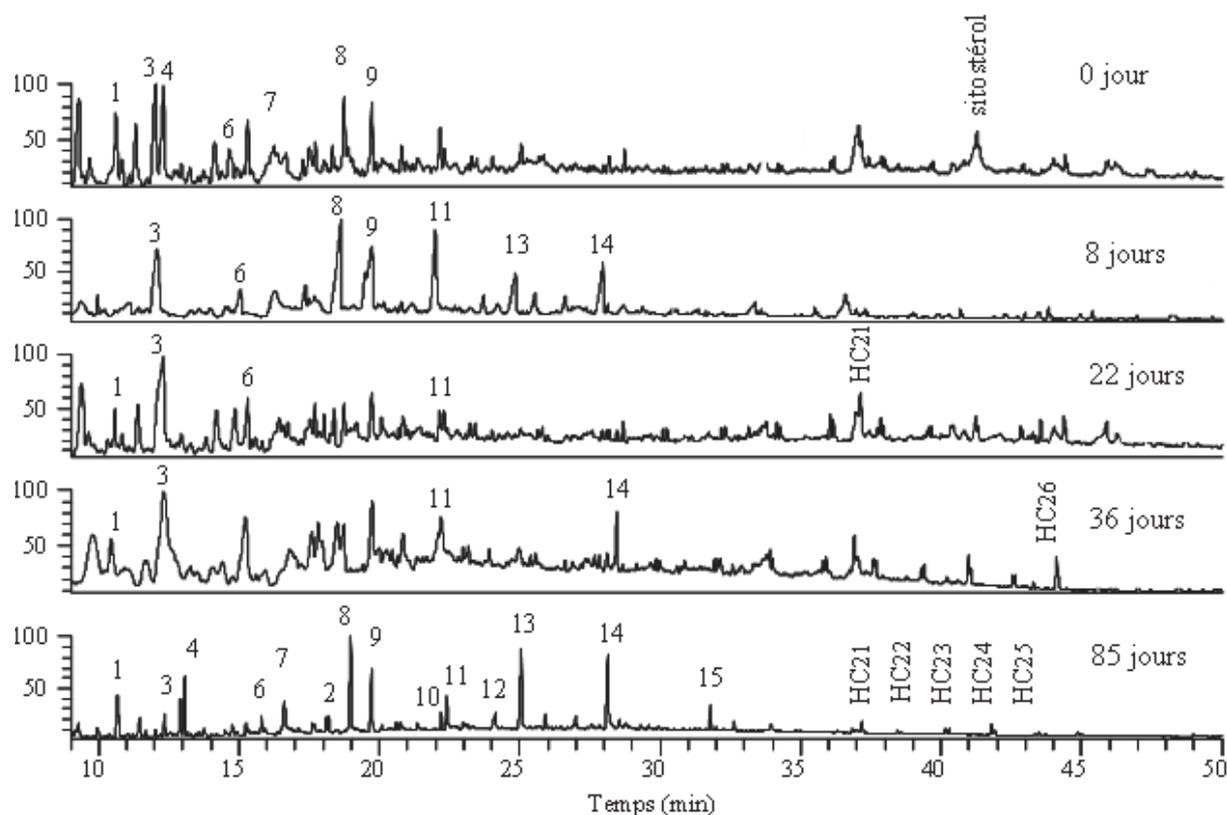


Figure II-III Pyrolyse 600°C de la MOT de l'essai 2

Le pyrogramme du mélange initial à 600°C est majoritairement constitué de dérivés aromatiques polyfonctionnels provenant de la lignine. La pyrolyse des échantillons déstructurés montre une diminution des composés ligneux (1 à 16). La biodégradation confirme bien la décomposition de la MO au cours du temps. (Almendros et al., 1992, 1999 ; Tinoco et al., 2002). Des hydrocarbures linéaires (HC) allant du C₂₁ au C₂₅ sont obtenus à des temps de biodégradation élevés. Ces derniers étaient probablement piégés dans le réseau macromoléculaire et sont libérés du fait de la déstructuration de la MO.

L'utilisation d'un agent alkylant - le processus est alors appelé thermochemiolyse (De Leeuw et Baas, 1993) - améliore le taux de conversion en minimisant les réactions secondaires telles les décarboxylations d'acides aromatiques (Challinor, 1989 ; Mulder et al., 1994). La thermochemiolyse permet donc de dégrader les parties aliphatiques très résistantes de la matrice en provoquant la transestérification des polyesters. Les produits ainsi formés sont alors suffisamment volatils pour être analysés par chromatographie gazeuse (Kögel-Knabner, 2000 ; Hatcher et al., 2001). On peut ainsi obtenir une empreinte moléculaire de

l'échantillon à analyser. Les liaisons C-O de type esters, amides ou éthers sont rompues lors de cette réaction tandis que les fonctions acides carboxyliques sont transestérifiées en esters méthyliques correspondants, les phénols étant méthylés. La thermochemiolyse apparaît donc complémentaire de la pyrolyse sans réactif. Ainsi les acides gras, composés polaires, sont mieux détectés lorsqu'ils sont dérivés, tandis que les composés ligneux sont mieux observés avec la pyrolyse multishot sans réactif.

Les pyrolysats obtenus (Figure II-IV) sont constitués essentiellement de motifs ligneux (pics 2 à 19), de sucres, de quelques dérivés azotés, d'esters méthyliques linéaires (C_n) ou ramifiés (iC_n, aC_n), de diesters (diC_n), d'esters méthyliques insaturés et de ω-méthoxyesters (ωC_n).

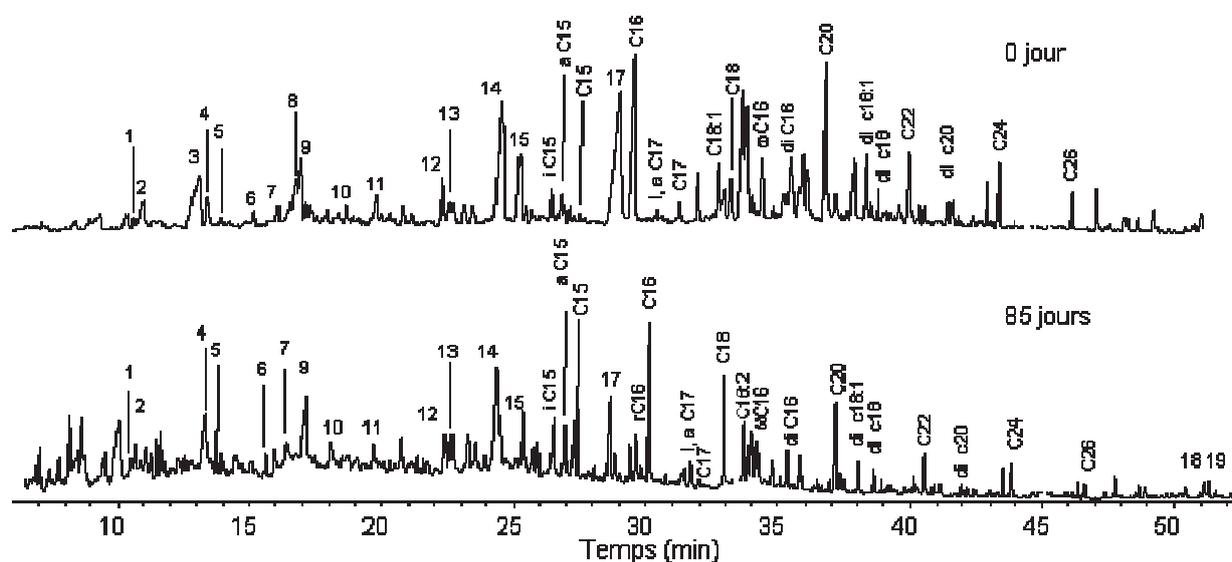


Figure II-IV Pyrogrammes à 600°C en présence de TMAH de la MOT (essai 2)

Les acides gras ramifiés iso et antéiso en C₁₅, C₁₆ et C₁₇ sont caractéristiques d'une origine bactérienne tandis que les acides gras saturés à longue chaîne proviennent des végétaux supérieurs (*Som et al., 2009*). Ainsi, le suivi du rapport acides gras ramifiés/linéaires (bactériens/végétaux) donne une indication intéressante sur l'état d'avancement de la biodégradation de nos mélanges (Figure II-V).

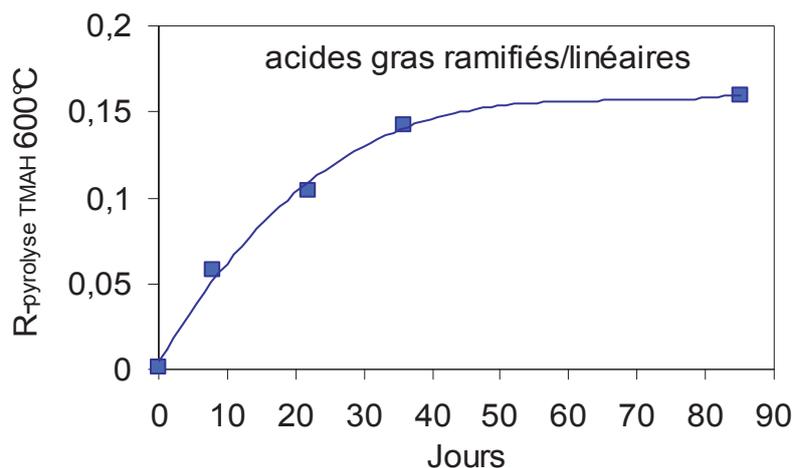


Figure II-V Evolution du rapport acide gras ramifiés/acides gras linéaires de la MOT (produits de thermochemiolyse)

Dans les mélanges initiaux, les composés d'origine bactérienne (acides gras ramifiés iso et antéiso en C₁₅, C₁₆ et C₁₇) sont présents à l'état de traces, leur quantité augmente au cours de la biodégradation. Parallèlement, les acides gras linéaires d'origine végétale sont biodégradés par les microorganismes. Le rapport R-pyrolyse augmente donc dans un premier temps avant d'atteindre un palier après 36 jours de biodégradation. Ce rapport évolue de la même manière que R-ATG et R-IR₁ et R-IR₂.

III. Composition de la biomasse lignocellulosique au cours de la biodégradation

Les principaux constituants de la matière organique végétale (lignines, celluloses, hémicelluloses) sont séparés par solubilisations successives (Figure III-I).

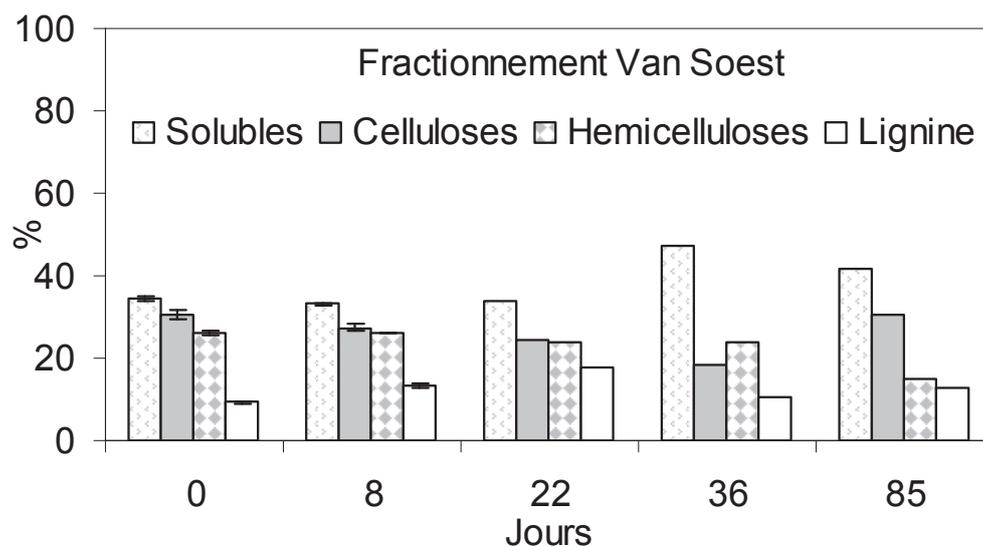


Figure III-I Evolution de la composition biochimique de la MOT

La fraction soluble stable en début de déstructuration augmente en proportions relatives en fin du processus. Elle est composée de sucres simples, acides organiques, lipides et certaines protéines (Francou *et al.*, 2008). La teneur relative en lignine est plutôt stable au cours de la déstructuration, sa proportion relative augmente toutefois en fin de processus ce qui s'explique par le caractère réfractaire à la biodégradation de la lignine. L'évolution des proportions de cellulose et d'hémicellulose est difficilement interprétable.

Le fractionnement Van Soest permet cependant d'accéder au rapport lignine/holocelluloses (holocelluloses = celluloses + hémicelluloses) considéré comme un critère de stabilité de la matière organique. La Figure III-II montre l'évolution du rapport lignine/holocelluloses au cours du processus de biodégradation.

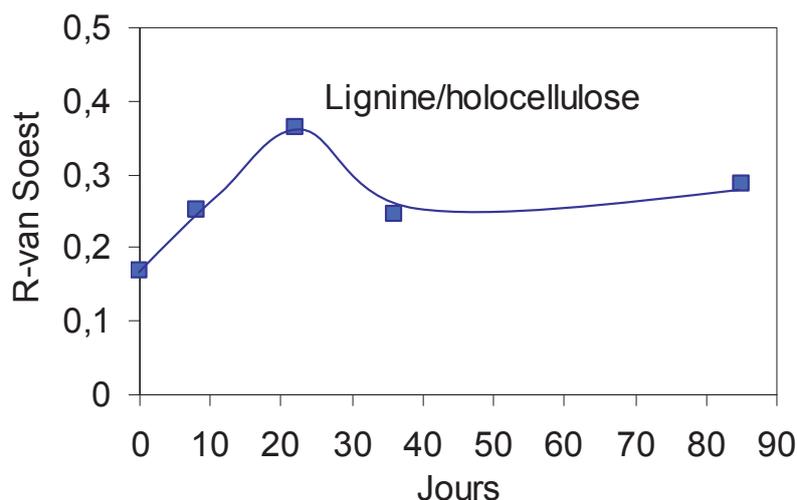


Figure III-II Evolution du rapport lignine/holocelluloses

Le rapport lignine/holocellulose augmente en début de déstructuration avant de diminuer et d'atteindre un palier en fin de déstructuration. Cette évolution traduit la rapide biodégradation des structures de type hémicellulose et cellulose tandis que les lignines, constituées de motifs aromatiques réfractaires sont plus difficilement dégradées.

IV. Fractionnement de la MOT de la biomasse

Le protocole IHSS de fractionnement a été adapté pour séparer les différentes formes de matière organique de biomasse biodégradée. La Figure IV-I montre l'évolution des différentes fractions de la matière organique de l'essai 1 (Lipides, « Acides Fulviques » AF, « Acides Humiques » AH et « Humine » Hu) au cours de la déstructuration. Les quantités sont exprimées en milligrammes par kilogramme de biomasse sèche (ppm).

L'étude quantitative des fractions de la matière organique de l'essai 1 montre que nous avons une évolution des différentes fractions au cours du temps.

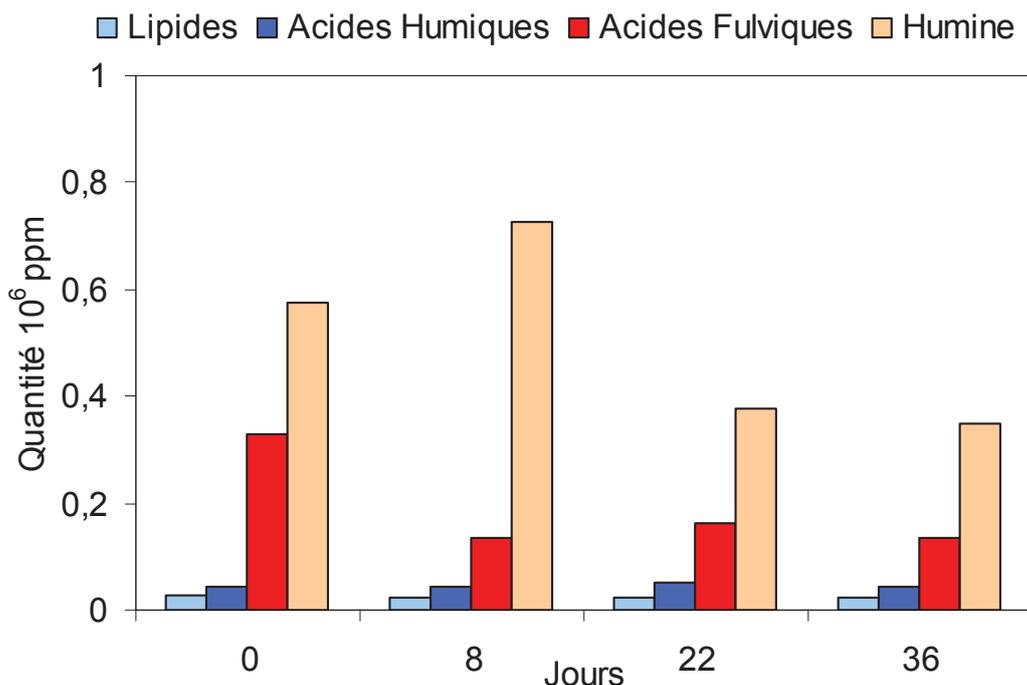


Figure IV-I Résultats du fractionnement IHSS de la MO de l'essai 1 au cours de la biodégradation

Dans les premiers jours, la quantité d'humine augmente ce qui traduit une faible biodégradabilité de cette fraction tandis que les acides fulviques et les lipides qui représentent les fractions les plus bio disponibles sont rapidement dégradées. En effet, l'« humine » est biodégradée par les champignons xylophages qui colonisent le milieu en fin de biodégradation (*Duchaufour, 1997*). De plus, les quantités des fractions de la MO sont constantes en fin de biodégradation, ce qui indique une stabilisation du processus. Il est à noter que l'humine est la fraction majoritaire tout au long de la biodégradation (Tableau 10).

Tableau 10 : Evolution des quantités des fractions obtenues par IHSS au cours de l'essai 1

Jours	Quantités essai 1 (ppm)			
	Lipides	Acides Humiques	Acides Fulviques	Humine
0	28139	42141	328071	576596
8	22965	41879	133945	725275
22	22538	52553	164011	377207
36	24260	43889	134146	348671

En ce qui concerne l'essai 2, l'évolution de la MO est confirmée par la variation des différentes fractions de matière organique obtenues selon le protocole de l'IHSS (Figure IV-II). L'« humine » étant la fraction la plus réfractaire à la biodégradation, sa quantité varie très peu au cours de la décomposition de la MO de l'essai 2. La biodégradation est liée à la décomposition des « acides fulviques » et des lipides. Les acides humiques, stables en début de biodégradation sont décomposés à des temps de destructuration élevés (85 jours). En effet, l'augmentation des fractions les plus complexes et récalcitrantes à la biodégradation (« acides humiques » et « humine ») au détriment des fractions plus solubles, donc plus facilement biodégradables (lipides et « acides fulviques »), traduit bien cette complexification de la MO (Tableau 11). La quantité de substances humiques est plus importante pour l'essai 1 comparée à l'essai 2, ce résultat est bien corrélé avec le taux de MO de ces échantillons. D'importants écarts entre les répliques sont observés pour les « acides fulviques », ceci s'explique pour partie par le fait que leurs quantités sont déterminées par différence.

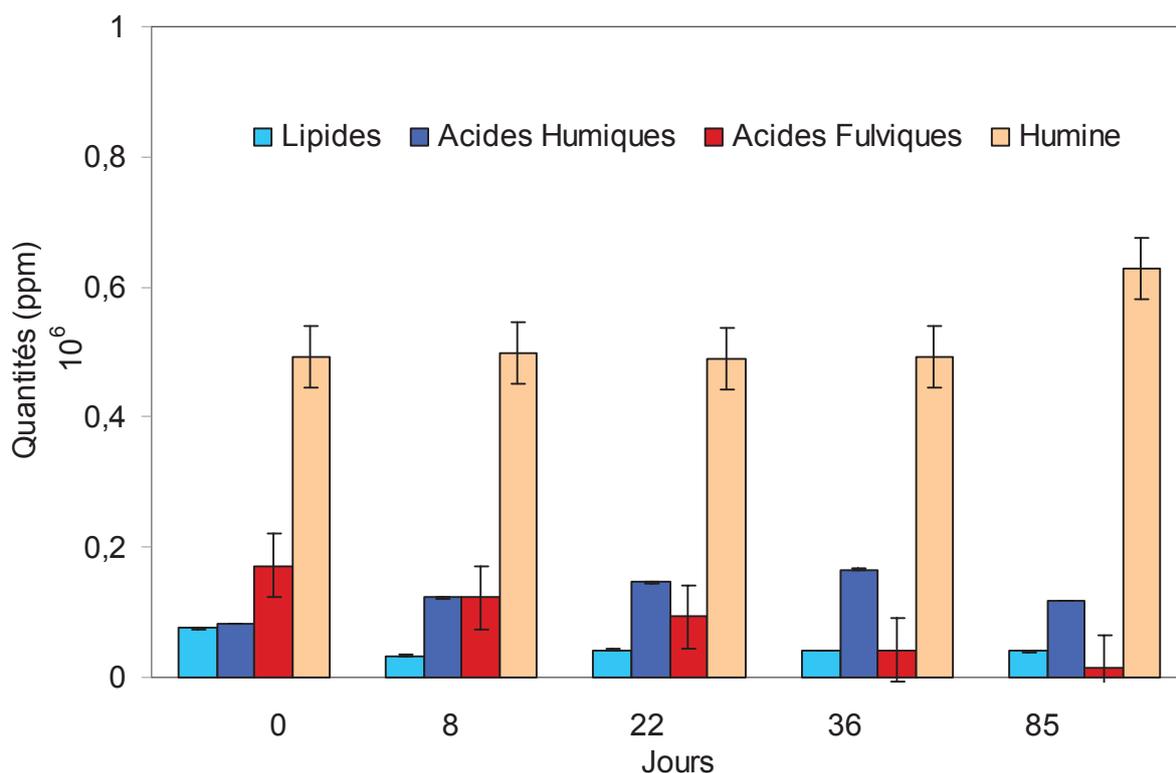


Figure IV-II Résultats du fractionnement IHSS de la MO de l'essai 2 au cours de la biodégradation

Tableau 11 : Evolution des quantités des fractions obtenues par IHSS au cours de l'essai 2

Jours	Quantités essai 2 (ppm)			
	Lipides	Acides Humiques	Acides Fulviques	Humine
0	75530	82140	172494	492839
8	33569	122733	122733	499116
22	42624	146615	93738	488717
36	40914	166230	41558	492533
85	40351	118117	16198	627207

IV.1. Analyse des lipides

Les lipides représentent la fraction organosoluble facilement extractible de la MOT. L'évolution de la quantité de lipides (Tableau 12) au cours des deux essais corrèle très bien avec les paramètres de biodégradation puisque la stabilisation de l'activité bactérienne se produit dès 22 jours pour l'essai 2. Effectivement, nous observons une forte diminution des lipides dès les premiers jours de déstructuration avant d'atteindre un palier dès 22 jours. En ce qui concerne l'essai 1, les lipides sont peu biodégradés. De plus, la quantité de lipides de l'essai 1 (28139 ppm) est nettement inférieure à celle de l'essai 2 (75530 ppm). L'explication est que les intrants de l'essai 1 sont très riches en lignine et renferment peu de composés bio disponibles (*Lüdemann, 1974*).

Tableau 12 Evolution du taux de lipides au cours de la déstructuration

Jours	lipides (ppm)	
	essai 1	essai 2
0	28139	75530
8	22965	33569
22	22538	42624
36	24260	40914
85	nd*	40351

* nd non déterminé

L'évolution de la quantité de lipides au cours de la biodégradation (essai 1) vient confirmer le faible état de décomposition de la MO observé au cours des différentes caractérisations physico-chimiques (DRIFTS, ATD, C/N) et moléculaires (thermodésorption).

Différentes méthodes ont été employées pour l'analyse des lipides. Le pré fractionnement des lipides en fractions neutre, acide et polaire selon la méthode de McCarthy et Duthie (1962) permet l'investigation des familles présentes dans ces fractions par analyse GC-MS (Figure IV.1-I). On peut observer que la séparation par chromatographie sur gel de silice des fractions neutre puis acide permettant la quantification de chaque famille lipidique présente n'a pu être réalisée dans ce travail compte tenu des quantités parfois faibles de lipides. Préalablement à ce travail, une aliquote de chaque extrait de lipides a été dérivé (méthylation/acétylation) pour une investigation « rapide » en GC-MS (voir plus loin).

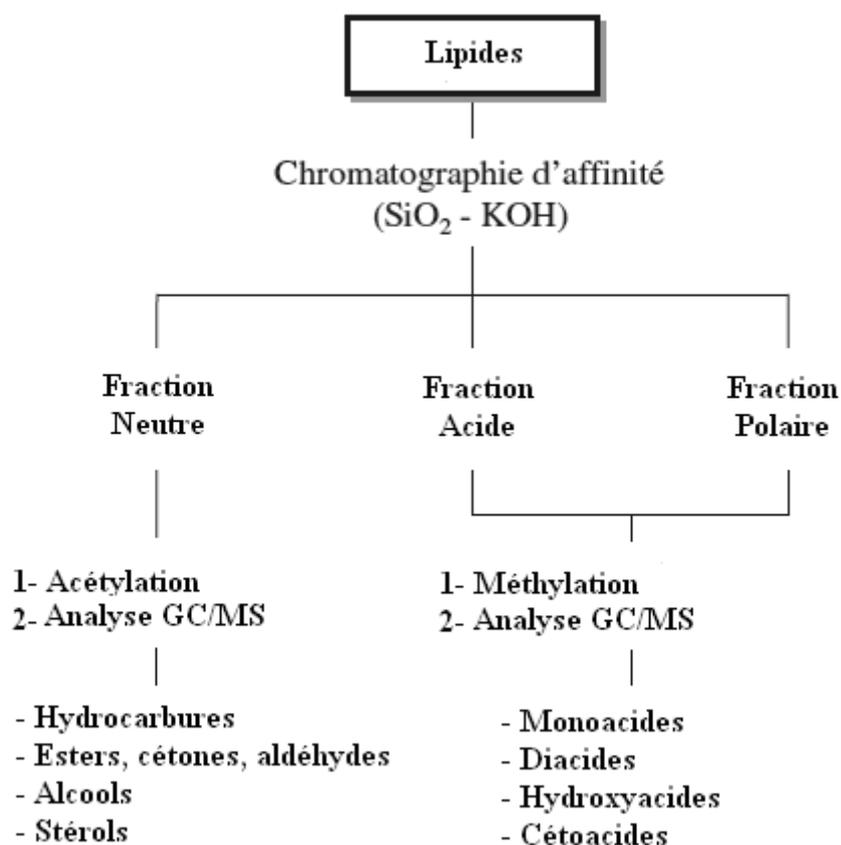


Figure IV.1-I Protocole de fractionnement des lipides

La Figure IV.1-II montre la répartition des fractions lipidiques (fraction neutre « FN », fraction acide « FA » et fraction polaire « FP ») en milligramme par kilogramme de biomasse initiale au cours de la biodégradation.

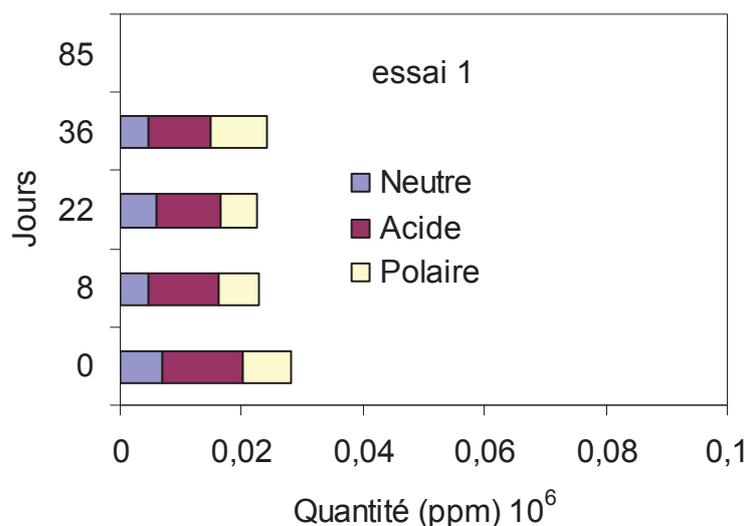


Figure IV.1-II Evolution des quantités de fraction neutre, acide et polaire de l'essai 1

Le fractionnement des lipides de l'essai 1 extraits à l'ASE par un mélange dichlorométhane/méthanol (2/1) permet d'accéder aux fractions neutres, acides et polaires. Les faibles variations observées sur la Figure IV.1-II s'expliquent par la faible activité biologique notée précédemment pour cet essai. En ce qui concerne l'essai 2 (Figure IV.1-III), seule la fraction polaire est biodégradée au cours du temps alors que les fractions neutres et acides varient peu pondéralement au cours de la biodégradation.

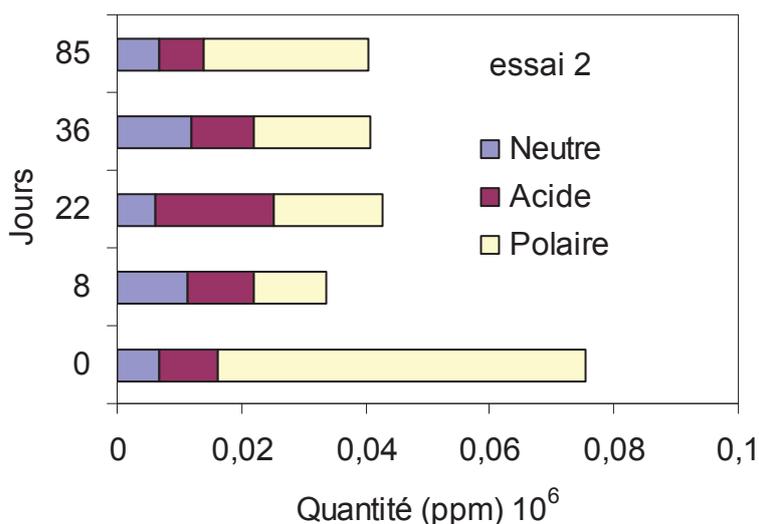


Figure IV.1-III Evolution des quantités de fraction neutre, acide et polaire de l'essai 2

Avant de fractionner chaque extrait lipidique selon le protocole décrit, nous avons procédé à une investigation « rapide » de chaque extrait lipidique afin d'avoir des indications sur sa composition. Ce protocole consiste à dériver le pool lipidique (méthylation des acides en esters méthyliques et acétylation des alcools) et ensuite à analyser par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Cette méthode décrite dans la partie expérimentale permet d'analyser des quantités faibles de lipides. Toutefois, nous n'avons aucune information pondérale et il est impossible de distinguer les acides gras méthyles des esters naturellement présents. La Figure IV.1-IV montre, à titre d'exemple, les courants ioniques totaux obtenus par GC-MS des lipides au sein de la matière organique totale (MOT) au cours de la déstructuration.

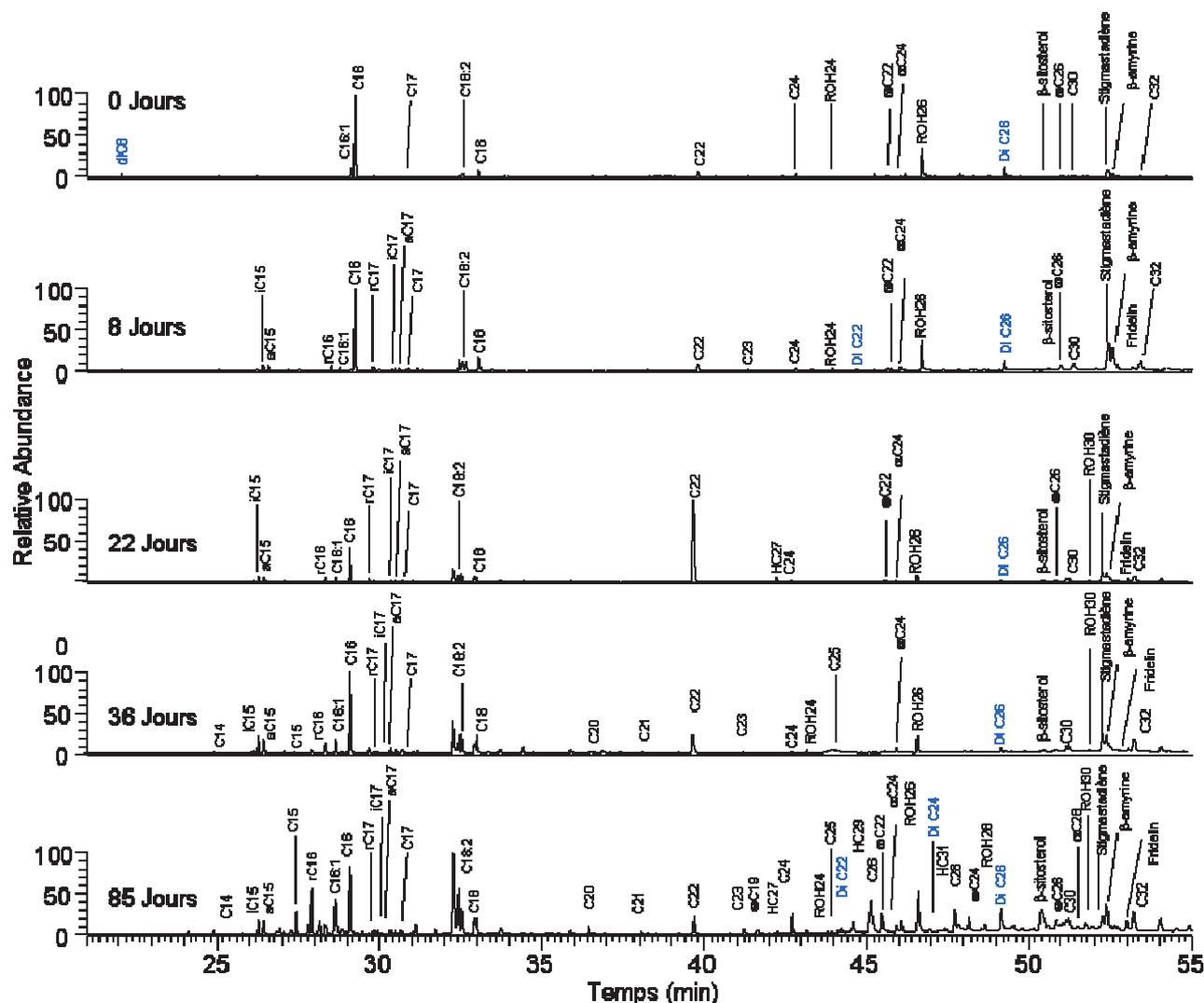


Figure IV.1-IV Courant ionique total de la fraction lipidique après dérivation au cours de la déstructuration

- **Analyse moléculaire des lipides**

Les diverses familles de lipides ont été étudiées par le suivi d'ions caractéristiques en analyse GC-MS des fractions (ou de l'extrait lipides totaux). Ainsi pour chaque famille, le fragmentogramme (exemple m/z 71 pour les hydrocarbures) permet d'apprécier la contribution de chaque membre et correspond donc à un histogramme de distribution.

Les lipides d'origine végétale sont des hydrocarbures (HC_n) longs majoritairement impairs, des acides gras (C_n) à chaînes longues majoritairement paires tandis que les lipides d'origine microbienne sont des hydrocarbures à chaînes courtes sans parité marquée, des acides gras ramifiés (iso- et antéiso- en C_{15} et C_{17} , rC_{16}). Des alcools aliphatiques (R-OH), des diacides (diC_n), des α et ω -hydroxyacides (α , ωC_n) sont aussi observés au cours de la biodégradation. En outre, plusieurs triterpènes tétra- ou pentacycliques ont été identifiés et peuvent être classés suivant le motif de leur squelette carboné, la nature et la position des substitutions en stéroïdes, lupanes et oléanes.

- **Analyse des hydrocarbures**

L'analyse de la fraction neutre permet de mettre en évidence la présence d'hydrocarbures à chaîne longue allant du C_{21} au C_{31} . La distribution majoritaire impaire est caractéristique d'une origine végétale (Kolattukudy, 1976, 1980 ; Som *et al.*, 2009, Colina Tejada *et al.*, 1996).

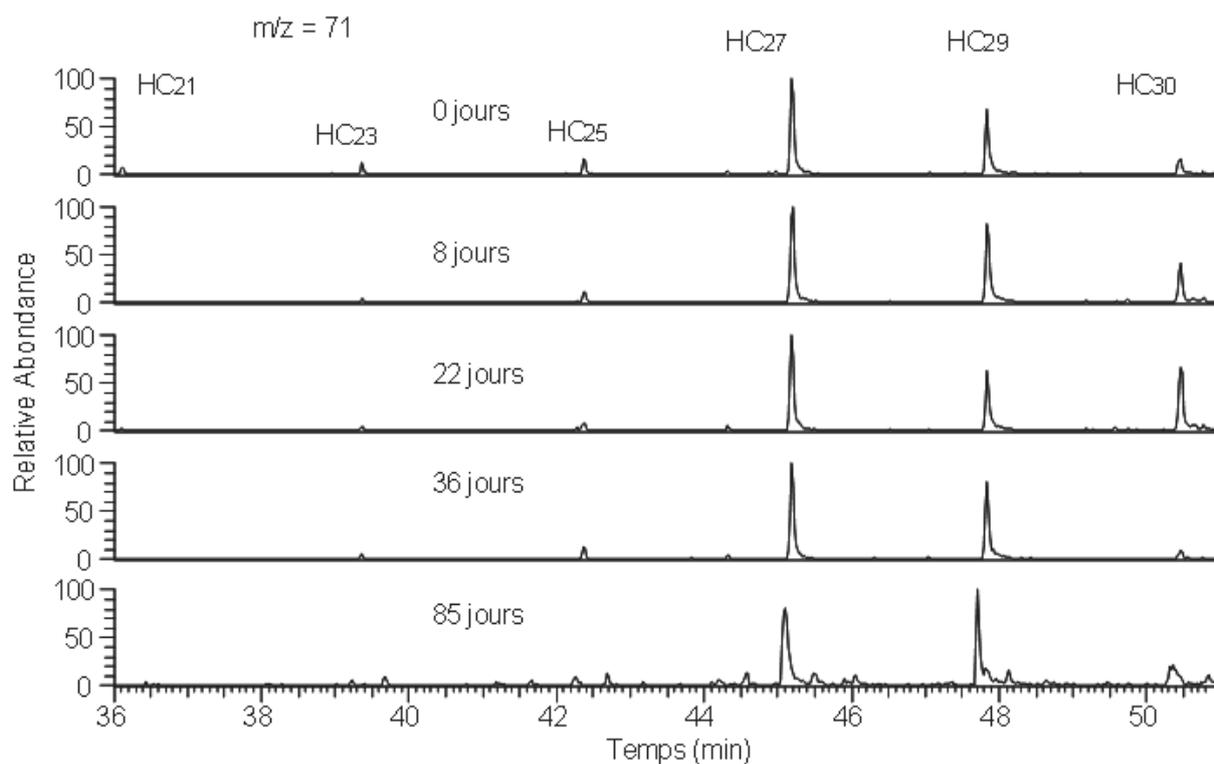


Figure IV.1-V Distribution des hydrocarbures dans les lipides de l'essai 2 (fragmentogramme $m/z=71$)

- **Analyse des alcools**

La fraction neutre renferme aussi des alcools aliphatiques (C_{26} et C_{28}) et polycycliques (β -sitostérol, α -amyrine). En spectrométrie de masse, les alcools acétylés sont identifiés par des fragmentations spécifiques donnant les ions $m/z=61$ M-60 et M-88.

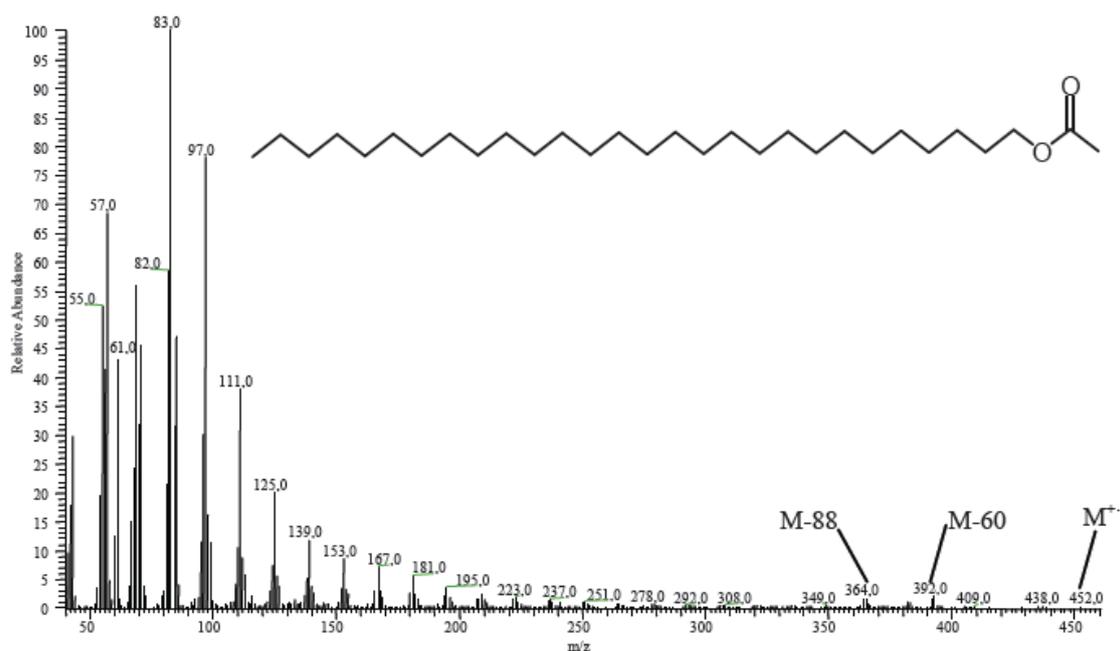
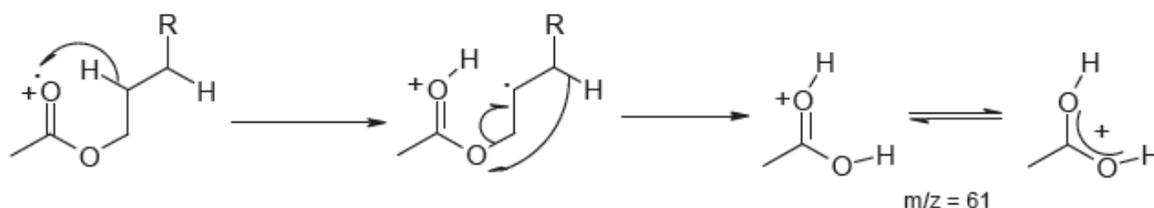
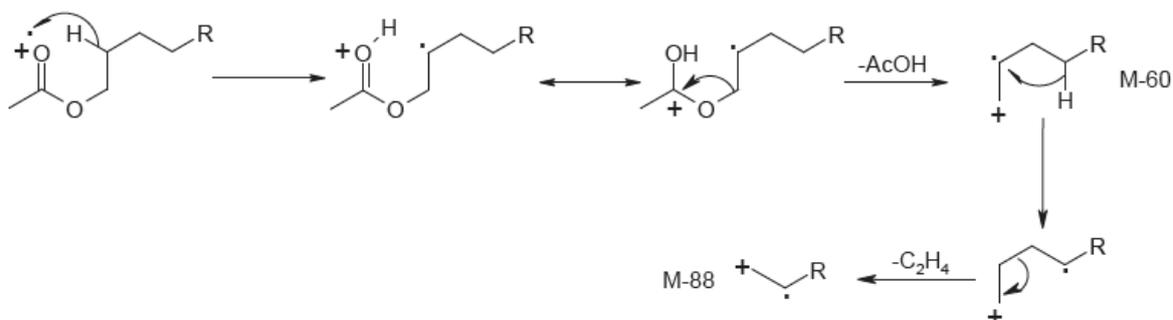


Figure IV.1-VI Spectre de masse de l'acétate de l'octacosanol

L'ion $m/z=61$, spécifique des acétates provient d'un double réarrangement d'hydrogène :



Les ions M-60 et M-88 sont issus de la perte d'une molécule d'acide acétique puis d'une molécule d'éthylène.



La Figure IV.1-VII montre la distribution des alcools dans les lipides prélevés à différents temps au cours de l'essai 2.

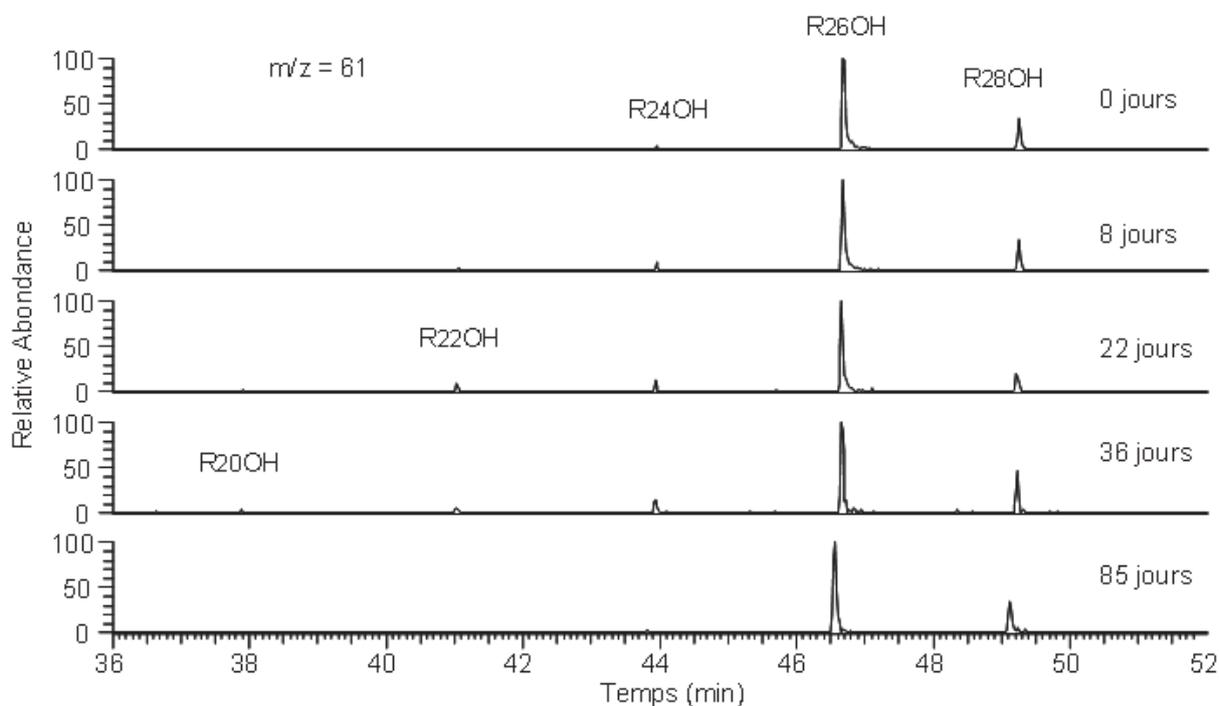
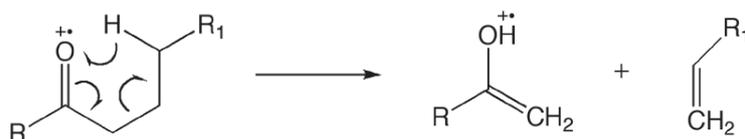


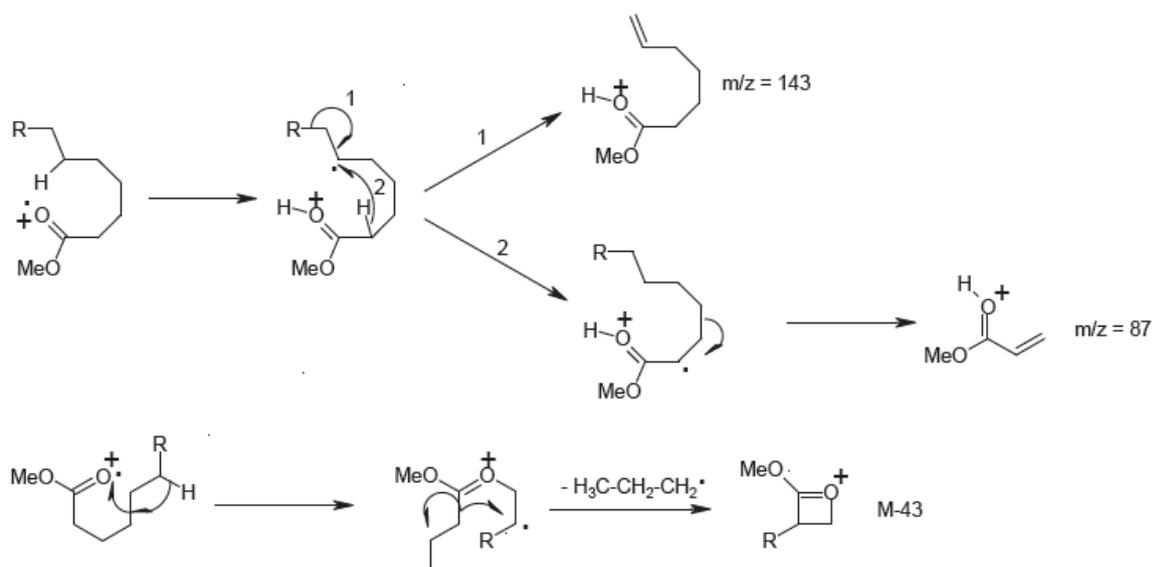
Figure IV.1-VII Distribution des alcools dans les lipides de l'essai 2 (fragmentogramme $m/z=61$)

- **Analyse des acides**

Dans la fraction acide nous obtenons des acides carboxyliques qui sont identifiés sous forme d'ester méthyliques après dérivation. L'ion spécifique $m/z = 74$ est issu d'un réarrangement McLafferty.



La perte d'un radical $\text{CH}_3\text{O}\cdot$ (R) conduit à l'ion M-31. Les ions $m/z=87$, 143 et M-43 sont formés par mécanisme plus complexe (Budzikiewicz *et al.*, 1967).



La Figure IV.1-VIII montre la distribution des acides gras (C_n) de la fraction acide après dérivatisation. Nous observons une distribution paire avec des maximums en C_{16} et C_{18} . Des composés iso (i), antéiso (a) et ramifié (r) d'origine bactérienne sont aussi identifiés tout au long de la biodégradation. Des acides gras insaturés $C_{18:2}$, ramifiés en C_{16} ainsi que les acides gras iso et anté iso en C_{15} et C_{17} ont été identifiés dans la fraction acide des échantillons tout au long de la déstructuration.

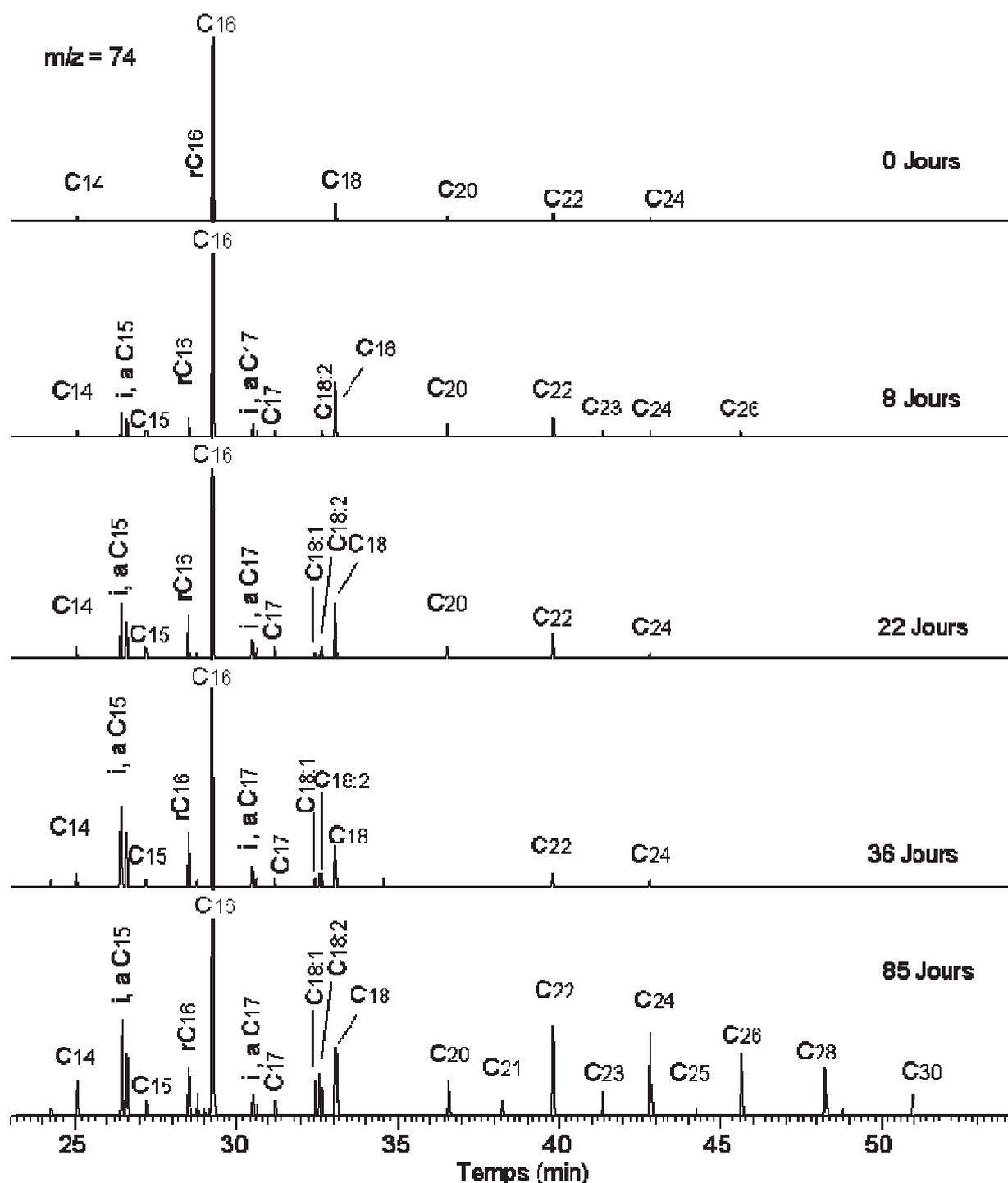


Figure IV.1-VIII Distribution des acides gras dans les lipides de l'essai 2 (fragmentogramme $m/z=74$)

La distribution des acides gras (C₁₄ au C₃₀) est bimodale. Dans le mode court, à côté des C₁₆ et C₁₈ ubiquistes, les acides gras ramifiés iso- et antéiso- en C₁₅, C₁₆ et C₁₇ bactériens augmentent au cours du temps tandis que les acides longs pairs végétaux sont biodégradés par

les microorganismes (Figure IV.1-IX). Là encore, le rapport acides gras ramifiés/linéaires augmente jusqu'à 36 jours.

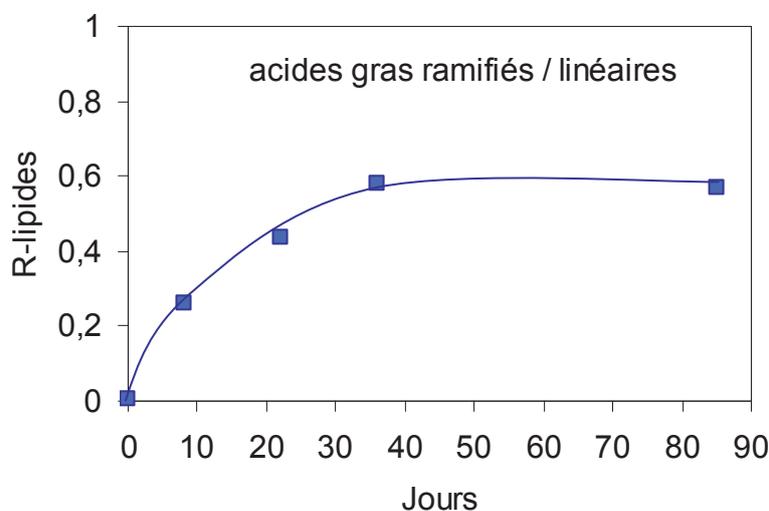


Figure IV.1-IX Evolution du rapport ramifié/linéaires obtenu par GC/MS de la fraction lipidique de l'essai 2.

Ce rapport évolue de la même manière que R_{ATG} et R_{IR_1} et R_{IR_2} et $R_{pyrolyse}$ TMAH 600°C).

Les acides α, ω -dicarboxyliques sont identifiés sous forme α, ω diester méthyliques. Le spectre de masse du diacide en C_{24} est présenté sur la figure suivante :

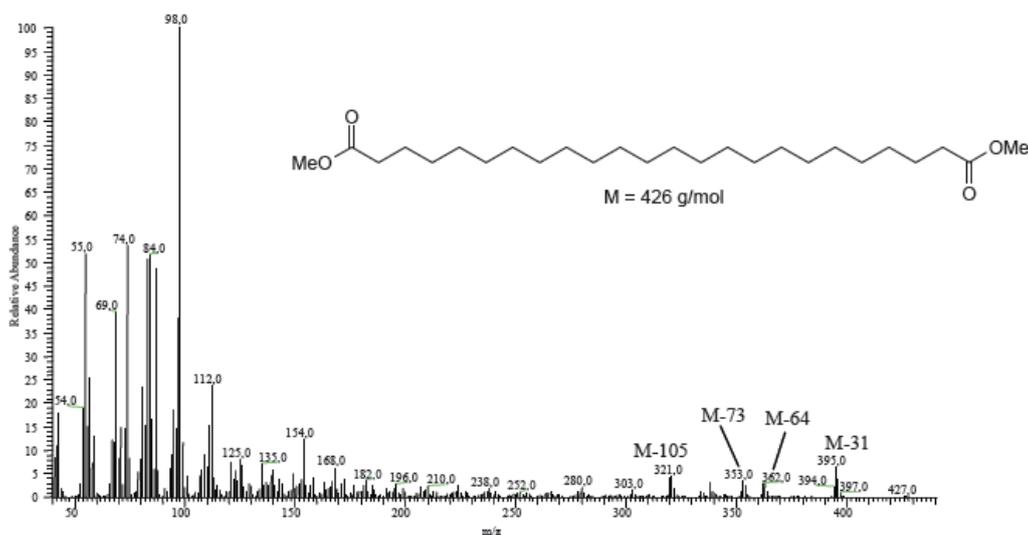


Figure IV.1-X Spectre de masse de l' α, ω -diester méthylique en C_{24}

En outre, l'oxydation biologique des acides gras produit des hydroxyacides qui sont à leur tour oxydés en diacides. En effet, l'augmentation des ω -hydroxyacides (ωC_n) est très bien illustrée par le rapport hydroxyacides/acides gras (Figure IV.1-XI).

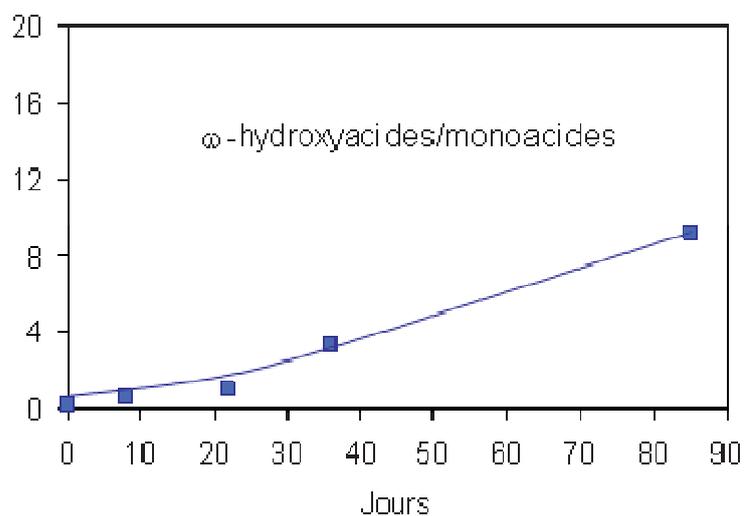


Figure IV.1-XI Evolution des ω hydroxyacides

L'augmentation du rapport ω -hydroxyacides/ monoacides traduit une première oxydation des acides en ω -hydroxyacides. La distribution des acides-dicarboxyliques méthylés, relativement proche de celle des monoacides (Figure IV.1-XII), laisse supposer qu'ils proviennent également de l'oxydation des acides.

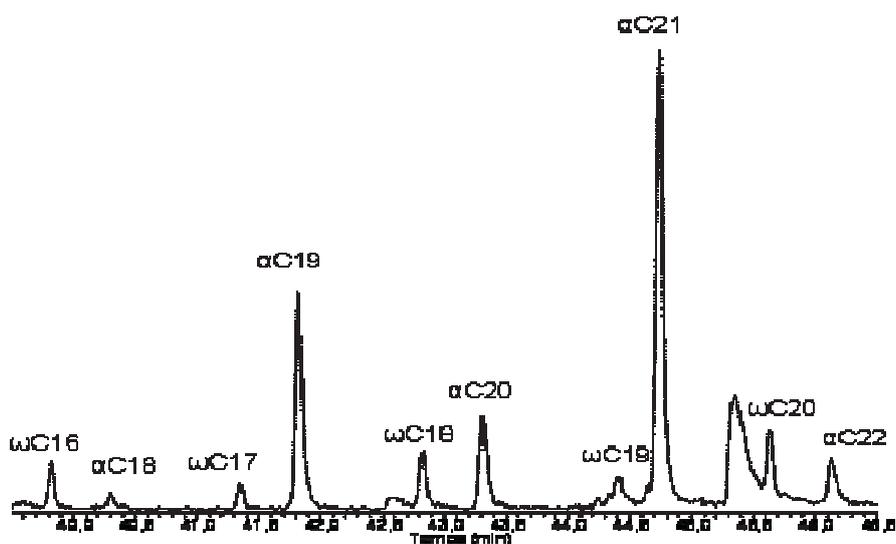
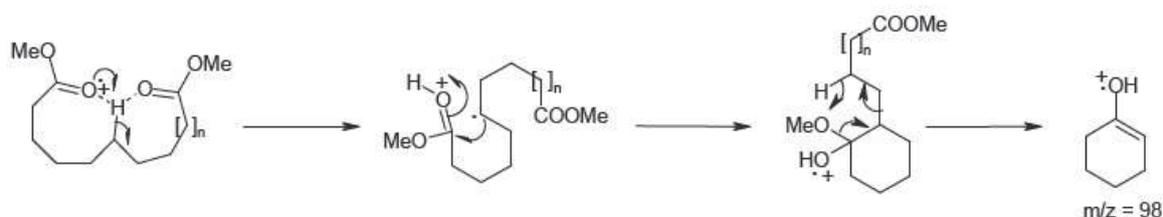


Figure IV.1-XII Distribution des α - ω - hydroxyacides acides dans les lipides de l'essai 2.

Les diacides peuvent résulter de l' ω -oxydation bactérienne des acides gras (*Amblès et al., 1994*). Les diacides gras ont été détectés dans tous les substrats (diacides C₈ en début de déstructuration au diacides C₂₂, C₂₄ et C₂₆ à 85 jours de déstructuration). Ils sont analysés sous forme de diester méthyliques et identifiés notamment grâce à l'ion caractéristique $m/z=98$:



La Figure IV.1-XIII montre l'évolution du rapport mono/diacides. En effet, les diacides peuvent être, pour partie, des produits d'oxydation des monoacides.

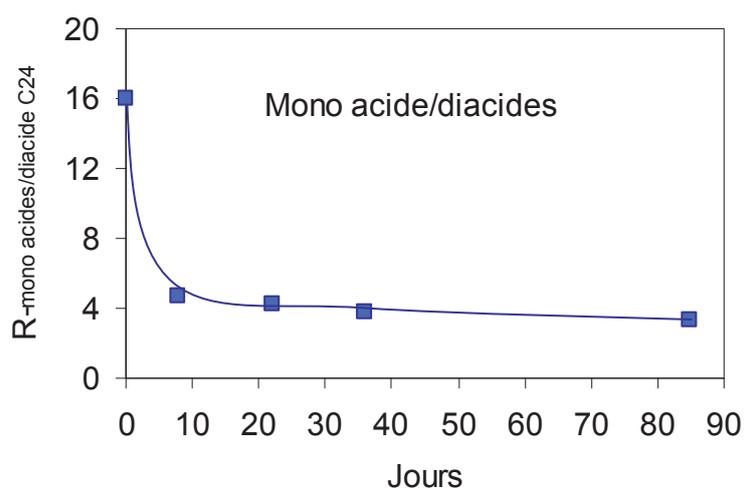


Figure IV.1-XIII Evolution du rapport mono/diacides au cours de la déstructuration

La représentation du rapport mono/diacides montre une nette diminution du rapport dans les premiers jours de déstructuration avant d'atteindre un palier à 36 jours ce qui traduit une stabilisation du processus avec une probable oxydation terminale des monoacides en diacides. Le rapport mono/diacides constitue tout comme le rapport r-pyrolyse un bon critère liant la déstructuration de la MO à l'évolution moléculaire des substrats biodégradés, tout comme observé pour les composés (*Som, 2006*). Ainsi, la MO de l'essai 2 peut donc être considérée comme déstructurée, stable.

- Les stéroïdes

La présence des stéroïdes β -sitostérol et le stigmastadiène est observée tout au long de la déstructuration. Le β -sitostérol provient des végétaux supérieurs, le stigmastadiène provient de sa déshydratation. La Figure IV.1-XIV montre les spectres de masses du β -sitostérol et du stigmastadiène qui ont permis de les identifier.

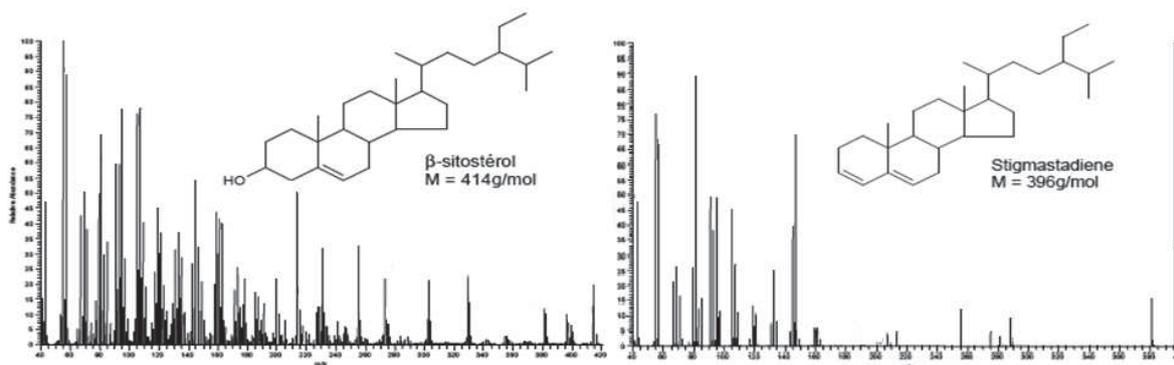


Figure IV.1-XIV Spectres de masse de β -sitostérol et du stigmastadiène.

- Les lupanes et les oléanes

La friedéline, un triterpène pentacyclique de la famille des oléanes obtenu par réarrangement de l'époxyde du squalène (*Mahato et Sen, 1997*), a été observée en fin de déstructuration ; l'alcool correspondant n'a pas été identifié. Le lupéol est aussi présent mais sous forme de traces à 22 jours de biodégradation. Son produit d'oxydation, la lupénone, n'est pas observé. La Figure IV.1-XV les spectres de masse de la friedéline et du lupéol.

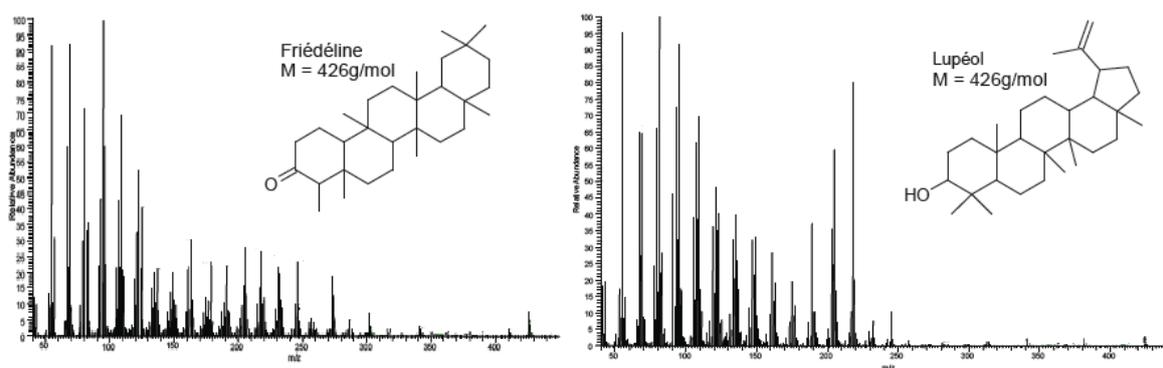


Figure IV.1-XV Spectres de masse de la friedéline et du lupéol

Les α - et β -amyrynes sont généralement différenciées en GC-MS par leurs temps de rétention et par leurs spectres de masse (différence d'intensité entre les fragments $m/z=189$ et $m/z=203$ Figure IV.1-XVI). Ces deux composés sont caractéristiques d'une origine angiosperme.

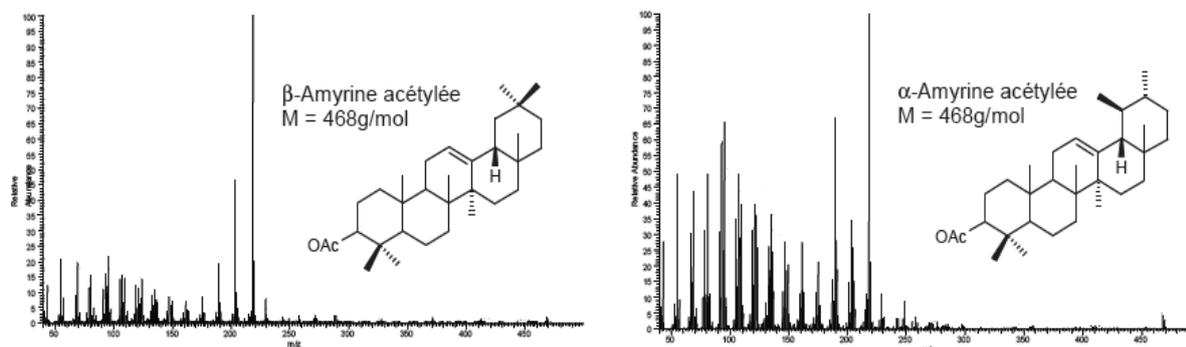


Figure IV.1-XVI Spectres de masse de l'amyryne sous ses deux formes α et β

La β - amyryne est identifiée tout au long de la biodégradation alors que la forme α - n'est pas observée. Ces triterpènes pentacycliques sont d'origine végétale. Dans la chaîne biosynthétique (Figure IV.1-XVII), la formation des α - et β -amyrynes ont en commun le cation oléanyle qui peut donner directement la forme β alors que la forme α fait intervenir son isomérisation en cation ursanyle (Mahato et Sen, 1997, Som, 2006).

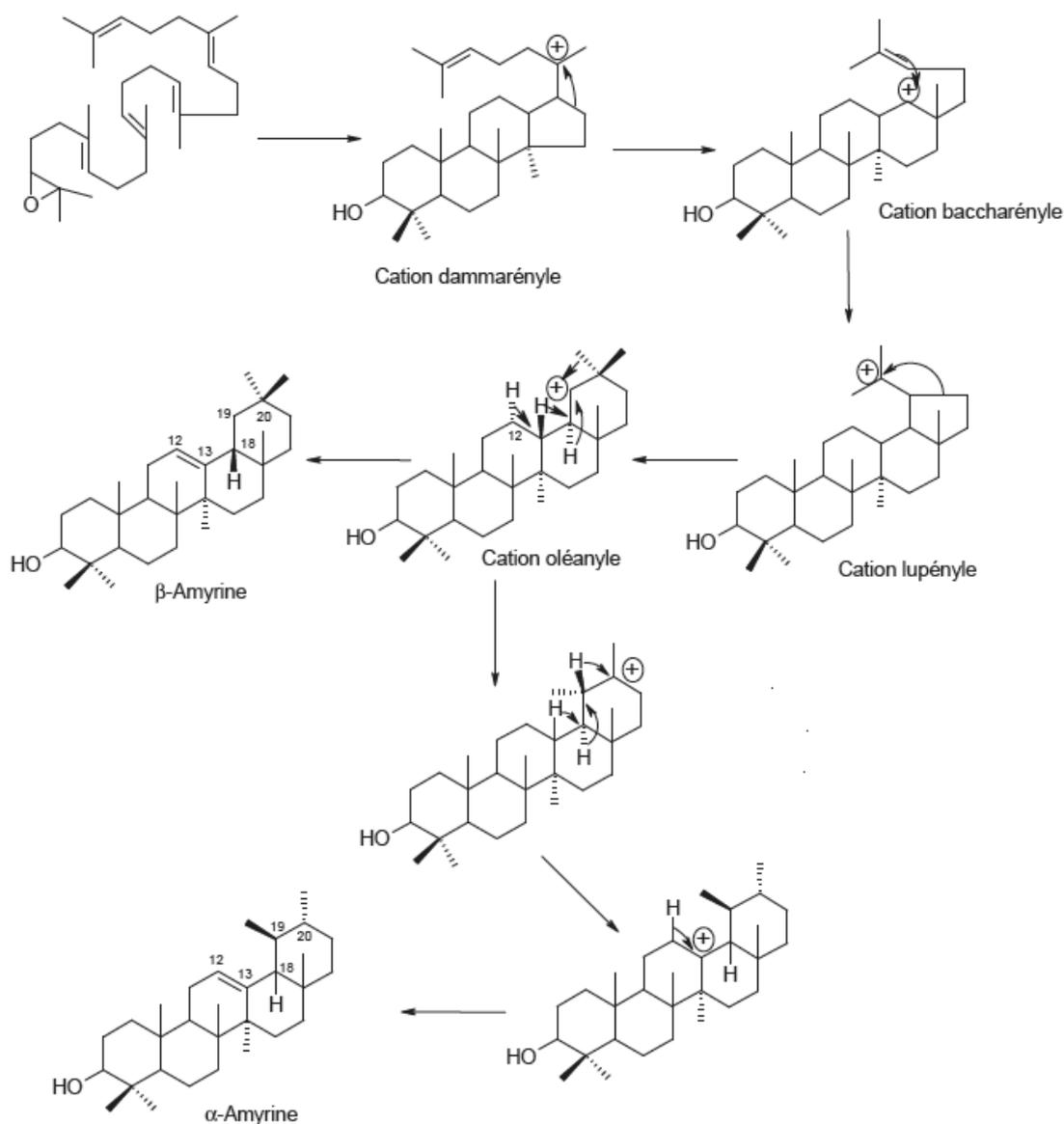


Figure IV.1-XVII Chaîne biosynthétique conduisant aux α - et β -amyrines à partir de l'époxy-squalène (Mahato et Sen, 1997 ; Som, 2006)

IV.2. Analyse des fractions humiques

IV.2.1. Indice d'humification

L'« humification » est confirmée par l'évolution des différentes fractions de matière organique. En effet, l'augmentation des fractions les plus complexes et récalcitrantes à la

biodégradation (« acides humiques » et « humine »), au détriment des fractions plus solubles donc plus facilement biodégradables (lipides et « acides fulviques »), traduit bien cette complexification. Le rapport acides humiques/acides fulviques, considéré comme un paramètre de maturité de la MO permet de suivre cette évolution. (Tableau 13).

Tableau 13 : Evolution du rapport AH/AF au cours de la déstructuration

AH/AF		
Jours	Essai 1	Essai 2
0	0,12	0,47
8	0,31	1
22	0,32	1,56
36	0,32	3,99
85	nd*	7,29

nd : non déterminé

Dans le cas du compostage, l'indice d'humification (HI) considéré comme un critère de maturité de la MO augmente très rapidement avant de se stabiliser en fin de biodégradation (*Adani et al., 2008*). Dans le cadre de notre étude, nous cherchons à obtenir une MO déstructurée mais pas forcément « mature », au sens utilisé pour les composts (ou la MO sédimentaire). En effet, la maturité est un critère important d'un point de vue agronomique pour les composts (*Fabrizio et al., 2009*). Or, notre étude vise une valorisation énergétique de la biomasse. Il est cependant souhaitable d'observer la première phase c'est-à-dire celle correspondant à l'augmentation du rapport AH/AF (Figure IV.2.1-I) qui correspond à l'humification de la MO.

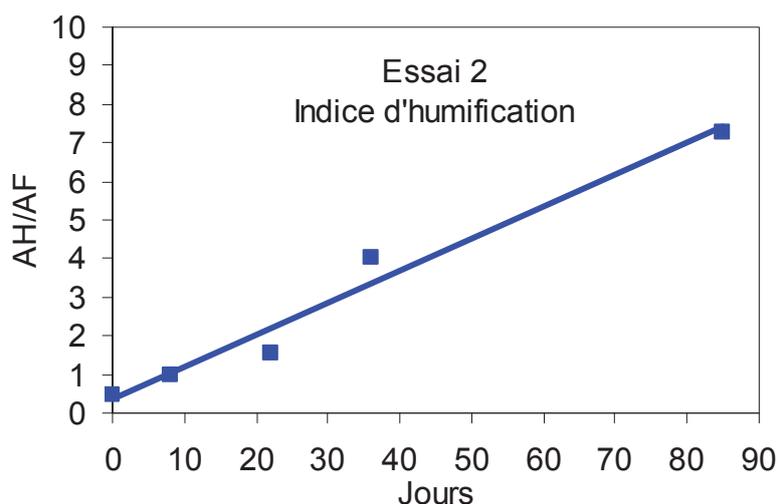


Figure IV.2.1-I Evolution de l'indice d'humification au cours de la biodégradation

Dans le cas de l'essai 2, l'indice d'« humification » augmente rapidement mais cependant il n'atteint pas de réel palier. Cette évolution montre bien une complexification de la MO de l'essai 2 sans pour autant qu'elle atteigne un état de maturité. En ce qui concerne l'essai 1, l'indice d'humification ne varie pas et reste stable au cours de la déstructuration montrant ainsi que les conditions de biodégradation ne sont pas remplies.

IV.2.2. Analyses globales

Les compositions élémentaires varient peu au cours du temps (Annexe 7), elles diffèrent en fonction de la nature des fractions de la MO. Toutefois, les substances humiques ont des compositions élémentaires différentes. Les Tableau 14 et Tableau 15 donnent les rapports H/C, O/C, C/N des fractions de la MO déstructurée à 85 jours et le taux de MO déterminée par ATG des différentes fractions humiques.

Tableau 14 Taux de MO obtenu par ATG des fractions humique à 85 jours

Fractions	Humine	Acides Humiques	Acides Fulviques
% Matière Organique	96,1	92,4	51,6

Tableau 15 Composition élémentaires des fractions de la biomasse déstructurée à 85 jours

Fraction massique	Humine	Acides Humiques	Acides Fulviques
%C	37,32	53,42	38,76
%N	5,92	5,76	5,75
%H	38,69	36,85	54,04
%O	1,41	3,97	1,45
O/C	0,03	0,06	0,03
H/C	1,03	0,69	1,39

L'humine et les AH sont riches en MO, respectivement 96 et 92%, contrairement aux AF (52%). De plus, les AH sont plus riches en carbone (53,42 %) que l'humine (37,32 %). Et les AF (38,76 %). Le rapport H/C des « acides humiques » est plus faible que celui de l'humine et des « acides fulviques » ce qui montre un caractère aromatique plus marqué pour les « acides humiques ». Ceci a déjà été observé par pyrolyse au cours d'études antérieures (Guignard, 2001 ; Deport, 2002). Cette différence est confirmée par l'ATG de l'humine (Figure IV.2.2-I) qui présente deux exothermes (aromatique et aliphatique), l'ATG des « acides humiques » qui présente une exotherme aromatique et celui des « acides fulviques » qui ne compte qu'une exotherme caractéristique des aliphatiques.

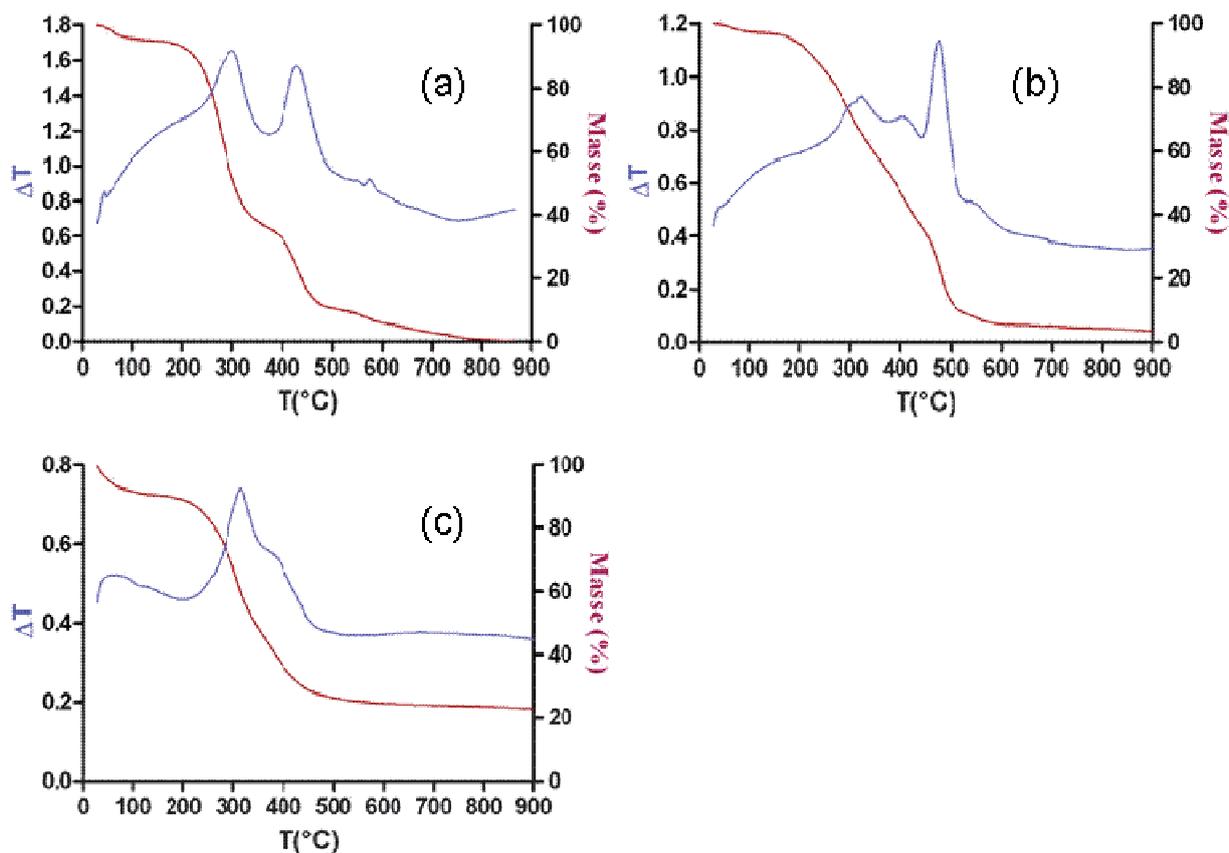


Figure IV.2.2-I ATD/ATG de l'humine (a), des acides humiques (b) et des acides fulviques (c) de la biomasse déstructurées à 85 jours

Le rapport O/C est le plus important dans les acides humiques indiquant la présence de composés oxygénés dans cette fraction qui est la plus aromatique. Il est à noter que les acides fulviques ont été dialysés avant d'être caractérisés afin d'éliminer les sels formés au cours du fractionnement IHSS.

Les spectres DRIFT (Figure IV.2.2-II) ont été réalisés sur la biomasse déstructurée à 85 jours et sur les substances humiques correspondantes.

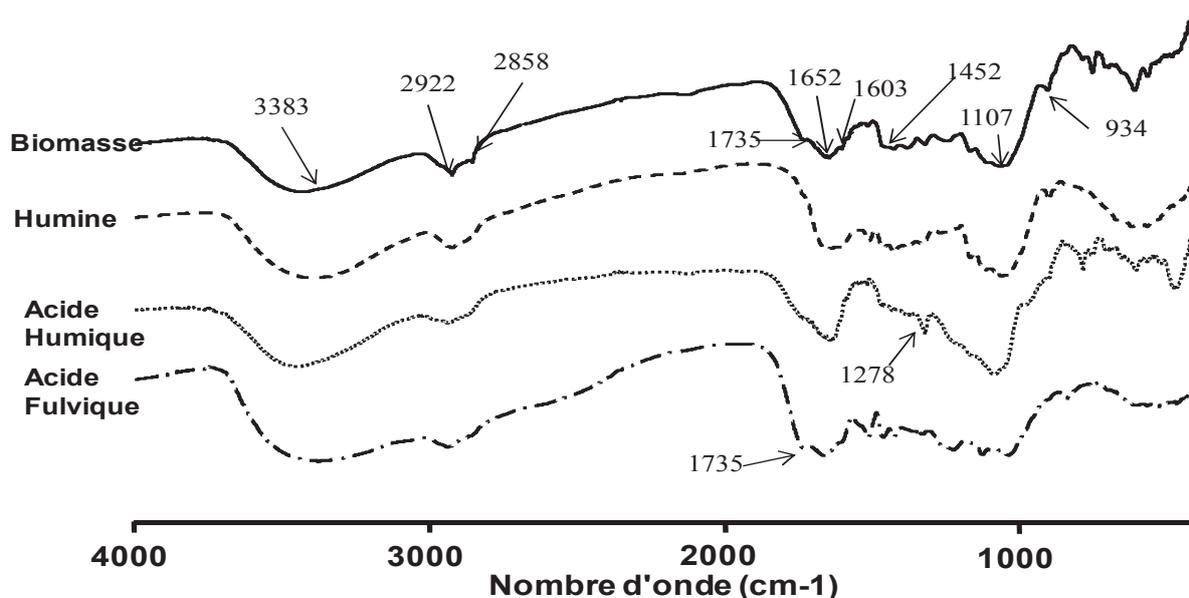
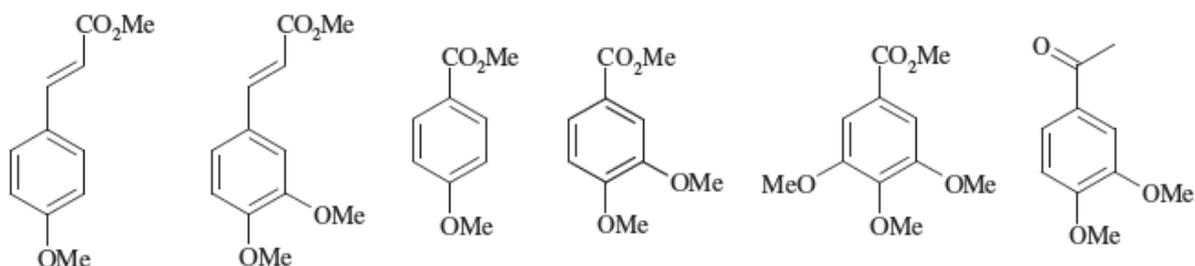


Figure IV.2.2-II Spectres DRIFTS des fractions humiques et de la MOT de l'essai 2 à 85 jours de biodégradation

Le spectre IR de l'humine est très proche du spectre IR de la biomasse totale. De plus la bande harmonique à 1735 cm^{-1} correspondante à l'élongation de la liaison C=O des acides carboxyliques, des aldéhydes acycliques, des cétones et des quinones, est très intense dans les acides humiques ce qui corrèle bien avec les valeur O/C plus importantes obtenues en analyses élémentaire.

IV.2.3. Analyse moléculaire

La pyrolyse à 600°C des substances humiques obtenues par fractionnement IHSS de la biomasse déstructurée à 85 jours montre des composés aromatiques (1 à 23) provenant de la lignine (cf. Annexe 6).



La pyrolyse à 600°C montre une différence entre les pyrogrammes (Figure IV.2.3-I) de l'humine, des « acides humiques » et des « acides fulviques » de l'essai 2. En effet, des hydrocarbures (HC₂₁ à HC₂₅) aliphatiques sont détectés dans l'humine mais sont absents des pyrogrammes des acides humiques et fulviques. De plus, les pyrogrammes des acides humiques et de l'humine présentent une grande variété de composés provenant de la lignine (1-23). Il est à noter que les composés aromatiques fonctionnalisés observés dans les substances humiques sont identiques à ceux observés dans la biomasse totale déstructurée à 85 jours et que très peu de composés sont obtenus par pyrolyses des « acides fulviques ».

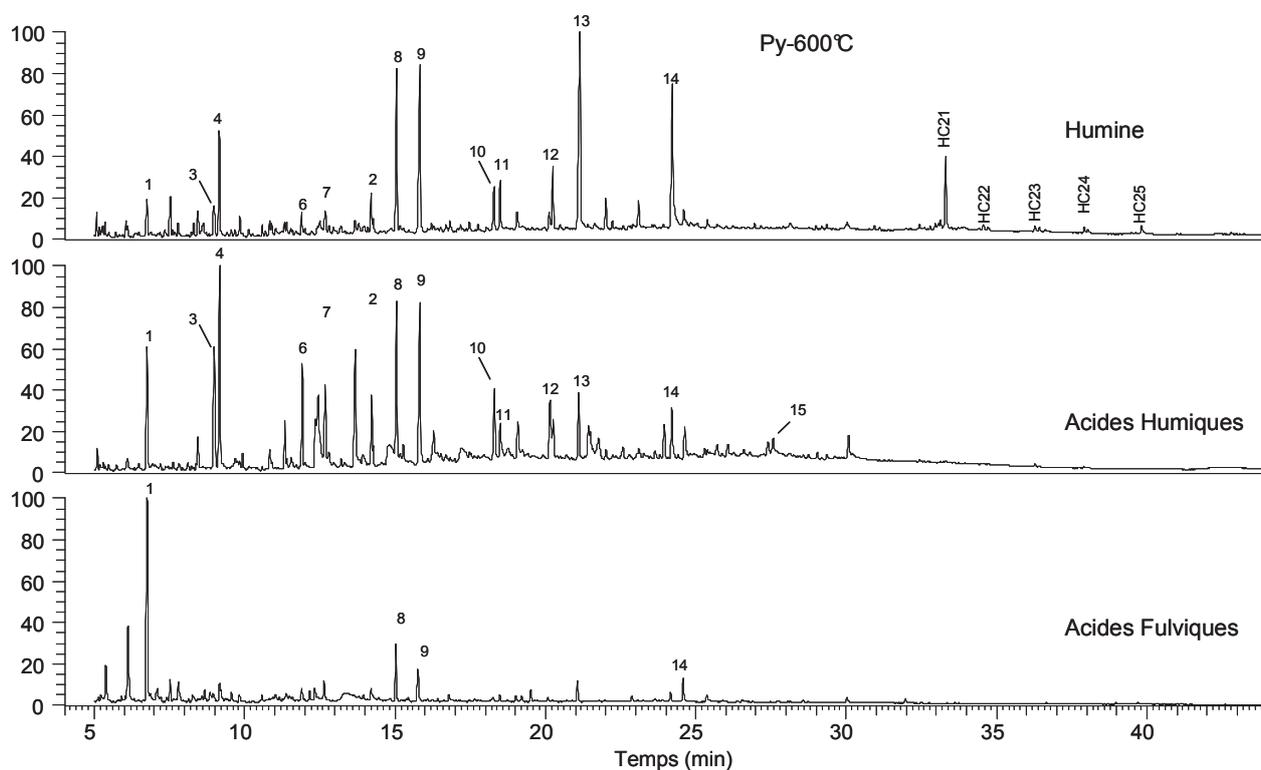


Figure IV.2.3-I Pyrogrammes des fractions humiques de la biomasse de l'essai 2 déstructurée à 85 jours

Tout comme l'analyse élémentaire, les pyrogrammes des AH confirment que c'est la fraction humique la plus riche en structures aromatiques (cf. Annexe 3). Afin d'identifier des composés qui seraient éventuellement piégés dans le réseau macromoléculaire, la pyrolyse des acides humiques de l'essai 2 a été réalisée en présence de TMAH à 600°C.

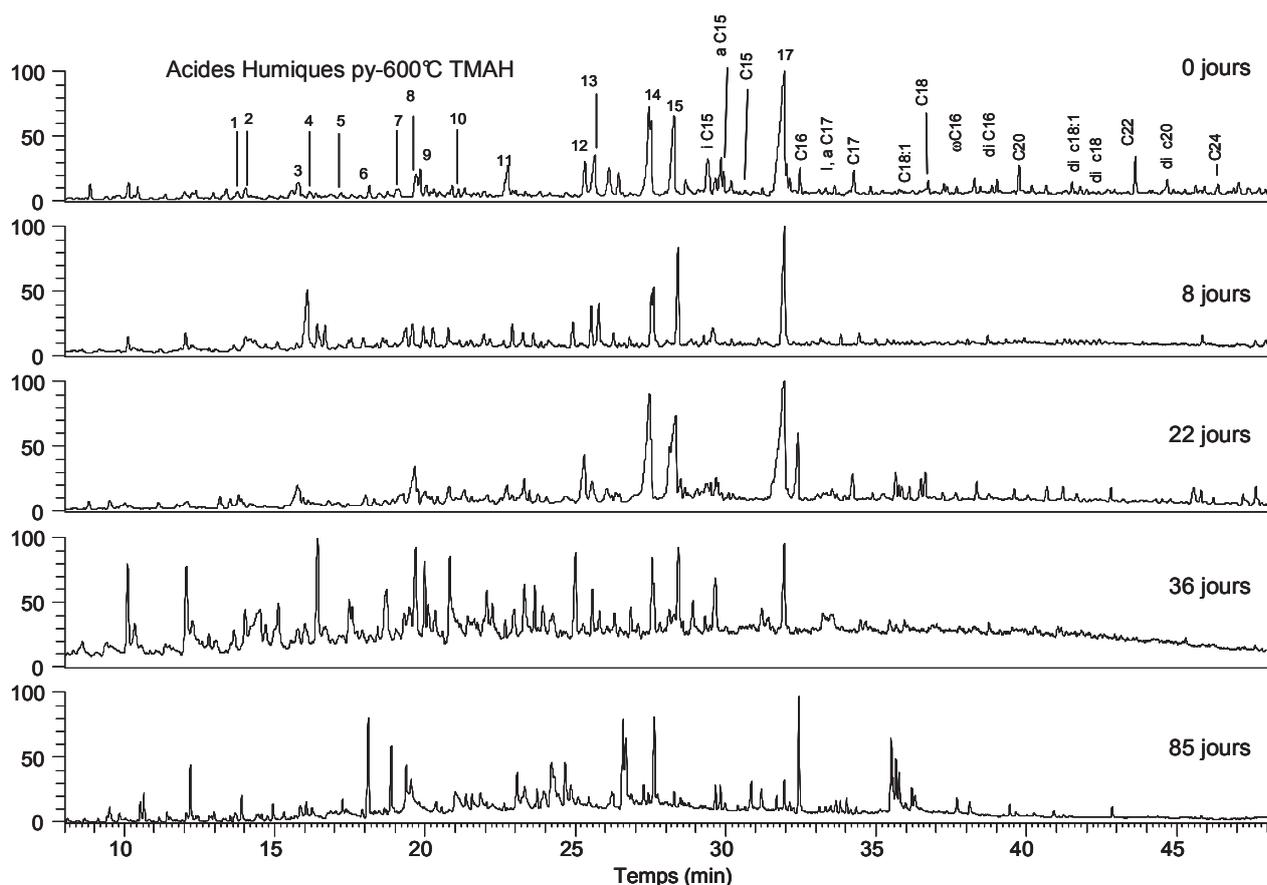


Figure IV.2.3-II Pyrogrammes en présence de TMAH des acides humiques de l'essai 2

Les pyrogrammes sont principalement constitués de monoacides (C_{15} à C_{24}) et de diacides gras (C_{16} , C_{18} et C_{20}) (identifiés sous forme d'esters et de diesters méthyliques). Des composés aromatiques (1 à 20) dérivés de la lignine (Annexe 3) et des ω -méthoxyesters (ω - C_{16}) sont aussi identifiés. Il est à noter que nous observons aussi des composés issus de l'activité bactérienne tels que les acides gras insaturés ($C_{18:2}$), iso et antéiso C_{15} , C_{17} .

Conclusion

L'analyse moléculaire de la biomasse lignocellulosique a été réalisée sur le mélange initial puis après destructuration (essai 1 et essai 2) par des caractérisations globales (analyses élémentaires, DRIFTS,) et moléculaire (pyrolyse, Headspace, GC/MS). L'évolution et la modification de la MOT au cours de la biodégradation a ainsi été mise en évidence. Une évolution de la MO est observée (oxydation, aromatisation) pour l'essai 2 tandis qu'aucune

modification moléculaire et structurale n'est obtenue au cours de l'essai 1. De plus, nous remarquons aussi une évolution de la composition lignocellulosique au cours de l'essai 2.

Les lipides composés d'hydrocarbures, α - et ω -hydroxyacides, d'alcools, de diacides constituent la fraction la plus biodisponible et renferme des marqueurs de l'activité biologique. Au cours de la déstructuration, la quantité de lipides diminue dans l'essai 2 tandis qu'elle reste constante dans l'essai 1. De plus, l'analyse par pyrolyse de la MOT et des substances humiques montre une différence de composition entre ces fractions mais ne montre pas d'humification de la MOT.

SYNTHESE DES RESULTATS DE DESTRUCTURATION

Un réacteur de laboratoire a été conçu en choisissant l'option « aération forcée » afin de réaliser les essais de déstructuration. Un essai préliminaire de déstructuration de la biomasse a été réalisé (essai 1). Le suivi de la température indique une faible intensité de l'activité bactérienne dans cet essai. Plusieurs causes sont identifiées : mauvaise aération liée à une surpression dans le réacteur (due au broyage) et rapport carbone/azote trop élevé. Ensuite un second essai a été réalisé avec des proportions d'intrants différents. Les paramètres de déstructuration de la matière organique ont été optimisés, notamment la nature des intrants (veiller à la présence de microorganismes), le choix des intrants (rapport carbone/azote adéquat), l'aération au sein du réacteur de déstructuration, et le taux d'humidité. Les critères de maturité obtenus pour les deux essais détaillés dans le Tableau 16, montrent que la matière organique (MO) de l'essai 2 évolue (humification) mais n'arrive pas à maturité. Ceci n'est cependant pas gênant dans la mesure où l'application recherchée n'est pas agronomique. La MO de l'essai 1 n'évolue pas.

Tableau 16 Evolution des critères physico-chimiques d'évaluation de la maturité des biomasses biodégradées

Critère de maturité	Essai 1		Essai 2	
	Tendance	Stabilisation	Tendance	Stabilisation
%MO	diminution	non	diminution	oui
%C	stable	oui	stable	oui
C/N	stable	oui	diminution	oui
pH	stable	oui	augmentation	oui
AH/AF	stable	oui	augmentation	non

Les analyses élémentaires, les analyses DRIFTS, les analyses thermo différentielles et gravimétriques, les analyses des COV nous ont permis de suivre l'activité biologique, la stabilité, l'aromatisation et l'oxydation de la matière organique au cours du temps. Après 36 jours de déstructuration (essai 2), la matière organique est stable, non « humifiée » et sans perte de carbone. L'étude structurale a mis en évidence l'aromatisation et l'oxydation de la

MO. De plus, les analyses moléculaires ont permis de montrer la contribution de composés d'origine végétale mais a aussi de suivre l'évolution de l'activité biologique au sein de la matière organique totale et fractionnée en suivant les acides gras ramifiés d'origine bactérienne par rapport aux acides gras linéaires (végétaux) dans la matière organique totale et dans les lipides. L'activité bactérienne est très intense dans les premiers jours avant d'atteindre un palier (régime stationnaire). Le Tableau 17 résume les critères de maturité pouvant être associés à l'évolution moléculaire.

Tableau 17 Critères liants l'évolution de la maturité avec la structure moléculaire

Critère de maturité	Essai 1		Essai 2	
	Tendance	Stabilisation	Tendance	Stabilisation
quantité de lipide	constante	oui	diminution	oui
R-ATD	nd	nd	augmentation	oui
R-py	nd	nd	augmentation	oui
mono/diacides	nd	nd	diminution	non
acides gras linéaires/ramifiés	nd	nd	augmentation	oui

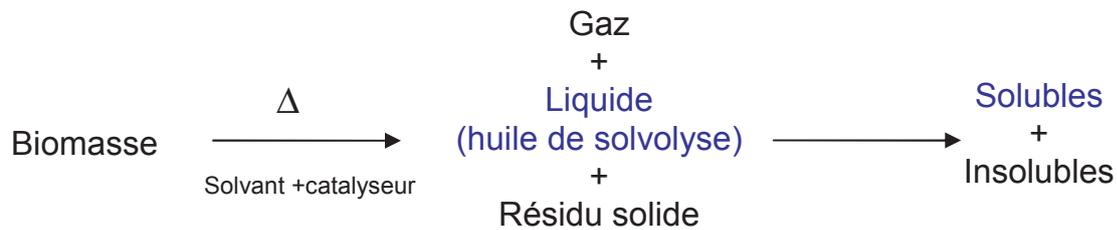
Ensuite la matière organique a été fractionnée et les substances humiques ont été caractérisées afin de confirmer l'évolution moléculaire observée au cours de l'analyse de la MOT.

La deuxième partie de l'étude a été consacrée à la liquéfaction/solvolyse. Dans un premier temps, l'optimisation des conditions de liquéfaction de la biomasse lignocellulosique biodégradable sera effectuée. Ensuite, la liquéfaction des substances humiques obtenues par le protocole IHSS permettra de comprendre et de proposer un ordre de réactivité de ces fractions au sein de la biomasse lignocellulosique biodégradable.

PARTIE 2 :
LIQUEFACTION DE LA BIOMASSE

INTRODUCTION

L'objectif est d'obtenir une huile par liquéfaction d'une biomasse préalablement déstructurée. La réaction de liquéfaction s'effectue comme suit :



Dans un premier temps, nous nous sommes appliqués à optimiser les paramètres de liquéfaction : rôle du catalyseur, nature du solvant, durée de liquéfaction, température de liquéfaction. Pour cela, nous avons choisi la biomasse déstructurée pendant 85 jours : B₈₅.

Dans un second temps, nous avons étudié l'influence du temps de déstructuration sur les rendements de liquéfaction dans les conditions préalablement optimisées.

Chapitre I :**Optimisation des conditions de liquéfaction****I. Effet de la durée de liquéfaction**

L'influence de la durée de liquéfaction a été étudiée à différents temps de liquéfaction. Les résultats obtenus à 420°C sur l'échantillon de biomasse déstructuré à 85 jours (B₈₅) sont présentés dans la Figure I-I.

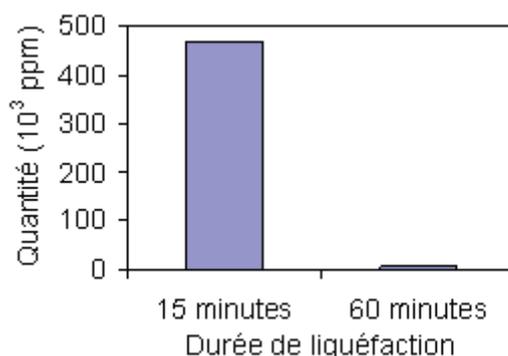


Figure I-I Influence de la durée de liquéfaction à 420°C de B₈₅ sur la quantité d'huile de solvolysé

La quantité d'huile de solvolysé obtenue après 15 minutes de réaction est 50 fois plus élevée que la quantité de produit liquide obtenue après 60 minutes de réaction. Pour l'étude, la durée de liquéfaction sera fixée à **15 minutes** afin de limiter la formation de produit de réaction gazeux et de ce fait favoriser la conversion de la biomasse en produit liquide.

II. Influence des paramètres de liquéfaction**II.1. Rôle du solvant et du catalyseur**

La présence de solvant a pour but de limiter les réactions intermoléculaires et par conséquent les réactions de recombinaison et les réactions réversibles par dilution des produits de réaction. La tétraline a été choisie pour son caractère donneur d'hydrogène, elle

favorise les contacts gaz/substrats et de ce fait améliore les rendements de liquéfaction. L'hydrogène requi pour la liquéfaction de la biomasse provient de la tétraline suivant le schéma de réaction ci-dessous

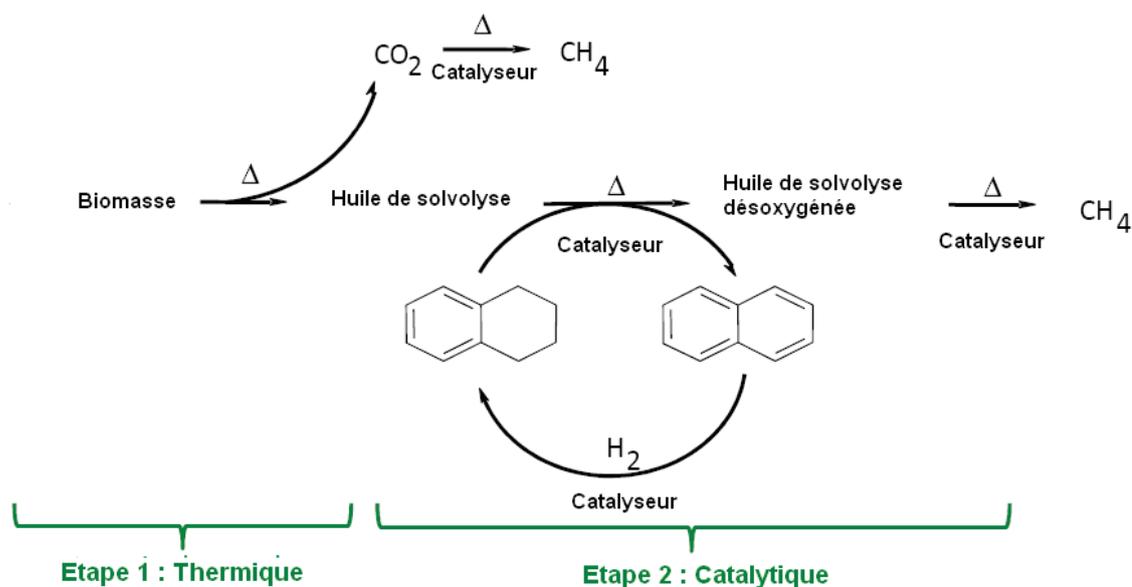


Figure II.1-I Processus de réaction de la tétraline au cours de la liquéfaction

L'effet du solvant est indissociable du rôle du catalyseur au cours du processus liquéfaction/solvolysé. La réaction de liquéfaction a été effectuée sans catalyseur et ensuite avec catalyseur (Ni de Raney activé) sur la biomasse biodégradée à 85 jours (B_{85}). L'effet du catalyseur a été étudié sur le solvant de réaction et sur les rendements de transformation de la réaction de liquéfaction/solvolysé.

La capacité de la tétraline à céder de l'hydrogène ou Taux de transfert d'hydrogène (THT) correspond à la masse d'hydrogène transférée de la tétraline à la biomasse. Le THT, est obtenu par chromatographie gazeuse en mesurant le taux de conversion de la tétraline en naphthalène durant la réaction de liquéfaction. Le nombre de milligrammes d'hydrogène transféré à un échantillon de 1000 mg de la biomasse est alors calculé selon la formule suivante :

$$THT = \frac{4000}{132} \times \frac{T_x}{M}$$

- ✓ T est la quantité de tétraline en mg dans le mélange initial.
- ✓ M est la masse de biomasse en mg.
- ✓ x est la fraction molaire de naphtalène formé durant la réaction.

Le catalyseur favorise et améliore l'effet donneur d'hydrogène de la tétraline. Cela se traduit par un rapport naphtalène/tétraline qui augmente en présence de catalyseur. Autrement dit, la quantité d'hydrogène cédée par le solvant augmente en présence de catalyseur. Ainsi, il est possible de calculer en fin de liquéfaction, la quantité d'hydrogène en milligrammes transférée à 1g de biomasse B₈₅ (THT) (Figure II.1-II) durant 15 minutes de réaction.

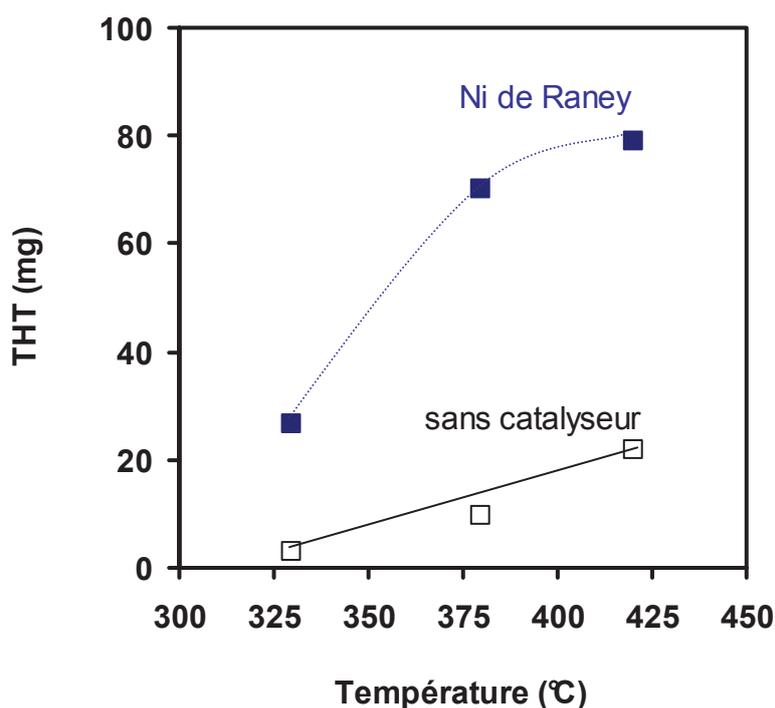


Figure II.1-II Quantité d'hydrogène cédée par la tétraline à 1g de B₈₅ (THT)

Le THT augmente avec la température de réaction et en présence de catalyseur. Cette évolution montre que la tétraline cède plus facilement l'hydrogène en présence de catalyseur.

Des valeurs plus importantes sont obtenues lors de la liquéfaction en présence de catalyseur. Pour ce faire, un catalyseur hydrogénant a été choisi pour l'étude, le Nickel de Raney activé.

II.2. Influence des paramètres de liquéfaction sur le taux de conversion

La transformation globale de la biomasse au cours de la liquéfaction a été suivie avec et sans catalyseur (nickel de Raney activé). Le taux de conversion avec et sans catalyseur obtenu après 15 minutes de liquéfaction (Figure II.2-I) de la biomasse en produit de solvolysé peut alors être déduit et correspond à :

$$\text{Conversion} = \frac{m(MO) - m(MO)\text{résidu}}{m(MO)} * 100$$

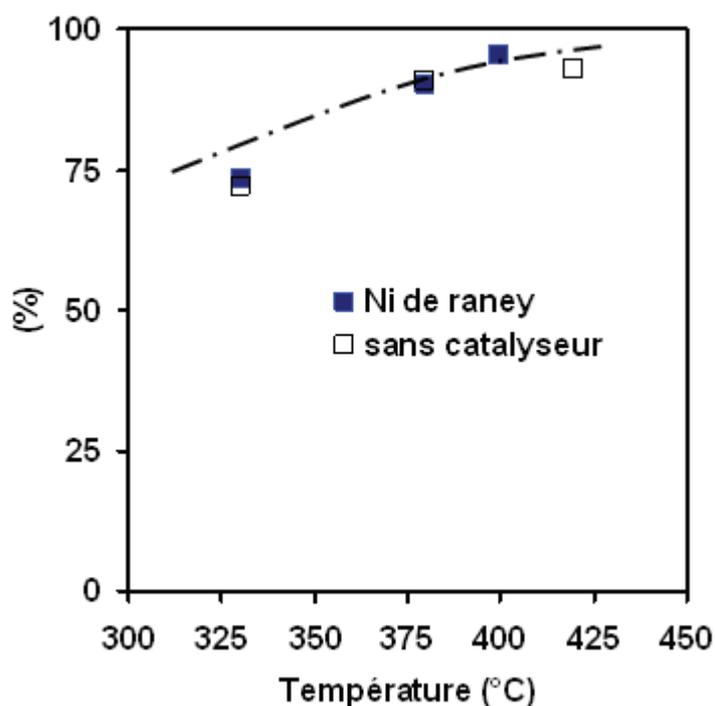


Figure II.2-I Influence de la température et du catalyseur sur taux de conversion

Le taux de conversion augmente avec la température de réaction pour être **total (97%) à 420°C**. La présence de catalyseur n'a aucun effet sur les quantités de produits de solvolysé. D'autre part, aucun résidu (produit de recondensation ou coke) n'est obtenu. A 420°C, la

conversion est donc totale, indépendamment de la présence de catalyseur. L'effet de la température et du solvant sont donc suffisants.

II.3. Etude quantitative

L'influence du catalyseur sur la quantité des produits de liquéfaction (gaz, liquide et solide) est alors suivie avec B₈₅ pour une température de liquéfaction de 380°C étant donné que la réaction est quasi-totale (91%) à cette température. Les quantités des produits de réaction gazeux, liquide et solide obtenus avec et sans catalyseur sont présentés sur la Figure II.3-I

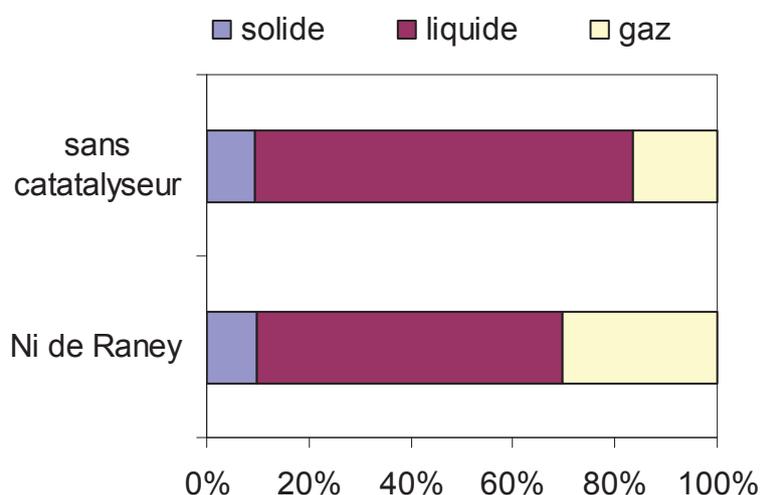


Figure II.3-I Rendements en gaz, liquide et solide au cours de la liquéfaction à 380°C de B₈₅

Les produits de réaction gazeux obtenus sont : le dioxyde de carbone, le monoxyde de carbone et le méthane. La formation de CH₄ et du CO₂ est due à la méthanation et à la réaction d'hydrogénolyse. Les rendements en gaz sont doublés en présence de nickel de Raney. En effet, ils passent de 15% à 30% en présence de catalyseur. Toutefois, la quantité de produit liquide reste majoritaire et supérieure à 50%. Le résidu réfractaire à la liquéfaction ou produit de réaction solide reste quant à lui inférieur à 10%. Ainsi, la présence de catalyseur favorise l'obtention de produit de réaction gazeux tout en maintenant une quantité d'huile de solvolysé importante.

L'huile de solvolyse est obtenue après évaporation du solvant de la fraction liquide. La chromatographie sur couche mince (CCM) de l'huile de solvolyse a montré la présence de composés trop polaires pour être analysés directement par GC/MS. L'analyse de cette huile nécessite donc un fractionnement en amont. Le protocole utilisé préalablement au laboratoire pour l'analyse des huiles extraites de roches sédimentaires (protocole des pétroliers) a été utilisé pour fractionner l'huile de solvolyse concentrée. Cette dernière a donc été solubilisée dans l'hexane (5mg d'huile de solvolyse pour 1 ml d'hexane) afin de précipiter les macromolécules de type asphaltènes (*Desbène et al., 1990*). Après CCM, l'huile de solvolyse soluble dans l'hexane est analysée par GC/MS. La Figure II.3-II montre l'effet du catalyseur sur les quantités et la composition de l'huile de solvolyse au cours de la liquéfaction à 380°C.

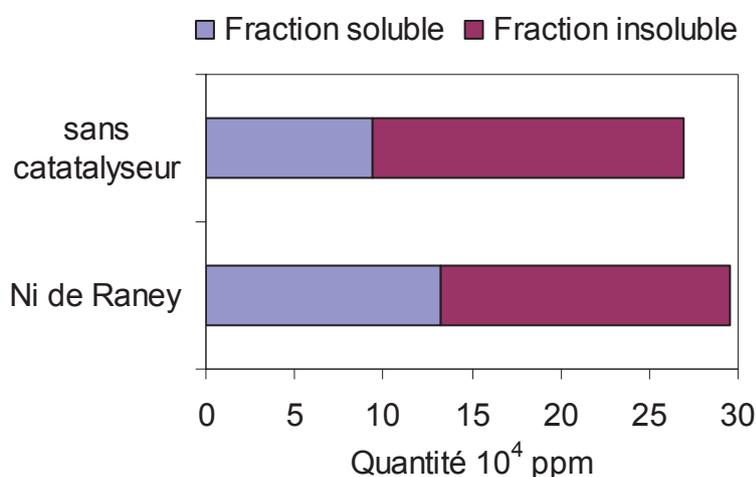


Figure II.3-II Effet du catalyseur sur la quantité et la composition de l'huile de solvolyse

Les quantités d'huile de solvolyse obtenues à 380°C varient très peu en présence de catalyseur. Toutefois, l'huile de solvolyse soluble dans l'hexane augmente en présence de catalyseur passant de $9 \cdot 10^4$ à $14 \cdot 10^4$ ppm, la part de l'huile de solvolyse insoluble dans l'hexane diminuant. Ainsi, il semble que le nickel de Raney activé n'influence pas la quantité d'huile de solvolyse mais cependant en modifie la nature et la composition moléculaire.

II.4. Etude qualitative

L'étude qualitative a été suivie par analyse élémentaire afin de mettre en évidence le rôle du catalyseur sur la nature de la fraction liquide obtenue par liquéfaction. La composition élémentaire (Tableau 18) de l'huile de solvolyse obtenue avec et sans catalyseur a été

comparée à celle recherchée pour un bio pétrole : H/C=1,5 et %O <2 (Wang *et al.*, 2008).

Tableau 18 Composition élémentaire de l'huile de solvolysé avec et sans catalyseur à 380°C

	%C	%O	H/C	O/C
Sans catalyseur	73	16	1,15	0,16
Ni de Raney	76	10	1,20	0,1

Les analyses élémentaires de l'huile de solvolysé montrent une diminution du taux d'oxygène en présence de catalyseur et une augmentation du taux de carbone. Le catalyseur permet alors une importante désoxygénation de l'huile de solvolysé au cours de la réaction. Cette évolution des quantités de carbone, d'hydrogène et d'oxygène se traduit par une diminution du rapport O/C passant de 0,16 à 0,09 et une légère augmentation du rapport H/C passant de 1,15 à 1,20 de l'huile de solvolysé.

Le pouvoir calorifique supérieur (PCS) ou HHV (Higher Heating Value) est une propriété des combustibles. Il correspond à la quantité d'énergie thermique libérée par la réaction de combustion d'un kilogramme de combustible, la vapeur d'eau étant supposée condensée et la chaleur récupérée. Cette mesure est pratique lorsqu'il s'agit de comparer des combustibles où il est facile de condenser les produits de combustion. Pour ce faire, il est très important pour l'évaluation de la qualité d'une bio-huile. Il est à noter que le pouvoir calorifique supérieur recherché pour un bio pétrole est de 40 MJ/kg (Wang *et al.*, 2008).

Dans la pratique, la détermination expérimentale du pouvoir calorifique supérieur s'effectue à l'aide de la bombe calorifique de Mahler (Norme NF M 03-005). Cependant, les variations des quantités de carbone, d'hydrogène et d'oxygène ayant une influence directe sur le pouvoir calorifique supérieur de l'huile de solvolysé, le PCS a été déterminé à l'aide de la formule modifiée de Dulong :

$$\text{PCS (MJ/kg)} = 0,3383 \text{ C} + 1,422 (\text{H} - \text{O}/8)$$

Le PCS augmente en présence de catalyseur passant de 32,1 à 36,2 MJ/kg. Toutefois, il reste légèrement inférieur à 40 MJ/kg.

II.5. Etude moléculaire

L'analyse en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) de l'huile soluble dans l'hexane avec catalyseur à 380°C montre que les composés observés avec catalyseur sont essentiellement des hydrocarbures aliphatiques (Cn) et aromatiques (Figure II.5-II) (annexe 4).

Le rôle du catalyseur dans la composition de l'huile soluble est mis en évidence par une étude quantitative des composés aromatiques et aliphatiques des solubles dans l'hexane (Figure II.5-I) au cours de la liquéfaction de B₈₅ à 380°C.

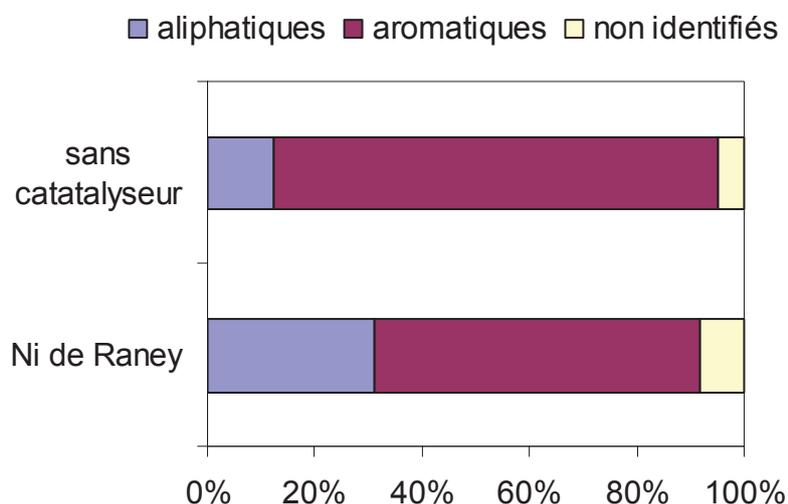


Figure II.5-I Rôle du catalyseur sur la composition de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane de B₈₅ à 380°C.

L'huile soluble dans l'hexane contient majoritairement des hydrocarbures aromatiques. La quantité relative d'hydrocarbures aliphatiques augmente, passant de 10 à 30% lorsque la réaction de liquéfaction s'effectue en présence de Ni de Raney. Une grande variété d'hydrocarbures aliphatiques est observée dans l'huile soluble dans l'hexane en présence de Ni de Raney.

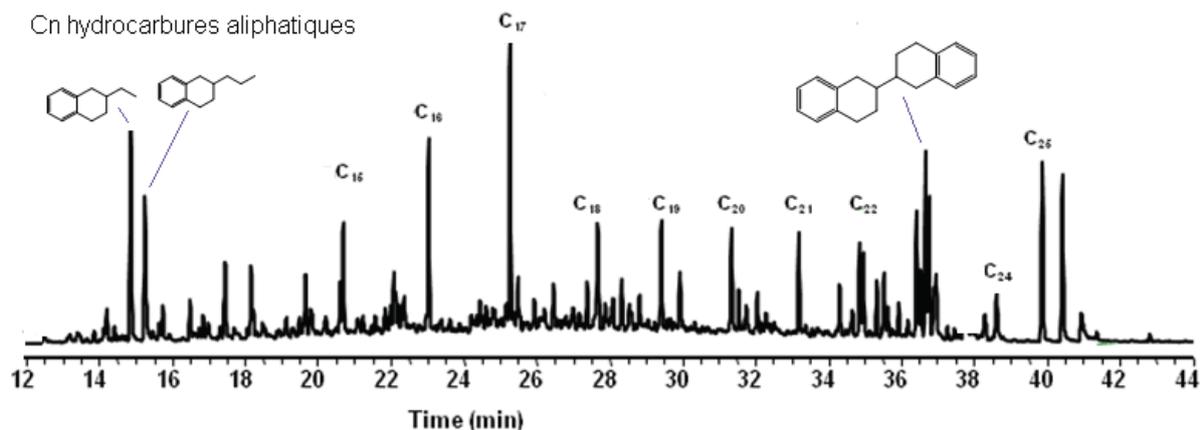


Figure II.5-II Composition moléculaire de la fraction d'huile de solvolysé soluble dans l'hexane avec catalyseur à 380°C

L'étude quantitative des hydrocarbures aliphatiques de l'huile soluble dans l'hexane au cours de la liquéfaction de B₈₅ à 380°C avec et sans catalyseur est détaillée sur la Figure II.5-III.

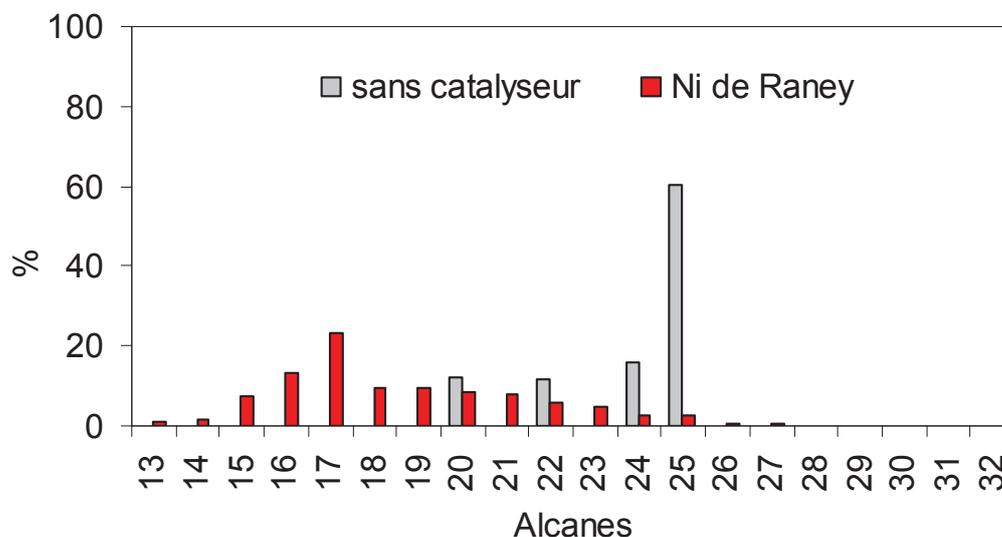


Figure II.5-III Distribution des alcanes des solubles de B₈₅ avec et sans catalyseur à 380°C

La présence de catalyseur influence la composition de la fraction hydrocarbures aliphatiques. En effet, en présence de catalyseur, les alcanes sont obtenus dans une large gamme allant du (C₁₃ au C₃₁) avec un maximum en C₁₇. Les alcanes obtenus sans catalyseur présentent une distribution différente composée de membres en C₂₀, C₂₂, C₂₄ et C₂₅ avec un maximum en C₂₅.

Le catalyseur n'influence pas la quantité de biomasse convertie. Toutefois, il modifie la nature, la quantité et la composition de l'huile soluble dans l'hexane. Il est à noter que le catalyseur joue un rôle indirect dans l'obtention de l'huile de solvolysé étant donné qu'il favorise la réhydrogénation du solvant qui permet de liquéfier la biomasse lignocellulosique.

III. Effet de la température de liquéfaction

L'influence du catalyseur (Ni de Raney), du solvant (tétraline) et de la durée de la réaction ont été démontrés précédemment. Le rôle de la température a été étudié avec catalyseur, à différentes températures de réaction (330°C, 380°C et 420°C) sur la biomasse déstructurée à 85 jours (B₈₅) en fixant les conditions de réaction précédemment mises au point sur la liquéfaction. Les produits de solvolysé (gaz, liquides, solide) sont récupérés, quantifiés et analysés.

III.1. Etude quantitative

L'évolution des quantités des produits de réaction (Figure III.1-I) a été suivie à différentes températures de liquéfaction.

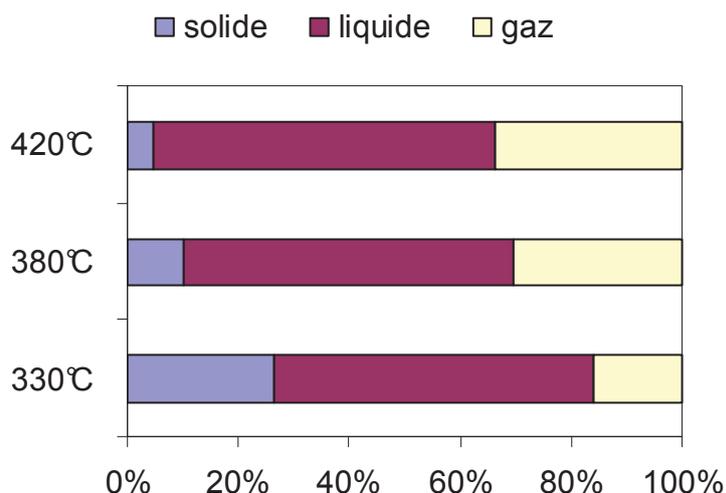


Figure III.1-I Evolution des quantités des produits de réaction à différentes températures en présence de catalyseur

Les quantités de gaz obtenues au cours de la liquéfaction de B₈₅ augmentent lorsque la température de réaction augmente. Il est à noter que les produits de réaction gazeux obtenus sont le monoxyde de carbone (CO), le dioxyde de carbone (CO₂) et le méthane. L'augmentation de la température n'entraîne donc pas la formation d'autres composés gazeux que ceux précédemment identifiés. L'augmentation de la quantité de gaz avec l'augmentation de la température de réaction peut être corrélée avec la conversion qui devient totale à 420°C. La quantité de fraction liquide reste constante tandis que la quantité de fraction solide ou résidu diminue fortement avec l'augmentation de la température, passant de 27 à 5%.

L'huile de solvolysé étant le produit de réaction majoritaire, elle a été analysée afin de déterminer l'influence de la température sur sa composition. Des caractérisations précédentes ont montré l'importance de fractionner le produit de réaction liquide obtenu au cours de la liquéfaction. L'évolution des quantités d'huile de solvolysé à différentes températures est montrée sur la Figure III.1-II.

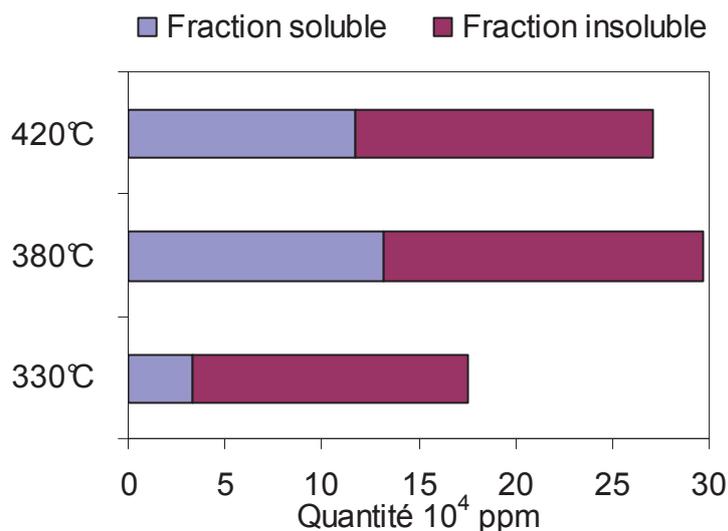


Figure III.1-II Effet de la température de liquéfaction sur la composition de l'huile de solvolysé

Le rendement en huile de solvolysé dépend de la température de liquéfaction. Il atteint un maximum de $29,6 \cdot 10^4$ ppm à 380°C . La quantité d'huile de solvolysé atteint aussi un maximum pour une température de liquéfaction de 380°C . Au cours de la liquéfaction, le produit majoritaire de l'huile de solvolysé est la fraction insoluble. La température de liquéfaction joue un rôle important dans l'obtention de l'huile de solvolysé et de l'huile soluble dans l'hexane. Il est à noter que la température au sein du réacteur de liquéfaction varie par rapport à la température de chauffage.

III.2. Etude qualitative

III.2.1. Sur l'huile de solvolysé

Le taux d'oxygène diminue avec l'augmentation de la température de liquéfaction passant de 13% à 9%. Cette évolution corrèle bien avec l'augmentation de la formation des gaz observée précédemment. Effectivement, le catalyseur désoxygène l'huile et entraîne de ce fait une augmentation de la quantité de gaz observée. De plus, la quantité de carbone augmente avec la température de liquéfaction passant de 75 à 80% tandis que le taux d'oxygène diminue et passe de 13 à 9%. L'augmentation de la température permet alors tout comme l'ajout de catalyseur, une importante désoxygénation de l'huile de solvolysé au cours

de la réaction. Cette évolution des quantités de carbone, d'hydrogène et d'oxygène se traduit par une diminution du rapport O/C passant de 0,16 à 0,09 et une légère augmentation du rapport H/C de l'huile de solvolysé passant par un maximum à 1,20 suivie d'une diminution. Il est à noter que l'huile de solvolysé est constituée de plus de 50% de poids de carbone (*Ana Pinheiro, 2008*).

Lorsque la température de liquéfaction augmente, le pouvoir calorifique supérieur (PCS) augmente passant de 34 à 36 MJ/kg puis se stabilise (Tableau 19). Ainsi, l'huile de solvolysé ayant les caractéristiques les plus proches d'un bio pétrole (H/C=1,5 et %O<2, PCS=40MJ/kg) est obtenue lorsque la **température de liquéfaction est fixée à 380°C**.

Tableau 19 Influence de la température sur la composition et le PCS de l'huile de solvolysé en présence de catalyseur

Température (°C)	%C	%H	%O	H/C	O/C	PCS (MJ/kg)
330	75,9	7,9	13	1,25	0,13	34,5
380	79,1	7,9	10	1,19	0,09	36,2
420	80,5	7,4	9,3	1,1	0,09	36,1

Ainsi, la température de liquéfaction permet non seulement d'avoir une conversion totale de la biomasse, mais aussi d'obtenir une huile de solvolysé faiblement concentrée en oxygène et à haut pouvoir calorifique.

III.2.2. Sur l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane

L'analyse élémentaire de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé a été suivie à différentes températures de liquéfaction (Tableau 20). Le rapport O/C des solubles diminue avec l'augmentation de la température de liquéfaction tandis que le rapport H/C reste proche de celui d'un bio pétrole (H/C=1,5). Toutefois, nous remarquons que le pouvoir calorifique de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane est supérieur à celui de l'huile de solvolysé et atteint des valeurs proches (40,1 MJ/Kg) de celle d'un bio pétrole (40 MJ/kg). Ainsi, l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane représente effectivement la partie facilement valorisable de l'huile de solvolysé.

Tableau 20 Influence de la température sur la composition élémentaire et le PCS de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane en présence de catalyseur

Temperature (°C)	%C	%H	%O	H/C	O/C	PCS (MJ/kg)
330	76,5	8,1	13,7	1,27	0,13	34,9
380	82,2	8,2	9,6	1,19	0,09	37,8
420	84,9	8,8	6,3	1,24	0,06	40,1

Ainsi, la température de liquéfaction permet d'obtenir une fraction soluble dans l'hexane présentant des caractéristiques très proches à celle d'un bio pétrole. Afin d'approfondir ces résultats, une étude moléculaire a été réalisée sur cette fraction.

III.3. Etude moléculaire

La fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé a été caractérisée par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). La Figure III.3-II nous montre la composition des solubles en fonction de la température de liquéfaction de B₈₅ avec catalyseur.

Les solubles dans l'hexane sont essentiellement constitués d'hydrocarbures aliphatiques et aromatiques. Les composés identifiés par GC/MS sont listés en Annexe 4. Ainsi, l'évolution des quantités d'hydrocarbures (Figure III.3-I) et la distribution des hydrocarbures aliphatiques ont été suivies en fonction de la température de liquéfaction.

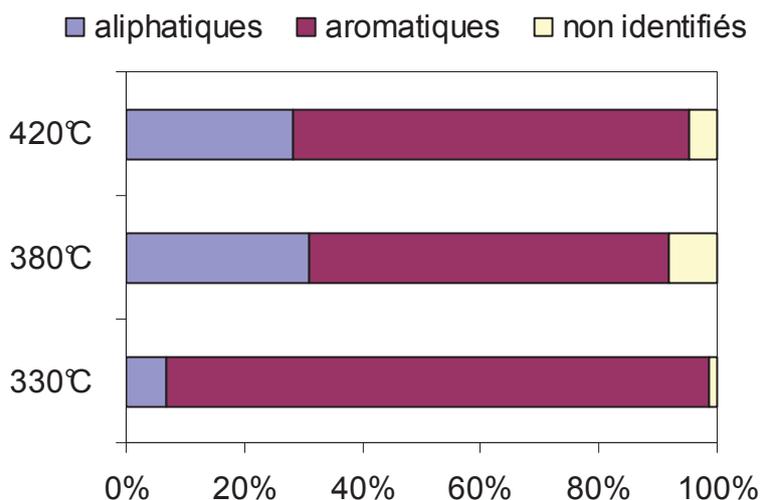


Figure III.3-I Influence de la température sur la composition de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane de B₈₅

Les quantités d'hydrocarbures varient avec la température de liquéfaction. Dans un premier temps, les aliphatiques augmentent passant de 4 à 35% au détriment des aromatiques qui diminuent avant d'atteindre un palier après 380°C. Il est à noter que l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane est constituée en majorité d'hydrocarbures aromatiques.

L'analyse GC/MS de l'huile soluble permet aussi de déterminer la distribution des aliphatiques et donc de suivre l'influence de la température de liquéfaction sur la sélectivité en hydrocarbures aliphatiques (Figure III.3-II). Les composés aromatiques seront, quant à eux, caractérisés dans le chapitre suivant (P147).

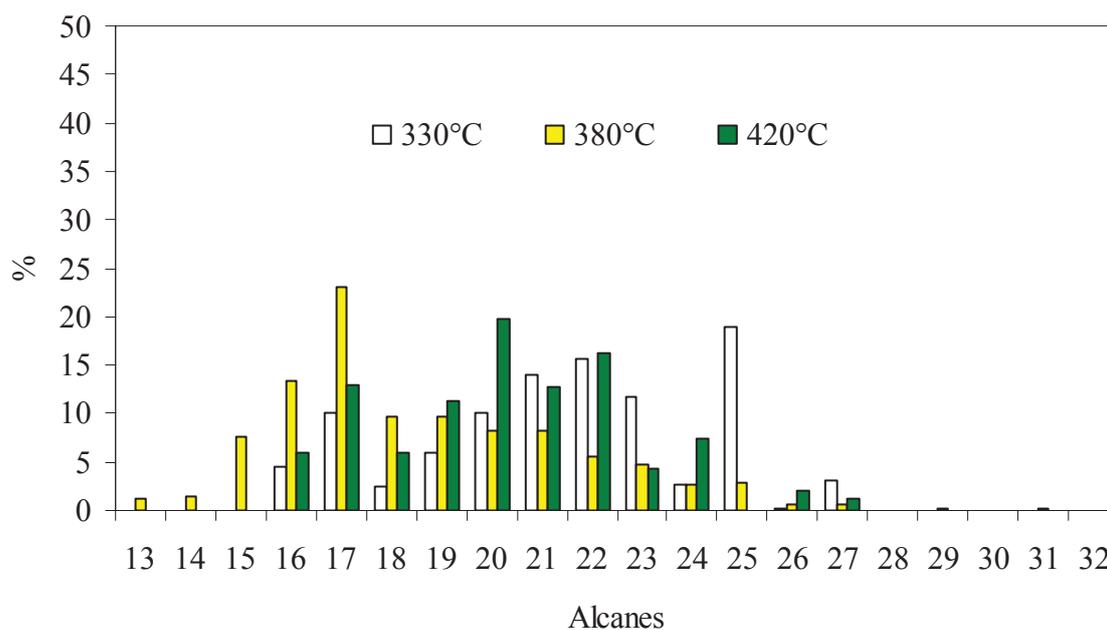


Figure III.3-II Influence de la température de liquéfaction sur la sélectivité des hydrocarbures aliphatiques au cours de la liquéfaction pendant 15 minutes de B₈₅ en présence de catalyseur (Ni de raney)

Les distributions en alcanes dépendent de la température de réaction. En effet, la température de liquéfaction permet d'obtenir une sélectivité différente en hydrocarbures aliphatiques avec des maxima en C₂₅ à 300°C, C₁₆ à 380°C et C₂₀ à 420°C. De plus, nous obtenons respectivement à 330°C des hydrocarbures allant de C₁₆ à C₂₇ ; à 380 de C₁₃ à C₃₁ et à 420°C de C₁₆ à C₂₇.

Conclusion

Le rendement d'huile de solvolysé soluble dans l'hexane passe par un optimum à 380°C. La qualité globale de l'huile augmente uniquement avec la température du fait de la diminution du taux d'oxygène. Cette désoxygénation peut être expliquée par l'augmentation du transfert d'hydrogène entre la tétraline (à 330°C tétraline/naphtalène = 0,05; à 395°C tétraline/naphtalène = 0,18) et l'huile de solvolysé. A 420°C, le pourcentage d'oxygène est similaire à celui d'un bio-pétrole et égal à environ 5 %. L'augmentation de la qualité de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane se traduit alors par l'augmentation du pouvoir

calorifique supérieur ($PCS_{330^{\circ}C} = 35 \text{ MJ/Kg}$; $PCS_{420^{\circ}C} = 40 \text{ MJ/Kg}$). La quantité d'huile de solvolysé soluble dans l'hexane est, par conséquent, un indicateur de la qualité de l'huile. Ainsi, plus la quantité d'huile soluble dans l'hexane est importante, plus l'huile de solvolysé est de bonne qualité. En effet, l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane à une composition élémentaire équivalente à celle d'un bio pétrole. Il est à noter que la composition en hydrocarbures (aromatiques et aliphatiques) de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane passe par un maximum à $380^{\circ}C$ avec un maximum en C_{16} aliphatique. La distribution obtenue à $380^{\circ}C$ présente une large gamme d'alcane (courts et longs) contrairement à la distribution obtenue à 330 et $440^{\circ}C$ qui présente des gammes d'alcane à longue chaîne. Cette distribution d'hydrocarbures obtenue peut être corrélée à la quantité de gaz importante obtenue à $420^{\circ}C$ et la quantité d'hydrocarbures aromatiques obtenue à $330^{\circ}C$.

Chapitre II :**Effet de la déstructuration sur la réaction de liquéfaction**

La liquéfaction de biomasse biodégradée à différents temps (0, 22, 36 et 85 jours) a été réalisée dans les conditions optimales de liquéfaction déterminées dans le chapitre précédent : durée 15 minutes, température de liquéfaction 380°C, catalyseur (Ni de Raney). Les produits de solvolysé obtenus sont gazeux, liquides et solides. Ils ont été respectivement séparés par fractionnement, analysés et quantifiés par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

I. Réaction de liquéfaction

La réaction de solvolysé de la biomasse initiale (0 jour) et de la biomasse déstructurée (22, 36 et 85 jours) a été réalisée à 380°C durant 15 minutes avec catalyseur (Ni de Raney). Le Tableau 21 nous montre les rendements liquéfaction en fonction de la déstructuration.

Tableau 21 Effet du temps de biodégradation sur la conversion de la réaction de liquéfaction

Jours	Conversion (%)
0	89
22	87,1
36	91,7
85	90

Le pourcentage des biomasses converties à 380°C varie très peu avec la durée de déstructuration.

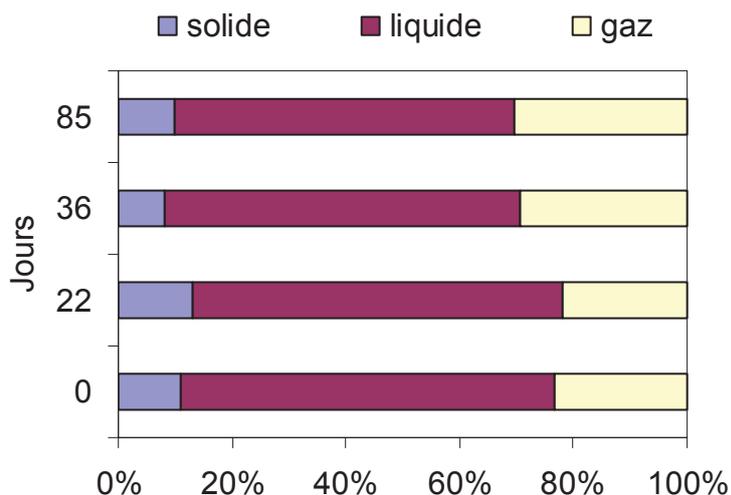


Figure I-I Influence de la déstructuration de la biomasse sur les quantités des produits de liquéfaction.

Du fait de la liquéfaction qui est quantitative, une faible proportion (<10%) de solide ou résidu réfractaire à la liquéfaction est récupérée. Les gaz formés lors de la liquéfaction des biomasses déstructurées ont été analysés et quantifiés. Ces co-produits gazeux sont essentiellement du monoxyde de carbone, de dioxyde de carbone et de méthane. Les quantités de gaz produits par liquéfaction de la biomasse à différents temps de déstructuration augmentent très légèrement (entre 23 et 30%). La déstructuration favorise la formation de produits de liquéfaction gazeux. Toutefois, le produit de réaction de transformation de la biomasse déstructurée majoritairement obtenu reste liquide.

II. Analyse des liquides

Le produit de réaction liquide représentant la fraction majoritairement obtenue a été concentré (huile de solvolysé) afin de s'affranchir du solvant de réaction. Pour mettre en évidence le rôle de la déstructuration de la biomasse sur la nature de l'huile de solvolysé, cette dernière a été alors caractérisée par analyse élémentaire Tableau 22.

Tableau 22 Analyse élémentaire et pouvoir calorifique supérieur de l'huile de solvolysé

Biomasse	%C	%H	%O	H/C	O/C	PCS (MJ/kg)
0	84,4	5,9	7	0,84	0,06	35,6
22	78,9	7,3	8,9	1,11	0,08	35,5
36	81,9	8,6	9,6	1,26	0,09	38,2
85	79,1	7,9	10	1,19	0,09	36,2

Les teneurs en carbone et en hydrogène augmentent dans un premier temps avant de se stabiliser. Cette évolution se traduit par une augmentation du rapport H/C passant de 0,84 à 1,26, la valeur atteint ensuite un palier se rapprochant ainsi du rapport H/C (1,5) de celui d'un bio pétrole (*Wang et al., 2008*). Quant au rapport O/C, il augmente très légèrement avec la déstructuration. Toutefois le taux d'oxygène reste légèrement supérieur à celui d'un bio pétrole (6-7%).

Les caractéristiques (analyse élémentaire, PCS) de l'huile de solvolysé obtenue par liquéfaction (380°C) de la biomasse initiale de l'essai 2 et biodégradée à 22, 36 et 85 jours sont données dans le Tableau 22. Le PCS de l'huile varie en fonction du temps de déstructuration de la même façon que le rapport H/C. En effet, le PCS augmente passant de 35 à 38 MJ/kg dans un premier temps avant d'atteindre un palier sensiblement proche du PCS d'un bio pétrole (40MJ/kg).

La fraction huile de solvolysé a été ensuite caractérisée par chromatographie sur couche mince (CCM) qui a montré la présence de composés trop polaires pour être analysés directement par GC/MS. Pour ce faire, l'huile de solvolysé a été solubilisée dans de l'hexane afin de précipiter les macromolécules polaires. Cette étape de fractionnement nous a permis d'accéder à deux fractions : les solubles et les insolubles dans l'hexane (Figure II-I).

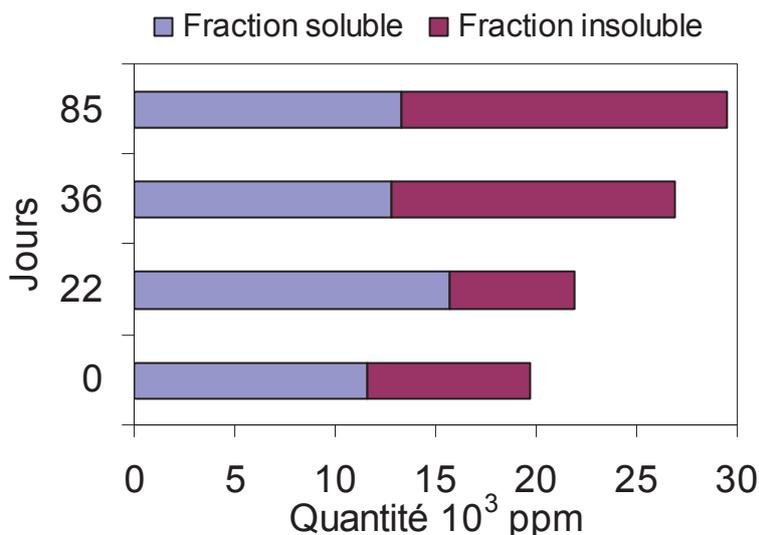


Figure II-I Evolution des fractions de l'huile de solvolysé en fonction de la durée de déstructuration

La quantité d'huile de solvolysé obtenue par liquéfaction de la biomasse augmente en fonction du temps de déstructuration. En effet, elle passe de $20 \cdot 10^3$ ppm à $30 \cdot 10^3$ ppm. De plus, la quantité d'huile de solvolysé insoluble augmente elle aussi avec la déstructuration tandis que les solubles dans l'hexane restent stables, tout en restant la fraction majoritaire de l'huile de solvolysé. Ils ont été caractérisés par analyse élémentaire et leur pouvoir calorifique a été déterminé (Tableau 23).

Tableau 23 Analyse élémentaire de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane en fonction de la durée de déstructuration de la biomasse

Biomass	%C	%H	%O	H/C	O/C	PCS (MJ/kg)
0	84,5	9,1	5,8	1,29	0,05	40,5
22	82,3	7,2	9	1,05	0,08	36,5
36	84,5	7,7	7,8	1,09	0,07	38,1
85	82,2	8,2	9,6	1,19	0,09	37,8

L'huile de solvolysé soluble dans l'hexane présente un PCS proche de celui d'un bio-pétrole. Le rapport O/C lui aussi est inférieur à 10%. Cependant, la valeur du rapport H/C reste à améliorer.

L'influence de la déstructuration sur la nature moléculaire (Figure II-III) de la fraction soluble a été étudiée par GC/MS. La Figure II-II montre la composition de la fraction soluble de l'huile de solvolysé en fonction du temps de déstructuration.

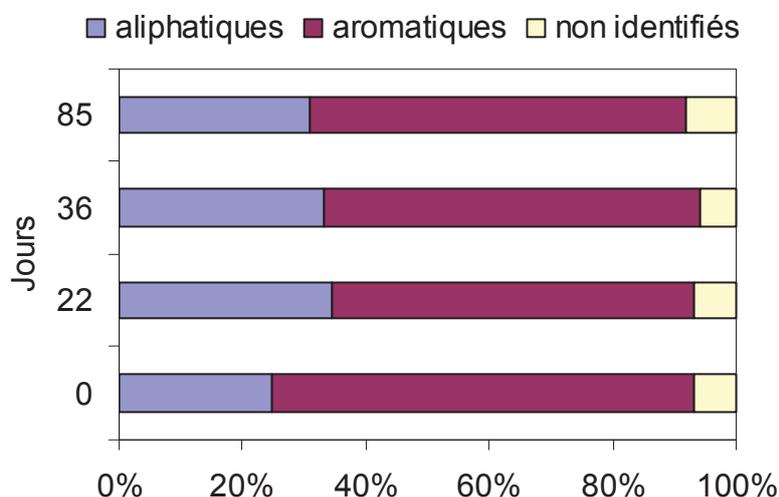


Figure II-II Influence de la déstructuration sur la composition des solubles dans l'hexane

La quantité d'hydrocarbures aliphatiques augmente, passe par un maximum à 22 jours de déstructuration avant de diminuer et d'atteindre un palier. En ce qui concerne la quantité d'aromatiques, elle diminue avant de devenir constante dès 22 jours de déstructuration. Les solubles sont, dans tous les cas, composés en majorité d'hydrocarbures aromatiques.

L'huile de solvolysé soluble dans l'hexane est essentiellement constituée d'hydrocarbures aromatiques (1 à 24, Figure II-III) et d'aliphatiques (cf. Annexe 4). La composition chimique des solubles déduite par GC/MS, dépend fortement de la durée de biodégradation. Au vu des courants ioniques totaux, nous pouvons distinguer deux types de solubles :

- le premier pour des temps de biodégradation inférieurs à 22 jours composé essentiellement d'aromatiques
- le second pour des temps de biodégradation supérieurs à 22 jours qui correspond à une augmentation des composés aliphatiques.

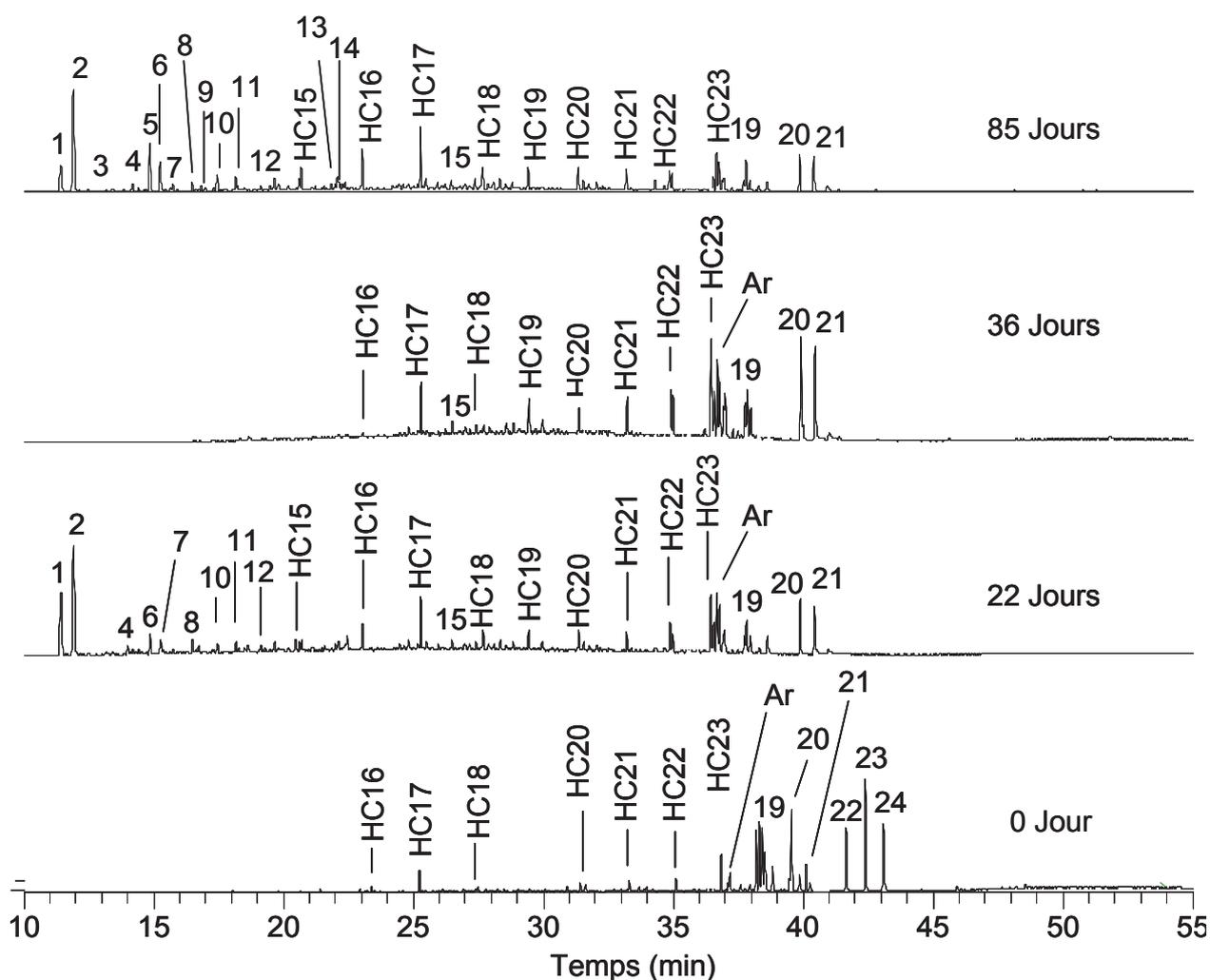


Figure II-III Influence de la déstructuration sur la nature des huiles de solvolysé solubles dans l'hexane.

L'analyse moléculaire montre aussi que les hydrocarbures aromatiques identifiés (Figure II-IV) ont des masses molaires variant de 254 à 258 g/mol. Il s'agit d'hydrocarbures polyaromatiques tels que le dihydrobenzopyrène (254), l'hexahydroperylène (258) et le binaphtalène (262).

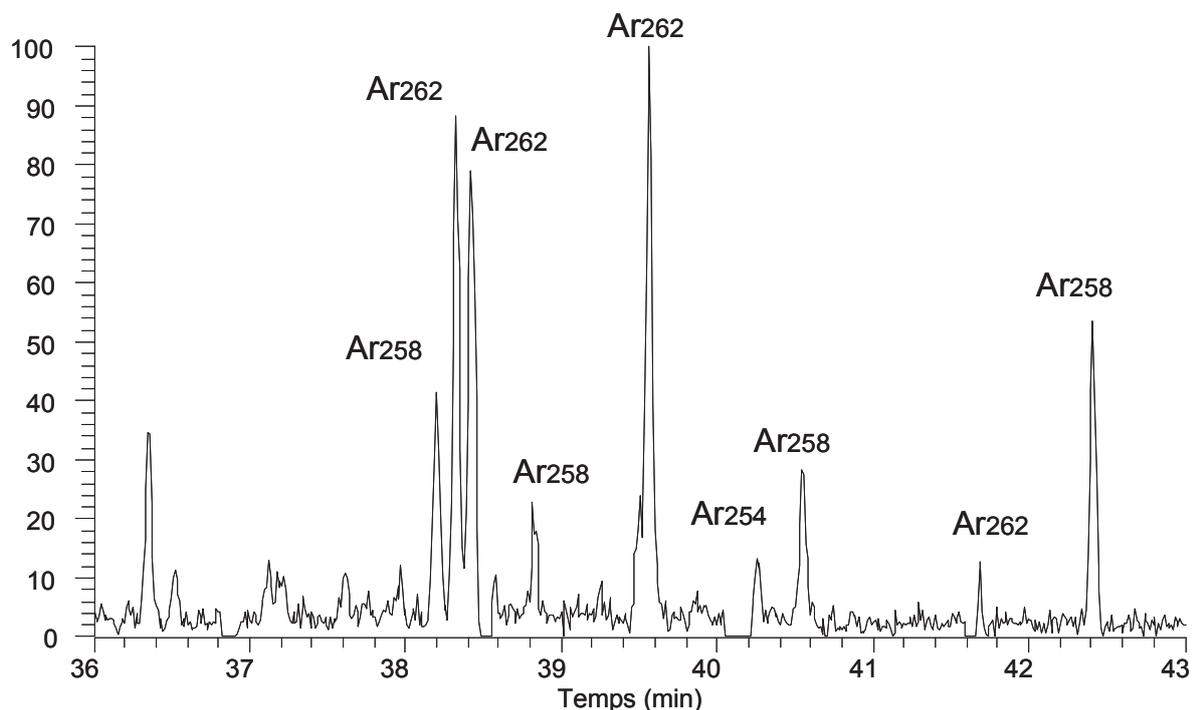


Figure II-IV Composés aromatiques (extraction d'ion $m/z = 77$) des fractions solubles de l'huile de solvolysé (B₈₅)

Les hydrocarbures aliphatiques (Figure II-IV) montrent la distribution des hydrocarbures linéaires (nC) et ramifiés. Les hydrocarbures isoprénoïques en C₁₇ et C₁₈ ainsi que les pristane et phytane sont observés. Le phytane et le pristane sont connus pour être issus du phytol qui provient lui-même de la chlorophylle. Dans les sédiments anciens, le rapport pristane / phytane permet de déterminer les conditions de sédimentation. En effet si ce rapport est supérieur à 1, la sédimentation a été effectuée en milieu oxydant (*Philp et al., 1985 ; Didyk et al., 1978*), au contraire, des conditions réductrices favorisent la formation du phytane.

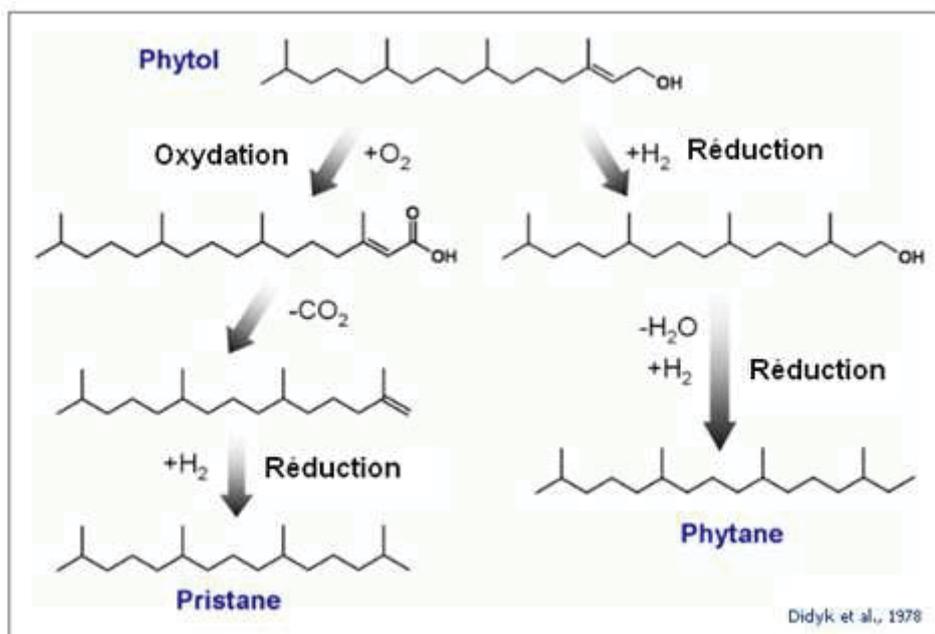


Figure II-V Mécanisme de formation du pristane et du phytane à partir du phytol (*Didyk et al., 1978*)

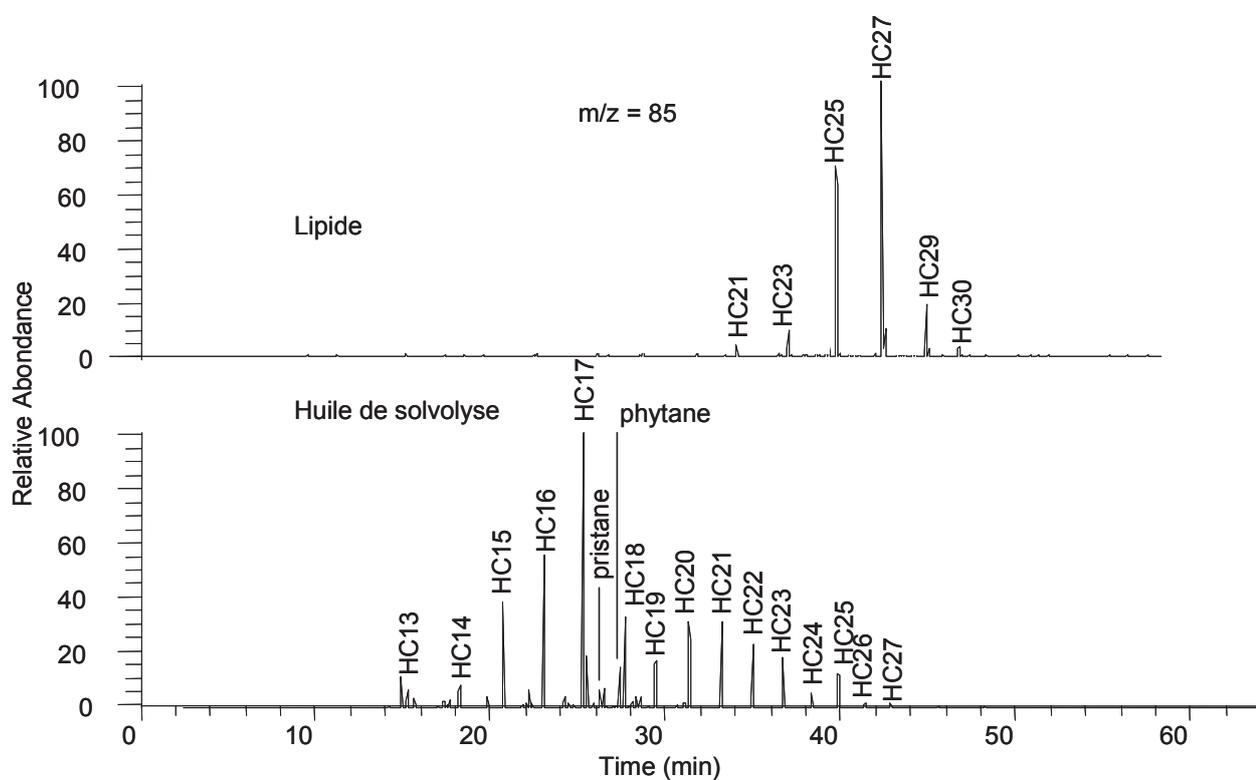


Figure II-VI Distribution des aliphatiques (extraction d'ion m/z = 85) des lipides et de l'huile de liquéfaction soluble dans l'hexane (B₈₅)

Dans notre cas, la matière organique subit une oxydation au cours du processus de déstructuration. En effet, il a été montré qu'au cours de la déstructuration, le phytol observé par Headspace, s'oxyde en la cétone isoprénoïde C₁₈ (P83). De plus, le phytol, le phytane et le pristane étant absents dans les lipides des échantillons déstructurés (Figure II-VI), leur détection dans l'huile de solvolysé pourraient s'expliquer par leur désorption du réseau macromoléculaire du fait des conditions critiques de liquéfaction. En outre, la distribution des hydrocarbures des lipides est différente de celle de l'huile obtenue avec le même échantillon. Ainsi, la transformation du phytol → pristane confirme bien les conditions oxydantes de déstructuration observées par Headspace (P83). Cette évolution phytol → pristane est confirmée par le rapport pristane/phytane qui augmente dans les huiles de solvolysé en fonction du temps de déstructuration (Figure II-VII).

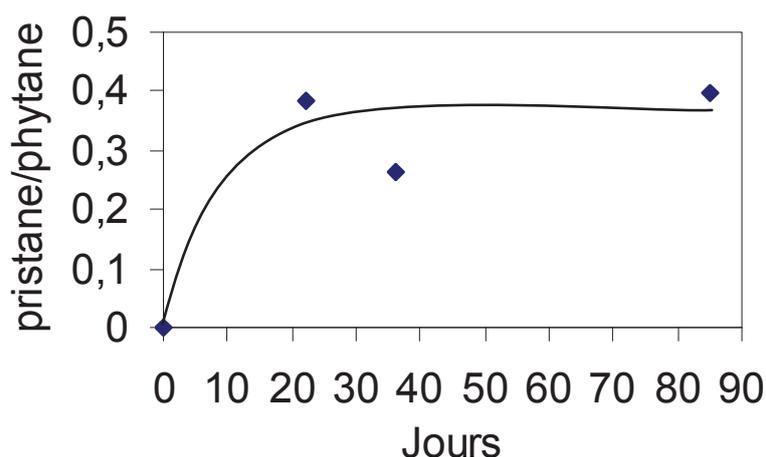


Figure II-VII Evolution du rapport pristane/phytane dans la bio huile de liquéfaction en fonction de la déstructuration

Le rapport pristane/phytane augmente très rapidement avant d'atteindre un palier après 22 jours de déstructuration. En effet, le phytane présent dans les huiles de liquéfaction à tous les temps de déstructuration diminue fortement avant d'atteindre un palier après 8 jours tandis que le pristane absent des huiles de solvolysé obtenues avec la biomasse initiale (à $t=0$ jours) augmente avec la liquéfaction d'échantillons déstructurés et atteint un palier après 22 jours.

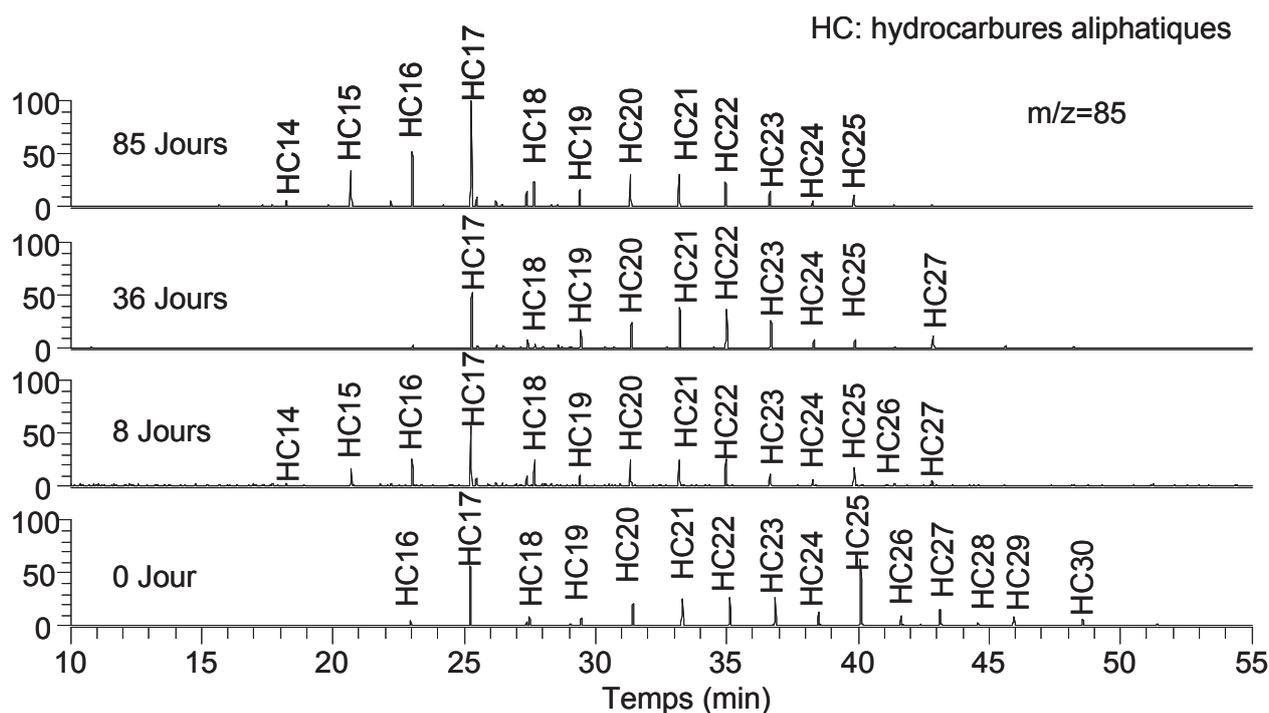


Figure II-VIII Fragmentogramme montrant l'influence de la déstructuration sur les hydrocarbures linéaires des solubles (extraction d'ions $m/z=85$)

Les hydrocarbures présents dans les lipides de la biomasse de départ (P95) présentent les mêmes distributions quel que soit le temps de déstructuration. Les solubles sont composés d'hydrocarbures aliphatiques allant du C_{14} au C_{31} . Au contraire, après liquéfaction une sélectivité est observée. En effet, les distributions d'hydrocarbures varient selon l'échantillon liquéfié, donc selon le temps de déstructuration.

Les Figure II-IX et Figure II-X détaillent les distributions des hydrocarbures aliphatiques obtenus au cours de la liquéfaction de la biomasse biodégradée à 0 jour (B_0) et à 85 jours (B_{85}).

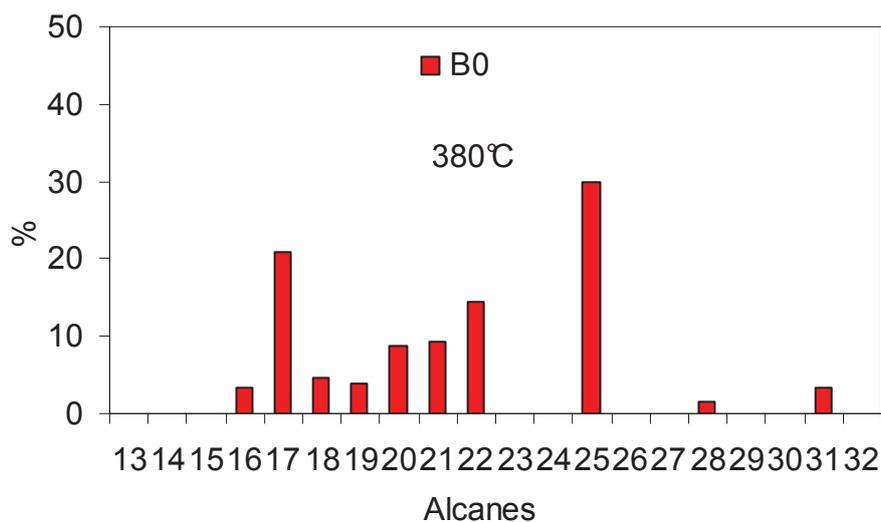


Figure II-IX Distribution des alcanes de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé de B₀ à 380°C

Les solubles sont composés d'hydrocarbures aliphatiques allant du C₁₆ au C₃₁ avec deux maximums en C₁₇ et C₂₅. Toutefois, nous n'observons pas d'alcanes en C₂₃, C₂₄, C₂₆, C₂₇, C₂₉ et C₃₀.

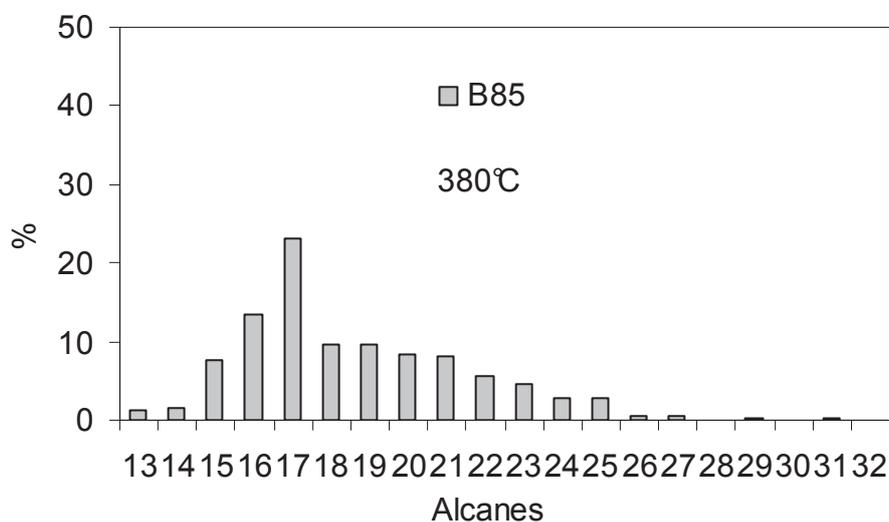


Figure II-X Distribution des alcanes aliphatiques de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé de B₈₅ à 380°C

L'huile de solvolysé soluble dans l'hexane est constituée d'hydrocarbures aliphatiques allant du C₁₃ au C₃₁ avec un maximum en C₁₇.

Les distributions des alcanes linéaires obtenus à 0, 22, 36 et 85 Jours sont différentes. Des coupes plus légères sont obtenues à partir de 36 jours de déstructuration. Cette sélectivité semble indiquer que la déstructuration de la biomasse conduit à la formation de produits de liquéfaction plus légers.

III. Caractérisation des produits secondaires de solvolysé

Les résidus représentant moins de 10% massique des produits de réaction ont été caractérisés afin de comprendre le mécanisme de liquéfaction et d'optimiser le processus. Nous avons caractérisé les produits secondaires (résidu de liquéfaction et fraction insoluble de l'huile soluble dans l'hexane) par analyse élémentaire et pyrolyse couplée à la GC/MS.

III.1. Pyrolyse du résidu

Le résidu de liquéfaction (fraction solide) de la biomasse déstructurée à 85 jours a été pyrolysé à 600°C. Le pyrogramme du résidu a été comparé à celui de la biomasse déstructurée pendant 85 jours (Figure III.1-I). Le but était d'identifier les molécules réfractaires à la liquéfaction. Les résidus de liquéfaction avec et sans catalyseur sont aussi comparés afin de comprendre l'influence de ce dernier sur la liquéfaction de la biomasse et sur d'éventuels composés réfractaires.

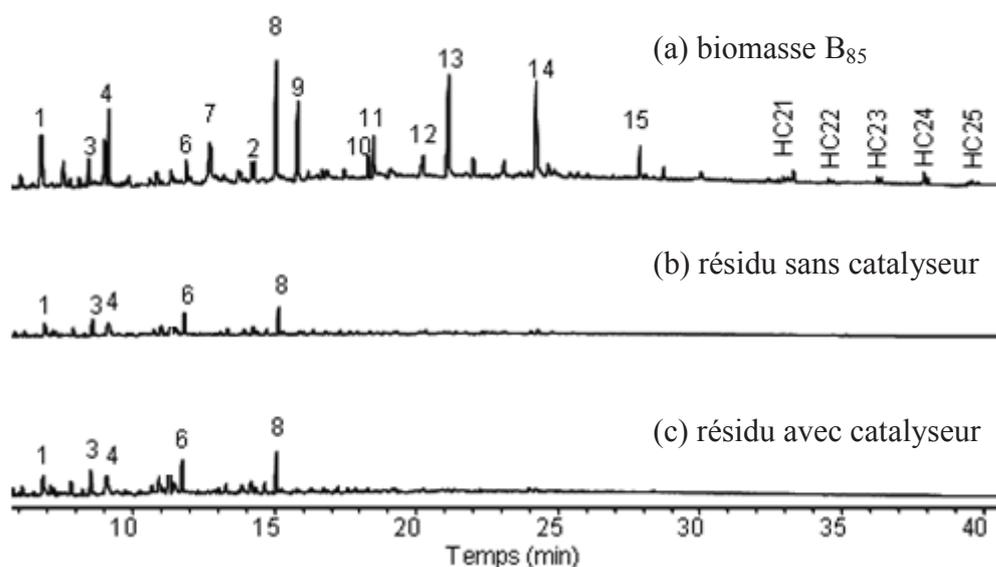


Figure III.1-I Pyrogrammes à 600°C de B₈₅ et du résidu de liquéfaction avec et sans catalyseur

Les produits de pyrolyse de la biomasse déstructurée sont des composés aromatiques (1 à 15, Figure III.1-I) issus de la lignine. Quelques hydrocarbures linéaires (HCn), probablement piégés dans le réseau macromoléculaire, sont également identifiés. L'analyse qualitative par pyrolyse des résidus de liquéfaction montre peu de molécules aromatiques (annexe 7) comparativement aux pyrolysats de la biomasse. De plus, aucun hydrocarbure n'est observé. La lignine semble donc plus réfractaire à la liquéfaction. La comparaison des pyrogrammes des résidus obtenus avec et sans catalyseur ne montre aucune différence. Le catalyseur n'a donc aucun effet sur la nature de la biomasse non liquéfiée et sur le résidu réfractaire à la liquéfaction.

III.2. Composition élémentaire du résidu

Le résidu de liquéfaction (fraction solide) à 380°C de la biomasse déstructurée a été caractérisé par analyse élémentaire (Tableau 24).

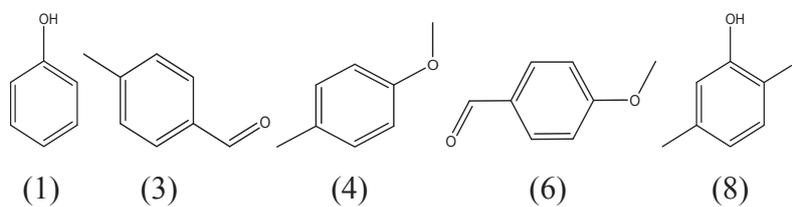
Tableau 24 Composition élémentaire des résidus après réaction à 380°C

Résidus	%C	%H	%O	H/C	O/C
0 jours	20,65	1,88	11,41	1,09	0,41
22 jours	11,49	1,38	12,88	1,44	0,84
36 jours	13,97	1,13	12,94	0,97	0,69
85 jours	23,93	1,54	9,4	0,77	0,29

Les rapports O/C du résidu de liquéfaction de la biomasse déstructurée pendant 22 jours et 36 jours sont supérieurs à celui de la biomasse initiale. Au contraire, à 85 jours de déstructuration, le résidu de liquéfaction présente un rapport O/C inférieur. Dans tous les cas, le résidu est plus oxygéné (O/C 0,3 à 0,9) que l'huile de solvolysé (O/C < 0,1). Quant au rapport H/C du résidu, il varie peu et reste proche de celui de l'huile de solvolysé.

Ces résultats corréleront bien avec les pyrogrammes des résidus qui montrent essentiellement des composés aromatiques oxygénés provenant de la lignine. Ainsi, la

déstructuration de la biomasse permet d'obtenir par liquéfaction une fraction liquide pauvre en oxygène et riche en carbone et un résidu riche en oxygène et pauvre en carbone.



Chapitre III :**Liquéfaction des différentes fractions humiques**

La biomasse utilisée pour la mise au point de la déstructuration est très riche en fractions humiques. L'« humine » est la fraction majoritaire (80%) après déstructuration. Pour ces raisons, il nous a paru nécessaire d'étudier la liquéfaction des différentes fractions humiques. Cette étude a pour but de connaître la fraction la plus intéressante afin d'orienter la déstructuration vers la formation de la dite fraction.

Les expériences de solvolysé/liquéfaction des fractions humiques de B₈₅ ont été réalisées dans les mêmes conditions que pour B₈₅, c'est-à-dire à 380°C pendant 15 minutes, avec une pression initiale en hydrogène de 16 bars en présence de Ni Raney.

I. Analyse des produits de liquéfaction**I.1. Etude quantitative**

Le taux de conversion par solvolysé à 380°C de la réaction de solvolysé/liquéfaction de la biomasse et ses substances humiques (humine « Hu », acide humique « AH » et acide fulvique « AF ») sont calculés par différence à partir de la masse du résidu obtenu en fin de liquéfaction. La Figure I.1-I représente l'évolution du taux de conversion de B₈₅ et des substances humiques correspondantes (Hu₈₅, AH₈₅ et AF₈₅) à 380°C.

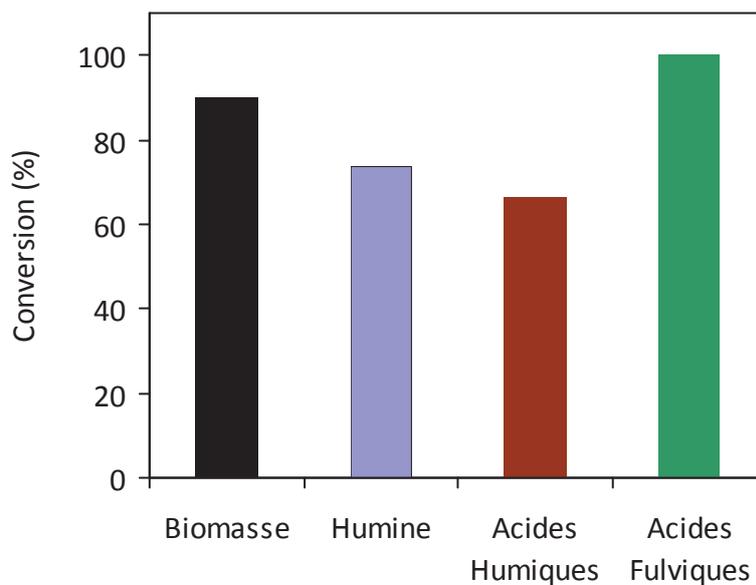


Figure I.1-I Taux de conversion de la biomasse (B_{85}) et des substances humiques par solvolysse à 380°C

Les différentes fractions humiques extraites de B_{85} montrent des réactivités différentes. En effet, les AF_{85} sont totalement convertis tandis que les AH_{85} et l'humine $_{85}$ présentent des taux de conversion respectifs de 74 et 67%. Les résultats montrent donc l'ordre de réactivité suivant : $AF > Hu > AH$. Ainsi, l'«humine» et les AH qui sont les fractions les plus réfractaires à la biodégradation s'avèrent aussi réfractaires à la liquéfaction.

L'analyse des produits de réaction obtenus par liquéfaction de la biomasse B_{85} et de ses fractions humiques (Figure I.1-II) montre la formation de produits liquides gazeux et, dans certains cas, de solides.

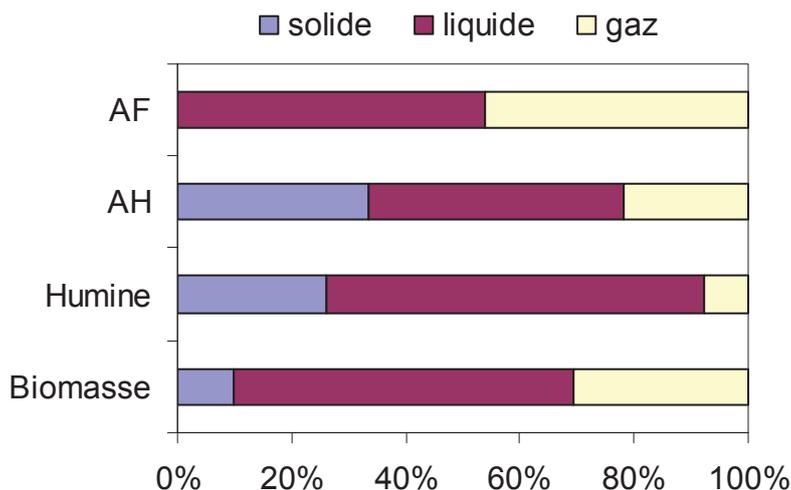


Figure I.1-II Influence des fractions liquéfiées sur la quantité de produits formés

L'analyse des gaz montre qu'ils sont composés de méthane, de monoxyde de carbone et de dioxyde de carbone. La quantification des gaz au cours de la liquéfaction des AH et AF est difficile du fait des faibles quantités produites. Cependant, nous remarquons que la liquéfaction des AF étant totale, aucun résidu n'est obtenu en fin de réaction. En ce qui concerne l'humine, le produit réaction majoritaire est liquide. De plus, le pourcentage de fraction liquide obtenue est plus important avec l'humine comparativement à la biomasse. Le pourcentage de résidu obtenu avec l'humine est supérieur à celui obtenu avec la biomasse.

Dans tous les cas, la fraction liquide étant la plus importante, elle a été quantifiée et séparée en fractions soluble et insoluble dans l'hexane (Figure I.1-III). La quantité d'huile de solvolysé obtenue avec chacune des fractions humiques est comparée à celle obtenue avec la biomasse B₈₅. En tenant compte de la proportion des substances humiques dans la biomasse B₈₅, (80% d'humine, 16% d'AH et 2% d'AF), le rendement global en huile recalculé à partir du rendement en huile des fraction humiques égal à 35,3% est proche du rendement en huile de solvolysé de B₈₅ qui est égal à 29,6%. Il est à noter que la quantité d'huile de solvolysé est maximum avec l'humine.

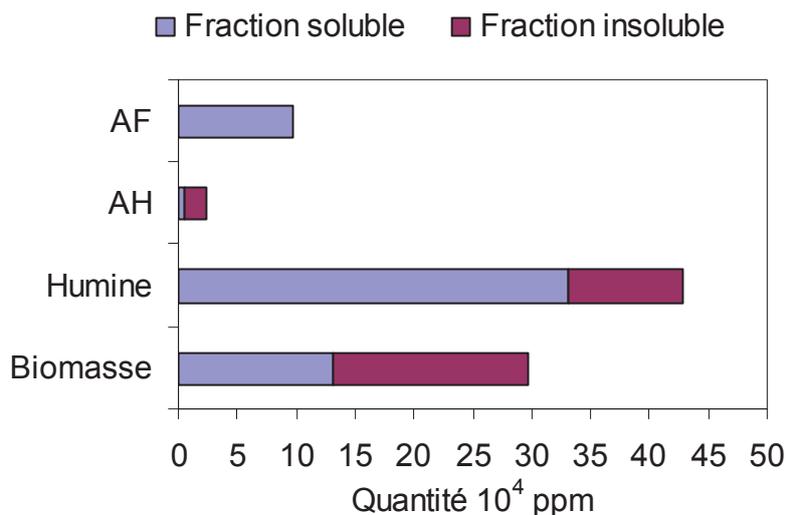


Figure I.1-III Evolution des quantités d'huile de solvolysé soluble et insoluble dans l'hexane à 380°C de B85 et de ses fractions humiques

De plus, l'huile de solvolysé de l'Hu₈₅ et des AF₈₅ est composée en majorité de fraction soluble. Ceci peut être corrélé avec les analyses élémentaires de ces fractions humiques. L'humine semble donc être la fraction à valoriser par liquéfaction si l'on considère la quantité de soluble et le rapport soluble/insoluble.

I.2. Etude qualitative

La composition élémentaire et le pouvoir calorifique de l'huile de solvolysé (Tableau 25) et de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé (Tableau 26) ont été déterminés au cours de la liquéfaction à 380°C.

L'huile de solvolysé de l'humine et des AF est très riche en carbone (>90%), contrairement à l'huile de solvolysé des AH qui sont moins riche en carbone (70%). De plus, le taux d'oxygène de l'huile de solvolysé des AH (17%) est supérieur à celui de l'humine (1,5%) et des AF (2,2%). Ceci se traduit par un rapport O/C, 20 fois supérieur dans les AH comparativement aux AF et à l'humine. De plus, le rapport H/C des AH (1,25) est proche de celui d'un bio pétrole (H/C=1,5) d'après Wang et al. (2008). Toutefois, l'huile de solvolysé des AH, riche en oxygène (rapport O/C=0,18) a un pouvoir calorifique de 31,8MJ/kg inférieur à celui recherché pour un bio pétrole (40MJ/kg). En outre, le rapport H/C de l'huile de

solvolysé issue du tritement de l'« humine » (1,01) ainsi que le pouvoir calorifique supérieur (PCS) de l'humine (41,1MJ/kg) sont proches des valeurs d'un bio pétrole (H/C=1,5 et PCS=40MJ/kg) d'après Wang et al. (2008).

Tableau 25 Composition élémentaire et pouvoir calorifique des huiles de solvolysé obtenus à partir des différentes fractions humiques et la biomasse B₈₅

	%C	%H	%O	H/C	O/C	PCS (MJ/Kg)
B ₈₅	79,22	7,91	10,03	1,20	0,09	36,2
Humine	90,41	7,62	1,52	1,01	0,01	41,1
AH	71,51	7,51	17,21	1,25	0,18	31,8
AF	90,62	7,21	2,21	0,95	0,01	40,5

Le pouvoir calorifique supérieur (PCS), plus élevé avec les solubles des acides fulviques et de l'humine, est supérieur à celui d'un bio pétrole (*Wang et al., 2008*). Il est à noter que le PCS des huiles de liquéfaction (~35-40 MJ/kg) est supérieur au PCS calculé de la biomasse initiale B₈₅ (17 MJ/kg).

La fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé de l'humine et des AF est très riche en carbone (>87%) contrairement à l'huile de solvolysé des AH qui est moins riche carbone (77% C). La quantité d'oxygène (12%) de l'huile de solvolysé des AH est supérieure à celle de l'humine (4,9%) et des AF (2,4%). Cette évolution se traduit par un rapport O/C supérieur dans les AH comparativement aux AF et à l'humine. Le taux d'oxygène de l'huile de solvolysé des AH (rapport O/C=0,12) lui confère un pouvoir calorifique de 35,8MJ/kg qui est inférieur à celui recherché pour un bio pétrole (40MJ/kg). Par contre, le rapport H/C des AH (1,30), le rapport H/C de l'humine (1,01) ainsi que le pouvoir calorifique supérieur (PCS) de l'humine (39,1MJ/kg) sont proches de celui d'un bio pétrole (H/C=1,5 et PCS=40MJ/kg) (*Wang et al., 2008*).

Tableau 26 Composition élémentaire et pouvoir calorifique des solubles dans l'hexane obtenus avec différentes fractions humiques et la biomasse B₈₅

	%C	%H	%O	H/C	O/C	PCS (MJ/Kg)
B ₈₅	82,2	8,18	9,57	1,20	0,09	37,8
Humine	87,5	7,29	4,89	1,01	0,04	39,1
AH	77,09	8,39	12,67	1,30	0,12	35,8
AF	90,69	6,89	2,36	0,91	0,02	40,1

La comparaison des compositions élémentaires de l'huile de solvolysé et de la fraction de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane montre que le fractionnement a permis d'améliorer la qualité et le pouvoir calorifique. L'humine semble être la fraction permettant d'obtenir une huile de solvolysé ayant les caractéristiques les proches d'un bio pétrole. Au vu des résultats ci-dessus, nous pouvons alors établir un ordre de qualité (composition et PCS) de huile suivant la nature du substrat liquéfié : Hu>AF>AH.

II. Composition de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane

Les solubles constituent la fraction la plus facilement valorisable. Une étude approfondie de la nature des molécules qui la composent a été réalisée. Ainsi grâce aux analyses GC/MS, nous pouvons alors suivre la composition de l'huile de solvolysé en hydrocarbures aromatiques et aliphatiques (Figure II-I).

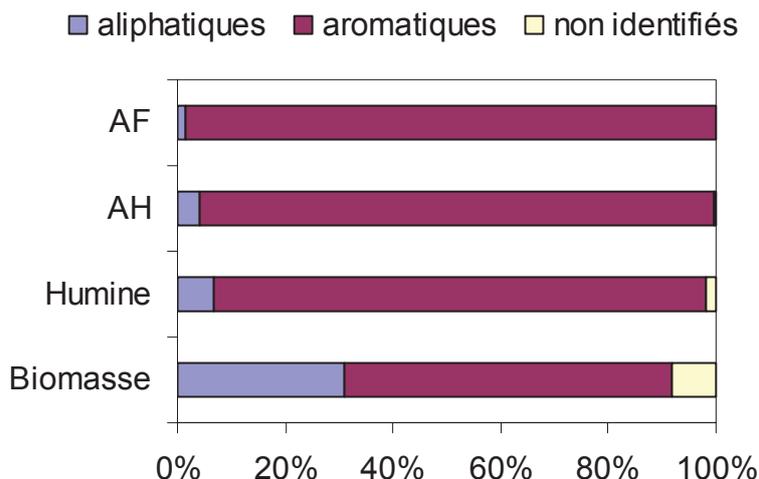


Figure II-I Composition en hydrocarbures de l'huile de solvolysé soluble dans l'hexane de B₈₅ et des fractions humiques

L'huile de solvolysé issue des fractions humiques à une composition moléculaire complètement différente de celle issue de la biomasse totale. La fraction aliphatique est donc très probablement issue des lipides de la biomasse. De plus, nous remarquons que la quantité d'hydrocarbures aromatiques est plus importante dans les solubles des fractions humiques. La liquéfaction de l'humine produit plus d'hydrocarbures aliphatiques (7%) comparativement aux autres fractions humiques constituées à plus de 96% d'aromatiques. Toutefois, la somme des pourcentages des aliphatiques des fractions humiques (20%) est inférieure aux aliphatiques obtenus avec la biomasse totale (32%) tandis que la quantité d'aliphatiques de B₈₅ (42000 ppm) est inférieure à la quantité de lipides (75000 ppm).

La Figure II-II montre la composition des fractions d'huile de solvolysé solubles dans l'hexane obtenue à partir des différentes fractions de biomasse B₈₅ (Hu, AH, AF).

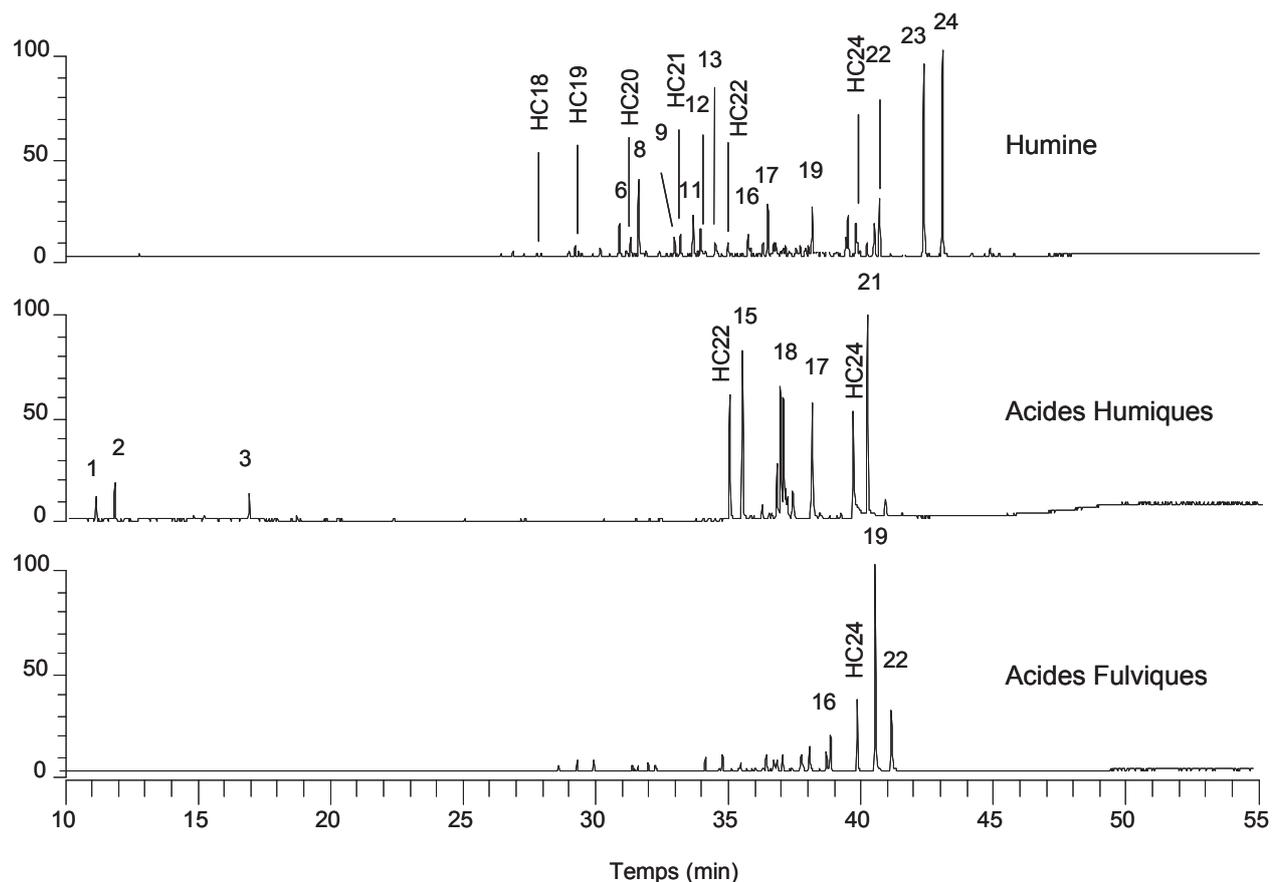


Figure II-II Composition moléculaire des fractions d'huile de solvolysé solubles dans l'hexane

La fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé est composée essentiellement d'hydrocarbures aliphatiques et aromatiques. Les aromatiques identifiés sont le dihydrobenzopyrène (254), l'hexahydropérylène (258) et le binaphtalène (262) et leurs isomères. Les aliphatiques des solubles de l'humine (Figure II III), sont essentiellement composés d'hydrocarbures linéaires (C17 à C31) et ramifiés (phytane, pristane). Il est à noter que le pristane n'est pas observé dans les solubles de l'humine.

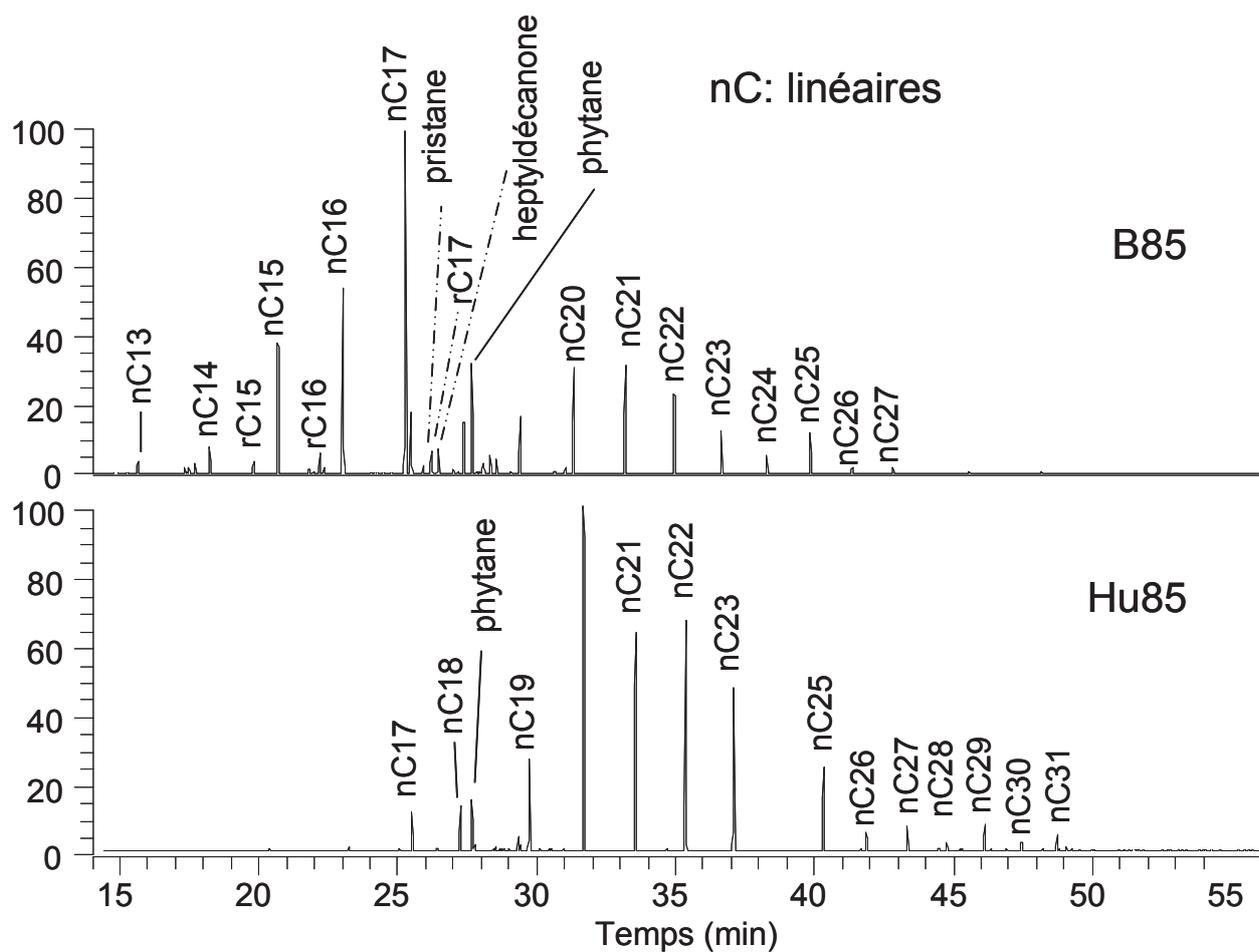


Figure II-III Extraction d'ion $m/z=85$ montrant la distribution des hydrocarbures aliphatiques de l'humine et de B_{85}

Le suivi de masse $m/z=85$ de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé obtenue avec l'humine (Hu_{85}) est comparée à celle obtenue à partir de la biomasse (B_{85}) sont très différents. Il permet de déduire les distributions des hydrocarbures linéaires de B_{85} et Hu_{85} (Figure II-IV).

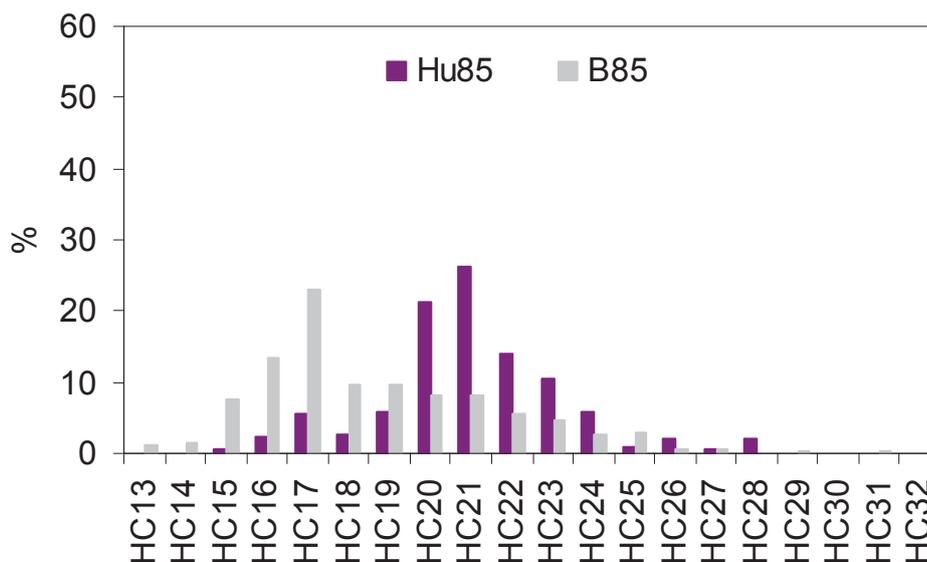


Figure II-IV Distribution des alcanes avec Hu₈₅ et B₈₅.

Les solubles de B₈₅ sont composés d’alcanes sans parité marquée allant de C₁₄ au C₃₁ avec un maximum en C₁₇ tandis que ceux de l’humine sont quant à eux formés d’hydrocarbures aliphatiques allant du C₁₇ au C₃₂ avec un maximum en C₂₀. Les alcanes produits par liquéfaction de la biomasse sont essentiellement issus de la fraction lipidique. Leur composition est plus courte que celle des alcanes obtenus par liquéfaction de l’humine.

SYNTHESE DES RESULTATS DE LIQUEFACTION DE LA BIOMASSE

La réaction de liquéfaction a été effectuée sur plusieurs échantillons de biomasse en faisant varier différents paramètres. Les produits de liquéfaction obtenus sont liquide gazeux et dans certains cas il reste un résidu solide réfractaire à la liquéfaction. Les produits gazeux sont essentiellement le méthane, le monoxyde de carbone et le dioxyde de carbone. Le produit de réaction liquide a été concentré par évaporation afin de s'affranchir du solvant de réaction, la tétraline. L'huile de solvolysé obtenue, très complexe, est dans un premier temps solubilisée dans l'hexane afin de séparer les fractions soluble et insoluble. La fraction soluble est caractérisée par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GC/MS). Les produits de liquéfaction secondaires (l'huile de solvolysé insoluble dans l'hexane et le résidu réfractaire) à la liquéfaction ont été caractérisés par analyse élémentaire et par pyrolyse à 600°C.

Les paramètres de liquéfaction (durée de liquéfaction, température de liquéfaction, rôle du catalyseur) ont été optimisés au cours de l'étude. Il a été montré que des temps de liquéfaction trop longs favorisent la formation de produits gazeux. La durée de liquéfaction a été fixée à 15 minutes. La température de liquéfaction a été fixée à 380°C étant donné qu'à partir de cette température, la réaction de solvolysé est quantitative (conversion > 90%). De plus, l'augmentation de la température est accompagnée d'une augmentation de la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé, suivie d'une stabilisation après 380°C. Il a été aussi montré que la nature de l'huile de solvolysé est influencée par l'ajout de catalyseur. En effet, l'ajout de catalyseur augmente la part de la fraction soluble dans l'hexane.

L'effet de la déstructuration sur la réaction de solvolysé a été suivi après optimisation des conditions de réaction. Une conversion quasi totale est obtenue au cours de la réaction de solvolysé et ce quel que soit le degré de déstructuration des biomasses. Le fractionnement dans l'hexane de l'huile de solvolysé montre une augmentation de la quantité de fraction soluble au cours de la biodégradation. L'huile de solvolysé soluble dans l'hexane, caractérisée par spectrométrie de masse, est essentiellement composée d'hydrocarbures aliphatiques et aromatiques. Les hydrocarbures polyaromatiques observés sont essentiellement le

dihydrobenzopyrène (254), l'hexahdropérylène (258), le binaphtalène (262) et leurs isomères. Parmi les aliphatiques, nous observons le phytane, le pristane et des hydrocarbures linéaires allant du C₁₃ au C₃₁. Il a été montré que la distribution des hydrocarbures aliphatiques dépend du temps de biodégradation. Des aliphatiques plus courts sont obtenus à des temps de déstructuration plus longs. De plus, le pristane n'est pas observé dans l'huile de solvolysé de la biomasse initiale tandis que le phytane présent en quantité très importante diminue fortement au cours de la déstructuration.

L'influence des différents paramètres de liquéfaction sur la composition élémentaire de l'huile de solvolysé a été suivie et comparée à la composition d'un bio pétrole (*Wang et al., 2008*) Pour ce faire, le rapport H/C et O/C a été déterminé pour toutes les huiles de liquéfaction et comparée aux rapports atomiques H/C et O/C du charbon, du bois et des déchets verts. Le diagramme ainsi obtenu est appelé diagramme de van Krevelen (Figure 0-I).

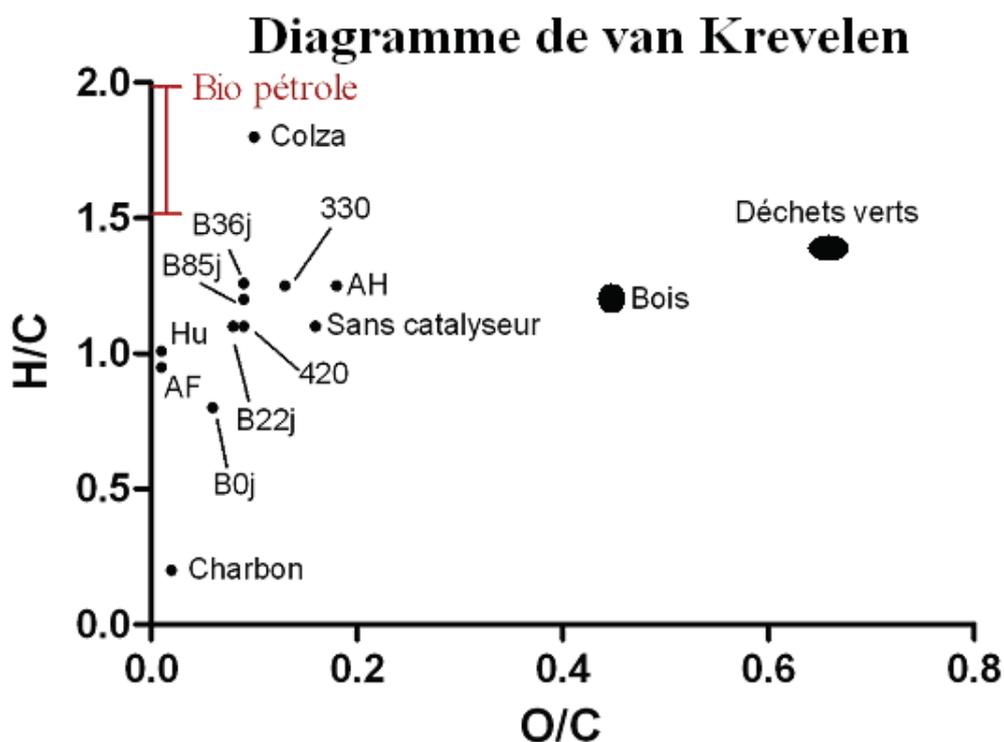


Figure 0-I Diagramme de Van Krevelen montrant la qualité de l'huile de solvolysé obtenue dans les conditions optimales de liquéfaction.

Le diagramme de Van Krevelen montre que les caractéristiques d'une huile telle que l'huile de colza sont un rapport H/C relativement élevé (caractère plus aliphatique que le charbon) associé à un rapport O/C très faible (<0,2), comparativement aux matériaux

lignocellulosiques. De plus, les caractéristiques de l'huile de colza se situent dans la gamme de celles recherchées pour un bio pétrole. Quelles que soient les paramètres de liquéfaction, l'huile de solvolysé présente un rapport H/C légèrement inférieur à celui de l'huile de colza et d'un bio pétrole. Cependant, le rapport O/C, très faible, est satisfaisant. Le rapport O/C de l'huile de solvolysé obtenue à 330°C est supérieur à celui de l'huile de colza. De plus, la déstructuration permet d'augmenter le rapport H/C des huiles de solvolysé tout en maintenant le rapport O/C inférieur à celui d'une huile de colza. Ainsi, l'huile de solvolysé présentant le caractère le plus proche de celui de l'huile de colza ou d'un bio pétrole est obtenue dès 36 jours de déstructuration. Afin de déterminer la fraction de la biomasse déstructurée la plus intéressante pour la liquéfaction, l'analyse de l'huile de solvolysé de l'humine, des acides humiques et des acides fulviques a été effectuée.

La comparaison des taux de conversion, des rendements et de la qualité des huiles de solvolysé a montré que les fractions réagissaient différemment les unes des autres à la liquéfaction. Les « acides humiques » sont très réfractaires à la liquéfaction (rendement en huile de solvolysé égal à 2,3%). Aussi, la fraction soluble dans l'hexane de l'huile de solvolysé de l'humine présente une sélectivité en hydrocarbures aliphatique différente de celle obtenue avec la biomasse B₈₅. De plus, les rapports H/C et O/C de l'huile de solvolysé de l'humine et des « acides fulviques » sont inférieurs à ceux de l'huile de solvolysé des biomasses. Quant aux « acides humiques », ils présentent un rapport H/C équivalent à celui des huiles de la biomasse avec cependant un rapport O/C très important (> à celui de l'huile de colza). Ainsi, l'huile de solvolysé de l'humine présente le caractère le plus proche de celui d'un bio pétrole.

L'influence de la liquéfaction sur la valeur du pouvoir calorifique supérieur (PCS) a été étudiée. Le PCS représente la quantité d'énergie en méga joules (MJ) que cède par combustion 1kg de matière. La valeur du PCS recherchée pour un bio pétrole est de 40MJ/kg. Nous avons remarqué que l'augmentation de la température de liquéfaction, la déstructuration et l'ajout de catalyseur permet d'augmenter le PCS de l'huile la faisant passer de 32 MJ/kg à 38MJ/kg. De plus l'analyse du PCS de l'huile des solvolysé des fractions humiques montre que l'huile qui a le plus fort pouvoir calorifique (41MJ/kg) est obtenue à partir de l'humine. Cette valeur du PCS supérieur à celle recherchée pour un bio pétrole corrèle bien avec les caractérisations élémentaires montrant ainsi que la fraction de la biomasse la plus intéressante pour la liquéfaction est l'« humine ».

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif de ce travail était multiple : il s'agissait dans un premier temps de comprendre et d'orienter la déstructuration d'un mélange hétérogène de biomasses lignocellulosiques en modifiant les paramètres de déstructuration. Dans ce but, des caractérisations physico-chimique, structurales et moléculaires de la biomasse initiale et à différents temps de déstructuration ont été effectuées. Le matériau obtenu par déstructuration a été liquéfié. Le rôle de la déstructuration sur la liquéfaction a été mis en évidence et a permis de déterminer l'ordre de réactivité des différentes fractions de la matière organique de la biomasse déstructurée (« humine » > « acides fulviques » > « acides humiques »).

La première partie de ce travail est de transformer la biomasse initiale en matière organique déstructurée, stable riche en carbone mais non « humifiée ». La déstructuration a été effectuée en conditions contrôlées (bioréacteur) ce qui permet de contrôler les conditions de transformation. Deux essais de déstructuration de la biomasse ont été réalisés. L'évolution des paramètres physico-chimiques (pH, température et analyse élémentaire) montre une complexification de la matière organique. Ces différentes modifications peuvent être corrélées avec les analyses thermiques et spectroscopiques. L'analyse globale de la matière organique par ATD-ATG et spectroscopie DRIFT montre des phénomènes d'oxydation et d'aromatisation de la MO traduisant un début d'humification. Les tests d'auto-échauffement et les courbes de minéralisation montrent une activité biologique importante dans les premiers jours de déstructuration et confirment la forte activité microbienne. Après 36 jours de biodégradation, une stabilisation de l'activité biologique est observée quel que soit le paramètre étudié. Cette stabilisation est probablement liée à une plus faible disponibilité en carbone biodégradable. Afin de pouvoir suivre cette évolution de la matière organique au niveau moléculaire, des analyses plus fines sont réalisées sur les échantillons prélevés au cours de la déstructuration.

L'analyse moléculaire de la biomasse lignocellulosique a été réalisée sur le mélange initial puis après déstructuration par des caractérisations globales (analyses élémentaires, DRIFTS,) et moléculaires (pyrolyse, Headspace, GC/MS). L'évolution et la complexification de la matière organique totale (oxydation, aromatisation) au cours de la biodégradation ont ainsi été mises en évidence. De plus nous remarquons aussi au cours de la déstructuration une

évolution de la composition lignocellulosique observée par fractionnement biochimique. Quant au fractionnement chimique, il traduit une « humification » et permet d'accéder aux fractions humiques de la biomasse au cours de la déstructuration.

Les lipides composés d'hydrocarbures, d' α - et ω -hydroxyacides, d'alcools, de diacides constituent la fraction la plus bio disponible et renferment des marqueurs de l'activité biologique. Au cours de la déstructuration, la quantité de lipides diminue fortement dès les premiers jours de déstructuration indiquant une activité biologique intense. Les caractérisations moléculaires, thermiques différentielles et gravimétriques des substances humiques montrent un caractère aromatique des « acides humiques », un caractère aliphatique des « acides fulviques » et une nature à la fois aromatique et aliphatique de l'humine. De plus, les aromatiques observés par pyrolyse des substances humiques sont des motifs ligneux provenant de la lignine.

La seconde partie de l'étude a été consacrée à l'hydroliquéfaction catalytique. La liquéfaction est réalisée dans un autoclave fermé en présence d'un solvant donneur d'hydrogène (tétraline), d'un catalyseur (1g de Ni Raney) et sous hydrogène (16 bar de pression initiale). Les produits de liquéfaction obtenus sont gazeux, liquides et solides. Les gaz sont le méthane, le monoxyde de carbone et le dioxyde de carbone. Dans un premier temps, les paramètres de liquéfaction (durée de liquéfaction, température de liquéfaction, rôle du catalyseur) ont été optimisés afin de favoriser l'obtention de produits de liquéfaction liquides. Il a été montré que des durées de liquéfaction longues favorisent la formation de produit de liquéfaction gazeux. La durée de liquéfaction a été optimisée et fixée à 15 minutes. Ensuite, la température de liquéfaction optimale a été fixée après optimisation pour le reste de l'étude à 380°C. En effet, la réaction de liquéfaction est quantitative à partir de cette température. Après élimination du solvant, l'huile de solvolysé a été caractérisée. Etant donné sa complexité, elle a été fractionnée dans l'hexane en soluble et insoluble. Les produits de liquéfaction secondaires (l'huile de solvolysé insoluble dans l'hexane et le résidu réfractaire à la liquéfaction) ont été caractérisés par pyrolyse à 600°C et par analyse élémentaire. L'huile de solvolysé soluble dans l'hexane, caractérisée par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie gazeuse, est essentiellement composée d'hydrocarbures aliphatiques et aromatiques. Les hydrocarbures aliphatiques sont essentiellement linéaires, toutefois nous observons la présence de quelques composés ramifiés (pristane, phytane). La distribution des alcanes dépend du temps de déstructuration. En effet, des temps de déstructuration longs

favorisent l'obtention d'hydrocarbures linéaires possédant de 13 à 16 atomes de carbone. Ainsi, la déstructuration de la biomasse lignocellulosique induit une sélectivité en hydrocarbures de l'huile de solvolysé. Dans un second temps, la comparaison des réactivités des différentes fractions humiques obtenues par le protocole IHSS de la biomasse déstructurée à 85 jours (B_{85}) a été réalisée à 380°C. L'étude de l'hydro-liquéfaction des différentes fractions humiques de B_{85} a, dans un premier temps, à montré que l'humine (qui représente 80% de la matière organique de la biomasse déstructurée à 85 jours) et les « acides fulviques » sont des fractions facilement liquéfiables puisque des rendements importants (qui peuvent aller à 100% pour les « acides fulviques » en huile de solvolysé sont obtenus avec une qualité correspondant à un bio pétrole ($PCS > 40MJ/Kg$ et % O proche de 2%). En revanche, les « acides humiques » sont très réfractaires à la liquéfaction (rendement en huile de solvolysé égal à 2,3%). De plus, l'humine présente une distribution différente en alcanes par rapport à la biomasse déstructurée.

La liquéfaction de l'« humine » permet d'accéder à des quantités absolues de produits de réaction liquides supérieures comparativement à celle obtenue avec la biomasse totale. Ainsi, il est possible d'envisager une méthode de biodégradation permettant d'orienter la déstructuration de la biomasse dans le but de favoriser l'humine comparativement aux autres fractions humiques. Aussi, une alternative pourrait consister à partir d'une biomasse algale naturellement riche en triacylglycérols, de la fragiliser par un processus de biodégradation et ensuite de la liquéfier. Dans ce cas de figure, ce serait l'algue entière qui pourrait être valorisée, contrairement à des procédés actuels qui impliquent l'extraction des lipides des algues. Il ne serait plus alors nécessaire d'hydrogéner l'huile de solvolysé obtenue. Cette alternative de production de biocarburant à partir d'algues biodégradées présente également un second intérêt car, pour leur croissance, les micro-algues utilisent la photosynthèse pour transformer le CO_2 en carbohydrates. Le biodiésel d'origine algale pourrait donc être un candidat sérieux dans la recherche de sources énergétiques renouvelables.

PARTIE EXPERIMENTALE

Précautions

L'étude de la matière organique (MO) nécessite une étape de fractionnement et d'analyse entraînant parfois la contamination des échantillons. Pour ce faire, de nombreuses précautions doivent être prises. Tout d'abord, l'utilisation de gants jetables permet d'éviter le transfert de composés organiques des mains à l'échantillon analysé. L'ensemble de la verrerie est lavée à l'aide d'un détergent (RBS50) qui, dilué dans l'eau chaude, permet d'éliminer toute trace de matière organique. Après rinçage à l'eau puis à l'eau distillée et séchage, la verrerie est recouverte de papier aluminium afin d'éviter le dépôt de trace de MO à l'intérieur ou sur les rebords. Les montages s'effectuent sans graisse au niveau des raccords, des joints en téflon sont préférés. Le transfert des solutions se fait à l'aide de pipettes Pasteur afin d'éviter les contacts entre les produits (solvants ou échantillons) et les objets en plastique (esters de l'acide phtalique). Les produits d'usage courant comme le coton, le sable, la silice, le sulfate de sodium et le carborundum sont lavés au Soxhlet par le dichlorométhane puis stockés dans des flacons en verre hermétiquement fermés. Les solvants utilisés pour les protocoles de fractionnement sont de qualité HPLC et sont bidistillés. Les échantillons et composés standards sont tous conservés au congélateur afin d'éviter qu'ils s'altèrent.

I. Mise au point de la biodégradation

Les paramètres suivis ou contrôlés tout au long de la biodégradation permettent d'assurer la décomposition de la biomasse lignocellulosique dans des conditions optimales.

I.1. La température

La température à l'intérieur du réacteur a été suivie par un thermocouple en platine placé à mi-hauteur à l'intérieur du réacteur de biodégradation. Toute baisse de la température de la pièce où se trouve le réacteur se traduit immédiatement par une baisse de la température au sein du réacteur. La température a été relevée chaque heure et stockée en mémoire pour

être ensuite déchargée sur un ordinateur. Les valeurs enregistrées sont ensuite traitées à l'aide d'un logiciel de calcul.

I.2. Le taux d'humidité

La quantité de matière sèche est déterminée par la mesure du taux d'humidité. La mesure est réalisée sur 50g de substrat à 105°C pendant 48 heures (AFNOR, 2000b). Il permet d'accéder au taux de matière sèche.

I.3. L'auto échauffement

Le test d'auto échauffement est réalisé dans un Dewar sur 50g de MO ayant un taux d'humidité ajusté à 50%. Un thermomètre placé au 2/3 du Dewar permet de relever la température toutes les 6 heures pendant 3 jours (charte de qualité ADEME Rhône-Alpes 2001). Ce test peut être corrélé au test de respirométrie (*Francou et al, 2008*). La température maximale atteinte au bout des trois jours notée Tmax est suivie pour chaque échantillon prélevé lors des différents retournements.

I.4. Le pH

Le pH a été mesuré dans une suspension de MO à l'aide d'une électrode en verre sur un extrait aqueux de MOT (1g/10 ml), comme décrite dans les standards AFNOR NF T90-008. Le mélange eau biomasse est préalablement agité pendant 3 heures, laissé au repos 1 heure avant la prise du pH.

I.5. Le taux de matière organique

Au cours de la biodégradation, le taux de matière organique (MO), accessible par analyse physico-chimique classique, décroît de manière importante avant d'atteindre un palier (*Bernal et al., 1998*). Il peut être aussi obtenu par ATD-ATG à 900°C. Il a été déterminé par

soustraction de la masse de cendres obtenue par calcination de la MOT à 550°C pendant 7 heures de la masse totale sèche (NF EN 13039) d'après la formule suivante :

$$\%MO=(m_{\text{sèche}}-m_{\text{cendres}})*100$$

I.6. La minéralisation

Les incubations sont réalisées à température constante (20°C) sur 10g d'échantillon préalablement séché à 105°C durant 24 heures. Les échantillons sont ensuite ramenés à 50% de teneur en eau par ajout de 2,5 ml d'eau distillée. La minéralisation s'effectue alors dans des bocaux hermétiquement fermés contenant le substrat, et un pot contenant 10 ml de solution de NaOH à 1M permettant de piéger le CO₂ ainsi formé. La soude en excès (n'ayant pas piégé du CO₂) est dosée en retour par la solution de HCl en présence de 3 ml de BaCl₂ à 20 % et 2 gouttes de thymolphtaléine. Les pièges de NaOH des blancs sont renouvelés régulièrement afin de servir de référence pour le dosage du CO₂

II. Echantillonnage

Les mélanges de départ, mais aussi des échantillons des biomasses déstructurées lors de chacun des retournements, sont prélevés pour analyse. Pour ce faire, le bioréacteur est vidé après 8 jours puis tous les 15 jours afin de mélanger, d'homogénéiser et d'aérer la biomasse. Après chaque retournement, un échantillon représentatif (500g) de biomasse est prélevé afin de réaliser les analyses physico chimiques et structurales. L'échantillonnage de tels matériaux est un processus délicat du fait de leur grande hétérogénéité. La méthode utilisée est celle décrite par Som *et al.*, 2009. L'échantillonnage est réalisé par quartage d'après la norme U44-101 après 8, 22, 36 et 85 jours. Les masses réelles restant dans le réacteur après chaque retournement ne sont pas connues du fait d'une grande variabilité de taux d'humidité. Toutefois, le taux d'humidité a été ajusté à 60% de façon continue tout au long de la biodégradation. A chaque prélèvement, une partie de l'échantillon est directement lyophilisée (lyophilisateur Christ, modèle Alpha 1-4.) finement broyée à l'aide d'un broyeur à couteau puis conservée à -20°C pour les tests de liquéfaction.

III. Mise au point de la liquéfaction

Les essais sur la liquéfaction des déchets verts ont été réalisés dans un autoclave cylindrique de 300 ml en acier « SS316L » (Figure III-I). Il est équipé d'un manomètre pour mesurer la pression du système et d'un thermocouple relié à un système de régulation de température et d'un agitateur à entraînement à pâles ; l'autoclave est chauffé par un four tubulaire amovible. Le réacteur est relié à un circuit qui permet d'une part son alimentation en gaz (azote ou hydrogène) et d'autre part l'évacuation des gaz formés au cours de la réaction. La liquéfaction est effectuée à différentes températures (330°C, 380°C et 420°C).



Figure III-I Montage réactionnel de liquéfaction

La liquéfaction a été effectuée à la fois sur la biomasse déstructurée et sur les fractions humiques. Les expériences ont été réalisées en autoclave, sous pression d'hydrogène (16 bar), en présence de tétraline (70g), avec 5 g de substrat dans le cas de la biomasse déstructurée et 2, 1 et 0,5 g dans le cas des substances humique respectivement humine (Hu), acides humiques (AH), acides fulviques (AF). La quantité de catalyseur (Ni Raney) est quant à elle de 1 g.

Tableau 27 Quantité de composés utilisée au cours de la liquéfaction

	Tétraline	Catalyseur	Biomasse	AF	AH	Hu
Quantité (g)	70	1	5	0,5	1	2

Le produit en fin de réaction est récupéré, puis filtré sous vide, le filtrat étant abondamment lavé au dichlorométhane. La partie insoluble dans le dichlorométhane représente la biomasse non convertie ou résidu. Le résidu quant à lui est séché à l'étuve durant 24 heures à 110°C. La fraction de biomasse convertie est ensuite déduite par différence et par conséquent le taux de conversion est égal à :

$$Conversion = \frac{m(MO) - m(MO)_{résidu}}{m(MO)} * 100$$

La fraction solide est caractérisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, par analyse élémentaire CHNS/O (Thermo Electron Corporation Flash EA 112 series) ainsi que par analyse thermique différentielle et thermogravimétrique (SDT Q600) et pyrolyse sans agent alkylant.

L'huile de solvolysé est concentrée au Kugelrohr, un évaporateur rotatif équipé d'un four afin d'éliminer toute trace de solvant et d'une pompe permettant d'obtenir un vide de l'ordre de 10^{-3} torr. Le rendement de l'huile de solvolysé est alors calculé à l'aide de la masse d'huile de solvolysé concentrée et est défini par le rapport :

$$Rendement = \frac{m_{Huile(concentrée)}}{m_{Biomasse(MO)}} * 100$$

Les produits de réaction liquide sont ensuite séparés par distillation en fonction de leur point d'ébullition. La complexité de l'huile de solvolysé concentrée par distillation impose un protocole de fractionnement. En effet, une chromatographie sur couche mince (CCM) de l'huile concentrée montre la présence de composés trop polaires pour être analysés directement par GC/MS. L'analyse de cette fraction nécessite donc un fractionnement

préalable. Ainsi, le protocole utilisé préalablement au laboratoire pour l'analyse des huiles extraites de roches sédimentaires (protocole des pétroliers : *Oudin, 1970 ; Arpino et al., 1972*) a été choisi pour fractionner l'huile de solvolysé concentrée. Ce protocole de séparation des produits de liquéfaction (huile de solvolysé) a été mis au point et optimisé. Il est adapté du mode opératoire utilisé par l'industrie française du pétrole. Pour ce faire, l'huile est solubilisée dans l'hexane ultra pur (99%) à raison de 5mg d'huile de solvolysé pour 1 ml d'hexane afin de précipiter les macromolécules ou asphaltènes (*Desbène et al., 1990 ; González-Vila et al., 1995*). L'extraction des produits de liquéfaction solubles se fait alors dans un bain à ultra-sons pendant 15 minutes. Les maltènes sont ainsi solubilisés dans l'hexane contrairement aux asphaltènes qui précipitent. La fraction soluble est ensuite filtrée sur silice afin d'éliminer les composés polaires et analysée en chromatographie liquide couplé à un GC/MS. Les insolubles eux sont analysés par pyrolyse multishot, par analyse élémentaire et infrarouge. Nous obtenons alors en fin de liquéfaction plusieurs produits.

III. Fractionnement chimique : extraction des « substances humiques »

La méthode généralement utilisée pour fractionner la MO des sols (Annexe2) et des composts est adaptée de celle recommandée par la Société Internationale des "Substances Humiques" (IHSS) (*Calderoni & Schnitzer, 1984*). Les lipides sont extraits avec un extracteur automatique sous pression (Dionex ASE 100) par un mélange dichlorométhane/méthanol (2/1 v/v). Après extraction des lipides, l'échantillon est traité par une solution d'acide chlorhydrique 1 M. Une partie des acides fulviques est extraite au cours de cette étape. Le résidu subit ensuite un traitement basique à l'aide d'une solution de soude 0,1 M sous atmosphère inerte. Trois extractions alcalines successives sont effectuées sur chaque substrat, afin d'obtenir un extrait limpide. Avant utilisation, les solutions de soude sont dégazées pendant quelques minutes par barbotage d'azote. L'extrait alcalin contenant les « acides fulviques » et « humiques » est acidifié à pH 1 avec une solution d'acide chlorhydrique HCl 1M. Les « acides humiques » précipités sont séparés des « acides fulviques » par centrifugation. Le résidu « d'humine » est lavé à l'eau désionisée. Les « acides fulviques » sont réunis avec le premier extrait acide puis concentrés par évaporation et séchés par lyophilisation. Ce fractionnement permet notamment d'accéder au rapport acides humiques /acides fulviques.

III.1. Etude des lipides : fractionnement par chromatographie d'affinité

L'extrait lipidique brut est séparé en fractions neutres, acides et polaires selon la méthode de McCarthy et Duthie (1962).

Pour 1 g de lipides, 7,5 g de potasse sont dissous, à chaud, dans 120 ml d'isopropanol (Merck). Après refroidissement, cette solution est mélangée avec 50 g de silice (SDS, 60 ACC 70-200 μ m) en agitant. Le gel ainsi préparé est introduit dans une colonne à chromatographie en verre munie d'un robinet en Téflon. La solution est écoulee et le gel lavé par 100 ml d'éther diéthylique. Les lipides sont solubilisés dans un minimum d'éther diéthylique et déposé sur la colonne. L'élution se fait avec 125 ml d'éther diéthylique, puis 125 ml de chloroforme. La potasse est ensuite neutralisée par élution de 125 ml d'une solution d'acide formique (Aldrich) dans l'éther diéthylique (8% v/v). Les composés acides sont alors élués par 125 ml éther diéthylique puis 125 ml de chloroforme. Enfin les composés polaires sont élués par 125 ml d'un mélange de méthanol dans le chloroforme (10% v/v) et par 125 ml de méthanol. Les composés restant éventuellement adsorbés sur la silice sont extraits au Soxhlet par un mélange chloroforme/méthanol (50/50 v/v). Après un test en CCM les différentes fractions sont rassemblées en neutre, acide et polaire.

III.2. Fonctionnalisation des lipides

III.2.1. Méthylation par le complexe BF₃-Méthanol

Le trifluorure de bore est commercialisé en solution sous forme de complexe dans le méthanol (50%) (Aldrich). La solution est conservée sous azote au réfrigérateur. Une masse connue de lipides est solubilisée dans du méthanol et le complexe BF₃-méthanol est ajouté à raison de 1 ml pour 100 mg de produit. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 15min à 70°C sous atmosphère inerte dans un tube en vis. Le mélange est hydrolysé avec de l'eau distillée. Les acides méthylés sont extraits par le dichlorométhane, puis sont lavés à l'eau et neutralisés à l'aide d'une solution d'hydrogénocarbonate de sodium saturée. La solution est séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé. Les lipides méthylés sont séchés et pesés.

III.2.2. Acétylation des alcools

Les lipides sont solubilisés dans l'anhydride acétique en excès. Une quantité catalytique de pyridine est ajoutée (3 à 4 gouttes). La réaction est amorcée en chauffant pendant 15min environ, à 70°C. Après 1 nuit à température ambiante et sous agitation, le mélange est hydrolysé et laissé sous agitation pendant 2 heures. Les alcools acétylés sont extraits au dichlorométhane, et l'acide acétique neutralisé par lavage de la phase organique avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium et à l'eau. La solution est séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé.

IV. Les différentes chromatographies

IV.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les analyses sont faites sur des plaques commerciales d'aluminium (Merck Kieselgel 60F254), l'épaisseur de la couche de silice est de 0,2 mm. L'élution se fait grâce à un mélange d'acétate d'éthyle dans l'éther de pétrole (8%, v/v). La révélation se fait en trempant la plaque dans une solution d'acide phosphomolybdique dans l'éthanol (5 g/100 ml) puis en chauffant au décapeur thermique. Les rapports frontaux des différentes fractions, comparés avec des composés de référence, permettent de connaître les familles de molécules présentes.

IV.2. Chromatographie gazeuse (GC)

Les analyses ont été réalisées sur un chromatographe Hewlett-Packard 6890 muni d'un injecteur split/splitless et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). La colonne capillaire utilisée, SGE BPX 30m x 0,25mm comprend une phase stationnaire d'épaisseur 0,25 µm de type 5% phényl-, 95% méthylpolysiloxane. Le gaz vecteur est l'hélium, les débits sont les suivants :

- Gaz vecteur : 1 mL.min⁻¹
- Makeup (He) : 25 mL.min⁻¹
- Air : 400 mL.min⁻¹
- Hydrogène : 30mL.min⁻¹

Les conditions utilisées sont les suivantes :

- température injecteur : 250°C
- température détecteur : 300°C
- programmation de la colonne : température initiale 60°C, puis montée en température de 5°C/min jusqu'à 300°C, palier à 300°C pendant 15 min
- injection avec division (50/1)

IV.3. Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)

L'appareil utilisé est un spectromètre Thermo Fisher DSQ II couplé à un chromatographe en phase gazeuse Focus. Les conditions de chromatographie sont les mêmes que celles décrites précédemment. L'ionisation se fait par impact électronique et la séparation des ions dans un filtre quadripolaire. Les conditions de spectrométrie sont les suivantes :

- température de l'injecteur : 200°C,
- température de la source : 200°C,
- énergie d'ionisation : 70eV,
- température de la ligne de transfert : 280°C.

Les composés sont identifiés à l'aide du logiciel Xcalibur par comparaison de leur spectre de masse avec celle de la base de données intégrée NIST Mass Spectral data base.

V. Les analyses thermiques

V.1. Les analyses thermiques différentielles et gravimétriques

Les courbes thermogravimétriques et thermodifférentielles sont réalisées sur un appareil TA instrument SDT Q600. Les analyses sont effectuées dans des creusets en platine sous air (combustion) ou sous argon (pyrolyse). Le programme utilisé est le même dans les deux cas : une montée de 25 à 900 °C à raison de 5°C/min suivi d'une isotherme de 5 min à 900°C. Le débit des gaz est de 100 cm³.min⁻¹.

V.2. Les différentes pyrolyses

Le dispositif expérimental utilisé au cours de l'analyse de fractions organique complexes est présenté sur la Figure III-II. Il permet de traiter des quantités beaucoup plus faibles que la pyrolyse préparative (quelques mg). Il s'agit d'un Pyroprobe AS 5250 CDS Analytical de Quad Service muni d'un passeur automatique d'échantillons. Au cours de l'analyse, l'échantillon est introduit dans un tube en quartz de 3 mm et inséré sur la tourelle ou passeur d'échantillon piloté automatiquement par le logiciel Pyroprobe 5000 CDS. Il est à noter que le pyrolyseur est relié à un GC/MS pour l'analyse des composés formés.

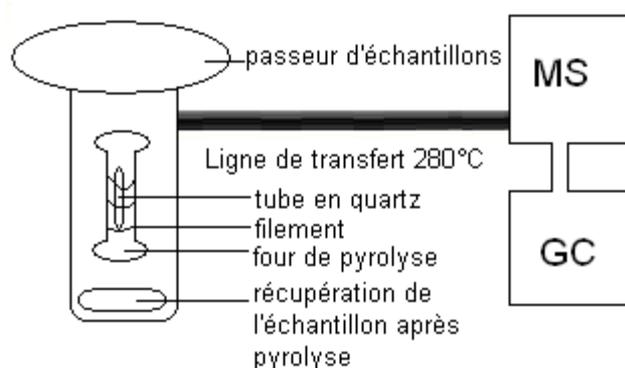


Figure III-II Dispositif expérimental de pyrolyse analytique AS 5250

V.2.1. La pyrolyse double-shot

La pyrolyse double-shot permet d'effectuer deux pyrolyses successives de l'échantillon à différentes températures. Ainsi, nous obtenons non seulement des informations sur la nature des composés adsorbés dans l'échantillon à basses températures, mais aussi elle permet d'obtenir des informations sur la nature des composés liés de façon covalente par des liaisons intramoléculaires au sein de l'échantillon à analyser. L'échantillon est placé dans un tube en quartz de 38 mm de longueur et de 2 mm de diamètre. Ce tube est alors placé dans un passeur d'échantillon; celui-ci étant disposé au-dessus de la chambre de pyrolyse. L'échantillon tombe ensuite par gravité dans la chambre de pyrolyse (four) où il est pyrolysé successivement à 200 et 600°C pendant 10 secondes avec une montée en température de 5°C/ms. Les pyrolysats sont ensuite entraînés par un courant d'Hélium via la ligne de

transfert chauffée à 280°C pour être analysés en GC/MS. Les conditions de py-GC/MS sont identiques à celle utilisées en GC/MS et les pyrolyses sont effectuées à l'aide d'un pyrolyseur CDS-Pyroprobe 5250 Autosampler.

V.2.2. La thermochimiolyse

Les conditions de pyrolyse et d'analyse GC/MS sont les mêmes que précédemment à l'exception de la température de pyrolyse qui est fixée à 600°C.

Avant introduction dans le passeur (12 heures), 10mg d'échantillon est mélangé à 75µl de TMAH (hydroxyde de tétraméthylammonium) en solution dans le méthanol (50/50). Le mélange est placé au bain-marie pour évaporer les solvants.

V.3. La thermodésorption

Une masse connue d'échantillon (40mg) est placée dans un flacon hermétiquement fermé. Ce dernier est placé dans un incubateur, chauffé à 150°C et agité à 500 rpm pendant 15 minutes. Les composés organiques volatils (COV) sont ensuite prélevés (10mL) par une seringue à gaz chauffé à 150°C et automatiquement injectés en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Les conditions chromatographiques sont identiques à celles décrites précédemment. Les composés sont identifiés à l'aide du logiciel Xcalibur par comparaison de leur spectre de masse avec celle de la base de données intégrée NIST Mass Spectral data base.

V.4. Les analyses élémentaires

L'analyse élémentaire est une technique physico chimique permettant de déterminer la nature des éléments présents dans un échantillon et éventuellement de les quantifier. Tous les échantillons analysés ont été préalablement lyophilisés, séchés à 105°C pendant 24 heures et broyés très finement ($\varnothing < 500\mu\text{m}$) afin de d'avoir des résultats reproductibles.

La teneur en carbone, hydrogène, azote et oxygène de la matière organique a été déterminée à l'aide d'un appareil FLASH EA 1112 (ThermoFisher Scientific) par combustion-éclair avec apport ponctuel d'oxygène à haute température (970°C : CHN/S) ou pyrolyse à haute température (1000°C : O) sous courant d'hélium. L'analyseur est piloté par

l'intermédiaire du logiciel EAGER 300, les conditions opérationnelles ainsi que les résultats sont traités à l'aide de ce même logiciel. Une courbe de calibration est établie avant chaque série d'analyses du même type avec deux standards par exemple :

- Pour le CHN/S, l'acide aspartique et le nicotinamide
- Pour l'O, l'acide aspartique et l'acide benzoïque

Les échantillons à analyser sont introduits soit dans des nacelles en étain (Sn) pour le CHN/S soit dans des nacelles en argent (Ag) pour l'oxygène. Après fermeture hermétique de ces dernières (forme de boule la plus compacte et petite possible), leurs pesées s'effectuent avec une balance de précision Mettler Toledo MX5 (M max= 5,1g, d = 1 µg). Les prises d'essai varient en fonction de la teneur en carbone supposée de ces échantillon : soit 1,5 mg à 2,5 mg pour le CHN/S soit 1 mg pour l'oxygène.

Les échantillons ainsi préparés sont introduits par l'intermédiaire d'un passeur MAS 200R dans un tube en quartz spécifiquement rempli et installé dans un des fours de l'analyseur élémentaire. En effet, l'analyseur est équipé de 2 fours dont les températures sont fixées selon le type d'analyse envisagée.

Le tube pour l'analyse CHN/S est rempli de bas en haut par du cuivre en fil d'une grande pureté puis par de l'oxyde cuivrique (CuO), des tampons de laine de quartz étant placés en bas et en haut entre les deux réactifs.

Le tube pour l'analyse en oxygène est rempli de bas en haut par des grains de quartz et du carbone recouvert de nickel. Un tampon de laine de quartz est positionné dans le bas du tube et deux tampons de laine de nickel sont placés de part et d'autre du carbone nickelé.

Pour le CHN/S, il s'agit d'une réaction d'oxydoréduction par combustion-éclair avec apport ponctuel d'oxygène au moment de l'introduction dans le tube. De plus, l'utilisation de la nacelle en étain fait que la température du four est momentanément augmentée de 800°C environ permettant par là même une combustion totale. Les gaz ainsi générés (N₂, CO₂ et H₂O), vont être séparés sur une colonne pré remplie en acier de longueur 2m maintenue à 70°C. La détection est faite par catharomètre (détecteur universel basé sur la conductibilité thermique d'un composé à l'état gazeux).

Pour l'oxygène, il s'agit d'une pyrolyse en l'absence d'oxygène. L'oxygène généré entre autre par ce type de dégradation est converti en totalité en CO (les traces de CO₂ éventuelles sont piégées par un filtre contenant de la soude sur silice) par le carbone nickelé

contenu dans le tube de réaction. Les gaz vont alors être séparés sur une colonne pré remplie de 1 m de long maintenue à 70°C. La détection est comme précédemment faite par un catharomètre (détecteur universel basé sur la conductibilité thermique d'un composé à l'état gazeux).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES

Adani, F., Scaglia, B. (2008). "An index for quantifying the aerobic reactivity of municipal solid wastes and derived waste products." *Science of The Total Environment* 394(1): 183-191.

Albrecht, P., Vandenbroucke, M., Mandengué, M., Oudin (1976). "Geochemical studies on the organic matter from the Douala Basin (Cameroon)--I. Evolution of the extractable organic matter and the formation of petroleum." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 40(7): 791-799.

Almendros, G., Sanz, J. (1992). "A structural study of alkyl polymers in soil after perborate degradation of humin." *Geoderma* 53(1-2): 79-95.

Almendros, G., Dorado, J., Sanz, J., Alvarez-Ramis, C., Fernández-Marrón, M. T., Archangelsky, S. (1999). "Compounds released by sequential chemolysis from cuticular remains of the Cretaceous Gymnosperm *Squamastrobis tigrensis* (Patagonia, the Argentine)." *Organic Geochemistry* 30(7): 623-634.

Alvarez-Puebla, R. A., Valenzuela-Calahorra, C., Garrido, J. (2006). "Theoretical study on fulvic acid structure, conformation and aggregation: A molecular modelling approach." *Science of the Total Environment* 358(1-3): 243-254.

Amblès, A., Parlanti, E., Jambu, P., Mayoungou, P., Jacquesy, J-C. (1994). "n-Alkane oxidation in soil. Formation of internal monoalkenes." *Geoderma* 64(1-2): 111-124.

Andreux, F., Munier-Lamy, C. (1994). Genèse et propriétés des molécules humiques. In: [Eds] Bonneau, M., Souchier, B. *Pédologie. Constituants et propriétés du sol*. Masson, Paris, pp. 105-142.

Antal, M. J., Leesomboon, T., Mok, William S., Richards Geoffrey N. (1991). "Mechanism of formation of 2-furaldehyde from -xylose." *Carbohydrate Research* 217: 71-85.

Arnaud, P. (1990). *Cours de chimie organique*, DUNOD,

Bach, P. D. K., Nakasaki, S. M., and Kubota, H. (1987). "Thermal balance in composting operations." *Ferment. Technol* 65(2): 199-209.

Baddi, G. A., Hafidi, M., Cegarra, J., Albuquerque, J. A., González, J., Gilard, V., Revel, J-C. (2004). "Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and ¹³C-NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw." *Bioresource Technology* 93(3): 285-290.

Baddi, G. A., Albuquerque, A. J., González, J., Cegarra, J., Hafidi, M. (2004). "Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes." *International Biodeterioration & Biodegradation* 54(1): 39-44.

Bajc, S., Amblès, A., Largeau, C., Derenne, S., Vitorovic, D. (2001). "Precursor biostructures in kerogen matrix revealed by oxidative degradation: oxidation of kerogen from Estonian kukersite." *Organic Geochemistry* 32(6): 773-784.

Baldock, J. A., Nelson, P. (2000). *Soil organic matter. Hand book of soil science.*, Malcolm E. Summer.

Ballerini, D. et al., 2006 : "Les biocarburants : Etats des lieux, perspectives et enjeux du développement", IFP Publications, Editions Technip.

Barriuso, E., Portal, J. M., Andreux, F. (1985). "A comparison of humic and fulvic acids extracted with sodium hydroxide at pH 10 and pH 12 from a representative umbric dystrochrept." *Organic Geochemistry* 8(1): 117-118.

Barros, N., Salgado, J., Feijóo, S. (2007). "Calorimetry and soil." *Thermochimica Acta* 458(1-2): 11-17.

Beck-Friis, B., Smårs, S., Jönsson, H., Kirchmann, H. (2001). "SE--Structures and Environment: An Advanced Experimental Composting Reactor for Systematic Simulation Studies." *Journal of Agricultural Engineering Research* 78(4): 415-422.

Beck-Friis, B., Smårs, S., Jönsson, H., Kirchmann, H. (2001). "SE--Structures and Environment: Gaseous Emissions of Carbon Dioxide, Ammonia and Nitrous Oxide from Organic Household Waste in a Compost Reactor under Different Temperature Regimes." *Journal of Agricultural Engineering Research* 78(4): 423-430.

Bernal, M.P., Paredes, C., Sanchez-Monedero, M.A., Cegarra, J. (1998b). "Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes." *Bioresource Technology* 63: 91-99.

Bernal, M.P., Sánchez-Monedero, M.A., Paredes, C., Roig, A. (1998). "Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 69(3): 175-189.

Bernal, M.P., Navarro, A. F., Sánchez-monedero, M.A., Roig, A., Cegarra, J. (1998). "Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil." *Soil Biology and Biochemistry* 30(3): 305-313.

Bernards, M. A., Susag, L.M., Bedgar, D.L., Anterola, A.M., Lewis, N.G. (2002). "Induced phenylpropanoid metabolism during suberization and lignification : a comparative analysis." *Journal of Plant Physiology* 157(6): 601-607.

Boocock, D. G. B., Mackay, D., Lee, P., Can, J (1982). "Wood liquefaction: Extended batch reactions using raney nickel catalyst." *Chem. Eng* 60: 802-808.

Boocock, D. G. B., Poretta, F. (1986). "Physical aspects of the liquefaction of poplar chips by rapid aqueous thermolysis." *J. Wood Chem. Technol.* (6): 127-144.

Brooks, P. W., Dorsselaer, A. Van, Ensminger, A., Spycykerelle, C., Dastillung, M., Sieskind, O., Arpino, P., Albrecht, P., Ourisson, G., Gaskell, S. J., Kimble, B. J., Philp, R. P., Maxwell, J. R., Eglinton, G. (1974). "Degraded and extended hopane derivatives (C27 to C35) as ubiquitous geochemical markers." *Tetrahedron Letters* 15(14): 1349-1352.

Budzikiewicz, H., Jackson, A. H., Kenner, G. W., Djerassi, Carl, Wilson, J. M. (1967). "Pyrroles and related compounds--X, : Mass spectrometry in structural and stereochemical

problems--XC Mass spectra of linear DI=, tri- and tetrapyrrolic compounds." *Tetrahedron* 23(2): 603-632.

Busnot, A., Busnot, F., Le Querler, J. F., Yazbeck, J. (1995). "Characterisation of humic substances extracted from different sediments of the Lower Normandy region." *Thermochimica Acta* 254: 319-330.

Calderoni, G., Schnitzer, Morris (1984). "Effects of age on the chemical structure of paleosol humic acids and fulvic acids." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48(10): 2045-2051.

Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A., Roig, A. (2006). "Evaluation of two different aeration systems for composting two-phase olive mill wastes." *Process Biochemistry* 41(3): 616-623.

Célérier, J., (2008). *Caractérisation moléculaire et dynamique de la matière organique de compost dans un sol*. Thèse de l'Université de Poitiers.

Challinor, J. M. (1989). "A pyrolysis-derivatisation-gas chromatography technique for the structural elucidation of some synthetic polymers." *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 16(4): 323-333.

Challinor, J. M. (2001). "Review: the development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions." *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 61(1-2): 3-34.

Challinor, J. M. (2001). "Thermally assisted hydrolysis and methylation (THM) reactions." *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 61(1-2): 1-2.

Chen, Y, Inbar Y.. (1993). "Chemical and spectroscopial analyses of organic matter transformations during composting in relation to compost maturity". In *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*, Harry A.J. Hoitink and Harold M.Keener ed. (The Ohio State University).551-600.

Chin, L.-Y. and Engel, A. J "Hydrocarbon Feedstocks from Algae Hydrogenation," *Biotech. and Bioeng. Symp.* #11, 171-186, 1981.

Colina-Tejada, A., Amblès, A., Jambu, P. (1996). "Nature and origin of soluble lipids shed into the soil by rainwater leaching a forest cover of *Pinus maritima*." *European Journal of Soil Science* 47(4): 637–643.

Cooperband, L., Vallad, Gary E., Goodman, Robert M. (2003). "Plant foliar disease suppression mediated by composted forms of paper mill residuals exhibits molecular features of induced resistance." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 63(2): 65-77.

Curann, G. P., Struck, R. T. , Gorin, E. (1967). "Hydrogen transfer properties of some coal process recycle solvents." *Ind. Eng. Chem. Proc. Dev.* (6): 166-173.

de Guardia, A., Berthe, L., Druilhe, C., Massiani, C., Tremier, A. (2007). "Coupling a respirometer and a pycnometer, to study the biodegradability of solid organic wastes during composting." *Biosystems Engineering* 97(1): 75-88.

de Leeuw, J. W., Baas, M. (1993). "The behaviour of esters in the presence of tetramethylammonium salts at elevated temperatures; flash pyrolysis or flash chemolysis ?" *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 26(3): 175-184.

De Paolis, F., Kukkonen, J. (1997). "Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: Influence of pH and the structure of humic material." *Chemosphere* 34(8): 1693-1704.

del Rio, J. C., Hatcher, Patrick G. (1998). "Analysis of aliphatic biopolymers using thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) and gas chromatography-mass spectrometry." *Organic Geochemistry* 29(5-7): 1441-1451.

Dell'Abate, M. T., Benedetti, A., Sequi, P., (2000). "Thermal methods of organic matter maturation monitoring during a composting process." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 61: 389-396.

Demirbas, A. (2008). "Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections." *Energy Conversion and Management* 49(8): 2106-2116.

Demirbas, A., Balat, M. (2006). "Recent advances on the production and utilization trends of bio-fuels: A global perspective." *Energy Conversion and Management* 47(15-16): 2371-2381.

Deniau, I., Derenne, S., Beaucaire, C., Pitsch, H., Largeau, C. (2001). "Morphological and chemical features of a kerogen from the underground Mol laboratory (Boom Clay Formation, Oligocene, Belgium): structure, source organisms and formation pathways." *Organic Geochemistry* 32(11): 1343-1356.

Deport, C., (2002). Etude structurale des substances humiques en zones humides : Marais Poitevin, Marais de Rochefort, Marais de Gironde. Thèse de l'Université de Poitiers.

Desbène, P. L., Abderrezag, A., Desmazieres, B., Basselier, J. J., Behar, F., Vandembroucke, M. (1990). "The transalkylation reaction: Analytical tool for the study of heavy crude oil fractions. Application to asphaltenes of various types." *Organic Geochemistry* 16(4-6): 969-980.

Didyk, B. M., Simoneit, B.R.T., Brassel, S.C. and Eglinton, G. (1978). "Organic geochemical indicators of paleoenvironmental conditions of sedimentation." *Nature* 272: 216-222.

Dousset, S., Mouvet, C., Schiavon, M. (1994). "Sorption of terbuthylazine and atrazine in relation to the physico-chemical properties of three soils." *Chemosphere* 28(3): 467-476.

Drbohlav, J., Dyakonov, T., Goldfarb, I., Stevenson, J., William T. K. (1994). "Thermolysis of acetylene terminated sulfone resins. I. Volatile products of degradation." *Polymer Degradation and Stability* 46(3): 341-355.

Droussi, Z., D'Orazio, V., Hafidi, M., Ouattmane, A. (2009). "Elemental and spectroscopic characterization of humic-acid-like compounds during composting of olive mill by-products." *Journal of Hazardous Materials* 163(2-3): 1289-1297.

Droussi, Z., D'Orazio, V., Provenzano, M. R., Hafidi, M., Ouattmane, A. (2009). "Study of the biodegradation and transformation of olive-mill residues during composting using FTIR

spectroscopy and differential scanning calorimetry." *Journal of Hazardous Materials* 164(2-3): 1281-1285.

Duchaufour, P. (1997). *Abrégé de pédologie. Sol, végétation, environnement.* MASSON.

Dumas, C., Perez, S., Paul, E., Lefebvre, X. (2010). "Combined thermophilic aerobic process and conventional anaerobic digestion: Effect on sludge biodegradation and methane production." *Bioresource Technology* 101(8): 2629-2636.

Eggen, T., Vethe, O. (2001). "Stability indices for different composts." *Compost Science & Utilization* 9(1): 19-26.

El.Taweel, A., Sadaka, S., (2003). "Effect of aeration and C:N ratio on household waste composting in Egypt." *Compost Science & Utilization* 11(1): 36-40.

Elamin, E. A., Elias, S., Dauschies, A., Rommel, M. (1992). "Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in pastoral camels (*Camelus dromedarius*) in the Butana plains, mid-Eastern Sudan." *Veterinary Parasitology* 43(3-4): 171-175.

Fabrizio, A., Tambone, F., Genevini, P. (2009). "Effect of compost application rate on carbon degradation and retention in soils." *Waste Management* 29(1): 174-179.

Faix, O., Meier, D., Fortmann, I. (1988). "Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry of two trimeric lignin model compounds with alkyl-aryl ether structure." *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 14(2-3): 135-148.

Fermor, T. R. (1993). "Applied aspects of composting and bioconversion of lignocellulosic materials: an overview." *International Biodeterioration and Biodegradation* 31: 87-106.

Finstein, M. S., Morris, M. L. (1975). *Microbiology of Municipal Solid Waste Composting.* *Advances in Applied Microbiology.* D. Perlman, Academic Press. Volume 19: 113-151.

Francou, C., (2003). Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains : influence de la nature et du procédé de compostage – recherche d'indicateurs pertinents. Thèse de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon.

Francou, C., Linères, M., Derenne, S., Villio-Poitrenaud, M., Houot, S. (2008). "Influence of green waste, biowaste and paper-cardboard initial ratios on organic matter transformations during composting." *Bioresource Technology* 99(18): 8926-8934.

Friedmann, Y. C., Appel, H.R., Yavorsky, S., Wender, P. M. (1971). *Converting Organic Wastes to Oil, A Replenishable Energy Source*. Report of investigation. Washington (DC), bureau of mines. 7560.

Gao, M., Li, B., Yu, A., Liang, F., Yang, L., Sun, Y. (2010). "The effect of aeration rate on forced-aeration composting of chicken manure and sawdust." *Bioresource Technology* 101(6): 1899-1903.

Gao, M., Liang, F., Yu, A., Li, B., Yang, L. (2010). "Evaluation of stability and maturity during forced-aeration composting of chicken manure and sawdust at different C/N ratios." *Chemosphere* 78(5): 614-619.

Gobé, V., Lemée, L., Amblès, A. (2000). "Structure elucidation of soil macromolecular lipids by preparative pyrolysis and thermochemolysis." *Organic Geochemistry* 31(5): 409-419.

Godin, P. (1981). "Fermentation et maturité des composts urbains." *Compost information* 6: 2-3.

González-Vila, F. J., del Río, J. C., Martín, F., Verdejo, T. (1995). "Chemical structural investigation of asphaltenes and kerogens by pyrolysis-methylation." *Organic Geochemistry* 23(11-12): 1009-1022.

Grasset, L., Guignard, C., Amblès, A. (2002). "Free and esterified aliphatic carboxylic acids in humin and humic acids from a peat sample as revealed by pyrolysis with tetramethylammonium hydroxide or tetraethylammonium acetate." *Organic Geochemistry* 33(3): 181-188.

Grasset, L., Stefanova, M., Ivanov, D., Yaneva, N., Marinov, S., Amblès, A. (2008). "Palaeoenvironment assessment of Pliocene Lom lignite (Bulgaria) from bitumen analysis and preparative off line thermochemolysis." *Organic Geochemistry* 39(11): 1589-1605.

Grube, M., Lin, J. G., Lee, P. H., Kokorevicha, S. (2006). "Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy." *Geoderma* 130(3-4): 324-333.

Guignard, C. (2001). *Etude structurale de la matière organique de tourbes. Utilisation en traitement de dépollution. Géochimie. Poitiers, Université de Poitiers.*

Guignard, C., Lemée, L., Amblès, A. (2005). "Lipid constituents of peat humic acids and humin. Distinction from directly extractable bitumen components using TMAH and TEAAc thermochemolysis." *Organic Geochemistry* 36(2): 287-297.

Gupta, D. V., Kranich, Wilmer L., Weiss, Alvin H. (1976). "Catalytic Hydrogenation and Hydrocracking of Oxygenated Compounds to Liquid and Gaseous Fuels." *Ind. Eng. Chem. Process, Des. Dev* 15(2): 256-260.

Harada, Y., Inoko, A., Tadaki, M. and Izawa, T (1981). "Maturing process of city refuse compost during piling." *Soil Sci.Plant. Nutr* 27(3): 357-364.

Harwood, J. L. (1997). *Plant Lipid Metabolism*, London Academic Press.

Hatcher, P., Deshmukh, G., Ashish, P., Chefetz, B. (2001). "Characterization of organic matter in pristine and contaminated coastal marine sediments using solid-state ¹³C NMR, pyrolytic and thermochemolytic methods: a case study in the San Diego harbor area." *Chemosphere* 45(6-7): 1007-1022.

He, Y., Inamori, Y., Mizuochi, M., Kong, H., Iwami, N., and Sun, T. (2000). "Measurements of N₂O and CH₄ from aerated composting of food waste." *Sci. Total Environ* 254: 65-74.

Henriksen, T., Breland, M., Tor A. (1999). "Evaluation of criteria for describing crop residue degradability in a model of carbon and nitrogen turnover in soil." *Soil Biology and Biochemistry* 31(8): 1135-1149.

Henriksen, T. M., Breland, T. A. (1999). "Decomposition of crop residues in the field: evaluation of a simulation model developed from microcosm studies." *Soil Biology and Biochemistry* 31(10): 1423-1434.

Henriksen, T. M., Breland, T. A. (1999). "Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil." *Soil Biology and Biochemistry* 31(8): 1121-1134.

Hernes, P. J., Benner, R., Cowie, G. L., Goñi, M. A., Bergamaschi, B. A., Hedges, J. I. (2001). "Tannin diagenesis in mangrove leaves from a tropical estuary: a novel molecular approach." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65(18): 3109-3122.

Hernes, P. J., Hedges, J. I. (2004). "Tannin signatures of barks, needles, leaves, cones, and wood at the molecular level." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68(6): 1293-1307.

Hoogwijk (2003). "Exploration of the ranges of the global potential of biomass for energy." *Biomass and Bioenergy* 25(119-133).

Iglesias Jiménez, E., Perez Garcia, V. (1989). "Evaluation of city refuse compost maturity: a review." *Biological Wastes* 27(2): 115-142.

Kato, K., Miura, N. (2008). "Effect of matured compost as a bulking and inoculating agent on the microbial community and maturity of cattle manure compost." *Bioresource Technology* 99(9): 3372-3380.

Kirchmann, H., Widen, P. (1994). "Separately collected organic household wastes." *Swedish J. agric. Res* 24: 3-12.

Kögel-Knabner, I. (2000). "Analytical approaches for characterizing soil organic matter." *Organic Geochemistry* 31(7-8): 609-625.

Kögel-Knabner, I. (2002). "The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter." *Soil Biology and Biochemistry* 34(2): 139-162.

Kolattukudy, P. E., Buckner, J. S., Bedord, C. J. (1976). "Evidence for an "active serine" in each fatty acid synthetase peptide." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 68(2): 379-386.

Kolattukudy, P. E., Lin, T. S. (1980). "Isolation and characterization of a cuticular polyester (cutin) hydrolyzing enzyme from phytopathogenic fungi." *Physiological Plant Pathology* 17(1): 1-4, IN1-IN2, 5-15.

Kononova, M. M. (1961). *Soil organic matter. Its nature, its role in soil formation and in soil fertility*, Pergamon press.

Maystre, D. V., Diserens T., Gandolle M., Bourquin J.-D (1994). "Déchets urbains. Nature et caractérisation." *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*: 146.

Larsen, K. L., McCartney, D. M. (2000). "Effect of C:N ratio on microbial activity and N retention in bench-scale study using pulp and paper biosolids." *Compost Science & Utilization* 8(2): 147-159.

Lau, A. K., Lo, K. V., Liao, P. H., and Yu, J. C. (1992). "Aeration experiments for swine waste composting." *Bioresource Technology* 41: 145-152.

Leclerc B. 2001. *Guide des matières organiques*. (eds Guide Technique de l'ITAB)

Lee, J. (1997). "Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol." *Journal of Biotechnology* 56(1): 1-24.

Lindblad, A. R. (1931). " *Ing. Vetensk. Akad. Handl .*" (107): 7-59.

Lüdemann, H. D., Nimz, H. (1973). "Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of lignins." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 52(4): 1162-1169.

- Mahato, S. B., Sen, S. (1997). "Advances in triterpenoid research, 1990-1994." *Phytochemistry* 44(7): 1185-1236.
- Mason, I. G., Milke, M. W. (2005). "Physical modelling of the composting environment: A review. Part 1: Reactor systems." *Waste Management* 25(5): 481-500.
- Mathur, S. P., Owen, G., Dinel, H. , Schnitzer, M. (1993a). "Determination of compost biomaturity. 1. Literature review. ." *Biological Agriculture and Horticulture* 10: 65-85.
- Mathur, S. P., Dinel, H., Owen, G., Schnitzer, M., Dugan, J. (1993b). "Determination of compost biomaturity. 2 : Optical density of water extracts of composts as a reflection of their maturity. ." *Biological Agriculture and Horticulture* 10: 87-108.
- McCarthy, R. D., Duthie, A.H. (1962). "A rapid quantitative method for the separation of free fatty acids from other lipids." *J. Lipid Research* 3(1): 2.
- McKeough, P., Scott, D. S., Piskorz, J., Westerberg, I. B. (1988). "Flash pyrolysis of peat in a fluidized bed." *Fuel Processing Technology* 18(1): 81-95.
- Miller, F. C., Harper, E. R., Macauley, B. J. (1989). "Field examination of temperature and oxygen relationships in mushroom composting stacks-consideration of stack oxygenation based on utilisation and supply." *Aust. J. Exp. Agri.* 29: 741-750.
- Moral, R., Bernal, M. P., Albuquerque, J. A. (2009). "Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review." *Bioresource Technology* 100(22): 5444-5453.
- Mulder, M. M., Morrison Iii, W. H. (1994). "Pyrolysis mass spectrometry and pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry of ester- and ether-linked phenolic acids in coastal bermudagrass cell walls." *Phytochemistry* 35(5): 1143-1151.

- Naafs, D. F. W., van Bergen, P. F., Boogert, S. J., de Leeuw, J. W. (2004). "Solvent-extractable lipids in an acid andic forest soil; variations with depth and season." *Soil Biology and Biochemistry* 36(2): 297-308.
- Naafs, D. F. W., Nierop, K., van Bergen, P. F., de Leeuw, J. W. (2005). "Changes in the molecular composition of ester-bound aliphatics with depth in an acid andic forest soil." *Geoderma* 127(1-2): 130-136.
- Nelson, M. I., Marchant, T. R., Wake, G. C., Balakrishnan, E., Chen, X. D. (2007). "Self-heating in compost piles due to biological effects." *Chemical Engineering Science* 62(17): 4612-4619.
- Nicholas, P. V., David, M.A. (1985). *Ind. Eng. Chem. Process Des. Des.* 24: 304-311.
- Niemeyer, J., Y. Chen, and J. M. Bollay (1992). "Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance fourier-transform infrared spectroscopy." *Soil Sci.Soc.Am. J.* 56: 135-140.
- Nierop, K., Naafs, D. (2005). "Origin, occurrence and fate of extractable lipids in Dutch coastal dune soils along a pH gradient." *Organic Geochemistry* 36(4): 555-566.
- Pagans, E., Ponsá, Sergio, Sánchez, Antoni (2009). "Composting of dewatered wastewater sludge with various ratios of pruning waste used as a bulking agent and monitored by respirometer." *Biosystems Engineering* 102(4): 433-443.
- Paulo, E. A., Sergio, E.D., Heinz, J.N., Ricardo, B.O. (1986). "Catalytic wood liquefaction using a hydrogen donor solvent." *Can. J. Chem. Eng.* 64: 775-780.
- Payen, J. (1982). *L'histoire des science, Huygens et la France*, VRINS.
- Peltre, C., Dignac, M. F., Derenne, S. and S. Houot (2010). "Change of the chemical composition and biodegradability of the Van Soest soluble fraction during composting: A study using a novel extraction method." *Waste Management* 30(12): 2448-2460.

Philp, R. P. (1985). *Fossil Fuel Biomarkers. Applications and Spectra*. Elsevier, Amsterdam.

Rao, V. U. S., Stiegel, G. J., Cinquegrane, G. J., Srivastava, R. D. (1992). "Iron-based catalysts for slurry-phase Fischer-Tropsch process: Technology review." *Fuel Processing Technology* 30(1): 83-107.

Reid, I.D. (1995): Biodegradation of lignin. *Can. J. Bot.*, 73 (suppl. 1), 1011-1028.

Rezzoug, S. A., Capart, R. (2003). "Assessment of wood liquefaction in acidified ethylene glycol using experimental design methodology." *Energy Conversion and Management* 44(5): 781-792.

Rice, J. A., Tombácz, E., Malekani, K. (2000). Applications of light and X-ray scattering to characterize the fractal properties of soil organic matter. *Developments in Soil Science*. J. W. C. Y. Pachepsky and W. J. Rawls, Elsevier. Volume 27: 161-174.

Richard, T. L., Veeken, A., Hamelers, H. V. M., Silva, T. (2002). "Moisture relationships in composting processes." *Compost Science & Utilization* 10(4): 286-302.

Roig, A., Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A. (2006). "An overview on olive mill wastes and their valorisation methods." *Waste Management* 26(9): 960-969.

RYNK, R. (2003). "The art in the science of composting." *Compost Science & Utilization* 11(2): 94-95.

Said-Pullicino, D., Gigliotti, G. (2007). "Oxidative biodegradation of dissolved organic matter during composting." *Chemosphere* 68(6): 1030-1040.

Sasaki, M., Kabyemela, B., Malaluan, R., Hirose, S., Takeda, N., Adschiri, T., Arai, K. (1998). "Cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water." *The Journal of Supercritical Fluids* 13(1-3): 261-268.

Schenk, H. J., Horsfield, B. (1993). "Kinetics of petroleum generation by programmed-temperature closed-versus open-system pyrolysis." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57(3): 623-630.

Smith, T. M., Cramer, W.P., Dixon, R.K., Neilson, R.P., Solomon, A.M. (1993). "The global terrestrial carbon cycle " *Water, Air and Soil pollution* 70: 18.

Smith, V. R., Steenkamp, M., French, D. (1993). "Soil decomposition potential in relation to environmental factors on marion island (sub-antarctic)." *Soil Biology and Biochemistry* 25(11): 1619-1633.

Som, M. P., Lemée, L., Amblès, A. (2009). "Stability and maturity of a green waste and biowaste compost assessed on the basis of a molecular study using spectroscopy, thermal analysis, thermodesorption and thermochemolysis." *Bioresource Technology* 100(19): 4404-4416.

Som, MP., (2006). Etude moléculaire des composés organiques de compost. Formation, Transformation dans les sols. Action sur les propriétés des sols. Thèse de l'Université de Poitiers.

Soyer, N., Bestue-Labazuy, C., Bruneau, C., Brault, A. (1985). "Wood liquefaction with hydrogen or helium in the presence of iron additives." *Can. J. Chem. Eng.* 63(8): 634-638.

Sparling, G. P., Cheshire, M. V. (1979). "Effects of soil drying and storage on subsequent microbial growth." *Soil Biology and Biochemistry* 11(3): 317-319.

Spyckerelle, C., Arpino, P., Ourisson, G. (1972). "Identification de series de composés isoprenoides isolés de source géologique--I : Hydrocarbures acycliques de C₂₁ à C₂₅ (sesterterpanes)." *Tetrahedron* 28(23): 5703-5713.

Stevenson (1994). *Humus chemistry. Genesis, Composition, Reactions.* John Wiley and Sons, p. 350.

Sugahara, K., Ionoko, A. (1981). "Composition analysis of humus and characterization of humic acid obtained from city refuse compost." *Soil Sci.Plant Nutri* 27(2): 213-224.

Tang, J.-C., Kanamori, T., Inoue, Y., Yasuta, T., Yoshida, S., Katayama, A. (2004). "Changes in the microbial community structure during thermophilic composting of manure as detected by the quinone profile method." *Process Biochemistry* 39(12): 1999-2006.

Tinoco, P., Almendros, G., González-Vila, F. J. (2002). "Impact of the vegetation on the lignin pyrolytic signature of soil humic acids from Mediterranean soils." *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 64(2): 407-420.

Tissot, B.P., Welte, D.H. (1984). *Petroleum Formation and Occurrence*. Springer-Verlag, Berlin.

Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A., Itävaara, M. (2000). "Biodegradation of lignin in a compost environment: a review." *Bioresource Technology* 72(2): 169-183.

Twagiramungu, F. (2003). *Etude potentiométrique des propriétés acidobasiques et de complexation d'acides humiques d'origine différente avec les ions Pb²⁺ et Cu²⁺*. Université de Gand.

van Bergen, P. F., Bull, I.D., Poulton, P. R., Evershed, R. P. (1997). "Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted Classical Experiments--I. Total lipid extracts, solvent insoluble residues and humic acids from Broadbalk Wilderness." *Organic Geochemistry* 26(1-2): 117-135.

Van Soest, P. J., Wine, R. H. (1967). "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Determination of plant cell-wall constituents" *Journal of the A.O.A.C.* 50(1): 50-55.

Veeken, A., Nierop, K., Wilde, V., Hamelers, B. (2000). "Characterisation of NaOH-extracted humic acids during composting of a biowaste." *Bioresource Technology* 72(1): 33-41.

Veeken, A., Nierop, K., Wilde, V., Hamelers, B. (2000). "Characterisation of NaOH-extracted humic acids during composting of biowaste." *Bioresource Technology* 72: 33-41.

Venglovsky, J., Sasakova, N., Vargova, M., Pacajova, Z., Placha, I., Petrovsky, M., Harichova, D. (2005). "Evolution of temperature and chemical parameters during composting of the pig slurry solid fraction amended with natural zeolite." *Bioresource Technology* 96(2): 181-189.

Wackett, L. P., Ellis, L. B. M. (2009). *Biodegradation Database and Prediction, Microbial. Encyclopedia of Microbiology*. S. Moselio. Oxford, Academic Press: 78-87.

Waksman, S. A., Unibreit, W. W., Cordon, T. C. (1939). "Thermophilic actinomycetes and fungi in soils and in composts." *Soil Sci* 47: 23.

Wang, C., Pan, J., Li, J., Yang, Z. (2008). "Comparative studies of products produced from four different biomass samples via deoxy-liquefaction." *Bioresource Technology* 99(8): 2778-2786.

Willson, G. B. (1989). "Combining raw materials for composting." *BioCycle* 30: 82-83.

Yu, S., Clark, O. Grant, L., Jerry J. (2008). "A statistical method for the analysis of nonlinear temperature time series from compost." *Bioresource Technology* 99(6): 1886-1895.

ANNEXES

Annexe1

Protocole de fractionnement Van Soest

Pesée des échantillons

- Echantillons et creusets sont mis à l'étuve à 70° une nuit, puis refroidis en dessiccateurs avant d'être pesés
- Relever alors le poids du creuset vide = PCV
- Peser 1g de poudre dans le creuset, et relever le poids exact = PIP

Obtention du NDF (Neutral Detergent Fiber)

La solution de NDS (Neutral Detergent Solution) sera additionnée au moment de son utilisation, d'amylase et, selon le cas, de sulfite (Tableau 28)

Tableau 28 Indication pour l'utilisation de sulfite au cours de l'analyse van Soest

Nature des échantillons	NDF ADF ADL Sulfite	NDF LKL Sulfite	NDF Sulfite
Graminées	oui	oui	oui
Mais	non	non	oui
Arabettes	oui	oui	oui
Luzernes	oui	oui	oui
Mais*	non	non	non
Sorgho	non	non	oui

* Résidu Fibertec

Préparation des solutions nécessaires

La solution de NDS (Neutral Detergent Solution)

Une solution de NDS prête à l'emploi est utilisée. Il est également possible de la préparer au laboratoire. Dans ce cas, procéder comme en suit : dissoudre l'EDTA avec de l'eau déminéralisée dans un bécher. Après dissolution, ajouter le lauryl sulfate de sodium. Dans un second bécher dissoudre le phosphate di-sodique avec de l'eau déminéralisée puis y ajouter le borate de sodium. Mélanger les deux solutions, ajouter le tri éthylène-glycol, ajusté

à 1 litre, vérifier que le pH se situe entre 6.9 et 7.1. La solution de NDS sera additionnée au moment de son utilisation, d'alpha-amylase à raison de 2ml/L de NDS.

La solution d'ADS (Acidic Detergent Solution)

La solution d'ADS contient du cetyltriméthyl ammonium (CTAB) à 20g/L d 'H₂SO₄ 1N.

Pour en préparer 2 L :

- Dans un erlenmeyer introduire 2L d'H₂SO₄ 1N
- verser 40g de CTAB
- agiter vivement jusqu'à dissolution complète

Préparation de 2L d' H₂SO₄ 0.5 M à partir de H₂SO₄ à 96%

- Dans 1 fiole jaugée de 2L verser environ 600 ml d'eau distillée.
- Ajouter 55.4 ml de H₂SO₄ à 96% RPE
- qsp 2l eau distillée

Obtention de l'ADL (Acidic Detergent Lignin)

Utiliser directement la solution commerciale d'H₂SO₄ à 72% ou en préparer à partir d'H₂SO₄ à 96 %.

Préparation à partir d'H₂SO₄ à 96% (1L)

- Dans une fiole jaugée de 1L, introduire environ 300ml d'eau distillée.
- Introduire 665 ml d'H₂SO₄ à 96%
- Agiter
- Ajuster au trait de jauge à l'aide d'eau distillée après refroidissement.

Mise en route de l'analyse

Obtention de l'ADF (Acidic Detergent Fiber)

Disposer les creusets sur le fibertec. Verser environ 50 ml de NDS dans chaque colonne. Ouvrir le système de refroidissement et monter la solution à ébullition (thermostat au maximum). Lorsque l'ébullition commence, compléter jusqu'au premier trait de la colonne

avec le NDS (100 ml au total). Dès la reprise de l'ébullition mettre le thermostat à 4-5 de façon à maintenir une ébullition constante et régulière pendant 2 heures. Agiter de temps en temps avec une baguette de verre pour remettre en suspension les particules collées à la paroi.. Au bout de 2 heures couper le thermostat. Rincer trois fois à l'eau chaude (2 X 50 à 70 ml) et (1 X 20 à 30 ml) le dernier rinçage ne dépassant pas le haut du creuset, puis 2 fois à l'acétone (2 X 20 à 30 ml). Dégager les creusets du fibertec .Emietter le résidu avec une spatule. Pour finir, mettre les creusets à l'étuve pour une nuit à 70°C. Après refroidissement dans un dessiccateur peser les creusets plus les résidus = PAN

Obtention de l'ADF

Reprendre les creusets contenant le résidu NDF

Procéder de la même façon que pour le NDF mais avec la solution d'ADS

Obtention de l'ADL

-Placer les creusets sur le fibertec en veillant à ce que, sur un même appareil, soient placés des creusets ayant un poids de résidu assez voisin. Dans une même journée, si un ADL doit être fait aussitôt après un NDF ou un ADF, prendre soin de rincer le Fibertec à l'eau distillée avant de disposer les creusets pour l'ADL. Introduire la quantité d'acide à 72% en fonction de la quantité de résidu contenue dans le creuset. Verser l'acide doucement à l'aide d'une pipette.

-Agiter en écrasant les grumeaux à la baguette de verre et laisser agir pendant 2 heures à température ambiante en remuant de temps en temps. Après 2h, ajouter de l'eau pour obtenir de l'acide à 5%. -Ajouter 3 gouttes d'octanol dans chaque colonne. -Faire bouillir pendant 3 heures en agitant de temps en temps pour décoller les particules sur la paroi. Rincer à l'eau bouillante (3*50ml) et (1*20ml) en décollant les particules. Sortir les creusets, les laisser s'égoutter et les placer à l'étuve pour une nuit à 70°C. Peser les creusets avec les résidus = PAL.

Placer les creusets au four pour une calcination de 3 heures à 500° (réglage du four : 480°C).

Après refroidissement dans un dessiccateur, peser les creusets plus les cendres = PCI

Enlever les cendres au pinceau. Noter le poids du creuset vide = PCA

Calculs

Les calculs sont les suivants :

poinds de cendres : si $PCV-PCA > 0$, le pds de cendres est égal à $PCI-PCA$

: si $PCV-PCA < 0$ le pds de cendres est égal à $:PCI-PCV$

perte de verre fritté : si $PCV-PCA > 3$, le prendre en compte dans le calcul de l'ADF et de l'ADL (voir ci-dessous)

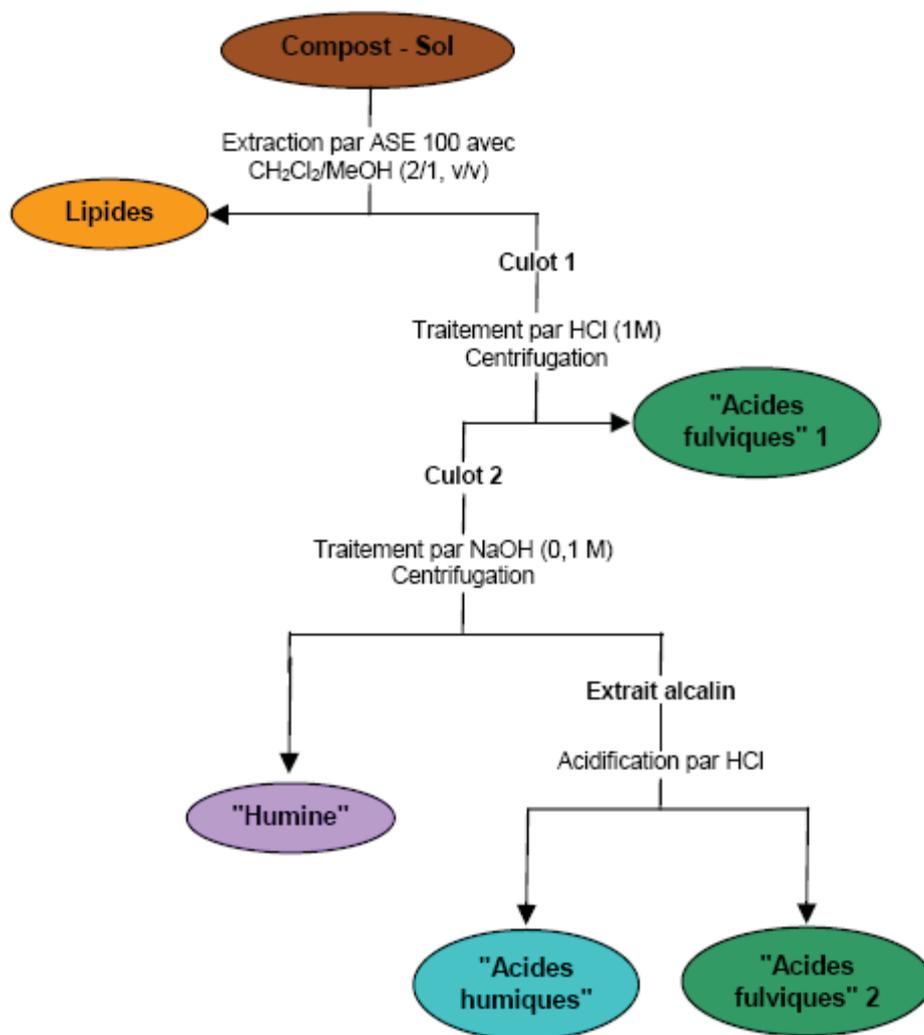
$$NDF = \frac{(PAN - PCV) - (pds.cendres)}{PIP} \times 100$$

$$NDF = \frac{(PAA - PCV) - (pds.cendres) + (perte.fritté / 2)}{PIP} \times 100$$

$$NDF = \frac{(PAL - PCV) - (pds.cendres) + (perte.fritté / 2)}{PIP} \times 100$$

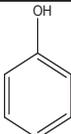
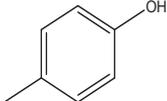
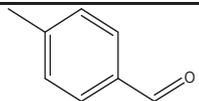
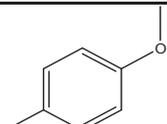
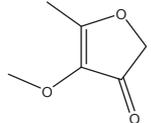
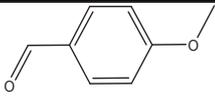
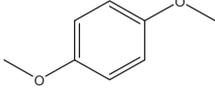
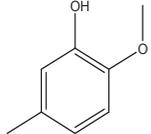
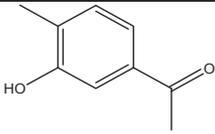
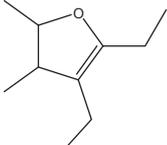
Annexe2

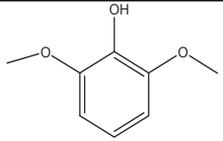
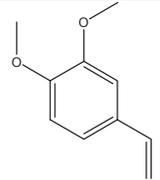
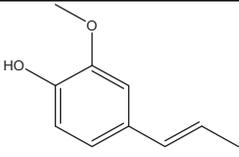
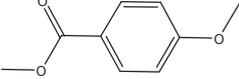
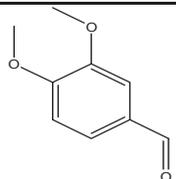
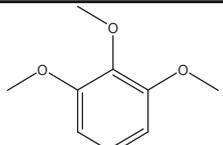
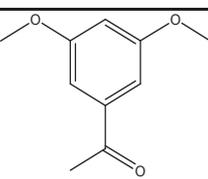
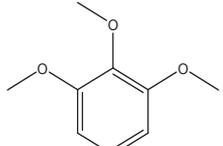
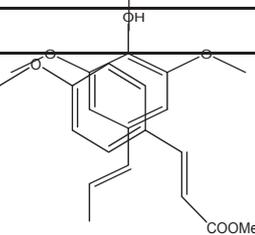
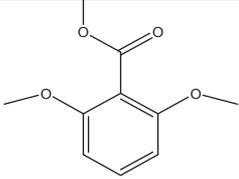
Fractionnement IHSS de ma matière organique de la biomasse biodégradée

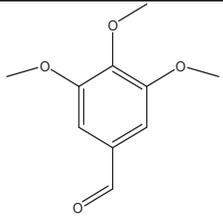
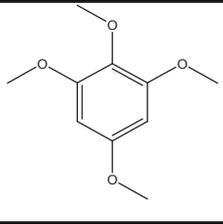
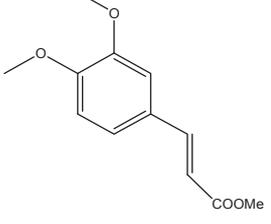
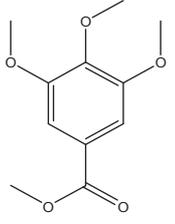
**Protocole IHSS**

Annexe3

**Molécules issues de la pyrolyse TMAH et de la pyrolyse multishot 200° 600°C de la
MOT et du résidu après liquéfaction.**

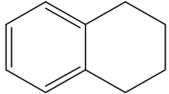
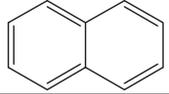
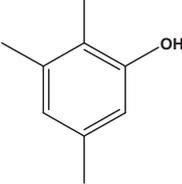
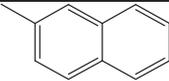
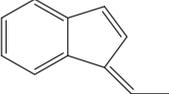
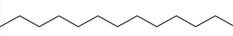
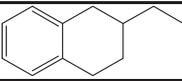
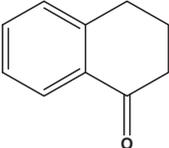
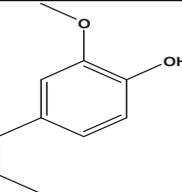
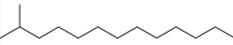
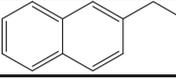
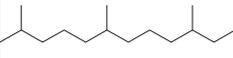
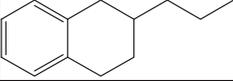
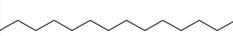
N°	Molécules	M (g/mol)	Biomasse			Résidu	
			TMAH	200°C	600°C	Sans catalyseur	Avec catalyseur
1		94					
2		108					
3		120					
4		122					
5		128					
6		136					
7		138					
8		138					
9		150					
10		154					

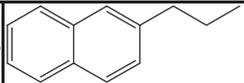
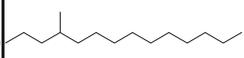
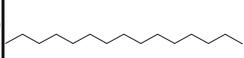
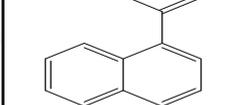
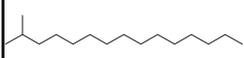
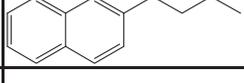
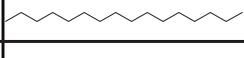
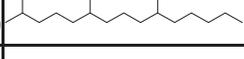
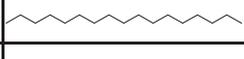
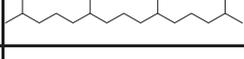
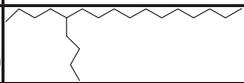
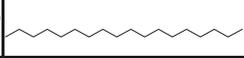
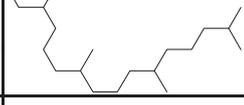
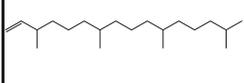
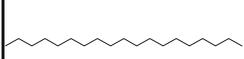
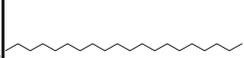
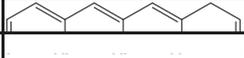
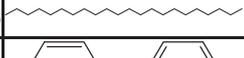
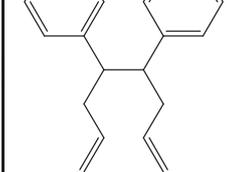
11		154				
12		164				
13		164				
14		166				
15		166				
16		168				
17		180				
18		182				
20		194				
19		192				
21		196				

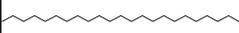
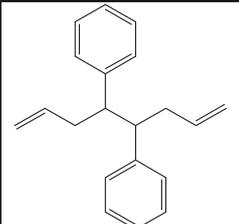
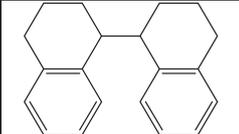
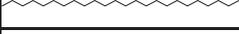
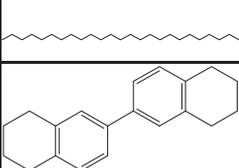
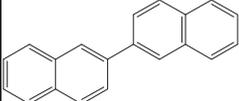
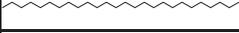
22	 <chem>COc1cc(OC)c(OC)cc1C=O</chem>	196					
23	 <chem>COc1cc(OC)c(OC)cc1C(=O)O</chem>	198					
24	 <chem>COc1cc(OC)c(OC)cc1/C=C/C(=O)OC</chem>	222					
25	 <chem>COc1cc(OC)c(OC)cc1C(=O)OC</chem>	226					

Annexe4

Composés de l'huile de solvolyse soluble dans l'hexane obtenus avec et sans catalyseurs au cours de la liquéfaction (380°C) de la biomasse lignocellulosique déstructurée à 85 jours.

N°	RT	Molécules	Nom	M (g/mol)	Solubles dans l'hexane	
					Sans catalyseur	Avec catalyseur
1	11,45		1,2,3,4-tetrahydronaphthalène	132		
2	11,92		Naphtalène	128		
3	12,5		2,3,5-triméthylphénol	136		
4	14,20		1,2,3,4-tétrahydro-6-méthylnaphtalène	146		
5	14,85		2-méthylnaphtalène	142		
6	15,24		(1E)-1-éthylidène-1H-indène	142		
	15,46		tridecane	184		
7	15,72		2-éthyl-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène	160		
	15,91					
8	16,48		3,4-dihydronaphtalèn-1(2H)-one	146		
9	16,96		2-méthoxy-4-propylphénol	166		
	17,30		2-méthyltridecane	198		
10	17,45		2-éthylnaphtalène	156		
	17,70		2,6,10-triméthylodécane	212		
11	18,16		1,2,3,4-tétrahydro-2-propylnaphtalène	174		
	18,23		tridécane	198		

12	19,66		2-propylnaphthalène	170		
	19,79		4-méthyltétradécane	212		
	20,69		pentadécane	212		
13	22,07		1-(prop-1-en-2-yl)naphthalène	168		
	22,21		2-méthylpentadécane	226		
14	22,31		2-butylnaphthalène	184		
	23,03		hexadécane	226		
	24,20		2,6,10-triméthylpentadécane	254		
	25,27		heptadécane	240		
	25,48		2,6,10,14-tétraméthylpentadécane	168		
15	25,90					
	26,30		5-butyloctadécane	282		
	27,39		octadécane	254		
	27,67		PHYTAN	282		
	28,33		3,7,11,15-tétraméthylhexadéc-1-ène	280		
	29,41		nonadécane	268		
	31,34		eicosane	282		
	31,54					
16	33,85		docosane	310		
	34,96		docosane	310		
	35,32		4,5-diphénylocta-1,7-diène	262		
			naphthalène			

	36,65		tricosane	324		
18	36,76		4,5-diphénylocta-1,7-diène	262		
19	37,81		1,2,3,4-tetrahydro-1-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-yl)naphthalène	262		
	38,28		tétracosane	338		
	39,85		pentacosane	352		
20	39,87		1,2,3,4-tetrahydro-6-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-7-yl)naphthalène	262		
21	40,93		2-(naphthalen-6-yl)naphthalène	254		
	41,36		hexacosane	366		
	42,87		heptacosane	380		
22	41,66			262		
23	42,41			258		
24	43,10			254		

Annexe5

Composés de liquéfaction (380°C) soluble dans l'hexane des substances humiques de la biomasse déstructurée à 85 jours.

n°	RT	Composé
1	11,39	tétraline
2	11,92	naphtalène
3	16,8	Naphtalénone
4	26,88	HC18
5	29,35	HC19
6	30,16	diEt-biphényl
7	31,31	HC20
8	31,62	Phénylnaphtalene
9	32,97	6-benzyl-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène
10	33,19	HC21
11	33,68	9-allylanthracène
12	33,95	9-allylanthracène
13	34,51	pyrène
14	34,99	HC22
15	36,3	1-octyl-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène
16		4,5-diphénylocta-1,7-diène
17	36,49	1-Me-4-tolylnaphtalène
18	36,51	3,4-diphenylhexa-1,5-diène
19	39,1	5,8,9,10-tétrahydrobenzo[a]anthracènone
20	39,96	HC24
21	40,7	1,1'-binaphtalène
22	40,79	1,2,3,3a,4,5,6,7,8,9-decahydropérylène
23	42,37	1,2,3,10,11,12-hexahydropérylène
24	43,08	2,2'-binaphtalène

Annexe 6

Composés détectés lors de la pyrolyse 600°C sans TMAH des substances humiques

No.	Formule	Composés
1	C ₆ H ₈ O	<u>2,4-Dimethylfurane</u>
2	C ₆ H ₆ O	phénol
3	C ₈ H ₈	<u>Styrène</u>
4	C ₇ H ₇ O	<u>OH-benzyl</u>
5	C ₈ H ₁₀ O	<u>Benzene, 1-methoxy-4-methyl-</u>
6	C ₇ H ₈ O ₂	methoxyphénol
7	C ₈ H ₁₀ O	<u>3-Ethylphénol</u>
8	C ₈ H ₁₀ O ₂	<u>Phenol, 2-methoxy-4-méthyl-</u>
9	C ₈ H ₈ O	<u>Benzofuran, 2,3-dihydro-</u>
10	C ₇ H ₈ O ₃	<u>1,3-Benzènediol, 2-méthoxy-</u>
11	C ₉ H ₁₂ O ₂	<u>Phénol, 4-éthyl-2-méhoxy-</u>
12	C ₉ H ₁₀ O ₂	<u>2-Méthoxy-4-vinylphénol</u>
13	C ₈ H ₁₀ O ₃	<u>Phénol, 2,6-diméthoxy-</u>
14	C ₈ H ₁₀ O ₂	<u>Benzène, 1,3-diméhoxy-</u>
15	C ₉ H ₁₂ O ₃	<u>1,2,3-Triméthoxybenzène</u>
16	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	<u>Iso-eugénol</u>
17	C ₉ H ₁₀ O ₃	<u>Ethanone, 1-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-</u>
18	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	<u>2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-</u>
19	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	<u>Ethanone, 1-(3,5-diméthoxyphényl)-</u>
20	C ₉ H ₁₀ O ₄	<u>Benzaldéhyde,4-hydroxy-3,5-diméthoxy-</u>
21	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	<u>Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propènyl)-</u>
22	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	<u>Ethanone, 1-(3-hydroxy-2,4-diméthoxyphényl)-</u>
23	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Acide octadécanoïque

Annexe7

Composition élémentaire des fractions humiques de la biomasse en fonction du temps de déstructuration

Jours	Humine				Acides Humiques				Acides Fulviques			
	%C	%N	%H	%O	%C	%N	%H	%O	%C	%N	%H	%O
0	46,93	6,12	45,08	1,86	49,55	5,67	42,68	2,10	43,81	5,64	48,14	2,41
8	47,49	5,97	45,14	1,40	51,99	5,72	39,58	2,71	44,27	5,97	46,33	3,44
22	46,76	5,96	45,73	1,54	51,11	5,54	39,08	4,28	41,25	6,12	50,90	1,72
36	46,38	5,95	45,55	2,12	52,70	5,61	37,31	4,37	40,25	6,23	52,32	1,20
85	44,78	7,10	46,42	1,69	53,42	5,76	36,85	3,97	38,76	5,75	54,04	1,45

Annexe 8

**Composés organiques volatiles désorbés au cours de la déstructuration de la biomasse
lignocellulosique de l'essai 2**

N°	Nom	M(g/mol)
1	toluène	92
2	hexanal	100
3	fural	96
4	xylène	106
5	heptanal	114
6	benzaldehyde	106
7	nonadiénal	138
8	décène	140
9	4-isopropylcyclohexanol	142
10	3,4,5-triméthylcyclopent-2-énone	124
11	nonanal	142
12	tétraline	132
13		
14	dodécane	170
15		
16	1,2-dihydro-1,5,8-triméthyl-naphtalène	172
17	pentadécane	212
18	heptadécane	240
19	cétone isoprénoïde C ₁₈	
20	phytol	298
21	1-méthoxyhexadécane	256