

# Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, méthanisables, compostables



C4H5O2\_5 2/ 9/99 THERMC 4H 50 2 0G 300.000 5000.000 1392.000 1  
1.64121890E+01 1.20184883E-02-4.40468566E-06 7.30124728E-10-4.42784365E-14 2



ETUDE N° 00-0118/1A

**AIDE A LA DEFINITION DES DECHETS DITS BIODEGRADABLES,  
FERMENTESCIBLES, METHANISABLES, COMPOSTABLES**

**RAPPORT FINAL**

**février 2002**

**R. GOURDON - LAEPSI (INSA de LYON)**

Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégialement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

Avertissement :

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :  
**RECORD**, Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, méthanisables, 2002, 153 p, n°00-0118/1A.
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)  
[www.ademe.fr](http://www.ademe.fr)

© RECORD, 2002

<b>MOTS-CLES</b>	Biodégradation, déchet, fermentescibilité, compostage, méthanisation, matière organique, réglementation, normes
<b>RESUME</b>	<p>La nouvelle réglementation sur les déchets issue des lois de 1975 et 1992, impose à l'horizon 2002 une réorganisation de la filière déchet et notamment un renforcement des procédés de valorisation. Mais les industriels du secteur se retrouvent confrontés à un problème de définition de termes comme biodégradable, fermentescible, compostable, méthanisable. Ceux-ci sont employés dans les nouveaux textes réglementaires sans répondre à une définition précise.</p> <p>Cette étude bibliographique fait la synthèse de l'état de l'art sur ces notions et dans un deuxième temps regroupe l'aspect réglementaire et normatif existant à ce jour afin d'aider les professionnels du déchet à mieux appréhender ces notions.</p>
<b>SUMMARY</b>	<p>Stemming from the 1975 and 1992 laws, the new regulations concerning waste lay it down that the recycling scheme should be reorganized by the year 2002 or so, and in particular that the recovering process should be strengthened. The recycling professionals are now faced with the problem of defining words such as biodegradability, fermentescibility, composting and methanization. These words are used in the new laws without being precisely defined.</p> <p>This bibliographical study first summarizes these notions and then sums up the current regulation and normative aspects in order to help the recycling professionals to better grasp these notions.</p>

## Sommaire

INTRODUCTION.....	8
<b>PARTIE I : DEFINITION GENERALE DE LA BIODEGRADABILITE DE LA MATIERE ORGANIQUE : BASES BIOCHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES.....</b>	<b>11</b>
I.1- INTRODUCTION.....	11
I.2- BIODEGRADATION – BIODEGRADABILITE– BIOTRANSFORMATION.....	11
I.3- MICRO-ORGANISMES, NUTRITION ET ECOLOGIE MICROBIENNE .....	12
<i>I.3.1- Micro-organismes.....</i>	<i>12</i>
<i>I.3.2- Nutrition et croissance microbienne.....</i>	<i>15</i>
I.3.2.1- Introduction.....	15
I.3.2.2- Nutrition des micro-organismes.....	15
I.3.2.3- Croissance des micro-organismes.....	16
<i>I.3.3- Notions générales d'écologie microbienne et facteurs d'influence de la croissance.....</i>	<i>18</i>
I.3.3.1- Introduction à l'écologie microbienne .....	18
I.3.3.2- Facteurs environnementaux .....	19
I.4- METABOLISMES ENERGETIQUES .....	23
I.5- RESPIRATION AEROBIE, ANAEROBIE, ET FERMENTATIONS.....	26
I.6- BIODEGRADATION DE LA MATIERE ORGANIQUE .....	27
<i>I.6.1- Cycle biogéochimique du carbone - Généralités.....</i>	<i>27</i>
<i>I.6.2- Biodégradation de la matière organique.....</i>	<i>28</i>
I.6.2.1- Aspects généraux.....	28
I.6.2.2- Voies cataboliques des molécules organiques.....	30
a) Hydrolyse des polymères organiques :.....	31
b) Assimilation des oligomères et des monomères.....	32
<i>I.6.3- Biotransformation de la matière organique.....</i>	<i>33</i>
I.6.3.1- Biosynthèse.....	33
I.6.3.2- Biostabilisation dans les sols : processus d'humification de la matière organique.....	34
<i>I.6.4- Notion de biodégradabilité de la matière organique.....</i>	<i>37</i>
I.6.4.1- Introduction.....	37
I.6.4.2- Biodégradabilité des composés organiques naturels (biomasse).....	38
I.6.4.3- Biodégradabilité des composés organiques de synthèse .....	39
<b>PARTIE II : NOTION DE BIODEGRADATION DANS LE DOMAINE DE LA GESTION ET DU TRAITEMENT DES DECHETS ORGANIQUES .....</b>	<b>41</b>
II.1- INTRODUCTION .....	41
II.2- PRINCIPAUX DECHETS CONCERNES .....	41
<i>II.2.1- Biomasse et déchets organiques.....</i>	<i>41</i>
<i>II.2.2- Déchets agricoles et agro-alimentaires.....</i>	<i>42</i>

II.2.3- Déchets municipaux.....	43
II.2.4- Déchets verts de zones urbaines.....	46
II.2.5- Boues de station d'épuration des eaux usées municipales.....	47
II.2.6- Déchets industriels solides et semi-solides.....	49
II.3- TRAITEMENTS BIOLOGIQUES DES DECHETS ORGANIQUES.....	49
II.3.1- Objectif des traitements.....	49
II.3.2- Traitement biologique aérobie : le compostage.....	52
II.3.2.1- Historique, définitions, objectifs et aspects réglementaires.....	52
a) Historique.....	52
b) Définitions.....	52
c) Objectifs.....	52
d) Réglementation.....	53
II.3.2.2- Principe du compostage.....	54
II.3.2.3- Aspects microbiologiques.....	55
II.3.2.4- Paramètres de compostage et leur évolution au cours du traitement.....	57
a) Aération.....	57
b) Humidité du substrat.....	57
c) Température.....	58
d) pH.....	58
e) Rapport C/N.....	59
II.3.3 Traitement biologique anaérobie : la méthanisation.....	60
II.3.3.1- Historique, objectifs et aspects réglementaires.....	60
a) Historique.....	60
b) Objectifs.....	60
c) Aspects réglementaires.....	60
II.3.3.2- Principe de la méthanisation.....	60
II.3.3.3- Les grandes étapes biochimiques et microbiologiques.....	61
a) Hydrolyse et Acidogenèse.....	62
b) L'acétogenèse.....	62
c) Méthanogenèse.....	62
II.3.3.4- Facteurs d'influence.....	63
a) Température.....	63
b) pH.....	64
c) Oxygène moléculaire et teneur en eau.....	64
d) Potentiel redox.....	64
e) Rapport C/N.....	64
f) Agitation.....	64
II.4. MISE EN CENTRE D'ENFOUISSEMENT TECHNIQUE (CET).....	65
II.4.1- Introduction.....	65
II.4.2- Contexte réglementaire différentes classes de CET.....	66
II.4.3- Evolution des déchets organiques en centre d'enfouissement technique de classe I.....	66
II.4.3.1- Réglementation spécifique.....	66
II.4.3.2- Concept de la décharge de classe I.....	67

II.4.3.3- Procédés de stabilisation/solidification des déchets .....	68
a) Déchets ultimes et déchets stabilisés .....	68
b) Principe .....	69
c) Procédés de stabilisation/solidification .....	69
d) Stabilisation/solidification de déchets contenant de la matière organique .....	70
II.4.3.4- Altération biologique des déchets stabilisés par des liants hydrauliques .....	71
a) Introduction .....	71
b) Mécanismes de bioaltération .....	72
c) Mécanismes de biodétérioration directe .....	72
d) Mécanismes de biodétérioration indirecte .....	73
i) Production d'acide sulfurique .....	74
ii) Production d'acide nitreux et nitrique .....	74
iii) Production d'acides organiques et d'agents complexants .....	75
iiii) Production de Fe <sup>3+</sup> .....	75
II.4.3.5- Conclusions .....	75
<i>II.4.4. Evolution des déchets organiques en centre d'enfouissement technique de classe II</i> .....	76
II.4.4.1- Réglementation spécifique des décharges de classe II .....	76
Condition d'exploitation des décharges de classe II .....	77
II.4.4.2- Concept classique de décharge de classe II .....	77
II.4.4.3- Concept décharge de classe II- Bioréacteur .....	78
II.4.4.4- Processus de biodégradation/biotransformation de la matière organique dans les décharges .....	80
a) Introduction .....	80
b) Phase aérobie .....	80
c) Phase anaérobie .....	81
II.4.4.5- Biodégradabilité de la matière organique dans les décharges .....	81

## **PARTIE III : EVALUATION DE LA**

### **BIODEGRADATION/BIOTRANSFORMATION/BIODETERIORATION DES DECHETS SOLIDES**

#### **ORGANIQUES ..... 82**

III.1- INTRODUCTION ..... 82

III.2- RAPPEL DE DEFINITIONS DES TERMES LIES A LA NOTION DE BIODEGRADATION ..... 82

III.3. RAPPEL DES PRINCIPAUX PARAMETRES ET FACTEURS DETERMINANT LA BIODEGRADATION D'UN DECHET  
..... 86

*III.3.1- Paramètres liés au déchet* ..... 86

    III.3.1.1- Hétérogénéité du déchet ou de la fraction de déchet ..... 86

    III.3.1.2- Etat physique du déchet..... 86

        a) Granulométrie, porosité..... 86

        b) Teneur en eau et oxygène..... 87

    III.3.1.3- Composition chimique de la fraction organique du déchet..... 87

        a) Introduction..... 87

        b) Nature chimique de la matière organique dans les déchets ..... 88

        c) Paramètres globaux de la matière organique ..... 90

*III.3.2- Facteurs environnementaux de la biodégradation / biodétérioration / biostabilisation d'un déchet*  
..... 92

III.3.2.1- Facteurs physico-chimiques .....	92
III.3.2.2- Facteurs écologiques et physiologiques.....	92
III.4- METHODE D’EVALUATION DE LA BIODEGRADATION OU BIODETERIORATION .....	93
III.4.1- Introduction.....	93
III.4.2- Techniques d’évaluation de la biodégradabilité des substances organiques.....	96
III.4.2.1- Principes généraux .....	96
III.4.2.2- Tests d’évaluation de la biodégradabilité de molécules organiques .....	99
a) Tests de biodégradabilité « facile ».....	99
Généralités .....	99
Description des essais d’évaluation de la « biodégradabilité facile » présentés dans les lignes directrices de l’OCDE : .....	104
Description de la procédure de détermination de la demande biochimique (ou biologique) en oxygène (DBO) : .....	107
b) Tests de biodégradabilité dite « intrinsèque » et de simulation.....	108
Méthode 302A SCAS modifiée .....	108
Méthode 302B : Essai Zahn-wellens/EMPA.....	110
Méthode 302C : Essai MITI modifié (II).....	111
Méthode d’évaluation de la biodégradabilité intrinsèque en conditions anaérobies dans les boues de digesteur .....	112
« Biodégradabilité Intrinsèque dans le Sol ».....	113
III.4.3- Procédures d’évaluation de la biodégradabilité ou de la biodétérioration des matériaux.....	116
III.4.3.1- Principes généraux .....	116
III.4.3.2- Tests d’évaluation de la résistance des matériaux aux agents microbiens .....	117
a) Présentation générale .....	117
b) Nature de l’inoculum .....	120
c) Mode d'inoculation.....	121
d) Conditions d'incubation .....	121
e) Composition du milieu de culture .....	122
III.4.3.3- Tests de biodégradabilité des matériaux.....	122
a) Présentation générale .....	122
b) Tests accélérés d’évaluation de la biodégradabilité des matériaux .....	124
Tests en conditions aérobies .....	124
Tests en conditions anaérobies.....	126
c) Tests de simulation pour l’évaluation de la biodégradabilité des matériaux .....	127
Scénario 1 : Utilisation comme matériau de substitution en BTP .....	128
Scénario 2 : Station d’épuration des eaux usées avec traitement biologique aérobie.....	129
Scénario 3 : Traitement biologique anaérobie (méthanisation).....	130
Scénario 4 : Compostage.....	131
Scénario 5 : Epanchage.....	133
Scénario 6 : Mise en décharge d’ordures ménagères (classe II).....	134
Scénario 7 : Mise en décharge de déchets industriels spéciaux (classe I) .....	134
<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES DE L’ETUDE.....</b>	<b>135</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>137</b>



<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>138</b>
<b>LISTE DES NORMES ET PROCEDURES.....</b>	<b>140</b>
<b>LISTE DES DOCUMENTS REGLEMENTAIRES.....</b>	<b>145</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>146</b>

## Introduction

Au cours de leurs activités, les partenaires industriels de l'association Record (REseau COopératif de Recherche sur les Déchets) se trouvent confrontés à un problème de définition de termes tels que biodégradable, fermentescible, compostable ou méthanisable couramment employés dans les tests réglementaires et législatifs de la communauté européenne et de la France sur la gestion et le traitement des déchets solides. Que ce soient les lois, arrêtés ou décrets portant sur la nomenclature des déchets, la définition des différentes classes de décharge ou ceux concernant l'élimination et la valorisation des déchets solides, les termes ci-dessus sont employés sans forcément répondre à une définition précise de la part du législateur. L'objectif de notre étude est de fournir quelques éléments de réponse concernant la définition et l'emploi de ces termes dans la réglementation française et européenne et les conséquences sur la gestion et le traitement des déchets solides (d'origine industrielle ou domestique) contenant une fraction non négligeable de matière organique potentiellement biodégradable.

La réglementation française et européenne concernant le traitement et le stockage des déchets est en constante évolution depuis la circulaire du 22 février 1973 relative à l'évacuation et au traitement des résidus urbains et la loi française et la directive européenne du 15 juillet 1975 relative à l'élimination des déchets et la récupération des matériaux. L'article 1<sup>er</sup> de la loi du 15 juillet 1975 définit la notion de déchet au sens de « *tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau, produit ou, plus généralement, tout bien meuble abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon* ». Elle définit d'autre part, la notion de déchet ultime comme « *un déchet résultant ou non du traitement d'un déchet, qui n'est plus susceptible d'être traité dans les conditions techniques et économiques du moment, notamment par extraction de la part valorisable ou par réduction de son caractère polluant ou dangereux* ». Signalons cependant que ces textes législatifs et réglementaires concernent essentiellement les déchets d'origine domestique ou industrielle mais exclue du champ d'application les déchets de cadavres d'animaux et les déchets agricoles suivants : matières fécales et autres substances naturelles et non dangereuses utilisées dans le cadre de l'exploitation agricole.

Par ailleurs, l'article 1er-III de la loi du 13 juillet 1992 prévoit l'arrêt des pratiques de mise en décharge en les réservant aux seuls déchets "ultimes" à l'horizon 2002. L'arrêté du 18 décembre 1992 relatif au stockage de certains déchets industriels spéciaux (D.I.S.) ultimes et stabilisés dresse la liste des déchets admissibles dans les installations de stockage. Ces déchets doivent être essentiellement solides, minéraux, avec un potentiel polluant constitué de métaux lourds peu mobilisables et, par ailleurs, ne doivent pas être réactifs, évolutifs et solubles. L'article 1<sup>er</sup> de l'arrêté du 18 février 1994 précise que « *un déchet est considéré comme stabilisé quand sa perméabilité à l'eau et sa fraction*

*lixiviable ont été réduites et quand sa tenue mécanique a été améliorée de façon que ses caractéristiques satisfassent aux critères d'acceptation des déchets stabilisés ».* Les articles 6 à 11 de l'arrêté du 18 décembre 1992 précise les modalités d'acceptation des déchets industriels spéciaux dans les installations de stockage avec l'obligation de stabiliser les déchets avant leur admission. L'article 12 du même arrêté fixe entre autre le caractère **fermentescible** comme critère de non admission des déchets en centre de stockage. L'annexe I de l'arrêté du 18 février 1994 fixe les tests d'évaluation du potentiel polluant à mettre en œuvre sur les déchets solides initialement massifs (ou générés par un procédé de solidification) en vue de leur admission en centre de stockage. A l'heure actuelle, les conditions de mise en décharge des déchets en vue de répondre à la directive 75/422/CEE du 15 juillet 1975 sont définies par la directive 1999/31/CEE publiée le 26 avril 1999 au J.O.C.E. L'article 5 de la directive du conseil européen précise que la stratégie nationale des états membres sur la réduction des déchets biodégradables mis en décharge (la mise en décharge étant placée en dernier recourt) nécessite la mise en place de mesures permettant de réduire le gisement de déchets **biodégradables** notamment grâce à des procédés de traitements biologiques. La directive impose donc la réduction programmée de la quantité de déchets biodégradables : d'après l'article 5, en 2006, la quantité de déchets municipaux biodégradables mis en décharge doit être réduite de 75% (massique) de la totalité des déchets municipaux biodégradables produits en 1995. Ce pourcentage devra être de 50% et 35% supplémentaires pour 2009 et 2016, respectivement. Signalons également que les déchets municipaux sont définis dans l'article 2 comme étant les déchets ménagers ainsi que les autres déchets qui, de par leur nature ou leur composition, sont assimilables aux déchets ménagers. Selon cette article de la directive européenne, un « **déchet biodégradable** » est défini comme étant « *tout déchet pouvant subir une décomposition anaérobie ou aérobie, comme les déchets alimentaires et les déchets de jardins, ainsi que le papier et le carton* ».

Par conséquent, la notion de biodégradation concerne plusieurs champs d'application dans le domaine des déchets solides, qu'il apparaît souhaitable de préciser au début de cette étude.

En terme de stockage, elle intervient tout d'abord dans la définition même de déchet solide dit biodégradable et, plus précisément, l'évaluation de la biodégradabilité (ou fermentescibilité) de ces déchets pour leur acceptation en centre d'enfouissement technique.

Cette notion de biodégradation et d'évaluation de la biodégradabilité doit également être considérée pour l'orientation des déchets vers des filières de traitements biologiques pour la réduction/élimination/stabilisation des déchets solides.

Les textes réglementaires se succédant, il s'avère qu'aucune définition précise des termes "biodégradable", "fermentescible", "compostable", "méthanisable" ne soit proposée. Parallèlement, les organismes français, européens et internationaux de normalisation développent des programmes de recherche visant à proposer des méthodes standards d'évaluation de la biodégradabilité, mais

principalement aujourd'hui tournées vers des molécules (comme les détergents) ou des matériaux spécifiques (comme les plastiques).

A partir de ce constat, cette étude se veut être une aide à la définition des termes "biodégradable", "fermentescible", "compostable" et "méthanisable" dans le domaine de la caractérisation et de la gestion des déchets organiques solides. Pour cela, il nous est apparu utile de réaliser une synthèse des processus biologiques impliqués dans la biodégradation de matrices solides. Cette première partie nous permettra de définir les termes liés à la notion de biodégradabilité. La seconde partie de l'étude sera consacrée à la présentation détaillée des procédures et normes d'évaluation existantes. Dans un troisième temps, nous présenterons en détail les principaux champs d'application concernés par l'évaluation de la biodégradabilité des déchets solides décrits ci-dessus.

# Partie I : Définition générale de la biodégradabilité de la matière organique : Bases biochimiques et microbiologiques

## *1.1- Introduction*

Il est important de préciser au début de cette étude que la notion de biodégradabilité concerne les matrices constituées en grande partie de matières organiques, à savoir la fraction organique des déchets ménagers ou assimilés et les déchets industriels organiques. Conformément au cahier des charges de ce programme, nous excluons du champ de l'étude les altérations microbiennes des déchets minéraux. Par ailleurs, en accord avec les tuteurs de l'étude, ce travail aborde uniquement la biodégradabilité des déchets solides ou boueux que nous définissons ici comme possédant un taux de matière sèche respectivement supérieur à 15% de la masse brute pour les déchets dits « solides », et compris entre environ 3 et 15% en masse pour les déchets dits « boueux ». Le cas des déchets liquides ne sera pas abordé au cours de cette étude.

Après la définition du terme biodégradation, de la notion de biodégradabilité des substances organiques et des termes qui leur sont couramment associés tels que bioaltération, biodétérioration..., nous présentons un rapide tour d'horizon des différentes activités microbiennes (métabolismes) impliquées dans les mécanismes énergétiques de dégradation biologique de la matière organique.

## *1.2- Biodégradation – Biodégradabilité– biotransformation*

Généralement, les termes liés à la notion de biodégradation sont définis à l'échelle moléculaire et non à l'échelle du matériau et concernent dans la plupart des cas des substrats organiques. Le terme **biodégradation** généralement retenu dans la littérature scientifique correspond à une action de dégradation d'un composé organique par des agents biologiques (généralement microbiens) avec comme seuls rejets, des produits simples tels que  $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $CH_4$ ,  $H_2$ ,  $Cl^-$ ..., mais encore des produits organiques simples (métabolites) tels que des acides organiques etc. Si la biodégradation du substrat organique est totale, c'est à dire formation uniquement de produits inorganiques tels  $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $CH_4$ ,  $H_2$ , on parle de **minéralisation** (Pelmont, 1993 ; Atlas, 1988). Le terme **biotransformation** implique la notion de transformation incomplète d'un substrat organique métabolisé qui n'aboutit donc pas forcément à son assimilation totale (Pelmont, 1993). Il peut s'agir par exemple d'une oxydation partielle du substrat qui se traduit par un rejet de produits intermédiaires (**métabolites**) dans le milieu.

Le terme **biodégradabilité** regroupe les qualités nécessaires à une substance pour subir un processus d'altération microbienne.

L'**altération** microbienne ou **bioaltération** concerne non seulement les substances organiques mais aussi les substances inorganiques et résulte soit d'attaques enzymatiques (action directe des micro-organismes), soit de modifications chimiques de l'environnement tels que le pH, sous-produit du métabolisme... qui ont pour conséquence l'altération physique et/ou chimique (action directe) (Bayard, 1993).

La **détérioration**, qui est l'action de détériorer ou son résultat, désigne une réduction de qualité ou de valeur du système (Gourdon et al, 1996). Ce terme est souvent utilisé pour les matériaux solides quelle que soient les plastiques, les pierres, les pièces métalliques etc. (Bayard, 1993). La **biodétérioration** se définit alors comme la réduction de qualité, de valeur ou de fonctionnalité du système considéré sous l'action directe ou indirecte et/ou partielle d'agents biologiques. Cette notion implique donc une appréciation du système en termes de « valeur » ou de « qualité » à partir des fonctions attribuées au système.

Ainsi, la communauté scientifique propose de distinguer la détérioration, qui désigne la réduction ou perte de fonction d'un système, et l'altération ou la dégradation qui concernent les modifications des structures mécaniques et/ou chimiques (minérales ou organiques) du système considéré et qui peuvent ou non entraîner une réduction des fonctionnalités (détérioration) du système.

### ***1.3- Micro-organismes, nutrition et écologie microbienne***

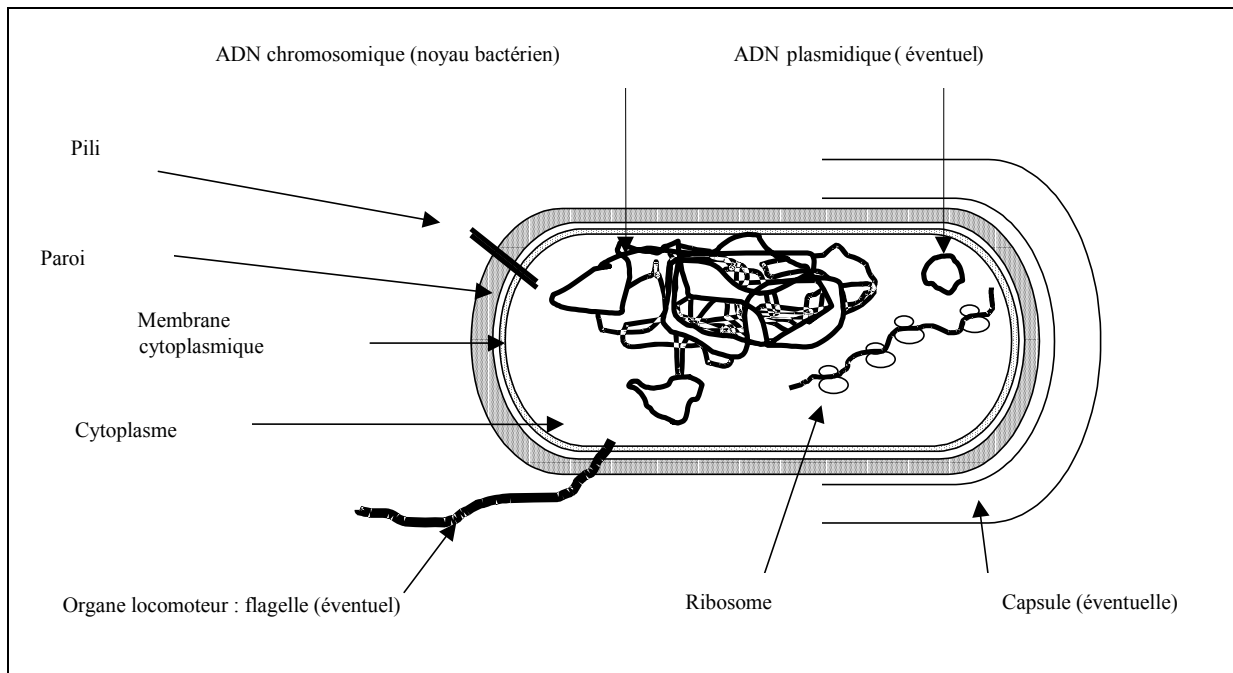
#### **1.3.1- Micro-organismes**

Pour simplifier, la notion de micro-organisme sera ici limitée aux **bactéries**, **levures**, **champignons filamenteux** (moisissures) et **algues** classés en deux groupes, **procaryotes** et **eucaryotes**, l'ensemble correspondant grosso modo aux **protistes**.

- **Eucaryotes** ou protistes supérieurs : (algues, protozoaires et champignons). Cellule avec un "vrai" **noyau** entouré d'une enveloppe nucléaire qui contient deux jeux semblables de chromosomes (cellule **diploïde**).
- **Procaryotes** ou protistes inférieurs (algues bleu-vert ou cyanophycées et bactéries). Cellule dépourvue d'un véritable noyau à tous les stades de son développement, un seul chromosome porteur de la grande majorité de l'information génétique (cellule **haploïde**).

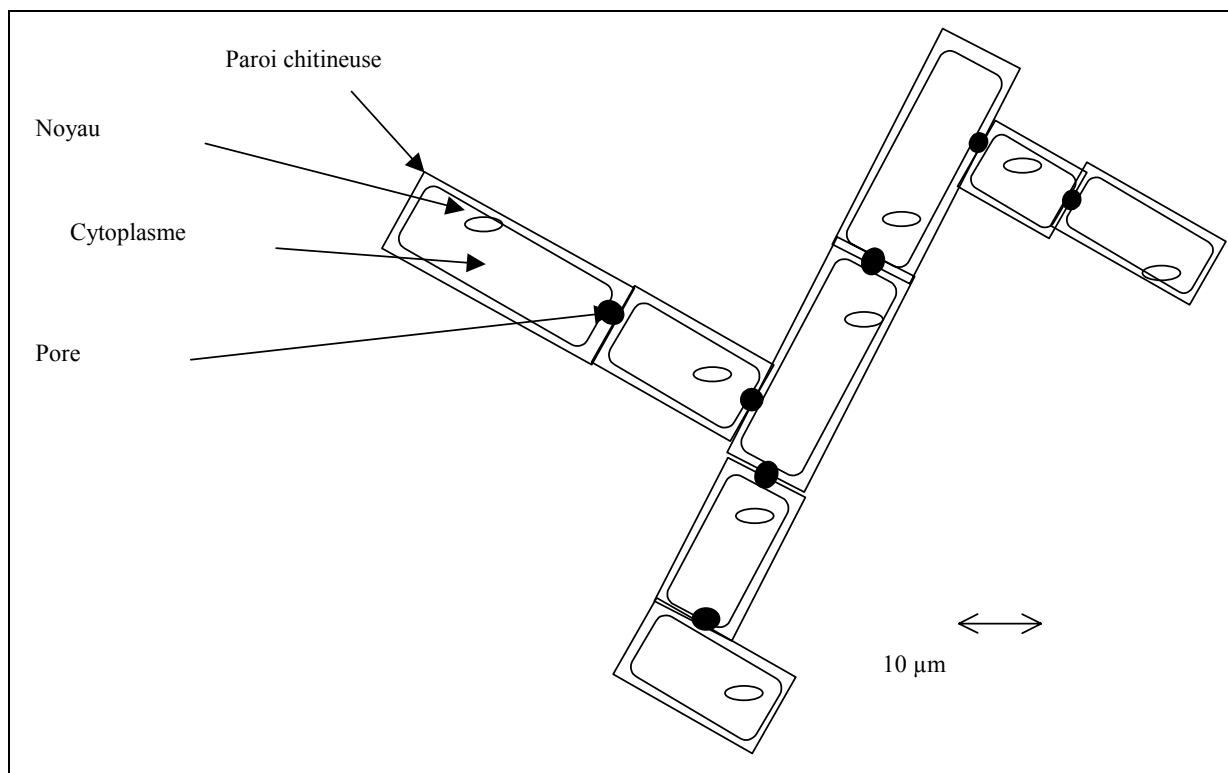
Les **bactéries** et les **algues bleues** (ou cyanophycées) sont les plus petits organismes connus (diamètre 1 µm, env.), doués de **métabolisme** et capables de **croître** et de se **diviser** aux dépens de substances

nutritives. Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires (voir figure 1). La membrane cytoplasmique joue un rôle fondamental dans les mécanismes de respiration et d'échanges chimiques avec le milieu extérieur. C'est une barrière qui empêche la fuite de composés intracellulaires et contrôle la pénétration des composés extracellulaires. La pénétration des éléments nutritifs est soit passive (diffusion selon la Loi de Fick), soit active (transport actif) avec l'intervention de protéines de transport, appelées **perméases**, présentes au niveau de la membrane cytoplasmique.



**Figure 1 : Schéma général d'une bactérie.**

Les **moisissures** ou **champignons filamenteux** sont des micro-organismes **eucaryotes** à métabolisme **aérobie**. Dépourvus de pigments chlorophylliens, ils sont incapables d'effectuer la photosynthèse des algues ou des plantes supérieures. Ils tirent leur énergie de l'**oxydation** de composés organiques. On les rencontre en très grand nombre sur la matière organique en décomposition. Les moisissures sont des champignons caractérisés par une structure **mycélienne**. Leur appareil végétatif se présente sous forme de filaments (**hyphes**) ramifiés, qui constituent le mycélium (ou **thale**) qui peut atteindre plusieurs mètres de longueur. L'organisation cellulaire est **cénocytique** : Ces filaments sont des tubes constitués de parois chitineuses qui constituent une enveloppe protectrice de la masse cytoplasmique mobile contenant de nombreux noyaux. Les hyphes laissent apparaître des cloisons transversales qui laisse supposer que ces filaments sont constitués de cellules séparées des unes des autres. En fait, les cellules communiquent entre elles par un pore central.

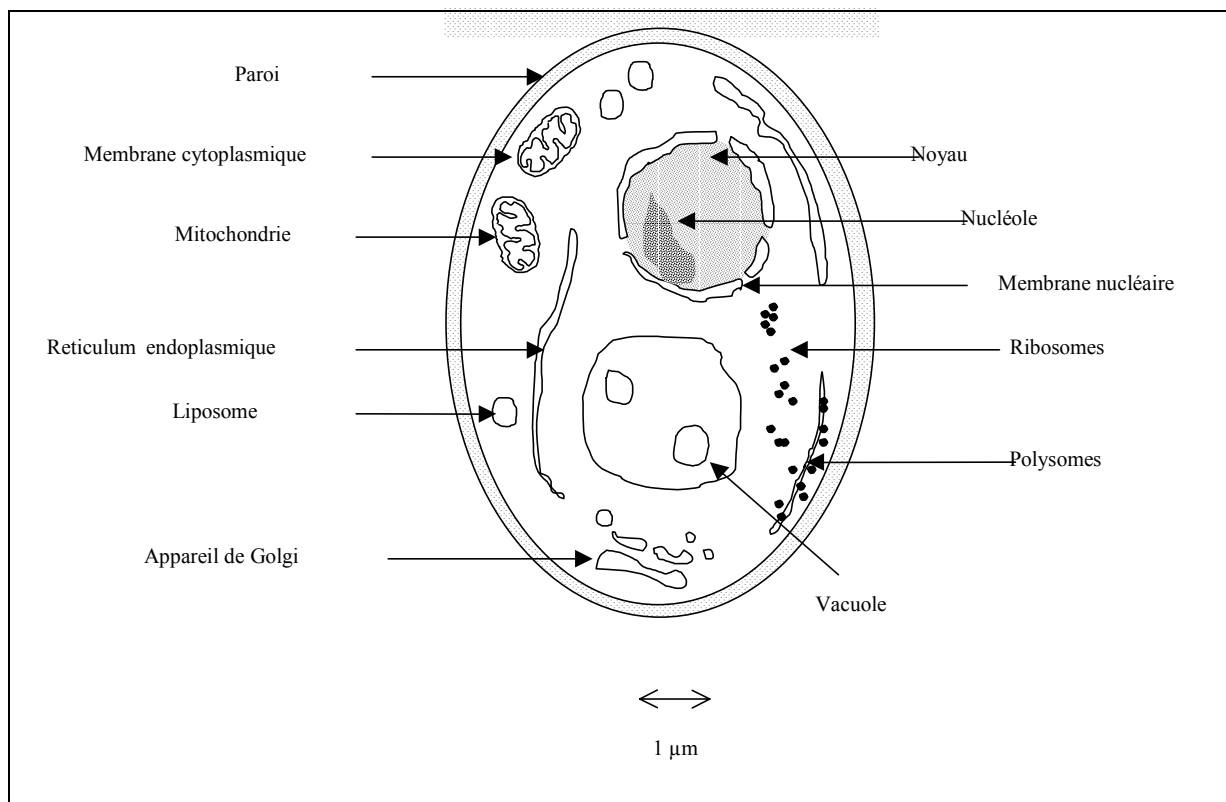


**Figure 2 : Schéma de la structure filamenteuse des moisissures.**

Contrairement aux bactéries qui peuvent disposer de flagelles, les champignons sont incapables de se déplacer à cause de la rigidité des parois des hyphes. Leur développement sur un substrat solide conduit rapidement à un mycélium macroscopique généralement visible. La reproduction a lieu par production de spores. Elle peut être sexuée ou asexuée.

Les levures sont une branche des **champignons** mineure en nombre d'espèces (seulement 350 espèces réparties dans 39 genres). Les levures sont des champignons qui ont perdu la propriété de former un **mycélium** et qui sont devenus **unicellulaires**. Depuis des siècles, les levures sont utilisées par l'homme pour produire des boissons alcoolisées, pour la panification... Elles se développent principalement dans les milieux riches en sucres. Elles sont robustes, peu exigeantes et à croissance rapide. Sur la figure 3, on voit que, en plus des constituants de la cellule procaryote, on a une membrane nucléaire, des **mitochondries** (siège des réactions **d'oxydo-réduction**, stockage **d'ATP**), des structures de **reticulum endoplasmique** (rôle dans l'anabolisme, stockage), et l'**appareil de Golgi** (anabolisme pour synthèse de complexes polymériques). Notons que les levures ont un métabolisme anaérobie facultatif. Les levures se reproduisent généralement par bourgeonnement (processus asexué).





**Figure 3 : Schéma d'une cellule de levure, *Saccharomyces cerevisiae*.**

### I.3.2- Nutrition et croissance microbienne

#### *I.3.2.1- Introduction*

Les micro-organismes se développent et se divisent pour donner naissance à des bactéries filles qui héritent de la cellule-mère du même potentiel d'activité. La croissance microbienne n'est possible que dans le cas où les micro-organismes peuvent satisfaire leurs besoins nutritifs dans leur environnement.

#### *I.3.2.2- Nutrition des micro-organismes*

Leurs exigences nutritives aussi variées que la nature des habitats où ils vivent : sol, eau... Les substances élémentaires sont les matériaux constitutifs de la cellule. Les substances énergétiques permettent à la cellule de réaliser la synthèse de ses propres constituants. Il existe donc un certain nombre de contraintes nutritionnelles pour permettre un optimum de croissance des micro-organismes :

- Les **aliments constitutifs** pour leurs constituants cellulaires : eau, C, H, N, O, S, P, etc....,
- Les **sources d'énergies** : lumière ou substances chimiques (organiques et/ou inorganiques),

- Les **nutriments spécifiques**, appelés **facteurs de croissance** car ce sont des substances indispensables, les micro-organismes étant incapables de les synthétiser eux-mêmes.

Ainsi, grâce aux aliments qu'on lui fournit et qu'elle dégrade, la bactérie synthétise ses propres constituants organiques. L'ensemble des échanges chimiques qui se produisent alors au niveau cellulaire constitue le métabolisme. Les multiples réactions assurant la dégradation d'un substrat libèrent simultanément de l'énergie qui servira à la biosynthèse, à la croissance et à la reproduction. Les aliments constitutifs des micro-organismes sont présentés dans le tableau 1 suivant.

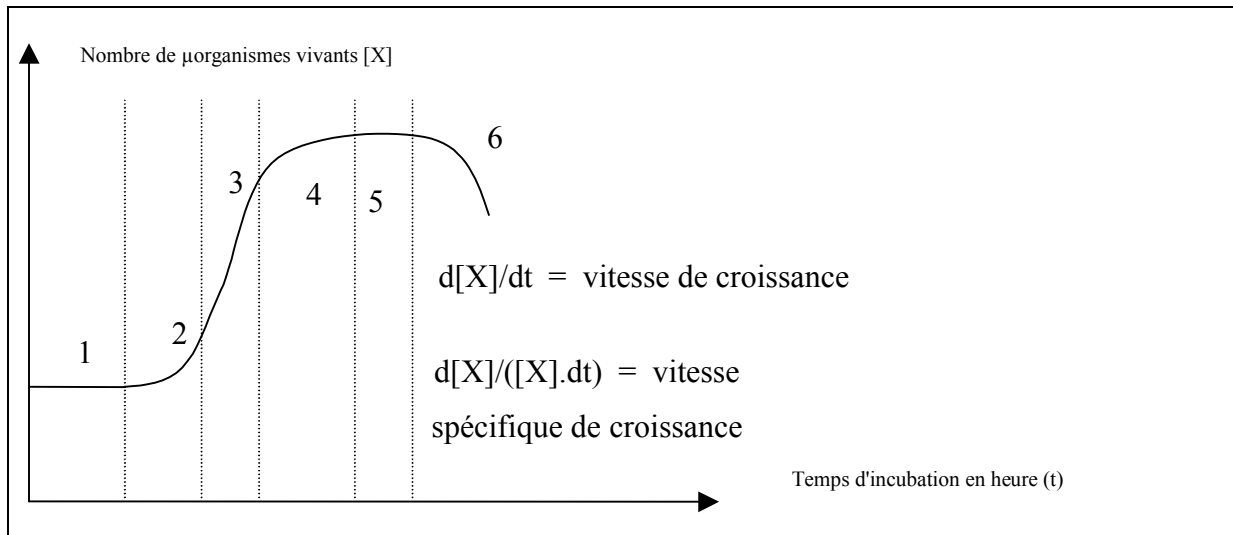
**Tableau 1 : Les aliments constitutifs des micro-organismes.**

<i>Constituant</i>	<i>Rôle</i>
<b>Eau</b>	75% du poids cellulaire, <b>si teneur &lt; 50%, développement limité.</b>
<b>Carbone</b>	45-50% du poids sec cellulaire, Micro-organismes <b>autotrophes</b> : capables de synthétiser leurs constituants organiques à partir de CO <sub>2</sub> ou de bicarbonates, Micro-organismes <b>hétérotrophes</b> : besoin de substances organiques pour se développer (la majorité des bactéries).
<b>Azote</b>	5-10% du poids sec cellulaire, Quelques bactéries fixatrices d'azote (N <sub>2</sub> ) : <i>Rhizobium sp</i> , <i>Azotobacter sp</i> ..., Azote utilisé sous la forme de nitrates, nitrites ( <i>Nitrobacter sp</i> ) ou ammonium, mais principalement, utilisation de l'azote sous <b>forme organique</b> (R-NH <sub>2</sub> ).
<b>Phosphore</b>	3% du poids sec cellulaire, Constituant des acides nucléiques ( <b>ADN</b> , ...), phospholipides, et des substances énergétiques telles que <b>ATP</b> .
<b>Soufre</b>	1-2% du poids sec cellulaire Constituant des acides aminés des protéines (Cystéine et méthionine, S sous la forme de groupements thiols -SH). Assimilation sous la forme de sulfures (S <sup>2-</sup> ). (rem. : Oxydation du soufre par <i>Thiobacillus sp</i> : transfert d'é des sulfures ou du soufre vers l'O <sub>2</sub> .
<b>Na, K, Mg, Cl,</b>	Rôle dans l' <b>équilibre physico-chimique</b> des cellules,
<b>Fe, Mg, ...</b>	Constituants de certains enzymes et coenzymes (cytochromes, chlorophylles, ...).
<b>Ca, Mg, Mn, Cu, ...</b>	<b>Oligo-éléments</b> indispensables sous forme de traces comme cofacteur ou activateur d'enzymes.

### ***1.3.2.3- Croissance des micro-organismes***

La **croissance** est définie comme l'accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme. Dans le cas de micro-organismes unicellulaires tels que les bactéries et les levures, le phénomène de

croissance se caractérise par une augmentation du nombre d'individus, entraînant progressivement une modification des caractéristiques du milieu de culture (appauvrissement en nutriments, enrichissement en métabolites, variation du pH, du potentiel d'oxydo-réduction ou de la conductivité...). Sans renouvellement du milieu, on assiste à un appauvrissement du substrat consommable et à un enrichissement en métabolites (produits intermédiaires ou finals du métabolisme). Dans un milieu liquide homogène, agité et non renouvelé, la courbe de croissance microbienne présente six phases successives.



**Figure 4: Courbe de croissance d'une culture bactérienne**

- La **phase 1** correspond à une phase de latence durant laquelle les micro-organismes s'adaptent au milieu de culture en synthétisant les enzymes dont ils auront besoin pour coloniser ce substrat. La durée de cette phase dépend de la nature du substrat et de la "qualité" de l'ensemencement.
- Durant la **phase 2**, le nombre d'organismes et la vitesse spécifique de croissance (ou taux de croissance) augmentent.
- Au-delà d'une certaine concentration en substrat (Loi de Monod, 1942), le taux de croissance  $\mu$  demeure constant tandis que le nombre d'individus continue d'augmenter. (**phase 3**).
- Au cours de la **phase 4**, on assiste à un épuisement du substrat et à une accumulation de métabolites pouvant être toxiques.
- La **phase 5** est une phase stationnaire durant laquelle le nombre d'organismes nouveaux équilibre parfaitement le nombre de "morts".

### I.3.3- Notions générales d'écologie microbienne et facteurs d'influence de la croissance

#### *1.3.3.1- Introduction à l'écologie microbienne*

La croissance, la multiplication et la mort des micro-organismes sont influencés par un grand nombre de conditions environnementales favorables ou défavorables à leur développement (Atlas, 1988). Quel que soit l'environnement naturel considéré (on parle également de **biotope**), une espèce microbienne n'est jamais seule. Bien au contraire, elle doit **cohabiter** ou disparaître face à la « concurrence » d'autres espèces microbiennes de caractéristiques métabolites, physiologiques et nutritionnelles qui peuvent être parfaitement identiques, similaires ou complètement différentes. L'ensemble des micro-organismes présents dans un écosystème donné est appelé **communauté**. La communauté est donc un assemblage de **populations microbiennes** qui coexistent et inter-agissent les unes entre elles dans un même **habitat (cohabitation)**. Un écosystème est un système autonome incluant les micro-organismes d'une communauté et l'environnement physico-chimique de cette communauté (Atlas, 1988 ; Alexander, 1997). Chaque population de la communauté occupe un « espace fonctionnel », également appelé **niche écologique** au sein de la communauté. Cette notion de niche fonctionnelle est également liée à la notion de **microhabitats** qui correspondent à des sous-systèmes bio-physico-chimiques particulier au sein de l'écosystème ou biotope.

D'une grande diversité métabolique, les espèces microbiennes ne se développent pas toutes dans les mêmes conditions. Chaque espèce, voir chaque souche microbienne, a ses propres tolérances pour chaque paramètre environnemental spécifique en fonction de ses capacités physiologiques et génétiques (Atlas, 1988). Evidemment, dans une communauté biologique et dans un écosystème donné, il existe de nombreux types d'interactions entre les diverses populations microbiennes. Il peut s'agir soit d'interactions bénéfiques, soit d'interactions défavorables pour une population donnée. Les principales interactions possibles sont décrites dans le Tableau 2 suivant.

**Tableau 2 :Principales interactions possibles entre différentes populations dans un système donné (d'après Atlas, 1988 ; Alexander, 1994, 1997).**

<i>Interaction</i>	<i>Description</i>
<b>Commensalisme</b>	<b>Interaction unidirectionnelle</b> entre deux populations au bénéfice de l'une d'entre elles. <i>Exemple : modification d'un paramètre physique de l'écosystème permettant de créer les conditions favorables de développement d'une autre population microbienne</i>
<b>Cométabolisme</b>	<b>Transformation</b> d'une substance chimique <b>sans profit direct</b> pour le micro-organisme. <i>Exemple : C'est le cas de nombreuses bactéries qui, synthétisant certaines enzymes tels que les oxygénases pour oxyder et assimiler un premier substrat, vont involontairement oxyder un deuxième substrat organique qui pourra être assimilé par une autre bactérie.</i>
<b>Synergisme (ou protocoopération)</b>	<b>Coopération bénéfique</b> entre deux populations microbiennes sans nécessité d'association directe. <i>Exemple : deux populations capables de survivre indépendamment qui se développent avec plus de facilité conjointement (bénéfice bidirectionnel).</i>

<b>Syntrophisme</b>	Cas particulier de synergie où les deux populations microbiennes assurent l'une part rapport à l'autre leur besoin nutritionnel, de manière indispensable.
<b>Symbiose ou mutualisme)</b>	<b>Coopération bénéfique</b> avec nécessité d'une relation directe entre une population microbienne et un autre organisme. Le mutualisme est une relation synergique particulière. <i>Exemple : Fixation de l'azote par des bactéries associées au système racinaire de certaines plantes dites fixatrices d'azote</i>
<b>Compétition</b>	<b>Interaction négative</b> entre deux populations aux dépends de l'une d'entre elles ou des deux. <i>Exemple : c'est le cas de nombreuses bactéries qui utilisent dans un écosystème les même ressources nutritives (en particulier, le même substrat organique).</i>
<b>Exclusion compétitive</b>	<b>Compétition</b> particulière entre deux populations <b>occupant la même niche écologique</b> mais qui n'ont pas forcément le même rôle fonctionnel. Cette compétition se traduit par une occupation de la niche par une population microbienne au dépend de l'autre
<b>Antagonisme</b>	<b>Interaction négative</b> entre une population dont le développement inhibe la croissance d'une autre population. <i>Exemple : Il s'agit très souvent de métabolites (produits secondaires ou déchet du métabolisme) synthétisés par une espèce qui ont pour effet d'inhiber la croissance d'une autre espèce.</i>

### I.3.3.2- Facteurs environnementaux

**+** Les **conditions physico-chimiques** de croissance des micro-organismes dépendent de l'environnement (température, pression...).

**Tableau 3 : Facteurs physico-chimiques de croissance des micro-organismes.**

<b>Facteurs</b>	<b>Rôle</b>
<b>Température</b>	- Organismes <b>psychrophiles</b> : temp. optimale < 1°C - <b>Psychrotrophes</b> : temp. optimale entre 5 et 15°C, - <b>Mésophiles</b> : temp. optimale entre 20 et 40°C, - <b>Thermophiles</b> : temp. optimale > 50°C.
<b>pH</b>	- pH optimal compris entre 3 et 6 pour les champignons Neutralité pour la plupart des bactéries. Cependant, certaines bactéries sont acidophiles ( <i>Thiobacillus thiooxidans</i> avec optimum de croissance pour pH = 2) ou basophiles (certains <i>Vibrio</i> )
<b>Oxygène</b>	Aérobic ou Anaérobic (stricte ou facultative)
<b>Salinité</b>	Détermine la pression osmotique Micro-organismes halophiles qui se développent dans les saumures

Le caractère biodégradable d'un matériau solide organique ou d'une molécule organique dépend d'un certain nombre de facteurs externes et de paramètres, caractéristiques intrinsèques au matériau. Ainsi, en 1992, un rapport de l'association Record (Association RECORD, 1992) proposait une série de quatre grandes causes pour expliquer le caractère récalcitrant de certaines molécules à la biodégradation. Globalement les deux premières causes rejoignent ce qu'on a désigné précédemment par "paramètre intrinsèque", les deux dernières par le terme "facteur externe".

Plus que de rechercher la biodégradabilité d'un matériau, beaucoup d'études s'efforcent de mettre en avant les critères qui empêchent une molécule, un matériau, de se dégrader sous l'action de micro-organismes dans un délai donné.

◆ Causes chimiques :

- **Poids moléculaire, structure, charge** : les composés à faible masse moléculaire et/ou à structure chimique linéaire sont plus facilement biodégradables. De même l'adhésion des micro-organismes peut être favorisée par l'existence de forces de type Van der Waals et les interactions électrostatiques.

- **Nature, nombre et position des substituants** : le Tableau 4 donne quelques exemples de substituants influençant favorablement ou non la biodégradabilité de la molécule.

**Tableau 4. Substituants influençant la biodégradabilité des substrats organiques.**

Substituants favorisant la dégradation	Substituants gênant la dégradation
OH	F
COOH	Cl
NH <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>
OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>
	SO <sub>3</sub> H

◆ Causes physico-chimiques :

- *Solubilité,*
- *Aptitude à former ou non des émulsions,*
- *Etat physique inadapté (solide, liquide, gazeux),*
- *Aptitude à s'adsorber sur des surfaces,*
- *Aptitude à former des liaisons ioniques ou covalentes avec les supports.*

D'une manière générale, toutes les caractéristiques physico-chimiques qui tendent à augmenter la disponibilité et la surface de contact entre le substrat et les micro-organismes facilitent la biodégradation dudit substrat. Par exemple, un corps soluble sera plus facilement mis à disposition de micro-organismes présents dans l'environnement aqueux.

◆ Causes environnementales :

- **Concentration trop faible, trop grande ou trop variable.** En effet si le substrat à dégrader n'est présent qu'en très petite quantité, sa disponibilité auprès des micro-organismes sera limitée. A l'opposé, s'il est surabondant, la faune bactérienne ne pourra plus répondre efficacement, la syntrophie nécessaire au bon fonctionnement des processus de dégradation, abordée dans le paragraphe précédent, sera brisée.
- **pH** : le pH optimal pour les champignons est compris entre 3 et 6. En revanche la plupart des bactéries se développent à un pH proche de la neutralité. Ainsi, par exemple, l'activité acétogène est optimale pour des valeurs de pH 7 à 7,4. (Gourdon, 1987). Seules les bactéries acidogènes

supportent des pH inférieurs à 6 et s'adaptent facilement à des pH de l'ordre de 4 [20]. Dans le cas de la méthanisation, les populations les plus sensibles aux variations de pH sont les acétogènes (optimum 7,2) et les méthanogènes (optimum entre 7 et 8). Les méthanogènes sont fortement inhibées en dessous de 6,5. En milieu trop acide (pH<6) il y a inhibition de la méthanogenèse et de l'acétogenèse pouvant entraîner l'accumulation d'acides organiques (20).

- **Température** : on peut distinguer quatre classes d'organisme selon leur tolérance à une certaine plage de température. Les *psychrophiles* dont la température optimale est inférieure à 1°C, les *psychrotrophes* entre 5 et 15°C, les *mésophiles* entre 20 et 40°C et les *thermophiles* puis *thermophiles extrêmes* au-delà de 60°C.

**Tableau 5 : Classification physiologique des bactéries en fonction de la température [30].**

Type physiologique	Température de croissance (°C)	
	minimale	Maximale
Psychrophile	0	20
Mésophile	>20	< 40
Thermophile modéré facultatif	> 41	> 55
Thermophile modéré obligatoire	> 55	75
Thermophile extrême (hyperthermophiles)	> 60	> 80* (* optimum > 80)

Selon Hartz et al. (1982), la température mésophile optimale pour la dégradation des ordures ménagères est comprise entre 35 et 41°C. La méthanogenèse et plus généralement la croissance anaérobie est relativement lente à une température inférieure à 20°C. La température est donc un facteur important à surveiller lors de la dégradation de la matière organique, mais il convient de noter que l'évolution de la température peut être aussi une conséquence de cette activité microbienne.

- **A<sub>w</sub> (water activity)** : toutes les bactéries ont besoin d'eau pour leur croissance et leur reproduction. La disponibilité de l'eau est un facteur important de la croissance bactérienne. Par définition, l'eau distillée pure a une activité en eau (A<sub>w</sub>) de 1,0. Le paramètre A<sub>w</sub> est un indicateur de la quantité d'eau qui est disponible pour les réactions. Elle est équivalente à la notion d'humidité relative dans l'atmosphère. Des phénomènes d'adsorption ou de solubilisation peuvent réduire la disponibilité de l'eau et donc A<sub>w</sub>. Par exemple, une solution saturée de NaCl a une activité en eau de 0,8, l'eau de mer de 0,98. La plupart des bactéries ont besoin d'une activité en eau supérieure à 0,9 pour leur métabolisme (Atlas, 1988). Un développement microbien n'est possible que dans des milieux ayant des activités en eau comprises entre 0,6 et 0,99 environ (Gourdon et al, 1996).

- **Potentiel rédox** : selon le potentiel oxydant ou réducteur du milieu étudié, certaines réactions pourront se réaliser ou, au contraire, seront impossibles. Cela joue donc également un rôle important dans la biodégradation de la matière organique. Mais, comme pour la température, il faut noter que l'activité microbienne peut faire varier ce potentiel. Ainsi, une croissance extensive de bactéries hétérotrophes utilisant l'oxygène disponible fait baisser le potentiel rédox du milieu de manière significative (Atlas, 1988).
- **Nutriments** : certains composés comme le calcium, le magnésium, le sodium ou le potassium stimulent la méthanogenèse (Gendebien et al., 1992). De même certains métaux à l'état de trace comme le fer, le cobalt, le molybdène, le sélénium ou le tungstène stimulent la méthanogenèse. En 1990, Graindorge montrait que le nickel était indispensable à la croissance des bactéries méthanogènes (Graindorge, 1990).
- **Présence d'inhibiteurs** : certaines molécules étrangères aux réactions étudiées mais présentes dans le milieu peuvent limiter la capacité métabolique de la micro-faune. Il convient alors de distinguer les substances interdisant totalement ces réactions de celles qui ne font que les ralentir. En 1982, Taylor indiquait comme principaux inhibiteurs potentiels de la méthanogenèse, les métaux lourds, les hydrocarbures chlorés, les AGV, les détergents, les substances analogues au méthane (chloroforme, etc), l'ammoniaque, les oxydants tels que l'oxygène. Un même composé pouvant être toxique ou non (voire même bénéfique et indispensable à l'état de trace) en fonction de sa concentration et de sa disponibilité dans le milieu.

◆ *Causes biologiques :*

- *Absence de la microflore appropriée,*
- *Absence d'enzymes exocellulaires ou d'agents émulsifiants,*
- *Incapacité des micro-organismes à métaboliser le produit par impossibilité d'induire les enzymes, les systèmes transporteurs nécessaires ou par production d'intermédiaires métaboliques terminaux toxiques.*

Enfin le **facteur temps** est largement à prendre en compte dans ces phénomènes de biodégradation. Beaucoup de molécules peuvent subir une dégradation par des micro-organismes, mais parfois à très long terme. La notion de biodégradabilité sera donc à nuancer en la confrontant à la durée d'incubation nécessaire à la dégradation de la molécule ou du déchet envisagé. Notons toutefois ici que le caractère "acceptable" d'un délai de dégradation est largement déterminé par les contraintes économiques ou environnementales du scénario considéré.

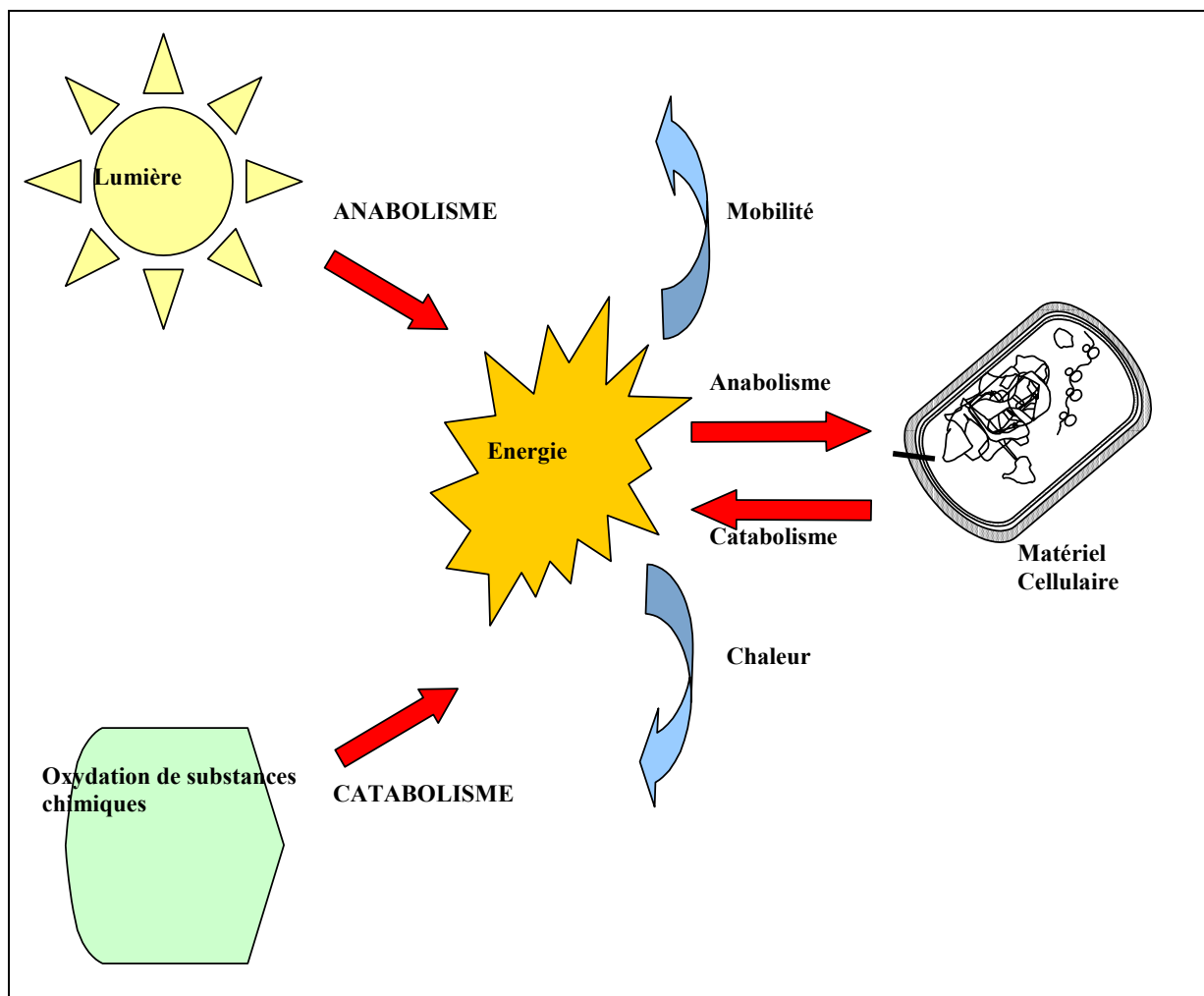


## ***1.4- Métabolismes énergétiques***

Les micro-organismes se développent et se multiplient grâce à leur métabolisme énergétique basé sur des réactions d'oxydo-réduction. On appelle métabolisme énergétique l'ensemble des réactions et échanges chimiques qui se produisent au niveau cellulaire pour permettre à la cellule de retirer et transformer l'énergie nécessaire à sa vie. On parle de **catabolisme** pour les réactions de dégradation qui fournissent à la cellule énergie et matière, et **d'anabolisme** pour les réactions de biosynthèse (Gourdon et Bayard, 1998). Les réactions d'oxydo-réduction, c'est à dire de transfert d'électrons et de protons, entre un substrat donneur (oxydé) et un ou des accepteurs (réduits) libèrent en effet de l'énergie en quantité proportionnelle à la différence de potentiel des couples redox mis en jeu.

Pour qu'une réaction d'oxydation puisse avoir lieu, il est indispensable qu'une substance (accepteur) puisse dans les conditions du milieu se réduire et ainsi capter les électrons (et généralement les protons) libérés par la réaction d'oxydation. Cela est thermodynamiquement possible si le potentiel du couple donneur est inférieur à celui du couple accepteur.

Le métabolisme microbien est constitué de la somme totale des réactions d'oxydo-réduction de dégradation ou de synthèse moléculaire effectuées au niveau de la cellule (Leclerc et al, 1983). En fait, l'anabolisme et le catabolisme sont des phénomènes étroitement liés étant donné que l'énergie récupérée au cours de l'oxydation des substrats inorganiques et/ou organiques permet de fournir l'énergie et les molécules intermédiaires (métabolites) nécessaires à la biosynthèse de nouvelles molécules constituant le matériel cellulaire. La diversité des conditions environnementales de la planète explique la (bio)diversité du monde microbien et la variété et complexité des métabolismes énergétiques. Les besoins énergétiques peuvent être satisfaits soit par la photosynthèse où la lumière est la source d'énergie (cas des algues et des bactéries photosynthétiques), soit par l'oxydation des substances chimiques (voir Figure 5). Les différents types de métabolisme permettent de classer les micro-organismes en trois catégories trophiques :

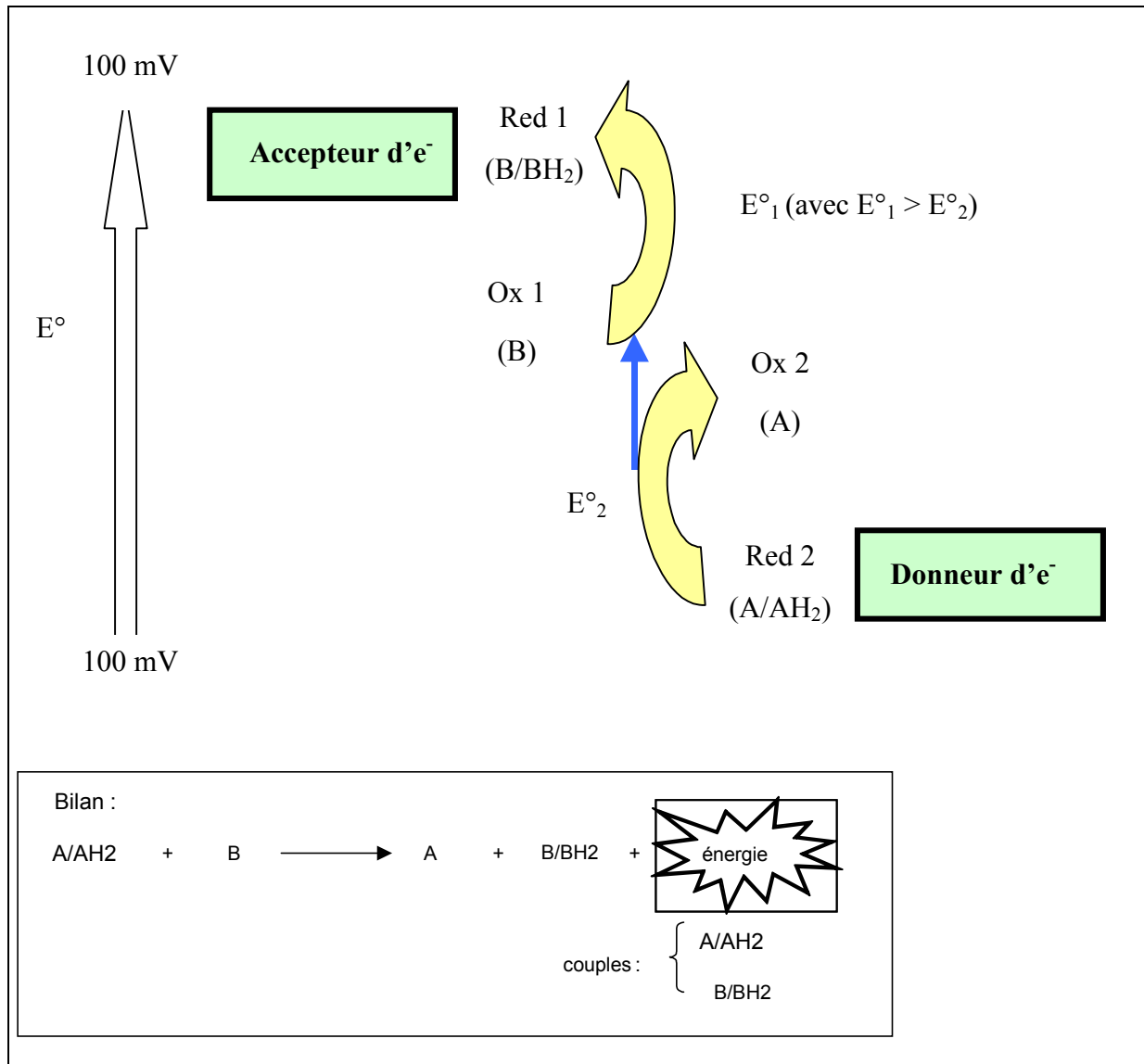


**Figure 5 : Métabolisme énergétique.**

- *Autotrophe / hétérotrophe* : contrairement à un autotrophe, un micro-organisme hétérotrophe ne peut pas utiliser le CO<sub>2</sub> comme source de carbone. Il doit donc oxyder des composés organiques afin de récupérer le carbone qui les compose.
- *Phototrophe / chimiotrophe* : les organismes phototrophes utilisent la lumière comme source d'énergie, tandis que les chimiotrophes la tirent de l'oxydation des composés chimiques.
- *Organotrophe / lithotrophe* : les organotrophes utilisent, comme substrat énergétique, des composés organiques. Les micro-organismes lithotrophes utilisent des composés minéraux (inorganique).

Les micro-organismes impliqués dans la biodégradation sont dépourvus d'outils métaboliques leur permettant d'utiliser la lumière comme source d'énergie (photosynthèse possible seulement avec des pigments photosynthétiques). Ils utilisent donc a fortiori l'énergie libérée à partir des réactions d'oxydation de substrats organiques et inorganiques appelés alors donneurs d'électrons. Les réactions se produisent dans le sens qui permet une libération d'énergie ( $\Delta G < 0$ ), c'est à dire si le transfert d'électrons s'effectue en remontant les potentiels, des valeurs négatives vers les valeurs positives. Elles nécessitent cependant l'intervention des enzymes, catalyseur chimiques de nature hétéroprotéique, synthétisés par les micro-organismes. Les enzymes sont constituées d'une partie protéique

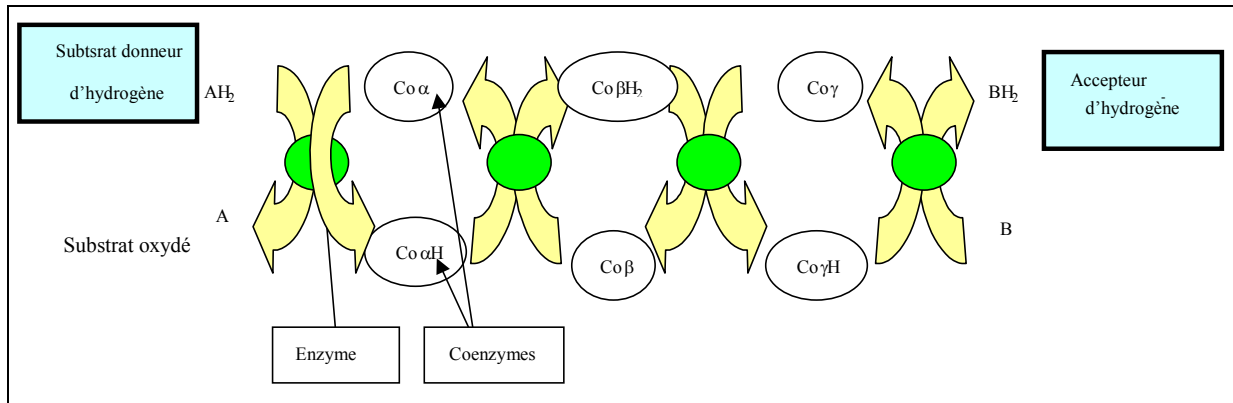
(apoenzyme) qui, par sa conformation, donne la spécificité de l'enzyme vis à vis de son substrat, et d'une partie minérale ou organique (coenzyme) qui détermine le type réaction chimique catalysé par l'enzyme. Dans le cas par exemple des déshydrogénases, les coenzymes assurent le transfert successif des électrons et des protons du substrat oxydé vers l'accepteur final.



**Figure 6 : Principe général des réactions d'oxydo-réduction.**

On définit  $E^\circ$  comme le potentiel standard à  $\text{pH} = 7$ , lorsque la forme oxydée et la forme réduite sont à concentration molaire, à  $25^\circ\text{C}$ , et à la pression de 1 bar. Les électrons sont transférés du donneur sous la forme réduite (Red 2 ou substrat sous la forme  $\text{AH}_2$ , voir Figure 6) vers l'accepteur sous la forme oxydée (Ox 1 ou substrat sous la forme B). L'opération produit de l'énergie si le potentiel du couple Ox 2 / Red 2 (ou A /  $\text{AH}_2$ ) est inférieur à celui du couple Ox 1 / Red 1 (B /  $\text{BH}_2$ ). Plus grande est la différence entre  $E^\circ_1$  et  $E^\circ_2$ , plus grande est l'énergie produite. Le transfert des électrons et des protons du donneur vers l'accepteur est en fait réalisé par toute une série d'étapes par l'intermédiaire de catalyseurs enzymatiques tels que les déshydrogénases et les coenzymes qui forment une **chaîne de**

**transport électronique** (voir Figure 7) Ce sont les coenzymes (cytochromes, etc...) qui jouent le rôle d'accepteurs et de donneurs intermédiaires.



**Figure 7 : Chaîne de transport électronique.**

Ainsi, de nombreuses substances peuvent être utilisées comme source d'énergie. Les micro-organismes **chimio-organotrophes** sont capables de dégrader les substances organiques naturelles ou xénobiotiques pour se procurer l'énergie et le carbone organique nécessaire à leur croissance. C'est la principale catégorie trophique susceptible d'être impliquée dans la biodégradation des déchets solides et semi-solides contenant de la matière organique.

### **1.5- Respiration aérobie, anaérobie, et fermentations**

La chaîne électronique de transfert des électrons est universelle pour tous les organismes vivants. La nature de l'accepteur final d'électrons et de protons détermine le type respiratoire des micro-organismes. On distingue trois catégories :

- ✗ Si l'accepteur est l'oxygène ( $O_2$ ), les micro-organismes sont dits **aérobies stricts**. C'est le cas des moisissures (champignons filamenteux) et d'un grand nombre de bactéries. Le métabolisme correspondant est la **respiration** (aérobie). L'oxygène est l'accepteur le plus favorable par suite de son potentiel élevé ( $E'_o = + 810 \text{ mV}$ ).
- ✗ Si l'accepteur est une substance minérale autre que  $O_2$ , on a affaire aux micro-organismes **aérobie/anaérobie facultatifs** (levures, certaines bactéries) ou **anaérobies strictes** (uniquement des bactéries). On parle de **respiration anaérobie** (l'accepteur final n'est ni  $O_2$ , ni un composé organique). C'est le cas par exemple de la respiration sur nitrates ( $NO_3^-$ ), utilisée quand l'oxygène n'est plus disponible en quantité suffisante.
- ✗ Si l'accepteur est une substance organique, on a le métabolisme de **fermentation** réalisé par des micro-organismes **anaérobie stricts** ou facultatifs. La fermentation est l'ultime procédé lorsqu'une respiration n'est pas possible (dans le cas de l'absence d'un accepteur minéral). La fermentation gaspille beaucoup de substrats pour un rendement énergétique médiocre.

En milieu aérobie, le couple  $O_2/H_2O$ , de potentiel +810 mV par rapport de l'ENH (électrode normale à hydrogène) autorise l'oxydation de beaucoup de substrats et est donc couramment utilisé par des organismes chimiotrophes que l'on qualifie alors d'*aérobie*. Une distinction est faite entre les

organismes aérobies stricts qui ne peuvent se passer d'oxygène et les aérobies facultatifs qui peuvent utiliser, à défaut, d'autres accepteurs d'électrons.

## ***1.6- Biodégradation de la matière organique***

### **1.6.1- Cycle biogéochimique du carbone - Généralités**

La matière organique naturelle est définie comme la matière spécifique des êtres vivants végétaux et animaux est dénommée **biomasse** (Mustin, 1987). La biomasse désigne donc l'ensemble de la matière organique d'origine végétale ou animale, morte ou vivante. L'origine de la biomasse primaire est la **photosynthèse** qui correspond à la synthèse de molécules organiques à partir d'éléments minéraux en utilisant l'énergie solaire. Seules les plantes et certains micro-organismes telles que les algues sont capables d'effectuer la photosynthèse. On distingue la biomasse dite renouvelable correspondant à la matière produite sur la planète (forêts, cultures, animaux sauvages et d'élevages, organismes du sol, etc.) et la biomasse dite fossile (charbon, pétrole, etc...) également issue de la biomasse « classique » mais accumulée pendant les temps géologiques (Mustin, 1987).

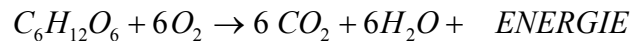
La matière organique « circule » le long de chaînes alimentaires (**chaînes trophiques**) très complexes qui font intervenir des organismes supérieurs et inférieurs tels que les micro-organismes et de nombreux compartiments de la biosphère. Le terme de « **cycles biogéochimiques** » est actuellement utilisé pour l'étude du transport et la transformation des substances naturelles dans l'environnement (**biosphère**) (Butcher et al, 1994). La matière organique fait partie du cycle biogéochimique du carbone.

Le **sol** constitue un compartiment très important du cycle du carbone en tant que **réservoir** du carbone organique. Le sol est la formation superficielle qui recouvre l'écorce terrestre. Il se forme sous l'effet de l'altération de la roche-mère (ou minéraux primaires) soumise à des agressions physico-chimiques, mécaniques et climatiques (température, humidité...) et biologiques (Duchaufour, 1991). Le sol est un écosystème biogéodynamique complexe d'**assimilation** du carbone atmosphérique sous la forme de CO<sub>2</sub> (assimilation par les organismes autotrophes et photosynthétiques : **biosynthèse**), de biodégradation et de biotransformation et de la matière organique (Butcher et al, 1994). Dans le domaine de la gestion et du traitement des déchets organiques, il joue un rôle central en tant que récepteur potentiel des déchets organiques traités ou non traités.

## I.6.2- Biodégradation de la matière organique

### I.6.2.1- Aspects généraux

Les processus métaboliques de l'ensemble des êtres vivants reposent sur la **biodégradation** de la matière organique. Par exemple, la respiration (dégradation oxydative) produit de l'énergie à partir de matière organique selon l'équation suivante :



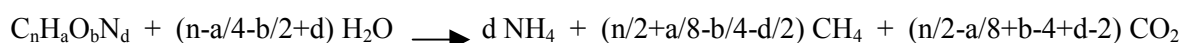
La circulation de la matière organique le long de chaînes trophiques (ou chaîne alimentaire) est liée à ces phénomènes alimentaires et énergétiques. Le dernier maillon de ces chaînes est constituée par les *décomposeurs* qui dégradent la matière organique (déjection, tissus morts...) non-consommée par les autres organismes, empêchant ainsi son accumulation : c'est ce mécanisme de dégradation biologique par l'action de micro-organismes que l'on nomme *biodégradation*. Les voies cataboliques suivies au cours de la dégradation de la matière organique dépendent principalement de la concentration en oxygène, c'est-à-dire des conditions d'aérobiose, d'anaérobiose ou d'anoxie du milieu.

#### - Catabolisme aérobie :

Les réactions de dégradation oxydatives consomment l'oxygène du milieu. Ces réactions étant fortement exothermiques. Elles peuvent s'accompagner d'une élévation de la température. Le métabolisme aérobie peut se poursuivre jusqu'à minéralisation complète des substrats biodégradables et conduit alors à des métabolites finaux correspondant aux formes oxydées des différents éléments constitutifs de la matière organique (C, H, N, P, S) : dioxyde de carbone, eau, carbonates ( $CO_3^{2-}$ ), bicarbonates ( $HCO_3^-$ ), nitrates ( $NO_3^-$ ), phosphates ( $PO_4^{3-}$ ), sulfates ( $SO_4^{2-}$ ) (Vincent, 1991, cité par Robles-Martínez, 1999).

#### - Catabolisme anaérobie :

L'évolution anaérobie de la matière organique est relativement complexe et dépend beaucoup de sa nature, de l'humidité, de la température ambiante et du pH du milieu. Les produits terminaux sont essentiellement le méthane ( $CH_4$ ), le dioxyde de carbone, l'eau et l'ammoniac. En 1983, Ehrig proposait une formule générale pour la dégradation anaérobie des molécules organiques complexes :



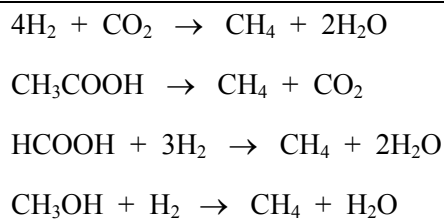
La dégradation anaérobie de la matière organique comporte quatre phases distinctes :

- **Phase d'hydrolyse** : les biopolymères (polysaccharides, lignine, protéines, acides nucléiques, lipides) sont hydrolysés en oligomères et monomères (sucres simples, acides aminés, acides gras et glycérol...) qui pourront ensuite servir de substrats aux micro-organismes.

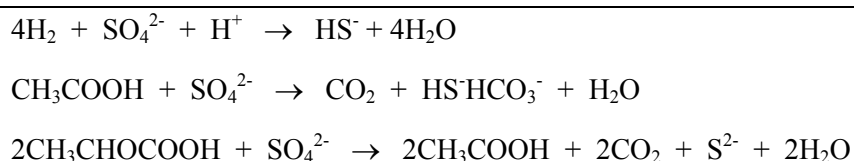
- **Phase d'acidogénèse** : des bactéries acidogènes dégradent les acides gras, acides aminés et sucres pour donner des acides gras volatils (AGV) tels que l'acide acétique, propionique ou butyrique (courte chaîne carbonée) mais aussi des alcools, du dioxyde de carbone ou du dihydrogène. La flore acidogène est constituée pour une partie de bactéries anaérobies facultatives (genres *Streptococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*...) mais aussi de bactéries anaérobies strictes (genre *Clostridium*).

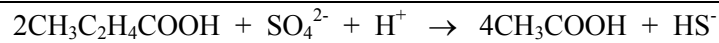
- **Phase d'acétogénèse** : les AGV et alcools formés précédemment sont transformés en acétate, dioxyde de carbone et dihydrogène par un groupe hétérogène de trois populations bactériennes : les bactéries fermentatives (genres *Selenomonas*, *Clostridium*, *Ruminococcus*), les bactéries productrices obligées d'hydrogène (OHPA en anglais) (genres *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*). Cette flore neutrogène peut être inhibée fortement en cas d'accumulation d'AGV (baisse du pH) si les bactéries acétogènes ne parviennent pas à dégrader suffisamment rapidement la production de la phase d'acidogénèse.

- **Phase de méthanogénèse** : phase strictement anaérobie durant laquelle l'acide acétique et les autres composés simples produits sont transformés en dioxyde de carbone et en méthane. Deux voies simultanées de production de méthane sont possibles, l'une directement à partir d'acétate ou de méthanol (acétoclastie), l'autre par réduction de l'ion bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) par l'hydrogène produit lors des étapes précédentes. Selon le substrat, on observe alors les réactions suivantes (Dumont et al., 1993) :



Comme pour la phase d'acétogénèse, un pH trop acide inhibe cette flore neutrophile. Dans un milieu riche en sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), la méthanogénèse peut être concurrencée par un phénomène de sulfato-réduction, processus biochimique de respiration anaérobie correspondant à un transfert d'électrons et de protons à partir d'un corps réducteur, substrat organique ou hydrogène moléculaire, vers un accepteur minéral, l'ion sulfate  $\text{SO}_4^{2-}$  (Dumont et al., 1993).





Les bactéries responsables de cette dégradation sont appelées d'une manière générale sulfato-réductrices (genres *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* notamment) (Dumont et al., 1993). Ainsi, à travers ces différents processus, en milieu aérobie ou anaérobie, les micro-organismes dégradent la matière organique en transformant les longues chaînes carbonées en composés élémentaires, l'eau, le dioxyde de carbone, le dihydrogène, le méthane...

### 1.6.2.2- Voies cataboliques des molécules organiques

Quel que soit le type respiratoire, les micro-organismes chimioorganotrophes ont pour priorité de cataboliser des substances organiques leur permettant de se procurer l'énergie nécessaire à leur croissance et leur multiplication. Les micro-organismes ont également besoin de carbone pour synthétiser leur structure telles que la paroi, la membrane, le noyau, etc. Pour cela, les micro-organismes disposent de deux sources possibles de carbone :

- **Carbone minéral** tel que le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et les carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (uniquement le cas des bactéries **autotrophes**),
- **Carbone organique** sous toutes ses formes possibles (cas des bactéries hétérotrophes et des moisissures). Le catabolisme des substances organiques donne naissance à de nombreux produits intermédiaires destinés à fournir les « pièces » élémentaires pour la (bio)synthèse (anabolisme) des molécules et macromolécules constituant des cellules. La biodégradation de la matière organique permet non seulement de fournir le carbone mais aussi l'énergie nécessaire à leur développement.

Ces réactions métaboliques de biodégradation nécessitent l'intervention de catalyseurs biologiques qui sont présents à l'intérieur des cellules. Elles impliquent les enzymes qui sont des structures protéiques (hétéroprotéines) spécifiques catalysant une réaction biochimique donnée. On les classe en fonction du type de réaction qu'elles catalysent (hydrolases, oxydo-réductases, transférases,...). L'oxydation aérobie d'un substrat organique en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et en eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) fournit à la cellule bien plus d'énergie que sa dégradation anaérobie. Prenons l'exemple d'un sucre, le glucose (glucide) qui représente la substance énergétique la plus facilement assimilable par les micro-organismes hétérotrophes :

- **En aérobiose :**



- **En anaérobiose :**

Fermentation lactique :



Méthanisation :

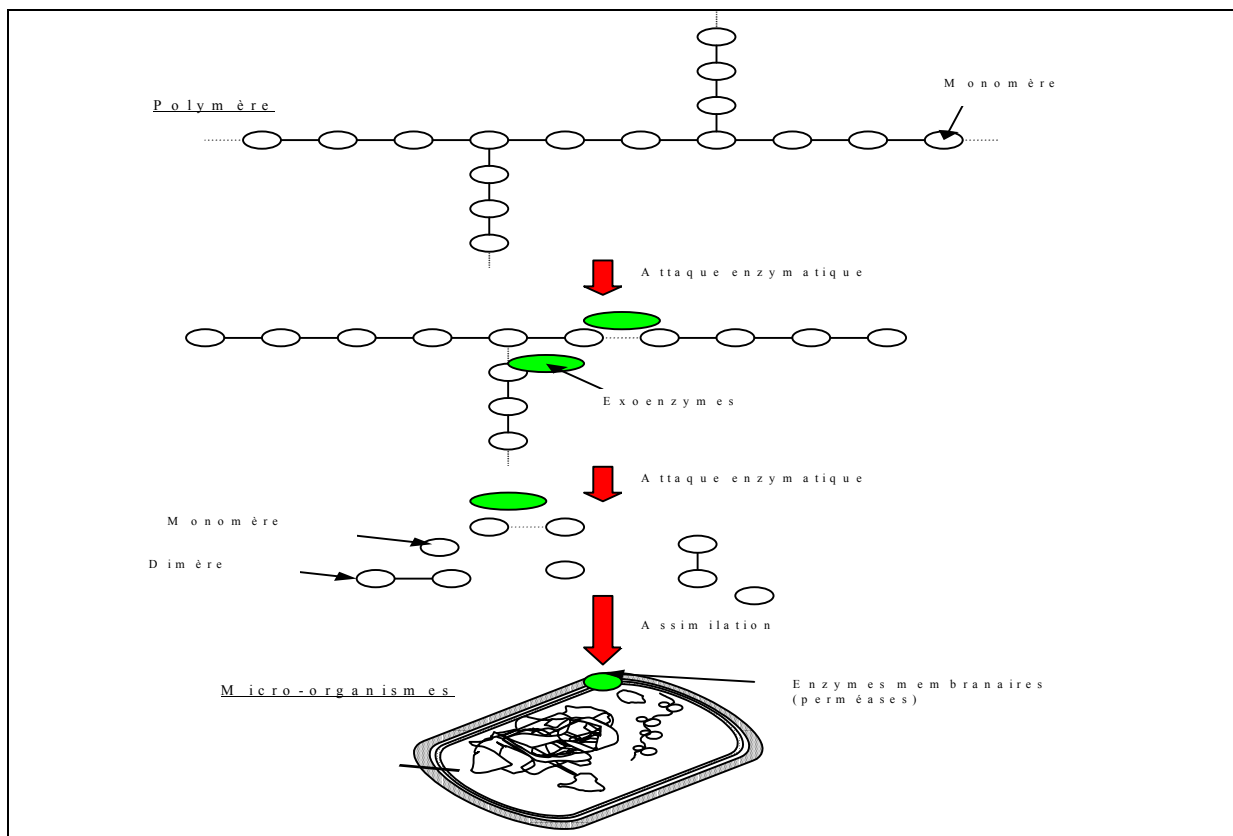




Ceci explique l'intérêt des traitements anaérobies pour la valorisation énergétique d'un substrat organique (qui peut être un déchet ou pas). En effet, on récupère alors un produit contenant une grande partie de l'énergie stockée dans le substrat de départ. Par exemple, on récupère avec le méthane  $(677 - 96)/677 = 86\%$  de l'énergie potentiellement contenue dans le glucose. En revanche, seule la biodégradation aérobie peut libérer suffisamment de chaleur pour élever la température du milieu (cas du compostage par exemple).

a) *Hydrolyse des polymères organiques :*

L'assimilation des substrats organiques n'est possible que dans la mesure où ils peuvent pénétrer à l'intérieur de la cellule. La plupart des substrats organiques naturel étant des macromolécules de type polymères et hétéropolymères complexes, la biodégradation passe nécessairement par une phase d'hydrolyse partielle des polymères. En effet, la membrane cytoplasmique des micro-organismes étant imperméable aux polymères, les micro-organismes doivent obligatoirement les hydrolyser en monomères (ou oligomères) qui, eux, pourront diffuser ou être transportés à l'intérieur de la cellule. L'hydrolyse est donc forcément effectuée à l'extérieur des cellules. Il y a intervention **d'exoenzymes**, enzymes hydrolytiques exocellulaires excrétés par les micro-organismes. L'hydrolyse des polymères n'apporte pas d'énergie aux cellules. L'assimilation des substrats n'est possible que s'ils pénètrent dans le cytoplasme après avoir traversé la paroi et la membrane cytoplasmique. Le schéma général de l'hydrolyse des polymères organiques est présenté dans la Figure 8.



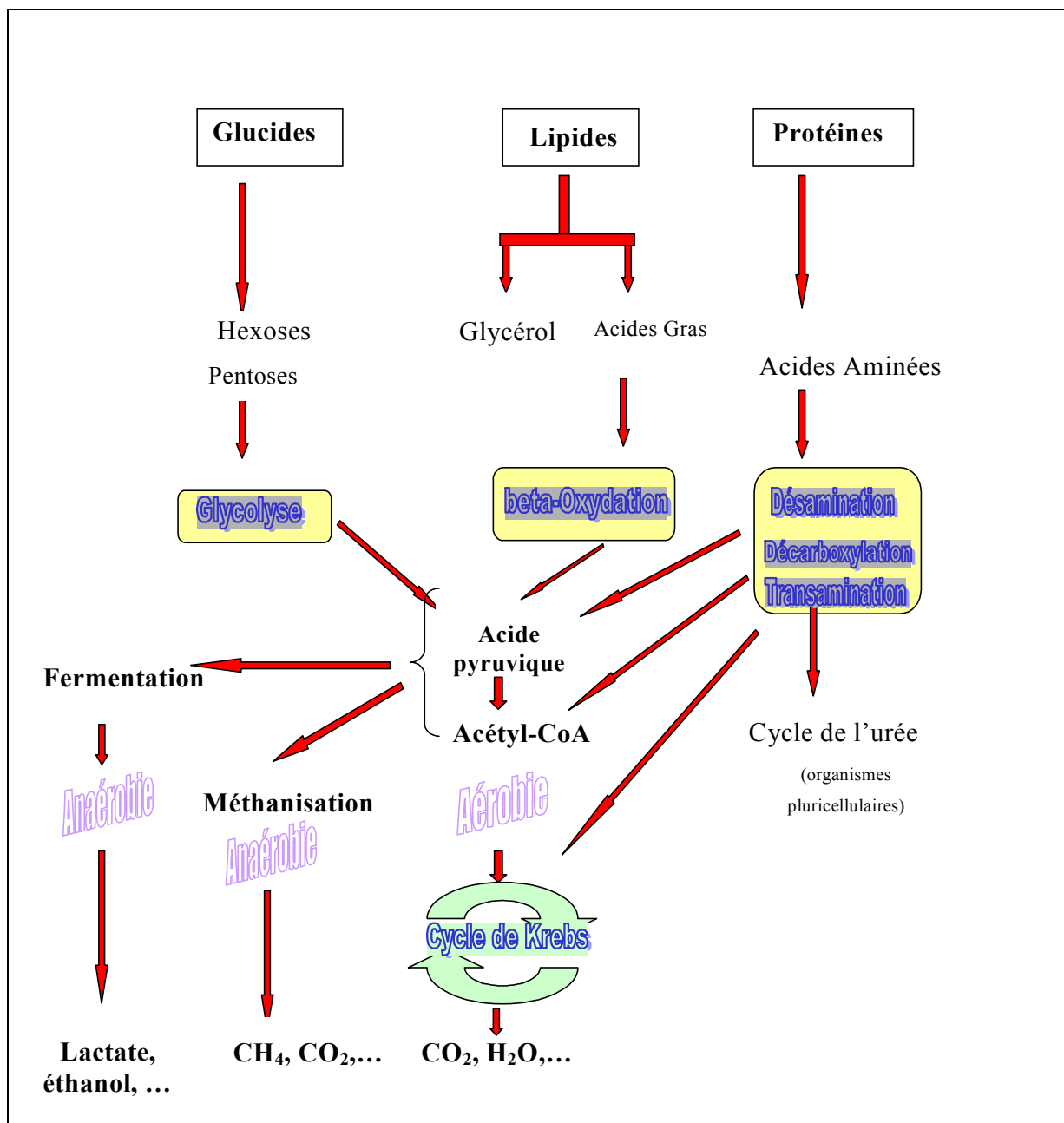
**Figure 8 : Hydrolyse des polymères organiques.**

Du point de vue biochimique, la matière organique d'origine naturelle peut être classée en trois grandes familles de substances : les glucides, les lipides et les protéines.

- Les **substances glucidiques** (polysaccharides) constituent le groupe des sucres constitués par définition essentiellement de carbone, d'oxygène et d'hydrogène. Les sucres les plus simples (monomères ou oses) sont les oses tels que le glucose, le fructose. Le saccharose est un diholoside constitué par un monomère de glucose et un monomère de fructose. Parmi les polymères glucidiques les plus courants (polyholosides), citons par exemple l'amidon, la cellulose et les hémicelluloses, la pectine et la chitine. L'amidon est constitué de chaînes linéaires d'amylose (formées de gluco-pyranose, liaisons 1-4) et de chaînes ramifiées d'amylopectine (formées de gluco-pyranose, liaisons 1-6). La cellulose est un polymère linéaire de monomères de glucose. Les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides non linéaires. Citons également la lignine, polymère aromatique également constitué de C,H,O abondamment présent dans la biosphère (notamment dans les sols) sous la forme de lignocellulose.
- Les **lipides** sont des esters d'acides gras présents abondamment dans la biosphère. La dégradation des polymères lipidiques sous l'action d'exoenzymes particulières (les lipases) conduit à la transformation en acides gras et glycérol, produits de faibles poids moléculaires assimilables par les micro-organismes.
- Les **protéines** sont des molécules complexes constituées d'acides aminés. Ces sous-unités de 20 types différents sont enchaînées les uns aux autres par des liaisons peptidiques. Les longues chaînes d'acides aminés forment des molécules très complexes (structures tridimensionnelles) de hauts poids moléculaires. L'assimilation microbienne de telles structures nécessite également l'intervention d'enzymes (protéinases) catalysant la coupure des liaisons peptidiques et la destruction de l'arrangement moléculaire. Les protéines dégradées sont ensuite assimilées sous la forme d'acides aminés ou sous la forme de peptides constitués de quelques acides aminés.

#### *b) Assimilation des oligomères et des monomères*

L'hydrolyse des polymères organiques conduit donc à la formation de monomères ou de produits de faible poids moléculaire. L'assimilation de ces fragments est possible par diffusion au travers de la membrane. Cette assimilation est facilitée par une pénétration **active** (consommation d'énergie) qui fait intervenir des enzymes membranaires appelées perméases (transporteurs membranaires). La décomposition des produits d'hydrolyse est effectuée dans le cytoplasme de la cellule selon le schéma de la Figure 9 suivante. Le catabolisme permet de fournir l'énergie sous forme chimique (ATP) et les éléments de base nécessaires pour la biosynthèse (anabolisme) des composés constitutifs de la cellule.



**Figure 9 : Les principales voies cataboliques.**

Le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides sera pas détaillé dans ce rapport. La Figure 9 permet de souligner que le métabolisme suit des voies en partie communes pour les différents substrats énergétiques avec pour métabolite commun, l'acétyl-CoA.

### I.6.3- Biotransformation de la matière organique

#### *I.6.3.1- Biosynthèse*

Comme nous l'avons déjà vu précédemment, le catabolisme permet de fournir aux micro-organismes l'énergie mais aussi les produits qui leur sont nécessaires à la synthèse biologique (ou **biosynthèse**)

des milliers de composés organiques complexes qui les constituent. Cette biosynthèse est également appelée **anabolisme** ; catabolisme et anabolisme étant indissociables sous le terme global de métabolisme (Leclerc et al, 1983). Comme pour les organismes supérieurs, les molécules constitutives des micro-organismes sont généralement des macromolécules complexes telles que les polymères linéaires ou ramifiés formés de sous-unités (ou monomères). Il s'agit de glucides, lipides et de protéines entrant dans la composition de la paroi, de la membrane, du noyau et de tous les éléments du cytoplasme.

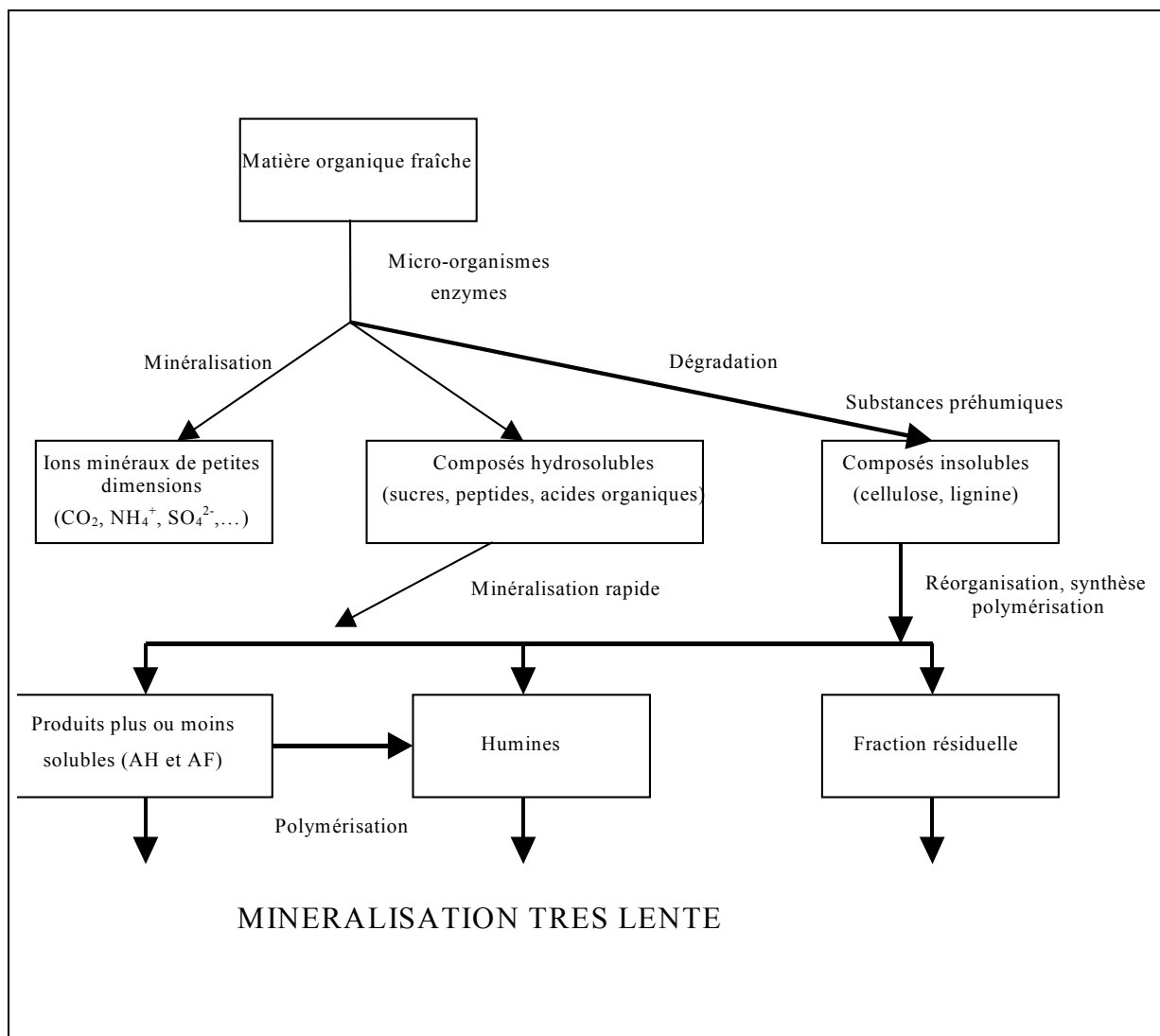
En terme de traitement des déchets organiques, la biosynthèse peut s'apparenter à une transformation biologique (**biotransformation**) permettant de stabiliser biologiquement (**biostabilisation**) une matière organique pour réduire les pollutions et les nuisances associées à son caractère **bioévolutif** (Gourdon, 2001). Cette matière organique est en effet transformée sous la forme d'une biomasse microbienne chimiquement et biologiquement plus stable.

#### ***1.6.3.2- Biostabilisation dans les sols : processus d'humification de la matière organique***

La matière organique s'incorpore lentement dans les sols par le processus d'**humification** qui conduit à la formation d'une matière organique stable appelée **humus** (Bonneau et Souchier, 1994). Présente naturellement dans les sols, on distingue deux types de matière organique :

- *La fraction organique vivante composée de la microflore du sol, de sa faune et des racines des plantes supérieures,*
- *La fraction organique morte constituée des débris organiques, d'origine animale ou d'origine végétale, plus ou moins décomposés en humus sous l'action des micro-organismes du sol.*

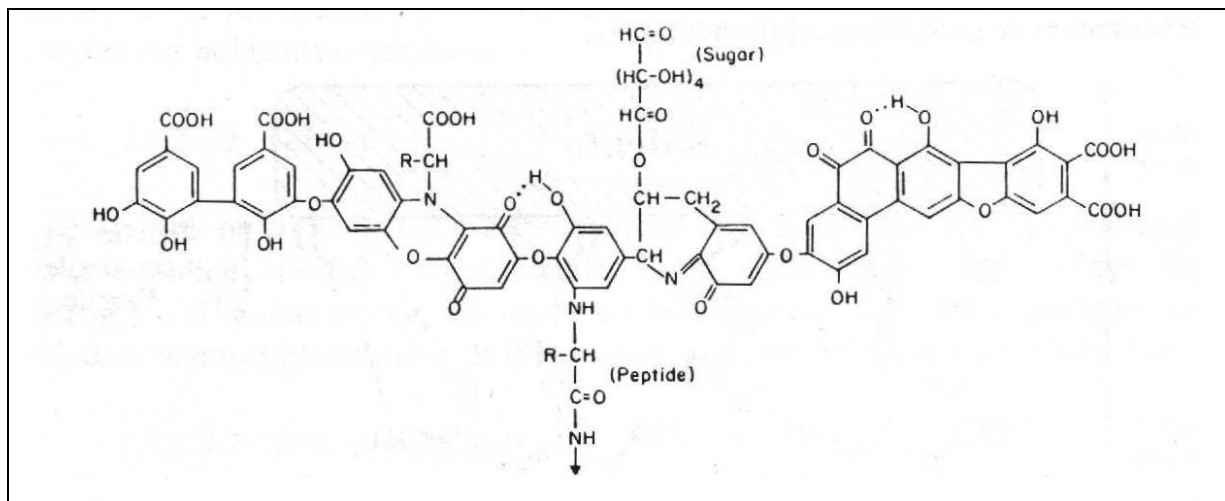
Les matières humiques proviennent de la **décomposition** et de la **réorganisation** des matières organiques contenues dans les sols (Wershaw, 1993). Les agents microbiens présents dans le sol jouent un rôle important dans la dégradation des matières organiques (Domergues et Mangenot, 1970). La matière organique fraîche (MOF) constitue la matière première de l'humus. Elle est formée de déchets végétaux et animaux présents dans les sols. Ces biomolécules de types polyphénols, carbohydrates, protéines et lipides se décomposent tout d'abord sous l'action de micro-organismes puis se condensent sous la forme de macromolécules qui constituent l'humus. La Figure 10 représente schématiquement le processus d'humification de la matière organique dans les sols.



**Figure 10 : Processus d’humification de la matière organique dans les sols (Dauthuille, 1982).**

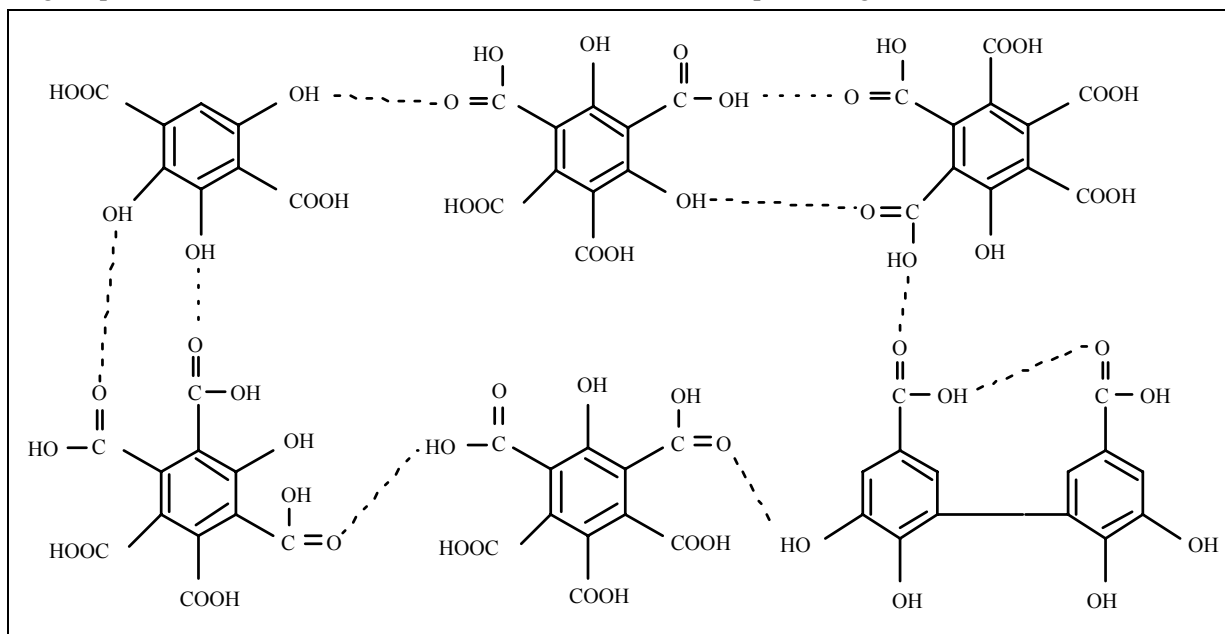
L’humus (ou substances humiques SH) se caractérise par sa complexité et la grande variété des polymères organiques qui le constitue (Duchaufour, 1991 ; Schwoerer, 1998). L’identification de ces constituants est étroitement liée aux techniques d’extraction employées pour leur étude. Généralement, on effectue des extractions chimiques en conditions alcalines (Barriuso et al, 1985). Sur la base des méthodes d’extraction utilisées et des caractéristiques de solubilité, on distingue trois familles de molécules, dont les proportions varient suivant les sols : les humines, les acides fulviques AF et les acides humiques AH. Les acides fulviques sont alcalino-solubles et acido-solubles alors que les acides humiques sont uniquement solubles en solution alcaline. Les humines correspondent aux composés organiques insolubles en milieu alcalin. Les acides humiques et fulviques sont des macromolécules avec des structures moléculaires tridimensionnelles très complexes comprenant des sites hydrophobes et hydrophiles (Wershaw, 1993). Ces polymères contiennent de nombreux constituants aromatiques. Les acides humiques ont un poids moléculaire 100 fois plus élevées que les acides fulviques. Les acides fulviques se caractérisent par la présence d’un plus grand nombre de fonctions COOH. Il est

difficile de définir précisément la structure spatiale des acides humiques et fulviques en raison d'une part de leur grande complexité et, d'autre part, de leur variabilité suivant les sols considérés. Cependant, il existe un certain nombre de modèles de structure chimique de ces deux composés. La Figure 11 et la Figure 12 présentent respectivement les modèles communément employés pour la représentation des acides humiques et fulviques :



**Figure 11. Modèle de structure des acides humiques proposé par Stevenson (1982).**

Stevenson (1982) propose un modèle à base de noyaux aromatiques et de quinones. Les unités d'acides humiques sont associées entre elles formant ainsi des polymères à hauts poids moléculaires. Les nombreux groupements chimiques favorisent l'association avec non seulement d'autres composés organiques mais aussi avec des éléments minéraux du sol tels que les argiles.



**Figure 12 : Modèle de structure des acides fulviques proposé par Schnitzer et Khan (1972).**

Les acides fulviques se composent de noyaux benzéniques et de groupes d'acides carboxyliques et phénoliques. Les liens entre chaque unité sont assurés par des liaisons hydrogènes. Ainsi, la présence de nombreux groupements carboxyliques et phénoliques des acides humiques et fulviques facilite les

réactions de polymérisation avec d'autres composés organiques et de complexation avec les ions minéraux présents dans les sols favorisant alors la formation de complexes argilo-humiques.

La plupart des procédés de traitement biologique des déchets organiques tels que le compostage ou la méthanisation doivent permettre d'une part la réduction de la masse du déchet et, d'autre part, d'assurer sa **stabilisation**, son **hygiénisation** sous la forme d'un produit final qui doit s'apparenter à de l'humus (Mustin, 1987). Le compostage reproduit le processus d'humification qui a lieu très lentement dans les sols.

La qualité d'un compost ou d'un digestat dépend de la stabilité de la matière organique résiduelle. Ces critères peuvent être appréciés en évaluant le degré d'humification de la matière organique. On utilise le rapport AH/AF qui augmente en fonction du degré d'humification. L'indice d'humification calculé à partir du pourcentage d'acides humiques par rapport au carbone organique total (COT) permet aussi d'évaluer la stabilité des produits finaux de traitement biologique de la matière organique.

#### I.6.4- Notion de biodégradabilité de la matière organique

##### *I.6.4.1- Introduction*

La diversité des habitats aux caractéristiques physico-chimiques variés (pH, température, salinité, présence d'oxygène, présences de diverses sources de carbone organique etc.) explique la diversité physiologique des micro-organismes et leur ubiquité vis à vis des sources de carbone organique biodégradables (Madsen, 1997). En effet, les capacités biodégradatrices des champignons et des bactéries ne se limitent pas seulement aux trois grandes familles de substrats organiques présentés ci-dessus mais concernent également des substrats organiques plus difficiles à dégrader car peu solubles dans l'eau. Il s'agit des **hydrocarbures** (chaînes hydrocarbonées), de **molécules aromatiques**, de **phénols**, **d'hétérocycles** et **d'organo-halogéné**, (Alexander, 1994). L'activité humaine a contribué à **disperser** les espèces chimiques naturelles sur l'ensemble de l'écosystème. Les transformations chimiques du charbon et du pétrole ainsi que la synthèse de nouvelles molécules dites xénobiotiques (« étrangère à la vie ») ont également contribué à augmenter la diversité chimique de notre écosystème. Devant la transformation des biotopes à la suite de l'introduction de molécules toxiques, les micro-organismes s'adaptent en modifiant ou développant de nouvelles « stratégies métaboliques » (Madsen, 1997). La pression sélective sur les micro-organismes s'explique par quatre mécanismes distincts :

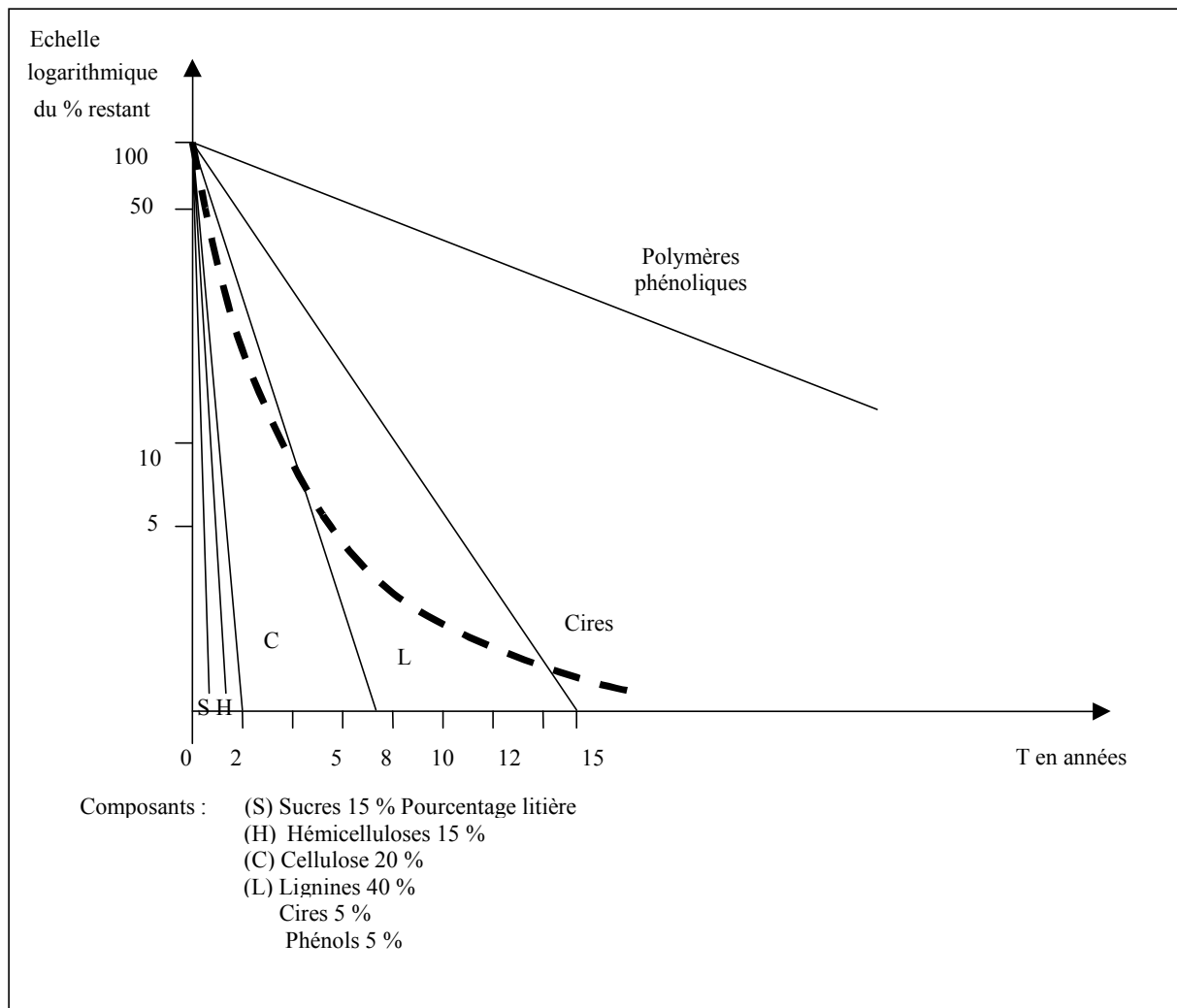
- 1- *Se procurer une source d'énergie et de carbone organique (substrat = nutriment),*
- 2- *Détoxification d'une molécule par attaque enzymatique (substrat = poison),*
- 3- *Attaque enzymatique du substrat sans bénéfice pour le micro-organisme (ie cométabolisme),*
- 4- *Dégradation du substrat liée à la production de métabolites ou bien liés aux modifications des conditions physico-chimiques du milieu.*

#### ***1.6.4.2- Biodégradabilité des composés organiques naturels (biomasse)***

Les composés issus de la biomasse comme les aliments ou les déchets verts sont, en principe, facilement biodégradables. Leur biodégradabilité dépend avant tout des facteurs environnementaux suivants :

- Facteurs écologiques et physiologiques : Il s'agit des caractéristiques biologiques et physico-chimiques du milieu qui influencent l'activité des micro-organismes impliqués dans les mécanismes de biodégradation. Citons le pH, la température, le potentiel redox, la quantité d'oxygène ou le récepteur d'électrons adéquat disponible et accessible, les composés minéraux ou organiques nutritionnels et les produits éventuellement présents dans le milieu, la présence de micro-organismes inhibiteurs ou coopérateurs (Manfé, 1994).
- Facteurs structuraux : Ils correspondent à la nature même des polymères organiques. Comme nous l'avons déjà expliqué précédemment, la biodégradabilité d'un déchet organique dépend en effet de sa composition chimique et notamment de la présence de certaines molécules. La plupart des composés organiques issus de la biomasse ont une bonne aptitude à la biodégradation. Que ce soit dans le règne animal ou végétal, les cellules les plus facilement biodégradables sont les tissus riches en sucres simples, les muscles, les cellules chlorophylliennes, les tissus reproducteurs. En règle générale, la complexification des cellules va à l'encontre de leur biodégradabilité. Ainsi les polysaccharides végétaux constituant les parois (lignine, lignocelluloses), les fibres collagènes, les squelettes des animaux supérieurs sont les tissus et composés organiques les plus difficilement biodégradables (Mustin, 1987, voir Figure 13).





**Figure 13 : Taux de biodégradation des composants de la biomasse végétale dans les sols et litières (d’après Mustin, 1987)**

***1.6.4.3- Biodégradabilité des composés organiques de synthèse***

Les composés chimiques organiques d’origine biologique peuvent être dégradés par les micro-organismes lorsque les conditions environnementales le permettent. La situation est différente dans le cas des molécules organiques synthétisées par l’homme et qui sont étrangères à la nature. Certains de ces molécules xénobiotiques telles que certains pesticides, ne sont biodégradables qu’après une éventuelle mutation et adaptation progressive de certains micro-organismes. Pour d’autres substances xénobiotiques récalcitrantes, la présence de composés facilement biodégradables est nécessaire (cométabolisme).

Le caractère récalcitrant (non biodégradable) des molécules xénobiotiques est à mettre en relation avec l’existence ou non du ou des micro-organismes possédant les enzymes capables d’attaquer cette molécule. Le principe de « l’infailibilité microbienne » cité par Alexander (1965) et Rogers (1961) dit

que «pour toute molécule il existe quelque part un micro-organisme capable de le dégrader dans certaines conditions du milieu ».

Le principale mécanisme enzymatique suivie par les micro-organismes pour l'assimilation et/ou la détoxification de substrats organiques peu dégradables est : l'oxydation enzymatique par des mono-oxygénases ou dioxygénases (oxygénases) : il y a formation de groupes polaires qui permettent d'augmenter la solubilité de nombreux substrats organiques peu solubles dans l'eau (hydrocarbures ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques) et de faciliter ainsi leur assimilation (Cerniglia, 1992 ; Pelmont, 1993 ; Bossert and Kosson, 1997). C'est également un mécanisme de biodégradation des composés nitroaromatiques (Nishino et Spain, 1997) et des substrats organochlorés tels que les chlorobiphényles (PCB) (Focht, 1997). Pour ces derniers, la déchlorination bactérienne a été démontrée en condition anaérobie avec formation de métabolites facilement biodégradables en aérobiose (Abramowicz, 1990). Il existe actuellement un certain nombre de travaux qui s'intéressent à la prédiction informatisée de la biodégradabilité à partir des réactions connues de biodégradation (Bollag, 1974 ; Niemi et Veith, 1989 ; SEFA, 1990).

# **PARTIE II : Notion de biodégradation dans le domaine de la gestion et du traitement des déchets organiques**

## ***II.1- Introduction***

La première partie de l'étude a permis de mettre en évidence que la notion de biodégradation et de biodégradabilité et les nombreux termes qui leur sont associés sont liés non seulement aux caractéristiques chimiques des molécules organiques considérées mais aussi aux agents microbiens responsables de la biodégradation et aux conditions de milieu. En effet, la biodégradation de la matière organique est basée sur le catabolisme microbien et de l'expression de ce métabolisme qui dépend étroitement de la nature du substrat organique et des conditions environnementales du biotope de l'écosystème considéré (conditions physico-chimiques et biologiques). Par conséquent, dans le cas des déchets solides contenant une fraction non négligeable de matière organique, la notion de biodégradation est indissociable de la définition et de la description détaillée du scénario considéré. Cette seconde partie de l'étude est consacrée à une présentation des domaines de gestion et de traitement des déchets où la biodégradation a une incidence, qu'elle soit recherchée comme dans le cas du compostage ou de la méthanisation ou subie ou souhaitable comme lors de l'enfouissement en CET (Centre d'Enfouissement Technique). Le premier paragraphe propose un bref rappel des principaux types de déchets ou sous-produits concernés par les aspects biodégradation.

## ***II.2- Principaux déchets concernés***

### **II.2.1- Biomasse et déchets organiques**

Les micro-organismes sont le dernier maillon de la chaîne des décomposeurs. A ce titre, leur rôle dans les écosystèmes et les cycles de la matière est fondamental. On appelle **biomasse** l'ensemble des végétaux et des animaux, ainsi que les déchets organiques qui leur sont associés. Depuis très longtemps, l'homme utilise la biomasse pour se nourrir, se loger, se meubler, se vêtir, se chauffer et cuisiner, et comme source de composés chimiques.

La notion de biodégradation et de biodégradabilité implique que le matériau ou le déchet solide soit transformable sous l'action de micro-organismes dans des conditions environnementales données, c'est à dire que la matière qui le constitue puisse être utilisée par les micro-organismes pour leur permettre de vivre à ses dépens. Le terme « biodégradation » est généralement réservé aux composés organiques. Par conséquent, seuls les déchets contenant de la matière organique sont potentiellement

biodégradables. Pour les déchets minéraux susceptibles de subir des agressions microbiennes, on parlera plutôt de biodétérioration. Nous considérons donc uniquement les déchets essentiellement organiques (teneur en carbone organique de l'ordre de 40 à 50% de la masse sèche) associés à l'exploitation ou à la consommation de la biomasse (tels que les sous-produits d'élevage, de cultures ou de l'industrie agro-alimentaire, et les ordures ménagères) qui contiennent une fraction non négligeable de matières organiques. Ces déchets sont potentiellement biodégradables car ils sont constitués de molécules organiques d'origines naturelles susceptibles de s'insérer dans les cycles biogéochimiques de la matière (en particulier, le cycle du carbone). Les déchets industriels peuvent être également concernés dans la mesure où ceux-ci présentent des concentrations en matière organique non négligeables.


En France, la production annuelle de déchets est de l'ordre de 600 millions de tonnes (environ 10t/habitant/an) dont la provenance est globalement répartie en résidus urbains (34 millions de tonnes dont 21 d'ordures ménagères), déchets industriels (150 millions de tonnes dont 100 d'inertes et 7 de spéciaux), et déchets de l'agriculture (400 millions de tonnes dont 280 d'élevages et 45 d'industries agro-alimentaires) (Desachy, 1996, cité par Riachi, 1998).

## II.2.2- Déchets agricoles et agro-alimentaires

Les **déchets agricoles** correspondent aux déchets associés au niveau primaire de production agricole. Avec une production estimée à 375 millions de tonnes par an, l'agriculture s'affiche comme le premier secteur économique producteur de déchets. Les fumiers, les lisiers et autres déchets d'élevage représentent à eux seuls 280 millions de tonnes. Les déchets générés par les "Industries agro-alimentaires" (IAA) sont estimés à 45 millions de tonnes par an soit un gisement global annuel de déchets agricoles et agro-alimentaires de 420 millions de tonnes (évaluation ADEME, 1999). Ils peuvent être classés de deux manières :

### Classification au niveau de la production du déchet :

- **Déchets agricoles** (produits au niveau de la production agricole),
- **Déchets agro-alimentaires** (produits au niveau du stockage, du conditionnement et de la transformation des produits agricoles).

 **Classification en fonction de l'origine du déchet :**

- **Origine animale :**

- Déchets d'élevage (déjections animales, ...),
- Déchets des abattoirs, de l'équarrissage et des autres industries de la viande,
- Déchets des industries de conserverie,
- Déchets des industries de la pêche,
- Déchets de laiteries et de fromageries.

- **Origine végétale :** (déchets pauvres en azote)

- Résidus de culture,
- Déchets des industries agro-alimentaires (IAA : conserveries, brasseries, etc.),
- Déchets de l'aquaculture.

Le traitement des effluents des industries agro-alimentaires en station d'épuration (STEPI) génèrent également des boues riches en matière organique et donc potentiellement biodégradables nécessitant également la mise en place de filières de traitement adaptées.

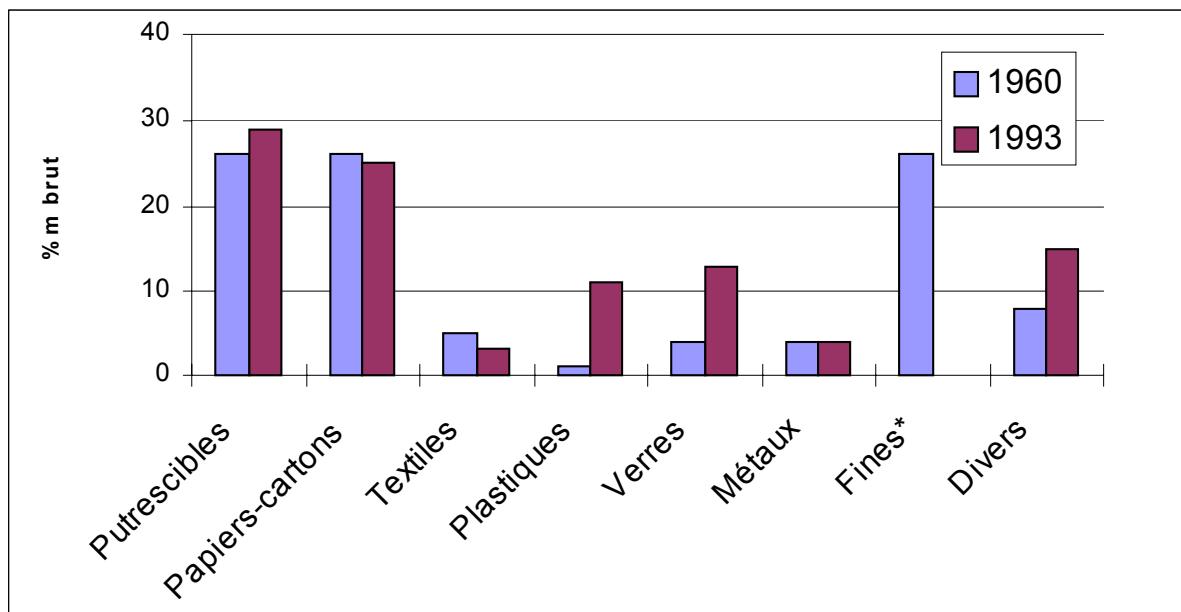
### II.2.3- Déchets municipaux

Les déchets municipaux regroupent les **ordures ménagères** (environ 21 Mt/an en France) définies comme étant "les résidus de la vie domestique", auxquels s'ajoutent divers types de déchets selon les modes de collecte : déchets de la voie publique, déchets encombrant des ménages, déchets verts, déchets de bureaux, déchets de certaines petites et moyennes entreprises et petites et moyennes industries. Les déchets municipaux se répartissent à parts égales entre les déchets des ménages et les déchets collectifs comme l'indique le Tableau 6 suivant :

**Tableau 6 : Composition des déchets municipaux (IFEN, 1998).**

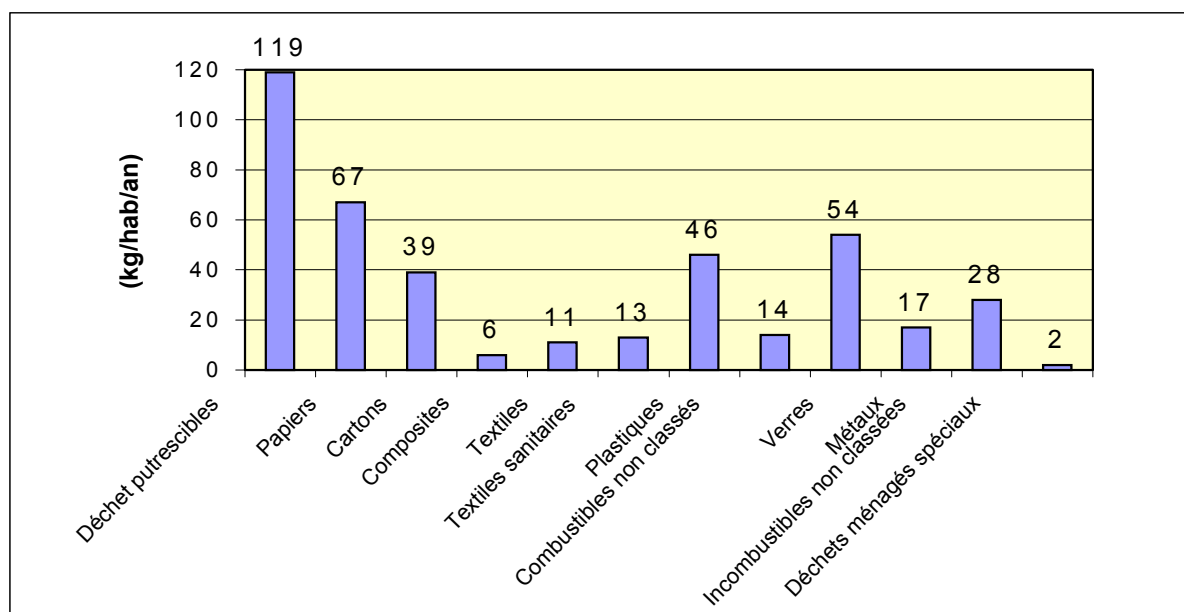
Déchets des communes	Déchets des ménages			Déchets des artisans, commerçants, entreprises....
	Déchets encombrants  4,5	Ordures Ménagères (sens strict)		
Espaces verts, marchés, nettoyage, assainissement...  22,5		Fraction collectée sélectivement  1,5		Fraction collectée en mélange  18,5
	<b>ORDURES MENAGERES</b>			
<b>DECHETS MUNICIPAUX : 52 (en millions de tonnes)</b>				

Parmi ces déchets, certains sont issus de la biomasse et sont ainsi susceptibles d'être biodégradables. La fraction organique représente plus de 55 % du tonnage produit (hors plastiques) comprenant les déchets de cuisine (dits « **déchets putrescibles** »), les papiers/cartons et certains déchets des espaces verts et des marchés. La Figure 14 illustre la variation de composition des ordures ménagères entre les années 1960 et les années 1990.



**Figure 14 : Composition des ordures ménagères Françaises en 1960 et 1993.**

Cette évolution s'est accompagnée d'une augmentation importante du volume des déchets ménagers et industriels. La production de déchets ménagers en Europe est en moyenne de 350 kg/hab.an et celle de la France pour l'année 1993, (ADEME, 1998) est de 416 kg/hab.an (voir Figure 15 et Tableau 7).



**Figure 15 : Production moyenne d'ordures ménagères en France, pour l'année 1993 (en masse humide produite par habitant et par an) (ADEME, 1998).**

**Tableau 7 : Caractérisation des OM françaises selon la campagne menée par l'ADEME.**

Fraction : 12 catégories	Pourcentage massique de chaque fraction (% en poids humide)
Matière organique putrescible	28,7
Papiers	16,2
Cartons	9,3
Matériaux composites	1,4
Textiles	2,6
Textiles sanitaires	3,1
Plastiques	11,1
Combustibles non classés	3,3
Verres	13,1
Métaux	4,1
Incombustibles non classés	6,8
Déchets spéciaux	0,5

Selon l'ADEME (1998), la fraction organique dite putrescible correspond aux déchets alimentaires (résidus d'alimentation tels que les épiluchures ...sauf les os, qui sont classés dans la catégorie "combustibles") et aux déchets verts (déchets de jardin, voir plus loin). En fait, théoriquement, la fraction traitable par voie biologique ou susceptible d'évoluer biologiquement en condition de stockage regroupe également les déchets tels que les papiers et cartons, soit en tout plus de la moitié de la biomasse des ordures ménagères. Les analyses détaillées de la matière organique des OM sont relativement peu nombreuses. Le Tableau 8 résume les caractéristiques physico-chimiques de la fraction organique dite putrescible des ordures ménagères. Le Tableau 9 donne certaines de ses caractéristiques chimiques.

**Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques des déchets putrescibles contenus dans les ordures ménagères en 1993 (source ADEME, 1998).**

Déchets putrescibles			
15,8 % de la masse sèche d'ordures ménagères	Unité	Teneur moyenne	Fourchette de valeur
Taux d'humidité	% MH	63,3	38,8 - 85,3
Matière organique	% (MS)	82,2	80 - 83
Carbone	% (MS)	41,3	41 - 45
Hydrogène	% (MS)	5,6	5,5 - 5,9
Chlore	g/kg (MS)	8,1	6,3 - 8,6
Soufre	g/kg (MS)	3,3	2,5 - 6,6
Azote organique	g/kg (MS)	17,9	15 - 26
PCI (humide)	kJ/kg (MH)	4246	4057 - 5221
PCI (sec)	kJ/kg (MS)	15773	15257 - 18430
PCS	kJ/kg (MS)	17006	16473 - 19717

**Tableau 9 : Analyse chimique de la matière organique putrescibles des ordures ménagères.**

Produit	Concentration g/100 g de matière sèche totale.
Protéines	2,06 - 2,6
Lipides	4,50 - 5,7
Glucides	46,6 - 59
dont cellulose	36
Autres	1,15

## II.2.4- Déchets verts de zones urbaines

Les déchets d'espaces verts résultent de l'entretien et du renouvellement des espaces verts, zones récréatives, parcs et jardins, terrains de sport... des collectivités territoriales, des organismes publics, des particuliers et des sociétés privées. Il s'agit de tontes de pelouses, de tailles des haies et d'arbustes, de feuilles mortes, de résidus d'élagage, de déchets d'entretien des massifs, de déchets de jardins des particuliers collectés séparément ou par le biais de déchetteries. De 1 à 1,5 millions de tonnes de déchets végétaux urbains dits déchets verts sont produits chaque année en France. Cette production correspond à un ratio national moyen de 0,3 m<sup>3</sup>/hab/an. Depuis quelques années le volume de déchets verts tend à augmenter de manière importante, ce qui nécessite d'adapter les filières de traitements. L'élimination des déchets verts aboutit très souvent à la mise en décharge ou à l'incinération avec toutes les nuisances et le gaspillage de matière que cela représente.

La valorisation des déchets d'espaces verts doit passer par une **collecte spécifique** (notamment par le biais des centres de collecte sélective). Les déchets ainsi triés peuvent servir de matière première d'un compost de qualité en conformité avec la norme NFU-44-051, utilisable en agriculture, horticulture, ... tout en luttant contre le gaspillage de la matière organique et le remplissage rapide des décharges.

Il faut noter les **variations saisonnières** de composition et de flux des déchets verts, qui peuvent entraîner des problèmes de fonctionnement des unités de traitement. En période estivale, les unités de traitement des O.M. par incinération sont mises à contribution pour éliminer les surplus (ce qui entraîne souvent des perturbations au niveau de la combustion, par variation du pouvoir calorifique des O.M.).

Les déchets comprennent des substances organiques facilement biodégradables tels que les résidus de tontes de gazon et les feuilles mais également des matériaux plus résistants tels que les résidus de tailles de haies. Le rapport C/N et l'humidité des déchets végétaux sont présentés dans le Tableau 10.

**Tableau 10 : Rapport C/N et humidité de différents déchets de végétaux (d'après Mustin, 1987).**

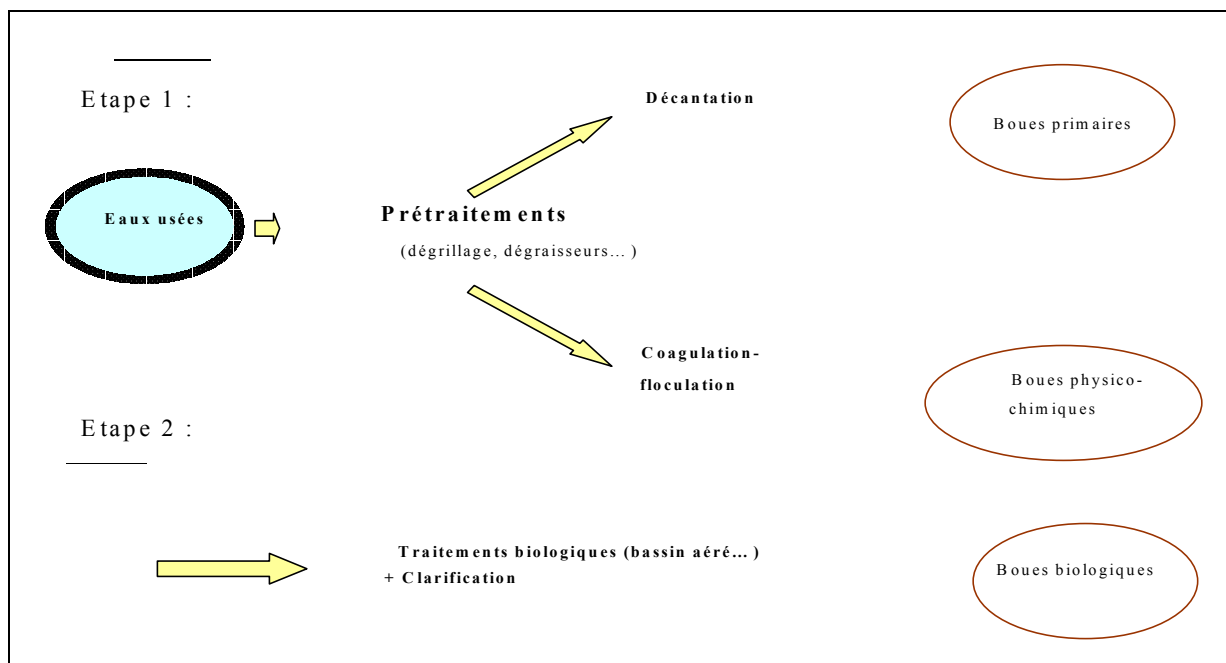
	Rapport C/N	Humidité (% massique)
Gazon	10-20	80-90
Feuilles mortes	20-50	65
Tailles d'arbustes	50-100	55
Elagage d'arbres	100-200	40-50
Sciures de bois	150-500	-

Il existe actuellement en Rhône-Alpes, une vingtaine de plates-formes de compostage fonctionnant pour la majeure partie par « fermentation » lente aérobie en andins avec retournement périodique. Certaines plates-formes traitent les déchets verts et la fraction fermentescible issue d'une collecte sélective des O.M.



## II.2.5- Boues de station d'épuration des eaux usées municipales

Les stations d'épuration (« STEP ») assurent le traitement des eaux usées collectées par le réseau d'assainissement auquel sont raccordés les particuliers, les établissements de la collectivité, les artisans et les entreprises. Elles produisent de l'eau épurée, dont le rejet dans le milieu naturel est autorisé, et des boues (voir Figure 16).



**Figure 16 : Schéma d'un centre de traitement des eaux usées. Origine des boues.**

On distingue les **boues primaires**, obtenues par décantation des eaux usées avant épuration, et les **boues secondaires** ou **boues biologiques**, obtenues par décantation des eaux traitées. Les boues mixtes représentent un mélange de boues primaires et de boues secondaires. Les boues primaires et les boues secondaires sont traitées séparément seulement dans le cas d'installations de grandes tailles (quelques dizaines de milliers d'équivalent habitants au minimum). Les boues de STEP sont constituées de matières organiques et minérales. En moyenne, une station d'épuration produit 2,5 litres de boues par jour et par habitant raccordé au réseau avec une teneur moyenne de 80% en eau. La composition moyenne des boues de STEP est donnée dans le Tableau 11 de la page suivante.

Au niveau européen, on estime la production de boues résiduaires urbaines à 7 millions de tonnes de matière sèche par an. La France possède environ 12000 stations d'épuration produisant 850.000 tonnes de MS soit environ 20 millions de mètre cubes de boues par an. La gestion des émissions de déchets d'une installation classée est réglementée par l'arrêté ministériel du 17 août 1998 modifiant l'arrêté du 2 février 1998 « *relatif aux prélèvements et à la consommation d'eau ainsi qu'aux émissions de toute nature des installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation* ».

La valorisation des boues dans le secteur agricole s'effectue généralement par **épandage** des boues de STEP sur les sols de culture. Leur utilisation en tant qu'amendement agricole peut se justifier par la présence de matières organiques et d'éléments fertilisants tels que l'azote (3 à 6% de la MS), le phosphore (3 à 8% de la MS), le potassium (0,5 à 1,5% de la MS). L'ajout de matériaux carbonés à ratio C/N élevé permet de modifier celui des boues relativement bas (entre 5 et 10). Le mélange obtenu doit, par préférence avoir un ratio C/N compris entre 25 et 30, un taux d'humidité entre 60-75% et un taux d'oxygène lacunaire de plus de 5% afin d'éviter les conditions anoxie (faible teneur en oxygène).

Pour leur épandage sur les surfaces agricoles, les boues doivent respecter la norme AFNOR 44041. L'épandage des boues sur les sols agricoles est réglementé par l'arrêté du 3 juin 1998 modifiant l'arrêté du 8 janvier 1998 sur « les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret N°97-1133 du 8 septembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées ».et doit donc s'inscrire dans le cadre d'un plan épandage. La présence de métaux lourds en fortes teneurs dans les boues les rend souvent inaptes à une valorisation agricole. Le traitement des boues par incinération ou le stockage en décharge de classe II après leur déshydratation sont des solutions économiques temporaires qui répondent mal aux contraintes réglementaires.

**Tableau 11 : Composition moyenne des boues urbaines fraîches en Europe (d'après Williams, 1998).**

<b>Matière organique</b>	<b>% des MS</b>
<b>Total</b>	<b>55-75</b>
Protéines	30
Lipides	13
Glucides	33
Composés hydrocarbonés non fibreux	24
Carbone	45-50%
Hydrogène	8%
Oxygène	33%
Azote	3-6%
Phosphore	3-8%
Potassium	0,5-1,5%
<b>Rapport C/N</b>	<b>5-10</b>
<b>Polluants organiques</b>	<b>Concentration (ppm)</b>
Esters d'acide Phtalique	1-100
Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	0,01-50,0
Polychlorobiphényle (PCB)	0,16-9,11
Dieldrine (pesticide)	0,018-3,90
Lindane (pesticide)	0,025-0,410
Aldrine (pesticide)	0,02-0,24
DDT (pesticide)	0,02-0,8

## II.2.6- Déchets industriels solides et semi-solides

Les principaux déchets industriels solides ou semi-solides contenant une fraction non négligeable de matière organique sont les déchets générés par :

- Les industries qui exploitent la biomasse à des fins non alimentaires :
  - *Industries de la filière bois,*
  - *Industries de fabrication du papier et carton,*
  - *Industries du textile,*
  - *Industries du cuir,*
- Les industries de la chimie, pétrochimie.

Toutefois, ces industries génèrent, du fait de nombreuses transformations et synthèses chimiques et de la nature même de la matière organique de base utilisée (charbon pétrole ou biomasse ligno-cellulosique), des déchets organiques peu ou pas biodégradables en raison de la diversité, de la nature xénobiotique et de l'éventuelle toxicité des molécules présentes. Le traitement biologique n'est pas toujours envisageable et il est souvent nécessaire de recourir à des techniques concurrentes telles que l'incinération ou la mise en décharge en centre d'enfouissement après traitement de stabilisation.

Les traitements biologiques, physiques et chimiques des effluents industriels génèrent également des boues industrielles dont la teneur et la nature de la fraction organique varient selon l'effluent traité et le procédé de traitement (Eckenfelder, 2000). Le traitement des boues organiques industrielles est nécessaire pour réduire la teneur en matière organique et minimiser ainsi les risques d'évolution biologique des ces déchets (procédure de **biostabilisation**).

## **II.3- Traitements biologiques des déchets organiques**

### II.3.1- Objectif des traitements

Les déchets concernés sont les déchets solides ou semi-solides contenant une fraction non négligeable de matière organique constituée principalement de molécules d'origine naturelle s'apparentant à de la biomasse et susceptibles de s'insérer dans les cycles biogéochimiques de la matière. Il s'agit principalement de la fraction de déchets **putrescibles** (ou « **fermentescibles** ») et la fraction papiers/cartons des ordures ménagères, des déchets des espaces verts, de la matière organique présente dans les boues de station d'épuration. Globalement, il s'agit des déchets organiques issus de l'exploitation ou de la consommation notamment alimentaire de la biomasse (constituée par la masse

des organismes vivants et de leurs déchets associés) appelés également **biodéchets** (C.E. document de travail, 2001).

La directive 1999/31/CE de la communauté européenne fixe les objectifs généraux concernant la mise en décharge des déchets. Selon l'article 5, les états membres de l'union européenne doivent définir une stratégie nationale afin de mettre en œuvre la réduction des déchets **biodégradables** mis en décharge, notamment grâce à des techniques biologiques de traitement des déchets telles que le compostage et la méthanisation.

Le document de travail de la DG Env.A.2. de la commission européenne (C.E. document de travail, 2001) détaille les principaux objectifs à atteindre :

- « *Promouvoir le traitement biologique des **biodéchets** en harmonisant les dispositions nationales relatives à leur gestion, afin de supprimer ou de réduire tout impact négatif sur l'environnement et d'assurer ainsi un niveau élevé de protection de l'environnement* ». Le terme « biodéchets » est défini dans ce document comme « *tout déchet pouvant faire l'objet d'une décomposition aérobie ou anaérobie, tels les déchets alimentaires, les déchets de jardin, le papier et le carton* », c'est à dire la fraction fermentescible des déchets municipaux (ou déchets urbains, assimilables à des déchets ménagers) et la fraction papier/carton. Les déchets agricoles et agro-alimentaires ne sont pas cités dans le document.
- « *Protéger le sol et faire en sorte que l'utilisation de biodéchets traités ou non traités soit bénéfique à l'agriculture ou représente un progrès écologique* », dans la mesure où les déchets traités ou non sont destinés à être utilisés en tant qu'**amendement organique** pour les sols agricoles.
- « *Veiller à ce que l'utilisation des biodéchets traités ou non traités n'affecte pas la santé des hommes et des animaux et ne soit pas nocive pour les végétaux* ». Il s'agit d'une exigence d'assainissement biologique de déchets (ou **hygiénisation** du déchet),

L'amélioration de la gestion des biodéchets dans la communauté européenne passe par le développement du «compostage ou de la fermentation anaérobie des biodéchets collectés séparément, avec utilisation du **compost** ou du **digestat** de manière à obtenir un bienfait agricole ou à contribuer au progrès écologique ». Nous présentons dans les paragraphes suivants les deux filières de traitement dans lesquelles la notion de biodégradabilité est incontournable.

La mise en place de la stratégie de réduction des déchets biodégradables mis en décharge devrait entraîner l'exclusion, à relativement court terme, des déchets biodégradables dans les centres d'enfouissement technique. L'article 6 de la directive 1999/31/CE stipule que seuls les déchets ayant

subi un traitement préalable seront admis en décharge. L'annexe II précise les critères et procédures d'admission des déchets dans les trois catégories de décharges.

Ces critères relatifs à l'admission dans une catégorie spécifique de décharges doivent entre autres reposer sur les considérations suivantes :

- Limitations de la quantité de matière organique dans les déchets,
- Exigences ou limitations relatives à la biodégradabilité des composants organiques des déchets.

Cette annexe précise également que les futures procédures d'admission visées dans la directive 1999/31/CE seront, autant que possible, fondées sur des méthodes normalisées d'analyse des déchets et sur des valeurs limites normalisées pour les propriétés des déchets à admettre.

L'avis du 9 novembre 1997 (JO du 11 novembre 1997) relatif à la nomenclature des déchets donne la liste des déchets annexée à la décision de la commission du 20 décembre 1993 concernant le Catalogue européen des déchets. Il existe 20 catégories distinctes de déchets principalement classés suivant leur origine de production et subdivisées en 120 regroupements intermédiaires et 645 désignations de déchets. Un code de 6 chiffres permet d'identifier la nature des déchets et la catégorie d'origine dans laquelle il s'inscrit. Ce catalogue européen constituant une liste non exhaustive de déchets a été récemment modifié. Le nouveau catalogue a été adopté par la décision de la commission 2001/118/CE du 16 janvier 2001 et publié le 16 février 2001 au J.O.C.E..

Le document de travail de la Direction Générale ENV, direction A – Développement durable et politique d'appui (DG ENV.A.2., 2001) de la Commission européenne sur le traitement biologique des déchets biodégradables (ou biodéchets) précise la liste complète des déchets qui se prêtent en principe au traitement biologique et/ou à l'épandage. La liste est présentée dans l'annexe I. du document de la DG ENV.A.2., 2001.

## II.3.2- Traitement biologique aérobie : le compostage

### *II.3.2.1- Historique, définitions, objectifs et aspects réglementaires*

#### *a) Historique*

Le principe du compostage est très ancien mais le terme n'apparaît dans un texte réglementaire qu'au début du XX<sup>ème</sup> siècle (1905). Cette technique s'est développée en France dans les années 50-60 comme un procédé de traitement global des ordures ménagères entre autres. Cependant, ce n'est qu'avec la crise énergétique de 1973 et les réflexions qui s'en suivirent que le compostage s'est imposé comme filière à part entière de traitement et de valorisation des déchets. Le compostage des O.M. a ensuite régressé avec la complexité croissante des O.M. et face à la concurrence de techniques moins coûteuses (mise en décharge) ou plus radicales (incinération).

#### *b) Définitions*

Le **compostage** est défini comme étant la « *décomposition biologique thermophile, en présence d'oxygène et dans des conditions contrôlées, de biodéchets collectés séparément, sous l'action de micro- et de macro-organismes, afin de produire du compost* » (C.E. document de travail, 2001). Le compostage consiste en un processus de biodégradation aérobie de la matière organique sous l'action d'une très grande diversité de micro-organismes qui préexistent dans les substrats concernés.

Le **compost**, produit final du compostage, est de la « *matière humique stable, assainie, riche en matière organique et non nauséabonde, qui résulte du compostage des biodéchets...* » (C.E. document de travail, 2001). Il est composé pour l'essentiel d'une fraction organique stabilisée et de composés minéraux. L'action de composter est donc de produire de la matière organique de type humique stable (Mustin, 1987).

#### *c) Objectifs*

Le compostage est un traitement biologique des déchets organiques permettant de poursuivre un ou plusieurs des objectifs suivants :

- 1- Stabilisation du déchet pour réduire les pollutions ou nuisances associées à son évolution biologique, dues principalement à la présence de matières organiques biodégradables. On parle de stabilisation biologique ou **biostabilisation** de la matière organique.
- 2- Réduction du gisement par diminution de la masse de déchet.
- 3- Production d'un compost valorisable comme amendement organique des sols agricoles.

#### *d) Réglementation*

« *Le compostage constitue une solution moderne et valable pour l'élimination des ordures ménagères* », Circulaire du 22 février 1973 sur l'évacuation et le traitement des résidus urbains (J.O. du 20 mars 1973). En effet, l'une des priorités affichées de la politique française sur l'environnement et les déchets, développée dans la loi du 15 juillet 1975, modifiée par la loi du 13 juillet 1992, est la valorisation, incitée par l'interdiction à l'horizon 2002 de mettre en décharge tout déchet non ultime : « *Est ultime au sens de la présente loi un déchet, résultant ou non du traitement d'un déchet, qui n'est plus susceptible d'être traité dans les conditions techniques et économiques du moment, notamment par extraction de la part valorisable ou par réduction de son caractère polluant ou dangereux* », Loi n° 92-646 du 13 juillet 1992, article 1<sup>er</sup> II. « *A compter du 1<sup>er</sup> juillet 2002, les installations d'élimination des déchets par stockage ne seront autorisées à accueillir que les déchets ultimes* », Loi n° 92-646 du 13 juillet 1992, article 1<sup>er</sup> III. Les déchets comportant une fraction relativement importante de matière organique ne sont pas considérés comme ultimes. Cette loi a donné un regain d'intérêt au traitement par compostage notamment de la fraction fermentescible des O.M en réduisant la mise en décharge directe des O.M.

La directive européenne 1999/31CE relative à la mise en décharge vise à réduire la mise en décharge des déchets biodégradables afin de limiter les problèmes rencontrés tels que par exemple l'émission de rejets liquides (lixiviats) et les gaz de décharge (biogaz : CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>S etc.). Cette orientation implique la promotion du compostage en tant que filière de traitement des déchets organiques biodégradables.

Afin de prévenir les risques de pollution éventuelle lors de l'utilisation agricole de ces amendements, la qualité du compost produit est réglementée. Cela passe, au départ, par le contrôle des déchets entrant dans l'installation, par le contrôle du procédé de compostage, et enfin par le respect de seuil de qualité du compost produit et commercialisé. Le processus de compostage et les seuils de qualité de l'amendement produit sont définis en France par la norme AFNOR NF U44-051 (décembre 1981) sur les amendements organiques. Cette norme est actuellement en cours de révision. Des critères environnementaux tels que les concentrations en métaux, en polluants organiques, la présence d'organismes pathogènes ainsi que des critères de **qualités agronomiques** tels que la stabilité de la matière organique et la disponibilité de l'azote y seront intégrés.

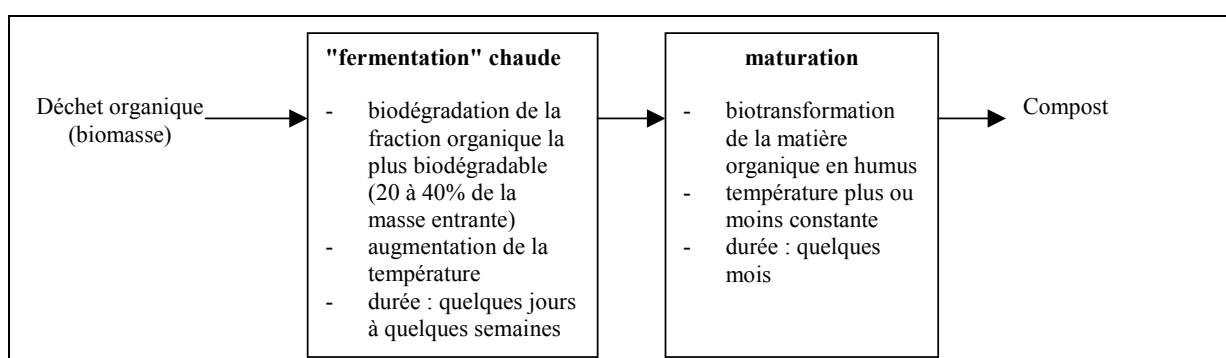
Du point de vue réglementaire, les centres de compostage sont considérés comme des installations classées (loi n°76-663 du 19 juillet 1976, conformément à l'article 322 B). Elles sont soumises au régime de l'autorisation préfectorale quel que soit le volume ou niveau d'activité. Ce régime d'autorisation implique pour l'exploitant d'une installation des contraintes d'autorisation juridiques et techniques aux différents stades de l'installation, de l'exploitation et de la cessation d'activité.

### II.3.2.2- Principe du compostage

Le compostage est un traitement biologique aérobie des déchets organiques sous forme solide ou semi-solide. L'équation globale de **bio-oxydation** de la matière organique est la suivante :

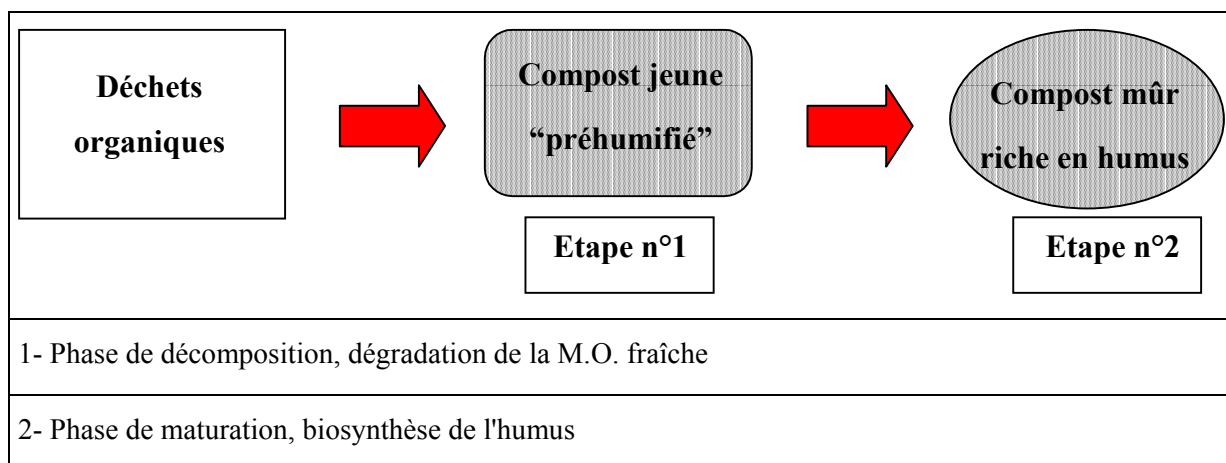


Le compostage est une technique permettant le retour de la matière organique dans le sol lorsqu'on l'utilise comme amendement organique des sols agricoles ou urbains. Il s'agit de la **réintégration de la matière organique dans les cycles biogéochimiques de notre environnement**. Comme le montre le schéma suivant, le processus de compostage se décompose en deux grandes étapes, une "fermentation" chaude et une phase de maturation du compost.



**Figure 17 : Principe du compostage.**

Hormis les procédés de traitement mécaniques et/ou physico-chimiques divers qui peuvent précéder et suivre le compostage, le processus de biotransformation de la matière organique au cours du compostage peut se décrire de la façon suivante.



**Figure 18 : Les deux étapes de transformation de la matière organique.**

- 1- La première étape biologique dite de **fermentation chaude** permet de **réduire** la masse du déchet à traiter. Signalons que le terme fermentation est ici, et dans de nombreux documents réglementaires voire scientifiques, improprement utilisé car il désigne en toute rigueur un



processus microbiologique anaérobie. Au cours de cette première étape, les molécules organiques simples sont (bio)oxydées sous l'action de micro-organismes aérobies. Il y a minéralisation des sucres, lipides et protéines facilement biodégradables sous l'action de bactéries acidogènes. Les champignons participent également à cette première étape en sécrétant des enzymes extracellulaires qui coupent les polymères et certaines molécules d'hydrocarbures. Il y a consommation d'oxygène et dégagement de chaleur qui se traduit par une élévation de la température permettant ainsi l'élimination de nombreuses espèces pathogènes susceptibles d'être présentes dans le déchet initial. La durée de la première étape dépend évidemment de la nature du déchet et des conditions opératoires du compostage. Certains auteurs distinguent deux sous-étapes de fermentation : fermentation mésophile et fermentation thermophile en relation avec les variations de températures au cours du compostage (Mustin, 1987 ; Riachi, 1988).

- 2- La seconde étape est la phase de maturation (phase dite froide). La température, de l'ordre de 20 à 30°C, permet le retour des activités mésophiles convertissant notamment l'ammoniac en nitrate. Les micro-organismes utilisent l'azote pour réaliser la biosynthèse des matières humiques (ou humus) à partir de la matière organique résiduelle peu biodégradable de la première étape. Si la biodégradation est relativement faible au cours de la maturation, cette seconde étape est primordiale pour transformer et stabiliser la matière organique et lui conférer les propriétés de stabilité de la matière humique (humus, degré d'humification) rencontrée naturellement dans les sols.

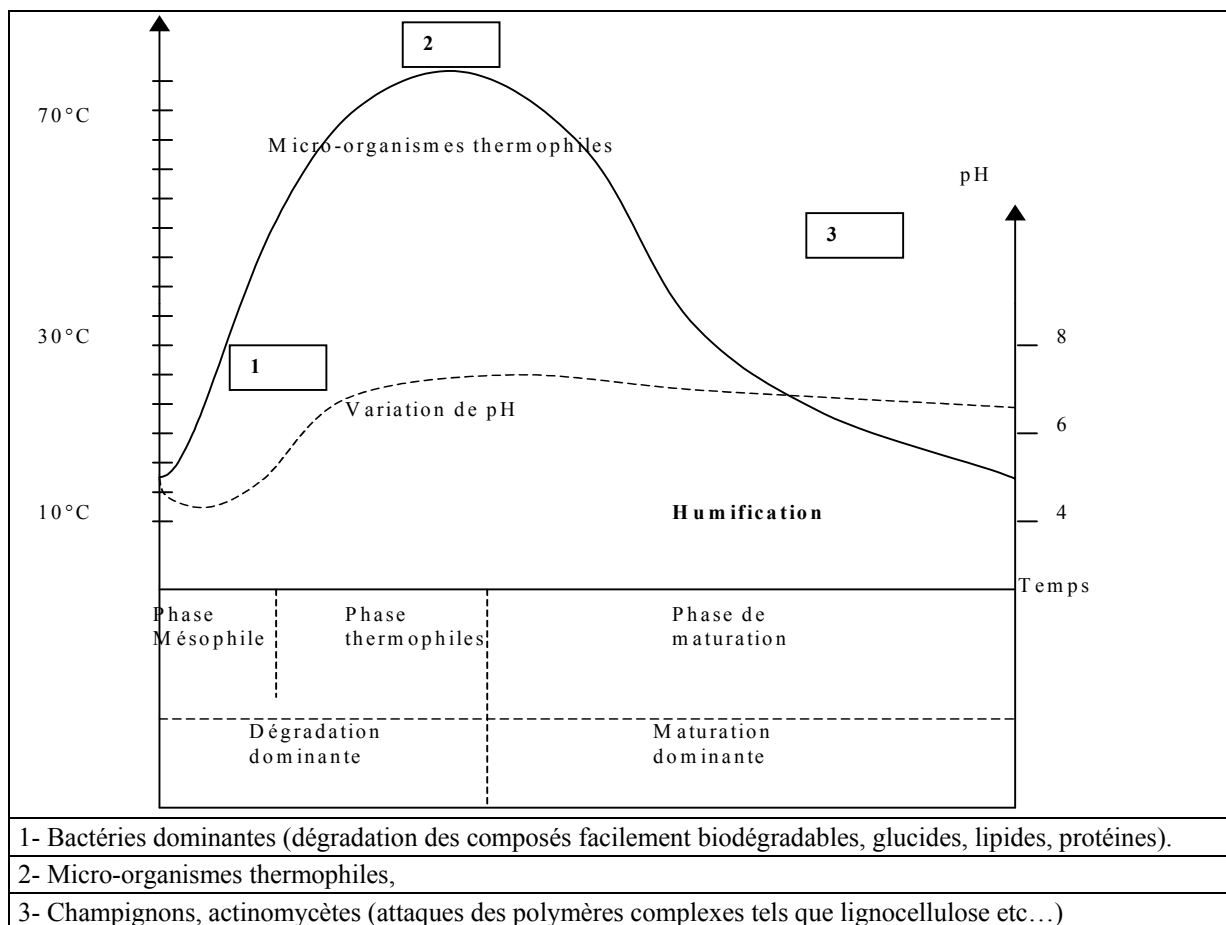
### *II.3.2.3- Aspects microbiologiques*

Le compostage est la **biooxydation** de la matière organique, c'est à dire une dégradation de la matière organique sous l'action d'une population microbienne aérobie complexe. La **biodiversité** des espèces microbiennes impliquées dans le compostage dépend étroitement de la nature du substrat. Les micro-organismes sont généralement présents en grande quantité dans le déchet destiné à être traité. En règle générale, l'inoculation du substrat est inutile, mais il peut être utile de recycler une fraction d'un compost mûr pour en démarrer un nouveau. On distingue trois catégories principales de micro-organismes :

- *Bactéries,*
- *Actinomycètes (groupe particulier de bactéries),*
- *Moisissures.*

Ils représentent 95% de l'activité de compostage. Les algues et les protozoaires ont une activité très secondaire. La Figure 19 donne quelques indications sur l'évolution de la microflore au cours du compostage (d'après Mustin, 1987). On remarque que la population responsable du phénomène de compostage est très variée mais sans relation de chaîne trophique véritable, ce qui facilite la maîtrise

de ce procédé biologique. Le Tableau 12 suivant résume les caractéristiques des principaux micro-organismes impliqués dans le processus de compostage.



**Figure 19 : Evolution de la microflore au cours de compostage.**

**Tableau 12 : Les micro-organismes du compost.**

Groupes	Caractéristiques et commentaires
<i>Bactéries</i>	Toujours présentes dans le compost et largement dominantes en qualité et quantité. Forte croissance si C/N bas et humidité élevée. Large spectre d'activité sur une large gamme de pH, surtout en substrat frais. Responsables du démarrage de la dégradation de la matière organique et de la rapide montée en température. Elles dégradent les produits facilement oxydables tels que les protéines, les glucides (sucres) et les lipides. <u>Exemples</u> : • Gram <sup>-</sup> (genres <i>Pseudomonas</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Erwinia</i> ...), • Gram <sup>+</sup> (genres <i>Bacillus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> et <i>Arthrobacter</i> ...).
<i>Champignons</i>	Ils sont tous <b>hétérotrophes</b> Et anaérobies stricts. Ils sont dominants si C/N élevé (dégradation de la cellulose et des lignines). Biomasse supérieure aux bactéries dans ces milieux. Ils sont capables de croître pour des taux d'humidité plus bas et tolèrent une large gamme de pH (de 2 à 9). Les champignons se développent principalement à la surface des tas en compostage (dans les 10 à 15 cm externes) à cause de la plus faible aération et de la température élevée au centre des tas au cours de la phase thermophile (temp. >60°C). <u>Exemples</u> : Les genres les plus fréquents : genres <i>Mucor</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Humicola</i> ... <i>Chaetomium</i> • Les espèces les plus fréquentes : <i>Humicola languinga</i> , <i>Chaetomium thermophilus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> ,...
<i>Actinomycètes</i>	Ils attaquent les substances organiques non dégradées par les bactéries et les champignons (chitine ou les tanins par ex.). Neutrophiles, ils tolèrent les pH légèrement basiques et sont peu compétitifs vis à vis des autres groupes. Ils se développent plutôt en conditions difficiles ou dans les phases finales de maturation du compost. Ils sont tous hétérotrophes. Beaucoup d'odeurs aromatiques des sols ou composts mûrs sont dues aux actinomycètes (odeur de terre). <u>Exemples</u> : genres <i>Nocardia</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Thermospora</i> ...
<i>Algues</i>	Organismes chlorophylliens, ils se cantonnent en surface et dans les premiers centimètres de la couche superficielle, en utilisant les sels minéraux. Un milieu humide est nécessaire dans une gamme de pH autour de la neutralité ou légèrement alcalin.
<i>Protozoaires</i>	Grand groupe hétérogène d'unicellulaires mobiles. Ils réclament un milieu humide (eau interstitielle). Ils se nourrissent

### II.3.2.4- Paramètres de compostage et leur évolution au cours du traitement

#### a) Aération

L'aération du déchet est le paramètre fondamental pour réussir le compostage. Elle est caractérisée par le taux d'oxygène (O<sub>2</sub>) lacunaire, c'est à dire la quantité d'oxygène disponible dans la porosité de la masse des déchets en compostage. L'aération dépend de la granulométrie et de la forme des particules d'une part, et de la quantité d'eau présente d'autre part. Le compostage optimal dans les premières phases est obtenu pour 30 à 35% d'espaces lacunaire (porosité intergranulaire). Si on traite des déchets pâteux ou très humides, les espaces lacunaires sont très réduits et on doit donc apporter obligatoirement de l'oxygène par agitation ou aération forcée. Les micro-organismes aérobies consommant de l'oxygène et produisant du dioxyde de carbone, il est nécessaire que l'oxygène puisse pénétrer jusqu'à eux. Notons que plus le pourcentage d'espaces lacunaires et la taille des pores sont grands, plus la circulation de l'air est aisée. La granulométrie du déchet a donc une influence primordiale sur son aération. Pour que les conditions aérobies soient respectées, il faut une teneur en O<sub>2</sub> supérieure à 5% (vol/vol) dans les espaces lacunaires. La vitesse de transfert de l'oxygène des espaces lacunaires vers les micro-organismes détermine en grande partie la durée du traitement. C'est la raison pour laquelle le retournement des tas ou l'aération forcée est souvent indispensable afin d'assurer le renouvellement de l'atmosphère du compost. Ce transfert suit la loi de Fick.

#### b) Humidité du substrat

Il faut une teneur minimale d'environ 50% du poids pour avoir une activité biologique correcte. La teneur en eau a tendance à augmenter par production biologique, mais la montée en température (jusqu'à 70-80°C) et l'aération sèchent considérablement le déchet. Ceci est un point positif pour les déchets très humides tels que les boues de STEP. Notons que les champignons supportent mieux l'assèchement que les bactéries. Ce qui importe, c'est en fait la disponibilité de l'eau pour les micro-organismes. Celle-ci est liée à l'**humidité relative** qui est égale au rapport de la pression de vapeur saturante en eau dans les espaces lacunaires sur la pression partielle de l'eau pure à la même température. Ce paramètre traduit l'équilibre dynamique existant entre l'eau liée et sa vapeur. La teneur optimale en eau est d'autant plus élevée que la teneur en polymères végétaux structuraux (lignine, et cellulose à un degré moindre) est forte. Le Tableau 13 ci-dessous donne à titre indicatif les teneurs en eau optimales (en % du poids total) pour divers substrats :

**Tableau 13 : Valeurs optimales de compostage de substrats organiques.**

Substrat	% H <sub>2</sub> O
Sciure ou copeaux de bois	80-90
Paille	75-85

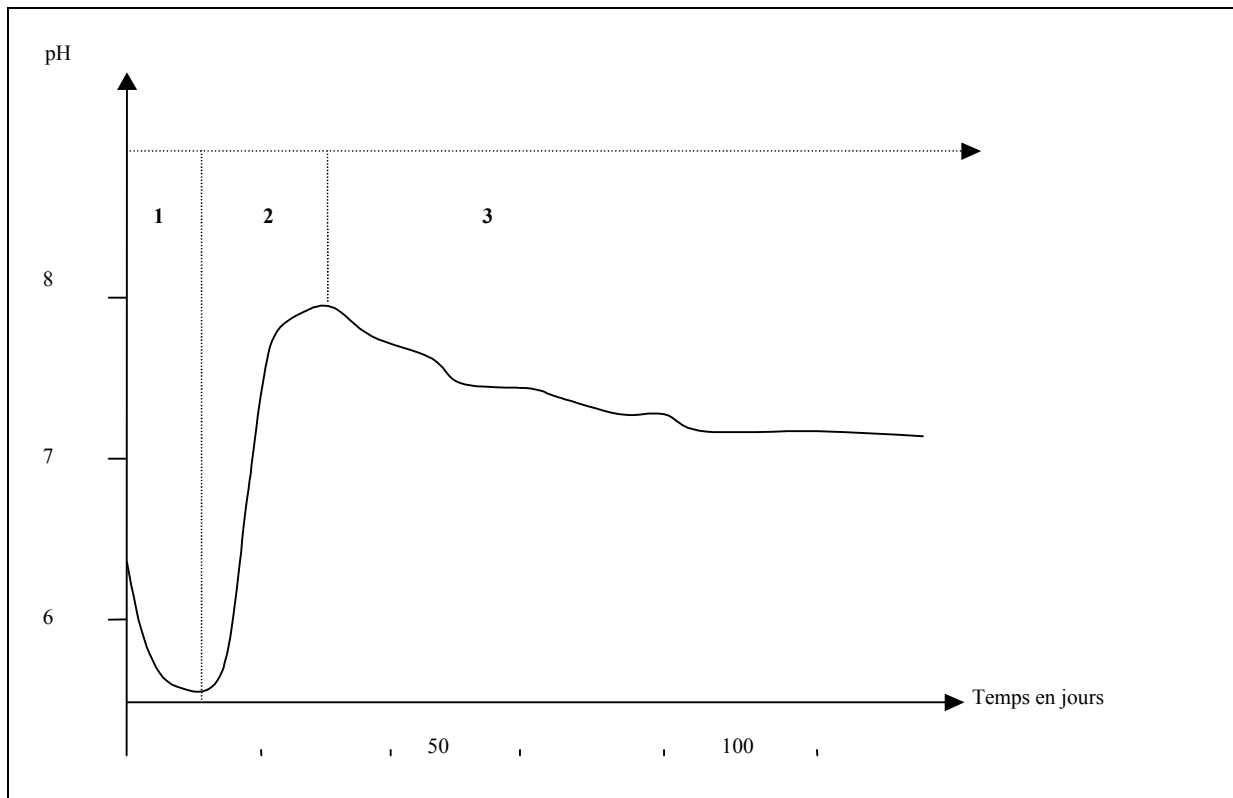
Papier	60-70
Déjections animales	55-65
Ordures ménagères	55-65
Déchets végétaux frais	45-55

### c) Température

L'énergie stockée dans les liaisons chimiques des composés contenus dans les déchets traités est libérée partiellement par oxydation biologique de la matière organique. Il y a donc montée en température dans les premiers jours du compostage. Une mauvaise montée de la température ou une chute brutale sont les signes d'un mauvais fonctionnement. La température peut dépasser 65°C, ce qui a un effet recherché **d'hygiénisation du compost**. Cette montée en température permet d'éliminer la plupart des germes pathogènes présents initialement dans les déchets organiques. La température joue un rôle dans la vitesse de dégradation des substrats organiques en intervenant sur l'activité enzymatique.

### d) pH

Au cours du compostage, les déchets organiques connaissent une variation de pH en passant par des stades d'**acidification**; **neutralisation** et **alcalinisation**. La Figure 20 retrace l'évolution du pH au cours du compostage en 3 mois.



**Phase 1** : Baisse du pH : phase **d'acidogénèse** avec une intense production de CO<sub>2</sub> et d'acides organiques (flore mésophile dominante).

**Phase 2** : Augmentation du pH : phase **d'alcalinisation** avec hydrolyse bactérienne de l'azote protéique et production d'ammoniac (flore thermophile dominante). Diminution du rapport C/N.

**Phase 3** : Stabilisation du pH. L'azote est utilisé par les micro-organismes pour réaliser la biosynthèse des matières humiques. Le compost est en voie de **maturation**.

**Figure 20 : Courbe de variation de pH au cours du compostage.**

Le suivi du pH peut donner une bonne information sur le stade d'évolution du compost. Ses variations dépendent beaucoup de la nature du substrat et de l'intensité de l'activité métabolique des différents organismes présents. Les conditions optimales de pH correspondent à celles qui permettent la meilleure croissance microbienne. Rappelons que les champignons se développent sur une assez large gamme de pH compris entre 5,0 et 8,0. Les bactéries, quant à elles, se développent préférentiellement à des pH compris entre 6 et 7,5.

*e) Rapport C/N*

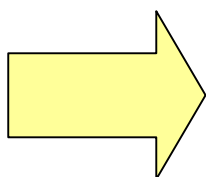
Ce rapport constitue le critère le plus important dans la balance nutritionnelle des agents biologiques du compostage. Il représente la proportion massique de carbone par rapport à l'azote dans un substrat donné. Ainsi, un substrat qui est composé de 20 fois plus de carbone que d'azote sera caractérisé par un rapport C/N = 20. Le compostage est jugé optimal lorsque ce rapport est compris entre 20 et 40. Mais ce qui importe avant tout, c'est le rapport "carbone disponible"/"azote disponible". Comme une partie du carbone de la M.O. n'est pas ou peu biodégradable, le compostage d'un substrat destiné à un traitement biologique est optimal pour un rapport compris entre 40 et 70. Puisqu'une bonne partie du carbone de la M.O. est transformée en CO<sub>2</sub> (environ 25 à 40% suivant les substrats), le rapport C/N diminue au cours du traitement. L'azote est principalement incorporé sous la forme de nouvelles cellules microbiennes. Le rapport C/N varie entre 8 et 15 en fin de traitement. Le Tableau 14 donne la composition en C et N de divers déchets ainsi que le C/N optimum :

**Tableau 14 : Composition en carbone et en azote de différents déchets organiques.**

<i>Substrat</i>	<i>C (% MS)</i>	<i>N (% MS)</i>	<i>C/N</i>	<i>C/N optimum</i>
Paille de céréales	45-50	0,3-0,8	60-170	40-50
Déchets ligno-cellulosiques	50	0,5	100	50
Déchets alimentaires	40-45	1,5	30	20
Déjections animales	40-45	2,0-5,0	10-20	20-30

**Substrats pauvres en N** : Pailles, bois, papiers - cartons, et autres déchets ligno-cellulosiques.

**Substrats riches en N** : Plantes légumineuses, déjections animales, boues de STEP.



Les rapports C/N sont très différents suivant les substrats considérés d'où l'intérêt du **mélange de divers déchets** pour améliorer la qualité du substrat et donc établir un rapport C/N moyen plus favorable.

## II.3.3 Traitement biologique anaérobie : la méthanisation

### *II.3.3.1- Historique, objectifs et aspects réglementaires*

#### *a) Historique*

La méthanisation, filière de valorisation des déchets organiques, a pris une importance industrielle conséquente. Plus encore que le compostage, elle est apparue comme une alternative compétitive aux problèmes de dépense énergétique posés après la crise pétrolière de 1973.

#### *b) Objectifs*

La **méthanisation** est un processus de digestion anaérobie pouvant répondre à un double objectif de **valorisation énergétique** par récupération de méthane (CH<sub>4</sub>) et de **stabilisation** des déchets organiques. Le biogaz est utilisé comme combustible et le digestat, produit solide final de la digestion anaérobie, est utilisable comme amendement organique sur les terres agricoles (éventuellement après une opération de maturation aérobie complémentaire).

#### *c) Aspects réglementaires*

La méthanisation répond aux objectifs fixés par la loi du 13 juillet 1992 relative à l'élimination des déchets (journal officiel du 14 juillet 1992) concernant la diminution des volumes de déchets et leur recyclage. Tout comme les installations industrielles qui représentent un danger pour la protection de la nature et de l'environnement, les usines de méthanisation sont soumises à la loi du 19 juillet 1992 relative aux installations classées pour la protection de l'environnement (journal officiel du 20 juillet 1992). Les produits issus du procédé de la méthanisation doivent également répondre aux objectifs « qualité » fixés par la norme AFNOR NF U 44-051 sur les amendements organiques destinés à être commercialisés.

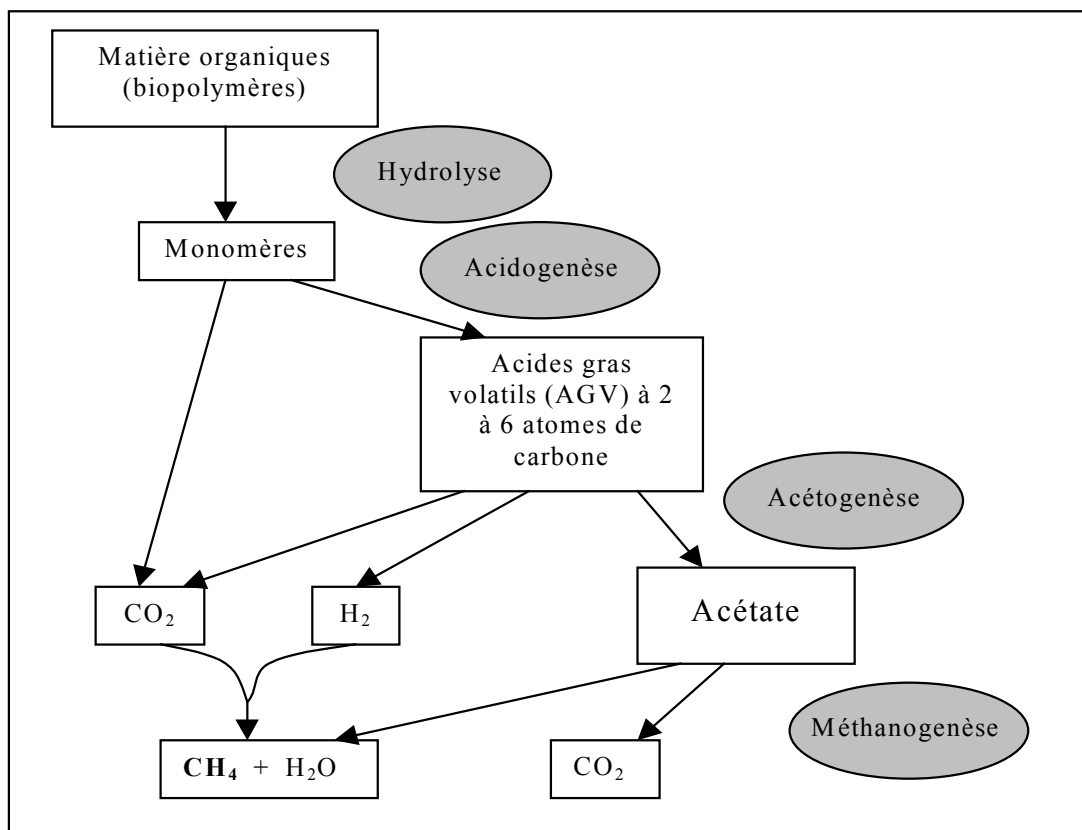
### *II.3.2.2- Principe de la méthanisation*

La méthanisation est un procédé biologique de **digestion anaérobie**. La digestion anaérobie est la transformation de la matière organique en méthane (CH<sub>4</sub>), eau (H<sub>2</sub>O) et gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) par un écosystème microbien complexe fonctionnant en absence d'oxygène. Du point de vue industrielle, la méthanisation doit donc s'effectuer en système noyé (fosses, cuves fermées,...) pour favoriser l'anaérobiose ainsi que la **syntrophie obligatoire** entre les différentes populations microbiennes. La méthanisation s'applique donc préférentiellement à des déchets très humides ou alors il faut procéder à un ajout d'eau ou d'effluents liquides.

### II.3.3.3- Les grandes étapes biochimiques et microbiologiques

Contrairement au processus de compostage, la connaissance des aspects biochimiques et microbiologiques est fondamentale pour une bonne maîtrise de la digestion méthanique. La biodégradation anaérobie de la matière organique est en effet un processus séquentiel comportant quatre étapes biochimiques réalisées par trois groupes bactériens de caractéristiques très distinctes fonctionnant en syntrophie (voir Figure 21). Les micro-organismes actifs sont des **bactéries anaérobies strictes ou facultatives**. La méthanisation se déroule en 4 étapes biochimiques :

- 1 Hydrolyses,
- 2 Acidogenèse,
- 3 Acétogenèse,
- 4 Méthanogenèse.



**Figure 21 : Les 4 étapes de la méthanisation (d'après Gourdon, 1987).**

Trois groupes distincts de bactéries interviennent dans le processus de méthanisation. Il faut donc maintenir un **équilibre dynamique permanent** entre ces populations. L'hydrolyse étant réalisée à l'extérieur des cellules, aucun micro-organisme ne peut vivre au dépend de cette seule étape, et ce sont donc les mêmes bactéries qui réalisent l'hydrolyse et l'acidification.

### a) Hydrolyse et Acidogénèse

L'hydrolyse des biopolymères est souvent une étape cinétiquement limitante. L'acidogénèse conduit à la formation d'acides gras volatils (AGV), de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>. Cette étape peut être rapide et entraîne l'acidification du milieu. Au niveau biochimique, les mécanismes cataboliques sont ceux décrits dans la partie I. Le composé pivot des fermentations (acides, alcooliques,...) est le **pyruvate**. Au niveau microbiologique, l'étape d'hydrolyse-acidogénèse est réalisée par des bactéries anaérobies facultatives ou strictes. Certaines espèces ont une activité hydrolytique importante. Les genres suivants sont les plus représentés : *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*. Il est indispensable que les déchets solides soient **correctement broyés** pour favoriser la biodégradation, et le milieu en cours de digestion doit être **suffisamment agité** pour permettre un bon contact entre les substrats et les micro-organismes et une bonne syntrophie entre les différentes populations. Il est parfois intéressant de séparer les phases d'hydrolyse-acidogénèse et d'acétogénèse-méthanogénèse en 2 réacteurs en série. Mais cela peut entraîner des difficultés pratiques qu'il est parfois difficile de maîtriser.

### b) L'acétogénèse

L'acétogénèse est la transformation des AGV (Acides Gras Volatils) en acétate, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub> principalement. L'étape d'acétogénèse est réalisée par un groupe particulier de bactéries anaérobies strictes, **les bactéries Acétogènes Productrices Obligées d'Hydrogène** (OHPA en anglais). Les produits de l'étape d'acidogénèse autres que les AGV (alcools etc....) sont transformés en acides par les bactéries acidogènes, lesquels acides servent de substrats aux bactéries acétogènes.

Toutes les bactéries acétogènes (OHPA) produisent de **l'hydrogène** (H<sub>2</sub>). Thermodynamiquement, la dégradation des AGV en acétate n'est possible qu'à de faibles pressions partielles en H<sub>2</sub>. Il faut par exemple  $p(\text{H}_2) < 10^{-4}$  atm pour que la transformation du propionate en acétate soit possible. Il faut donc une syntrophie très étroite entre les bactéries acétogènes et d'autres bactéries capables de consommer l'H<sub>2</sub> produit (méthanogènes, sulfato-réductrices, ...). Les bactéries acétogènes ont des temps de génération très longs : 6 à 8 jours à 30°C pour *Syntrophobacter wolinii* (qui dégrade le propionate), 90 à 180 h et 72 à 96 h respectivement pour *Syntrophomonas wolfei* et *Clostridium bryantii* (qui dégradent le butyrate). Ce groupe de bactéries est la charnière fondamentale de l'équilibre des populations bactériennes en cours de digestion anaérobie.

### c) Méthanogénèse

Elle est assurée par les bactéries méthanogènes qui sont des anaérobies strictes très particulières (structurellement et physiologiquement) à tel point qu'on considère qu'elles correspondent à une classe de bactéries tout à fait à part dans le règne des protistes. Il s'agit des **Archaeobactéries**. Ces bactéries ne sont capables d'utiliser qu'un nombre très réduit de composés carbonés.



- Le formate pour beaucoup d'espèces,

- L'acétate, le méthanol et le méthylamine pour quelques espèces.

Presque toutes les espèces peuvent produire du méthane à partir du mélange :  $\text{H}_2 + \text{CO}_2$

suivant la réaction :



La production de  $\text{CH}_4$  à partir d'acétate a lieu suivant la réaction suivante :



Cette dernière voie est responsable d'environ **70% du  $\text{CH}_4$  produit en digesteur**. Le temps de génération des bactéries méthanogènes varie de quelques heures sur  $\text{H}_2 + \text{CO}_2$  à 9 jours sur acétate pour *Methanothrix soehngenii* à 35°C.

Maturation du digestat :

Cette dernière étape conduit à la stabilisation de la matière organique et s'accompagne d'une baisse de la production de biogaz. Les molécules faiblement biodégradables se transforment lentement en molécules complexes et plus stables telles que l'humine, les acides humiques et les acides fulviques (**stabilisation par humification**).

Sulfato-réduction :

Il s'agit d'un processus biochimique de respiration anaérobie correspondant à un transfert d'électrons et de protons à partir d'un substrat organique ou de l'hydrogène moléculaire, vers un accepteur minéral, l'ion sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Ségura, 1984). Les micro-organismes impliqués sont les bactéries sulfato-réductrices ou BSR, qui, en condition anaérobie stricte, transforment le lactate, le pyruvate et l'éthanol. Les produits terminaux essentiels sont l'ion sulfure  $\text{S}^{2-}$  ou le sulfure d'hydrogène  $\text{HS}^-$  et l'eau. En présence de concentrations élevées en sulfates dans les déchets, la sulfato-réduction peut entrer en compétition avec la méthanogénèse pour la consommation de l'hydrogène formé à l'étape de l'acétogénèse (Robinson et Tiedje, 1984).

#### ***II.3.3.4- Facteurs d'influence***

##### *a) Température*

Le phénomène de méthanisation est peu oxydatif donc peu exothermique. Pour favoriser l'activité microbienne, il est nécessaire de chauffer et de thermostatier les digesteurs, le plus souvent en utilisant une part du méthane produit. On peut alors choisir un optimum autour de 30-35 °C (zone mésophile)

ou vers 45-55 °C (zone thermophile) qui permet d'accroître la vitesse de réaction d'un facteur 2 à 4, mais qui implique en contrepartie une plus grande dépense énergétique.

#### *b) pH*

Le pH optimum se situe autour de la neutralité. En deçà de pH 6, les bactéries acétogènes et méthanogènes sont fortement inhibées. Une chute de pH est le signe d'un dysfonctionnement du système et nécessite une intervention immédiate, d'addition d'alcali (lait de chaux, soude, potasse ou carbonates). Pour conserver une marge de sécurité, on travaille généralement à pH 7,5-8.

#### *c) Oxygène moléculaire et teneur en eau*

L'oxygène O<sub>2</sub> est toxique pour les bactéries anaérobies strictes que sont les bactéries acétogènes et méthanogènes. Il faut donc éviter toute entrée d'air en travaillant par exemple en conditions noyées. La méthanisation est donc un procédé particulièrement adapté aux déchets fortement humides. La teneur en eau optimale se situe aux alentours de 90%.

#### *d) Potentiel redox*

Les bactéries anaérobies strictes que sont les méthanogènes et acétogènes, demandent un très faible potentiel rédox inférieur à - 300 mV, avec un optimum aux alentours de - 520 mV pour la croissance des méthanogènes.

#### *e) Rapport C/N*

Le rapport C/N optimal est proche de celui des conditions aérobies soit de l'ordre de 20-40. Cependant, il varie également en fonction de la disponibilité de la source de carbone et surtout de la source d'azote contenues dans le substrat traité.

#### *f) Agitation*

Dans ce milieu extrêmement humide, l'agitation a pour objectif d'éviter d'une part la flottation de certains débris (végétaux par exemple) et d'autre part la décantation de parties plus denses. Cette agitation, qui n'a besoin d'être permanente, peut se faire mécaniquement, par pompage périodique ou par circulation de biogaz comprimé.

## **II.4. Mise en Centre d'Enfouissement Technique (CET)**

### **II.4.1- Introduction**

Contrairement aux filières de traitement biologique des déchets, la mise en décharge ne profite pas, le cas échéant, du caractère biodégradable d'une fraction du déchet traité pour une valorisation agricole ou énergétique sauf si le biogaz est collecté. Pourtant, si le déchet contient de la matière organique, les conditions particulières de stockage rencontrées dans les centres d'enfouissement technique (CET) permettront le développement de micro-organismes qui s'attaqueront à la matière organique par des phénomènes de dégradation aérobie ou anaérobie. Le problème de la **biodégradabilité** des déchets traités par cette filière s'inscrit donc dans le devenir, à court, moyen et long terme, de cette fraction organique et donc de l'ensemble de la décharge.

Lors de leur stockage en centre d'enfouissement technique, les déchets peuvent être soumis à des agressions microbiennes, qu'elles soient souhaitées ou limitées par les conditions de mise en décharge. Il apparaît donc important de préciser les deux types de scénarios « mise en décharge » où la notion de « biodégradation » et les nombreux termes qui lui sont associés doivent être pris en compte. Il s'agit de :

- 1- La mise en décharge des déchets ménagers et assimilables dans les décharges de classe II. La biodégradation peut être considérée comme étant un procédé de réduction du volume de déchets, de **stabilisation** de la matière organique dans le massif de déchets, mais aussi de valorisation énergétique lorsque le biogaz produit est récupéré. Par conséquent le caractère « fermentescible » est un critère positif et recherché dans le concept « **décharge = bioréacteur** ». La biodégradation est également à considérer au niveau de l'admission des déchets en décharge de classe II, étant donné la politique réglementaire européenne qui encourage les états membres à réduire la quantité de déchets organiques fermentescibles mis en décharge.
- 2- La mise en décharge des déchets dangereux ou industriels spéciaux en décharge de classe I. En considérant que la mise en décharge de classe I ne concerne que les déchets dangereux ultimes ayant un traitement de stabilisation, le risque d'une évolution biologique est faible mais non nul. En effet, en condition de stockage, les déchets peuvent être soumis à des agressions d'origines microbiennes même si les conditions de stockage sont destinées à les réduire. Ces agressions peuvent se traduire par une biodétérioration des déchets solides stockés.

## II.4.2- Contexte réglementaire différentes classes de CET

Jusqu'à un passé récent, la mise en décharge était la voie la plus utilisée pour traiter les déchets. Il était en effet simple et peu onéreux de se débarrasser ainsi d'un déchet indésirable. Dans les années 70, la réglementation française sur les décharges s'est adaptée à l'évolution des connaissances scientifiques et à la demande sociale de plus en plus exigeante en matière d'environnement. Les lois du 15 juillet 1975 modifiée par la loi du 13 juillet 1992 indiquent ainsi qu'à compter du 1<sup>er</sup> juillet 2002 seuls les déchets ultimes pourront être accueillis en décharge. Parallèlement ont été créées trois classes de décharges, renommées Centres d'Enfouissement Technique (CET) :

- *Les sites de classe III réservés aux déchets inertes (minéraux principalement),*

- *Les sites de classe II réservés aux déchets ménagers et aux déchets industriels assimilables (DIB). L'arrêté du 09 septembre 1997 sur les installations de stockage de classe II fixe la liste des déchets admissibles et interdits,*

- *Les sites de classe I réservés à certains déchets industriels spéciaux (DIS).*

A l'heure actuelle, la mise en décharge des déchets est réglementée par la directive européenne 1999/31/CE du 26 avril 1999 publiée au JOCE le 16 juillet 1999 et rectifiée le 5 novembre 1999. Elle doit permettre de répondre aux exigences de la directive 1975/442/CEE (JOCE n° L 194 du 25 juillet 1975), modifiée par la directive 96/350/CE de la commission (JOCE n° L1135 du 6 juin 1996) sur les mesures et procédures à suivre dans la gestion des déchets et des décharges pour prévenir et/ou réduire autant que possible les nuisances de la mise en décharge des déchets. Cette directive précise entre autres les déchets admis ou non dans les différentes catégories de décharges. Les caractéristiques techniques des trois catégories de décharges sont détaillées dans la directive européenne 1996/61/CE (JOCE n° L 257 du 10 octobre 1996).

## II.4.3- Evolution des déchets organiques en centre d'enfouissement technique de classe I

### *II.4.3.1- Réglementation spécifique*

Les décharges de classe I (ou décharges pour déchets dangereux) sont destinés à recevoir uniquement les déchets industriels spéciaux (ou **déchets dangereux**, selon la définition donnée dans la directive européenne 1975/442/CEE) ayant éventuellement subi un traitement leur permettant d'être considérés comme des **déchets ultimes** répondant aux critères d'acceptation de mise en décharge précisés dans l'annexe II de la directive européenne 1999/31/CE. La liste provisoire des déchets dangereux admissibles dans les décharges pour déchets dangereux est donnée dans la directive européenne 2001/118/CE (JOCE n°377 du 02 février 2001), qui remplace la décision 1994/31/CEE, JOCE n° L 168 du 27 juillet 1994). Cette directive précise les propriétés physiques, chimiques et biologiques des

déchets qui les rendent potentiellement dangereux et imposent donc un traitement de stabilisation avant leur mise en décharge de classe I. La propriété « **biodégradable** » n'est pas mentionnée comme une propriété donnant un caractère dangereux aux déchets.

Les critères d'admission des déchets sur les listes de référence ou dans une catégorie de décharges peuvent être définis par d'autres textes législatifs que la directive 1999/31/CE. Cette dernière précise cependant que ces critères doivent tenir compte du caractère **biodégradable** de la fraction organique des déchets et de la nécessité de réduire au mieux la quantité de matière organique dans les déchets mis en décharge. En France, l'arrêté du 18 décembre 1992 (JO, 30 mars 1993) « *relatif au stockage de certains déchets industriels spéciaux ultimes et stabilisés pour les installations nouvelles (classe<sup>o</sup>I)* » précise dans l'article 12 (chapitre II) la caractéristique « **fermentescible** » comme critère de non admission d'un déchet en centre de stockage de classe I. La nature « **fermentescible** » d'un déchet n'est pas définie avec précision dans l'arrêté du 18 décembre 1992 et aucune norme ou procédure expérimentale n'est proposée pour évaluer ce critère, mis à part la teneur maximale admissible en carbone organique (COT) qui varie entre 3500 et 5000 mg par kg de déchet selon la catégorie de déchet considéré. Ces teneurs maximales en carbone organique limitent *a priori* les risques de biodégradation des déchets ultimes acceptés en décharge de classe I.

Bien que les déchets comportant de la matière organique se soient pas acceptés en CET de classe I, la définition du déchet ultime mentionnant « *les conditions techniques et économiques du moment* » peut permettre dans certains cas de considérer ces déchets organiques comme ultimes. Par exemple si la part organique est trop faible ou trop difficilement accessible, la valorisation de cette matière organique devient non faisable ou non rentable d'un point de vue économique. Aussi pourra-t-on trouver en CET de classe I certains déchets solides non traitables et contenant une fraction de matière organique (COT < 5 g/kg). La notion de biodégradabilité ou de fermentescibilité est alors importante pour déterminer l'évolution à terme du déchet et les risques que cela engendre (odeurs, échauffement, explosion...).

#### ***II.4.3.2- Concept de la décharge de classe I***

Les décharges de classe I sont basées sur le concept dit « hors eau » dont l'objectif est de réduire au minimum le contact eau-déchet en évitant toute entrée d'eau par les déchets eux-mêmes ou par les précipitations. Les conditions de stockage des décharges de classe I contribuent à réduire les risques d'une évolution biologique des déchets solides. La décharge doit constituer une barrière efficace autour du déchet dont la stabilisation fournit une deuxième barrière. L'enveloppe de la décharge, constituée généralement d'une couche d'argile sous-jacente, est considérée comme une barrière passive qui doit être complétée par une barrière active telle qu'une géomembrane. Ces deux barrières

complétées par un dispositif de drainage doivent permettre de réduire considérablement la production de lixiviats et de leur charge polluante.

#### ***II.4.3.3- Procédés de stabilisation/solidification des déchets***

##### *a) Déchets ultimes et déchets stabilisés*

L'évolution de la réglementation concernant le stockage des **déchets ultimes**, notion définie par loi du 15 juillet 1975 modifiée le 13 juillet 1992, explique en grande partie le développement des procédés de stabilisation/solidification. Ils doivent permettre de réduire les contacts en le déchet et l'environnement (barrière physique) et augmenter la rétention des polluants afin d'en réduire les rejets dans l'environnement. Cette stabilisation est prévue par l'arrêté du 18 décembre 1992 modifié par l'arrêté du 18 février 1994. D'après cet arrêté, le déchet est considéré comme stabilisé « quand sa perméabilité à l'eau et sa fraction lixiviable ont été réduites et quand sa tenue mécanique a été améliorée de façon que ses caractéristiques satisfassent aux critères d'acceptation des déchets stabilisés ». L'efficacité des procédés de stabilisation est évaluée par des tests de lixiviation (cf NFX-31-210, NFX 31-211 et NXF 31-212). L'arrêté du 18 décembre 1992 modifié par l'arrêté du 18 février 1994 impose les conditions d'admission des déchets en décharge, les déchets industriels spéciaux se répartissant en trois catégories :

- A- Déchets qui devraient être stabilisés à compter du 30 mars 1995,
- B- Déchets qui devraient être stabilisés à compter du 30 mars 1998,
- C- Déchets admis au cas par cas.

Le Tableau 15 présente la liste exhaustive des déchets Industriels spéciaux (D.I.S.) nécessitant une stabilisation avant leur mise en décharge de classe I. La réglementation française définit deux échéances de stabilisation suivant le type de déchets considéré. Les déchets présentés dans cette liste sont pour la grande majorité constitués essentiellement d'éléments minéraux avec un potentiel toxique tels que les métaux lourds et les métalloïdes. La présence de polluants organiques est toutefois possible pour certains déchets industriels spéciaux tels que les résidus de forages, les résidus de peintures, les résidus de traitement d'effluents industriels, les sols pollués.

D'après la réglementation française, ces déchets doivent être essentiellement solides, minéraux, avec un potentiel polluant constitué essentiellement de métaux lourds peu mobilisables. Ils doivent être chimiquement peu réactifs, très peu **évolutifs** et très peu solubles. Nous rappelons une fois de plus que les déchets présentant la caractéristique d'être **fermentescible** sont interdits dans les sites de stockage de classe I. Par conséquent, dans le cas de déchets contenant de la matière organique et non susceptibles d'être traités dans les conditions techniques et économiques du moment, la

stabilisation/solidification peut être considérée comme un procédé permettant de réduire le caractère bioévolutif ou de fermentescibilité de tels déchets.

**Tableau 15 : Liste des déchets industriels spéciaux à stabiliser (Arrêté du 18 décembre 1992, modifié le 18 février 1994).**

Catégorie	Type de déchets
<b>A</b>	
<b>Déchets devant être stabilisés avant stockage depuis le 30 mars 1995</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Résidus d'incinération : REFIOM (Résidus d'Épuration des Fumées d'Incinération des Ordures Ménagères),</li> <li>- Résidus de la métallurgie (poussières, scories et crasses),</li> <li>- Résidus de forage résultant de l'emploi de fluide de forage à base d'hydrocarbures,</li> <li>- Déchets minéraux de traitements chimiques (oxydes et sels métalliques, catalyseurs usés ...).</li> </ul>
<b>B</b>	
<b>Déchets devant être stabilisés avant stockage depuis mars 1998</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Résidus de traitement d'effluents industriels et d'eaux industrielles de déchets ou de sols pollués (boues, résines d'échangeuses d'ions),</li> <li>- Mâchefers résultant de l'incinération des déchets industriels spéciaux,</li> <li>- Résidus de peinture,</li> <li>- Résidus de métallurgie,</li> <li>- Résidus d'amiante,</li> <li>- Réfractaires et autres matériaux et minéraux usés et souillés,</li> <li>- Résidus de recyclage d'accumulateurs et de batteries.</li> </ul>

#### *b) Principe*

Les procédés de stabilisation/solidification des déchets reposent sur le principe de la réduction des rejets toxiques par ajouts de réactifs solides ou liquides. Ils permettent la **solidification** du déchet en solidifiant (masse solide) permettant d'une part de faciliter sa manutention et, d'autre part, de limiter au maximum la dispersion du déchet dans l'environnement. Ils conduisent également à la **stabilisation** des espèces polluantes présentes dans le déchet (réduction de la mobilité). Le piégeage des espèces polluantes telles que les métaux lourds ou métalloïdes dépend de mécanismes d'interactions physiques et/ou chimiques complexes entre le déchet et le ciment.

#### *c) Procédés de stabilisation/solidification*

Parmi les méthodes de traitements des déchets, la stabilisation/solidification par des liants hydrauliques est encore actuellement la technique la plus utilisée en raison de son faible coût, de sa facilité de mise en œuvre et de l'adéquation aux critères sélectifs en vue de leur acceptation en centre d'enfouissement technique de classe I.

Le ciment est un liant hydraulique formé de constituants anhydres, cristallisés ou vitreux, constitué principalement de silice, d'alumine et de chaux. Avec de l'eau, il forme une pâte qui durcit progressivement (prise hydraulique) à la suite de l'hydratation des sels anhydres suivie d'une précipitation des hydrates. Les principaux produits de l'hydratation sont les silicates de calcium,

l'hydroxyde de calcium (ou portlandite) et les sulfo-aluminates de calcium (Sanchez, 1996 ; Serclerat, 1996).

Suivant sa composition chimique et sa structure physique, le déchet peut entraîner diverses perturbations de la prise hydraulique du ciment et baisse des qualités physico-chimiques du solidifié.

La fixation des métaux lourds et des métalloïdes dans la matrice solide est principalement due à trois mécanismes qui sont (Sanchez, 1996 ; Serclerat, 1996) :

- *Rétention physique* : Piégeage physique des particules de polluants inorganiques, soit dans une gangue d'hydrates, soit dans des pores fermés,

- *Précipitation*: Précipitation des métaux sous la forme d'hydroxydes métalliques dans la phase aqueuse (eau des pores de la matrice) sursaturée,

- *Adsorption* sur les hydrates de ciment tels que les minéraux phylliteux qui développent une très grande surface spécifique chargée négativement en milieu basique (Si-OH) et propice à l'adsorption plus ou moins réversible des cations métalliques.

#### *d) Stabilisation/solidification de déchets contenant de la matière organique*

La réglementation française impose la teneur maximale en Carbone Organique Total (C.O.T.) de 5000 mg par kg de déchet stabilisé ou non pour son acceptation en décharge de classe I dans le but d'éviter tout risque de fermentescibilité. La réglementation américaine, quant à elle, interdit l'utilisation du procédé de stabilisation/solidification par des liants hydrauliques lorsque les déchets solides ou pâteux contiennent initialement plus de 1% (pourcentage massique) de matière organique (Conner, 1990 cité par Portland Cement Association, 1991).

Beaucoup de composés organiques sont insolubles dans l'eau et s'associent préférentiellement à la phase solide. A faible teneur, la fraction organique contenue initialement dans le déchet brut peut facilement être stabilisée lorsque la matrice hydraulique est peu perméable. Cependant les composés organiques peuvent interférer dans le processus de stabilisation/solidification (Tittlebaum, et al, 1986 ; Walsh et al, 1986 ; Eaton et al, 1987 ; Sheffield et al, 1987 ; Portland Cement Association, 1991 ; Bates et al, 1992 ; Brown et al, 1992 ; Cullinane et Bricka, 1993). D'une manière générale, les études sur la stabilisation/solidification de déchets contenant de la matière organique montrent que l'intensité des interférences dépend d'une part de la teneur en matière organique et, d'autre part, de la nature des molécules organiques présentes initialement dans le déchet brut. Cependant, d'après Cullinane et al (1993), de faibles quantités en produit organique suffisent à modifier les caractéristiques de la matrice.

La liste suivante donne quelques exemples d'interactions négatives couramment cités dans la littérature depuis une quinzaine d'années :

- *Action physique des huiles et des graisses* (Portland Cement Association, 1991) : les huiles et graisses contenues dans un déchet brut peuvent empêcher la réaction entre l'eau et le ciment en



recouvrant ce dernier (les alcools et amides peuvent favoriser l'émulsion des huiles et faciliter ainsi la solidification),

- Retard de l'hydratation du ciment lorsque certaines molécules organiques sont adsorbées à la surface du ciment avec pour effet de retarder, voir empêcher, la prise hydraulique du ciment (Portland Cement Association, 1991),

- Influence des molécules organiques ayant des propriétés de flocculants qui empêchent la dispersion de grains de ciment nécessaires à la structuration du ciment (Portland Cement Association, 1991),

- Influence sur la microstructure du ciment (Tittlebaum et al., 1986 ; Walsh et al, 1986 ; Eaton et al, 1987) : des composés organiques tels que l'éthylène glycol ou le p-bromophénol favorisent l'apparition de lacunes dans le réseau cristallin et l'augmentation de la porosité de la matrice.

Globalement, les interférences observées s'expliquent par l'effet retardateur et inhibiteur des nombreuses familles de molécules organiques sur la prise hydraulique du ciment. Signalons cependant que l'ajout de certaines familles de polymères organiques ont au contraire un effet bénéfique sur les qualités physico-chimiques et mécaniques du produit final (Venuat, 1971 ; Joisel, 1973). Ces adjuvants organiques sont couramment utilisés dans les bétons destinés aux travaux publics et la réalisation d'ouvrages d'art. Par conséquent, dans le cas où un déchet à stabiliser contiendrait de la matière organique en quantité non négligeable, il est indispensable de connaître les propriétés chimiques des familles de molécules organiques présentes initialement dans le déchet brut avant la mise en place du procédé de stabilisation/solidification. Le procédé doit permettre une réduction significative de la mobilité des polluants organiques et également assurer le piégeage des métaux et métalloïdes également présents dans le déchet.

#### ***II.4.3.4- Altération biologique des déchets stabilisés par des liants hydrauliques***

##### *a) Introduction*

Les agressions biologiques des déchets stabilisés sont théoriquement possibles à long terme dans la mesure où les conditions environnementales le permettent (humidité, milieu non stérile) ce qui est envisageable dans le cadre d'un scénario de stockage à long terme (Gourdon et al, 1996). L'ensemble des agressions subies par le déchet peut conduire, à plus ou moins long terme, à la diminution partielle des qualités du solidifié en tant que structure physique et de son environnement chimique assurant la rétention des espèces polluantes.

La **durabilité** d'un matériau se définit par sa capacité à maintenir ses **qualités** sur une longue durée vis à vis d'agents physiques, chimiques (Taché, 1998) et microbiologiques (Bayard, 1993). **L'altération** ou la **détérioration** désignent une réduction de qualité d'un matériau considéré (Rose, 1981). La détérioration résultant de l'action d'agents biologiques sera désignée sous le terme de **biodétérioration** (Gourdon et al, 1996). La durabilité, l'altération et la détérioration nécessitent donc de définir la qualité du système en terme de valeur, de propriété et de fonction du matériau considéré. Dans le cas des déchets solidifiés par des liants hydrauliques, la notion de qualité repose sur l'immobilisation des éléments polluants (inorganiques et/ou organiques) au sein de la matrice. Les

tests de lixiviation tels que NF 31-210, et NF 31-211 sont utilisés comme outils d'évaluation de cette qualité et comme outils d'identification des paramètres essentiels contrôlant le relargage.

#### *b) Mécanismes de bioaltération*

Les principaux agents biologiques de la (bio)altération ou (bio)détérioration des déchets stabilisés/solidifiés par des liants hydrauliques sont les micro-organismes susceptibles de se développer dans l'environnement des déchets. Les micro-organismes sont reconnus comme étant des agents importants dans la biodétérioration des minéraux dans les sols, les bétons, les ciments et les pierres d'ouvrages. De nombreux exemples de détériorations biologiques sont rapportés dans la littérature scientifique (Berthelin, 1976 ; Krumbein et al, 1978 ; Krumbein, 1988 ; Griffin et al, 1991 ; Cifferi et al, 2000). En général, les micro-organismes accentuent l'action d'autres agents agressifs avec de nombreuses synergies entre plusieurs agents agressifs.

Les agressions microbiennes d'un matériau reposent sur la **biotransformation** des constituants de ce matériau et/ou l'effet agressif d'agents biochimiques métabolisés à partir des substances se trouvant dans le matériau lui-même ou dans son environnement immédiat (Gourdon et al, 1996). Leurs caractéristiques métaboliques et génotypiques sont très variées.

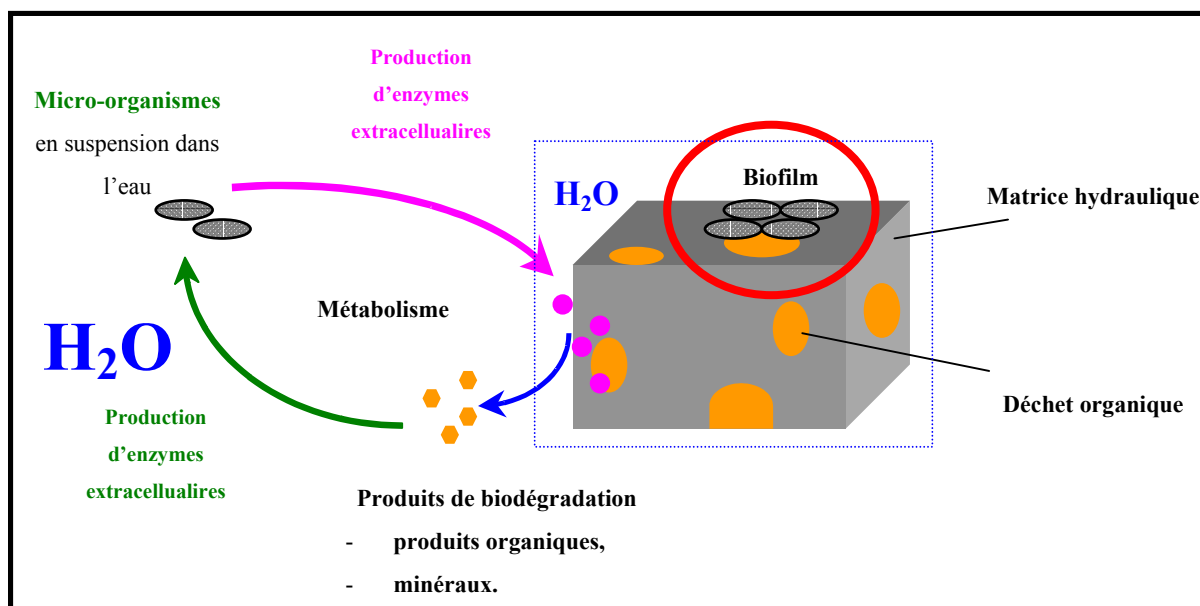
- *La biotransformation se définit comme étant un **mécanisme direct** de détérioration,*

- *L'attaque biochimique se définit comme étant un **mécanisme indirect** de détérioration. La production d'agents chimiques par voie métabolique conduit donc à des agressions chimiques de la matrice.*

Biodétérioration directe et indirecte peuvent évidemment se produire simultanément.

#### *c) Mécanismes de biodétérioration directe*

Pour les matériaux plastiques constitués principalement de polymères organiques à très longues chaînes, la biodétérioration est implicitement liée au processus de biodégradation qui se définit comme l'ensemble des réactions de transformation ou de destruction des éléments constitutifs du matériau dues à l'action d'agents biologiques (Hilaire, 1994). Dans le cas des déchets stabilisés à base de liants hydrauliques, la biodétérioration directe est liée à la métabolisation de la matière minérale et organique présentes dans la matrice. La Figure 22 représente schématiquement les interactions possibles entre la matrice solide et les micro-organismes.



**Figure 22 : Schéma global de la biodétérioration directe d'un déchet contenant de la matière organique et stabilisé par des liants hydrauliques.**

La bioaltération directe peut être due soit au métabolisme des micro-organismes en suspension dans la phase liquide environnant le matériau, soit au métabolisme des micro-organismes se développant en surface sous la forme de **biofilms**. Les enzymes extra-cellulaires libérés par ces micro-organismes hydrolysent les polymères organiques biodégradables en oligomères ou monomères ce qui offre une nouvelle source de carbone.

- a) Métabolisation de composés minéraux : Les bactéries autotrophes (micro-organismes qui utilisent le  $CO_2$  ou le bicarbonate comme source de carbone) sont susceptibles d'oxyder le fer, le manganèse ou le soufre pour leurs besoins énergétiques.
- b) Métabolisation de composés organiques : la matière organique contenue dans la matrice cimentaire peut, si elle est accessible, être directement utilisée comme substrat organique (= source d'énergie + source de carbone) par les micro-organismes chimioorganotrophes.
- c) Altérations mécaniques : La croissance et la pénétration des myceliums de diverses moisissures vivant en surface du déchet et à l'intérieur des pores, peuvent entraîner l'éclatement de ces pores et ainsi augmenter significativement l'altération mécanique du déchet (Gourdon et al, 1996).

#### d) Mécanismes de biodétérioration indirecte

Dans le cas de la biodétérioration indirecte (voir Figure 23), ce sont les métabolites (intermédiaires ou finaux) produits par les micro-organismes à partir de substances se trouvant dans leur environnement ou dans le matériau qui altèrent le matériau. Ces manifestations relèvent de trois phénomènes en particulier : 1) la production d'acides minéraux ou organiques, 2) la production d'agent complexants et 3) la production d'agents oxydants (Gourdon et al, 1996). L'observation de nombreux matériaux altérés a mis en évidence l'implication d'une microflore variée : des bactéries, des champignons et des algues.

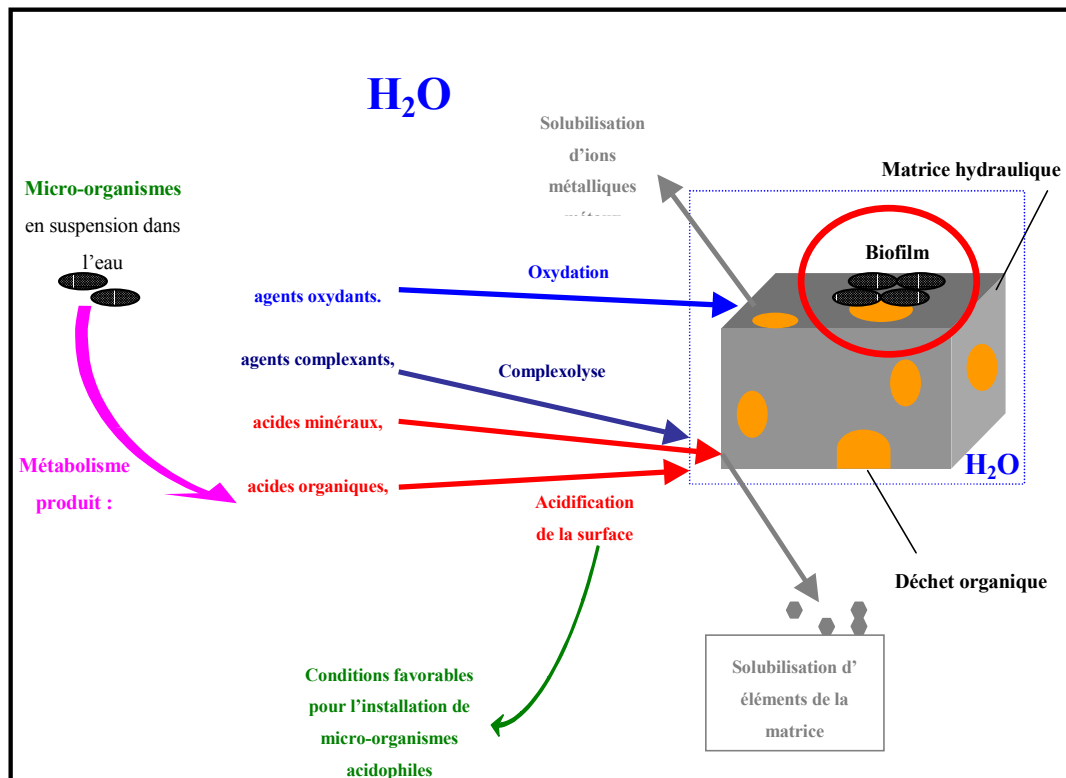
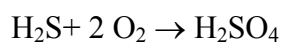


Figure 23 : Schéma global de la biodétérioration indirecte d'un déchet contenant de la matière organique et stabilisé par des liants hydrauliques.

#### i) Production d'acide sulfurique

L'acide sulfurique est produit au cours de l'oxydation de composés soufrés par des bactéries sulfoxydantes chimiolithotrophes. L'énergie retirée de cette oxydation fournit l'énergie nécessaire à la croissance de ces bactéries. Le genre *Thiobacillus* est celui le plus impliqué dans l'altération du ciment. En effet ces bactéries oxydent l'hydrogène sulfuré ( $H_2S$ ) pour former de l'acide sulfurique qui dégrade progressivement la matrice cimentaire comme il suit :



Chaux du béton  $Ca(OH)_2 + H_2SO_4 \Rightarrow 2H_2O + \text{gypse } CaSO_4$  qui se solubilise ou éclate le béton.

#### ii) Production d'acide nitreux et nitrique

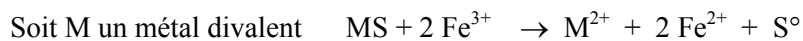
Des bactéries autotrophes chimiolithotrophes peuvent oxyder l'ammoniac en nitrites puis en nitrates (nitrification). Les genres impliqués dans l'oxydation de l'ammoniac en nitrites et acide nitreux sont : *Nitrosococcus*, *Nitrosomonas*, *Nitrosolobus*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio*. L'oxydation des nitrites en nitrates est assurée par les genres *Nitrobacter* et *Nitrospira*. Cependant les exemples d'altérations de matériaux, mettant en cause uniquement des bactéries nitrifiantes, sont peu nombreux.

### iii) Production d'acides organiques et d'agents complexants

Une large variété de micro-organismes hétérotrophes anaérobies peut, en se nourrissant de substrats organiques, générer divers acides organiques. Les acides organiques corrodent les ciments et les matériaux de même nature comme les roches et minéraux. Les cations de la matrice cimentaire forment avec les agents complexants et les acides organiques des sels ou des complexes qui sont plus facilement solubilisables. Ce sont des phénomènes d'acidolyse et de complexolyse (Bayard, 1993).

### iiii) Production de Fe<sup>3+</sup>

Le Fe<sup>3+</sup> est un oxydant capable de réagir avec les sulfures métalliques selon l'équation suivante :



*Thiobacillus thiooxidans* est capable de réoxyder Fe<sup>2+</sup> en Fe<sup>3+</sup> ce qui peut entraîner un cycle de solubilisation du métal.

### ***II.4.3.5- Conclusions***

Un déchet stabilisé / solidifié est potentiellement susceptible d'évoluer à long terme en condition de stockage. L'altération et la détérioration du déchet peuvent alors entraîner la mobilisation de polluants ce qui est contraire à l'objectif souhaité. La présence de matière organique au sein du déchet peut être une source potentielle de carbone et d'énergie pour un certain nombre de micro-organismes qui peuvent se développer au dépend du déchet et accélérer ainsi la solubilisation de polluants de la matrice cimentaire. Cependant nous ne savons pas dans quelles proportions et sur quelle période se produit l'évolution biologique du déchet par rapport à son altération globale (physique, chimique et biologique).

## II.4.4. Evolution des déchets organiques en centre d'enfouissement technique de classe II

### *II.4.4.1- Réglementation spécifique des décharges de classe II*

Jusqu'à un passé récent, la mise en décharge était la voie la plus utilisée pour traiter un déchet. Il était en effet simple et peu onéreux de se débarrasser ainsi d'un déchet indésirable. Dans les années 70, la réglementation française sur les décharges s'est adaptée à l'évolution des connaissances scientifiques et à la demande sociale de plus en plus exigeante en matière d'environnement. Les lois du 15 juillet 1975 et du 13 juillet 1992 indiquent ainsi qu'à compter du 1<sup>er</sup> juillet 2002 seuls les déchets ultimes pourront être accueillis en décharge. Parallèlement ont été créées les trois classes de décharge, renommées Centre d'Enfouissement Technique (CET). Les sites de classe II réservés aux déchets ménagers et aux déchets industriels assimilables (DIB).

Bien que les déchets comportant de la matière organique se soient pas a priori acceptés en CET, la définition du déchet ultime mentionnant "les conditions techniques et économiques du moment" permet dans certains cas de considérer ces déchets comme ultimes. Par exemple si la part organique est trop faible ou trop difficilement accessible, la valorisation de cette matière organique devient non rentable d'un point de vue économique. Aussi pourra-t-on trouver en CET (classe II principalement) une fraction fermentescible. La notion de biodégradabilité est alors importante pour déterminer l'évolution à terme du déchet et les risques que cela engendre (odeurs, échauffement, explosion...).

L'arrêté du 09 septembre 1997 relatif aux décharges existantes et aux nouvelles installations de stockage de déchets ménagers et assimilés (JO du 2 octobre 1997) fixe la liste des déchets admissibles (annexe I de l'arrêté) et la liste des déchets interdits (annexe II de l'arrêté).

*« Les déchets admissibles dans les décharges de déchets ménagers et assimilés sont répartis, en fonction de leur comportement prévisible en cas de stockage et des modalités alternatives d'élimination, en deux catégories :*

*- La catégorie D : déchets dont le comportement en cas de stockage est fortement évolutif et conduit à la formation de lixiviats de décharge et de biogaz par dégradation biologique. La plupart des déchets ménagers et assimilés bruts, tels que collectés sans séparation particulière auprès des ménages, issus des activités d'entretien urbain, de certaines activités artisanales, commerciales ou industrielles, appartiennent à cette catégorie. Ces déchets ne sont en général pas ultimes, notamment parce que leur caractère polluant peut encore être réduit.*

- La catégorie E : déchets dont le comportement en cas de stockage est peu évolutif, dont la capacité de **dégradation biologique** est faible ».

Les déchets de la catégorie D et de la catégorie E doivent être stockés, autant que possible, dans des casiers distincts. Nous rappelons que la directive européenne 1999/31/CE exprime la volonté des états membres de la communauté à limiter progressivement la quantité de déchets biodégradables entrant en décharge. La réduction des déchets à la source, le tri, le recyclage, la valorisation des déchets sont des actions prioritaires à mener. Ces actions doivent permettre de réduire la quantité de déchets biodégradables mise en décharge au niveau national.

#### *Condition d'exploitation des décharges de classe II*

L'ADEME a récemment publié un guide technique sur les installations de stockage de déchets ménagers et assimilés (ADEME, 1999). L'arrêté du 9 septembre 1997 précise les conditions d'exploitation des installations existantes et les exigences concernant la mise en place de nouvelles installations comme par exemple le contexte géologique et hydrogéologique du site, la présence d'une barrière de sécurité passive telle qu'une couche argileuse de faible perméabilité. L'installation et les conditions d'exploitation doivent limiter autant que faire se peut et les rejets liquides et les dégagements gazeux dans le respect des dispositions de la loi du 15 juillet 1975 (chapitre Suivi des déchets). C'est le concept « site étanche ». La production et la composition chimique des effluents liquides de la décharge dépendent étroitement de l'activité biologique de dégradation dans le massif de déchet et des conditions climatiques.

- Les effluents liquides de la décharge ou **lixiviats** sont issus de la percolation, à travers la décharge, des eaux provenant des précipitations et des déchets eux-mêmes. Actuellement, ces lixiviats doivent nécessairement être drainés, collectés, stockés si nécessaire puis traités avant leur rejet. La dilution ou l'épandage des lixiviats sont interdits par l'article 35 de l'arrêté du 9 septembre 1997. La toxicité et la charge polluante dépend de la composition des déchets solides enfouis et de leur évolution bio-physico-chimique.

- Les effluents gazeux (biogaz) principalement constitués de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S et CH<sub>4</sub> sont issus de l'activité biologique de fermentation anaérobie (ou méthanisation) de la fraction organique biodégradable de la décharge. Tout comme les lixiviats, la production et la composition du biogaz dépend également de la composition des déchets et de leur évolution bio-physico-chimique.

#### ***II.4.4.2- Concept classique de décharge de classe II***

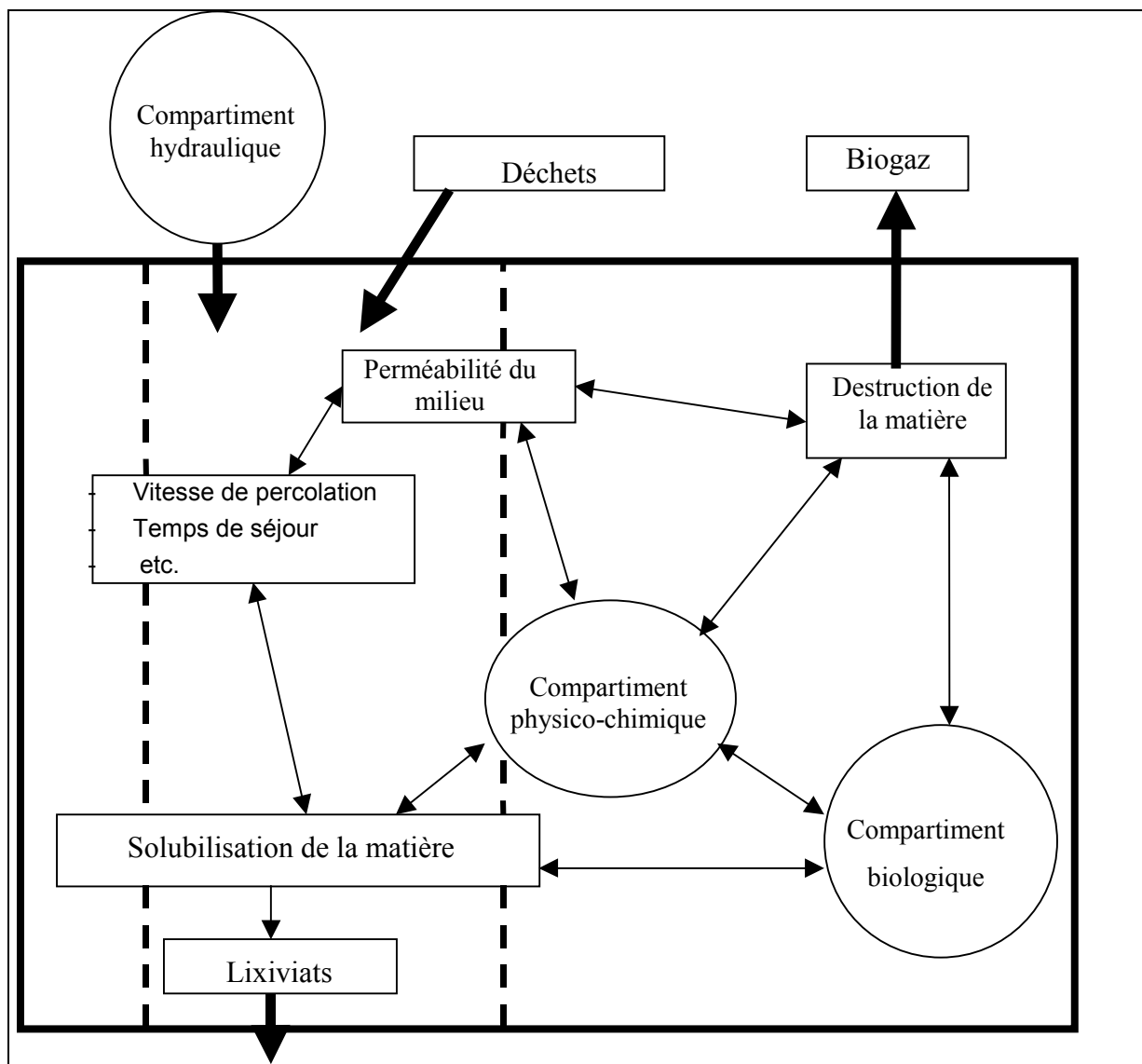
Au regard de la réglementation française (arrêté Ministériel du 9 septembre 1997), la décharge de classe II doit être un site étanche avec barrière passive ou active si nécessaire et compactage du massif

de déchets, où la circulation de l'eau est limitée afin de réduire la production de lixiviats. La faible humidité dans le massif conduit à réduire la production de biogaz et à diminuer également la **biodégradation** et la **biostabilisation** de la fraction fermentescible dans la décharge. Par ailleurs, la réglementation européenne (Directive 1999/31/CE) tend également à réduire la fraction de déchets organiques mis en décharge. Le déficit en eau et la réduction de la fraction organique fermentescible conduit à limiter les risques d'évolution biologique et physico-chimique des déchets mais ne permet pas de faciliter la stabilisation de la matière organique présente dans le massif de déchet.

#### *II.4.4.3- Concept décharge de classe II- Bioréacteur*

La fraction fermentescible des déchets ménagers et assimilés ne sera sans doute plus, à plus ou moins long terme, acceptée dans les décharges existantes et les nouvelles installations d'enfouissement de déchets ménagers et assimilés. Cependant, les conditions techniques et économiques du moment expliquent l'acceptation de déchets fermentescibles dans les CET actuelles. L'évaluation de la biodégradation est alors importante pour déterminer l'évolution à long terme des déchets solides organiques et la nature des rejets produits. Une fois enfouis, la plupart des déchets organiques évolue sous l'influence principale de l'activité biologique des micro-organismes présents dans les déchets solides. La biodégradation de la fraction organique fermentescible est due à un ensemble complexe de métabolismes de communautés aérobies et anaérobies (Palmisano et Barlaz, 1996). La décharge peut donc être considérée comme un réacteur biologique (**bioréacteur**) où se succèdent une phase aérobie relativement courte puis les phases anaérobies d'acidogenèse et de méthanogenèse qui peuvent durer des dizaines d'années (Rees, 1980). Le principe de la décharge = bioréacteur est présenté dans la Figure 24.





**Figure 24 : La décharge : réacteur bio-physico-chimique.**

La gestion de la décharge peut alors être conduite dans l'objectif de stimuler de la **production de méthane** (valorisable du point de vue énergétique), et la de biodégradation/biotransformation de la fraction organique fermentescible susceptible de conduire à sa bio-stabilisation. L'optimisation de la production de méthane est recherchée par l'apport d'eau dans la décharge (Manfé, 1994). La recirculation des lixiviats de la décharge dans le massif de déchets est une technique permettant d'augmenter l'humidité des déchets et de favoriser ainsi la biodégradation de la fraction organique fermentescible des déchets solides.

#### ***II.4.4.4- Processus de biodégradation/biotransformation de la matière organique dans les décharges***

##### *a) Introduction*

Lorsque les matières biodégradables sont mises en décharge, elles font l'objet d'une évolution biologique aérobie ou anaérobie. Pour l'essentiel, compte tenu de la difficulté pour l'oxygène d'accéder au cœur de la décharge, les évolutions après une phase aérobie relativement courte, sont anaérobies avec production de biogaz (méthane et dioxyde de carbone) et de métabolites organiques ou minéraux solubles dans l'eau (AGV) ou gazeux ( $H_2S$ ,  $NH_3$ ).

Globalement, la biodégradation et la biotransformation de la fraction organique fermentescible des ordures ménagères sont des mécanismes relativement longs. On assiste à des mécanismes séquentiels en raison des métabolismes distincts qui se succèdent ou se superposent et qui dépendent des conditions d'aérobiose et d'anaérobiose. On distingue principalement deux phases de biodégradation/biotransformation de la matière organique dans les conditions de mise en décharge (Barlaz, 1996) : une phase aérobie relativement limitée dans le temps et nécessitant de l'oxygène et une phase anaérobie beaucoup plus longue. L'ensemble des processus nécessite donc l'intervention d'une grande variété trophique de micro-organismes.

##### *b) Phase aérobie*

L'évolution de la matière organique est proche de celle observée dans les premières de phases de compostage. Elle est due à l'activité microbienne de micro-organismes aérobies (les bactéries et les moisissures) qui se traduit par une élévation de la température car les réactions d'oxydation sont fortement exothermiques.

Le métabolisme aérobie peut se poursuivre jusqu'à minéralisation complète des substrats biodégradables. Les métabolites finaux obtenus sont le gaz carbonique, l'eau, les carbonates ( $CO_3^{2-}$ ) et les bicarbonates ( $HCO_3^-$ ), les phosphates ( $PO_4^{3-}$ ) et les sulfates ( $SO_4^{2-}$ ). La biodégradation des oligomères et monomères intermédiaires fournit par ailleurs aux micro-organismes l'énergie et la matière nécessaire à leur croissance et leur multiplication au sein de la décharge (Vincent, 1991). La biodégradation conduit plus généralement à la formation de métabolites correspondant à des formes plus ou moins oxydées des différents éléments constitutifs de la matière organique (C,H,N,P,S). On parle alors de biotransformation.

La durée de la phase aérobie dépend notamment de l'hétérogénéité des ordures ménagères, de leur granulométrie, de leur teneur en eau et des conditions de compactage. L'hétérogénéité du massif favorise la création de chemins préférentiels d'écoulement des eaux et de zones pauvres en oxygène dans lesquelles les conditions sont impropres à la multiplication des micro-organismes aérobies. Après

appauvrissement de l'oxygène présent dans le compartiment gazeux du massif, la biodégradation est beaucoup plus lente, les micro-organismes aérobies devant nécessairement utiliser l'oxygène apporté sous forme dissoute par les eaux de percolation. Pratiquement, la phase de biodégradation aérobie perdurer que dans la zone supérieure du massif de déchets, c'est à dire dans la zone où l'oxygène pénètre. Sa durée dépend principalement de ce paramètre.

#### *c) Phase anaérobie*

Après la phase aérobie, la masse de déchets enfouis subit une série de phénomènes qui conduisent à des conditions d'**anoxie** (faibles teneurs en oxygène) puis d'**anaérobiose** (absence d'oxygène) avec, comme conséquence, le développement de l'activité méthanogène. La biodégradation de la fraction fermentescible de la matière organique en condition anaérobie dépend également de nombreux paramètres tels que la nature de la matière organique, l'humidité, la température ambiante, le pH etc. Elle conduit à la formation de méthane, de gaz carbonique, d'eau et d'ammoniac.

Les étapes de la biodégradation anaérobie de la matière organique dans les décharges sont les mêmes que celles présentées pour le traitement biologique anaérobie de la matière organique (« II.3.3 Traitement biologique anaérobie : la méthanisation », p60).

#### ***II.4.4.5- Biodégradabilité de la matière organique dans les décharges***

Seuls les déchets alimentaires et environ les 2/3 du papier et du carton (essentiellement constitués de cellulose) sont biodégradés à long terme dans une décharge. La biodégradation des autres composés est souvent incomplète (Gendebien et al, 1992). Certains produits plus résistants à la biodégradation tels que les oligomères résultants de l'hydrolyse des chaînes de lignine échappent à la minéralisation et sont précurseurs des substances humiques (Gourdon, 1987). Les constituants des membranes et des parois microbiennes peuvent, à la mort des cellules, participer également au processus de formation des substances humiques. Ce processus conduit à la stabilisation progressive de la décharge, et explique que la matière organique initiale n'est pas totalement minéralisée en métabolites ultimes (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O).

Barlaz (1997) rapporte que les principaux polymères biodégradables des ordures ménagères sont la cellulose et les hémicelluloses. Elément constitutif des parois cellulaires des végétaux, la lignine est également présente dans les déchets. Très complexe, ce polymère est difficilement biodégradable en conditions anaérobies (Kayhanian, 1995). Dans les déchets lignocellulosiques, la lignine réduit la (bio)accessibilité aux micro-organismes des autres polymères plus facilement biodégradables (Barlaz, 1997).

## **PARTIE III : Evaluation de la biodégradation/biotransformation/biodétérioration des déchets solides organiques**

### ***III.1- Introduction***

Dans le cadre de cette étude qui concerne essentiellement le mode de traitement des déchets (solides et pâteux) comportant une fraction significative de matière organique, nous ferons porter notre analyse de la notion de biodégradabilité davantage vers les matériaux (déchets) en eux-mêmes plutôt que vers telle ou telle molécule spécifique. Le paragraphe suivant est spécialement consacré à la définition des termes liés à la notion de biodégradation.

Le deuxième paragraphe présente les principes de prévision de la biodégradabilité d'une molécule organique ou d'un matériau à partir des caractéristiques physico-chimiques. Il s'agit des paramètres intrinsèques liés à la nature même des composés organiques considérés.

De nombreux tests ont été développés pour évaluer de la biodégradabilité des molécules ou des matériaux organiques. Leur principe commun est de mettre en contact le composé étudié avec des micro-organismes et de suivre dans le temps des paramètres permettant d'estimer la biodégradabilité. Le troisième paragraphe est consacré aux principales méthodes les paramètres généraux de suivi de la biodégradation.

Dans un quatrième et dernier paragraphe, nous indiquerons les principales procédures et normes sur la biodégradabilité, en s'efforçant de synthétiser et de présenter la logique de ces tests dans l'optique d'une utilisation et d'une application de ces procédures dans le cas des déchets organiques qui nous intéresse ici.

### ***III.2- Rappel de définitions des termes liés à la notion de biodégradation***

Les définitions données ci-dessous ont été établies à partir des deux premiers chapitres de ce rapport et des informations bibliographiques qui ont permis leur rédaction. Le

Tableau 16 et le Tableau 17 présentent respectivement les définitions des termes liés à la notion de dégradation et de biodégradation (d'après Pettigrew et Johnson, 1996 ; Pagga, 1998 ; Lemaître et al, 1998 ; Vert, 1999).

**Tableau 16 : Définition des principaux termes liés à la notion de dégradation.**

Terme	Définition
<b>Dégradation</b> ou <b>décomposition</b>	Conversion de composés organiques en produits plus simples sous l'action de facteurs physico-chimiques.
<b>Minéralisation</b> ( <b>dégradation ultime</b> )	<b>Dégradation</b> de la matière organique sous l'action de paramètres physico-chimiques qui aboutit à la formation d'éléments simples tels que le CO <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O et O <sub>2</sub> .
<b>Transformation</b>	<b>Modification</b> de la matière organique sous l'action de paramètres physico-chimiques qui aboutit à la formation de produits organiques (si produits plus simples, transformation = dégradation).
<b>Détérioration</b> ou <b>altération</b> ou <b>corrosion</b>	Action de (se) détériorer ou son résultat, correspondant à la réduction de qualité ou de valeur du système considéré. (Le verbe «détériorer» provient du latin <i>deterior</i> qui signifie «plus mauvais»).
<b>Désintégration</b>	Décomposition physique du matériau en petits fragments
<b>Stabilisation</b>	Réduction des propriétés de décomposition ou d'altération de la matière organique (ou de déchets).

**Tableau 17 : Définition des principaux termes liés à la notion de biodégradation.**

Terme	Définition
<b>Biodégradation</b> ou <b>biodécomposition</b>	Conversion de composés organiques en produits plus simples par des micro-organismes sous l'action d'enzymes. = <b>Dégradation biologique</b>
<b>Biodégradable</b>	Capable d'être dégradé sous l'action de micro-organismes en condition aérobie (en présence d'O <sub>2</sub> ) ou anaérobie (en absence d'O <sub>2</sub> ).
<b>Fermentescible</b> ou <b>bioévolutif</b>	Capable de subir une dégradation biologique sous l'action de micro-organismes en condition aérobie (en présence d'O <sub>2</sub> ) ou anaérobie (en absence d'O <sub>2</sub> ). <i>Remarque</i> : Il s'agit de termes relativement vagues fréquemment rencontrés dans les textes réglementaires français et européens. Synonyme de biodégradables.
<b>Biodégradabilité</b>	Potentiel d'un composé organique d'être (bio)dégradé en produits plus simples sous l'action de micro-organismes.
<b>Biodégradabilité inhérente</b> ou <b>intrinsèque</b>	Potentiel d'un composé organique d'être (bio)dégradé en produits plus simples sous l'action de micro-organismes dans les conditions optimales. Elle dépend des propriétés intrinsèques du produit.
<b>Biodégradabilité pratique</b>	Potentiel d'un composé organique d'être (bio)dégradé en produits plus simples sous l'action de micro-organismes dans un environnement donné.
<b>(Bio)minéralisation</b> ( <b>biodégradation ultime</b> )	Biodégradation de la matière organique sous l'action de micro-organismes qui aboutit à la formation d'éléments simples tels que le CO <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O et O <sub>2</sub> .
<b>Bioinminéralisable</b>	Capable d'être dégradé sous l'action de micro-organismes donner au final des éléments simples tels que le CO <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O et O <sub>2</sub> .
<b>Biotransformation</b>	Modification de la structure chimique et ou physique de composés minéraux ou organique sous l'action de micro-organismes qui aboutit à la formation de produits ne pouvant pas être considérés comme plus simples que les composés de départ (Ex : réduction des métaux, méthylation, humification ...). Si produits plus simples, biotransformation = biodégradation.
<b>Bioassimilation</b>	Biotransformation qui aboutit à l'utilisation par les micro-organismes des sous-produits de la dégradation (Ex : réduction assimilative des sulfates).
<b>Biodétérioration</b> ou <b>bioaltération</b>	Réduction de la qualité ou de la valeur d'un système considéré sous l'action d'agents microbiens. <i>Remarque</i> : Dans le cas d'un matériau contenant de la matière organique, la biodégradation de celle-ci peut entraîner une détérioration des propriétés de ce matériau.
<b>Biostabilisation</b>	Réduction de la biodégradabilité de la matière organique sous l'effet d'agents microbiens.
<b>Hygiénisation</b>	Destruction dans un déchet organique des micro-organismes pathogènes nuisibles aux cultures, aux animaux ou à l'homme

**Tableau 18 : Définition des principaux termes liés à la notion de biodégradation dans les traitements biologiques des déchets.**

<b>Traitement biologique</b>	Traitement des déchets utilisant des micro-organismes visant à réduire leur volume (ou masse) leurs effets néfastes (stabilisation) ou à augmenter leur valeur (agronomique ou énergétique).
<b>Compostage ou « fermentation » aérobie</b>	Dégradation biologique aérobie thermophile de matière organique suivie de sa transformation permettant de produire du <b>compost</b> en présence d'oxygène sous l'action de micro-organismes. <i>Remarque : Le terme fermentation, couramment utilisé dans les textes réglementaires doit être, de préférence, réservé à un métabolisme anaérobie.</i>
<b>Compost</b>	Matière organique stabilisée et assainie produite par biodégradation et biotransformation aérobie de la matière organique fraîche.
<b>Méthanisation ou fermentation anaérobie</b>	Dégradation biologique anaérobie de matière organique en absence d'oxygène sous l'action de micro-organismes et permettant de produire du biogaz et du <b>digestat</b> .
<b>Digestat</b>	Matière organique qui résulte de la fermentation anaérobie de matière organique.

### **III.3. Rappel des principaux paramètres et facteurs déterminant la biodégradation d'un déchet**

L'évaluation de la biodégradabilité d'un déchet solide ou semi-solide contenant une fraction non négligeable de matière organique nécessite de déterminer :

- la composition chimique et les caractéristiques physiques du déchet,
- les conditions physico-chimiques et écologiques déterminées par le scénario d'utilisation, de traitement, d'élimination ou de stockage du déchet.

Lors de l'évaluation de la biodégradabilité d'un déchet quel qu'il soit, la première étape consiste en l'analyse globale du déchet, c'est-à-dire la détermination des paramètres physico-chimiques le caractérisant. Les principaux paramètres liés au déchet sont l'hétérogénéité du déchet organique, son état physique et la nature et la concentration des molécules qui le constituent.

#### **III.3.1- Paramètres liés au déchet**

##### **III.3.1.1- Hétérogénéité du déchet ou de la fraction de déchet**

Les déchets dits « complexes » sont constitués de plusieurs matériaux, fractions organiques (polymères, oligomères, monomères) et, dans de nombreux cas, de fractions inorganiques. Chaque fraction a alors, en général, un comportement particulier vis à vis de la biodégradation, qui peut être modifié par la présence d'autres fractions, ce qui rend l'étude très complexe. C'est le cas par exemple de la fraction « fermentescible » des ordures ménagères.

##### **III.3.1.2- Etat physique du déchet**

###### *a) Granulométrie, porosité*

Il convient d'observer l'aspect extérieur général du déchet. Les déchets lisses et massifs seront plus difficilement biodégradables que les déchets granulaires poreux. En effet, les réactions métaboliques se déroulent à la surface du déchet ou des particules qui le constituent, c'est-à-dire là où les micro-organismes sont en contact avec le substrat. Ainsi, l'augmentation de la surface spécifique du déchet par réduction de sa granulométrie accroît la surface de contact et donc l'accessibilité des constituants nutritifs aux micro-organismes, favorisant la biodégradation. Dans le cas par exemple d'un traitement biologique d'un déchet massif ou compact, il peut être utile de faire précéder le traitement biologique d'un prétraitement mécanique tel que le broyage (Barlaz et al, 1990) permettant de faciliter le contact entre les micro-organismes et d'homogénéiser la fraction fermentescible.



### b) Teneur en eau et oxygène

Les caractéristiques physiques du déchet déterminent le taux d'humidité du déchet organique. Une teneur en eau minimale de l'ordre de 50% de la masse brute est indispensable pour que le déchet à traiter puisse être le siège d'une bonne activité microbienne (Gourdon, 2001). Cependant, si le déchet est trop humide, sa porosité à l'air diminue le rendant plus difficilement biodégradable en conditions aérobies. La teneur en eau optimale est généralement comprise entre 60 et 80% de la masse brute pour la plupart des déchets de biomasse.

### III.3.1.3- Composition chimique de la fraction organique du déchet

#### a) Introduction

La biodégradabilité dépend de la composition chimique du déchet et notamment de la présence de certaines molécules. Dans la mesure du possible, il est donc utile de caractériser chimiquement la fraction organique du déchet par des méthodes d'extraction chimiques et de dispositifs analytiques adaptés aux différentes familles de molécules organiques. Ces techniques sont généralement relativement coûteuses et difficiles à mettre en œuvre sur des déchets organiques complexes. Il existe actuellement de nombreux travaux qui s'intéressent à l'évaluation de la biodégradabilité des molécules organiques en fonction de leur structure chimique et des principales voies métaboliques connues (Niemi et Veith, 1989 ; SEFA, 1990 ; Verschueren, 1996). Il est possible sur Internet de consulter des banques de données universitaires qui centralisent de nombreuses données fondamentales sur le sujet (voir Tableau 19). Cependant, il s'agit principalement de données théoriques sur la biodégradation d'une molécule donnée le plus souvent soluble dans l'eau et qui sont difficilement utilisables dans le cas de déchets solides complexes.

**Tableau 19 : Sites sur Internet sur la biodégradabilité des molécules organiques.**

Molécules	Nom du site	Adresse
Composés organiques	The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database	<a href="http://umbbd.ahc.umn.edu/index.html">http://umbbd.ahc.umn.edu/index.html</a> <a href="http://umbbd.ahc.umn.edu/predictbt/">http://umbbd.ahc.umn.edu/predictbt/</a>
Xénobiotiques	International Society for the Study of Xenobiotics	<a href="http://www.issx.org/">http://www.issx.org/</a>
Pesticides	EXTOXNET.Pesticide Information Profiles (PIPs)	<a href="http://ace.ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/ghindex.html">http://ace.ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/ghindex.html</a>
Composés organiques	Syracuse Research Corporation	<a href="http://esc.syrres.com/efdb/biodeg.htm">http://esc.syrres.com/efdb/biodeg.htm</a> <a href="http://esc.syrres.com/efdb.htm">http://esc.syrres.com/efdb.htm</a> <a href="http://esc.syrres.com/efdb/biolog.htm">http://esc.syrres.com/efdb/biolog.htm</a>
Monomères organiques	Metabolic Database	<a href="http://cgsc.biology.yale.edu/metab.html">http://cgsc.biology.yale.edu/metab.html</a>

## *b) Nature chimique de la matière organique dans les déchets*

La matière organique des déchets peut être divisée en trois classes distinctes :

### **Polymères organiques naturels ou biopolymères**

- *Amidon,*
- *Cellulose,*
- *Hemicellulose,*
- *Lignine,*
- *Chitine et Chitosane,*
- *Polypeptides et protéines,*
- *Lipides.*

Les biopolymères sont les polymères formés dans la nature au cours des cycles de croissance des organismes. C'est la raison pour laquelle on parle de biopolymères. Leur (bio)synthèse implique de nombreuses réactions métaboliques catalysées par les enzymes. Ces polymères d'origines animales ou végétales constituent la majorité de la biomasse présente dans les déchets solides ou semi-solides contenant de la matière organique. Mis à part le cas particulier de la lignine, biopolymère très complexe d'origine végétale, ces macromolécules peuvent être considérées comme étant facilement biodégradables si les conditions physico-chimiques et écologiques adéquates sont réunies. Leur (bio)assimilation par les micro-organismes nécessite une hydrolyse en monomères sous l'action d'exoenzymes et une oxydation des produits d'hydrolyse.

### **Polymères organiques synthétiques (origine anthropique) :**

- *Polyesters,*
- *Polycaprolactones,*
- *Polyuréthanes et polyuréases,*
- *Polyanhydrides,*
- *Poly(amide-enamione)s,*
- *Polyvinyl alcool et polyvinyl acétate,*
- *Polyacrylates.*

Les polymères organiques synthétiques sont improprement désignés sous le terme de « matières plastiques » (Vert, 1999). Ils constituent une fraction non négligeable des déchets d'origines ménagères ou industrielles. Ils proviennent principalement des déchets d'emballage. Peu biodégradables, ils ne sont pas inclus dans la fraction dite « fermentescible » étant donné leur très faible biodégradabilité. La biodégradabilité de ces matériaux dépend étroitement de leurs propriétés chimiques (structure et nature des monomères, etc.) et de leurs propriétés physiques (poids moléculaires, morphologie, etc.). En effet, la biodégradabilité des polymères synthétiques dépend de la présence de liaisons covalentes hydrolysables permettant la formation de molécules plus petites (oligomères et monomères) plus facilement assimilables par les micro-organismes. Certains polymères synthétiques bioassimilables ont été développés ou sont en cours d'étude pour faciliter la gestion des déchets que génère l'utilisation massive des « matières plastiques » (Vert, 1999).

## Autres composés organiques

- *Hydrocarbures (HC),*
  - *Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), et Hydrocarbures nitroaromatiques Polycycliques,*
  - *Polychlorbyphényles (PCB),*
  - *Polychlorodibenzo-Dioxines et Furanes (PCDD/F),*
  - *Pesticides.*
- Etc...*

Ces produits organiques et/ou leur dispersion dans l'environnement sont généralement d'origine anthropique. Dans ce cas, il s'agit donc de molécules xénobiotiques. Dans le cas de déchets industriels tels que les boues de station d'épuration industrielles (STEPI) ou bien les sols fortement pollués, ces polluants représentent une part importante voire la majorité de la fraction organique du déchet. Dans le cas des ordures ménagères, il s'agit plus généralement de produits minoritaires appelés **micropolluants organiques**. Soit, il s'agit de substrats organiques assimilables par les micro-organismes biodégradeurs, soit, il s'agit de produits organiques inhibiteurs de biodégradation d'autres composés organiques. Il convient alors de distinguer les substances et les seuils de concentration interdisant totalement les réactions de biodégradation de celles qui ne font que les ralentir. Rappelons que la toxicité d'un produit chimique dépend principalement de sa concentration, de sa disponibilité dans le milieu et du micro-organisme cible. Les substituants permettant des liaisons avec d'autres composés du milieu (type liaison hydrogène) favorisent la biodégradabilité des molécules organiques en augmentant le contact entre le substrat, le milieu (souvent aqueux) et les micro-organismes présents. Au contraire, les substituants trop volumineux ou limitant la solubilité dans l'eau de la molécule (substituants halogénés par exemple) diminuent sa biodégradabilité.

Les principales **caractéristiques physico-chimiques** influençant la biodisponibilité sont les suivantes :

- *Solubilité dans l'eau,*
- *Aptitude à former ou non des émulsions,*
- *Aptitude à s'adsorber sur les surfaces (adsorption physique, liaisons non covalentes),*
- *Aptitude à former des liaisons ioniques ou covalentes avec les supports (adsorption chimique).*

Par ailleurs, les molécules organiques biodégradables peuvent être séquestrées par des liaisons covalentes ou non covalentes avec la matière humique (Dec and Bollag, 1997). D'une manière générale, toutes les caractéristiques physico-chimiques qui tendent à augmenter la disponibilité et la surface de contact entre le substrat et les micro-organismes facilitent la biodégradation dudit substrat. Par exemple, un corps soluble sera plus facilement mis à disposition de la faune présente dans l'environnement aqueux.

*c) Paramètres globaux de la matière organique*

- **Rapport massique C/N/P** : L'analyse chimique élémentaire en carbone, azote et phosphore permettent de caractériser la valeur nutritive du déchet. Le carbone total est analysé par des méthodes de combustion (COTmètre) ou méthode chimique de Anne. L'azote est mesuré par la méthode de Kjeldahl. Le rapport C/N/P optimal est de l'ordre de 100/(4-5)/1. Il ne s'agit pas seulement d'un ordre de grandeur indicatif, car la disponibilité réelle des sources de C, N et P dans déchet en toute rigueur ne peut être prise en compte. Ce rapport est une première évaluation de la biodégradabilité d'un déchet.

Il a été estimé que les déchets ménagers sont constitués de 41% de papier et carton, 8% de déchets alimentaires et de 17% de déchets verts (Barlaz et al, 1990). Ces fractions sont principalement constituées de cellulose, d'hémicellulose, de lignine, d'amidon, de lipides et de protéines diverses. Les polymères constituant les parois des cellules végétales tels que la lignine, la cellulose et l'hémicellulose sont considérés comme étant plus ou moins biodégradables (Mustin, 1987 ; Jeffries, 1994 ; Micales & Skog, 1997). Une revue bibliographique sur la biodégradation de la lignine et de l'hémicellulose a été publiée en 1994 par Jeffries.

- **Rapport cellulose/lignine** : La biodégradabilité de la cellulose varie en fonction de son degré de polymérisation et de son association avec la lignine (Micales et Skog, 1997). La cellulose présente dans les papiers est plus facilement biodégradable que la cellulose fraîche car elle est séparée de la lignine et la structure primaire de la cellulose est partiellement détruite au cours de la fabrication du papier (Rees, 1980). La lignine n'est pas métabolisée par les micro-organismes anaérobies et se décompose donc très lentement en condition de mise en décharge (Young & Frazer, 1987 ; Barlaz et al, 1990 ; Wang et al, 1994) ou en condition de compostage (Tuomela et al, 2000). En condition de mise en décharge, la quantité de cellulose et d'hémicellulose diminue de manière significative avec le temps (Bookter et Ham, 1982 ; Ham et al, 1993 ; Wang et al, 1994). Le rapport cellulose/lignine peut être un indicateur de la décomposition des déchets et donne une information sur la biostabilité de la matière organique. Dans le cas de la fraction fermentescible des ordures ménagères, le ratio cellulose/lignine est initialement de l'ordre de 3,8-4,0/1,0. Le fractionnement des différentes classes de polymères organiques présents dans les déchets peut être effectué selon la méthode de van Soest et Robertson, basée sur des extractions acides séquentielles et quantification par pesées des fractions d'hémicelluloses, de cellulose et de lignine (Robertson & van Soest, 1981 ; Scherer et al, 1990).

- **Teneur en carbohydrates non cellulosiques** : Il s'agit d'hémicelluloses, de l'amidon et des oligosaccharides et monosaccharides comme le saccharose et le glucose. Les polymères non cellulosiques peuvent être quantifiés sur un échantillon solide par une hydrolyse acide ménagée ou avec du méthyl-2-benzothiazolinon-hydraxon-hydrochlorure (MBTH) et mesure de l'absorbance à 635 nm (Uzaki et Ishwatari, 1983 ; Pakulski et Benner, 1992).

- **Teneur en cellulose** : la cellulose contenue dans les déchets organiques peut être dosée par hydrolyses successives avec de l'acide sulfurique à 24N et du MBTH 2N nm (Uzaki et Ishwatari, 1983 ; Pakulski et Benner, 1992).
- **Teneur en protéines** : Les protéines contenues dans un solide sont quantifiables après hydrolyse avec de l'acide chlorhydrique 6N, réaction avec de la ninhydrine et analyse par spectrophotométrie à 570 nm (Stevenson et Cheng, 1970).
- **Teneur en lipides** : Les lipides présents dans les déchets sont principalement les huiles et les graisses animales. Ils sont extractibles par un mélange de chloroforme/méthanol (1 :2) et quantifiables par pesée (Bligh et Dyer, 1959). Les lipides peuvent être également isolés de déchets solides ou de compost selon la procédure de Ekman et Ketola (1981) et analyse par GC-MS (Gonzales-Vila et al, 1999).
- **Teneur en lignine** : La teneur en lignine peut être évaluée en effectuant préalablement une dépolymérisation à l'oxyde de cuivre et quantification par chromatographie en phase gazeuse (Kögel et Bochter, 1985).
- **Teneurs en acides humiques, acides fulviques et humine** : En science du sol, les acides humiques sont définis comme la fraction organique soluble dans une solution alcaline et quantifiable par précipitation acide de l'extrait alcalin, alors que les acides fulviques sont solubles dans les acides et les bases. L'humine est la fraction organique insoluble dans les solutions acides ou basiques (Schnitzer et Khan, 1972). Il existe plusieurs protocoles de quantification des acides humiques, fulviques et des humines dans les sols (Barriuso et al, 1985).

La matière organique présente dans les déchets solides et, en particulier la fraction humique, peut être caractérisée par des méthodes non destructives de spectroscopie telles que la spectrométrie infra-rouge à transformée de Fourier (FT-IR) (Tseng et al, 1996 ; Gonzales-Vila et al, 1999 ; Ratajska et Boryniec, 1998) et spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire sur solide (RMN <sup>13</sup>C) (Almendros et al, 1992 ; Kögel-Knaber 1997 ; Weber et al, 1998 ; Gonzales-Vila et al, 1999 ; Almendros et al, 2000 ; Hedges et al, 2000). Ces techniques sont couramment employées par la caractérisation des fonctions carbonées de la matière organique des sols. Elles pourraient être également employées pour évaluer le degré d'humification de la matière organique en fonction de son caractère aromatique. Il existe également des méthodes pyrolytiques tel que tel que la pyrolyse couplée avec une chromatographe gaz avec détecteur de masse (Py-GC-MS) permet également d'identifier les composés de la matière organique (Gonzales-Vila et al, 1999). Ces auteurs ont d'ailleurs mis en évidence par spectroscopie FT-IR, <sup>13</sup>C RMN et pyrolyse couplée GC-MS que les acides humiques d'un compost étaient structurellement différents des acides humiques rencontrés dans les sols.

### III.3.2- Facteurs environnementaux de la biodégradation / biodétérioration / biostabilisation d'un déchet

La caractérisation physique et chimique permet d'estimer théoriquement la biodégradabilité potentielle des déchets solides contenant une fraction organique. Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, la biodégradation ne dépend pas seulement des paramètres intrinsèques liés à la nature du déchet. Elle dépend étroitement des facteurs environnementaux définis par son scénario d'utilisation, de traitement ou de stockage. Les principaux facteurs influençant la biodégradation des déchets organiques et, plus généralement les molécules organiques, peuvent être classées en deux grandes catégories.

#### *III.3.2.1- Facteurs physico-chimiques*

Ces facteurs sont définis à partir de l'environnement du déchet. Il existe 6 types d'environnements possibles :

- *Sol* : scénario d'épandage d'un déchet dans un sol,
- *Décharge de classe I* : scénario de stockage des déchets ultimes en site hermétique,
- *Décharge de classe II* : scénario de stockage des déchets organiques solides en zone contrôlée mais biologiquement active,
- *Compost* : Scénario de traitement biologique de compostage des déchets organiques,
- *Eau* : Scénario de traitement biologique aérobie des déchets organiques en phase aqueuse (STEP),
- *Digestat* : Scénario de traitement biologique anaérobie des déchets organiques.

Les principaux facteurs physico-chimiques qui influencent les réactions de biodégradation des composés organiques des déchets sont les suivants : pH, température, potentiel redox, la concentration en oxygène ou en accepteur d'électrons adéquat, activité en eau (ou humidité), concentrations et accessibilité aux micro-organismes des composés minéraux ou organiques nutritionnels, présence de produits toxiques éventuels ou d'inhibiteurs enzymatiques et présence de molécules qui activent les enzymes nécessaires ou qui induisent leur synthèse.

#### *III.3.2.2- Facteurs écologiques et physiologiques*

Le caractère biodégradable d'une molécule est à mettre en relation avec l'existence du ou des micro-organismes (**agents biologiques**) capables de métaboliser partiellement ou totalement cette molécule. Pour cela, l'environnement, c'est à dire les conditions physico-chimiques du milieu, doivent permettre le développement des populations microbiennes dégradantes. Ces conditions optimales de croissance des micro-organismes dépendent de l'écologie de ces populations et de leurs besoins physiologiques. L'expression de l'activité biodégradatrice requiert, pour une population microbienne donnée, des conditions particulières d'humidité, de température, d'aération etc...

### **III.4- Méthode d'évaluation de la biodégradation ou biodétérioration**

#### **III.4.1- Introduction**

L'évaluation de la biodégradation ou de la biodétérioration des déchets organiques solides et semi-solides est un objectif difficile à atteindre. Il n'existe pas à l'heure actuelle de méthodologie générale spécifiquement adaptée à la problématique déchet. Les chapitres précédents nous ont permis de mettre en évidence la double complexité du problème :

- *Caractéristiques physico-chimiques du déchet considéré,*
- *Définition du scénario de gestion du déchet afin d'établir les conditions environnementales : Enfouissement ou épandage, valorisation, stockage.*

Le premier paragraphe sera consacré à la présentation la plus exhaustive possible des procédures d'évaluation de la biodégradation des molécules organiques et, plus spécifiquement, des matériaux organiques qui sont développées depuis environ une trentaine d'années. Pour cela, nous effectuerons une étude approfondie des procédures conseillées par les lignes directrices proposées par la communauté européenne, l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques) et l'USEPA (United States Environmental Protection Agency) et les procédures normalisées à l'échelle nationale, européenne, américaine et internationale (respectivement normes AFNOR, normes CEN, normes ASTM et normes ISO). Les adresses électroniques des organismes de normalisation sont listées dans le Tableau 20. Les adresses électroniques des organismes proposant des lignes directrices concernant les essais d'évaluation de la biodégradabilité sont listées dans le Tableau 21.

**Tableau 20 : Liste des adresses électroniques des organismes de normalisation consultés.**

Organisme	Adresse électronique
AFNOR (France et Europe)	<a href="http://www.afnor.fr/">http://www.afnor.fr/</a>
ANSI (USA)	<a href="http://www.ansi.org/">http://www.ansi.org/</a>
ISO	<a href="http://www.iso.ch">http://www.iso.ch</a>

**Tableau 21 : Liste des adresses électroniques des organismes d'informations consultés.**

Organisme	Adresse électronique
OCDE	<a href="http://www.oecd.org">http://www.oecd.org</a>
USEPA OPPTS	<a href="http://www.epa.gov/docs/OPPTS_Harmonized/835_Fate_Transport_and_Transformation_Test_Guidelines/Drafts/">http://www.epa.gov/docs/OPPTS_Harmonized/835_Fate_Transport_and_Transformation_Test_Guidelines/Drafts/</a>
ASTM	<a href="http://www.astm.org">http://www.astm.org</a>
C.E.	<a href="http://europa.eu.int/comm/environment/index_fr.htm">http://europa.eu.int/comm/environment/index_fr.htm</a>

En France comme à l'étranger, il semble aujourd'hui ne pas exister de norme ou procédure d'évaluation de la biodégradabilité des déchets solides organiques proprement dits. Nous verrons dans quelle

mesure certains travaux en cours peuvent cependant être exploités dans le cas de l'évaluation de la biodégradabilité des déchets.

Le second chapitre sera essentiellement consacré aux procédures normalisées ou non d'évaluation de la **biodégradabilité** et de la **biodétérioration** des matériaux tels que les plastiques, emballages, peintures etc. Il s'agit d'un domaine très actif actuellement en terme de normalisation.

Afin d'en faciliter leur utilisation, on peut proposer trois modes de classement des ces normes.

- **Orientation scénario de traitement.** Par exemple, des procédures s'efforcent d'orienter leur protocole vers des conditions de compostage en recréant artificiellement les conditions rencontrées lors de ces traitements. On retiendra, de façon non exhaustive :

*Norme européenne : EN 13432 (2000),*

*Norme internationale : ISO 14855 (1999), ISO/CD 20200 (en projet 2001),*

*Normes américaines : ASTM D 5338, 5509, 5512, 5929, 5975, 6003 (1996-1997).*

- **Orientation « milieu d'exposition » (conditions d'exposition environnementales particulières) :** aérobie/anaérobie, milieu aqueux, sol, sédiments etc. (voir Tableau 22 non exhaustif).

**Tableau 22 : Classement des normes suivants les conditions du milieu d'exposition.**

	milieu aqueux	dans le sol
Anaérobie	<i>Normes internationales : ISO 11734, ISO/DIS 14853, Norme américaine : ASTM D 5210</i>	<i>Norme internationale : ISO/DIS 15473</i>
Aérobie	<i>Normes françaises : AFNOR T 90-306, T 90-316, T 90-312, T 90-309, T 90-314, T 90-321, Normes internationales : ISO 14852, ISO/DIS 14592, ISO/CD 14854, ISO 10708, ISO 14593, ISO 14851,</i>	<i>Norme française : AFNOR X 31-220 Norme internationale : ISO 14239 Norme américaine : ASTM D 5988</i>



- Orientation en fonction de la nature de la substance testée :

**Tableau 23 : Classement des normes s'appliquant à un composé donné.**

Substances organiques	<p><i>Normes françaises</i> : AFNOR T 90-309, T 90-313, T 90-302</p> <p><i>Normes internationales</i> : ISO 9438, ISO 9888, ISO 7827, ISO 9408, ISO 9887, ISO/DIS 14592, ISO 10707, ISO 10708, ISO 14593, ISO 11734</p>
Plastiques	<p><i>Norme française</i> : AFNOR T51-022</p> <p><i>Normes internationales</i> : ISO 14855, ISO 15986, ISO/DIS 16929, ISO/DIS 17556, ISO 14852, ISO/CD 15854, ISO 14851, ISO/DIS 14853, ISO/DIS 15985, ISO/CD 20200,</p> <p><i>Norme canadienne</i> : CSA Z 218-0</p> <p><i>Normes américaines</i> : ASTM D 5509, D 5512, D 6003, D 5511, D 5526, D 5209, D 5210, D 5247, D 5271, D 5210, D 5988, D 5338</p>
Emballages	<p><i>Normes françaises</i> : AFNOR H 60-000, H 60-005, H 60-140,</p> <p><i>Normes européennes</i> : EN 14046 (projet 2001), 98/710671 DC</p>

Dans la suite, nous choisirons le troisième mode de classement des essais d'évaluation de la biodégradabilité des substances organiques et des matériaux (plastiques ou emballages) et des essais d'évaluation de la biodétérioration des matériaux.

La terminologie du CEN dans le domaine de la dégradabilité et la biodégradabilité des polymères et des matériaux plastiques a été récemment proposée (CEN TC 249 WG 9 Characterization of degradability N40, 2001).

## III.4.2- Techniques d'évaluation de la biodégradabilité des substances organiques

### III.4.2.1- Principes généraux

Il existe actuellement plusieurs tests de laboratoire permettant d'évaluer la biodégradabilité (Pagga, 1997). Le principe général de ces techniques est basé sur les observations des mécanismes de biodégradation. Comme on l'a vu dans la première partie, la biodégradation, en milieu aérobie comme en milieu anaérobie, est une succession de réactions bio-physico-chimiques induites par la présence des micro-organismes. Les techniques et les tests développés reposent sur le suivi d'un paramètre de ces réactions. Celui-ci doit être choisi suffisamment significatif de l'avancement de la réaction, c'est-à-dire présenter une relative variabilité au cours de la réaction et être suffisamment important pour être accessible et facilement décelable par les méthodes de mesure employées. Cela peut être soit un réactif dont on suit la disparition, soit un produit de la réaction.

- Disparition : évaluation de la **biodégradation primaire** sans savoir ce que devient le substrat,
- Formation d'un produit ultime tels que CO<sub>2</sub> ou CH<sub>4</sub> : évaluation de la **biodégradation ultime**.

En milieu **aérobie**, les paramètres couramment suivis sont :

- la consommation d'oxygène : c'est le signe d'une activité respiratoire donc du métabolisme des micro-organismes dégradant la matière organique. On peut suivre la disparition de l'oxygène par respirométrie ou par manométrie en repérant les variations de pression à l'intérieur de la fiole d'essai.
- la production de CO<sub>2</sub> : les processus respiratoires engendrent une production de dioxyde de carbone. Par essai manométrique ou volumétrique, on peut également suivre la variation de CO<sub>2</sub> dans la fiole.
- la production de biomasse : les micro-organismes utilisent les substrats organiques pour se multiplier. En parvenant à quantifier la production de biomasse résultant de cette activité, c'est-à-dire le nombre ou la masse d'individus (cellules) en fonction de la durée d'incubation, on a un indicateur de la biodégradabilité du matériau utilisé comme substrat par ces organismes.

En milieu **anaérobie**, on considérera comme indicateur de biodégradation :

- la production de biogaz : les réactions de métabolisme anaérobie s'accompagnent de rejet de dioxyde de carbone et de méthane. En mesurant la quantité produite (par méthode manométrique), on peut quantifier la biodégradation du substrat testé,
- la production de biomasse (voir ci-dessus).

Depuis déjà quelques années, l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) propose des lignes directrices pour les essais de produits chimiques (OCDE, 1993). La section 2 du guide OCDE est principalement consacrée aux effets des substances chimiques sur les systèmes biologiques. Les tests développés pour l'évaluation de la biodégradabilité sont principalement aérobies et sont sensés être appliqués seulement sur des produits purs et, de préférence, solubles dans l'eau et peu volatils. Le principe général des méthodes développées dans les lignes directrices de l'OCDE est repris dans les points suivants. L'agence américaine de protection de l'environnement USEPA propose également un guide sur l'évaluation de la biodégradabilité immédiate des substances chimiques développé par l'office de prévention, pesticides et substances toxiques (OPPTS). Les lignes directrices du guide OPPTS sont consultables sur internet sous format PDF à l'adresse donnée dans le Tableau 21. Les tests américains sont pratiquement identiques à ceux proposés par l'OCDE. Ces deux guides proposent de distinguer trois catégories principales de tests d'évaluation de la biodégradabilité (Nyhlo, 1991 ; Cabridenc, 1993) :

- Essais de **biodégradabilité immédiate ou facile** : « Essais rigoureux dans lesquels la possibilité de biodégradation et d'acclimatation est limitée dans le temps. On peut affirmer qu'un produit chimique qui donne un résultat positif au cours d'un essai de ce type se biodégradera rapidement dans l'environnement et peut être classé comme facilement biodégradable ». Ces procédures destinées à tester la biodégradabilité de composés chimiques en conditions optimales mais rapides sont donc difficilement applicables pour des matériaux solides ou semi-solides.

- Essais de biodégradabilité intrinsèque : « Essais qui permettent une exposition prolongée du composé étudié aux micro-organismes, une proportion plus favorable produit chimique/biomasse ou d'autres conditions favorisant la biodégradation. Un composé donnant un résultat positif dans un essai de ce type peut être classé comme intrinsèquement biodégradable ; mais à cause des conditions favorables qui ont été employées, on ne peut être sûr que dans l'environnement, sa biodégradation soit rapide et sûre ».

- Essais de simulation : « Essais qui fournissent une idée du taux de biodégradation, dans quelques conditions d'environnement bien déterminées. Les essais de ce genre peuvent être subdivisés suivant le type d'environnement qu'ils sont destinés à simuler : a) traitement biologique (aérobie) ; b) traitement biologique (anaérobie), c) rivière ; d) lac, e) estuaire ; f) mer ; g) sol ». D'autres types d'environnement peuvent être également ajoutés aux simulations. Par définition, les essais de simulation nécessitent en amont un travail permettant la simulation du système étudié. Par conséquent, il existe actuellement peu de procédures standardisées.

NB : les essais de biodégradabilité intrinsèque et les essais de simulation peuvent permettre de qualifier la **biodégradation primaire** (dans le cas du suivi d'un produit de dégradation) ou la **biodégradation ultime** (dans le cas du suivi d'un produit ultime).

Les lignes suivantes donnent la liste des abréviations couramment utilisées dans la description des procédures d'évaluation de la biodégradation :

**OD** : Oxygène dissous (mg). Norme Internationale ISO 5813.1983, Qualité de l'eau – Dosage de l'oxygène dissous – Méthode iodométrique. Norme Internationale ISO 5814.1983, Qualité de l'eau – Dosage de l'oxygène dissous – Méthode électrochimique à la sonde.

**DBO** : Demande Biologique en Oxygène (mg). C'est la quantité d'oxygène consommée par des micro-organismes lorsqu'ils métabolisent une substance organique. La DBO est généralement exprimée en mg de d'oxygène consommé par mg de substance.

**DCO** : Demande Chimique en Oxygène (mg). C'est la quantité d'oxygène consommée au cours de l'oxydation d'une substance d'essai par du bichromate de potassium acide chaud. La DCO fournit une mesure de la quantité de matière oxydable présent dans une solution. La DCO est également exprimée en mg d'oxygène consommé par mg de substance organique. Norme d'analyse de la DCO : Norme Internationale ISO 6060.1989, Qualité de l'eau – Détermination de la demande chimique en oxygène (Norme française NF T 90-101, identique à la norme internationale).

**DThO** : Demande théorique en Oxygène (mg). C'est la quantité totale d'oxygène nécessaire pour parvenir à l'oxydation complète d'un produit chimique. Elle est calculée à partir de la formule moléculaire et est également exprimée en mg d'oxygène nécessaire par mg de substance organique.

**CO<sub>2</sub>Th** : Dioxyde de Carbone Théorique (mg) : Il s'agit de la quantité de dioxyde de carbone, calculée à partir de la teneur en carbone connue ou mesurée de la substance organique étudiée, qui doit se dégager lors de la minéralisation complète de celle-ci. Le CO<sub>2</sub>Th est également exprimé en mg de dioxyde de carbone qui se dégage par mg de substance d'essai.

**COD** : Carbone Organique Dissous. Il s'agit du carbone organique présent dans une solution ou qui traverse un filtre d'une porosité de 0,46 µm ou encore qui reste dans le surnageant après une centrifugation de 15 min à environ 4 000 g (40 000 m.s<sup>-2</sup>). Norme d'analyse de la DCO : Norme Internationale ISO 8245 (Qualité de l'eau : Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (COT) et carbone Organique Dissous (COD)).

**CODB** : Carbone Organique Dissous Biodegradable. Il s'agit du carbone organique présent dans une solution ou qui traverse un filtre d'une porosité de 0,46 µm ou encore qui reste dans le surnageant après une centrifugation de 15 min à environ 4 000 g (40 000 m.s<sup>-2</sup>) et capable d'être biodégradé. Norme de détermination de la DCOB : Norme française expérimentale XP T 90-318 1995.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone (gaz). Le CO<sub>2</sub> libéré à la suite de la minéralisation d'un substrat organique et piégé dans une solution d'hydroxyde de sodium (2 mol.L<sup>-1</sup> en général) est généralement dosé par dosage titrimétrique au baryte de sodium (voir annexe B de la norme internationale ISO 9439).

**COT** : Carbone Organique Total. Le COT d'un échantillon liquide est égal à la somme du carbone organique en solution et en suspension. Norme d'analyse du COT : Norme Internationale ISO 8245 (Qualité de l'eau : Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (COT) et carbone Organique Dissous (COD)).

**CI** : Carbone Inorganique,

**CT** : Carbone Total. Le carbone total est égal à la somme du carbone organique et du carbone inorganique présents dans l'échantillon liquide.

### III.4.2.2- Tests d'évaluation de la biodégradabilité de molécules organiques

#### a) Tests de biodégradabilité « facile »

##### Généralités

Les lignes directrices de l'OCDE décrivent six méthodes permettant le classement des **substances chimiques**, solubles ou non solubles dans l'eau, en fonction de leur « biodégradabilité facile » (ou « immédiate ») en **milieu aqueux** et en **condition d'incubation aérobie**. Les tests d'évaluation de la biodégradabilité facile des substances organiques présentés dans les lignes OCDE sont listés dans le Tableau 24 suivant. Nous présenterons également par la suite la procédure normalisée à l'échelle européenne de détermination de la demande biochimique (ou biologique) en oxygène après *n* jours (DBO<sub>n</sub>) (EN 1899-1.1998 et EN 1899-2.1998).

**Tableau 24 : Méthodes d'évaluation de la biodégradabilité facile d'une substance organique. Conditions d'application des tests. (OCDE, 1993).**

Essai	Méthode d'analyse	Appropriée pour les composés qui sont :		
		Faiblement solubles	Volatils	Adsorbables
Disparition du COD (301A)	Carbone Organique Dissous	-	-	+/-
Dégagement de CO <sub>2</sub> (301B)	Respirométrie : CO <sub>2</sub> dégagé	+	-	+
MITI (I) (301C)	Respirométrie : Consommation d'oxygène	+	+/-	+
Flacon fermé (301D)	Respirométrie : Oxygène dissous	+/-	+	+
Essai de « screening » modifié de l'OCDE (301 <sup>E</sup> )	Carbone organique Dissous	-	-	+/-
Respirométrie manométrique (301F)	Consommation d'Oxygène	+	+/-	+

Les appareils et les conditions expérimentales spécifiques des procédures d'évaluation de la biodégradabilité facile des substances organiques sont décrites dans le Tableau 25 suivant.

**Tableau 25: Conditions générales et particulières des procédures d'évaluation de la biodégradabilité faciles des substances organiques.**

Paramètres	Conditions
Eau	Eau déminéralisée (permutée) ou distillée exempte de substances toxiques à des concentrations inhibitrices. Elle ne doit pas contenir une concentration en carbone organique supérieure à 10% de celle introduite avec la substance organique à tester. De préférence, utiliser le même lot d'eau pour une série d'essai dont la teneur en COD doit être analysée au préalable.
Milieux minéraux nutritifs	Les milieux minéraux nutritifs sont préparés à partir de solutions-mères contenant du phosphate de potassium et de sodium, plus chlorure d'ammonium, chlorure de calcium, sulfate de magnésium et chlorure de fer (III). Il est possible également d'utiliser des solutions-mères d'oligo-éléments et de facteurs de croissance.
Substances d'essais et de référence	La méthode d'apport de la substance d'essai et de référence dépend évidemment de la nature du produit chimique, en particulier de sa solubilité dans l'eau. Dans le cas où la solubilité est supérieure à environ 1 g.l <sup>-1</sup> , on prépare une solution mère à la concentration appropriée et utiliser une aliquote de solution pour les essais. Lorsque la substance organique est peu soluble, l'ajouter directement dans le milieu minéral.
Inoculum	Plusieurs sources d'inoculum possible : Boue activée, effluent d'une station d'épuration, eaux de surface, eaux de sols (ou mélanges de celles-ci). Pour les méthodes de disparition de COD (301A), de dégagement de CO <sub>2</sub> (301B) et de respirométrie manométrique (301F), les boues activées doivent provenir du traitement biologique des eaux ménagères usées. Pour l'essai « Screening » (301E), il est préférable d'utiliser un inoculum plus dilué ne contenant pas de floes bactérien (exemple : effluent secondaire d'une STEP). Pour la méthode MITI modifiée, l'inoculum est constitué de plusieurs sources.
Préconditionnement de l'inoculum	L'inoculum peut être preconditionné en fonction des différentes conditions environnementales des différentes méthodes. Dans de nombreux cas, le preconditionnement de l'inoculum permet d'améliorer la reproductibilité des essais Exemple de preconditionnement : aération de la boue activée dans un milieu minéral pendant 5 à 7 jours à la température de l'essai.
Témoins abiotiques	Les témoins abiotiques permettent de quantifier la dégradation de la substance organique à tester en absence de micro-organismes. La stérilisation des essais est généralement effectuée par filtration sur membrane (diamètre de pore de 0,2 µm) ou par l'ajout d'une substance toxique adéquate et à une concentration appropriée (Azoture de sodium ou chlorure mercurique par exemple). Au cours du suivi des essais, les échantillons doivent être prélevés de façon aseptique afin de préserver la stérilité.
Nombre de flacon et d'échantillons	Il est nécessaire d'effectuer au minimum deux répétitions pour chaque essai, c'est à dire deux flacons ou récipient contenant la substance d'essai avec l'inoculum, et au moins deux autres flacons ne contenant que l'inoculum. Pour les essais témoins de toxicité, témoin abiotique et témoin d'adsorption décrits dans les différentes procédures, un seul flacon suffit.

D'après les lignes directrices de l'OCDE (OCDE, 1993) :

- Témoin physico-chimique : Il s'agit d'un essai témoin permettant d'évaluer la dégradation abiotique ou les mécanismes de pertes tels que volatilisation ou adsorption qui se pourraient se produire lors de l'essai. Le témoin physico-chimique (ou témoin abiotique) est généralement effectué en ajoutant dans le milieu un produit chimique toxique (biocide) tel que le chlorure mercurique ou l'azoture de sodium (Wolf et al, 1990). L'OCDE préconise des concentrations en HgCl<sub>2</sub> comprises entre 50 et 100 mg.L<sup>-1</sup> afin de stopper toute activité microbienne. Ces produits très toxiques nécessitent d'être manipulés avec précaution.

- Témoin de toxicité : Lorsque l'essai indique que la substance testée (ou le déchet) ne semble pas biodégradable dans les conditions expérimentales de l'essai, il est souhaitable d'effectuer une

évaluation de la toxicité de certaines substances présentes dans le milieu vis à vis de l'inoculum. On peut pour cela suivre la procédure décrite par l'OCDE et l'USEPA (OCDE 209 ; OPPTS 850.6800) ou bien la norme internationale (et également européenne) EN ISO 8192.1995 sur l'inhibition du taux de respiration (consommation d'O<sub>2</sub>) de la boue d'une station d'épuration (Reynolds et al, 1987). Un essai témoin de toxicité peut être également effectué en parallèle avec les essais d'évaluation de la biodégradation pour une procédure donnée en utilisant une substance de référence connue comme étant facilement biodégradable à laquelle on ajoute la substance (déchet) d'essai.

- Préparation des substances organiques avant essai : Il existe actuellement des lignes directrices pour la préparation et le traitement des composés organiques peu solubles en vue de l'évaluation de leur biodégradabilité en milieu aqueux (Norme européenne et internationale EN ISO 10634.1995 « Water Quality – Guidance for the preparation and treatment of poorly water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their biodegradability in an aqueous medium » qui remplace le fascicule de documentation NF T 90-313 d'octobre 1988).

- La solution ou la suspension de la substance à tester dans un milieu minéral estensemencée et incubée en aérobiose, dans l'obscurité ou en lumière diffuse. La quantité de COD dans l'inoculum doit être aussi faible que possible par rapport à la quantité de carbone organique provenant de la substance à tester. On prend en compte l'activité endogène de l'inoculum en réalisant en parallèle des témoins contenant l'inoculum mais sans addition de la substance à tester. Un essai avec une substance de référence est conduit en parallèle afin de contrôler l'activité de l'inoculum. Les substances préconisées sont présentées dans le Tableau 26 suivant.

**Tableau 26 : Substances organiques de référence pour l'évaluation de l'activité de l'inoculum dans les essais de biodégradabilité facile.**

Aniline
Acétate de sodium
Benzoate de sodium
Hydrogénophthalate de potassium

- Suivi des essais : la biodégradation est suivie par la détermination de paramètres tels que le COD (Carbone Organique Dissous), la production en dioxyde de carbone ou la consommation d'oxygène : les mesures sont effectuées à des intervalles de temps suffisamment rapprochés pour pouvoir identifier le début et la fin de la biodégradation. Les respiromètres automatiques (tel que l'Oxymètre<sup>®</sup> ou le Sapromat<sup>®</sup>) permettent d'effectuer des mesures en continu. Le COD est parfois mesuré en complément du suivi d'un autre paramètre, mais ceci n'est généralement le cas qu'au début et à la fin de l'essai. Une analyse chimique spécifique peut également servir à évaluer la biodégradation primaire de la substance à tester et à déterminer la concentration de toutes substances intermédiaires (métabolites)

qui se forment au cours de la biodégradation du substrat. Cette analyse est obligatoire dans l'essai MITI modifié (301C).

- Durée des essais : Les essais durent normalement 28 jours. Un essai peut cependant être interrompu avant, dès lors que la courbe de biodégradation atteint un plateau qui se prolonge au moins sur trois mesures. Un essai peut également être prolongé au-delà de 28 jours si la courbe montre que la biodégradation a commencé sans toutefois avoir atteint un palier, mais dans ce cas, la substance chimique ne devrait pas être classée comme facilement biodégradable.

- Informations sur la substance à tester : Il est nécessaire de disposer d'informations concernant les propriétés physico-chimiques de la substance à tester telles que par exemple la structure chimique de la molécule, la solubilité dans l'eau, la pression de vapeur (volatilité). Les paramètres globaux tels que le COD (Carbone Organique Dissous), le COT (Carbone Organique Total) et la DCO (Demande Chimique en Oxygène) peuvent également être utiles pour interpréter les résultats des essais de biodégradation de la substance testée. Signalons par ailleurs qu'il est conseillé de consulter la norme internationale ISO 10634.1995 sur les conditions techniques relatives à l'utilisation de composés organiques faiblement solubles dans l'eau destinés à être utilisés dans le cadre d'essais de biodégradation aquatiques.

- Critères d'application et choix des méthodes : Les méthodes d'évaluation de la biodégradabilité facile sont applicables, de préférence, aux substances organiques qui sont solubles dans l'eau à des concentrations d'au moins 100 mg.l<sup>-1</sup> et à condition qu'elles soient ni volatiles, ni adsorbables. Les méthodes appropriées sont présentées dans le Tableau 24. L'OCDE propose des aménagements des tests dans le cas de substances volatiles ou faiblement hydrosolubles.

- Reproductibilité des essais : Les mesures doivent être effectuées au moins en double du fait de la nature du phénomène de biodégradation, de l'hétérogénéité des populations microbiennes utilisées comme inoculum et de la difficulté d'utiliser dans chaque essai un inoculum dans le même état physiologique. On observe habituellement que, plus la concentration initiale en micro-organismes ajoutés au milieu d'essai est importante, plus la variation entre les essais en double est faible. Des essais inter-laboratoires ont également montré qu'il pouvait exister de grandes variations entre les résultats provenant de différents laboratoires. Mais avec des composés facilement biodégradables, on obtient normalement une bonne concordance.

- Traitement des résultats : Le pourcentage de biodégradation est calculé à partir de la valeur moyenne des mesures et des « témoins inoculum » pour le paramètre suivi. L'exploitation des données est spécifique à chaque procédure développée dans le cadre de l'OCDE.

- Critères de validité des essais : Un essai est considéré comme valide si les valeurs des critères des mesures de disparition de la substance d'essai, au niveau du plateau, à la fin de l'essai ou à la fin de



l'intervalle de 10 jours, selon les cas, ne présentent pas de différence de plus de 20%, et si le taux de biodégradation de la substance de référence a atteint le niveau seuil en moins de 14 jours. Si l'une des conditions n'est pas remplie, l'essai devra être recommencé. L'absence de biodégradation ne signifie pas que la substance organique n'est pas biodégradable mais indique que des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer sa biodégradabilité.

- Toxicité de la substance testée : Les procédures d'évaluation de la biodégradabilité facile des substances organiques peuvent être complétées par des essais d'évaluation de sa toxicité. Cette évaluation est obtenue en comparant les résultats obtenus avec la substance testée et la même substance testée en mélange avec la substance de référence avec l'inoculum dans les mêmes conditions d'incubation.

Les tests d'évaluation de la biodégradabilité facile ont été conçus de manière à conclure sans équivoque les résultats positifs de biodégradation. Un résultat positif signifie que la substance étudiée est biodégradable dans l'environnement. En revanche, un résultat négatif ne signifie pas nécessairement que la substance est récalcitrante mais qu'il est nécessaire d'effectuer de nouveaux essais tels que ceux proposés par l'OCDE pour l'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque.

Description des essais d'évaluation de la « biodégradabilité facile » présentés dans les lignes directrices de l'OCDE :

**Tableau 27 : Essai de disparition du COD- Méthode 301A OCDE.**

Normes et procédures internationales similaires	- Norme européenne et internationale EN ISO 7827-1995 qui reprend la norme internationale ISO 7827:1994. - Norme projet ISO/DIS 14592-1, remplace la norme française NF T 90-312 de novembre 1985, - Directive CEE 92/69/CEE (Méthode C.4-A).
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse du carbone organique dissous (disparition du COD)</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Substance avec $S_{aq} \geq 100 \text{ mg.l}^{-1}$ , - Substances non volatiles, - Teneur en carbone organique = ?
Conditions expérimentales	- Milieu liquide aqueux, - [Substance] de 10 à 40 $\text{mg.l}^{-1}$ de COD, - $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et à l'obscurité, - Durée : 28 jours - Suivi de [COD], - Inoculum : Boues de STEP, Effluents de STEP, Eaux de surface, eaux de sols.
Appareillage particulier	- 8 flacons coniques, - Analyseur de COD, - Analyseur de $\text{O}_2$ dissous, - Centrifugeuse.

**Tableau 28 : Essai de dégagement de  $\text{CO}_2$  - Méthode 301B OCDE. (également connu sous le nom de test de Sturm Modifié).**

Normes et procédures internationales similaires	- Norme européenne EN 29439:1993 qui reproduit intégralement la norme internationale ISO 9439:1999 et remplace la norme homologuée NF ISO 9439 de juillet 1991, - Norme française T 90-306, - Norme française référence inconnue : produits dispersants, - Procédure USEPA OPPTS 835.3100, - Directive CEE 84/449/CEE (Méthode C.5).
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse du dioxyde de carbone. IL s'agit du test de STURM Modifié.</i> - Aération par passage d'air exempt de $\text{CO}_2$ , - Piégeage du $\text{CO}_2$ dans une base. Dosage du carbonate par titration chimique ou analyseur de carbone inorganique, 3- <i>En option ; analyse du COD dans le milieu de croissance.</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Substances chimiques non volatiles, - Teneur en carbone organique à connaître de préférence pour déterminer le $\text{CO}_2$ th, - Formule de la substance pour la détermination de la DthO, - Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance.
Substances organiques concernées	- Substances chimiques non volatiles, - Substances chimiques solubles, peu solubles ou insolubles dans l'eau (polymères organiques par exemple). Les substances insolubles doivent être ajoutées dans le milieu nutritif sous la forme d'une poudre.
Conditions expérimentales	- Milieu liquide aqueux, - Aération de 30 à 100 $\text{mL.min}^{-1}$ , - [Substance] de 10 à 20 $\text{mg.l}^{-1}$ de COD ou de COT, - $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et à l'obscurité, - Durée : 28 jours - Suivi du $\text{CO}_2$ produit, - Inoculum : Boues de STEP, Effluents de STEP, Eaux de surface, eaux de sols. Inoculum de préférence peu concentré.
Appareillage particulier	- Flacons de 2 à 5 litres, munis chacun d'un tube d'aération atteignant presque le fond du récipient et d'un orifice pour l'évacuation des gaz (le tube ne doit pas gêner l'agitateur magnétique, si on en utilise un), - Analyseur de $\text{CO}_2$ ou dispositif de titration (avec HCl 0,05M, dosage de l'excès d'hydroxyde baryum à 0,0125M, et phénolphaléine comme indicateur coloré),

**Tableau 29 : Essai du MITI modifié (I) - Méthode 301C OCDE.**

Normes internationales similaires	
<b>Principe</b>	Suivi de la biodégradation du substrat par évaluation de la consommation d'oxygène. - Nécessité d'utiliser un appareil de mesure automatique de Demande Biologique en Oxygène par électrolyse ou respiromètre, - Piégeage du CO <sub>2</sub> émis par de l'hydroxyde de baryum ou de sodium, - Consommation d'oxygène évaluer à partir l'oxygène produit par électrolyse pour maintenir la concentration en O <sub>2</sub> .
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Substances non volatiles, - Teneur en carbone organique = ?
Conditions expérimentales	- Milieu liquide aqueux, - [Substance] de 100 mg.l <sup>-1</sup> , - 25 ± 1°C et à l'obscurité, - Durée : 28 jours - Inoculum : Effluent secondaire de STEP, clair de préférence
Appareillage particulier	- Respiromètre Oxymax ou Sapromat, - 6 flacons de 300 mL, munis chacun d'une coupelle contenant l'absorbant en CO <sub>2</sub> .

**Tableau 30 : Essai en flacon fermé - Méthode 301D OCDE.**

Normes internationales similaires	- Norme européenne EN ISO 10707.1997 qui reproduit intégralement la norme internationale ISO 10707.1994, - Procédure USEPA OPPTS 835.3170, - Directive 92/69/CEE (Méthode C.4.-E).
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse de l'oxygène dissous dans la solution. (demande biochimique en oxygène – essais en fiole fermée)</i> - Concentration faible, - Ensemencement faible.
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Formule de la substance pour la détermination de la DthO, - Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance.
Substances organiques concernées	- Substances chimiques solubles, peu solubles ou insolubles dans l'eau (polymères organiques par exemple). Les substances insolubles doivent être ajoutées dans le milieu nutritif sous la forme d'une poudre.
Conditions expérimentales	- Milieu liquide aqueux, - Flacons hermétiques, - [Substance] de 2 à 5 mg.l <sup>-1</sup> , - Température constante à ± 1°C (20°C conseillée), - Obscurité, - Durée : 28 jours, - Aération préalable du milieu pendant 20 min, - Suivi de O <sub>2</sub> consommé, - Inoculum : effluent secondaire de STEP, concentration faible en micro-organismes.
Appareillage particulier	- 30 flacons de DBO, munis de bouchons de verre, et d'un volume de 250-300 ou 100-125 mL, - Analyse de O <sub>2</sub> , par la méthode de Winckler, - Ou analyse de O <sub>2</sub> , par électrode à O <sub>2</sub> couplée avec un appareil de mesure.

**Tableau 31 : Essai de « Screening » - Méthode 301E OCDE.**

Normes internationales similaires	
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse du carbone organique dissous (disparition du COD) Proche de la méthode COD (301A) mais utilisation d'un inoculum avec une faible concentration en micro-organismes.</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Substance avec $S_{aq} \geq 100 \text{ mg.l}^{-1}$ , - Substances non volatiles, - Formule de la substance pour la détermination de la DthO, - Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance.
Conditions expérimentales	- Milieu liquide aqueux, - [Substance] de 10 à 40 $\text{mg.l}^{-1}$ de COD, - $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et à l'obscurité, - Durée : 28 jours - Suivi de [COD], - Inoculum : Effluent secondaire de STEP.
Appareillage particulier	- 8 flacons coniques, - Analyseur de COD, - Analyseur de $\text{O}_2$ dissous, - Centrifugeuse.

**Tableau 32 : Essai de respirométrie manométrique - Méthode 301F OCDE.**

Normes internationales similaires	- Norme européenne EN 294408.1993 qui reproduit intégralement la norme internationale ISO 9408 (1999), et remplace la norme NF ISO 9408.1991, - Procédure USEPA OPPTS 835.3120, - Directive CEE 84/449/CEE – Méthode C7.
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation du substrat par la consommation en oxygène dans un respiromètre fermé. (détermination de la demande en oxygène)</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Formule de la substance pour la détermination de la DthO, - Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance.
Conditions expérimentales	- Milieu liquide aqueux, - [Substance] de l'ordre de 100 $\text{mg.l}^{-1}$ soit DthO comprise entre 50 et 100 $\text{mg.l}^{-1}$ , - Régulation de température à $\pm 1^\circ\text{C}$ et obscurité, - Durée : 28 jours - Soit suivi de la consommation de $\text{O}_2$ (proportionnelle à la production par électrolyse) soit suivi des modifications des volumes ou des pressions dans le flacon, - Analyse facultative de la DCO avant et après incubation, - Inoculum : Boue activée, effluent de STEP etc. - Préconditionnement possible de l'inoculum.
Appareillage particulier	- 8 flacons coniques, - Respiromètre automatique approprié (Oxymètre® ou Sapromat®) ou appareil de mesure des pressions ou des volumes (ou des deux à la fois).

Description de la procédure de détermination de la demande biochimique (ou biologique) en oxygène (DBO) :

La détermination de la demande biologique ou biochimique en oxygène est une méthode normalisée relativement proche de la méthode OCDE de respirométrie manométrique 301F. Les normes EN 1899-1.1998 et EN 1899-2.1998 permettent de déterminer la DBO d'une eau en condition aérobie sur de courtes périodes d'incubation (DBO<sub>5</sub>, DBO<sub>2+5</sub> et DBO<sub>7</sub>). La première norme indique la procédure à suivre pour évaluer la DBO par dilution et ensemencement. Cette méthode prescrit l'apport d'allyl thio-urée pour supprimer la nitrification qui peut nuire à l'interprétation des résultats. La deuxième norme est consacrée aux échantillons d'eaux de faibles valeurs de DBO (méthode pour les échantillons dilués). Les principales caractéristiques techniques de ces deux normes sont résumées dans le Tableau 33 suivant.

**Tableau 33 : Détermination de la demande biochimique en oxygène après *n* jours (DBO<sub>n</sub>).**

Normes ou procédures internationales similaires	- Normes européennes EN 1899-1.1998 (remplace la norme française NF T 90-103) et EN 1899-1.1998, - Norme internationale ISO 5815, - Directive CEE 92/69 CEE C.5.
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation du substrat par la consommation en oxygène (détermination de la demande biochimique ou biologique en oxygène)</i> <i>Méthode de suivi : mesure de la concentration en oxygène dissous (OD).</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	Uniquement sur échantillons aqueux.
Conditions expérimentales	- Echantillons : eau résiduaire urbaine (DCO < 300 mg.L <sup>-1</sup> ou COT < 100 mg.L <sup>-1</sup> ), eau de rivière ou de lac, effluent décanté de STEP, conservation des échantillons à 4°C, - Température : 20 ± 1°C et obscurité, - Durée : de 5 à 7 jours - Mesure de la consommation de O <sub>2</sub> .
Appareillage particulier	- Flacons d'incubation : flacons DBO cylindro-coniques avec bouchons (250-300 mL ou 100-125 mL), - Appareil pour la détermination de la concentration en oxygène dissous (OD) par la méthode de dosage chimique (iodométrie) ou bien par la méthode électrochimique (sonde à oxygène), - Equipement pour aération initiale des échantillons (bouteille d'air sous pression ou compresseur).

## *b) Tests de biodégradabilité dite « intrinsèque » et de simulation*

Nous rappelons que la biodégradabilité intrinsèque est évaluée par une exposition de la substance organique testée à une microflore complexe sur une longue durée permettant l'acclimatation des micro-organismes. L'OCDE propose quatre méthodes distinctes permettant d'évaluer la biodégradabilité intrinsèque.

- 1- *Méthode 302A SCAS modifiée,*
- 2- *Méthode 302B Zahn-Wellens/EMPA,*
- 3- *Méthode 302C Essai MITI Modifié (II),*
- 4- *Méthode 304A « biodégradabilité intrinsèque dans le sol ».*

Les trois premières méthodes permettent d'estimer la biodégradabilité intrinsèque d'une substance organique en milieu aqueux et en conditions aérobies.

Simulation d'un procédé : Certaines méthodes consistent à reproduire en laboratoire des conditions expérimentales d'un procédé de traitement biologique. C'est le cas de la méthode SCAS modifiée permettant de reproduire sommairement les conditions de traitement des eaux en station d'épuration des eaux usées. Nous présenterons par la suite également la norme internationale sur l'évaluation de la biodégradabilité anaérobie « ultime » des composés organiques dans les boues de digesteurs EN ISO 11734.1998.

Simulation de scénario La quatrième méthode OCDE 304A permet de déterminer la biodégradabilité intrinsèque dans le sol en condition aérobie, c'est à dire dans scénario de déversement d'un polluant organique dans un sol. Nous citerons également les procédures américaines d'évaluation OPPTS 835.5154.

### Méthode 302A SCAS modifiée

La méthode 302A est une adaptation de la méthode semi-continue en présence de boues activées (SCAS) mise au point par la « Soap and Detergent Association » pour la détermination de la biodégradabilité primaire des détergents en conditions aérobies. A l'origine, ce test a été conçu pour simuler les conditions réelles de fonctionnement d'une station d'épuration des eaux usées. Les concentrations en micro-organismes sont très élevées et la période d'incubation peut être longue de plusieurs mois dans la mesure où on introduit de manière intermittente des substances nutritives. Ces conditions d'essais sont donc très favorables à la biodégradation de la substance organique étudiée. On parle donc de biodégradabilité intrinsèque.

Le principe de la méthode SCAS modifiée est basé sur l'utilisation de boues activées provenant d'une station d'épuration qui sont placées dans une unité d'aération SCAS. On ajoute ensuite le composé et

de l'eau d'égout domestique décantée. Le mélange est ensuite aéré pendant 23 heures. Après l'arrêt de l'aération, on laisse ensuite décanter la boue et on élimine le surnageant. La boue restant dans la chambre d'aération est ensuite mélangée à une nouvelle quantité de substance organique et d'eau d'égout, puis le cycle est recommencé. Cette technique permet ainsi d'adapter la population microbienne pour la rendre plus apte à biodégrader la substance organique testée. La biodégradation est déterminée par le dosage du carbone organique dissous (COD) dans le liquide surnageant. Cette teneur est comparée à celle obtenue pour un essai témoin sans substance organique effectué en parallèle. Les principales caractéristiques du test sont résumées dans le Tableau 34.

**Tableau 34 : Essai de biodégradabilité dite intrinsèque – Méthode SCAS modifiée - Méthode 302A OCDE.**

Normes internationales similaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Norme européenne EN ISO 9887.1994 : méthode semi-continue par boues activées (méthode SCAS). Elle reprend intégralement la norme internationale ISO 9887.1992.</li> <li>- Procédure USEPA OPPTS 835.3210,</li> <li>- Procédure USEPA OPPTS 835.5045 (Test SCAC modifié pour substances chimiques insolubles ou volatiles),</li> <li>- Directive CEE 87/302/CEE.</li> </ul>
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation de la substance organique par mesure de COD.</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Substance non volatile,</li> <li>- Substance soluble dans l'eau.</li> </ul>
Conditions expérimentales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Milieu liquide aqueux (boues activées),</li> <li>- [Substance] de l'ordre de 20 mg.l<sup>-1</sup> de carbone pour le composé d'essai au début de chaque cycle d'aération. De préférence, mesurer la COT des solutions.</li> <li>- Régulation de température ± 1°C et obscurité,</li> <li>- Durée effective du séjour : 36 heures,</li> <li>- Analyse de la DCO avant et après incubation dans le surnageant,</li> <li>- Inoculum : Boue activée,</li> <li>- Préconditionnement possible de l'inoculum.</li> </ul>
Appareillage particulier	- Cellule d'aération SCAS (réacteur de type semi-continu)

### Méthode 302B : Essai Zahn-wellens/EMPA

La méthode Zahn-Wellens/EMPA consiste à mettre en contact la substance organique testée avec des boues activées en milieu aqueux. Le processus de biodégradation est suivi quotidiennement soit par dosage du COD, soit par détermination de la DCO. Les principales caractéristiques du test sont résumées dans le Tableau 35.

**Tableau 35 : Essai de biodégradabilité dite intrinsèque – Méthode Zahn-Wellens/EMPA - Méthode 302B OCDE.**

Normes internationales similaires	<ul style="list-style-type: none"><li>- Norme européenne EN 29888.1993 : Essai statique (Méthode Zahn-Wellens),</li><li>- Norme internationale ISO 9888,</li><li>- Procédure USEPA OPPTS 835.3200,</li><li>- Directive CEE 87/302</li></ul>
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation de la substance organique par mesure de COD ou DCO</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	<ul style="list-style-type: none"><li>- Substance non volatile,</li><li>- Substance peu adsorbante,</li><li>- Substance soluble dans l'eau,</li><li>- Structure chimique de la substance étudiée ?</li></ul>
Conditions expérimentales	<ul style="list-style-type: none"><li>- Boue activée en milieu aqueux,</li><li>- [Substance] comprise entre 50 et 400 mg.l<sup>-1</sup> de COD,</li><li>- Nécessité d'utilisation d'une substance de référence pour évaluer la capacité fonctionnelle de la boue activée.</li><li>- Température de 20-25°C à l'obscurité, aération,</li><li>- Aération,</li><li>- Durée : 28 jours. Il est possible de prolonger l'essai au-delà de 28 jours,</li><li>- Analyse de la DCO avant et après incubation dans le surnageant,</li><li>- Préconditionnement possible de la boue.</li></ul>
Appareillage particulier	<ul style="list-style-type: none"><li>- Récipients cylindriques en verre d'un volume de 1 à 5 litres munis de système d'agitation magnétique et d'un tube de verre de 2 à 4 mm de diamètre intérieur introduisant l'air à environ 1 cm au-dessus du fond du récipient.</li><li>- Alimentation en air comprimé,</li><li>- Centrifugeuse,</li><li>- Appareil d'analyse du COD ou DCO.</li></ul>



### Méthode 302C : Essai MITI modifié (II)

Cette méthode respirométrique utilise un dispositif de mesure automatisé de la consommation d'oxygène en circuit fermé de type DBOmètre. Elle s'applique préférentiellement sur des produits chimiques peu ou pas volatils. Les micro-organismes ne sont adaptés pour dégrader la substance chimique à tester. Les principales caractéristiques du test sont résumées dans le Tableau 36 suivant. La courte durée des essais semble dire qu'il s'agit plus d'un essai d'évaluation de la biodégradabilité facile que de l'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque comme indiqué par l'OCDE.

**Tableau 36 : Essai de biodégradabilité dite intrinsèque – Essai MITI Modifié (II) - Méthode 302C OCDE.**

Normes internationales similaires	
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation de la substance organique par la mesure de la consommation de l'O<sub>2</sub></i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Structure chimique de la substance étudiée ?
Conditions expérimentales	- Eaux usées urbaines, - Température de 25±2°C à l'obscurité, - pH du surnageant de 7,0±1,0, - [Substance] de 30 mg.l <sup>-1</sup> (poids/volume). - Durée : de 14 à 28 jours - Agitation magnétique, - Préconditionnement possible de la boue.
Appareillage particulier	- Appareillage de BDO-métrie de six flacons de 300 mL, - Eventuellement dosage du COT résiduel après incubation.

Méthode d'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque en conditions anaérobies dans les boues de digesteur

Cette méthode normalisée EN ISO 11734.1998 prescrit une méthode pour l'évaluation de la biodégradabilité des composés organiques à des concentrations données sous l'effet de micro-organismes anaérobies. Il s'agit de l'évaluation de la **biodégradabilité ultime** (minéralisation) car on effectue le suivi de la formation des produits ultimes de la biodégradation tels que le dioxyde de carbone et le méthane. Les essais sont effectués avec des boues digesteurs lavés contenant du carbone organique en quantité très faible. Les principales caractéristiques du test sont indiquées dans le Tableau 37 suivant.

**Tableau 37 : Test d'évaluation de la biodégradabilité des composés organiques dans les boues de digesteurs.**

Procédures ou normes internationales	- Norme européenne et internationale EN ISO 11734.1998 qui reproduit intégralement la norme internationale ISO 11734.1995, - Procédure USEPA OPPTS 835.3400 intitulée « Anaerobic biodegradability of organic chemicals ».
<b>Principe</b>	<i>Minéralisation anaérobie de substances organiques dans les boues de digesteur.</i> <i>Méthodes de suivis conseillées : Mesure de l'augmentation de la pression due à la production de biogaz (CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub>) et mesure du carbone inorganique (CI) en fin d'incubation.</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Substances organiques insolubles dans l'eau, - Substances organiques ayant un effet inhibiteur sur les micro-organismes du digestat utilisé (à vérifier).
Conditions expérimentales	- Boues de digesteur (digestat) contenant du Carbone inorganique (CI) en quantité très faible, concentration de 1 à 3 g.L <sup>-1</sup> de boue dans les essais, - Préconditionnement des boues conseillé (à 35°C pendant 7 jours au maximum) afin de réduire la production de biogaz dans les essais témoins sans substance organique, - Température : 35°C ± 2°C, - Obscurité, - [Substance] : de 20 à 100 mg.L <sup>-1</sup> en carbone organique (CO), - Durée : jusqu'à 60 jours, - Suivi analytique : selon les résultats, - Témoin avec substance de référence conseillé.
Appareillage particulier	- Récipient hermétiquement clos, - Appareil de mesure manométrique (comme par exemple transducteur de pression), - Analyseur de carbone inorganique (gamme de concentration comprise entre 1 à 200 mg.L <sup>-1</sup> ).

## « Biodégradabilité Intrinsèque dans le Sol »

La méthode 304A de l'OCDE consiste à évaluer la biodégradabilité de substances organiques dans les sols en conditions aérobies. L'OCDE précise également que la procédure peut être adaptée techniquement afin de réaliser l'évaluation de la biodégradabilité anaérobie. L'USEPA propose également deux procédures similaires, le OPPTS 835.3300 et OPPTS 835.3180, destinées respectivement aux essais sur sols et sur sédiments en aérobiose. L'USEPA a également développé un test permettant d'évaluer la biodégradabilité anaérobie des substances organiques en sous-sol (subsurface). Ces procédures expérimentales doivent s'appliquer de préférence sur des substances organiques marquée au  $^{14}\text{C}$  afin d'évaluer plus facilement sa minéralisation en  $^{14}\text{CO}_2$ .

- Préparation des produits chimiques : Il existe une norme internationale relative aux conditions d'essais de laboratoire pour la biodégradation de produits chimiques organiques dans le sol en condition aérobie : norme française FD ISO 11266 1997 intitulée « Lignes directrices relatives aux essais en laboratoire pour la biodégradation de produits chimiques organiques dans le sols sous conditions aérobies » et qui reproduit intégralement la norme internationale ISO 11266.1994.

- Préparation des échantillons de sols : Les conditions d'échantillonnage, de stockage et de manipulation des sols sont définies par la norme internationale ISO 10381-6.1994 intitulée « Qualité du sol – Echantillonnage – Partie 6 ; : Lignes directrices pour la collecte, la manipulation et la conservation des sols destinés à une étude en laboratoire des processus microbiens aérobies ».

Les principales caractéristiques des procédures d'essais d'évaluation de la biodégradation aérobie dans les sols ou sédiments sont présentées dans le Tableau 38 suivant.

**Tableau 38 : Test d'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque des substrats organiques dans les sols ou sédiments et en conditions aérobies.**

Procédures ou normes internationales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Norme internationale ISO-DIS 14592.2001. Essais par agitation de lots de flacons avec eaux de surface ou des suspensions eaux de surfaces/sédiments,</li> <li>- Norme internationale ISO 14239.1997,</li> <li>- Procédure OCDE 304A,</li> <li>- Procédure USEPA OPPTS 835.3300,</li> <li>- Procédure USEPA OPPTS 835.3180 (test de biodégradation en microcosme sédiments-eau).</li> </ul>
<b>Principe</b>	<p><i>Biodégradation ultime (minéralisation) de la substance organique marquée au <math>^{14}\text{C}</math> suivie par la mesure du <math>^{14}\text{CO}_2</math>.</i></p> <p><i>Cette méthode peut être adaptée dans le cas où on souhaiterait étudier la minéralisation en conditions anaérobie.</i></p>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Connaître le site de marquage de la molécule au <math>^{14}\text{C}</math>,</li> <li>- Facultatif : évaluation de la volatilité de la substance,</li> </ul>
Conditions expérimentales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sol (conservation à 4°C avant essai) à 40% de sa capacité maximale en eau, COT du sol, granulométrie,</li> <li>- Utilisation d'une substance de référence conseillée,</li> <li>- Température de 22±2°C à l'obscurité,</li> <li>- [Substance] : 50 gouttes de la solution d'essai radioactive (environ 100µL) ajouté à la surface du sol,</li> <li>- Piège à CO<sub>2</sub> : KOH à 0,1N,</li> <li>- Analyse du <math>^{14}\text{CO}_2</math> par scintillation liquide,</li> <li>- Durée : 64 jours,</li> <li>- Prélèvement de la potasse : 1,2,4,8,16,32 et 64 jours,</li> <li>- Facultatif : évaluation de la formation de résidus en effectuant l'analyse du <math>^{14}\text{CO}_2</math> libéré après combustion du sol.</li> </ul>
Appareillage particulier	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Flacon biomètre,</li> <li>- Compteur à scintillation liquide,</li> <li>- Appareil d'oxydation pour la combustion des produits radioactifs,</li> <li>- Bain à ultrasons de 500 mL,</li> <li>- Appareil pour extraction Soxhlet,</li> <li>- Fioles à scintillation etc.</li> </ul>

La procédure américaine OPPTS 835.5154 intitulée « Anaerobic biodegradation in the subsurface » précise que la transformation anaérobie des substances d'essais peut être estimée en utilisant des méthodes adaptées des procédures décrites par Wilson et al (1986). La procédure d'essai est présentée dans le Tableau 39.

**Tableau 39 : Test d'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque des substrats organiques dans les sols et en conditions anaérobies.**

Procédures ou normes internationales	- Procédure OCDE 304A, - Procédure USEPA OPPTS 835.5154.
<b>Principe</b>	<i>Biodégradation de substances organiques dans la couche superficielle du sous-sol condition anaérobie</i> <i>Méthodes de suivie conseillées :</i> - Analyse de la concentration en substance d'essai dans le sol (concentration résiduelle), - Analyse des produits intermédiaires, - Mesure de la biomasse produite (population hétérotrophe, méthanogène, sulfato-réductrice), - Mesure de paramètre physique tels que pression P ou V... <i>Conditions d'incubation :</i> - Condition de sulfatoréduction, - Condition méthanogène.
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Echantillon de sol collecté en conditions anaérobies, - Echantillon d'eau de nappe (groundwater) collecté en conditions anaérobies, - Facultatif : évaluation de la volatilité de la substance,
Conditions expérimentales	- Sol (conservation à 4°C sous N <sub>2</sub> ), COT du sol, granulométrie, CEC (Capacité d'échange cationique), pH, Eh (potentiel redox), - Eau de nappe (conservation à 4°C sous N <sub>2</sub> ), pH, OD, COD, sulfate, phosphate, nitrate, Conductivité, - Essais sur mélange Sol-Eau (20 mg dans 80mL), - <b>Sulfato-réduction</b> : [SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] au final à 200 mg.L <sup>-1</sup> , - <b>Méthanisation</b> : Condition anaérobie stricte. - Température : suivant les conditions in situ, - Obscurité, - [Substance] : de préférence trois concentrations différentes à tester, - Durée : 64 jours, - Suivi analytique : 1,4,8,16,32 et 64 jours.
Appareillage particulier	- Bouteille Serum de 160 mL, - Matériel d'extraction (Soxhlet...), - Appareillage analytique, - Facultatif : appareil de mesure manométrique ou volumique.

Enfin, l'USEPA propose également la méthode OPPTS 835.3400 intitulée « Anaerobic biodegradability of organic chemicals ». Cette procédure a été conçue pour l'évaluation de la biodégradabilité des substances chimiques dans les digesteurs de traitement des eaux usées. Les principales caractéristiques de cette procédure sont décrites dans le Tableau 40. Signalons que cette procédure peut également être utilisée pour l'évaluation de la biodégradabilité anaérobie dans les environnements naturels anaérobies tels que les sols et sédiments saturés en eau (test de simulation).

**Tableau 40 : Test d'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque des substrats organiques en conditions anaérobies.**

Procédures ou normes internationales	- Procédure USEPA OPPTS 835.3400.
<b>Principe</b>	<i>Biodégradation de substances organiques en conditions anaérobies. Méthode également utilisable pour les sols et sédiments saturés en eau. Mesure de la production de gaz (CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub>)</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- COT de la substance pour le calcul de CH <sub>4</sub> et CO <sub>2</sub> théorique.
Substances organiques concernées	- Substances chimiques solubles ou peu solubles dans l'eau (polymères organiques par exemple), - Substances chimiques sans effet inhibiteur sur l'inoculum.
Conditions expérimentales	- Inoculum : boue de digesteur de STEP, conservation à 4°C jusqu'à deux semaines. De préférence, utilisation d'une boue fraîche, - Essais sur substance chimique de référence conseillés telle que l'acide benzoïque, - [Substance] = 50 mg.L <sup>-1</sup> de COT, - Température : 35 ± 1°C, - Obscurité, - [Substance] : de préférence trois concentrations différentes à tester,, - Durée : 8 semaines ou jusqu'à biodégradation complète, - Utilisation Réazurine pour la mise en évidence d'oxygène (rose), - Suivi analytique : 1,4,8,16,32 et 64 jours.
Appareillage particulier	- Bouteille Serum de 160 mL avec valve trois voies (type Mininert), - Matériel d'extraction (Soxhlet...), - Appareil d'analyse du CH <sub>4</sub> et CO <sub>2</sub> , - Appareil de mesure manométrique tel que transducteur de pression ou tout simplement une seringue à gaz de 20 mL.

### III.4.3- Procédures d'évaluation de la biodégradabilité ou de la biodétérioration des matériaux

#### *III.4.3.1- Principes généraux*

Nous rappelons ici les définitions des deux termes déjà présentées dans le Tableau 18.

**Biodégradation** ou **biodécomposition** : Conversion de composés organiques en produits plus simples sous l'action de micro-organismes.

= **Dégradation biologique**

**Biodétérioration** ou **bioaltération** : Réduction de la qualité ou de la valeur d'un système considéré sous l'action d'agents microbiens.

*Remarque* : Dans le cas d'un hétéromatériau contenant de la matière organique, la biodégradation de celle-ci peut entraîner une détérioration des propriétés de ce matériau.

Rappelons que la biodétérioration d'un matériau composé partiellement ou totalement de matière organique est principalement due la dégradation biologique de la fraction organique qui le constitue. Il s'agit donc de phénomènes mettant en jeu les mêmes processus.

On peut considérer deux grandes catégories de tests :

- Tests d'évaluation de la **résistance des matériaux aux agents microbiens** (tests de **biodétérioration**),

- Tests d'évaluation de la **biodégradabilité** dont :

- Tests accélérés (évaluation de la **biodégradabilité intrinsèque**),

- Tests de simulation (évaluation de la **biodégradabilité en scénario**).

Les deux types de tests sont bien évidemment pas totalement distincts puisque la biodégradation de la matière organique du matériau est le principal processus conduisant à sa biodétérioration.

Tests de résistance des matériaux aux agents microbiens : Les tests d'évaluation de la résistance des matériaux aux agents microbiens sont généralement effectués dans des conditions optimales de croissance microbienne. La comestibilité est évaluée qualitativement par observation visuelle de la colonisation biologique de surface du matériau. La biodétérioration du matériau qui résulte généralement de sa biodégradation partielle est évaluée par la diminution (altération) de ses caractéristiques (réduction de sa « qualité ou de sa « valeur »). Dans le cas des déchets, c'est souvent cet aspect qui est le plus difficile à évaluer.

Tests d'évaluation de la biodégradabilité :

On cherche souvent à conduire les tests dans des conditions qui favorisent la multiplication et la croissance des micro-organismes afin de réduire la durée des tests, et on travaille pour cela en présence d'un milieu de culture artificiel. En fonction du degré d'optimisation des conditions

expérimentales, on pourra parler, comme on le fait déjà pour caractériser la biodégradation des substances chimiques (Nyholm, 1991 ; OCDE, 1992 ; Cabridenc 1993), de "**biodégradation intrinsèque**". Outre les conditions optimales de biodégradation (milieu, T, agitation, etc...), on se met dans des conditions (durée, etc...) favorisant l'adaptation des micro-organismes. Seule la nature du matériau limite sa biodégradabilité. On parle alors de tests accélérés.

L'influence du milieu extérieur peut être considérable dans l'évolution biologique d'un matériau. Il s'avère souvent nécessaire de chercher à reproduire ou à **simuler** les conditions réelles d'environnement qui seront celles du matériau ou du déchet lors de son utilisation ou de son stockage. On s'oriente alors vers des "tests de simulation", permettant d'évaluer la **biodégradabilité** d'un matériau dans des conditions de scénario donné. Ces procédures sont généralement plus longues et plus complexes que les tests accélérés. Ces tests ne sont donc pas forcément effectués dans des conditions optimales. Ils doivent reproduire plus ou moins fidèlement les principaux facteurs du scénario.

Il n'existe pas à notre connaissance, en France comme à l'étranger, de procédures normalisées spécifiques à l'évaluation de la biodégradabilité des déchets solides, granulaires ou pulvérulents contenant une fraction non négligeable de matière organique. Les tests proposés au Canada par le Wastewater Technology Center (WTC, 1990) pour l'évaluation des déchets stabilisés et solidifiés sont les tests américains développés par l'American Society for Testing and Materials (ASTM) destinés en fait à l'évaluation de la biodégradation des plastiques. Les articles scientifiques publiés sur le sujet rapportent généralement des recherches portant sur la biodétérioration ou sur les mécanismes de biodétérioration davantage que sur les méthodes d'évaluation.

La transposition des procédures mises au point pour un type de matériau (généralement les plastiques ou les peintures dans les procédures normalisées) à un autre type de matériau (les déchets considérés ici) n'est envisageable qu'après adaptation des conditions expérimentales. Les principaux facteurs qui doivent être considérés sont la nature de l'inoculum, le mode d'inoculation, les conditions d'incubation, et la composition du milieu d'incubation.

### ***III.4.3.2- Tests d'évaluation de la résistance des matériaux aux agents microbiens***

#### *a) Présentation générale*

Il existe en revanche, en France et à l'étranger, des procédures normalisées destinées à évaluer la **résistance** des matériaux aux agents biologiques. Il s'agit de normes relativement anciennes encore utilisées pour évaluer ce qu'on peut appeler la **comestibilité** des matériaux et évaluer son influence (biodégradation et biodétérioration). En général, l'évaluation de la biodétérioration des matériaux est

basée sur les modifications d'aspects et les altérations de certaines propriétés fonctionnelles (Trémillon, 1998).

Ces tests d'évaluation de la résistance des matériaux aux agents microbiens ont comme principale caractéristique d'être des tests très simples à mettre en œuvre. Ils consistent à mettre en contact le matériau avec une microflore dans un environnement favorable à leur croissance. En général, ces tests sont réalisés sur milieu nutritif solide. Les tests normalisés ont été mis au point d'une part pour évaluer les effets des micro-organismes sur les matériaux et d'autre part pour tester l'efficacité des traitements chimiques employés pour la conservation de ceux-ci. Comme nous le verrons par la suite, ils ne sont pas forcément adaptés à l'étude de résistance de tous les matériaux. Nous citerons les tests normalisés les plus couramment utilisés pour l'évaluation de la biodétérioration des matériaux solides. Il s'agit principalement des deux normes de l'American Society for Testing and Materials, ASTM G22-76 et ASTM G21-90. Il existe également une norme européenne, ISO 846-1978, des normes françaises NF X 41-513, NF X 41-514, NF X 41-515 et une norme allemande DIN 53 739. Elles sont présentées en détail dans le tableau 41.

Toutes les normes citées comprennent des tests simples de détermination du comportement des plastiques sous l'action de micro-organismes. La détermination de l'influence des conditions de culture est une étape indispensable pour la mise au point d'un test d'évaluation de la résistance d'un matériau. L'objectif est de déterminer les conditions optimales d'altération du matériau. Il s'agit souvent des conditions qui favorisent la multiplication et la croissance des micro-organismes. La biodégradation va dépendre de la nature de l'inoculum, des conditions d'incubation et de la composition du milieu de culture.



**Tableau 41 : Procédures normalisées d'évaluation de la résistance des matériaux aux agents microbiens en milieu solide (tests en boîte de Petri sur milieu gélosé).**

Norme	Titre	Matériaux testés	Tests proposés	Inoculum	Ensemencement	Température (°C)	Humidité (%)	Durée (jour)
ASTM G21-90 (1990)	Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric material to Fungi	Polymères de plastique	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé sans carbone exogène	Suspension de spore de champignon (5 souches pures)	Pulvérisation de la suspension	28-30	85	21
ASTM G22-76 (1976)	Standard practice for determining resistance of plastic to bacteria	Matériaux plastiques	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé sans carbone exogène	Suspension bactérienne de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (souche pure)	Inoculum incorporé à une gélose fondue et refroidi à 45°C	37	85 minimum	21
DIN 53739 (1967)	Résistance des matières plastiques aux agents de dégradation biologiques	Matériaux plastiques	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé synthétique.  <u>Méthode A</u> : sans carbone,  <u>Méthode B</u> : avec carbone	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores de champignons : 5 espèces.	Pulvérisation ou étalement	28	85	28
NF X41-513 ISO 846-1978	Protection des matières plastiques – Partie 1 – Méthode d'essai de résistance des constituants aux micro-organismes (évaluation du degré de comestibilité et effet fongistatique)	Matières plastiques	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé avec ou sans source de carbone organique exogène	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores de champignons : 12 souches pures.	Inoculum incorporé à une gélose fondue et refroidi à 45°C	30	95	14 à 28
NF X41-514 ISO 846-1978	Protection des matières plastiques – Partie 2 – Détermination du comportement sous l'action des champignons et des bactéries – Evaluation par estimation visuelle ou par mesurage des variations de masse ou des caractéristiques physiques	Matières plastiques	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé avec ou sans source de carbone organique exogène pour essai champignon et sans carbone organique pour essai bactérie	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores de champignons : 5 espèces (DIN 53739)  Ou inoculum bactérien ( <i>P. aeruginosa</i> ).	Suspension de spores déposée avec une pipette sur échantillons. Suspension bactérienne mélangée à la gélose	30	>90	28 maximum
NF X41-515	Méthode d'essai de résistance des matériels et appareillages aux micro-organismes	Divers	Cf NF X41-513					
NF X41-520 (1968)	Protection – Méthode d'essai de résistance des peintures et de leur pouvoir de protection	Peintures	Test en boîte de Petri sur milieu gélosé avec (action fongistatique) ou sans source de carbone organique exogène (comestibilité)	Inoculum mixte composé d'une suspension de spores de champignons : 10 souches pures – soit dans l'eau distillée soit dans milieu nutritif sans carbone organique.	Pulvérisation de la suspension ou dépôt avec une pipette	30	Incubation dans un étuve à 95% d'humidité	14

## b) Nature de l'inoculum

Il existe trois type d'inoculum **exogène** :

- utilisation d'une souche pure,
- utilisation d'un mélange de souches pures,
- utilisation d'une microflore complexe.

On peut également envisager un quatrième cas de figure où aucun inoculum exogène n'est apporté. Cette approche peut être intéressante dans le cas des déchets puisqu'elle permet d'évaluer l'activité potentielle des micro-organismes **endogènes**. Elle présente cependant l'inconvénient majeur de rendre nécessaire des temps d'incubation parfois très longs.

Souches pures exogènes :

Il s'agit de micro-organismes bien étudiés et qui ont la propriété d'être ubiquistes comme par exemple *Pseudomonas aeruginosa* (utilisé dans le test ASTM G22-76). Dans le cas des déchets qui sont susceptibles de contenir un mélange de différentes substances organiques et minérales, l'utilisation d'une souche pure peut s'avérer trop restrictive. En effet, la souche en question risque de ne pas être capable de dégrader l'ensemble des polluants organiques considérés, et certains polluants organiques peuvent n'être biodégradables que par un consortium de micro-organismes différents. Ainsi il nous apparaît plus judicieux de travailler avec des micro-organismes susceptibles de métaboliser les polluants organiques étudiés, plutôt qu'avec une souche recommandée *a priori*.

Mélange de souches pures exogènes :

C'est le cas des tests américains de biodétérioration des plastiques ASTM D 5247-92 et G21-90 et du test français de résistance aux champignons NF X 41-514, dont l'objectif est d'évaluer l'action des champignons sur les matériaux polymères synthétiques. Dans les 2 dernières procédures, l'inoculum recommandé est une suspension de spores de différents champignons. La procédure D 5247-92 laisse quant à elle le choix entre un mélange de 3 espèces du genre *Streptomyces* (bactéries), une moisissure (*Phanerochaete chrysosporium*), ou tout(s) autre(s) micro-organisme(s) jugé(s) adéquat(s). Ces tests sont nettement moins restrictifs que les tests de résistance aux bactéries qui n'emploient qu'une seule souche. Il nous semble cependant, d'une manière générale, plus judicieux d'utiliser une microflore complexe.

Microflore complexe (exogène et endogène) :

C'est l'approche choisie par de nombreuses procédures mises au point pour l'évaluation de la biodégradabilité des substances chimiques en milieu aqueux (Essai de Sturm modifié, Essai MITI modifié, essai de Screening de l'OCDE, etc...). Les tests consistent à travailler avec la microflore déjà

présente dans le milieu récepteur ou l'effluent, ou provenant d'autres milieux naturels ayant déjà été en présence de la substance étudiée, ou plus généralement apportée par une boue de station d'épuration urbaine.

#### *c) Mode d'inoculation*

Il dépend de la nature du test. On peut envisager d'apporter l'inoculum sous forme d'une suspension de micro-organismes ou de spores fongiques qui sera soit diluée dans le milieu d'incubation (tests en milieu liquide noyé), mélangée à la gélose en surfusion (tests en boîtes de Pétri) ou aspergée à la surface du déchet solide (tests en chambre d'incubation ou sur boîtes de Pétri).

#### *d) Conditions d'incubation*

Les conditions d'incubation dépendent de la nature du test et du type d'inoculum utilisé. Elles sont choisies pour favoriser la croissance des micro-organismes et optimiser la biodétérioration (tests accélérés) ou pour simuler les conditions réelles de stockage ou d'utilisation du matériau. On distingue plusieurs critères :

- Durée de l'incubation : 28 jours dans la plupart des cas. Pour les déchets, cette durée peut être notablement accrue (jusqu'à plusieurs mois).
- Température : 25-30°C si on utilise des micro-organismes mésophiles (cas général).
- Aération : Nécessaire pour les essais aérobies, elle est obtenue par agitation ou insufflation d'air dans les essais en milieu liquide, ou par contact avec l'air dans les autres cas. Les essais de biodégradation anaérobie doivent, eux, être conduits en l'absence totale d'oxygène (anaérobie stricte), ce qui fait préférer les tests en milieu noyé d'où l'oxygène dissous est purgé initialement à l'azote.
- Lumière : elle est nécessaire si on travaille avec des micro-organismes phototrophes. Au contraire, l'obscurité est préférée si l'inoculum est constitué de micro-organismes chimiotrophes (cas général) afin d'éviter les phénomènes éventuels de photodégradation. Pour les tests anaérobies, l'obscurité est indispensable car le développement d'algues est à proscrire pour éviter la libération d'oxygène par photosynthèse.
- Humidité relative : au moins 85%,
- pH du milieu : entre 6 et 8 en général. Notons que le déchet testé peut influencer le pH du milieu de culture, ce qui conduit à utiliser des milieux tamponnés ou à contrôler le pH en cours de test.
- Contact matériau/micro-organismes/milieu de culture : Il doit être le meilleur possible si l'on cherche à accélérer les phénomènes pour réduire la durée des tests. Pour les déchets solides, on est conduit souvent à réduire la granulométrie pour augmenter les surfaces de contact. Cependant, les dimensions

des échantillons testés dépendent des déterminations que l'on veut effectuer sur le matériau après la période d'incubation.

#### *e) Composition du milieu de culture*

La vitesse de biodétérioration des déchets dépend, entre autres facteurs, de la disponibilité des nutriments minéraux et de la source de carbone pour les micro-organismes.

- Nutriments minéraux : Dans les tests en milieu liquide ou sur boîte de pétri, le milieu nutritif apporte généralement les nutriments nécessaires aux micro-organismes afin d'accélérer la biodétérioration éventuelle du déchet.

- Source de carbone organique : Dans la plupart des tests, aucun substrat carboné exogène n'est ajouté au milieu. Les micro-organismes hétérotrophes ne peuvent alors satisfaire leur besoin en carbone organique qu'à partir des matériaux testés. Toutefois, l'altération de certains composés requiert la présence d'une source de carbone supplémentaire qui permet d'induire une activité microbienne et rend possible soit une biodétérioration indirecte, soit un métabolisme fortuit des polluants du déchet (phénomène de cométabolisme). Signalons les normes européenne ISO 846-1978 et française NF X 41-514 qui proposent l'exposition des plastiques aux micro-organismes avec ou sans source de carbone supplémentaire dans le milieu.

### **III.4.3.3- Tests de biodégradabilité des matériaux**

#### *a) Présentation générale*

**Globalement, la plupart des procédures concernent l'évaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques.** La biodégradabilité des plastiques a été pendant longtemps évaluée par de simples tests de croissance microbienne à leur surface (Seal & Pankte, 1986). Cependant, la croissance de surface est plus vraisemblablement due à la consommation d'additifs ou de plastifiants par les micro-organisme qu'à une véritable biodégradation du polymère en surface (Itävaara & Vikman, 1995). De nombreux travaux normatifs ont été réalisés ces dernières années sur les matériaux polymères et la mise au point de tests permettant d'évaluer leur biodégradabilité dans différentes conditions environnementales (Sawada, 1998). Le Comité Européen de Normalisation (CEN) a récemment proposé une norme cadre sur les emballages intitulée « *Emballage – Exigences relatives aux emballages valotisables par compostage et biodégradation – Programme et critères d'évaluation de l'acceptation finale des emballages* » (EN 13432.2000). Selon Avella et al (2001), cette norme fournit le cadre de travail d'utilisation de normes internationales « pour établir la déclaration de conformité d'un emballage aux exigences essentielles relatives aux emballages devant être mis sur le marché » selon la Directive du Parlement européen et du Conseil sur les emballages et aux déchets

d'emballages (Directive 94/62/CE). Parmi les tests proposés, nous distinguerons l'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque (ou tests accélérés) et les tests de simulation. En complément citons également la norme EN 13193.2000 « *Emballage – Emballage et environnement – Terminologie* » et la norme EN 13427.2000 « *Emballage et environnement – Exigences relatives à l'utilisation des normes européennes dans le domaine de l'emballage et des déchets d'emballage* ». Il existe également une norme cadre en projet EN xxyyzz sur les plastiques intitulée « *Plastics – Evaluation of compostability – Test scheme for final acceptance and specifications* » qui n'a malheureusement pas pu être consultée. Les normes conseillées par la norme cadre EN 13432.2000 sur les emballages sont des procédures normalisées internationales pour évaluer la biodégradabilité des plastiques dans des conditions aérobies ou anaérobies (voir respectivement le Tableau 42 et Tableau 43) :

**Tableau 42 : Evaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques dans des conditions aérobies.**

Norme	Titre
ISO 14851.1999* (TA)	« <i>Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé</i> »
ISO 14852.1999* (TA)	« <i>Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par analyse du dioxyde de carbone</i> »
ISO/CD 14854 (TA) Non normalisée	« <i>Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la demande en oxygène et de la production de biomasse et de carbone organique dissous, dans un respiromètre fermé</i> »
ISO 14855.1999* (TS)	« <i>Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime et la désintégration des matière plastiques dans des conditions contrôlées de compostage– Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré</i> »
ISO 14855.1999/DAM 1 (TS)	« <i>Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime et la désintégration des matière plastiques dans des conditions contrôlées de compostage– Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré</i> » « <i>Amendement 1 : Utilisation d'un lite minéral à la place d'un compost nature</i> »
ISO/CD 20200 non normalisée (TS)	« <i>Plastics – Determination of the disintegration of plastic materials under simulated composting condition in a laboratory-scale test</i> »
ISO 14239.1997 (TS)	« <i>Qualité du sol – Méthode de mesure de la minéralisation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies, au moyen d'un systèmes d'incubation de laboratoire</i> »
ISO/DIS2 17556 (TS)	« <i>Plastiques – Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime dans le sol par esure de la demande en oxygène dans un respiromètre ou de la teneur en dioxyde de carbone libéré</i> »
ISO/DIS 16929 non normalisée (TS)	« <i>Plastiques – Détermination de la désintégration des matériaux plastiques dans des conditions de compostage définies lors d'un essai à l'échelle pilote</i> »

\* Normes citées dans la norme cadre EN 13432.2000.

(TA) Tests accélérés (évaluation de la **biodégradabilité intrinsèque**),

(TS) Tests de simulation (évaluation de la **biodégradabilité en scénario**).

**Tableau 43 : Evaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques dans des conditions anaérobies.**

Norme	Titre
ISO 11734.1995* (TA) (EN ISO 11734.1998)	« <i>Qualité de l'eau – Evaluation de la biodegradabilité anaérobie « ultime » des composés organiques dans les boues de digesteurs</i> »
ISO 14853.1999* (TA)	« <i>Evaluation de la biodégradabilité anaérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la production de biogaz</i> »
ISO/DIS 15985* (TS)	« <i>Plastiques – Evaluation de la biodégradabilité anaérobie ultime et de la désintégration dans des conditions de digestion anaérobie à teneur élevée en solides – Méthode par analyse du biogaz libéré</i> »

\* Normes citées dans la norme cadre EN 13432.2000.

(TA) Tests accélérés (évaluation de la **biodégradabilité intrinsèque**),

(TS) Tests de simulation (évaluation de la **biodégradabilité en scénario**).

b) *Tests accélérés d'évaluation de la biodégradabilité des matériaux*

Parmi ces tests de biodégradabilité des polymères, on trouve des tests accélérés (TA) d'évaluation de la biodégradabilité facile qui sont effectués en milieu aquatique (phase aqueuse) en conditions aérobies ou anaérobies (Itävaara & Vikman, 1996). Ils constituent des tests préliminaires (ou tests de screening) simples et utiles à effectuer avant de se lancer sur des tests plus complexes de simulation (Van der Zee et al, 1994 ; Itävaara & Vikman, 1995). Ils permettent d'évaluer la biodégradabilité des matériaux polymères. Il existe actuellement plusieurs tests standards qui sont très largement inspirés de ceux proposés pour les produits chimiques tels que ceux basés sur la production de CO<sub>2</sub> ou la consommation de l'O<sub>2</sub> en conditions aérobies, et la production et CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub> en conditions anaérobies (lignes directrices de l'OCDE et tests de l'USEPA-OPPTS). Les principales normes nationales ou internationales d'évaluation de la biodégradabilité des matériaux polymères ont été étudiées en détail dans le cadre de la présente étude. Les tableaux suivants présentent leurs principales caractéristiques. Il est conseillé de consulter la norme internationale ISO 10634.1995 qui propose des informations techniques relatives à l'utilisation de composés organiques faiblement solubles dans l'eau destinés à être utilisés dans le cadre d'essais de biodégradation aquatiques.

Tests en conditions aérobies

**Tableau 44 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par suivi de la production du dioxyde de carbone (biodégradation ultime).**

Normes et procédures internationales similaires	- Norme internationale ISO 14852 (1999), - Inspirée de la procédure OCDE 301B (Sturm modifié), - Norme américaine ASTM D5209-92.
<b>Principe</b>	<i>Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse du dioxyde de carbone.</i> - Essais en phase aqueuse, - Aération par passage d'air exempt de CO <sub>2</sub> , - Piégeage du CO <sub>2</sub> dans une base. Dosage du carbonate par titration chimique ou analyseur de carbone inorganique, - En option ; analyse du COD dans le milieu de croissance.
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Composition du matériau, et formule des différentes substances, - Teneur en carbone organique à connaître de préférence pour déterminer le thCO <sub>2</sub> .
Substances organiques concernées	Matériaux polymères (matériaux plastiques).
Conditions expérimentales	- Milieu liquide nutritif aqueux sans source de carbone organique, - [Matériau d'essai] de 100 à 2000 mg.l <sup>-1</sup> de COT (unique source de C.O.), - Matériau de référence : cellulose ou poly-β-hydroxybutyrate, - Inoculum : boue activée, suspensions de compost ou de sol bioactives, - Aération de 30 à 100 mL.min <sup>-1</sup> , avec air exempt de CO <sub>2</sub> pendant toute la durée de l'essai (piégeage avec KOH ou NaOH), - Durée d'incubation : 6 mois maximum, - Obscurité, - Température : 23 ± 2°C - Suivi du CO <sub>2</sub> produit : piégeage dans NaOH et analyse du carbone inorganique dissous (CID)
Appareillage particulier	- Fioles en verre pouvant être purgées par un gaz et secouées ou agitées et comprenant une tubulure étanche au CO <sub>2</sub> . - Appareillage analytique pour la détermination du CO <sub>2</sub> : analyseur de CO <sub>2</sub> (IR) ou CID ou dispositif de dosage titrimétrique (hydroxyde de baryum) après absorption complète dans une solution basique.

**Tableau 45 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé.**

Normes et procédures internationales similaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Norme internationale ISO 14851 (1999),</li> <li>- Norme internationale ISO/CD 14854 (1995) non normalisée (projet de norme),</li> <li>- Inspirée de la procédure OCDE 301F.</li> </ul>
Principe	<p><i>Suivi de la biodégradation du substrat par évaluation de la consommation d'oxygène (DBO) : mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour maintenir un volume de gaz constant dans le respiromètre,</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Essais en phase aqueuse,</li> <li>- Flacons fermés (respiromètre).</li> </ul>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Composition du matériau, et formule des différentes substances,</li> <li>- Teneur en carbone organique à connaître de préférence pour déterminer le DthO.</li> <li>- Attention à la nitrification.</li> </ul>
Substances organiques concernées	Matériaux polymères (matériaux plastiques).
Conditions expérimentales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Milieu liquide nutritif aqueux sans source de carbone organique,</li> <li>- [Matériau d'essai] de 100 à 2000 mg.l<sup>-1</sup> de COT (unique source de C.O.),</li> <li>- Matériau de référence : cellulose ou poly-β-hydroxybutyrate,</li> <li>- Inoculum : boue activée, suspensions de compost ou de sol bioactives,</li> <li>- Aération de 30 à 100 mL.min<sup>-1</sup>, avec air exempt de CO<sub>2</sub> pendant toute la durée de l'essai (piégeage avec KOH ou NaOH),</li> <li>- Durée d'incubation : 6 mois maximum,</li> <li>- Obscurité,</li> <li>- Température : 23 ± 2°C</li> <li>- Suivi de la consommation d'oxygène (DBO).</li> </ul>
Appareillage particulier	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Respiromètre fermé. De préférence respiromètre automatique approprié (Oxymètre® ou Sapromat® par exemple) avec agitateurs incorporés,</li> <li>- Appareillage analytique pour la mesure du COT et du COD,</li> <li>- Appareillage analytique de mesure du nitrate et du nitrite.</li> </ul>

Les procédures ISO 14851.1999 et ISO.14582.1999 d'évaluation de la biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques en milieu aqueux sont basées sur les tests standards de biodégradation des composés organiques ISO 9408.1999 et ISO 9439.1999 mis au point depuis quelques années déjà. Ces tests sur les plastiques se distinguent par la durée d'incubation, le pouvoir tampon du milieu nutritif plus élevé, l'optimisation de l'inoculum et la possibilité dans certains cas d'effectuer un bilan matière du carbone (Pagga et al, 2001).

## Tests en conditions anaérobies

Il n'existe actuellement à notre connaissance aucun test normalisé d'évaluation de la biodégradabilité anaérobie pour les matériaux plastiques. La norme européenne cadre EN 13432 conseille l'utilisation de la procédure internationale ISO 14853 ;1999 présentés dans le Tableau 46 ci-dessous :

**Tableau 46 : Evaluation de la biodégradabilité anaérobie des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la production de biogaz (biodégradation ultime).**

Normes et procédures internationales similaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Norme internationale ISO 14853.1999,</li> <li>- Inspirée de la norme internationale ISO 11734.1995,</li> <li>- Norme américaine ASTM D5210-92.</li> </ul>
<b>Principe</b>	<p><i>Biodégradation de matériaux plastiques en conditions anaérobies.</i></p> <p><i>- Mesure de la production de biogaz (CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub>).</i></p>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Composition du matériau, et formule des différentes substances,</li> <li>- Teneur en carbone organique à connaître de préférence pour déterminer le thCO<sub>2</sub>.</li> </ul>
Substances organiques concernées	Matériaux polymères (matériaux plastiques).
Conditions expérimentales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Milieu liquide nutritif aqueux sans source de carbone organique,</li> <li>- [Matériau d'essai] de 20 à 200 mg.l<sup>-1</sup> de COT (unique source de C.O.) sous forme de poudre si possible,</li> <li>- Matériau de référence : cellulose ou poly-β-hydroxybutyrate ou polyéthylène-glycol 400,</li> <li>- Essais de contrôle d'inhibition facultatif,</li> <li>- Inoculum : boue digérée lavée d'un digesteur d'une STEP d'eaux domestiques. Faible quantité de carbone inorganique (CI). Si nécessaire, dilution pour une concentration en matière solide de 1 à 3 g.L<sup>-1</sup>.</li> <li>- Prédigestion de la boue avant mise en route des essais : jusqu'à 7 jours à 35 ± 2°C,</li> <li>- Durée d'incubation : jusqu'à 60 jours de préférence ou 90 jours maximum,</li> <li>- Obscurité,</li> <li>- Température : 35 ± 2°C,</li> <li>- Suivi du biogaz produit,</li> <li>- Analyse du carbone inorganique CI : prélèvement au début et en fin de période d'essai.</li> </ul>
Appareillage particulier	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Récipients en verre résistant à la pression, d'une taille nominale comprise entre 0,1 et 1 L, et équipé d'un septum étanche au gaz pouvant résister à environ 2000 hPa. Le volume d'espace de tête de 10 à 30% du volume total,</li> <li>- Appareillage analytique pour la détermination du CI sur un échelle de 1 à 200 mg.L<sup>-1</sup>,</li> <li>- Appareil d'analyse du CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub>,</li> <li>- Ou Appareil de mesure manométrique tel que transducteur de pression ou tout simplement une seringue à gaz de 20 mL.</li> <li>- Manomètre raccordé au flacon avec une aiguille seringue appropriée ou bien vanne 3 voies étanches au gaz pour évacuer la pression en excès,</li> <li>- Ou Mesure du biogaz à l'aide de méthodes volumétriques (réservoir d'expansion).</li> </ul>



*c) Tests de simulation pour l'évaluation de la biodégradabilité des matériaux*

Généralement effectués après l'évaluation de la biodégradabilité facile en phase aqueuse, les tests de simulation ont pour objectif de reproduire le plus fidèlement possible le scénario d'utilisation ou du devenir en fin de vie du matériau ou d'étudier l'influence de certains facteurs du scénario. Dans le cas des déchets, on peut distinguer plusieurs scénarios possibles :

- **Scénario 1 : Utilisation ou valorisation du matériau dans le domaine de la construction et des travaux publics : ce scénario regroupe en fait un ensemble de scénarios très variés.**
- **Scénario 2 : Station d'épuration des eaux usées avec traitement biologique aérobie,**
- **Scénario 3 : Traitement biologique anaérobie (méthanisation),**
- **Scénario 4 : Compostage,**
- **Scénario 5 : Epandage,**
- **Scénario 6 : Mise en décharge d'ordures ménagères (classe II),**
- **Scénario 7 : Mise en décharge de déchets industriels spéciaux (classe I).**

Nous avons effectué une recherche bibliographique concernant principalement les matières plastiques et les tests normalisés ou non d'évaluation de leur biodégradabilité suivant les principaux scénarios définis précédemment.

### Scénario 1 : Utilisation comme matériau de substitution en BTP

Le scénario est en fait un ensemble de scénarios très divers. En effet, le contact avec l'environnement sera très différent dans le cas d'un soubassement routier, d'un canal, ou d'un mur. Qu'il s'agisse de polymères plastiques, de peinture ou de déchets, la filière « valorisation dans le domaine de la construction » nécessite de tenir compte du caractère bioévolutif éventuel des matériaux susceptibles d'être exposés aux agressions des agents microbiens. Il est donc nécessaire de définir l'environnement du déchet en fonction du scénario. Nous pouvons définir plusieurs cas différents selon la nature de l'environnement considéré :

- Matériau au contact du sol : dans ce cas, se référer au scénario 5 « épandage » et aux procédures existantes d'évaluation de la biodégradabilité des matériaux dans les sols.

- Matériau au contact de l'eau : Il s'agit ici d'évaluer la biodégradabilité du matériau dans un milieu aqueux en conditions aérobies ou anaérobies. Pour cela, il est conseillé d'utiliser les procédures normalisées présentées dans le Tableau 42 et le Tableau 43 et de les adapter, si nécessaire, aux conditions environnementales définies par le scénario. En outre, il est nécessaire d'effectuer les essais sur des durées plus importantes que celles préconisées dans les procédures normalisées d'évaluation de la biodégradabilité facile en milieu aqueux.

- Matériaux au contact de l'air : Il existe à notre connaissance principalement deux tests normalisés de simulation en chambre climatique à atmosphère contrôlée (Norme américaine ASTM D3273 et norme française NF 41-520) pour évaluer la **résistance** des peintures et leur pouvoir de protection vis à vis des agressions fongiques. Il s'agit de tests qualitatifs basés sur l'observation de la colonisation des surfaces par les champignons. Les principales caractéristiques des deux tests normalisés sont présentées dans le Tableau 47. Ces essais sont généralement effectués en complément de tests d'évaluation des agressions microbiennes sur boîte de Pétri. Nous citerons également la norme ISO 846.1997 non consultée et intitulée « *Plastics : Determination of behavior under the action of fungus and bacteria* » (qui n'a malheureusement pas pu être consultée).

**Tableau 47 : Procédures normalisées d'évaluation de la résistance des peintures aux agressions fongiques en chambre sous atmosphère humide contrôlée (95°C).**

Norme	Titre	Inoculum	Ensemencement	Température (°C)	Durée (jour)
ASTM D3273	Resistance to growth of mould on the surface of interior coating in an environmental chamber	Suspension de spore de champignon (5 souches pures)	Non	?	?
NF 41-520	Protection – Méthode d'essai de résistance des peintures et de leur pouvoir de protection	Au fond de la chambre, terreau et feuilles en décomposition + suspension de spores de 10 espèces fongiques	Pulvérisation de la suspension de spores, au moment de la première mise en service de la chambre	30	De 1 à 6 mois

Ces tests sont parfaitement adaptables à la problématique déchets solides massifs tels que par exemple les déchets contenant une fraction organique et stabilisés par des liants hydrauliques (Bayard, 1993).

### Scénario 2 : Station d'épuration des eaux usées avec traitement biologique aérobie

Il s'agit ici de comprendre le devenir de certains déchets (les normes existent pour les polymères plastiques) en phase aqueuse en présence de micro-organismes présents dans les effluents et les boues de stations d'épuration des eaux usées domestiques. L'évaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques peut s'effectuer par l'utilisation des normes d'évaluation de la biodégradabilité aérobie en milieu aquatique. Nous ne reviendrons pas sur ces tests qui ont déjà été présentés dans le Tableau 42. Cependant, nous présentons dans le Tableau 48 la norme américaine ASTM D 5271-93 intitulée « *Standard Test Method for Determining the Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in an Activated-Sludge-Wastewater-Treatment System* » qui permet d'évaluer la biodégradabilité des matériaux plastiques dans le scénario « traitement des eaux ». Cette norme est en partie basée sur la norme américaine ASTM D5209-92 intitulée « *Test Method for Determining the Aerobic Biodegradation of Plastics Materials in the Presence of Municipal Sewer Sludge* ».

**Tableau 48 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques dans une boue activée de station d'épuration d'eaux usées domestiques.**

Norme :	- Norme américaine ASTM D 5271 – 93, - Norme internationale ISO 14851 (1999).
Principe	<i>Suivi de la biodégradation du matériau plastique par évaluation de la consommation d'oxygène : mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour maintenir un volume de gaz constant dans le respiromètre,</i> - Essais en phase aqueuse, - Flacons fermés (respiromètre).
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	- Composition du matériau, et formule des différentes substances, - Teneur en carbone organique à connaître. - Attention à la nitrification.
Substances organiques concernées	Matériaux polymères (matériaux plastiques).
Conditions expérimentales	- Milieu liquide nutritif aqueux sans source de carbone organique, - [Matériau d'essai] de < 500 mg.l <sup>-1</sup> de COT (unique source de C.O.), - Inoculum : boue activée, - Aération de 30 à 100 mL.min <sup>-1</sup> , avec air exempt de CO <sub>2</sub> pendant toute la durée de l'essai (piégeage avec KOH ou NaOH), - Durée d'incubation : 4 à 6 semaines minimum, - Obscurité, - Température : 23 ± 2°C - Suivi de la consommation d'oxygène (DBO).
Appareillage particulier	- Respiromètre fermé avec agitateurs incorporés (1200 mL avec 1000 mL de milieu), - De préférence respiromètre automatique approprié (Oxymètre® ou Sapromat® par exemple) : mesure de la demande en oxygène et maintien de la teneur en oxygène dans le milieu, - Appareillage analytique pour la mesure du COD.

En fait, la procédure américaine est pratiquement identique à la procédure internationale ISO 14851 (1999) intitulée « Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé » précédemment décrite dans le tableau 45.

### Scénario 3 : Traitement biologique anaérobie (méthanisation)

L'objectif est de comprendre le devenir des déchets dans un digesteur anaérobie. D'après le groupe de travail européen CEN TC 249 WG 8 « *Characterization of degradability* », l'évaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques peut s'effectuer d'une part par l'utilisation des normes d'évaluation de la biodégradabilité anaérobie en milieux aquatiques (ISO 11734.1995 et ISO 14853.1999) mais également par la norme ISO/DIS 15985.1999 encore actuellement en projet et intitulée « *Plastiques – Evaluation de la biodégradabilité anaérobie ultime et de la désintégration dans des conditions de digestion anaérobie à teneur élevée en solides – Méthode par analyse du biogaz libéré* » qui s'apparente à un test de simulation du comportement des matériaux plastiques dans un digesteur. Signalons qu'il existe également une norme américaine ASTM D5511-94 intitulée « *Standard Test Method for determining Aerobic Biodegradation of Plastics Materials under High-Solids Anaerobic-Digestion Conditions* ». Cette norme, qui n'a malheureusement pas pu être consultée, a été utilisée pour l'élaboration de la norme internationale ISO/DIS 15985 (Sawada, 1998) présentée dans le Tableau 49.

**Tableau 49 : Plastiques - Evaluation de la biodégradabilité anaérobie ou de la désintégration dans des conditions de digestion anaérobie à teneur élevée en solides – Méthode par analyse du biogaz libéré pour le suivi de la biodégradation anaérobie ultime.**

Normes et procédures internationales similaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Norme internationale ISO/DIS 15985</b>,</li> <li>- Inspirée des normes internationales ISO 11734.1995 et ISO 14853.1999 et inspiré de la norme américaine ASTM D5210-92,</li> <li>- Norme américaine ASTM D5511-94,</li> <li>- Norme américaine ASTM D5526-94.</li> </ul>
<b>Principe</b>	<i>Simulation optimisée d'un processus de digestion anaérobie intensif et évaluation de la Biodégradabilité ultime et de la désintégration de matériaux plastiques. Mesure du biogaz (CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub>) produit.</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	COT du matériau afin d'estimer la quantité maximale de biogaz susceptible d'être produit par le matériau.
Substances organiques concernées	Matériaux polymères (matériaux plastiques).
Conditions expérimentales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- [Matériau d'essai] : 20 g de matière sèches totales contenant 8 g de COT par digesteur, surface maximale de 2cmx2cm,</li> <li>- Matériau de référence : cellulose sous la forme de particules de diamètre &lt; 20µm,</li> <li>- Inoculum obtenu à partir d'un digesteur anaérobie fonctionnant convenablement avec des déchets ménagers prétraités (tri, broyage et tamisage) comme unique substrat (éléments &lt; 60 mm). De préférence utiliser un digesteur fonctionnant dans des conditions sèches (solides totaux &gt; 20%),</li> <li>- Conditionnement de l'inoculum : postfermentation d'environ 7 jours en condition optimale afin de réduire l'effet de la fermentation de l'inoculum lui-même,</li> <li>- Préparer environ 10 kg d'inoculum : 500 g de masse humide dans chaque digesteur,</li> <li>- Caractéristiques finales de l'inoculum recommandées : <ul style="list-style-type: none"> <li>- pH compris entre 7,5 et 8,5,</li> <li>- [AGV] &lt; 1 g.kg<sup>-1</sup> de masse humide,</li> <li>- [NH<sub>4</sub><sup>+</sup>] comprise entre 0,5 et 2 g.kg<sup>-1</sup> de masse humide.</li> </ul> </li> <li>- Durée d'incubation : 15 jours ou plus si nécessaire,</li> <li>- Obscurité ou sous lumière diffuse,</li> <li>- Température : 52 ± 2°C,</li> <li>- Suivi du biogaz produit par mesure volumique,</li> <li>- Fin de période digestion : laisser le montage refroidir, mesure la température ambiante et pression atmosphérique,</li> <li>- Pour évaluer les pertes en matériau : peser avant et après incubation,</li> <li>- Désintégration : observations visuelles.</li> </ul>
Appareillage particulier	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Digesteurs : ballons ou fioles coniques munis de raccords étanches pour empêcher toute perte de gaz (volume minimal de 750 mL),</li> <li>- Dispositif d'analyse du biogaz facultatif,</li> <li>- Dispositif d'analyse des acides gras volatils (AGC) facultatif,</li> <li>- Mesure du volume biogaz à l'aide de méthodes volumétriques (réservoir d'expansion ou ou tout simplement une seringue à gaz de 20 mL).</li> </ul>

Il existe également des tests non normalisés développés par de nombreux laboratoires de recherche afin de déterminer la capacité de production de biogaz d'un composé ou d'un mélange de composés organiques tel que le test BMP (Biochemical Methane Potential) développé par Owen et al (1979). D'après Lin et al (1999), ce test est bien adapté pour évaluer l'efficacité d'un procédé de digestion de boues activées. Ce test très proche de la procédure américaine normalisée ASTM D5511-94 peut également être utilisé pour d'autres types de déchets tels que les déchets pétroliers (Stewart et al, 1995) ou les ordures ménagères (Owens & Chynoweth, 1993 ; Wang et al, 1994 ; Chynoweth & Pullammanappallil, 1996).

#### Scénario 4 : Compostage

Le compostage est sans doute l'un des procédés ayant le plus d'avenir pour la réduction de la fraction fermentescible des ordures ménagères (Pagga, 1998). Le groupe de travail du CEN TC 249 WG 9 étudie actuellement la mise en place d'une procédure globale d'évaluation de la **compostabilité** (CEN TC 249 WG 9 Characterization of degradability N29, 2000). Des travaux comparables sont encore actuellement en cours au niveau international par le comité technique sur les plastiques (ISO TC 61) ou au niveau national par l'organisation allemande de standardisation DIN (Pagga, 1998).

Trois caractéristiques importantes des matériaux plastiques doivent être étudiée :

- 1) *Biodégradabilité,*
- 2) *Désintégration au cours du procédé de compostage,*
- 3) *Effet sur le compostage et influence sur la qualité du compost.*

La caractérisation de la « **biodégradabilité** » peut nécessiter l'utilisation d'une part de tests accélérés tels que les essais d'évaluation de la biodégradabilité ultime en phase aqueuse (ISO 14851 et ISO 14852) déjà décrits ou bien des tests de simulation tels que la norme ISO 14855.1999 intitulée « *Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime et la désintégration des matières plastiques dans des conditions contrôlées de compostage– Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré* ». D'après les travaux effectués par Van der Zee et al (1998), ces tests d'évaluation en milieu aqueux ne permettent pas de prédire correctement la biodégradation des matériaux polymères au cours de procédés biologiques de traitement des déchets.

Le test de simulation de compostage ISO 14855.1999 s'est largement inspiré des normes américaines ASTM D 5338-98e1 « *Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastics Materials Under Controlled Composting Conditions* », ASTM D5988-96 « *Standard Test method for Determining Aeobic Biodegradation in Soil of Plastic Material or Residual Material after composting* » et celle de l'institut allemand de normalisation (DIN) DIN 54900 « *Testing of the compostability of polymeric materials* ». Le Tableau 50 présente les caractéristiques de ce test.

**Tableau 50 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie et de la désintégration des matériaux plastiques dans des conditions contrôlées de compostage - Méthode analyse du dioxyde de carbone libéré pour le suivi de la biodégradation aérobie ultime.**

Normes et procédures internationales similaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Norme internationale ISO 14855 1999,</li> <li>- Inspirée de la norme américaine ASTM D5338-98e1 et ASTM D5988-96,</li> <li>- Inspirée de la norme allemande DIN.54900 parts 1-4 (Draft january 1997).</li> <li>- Norme américaine ASTM D6340-98<sup>a</sup>,</li> <li>- Norme américaine ASTM D5988-96<sup>b</sup>.</li> </ul>
<b>Principe</b>	<i>Simulation optimisée d'un processus de compostage (condition aérobie) et évaluation de la Biodégradabilité ultime (mesure du CO<sub>2</sub> libéré) et de la désintégration de matériaux plastiques.</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	COT du matériau afin d'estimer la quantité maximale de CO <sub>2</sub> susceptible d'être produit par le matériau.
Substances organiques concernées	Matériaux polymères (matériaux plastiques).
Conditions expérimentales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- [Matériau d'essai] : 50 g de matière sèches totales contenant 20 g de COT par digesteur, surface maximale de 2cmx2cm,</li> <li>- Matériau de référence : cellulose sous la forme de particule de diamètre &lt; 20µm,</li> <li>- Inoculum : compost stabilisé et mature. Par exemple compost issu du compostage de la fraction organiques des déchets municipaux solides de 2 à 4 mois,</li> <li>- Conditions optimales d'incubation : <ul style="list-style-type: none"> <li>- pH compris entre 7 et 9,</li> <li>- Température :</li> <li>- Humidité comprise entre 45 et 50%</li> </ul> </li> <li>- Durée d'incubation : 6 mois maximum,</li> <li>- Obscurité ou sous lumière diffuse,</li> <li>- Température constante de 52 ± 2°C,</li> <li>- Témoins : essai compost sans matériau plastique,</li> <li>- Suivi en continu du CO<sub>2</sub> produit.</li> </ul>
Appareillage particulier	- Analyse directe du CO <sub>2</sub> avec détecteur IR ou bien analyse du CO <sub>2</sub> piégé dans NaOH par dosage du carbone organique dissous (CID).

*a Norme ASTM D6340-98 « Standard Test Methods for Determining Aerobic Biodegradation of Radiolabeled Plastic Materials in an Aqueous or Compost Environment » non consultée.*

*b Norme ASTM D5988-96 « Standard Test method for Determining Aeobic Biodegradation in Soil of Plastic Material or Residual Material after composting ».*

La détermination de la **désintégration** (transformation d'un matériau en fragments de plus petite taille) peut être faite expérimentalement avec le test normalisé ISO 16929 « *Plastiques – Détermination de la désintégration des matériaux plastiques dans des conditions de compostage définies lors d'un essai à l'échelle pilote* ». Ce test qui ne permet pas de différencier la désintégration et la biodégradation a été spécialement conçu pour des essais pilotes dans des conditions de compostage définies et normalisées. En fin d'incubation, la maturité du compost peut être évaluer suivant la quotation Rottegrad basée sur la mesure de température maximale dans un essai d'auto-échauffement utilisant des vases de Dewar. La désintégration du matériau plastique est déterminée par tamisage du compost final (tamis de 2 et 10 mm) et pesée des particules plastiques de diamètre supérieure à 2 mm.

La qualité du compost est généralement basée sur plusieurs critères tels que la présence de micro-organismes pathogènes, et les effets écotoxicologiques des produits de biodégradation et de désintégration des plastiques. Le document CEN TC 249 WG 9 N29 (2000) conseille pour ce dernier critère d'utiliser le test d'écotoxicité sur plantes supérieures proposé dans les lignes directrices de l'OCDE (OCDE 208) avec quelques aménagements. Nous rappelons qu'il n'existe pas à notre connaissance de normes sur la qualité écotoxicologique du compost.

## Scénario 5 : Epandage

Le groupe de travail du CEN TC 249 WG 9 « *characterization of degradation* » a également étudié la mise en place d'une procédure globale d'évaluation de la dégradabilité des matériaux plastiques dans les sols (CEN TC 249 WG 9 N39, *Characterization of bio(?)degradability in soil*, 2001). Il préconise d'utiliser de préférence la norme internationale actuellement en projet ISO/DIS(2) 17566 « *Plastiques – Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime dans le sol par mesure de la demande en oxygène dans un respiromètre ou de la teneur en dioxyde de carbone libéré* » ou bien, si nécessaire, la norme internationale ISO 14239.1997 « *Qualité du sol – Méthode de mesure de la minéralisation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies, au moyen d'un système d'incubation de laboratoire* ». Deux caractéristiques importantes des matériaux plastiques doivent être étudiée d'après le CEN TC 249 WG 9 :

1) *Biodégradabilité*,

2) *Effet des produits de biodégradation sur les qualités du sol (écotoxicité en particulier)*.

Le Tableau 51 donne les principales caractéristiques de la norme ISO/DIS(2).17566 inspirée de la norme américaine ASTM D5988-96 « *Standard Test method for Determining Aeoic Biodegradation in Soil of Plastic Material or Residual Material after composting* » développée pour évaluer la biodégradabilité des matériaux plastiques exposés aux sols. La biodégradabilité des matériaux plastiques dans les sols ne peut pas être prédite à partir des résultats obtenus par des essais en milieu aqueux (Yakabe et al, 1992) étant donné la complexité d'un tel écosystème (Domergues et Mangenot, 1970).

**Tableau 51 : Plastiques – Détermination de la biodégradabilité aérobie dans le sol par mesure de la demande en oxygène dans un respiromètre ou de la production de dioxyde de carbone libéré (biodégradabilité aérobie ultime).**

Normes et procédures internationales similaires	- <b>Norme internationale ISO/DIS.17556.2</b> , - Normes internationales ISO 14239.1997 et ISO 11266.1999, - Norme américaine ASTM D5988-96.
Principe	<i>Simulation optimisée d'enfouissement dans un sol (condition aérobie) et évaluation de la Biodégradabilité ultime et de la désintégration de matériaux plastiques : Mesure de la quantité de CO<sub>2</sub> libéré ou bien la consommation d'O<sub>2</sub> (demande en oxygène ou DBO).</i>
Conditions restrictives de l'utilisation de la méthode	COT du matériau afin d'estimer la quantité maximale de CO <sub>2</sub> libéré ou la consommation d'O <sub>2</sub> (DBO).
Substances organiques concernées	Matériaux polymères (matériaux plastiques).
Conditions expérimentales	- [Matériau d'essai] : 50 g de matière sèches totales contenant 20 g de COT par digesteur, surface maximale de 2cmx2cm, - Matériau de référence : cellulose ou poly-β-hydroxybutyrate), - Inoculum : pas d'inoculum, - Sol : - pH compris entre 4 et 8, - Teneur en argile : 5-25%, - TOC : 1 à 4%, - CEC : supérieure à 10 méq/100g, - Prélèvement selon la norme NF ISO 10381-6, - Conservation : 5°C, - Humidité : 40 à 60% de la capacité de rétention en eau, - Biomasse du sol : entre 10 <sup>7</sup> et 10 <sup>9</sup> μorganismes/g de sol sec, - Pré-incubation du sol : 2 jours entre 20 et 24°C, - Durée d'incubation : 6 mois maximum, - Obscurité ou sous lumière diffuse, - Température constante de 20 à 25°C ± 1°C, - Suivi en continu du CO <sub>2</sub> produit ou O <sub>2</sub> consommé.
Appareillage particulier	- Suivi de O <sub>2</sub> : utilisation respiromètres automatisés permettant de suivre automatiquement la consommation d'O <sub>2</sub> et produire par électrolyse l'O <sub>2</sub> nécessaire pour compenser (Sapromat®, Oxymètre® etc.) ou bien, - Suivi de CO <sub>2</sub> : Analyse directe du CO <sub>2</sub> avec détecteur IR ou bien analyse du CO <sub>2</sub> piégé dans NaOH par dosage du carbone organique dissous (CID) (titrimétrie ou analyseur de CID).

### Scénario 6 : Mise en décharge d'ordures ménagères (classe II)

Il n'existe pas à notre connaissance de norme internationale d'évaluation de la biodégradation correspondant spécifiquement au scénario de mise en décharge d'ordures ménagères. Dans le cas du scénario de mise en décharge, il s'agit surtout d'évaluer la biodégradabilité des matériaux ou des déchets en conditions anaérobies ou microaérobie (ou anoxie) qui prédominent dans les décharges d'ordures ménagères (Barlaz, 1996). La norme américaine D 5529-94 intitulée « *Standard Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials under Accelerated Landfill Conditions* » propose un test de simulation du comportement des matériaux plastiques en conditions d'enfouissement dans les décharges. En fait, il s'agit d'une procédure pratiquement identique à celle décrite dans le Tableau 49 sur l'évaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques au cours d'un procédé de digestion anaérobie. De nombreux essais pilotes à l'échelle du laboratoire ont été réalisés pour étudier la biodégradation des matériaux plastiques et des déchets en conditions simulées de mise en décharge (Barlaz, 1996 ; Pettigrew & Johnson, 1996 ; Robles, 1999 ; Robles et Gourdon, 1999 ; Robles et Gourdon, 2000).

### Scénario 7 : Mise en décharge de déchets industriels spéciaux (classe I)

Actuellement, il n'existe pas d'outils d'évaluation de l'évolution biologique des déchets stabilisés/solidifiés par des liants hydrauliques susceptibles d'être utilisés dans le cas d'un scénario de stockage en décharge de classe I. L'effet de facteurs biologiques sur les qualités des solidifiats n'est donc pour l'instant pas pris en compte. Toutefois, la mise au point de telles procédures pourraient s'inspirer des procédures *classiques* de lixiviation sur déchets bruts ou broyés en tenant compte du facteur temps et des facteurs biologiques susceptibles soit de modifier les caractéristiques physico-chimiques de la matrice (effet direct), soit de modifier l'environnement chimique de la matrice (effet indirect). Ces procédures permettraient dans un premier temps d'évaluer le potentiel d'évolution biologiques des déchets stabilisés/solidifiés et de réfléchir sur la mise au point d'une procédure tenant compte non seulement des propriétés physico-chimiques particulière de tels déchets mais aussi du scénario de stockage en décharge de classe I.



## Conclusions et perspectives de l'étude

L'étude avait pour objectif de fournir les informations nécessaires à la définition et l'emploi des termes liés à la notion de biodégradabilité des déchets solides ou semi-solides contenant une fraction significative de matière organique. Elle est justifiée par l'essor depuis quelques années de la notion de déchets biodégradables/fermentescibles florissant dans les tests réglementaires concernant la gestion et le traitement des déchets. Actuellement, il n'existe pas de définition précise des termes « biodégradable », « fermentescible », « compostable », « méthanisable » et des procédures d'évaluation correspondantes. Le problème n'est pas simple à résoudre car il est possible de distinguer deux niveaux de définition :

- le niveau scientifique : La définition des termes sur une base scientifique est généralement liée à la compréhension des métabolismes biologiques complexes étudiés à l'échelle moléculaire. Ce niveau conduit à la mise au point de procédures universelles standardisées d'évaluation de la « biodégradabilité » de substances ou de matériaux dans différentes conditions d'incubation et qui peuvent, si nécessaire et dans la mesure du possible, être utilisables pour les déchets organiques solides ou semi-solides.
- le niveau technique : Elle considère les filières de traitement biologique des déchets organiques. Il est nécessaire de définir certains termes en relation avec le procédé lui-même tels que le « compostage » et la « méthanisation » et/ou d'envisager des procédures d'évaluation différentes. Cette démarche peut également conduire à la mise au point de procédures standardisées d'évaluation de la capacité des déchets organiques à être traités par voie biologique.

L'ambiguïté des textes réglementaires sur la gestion et le stockage des déchets repose sur l'utilisation des termes liés à la notion de potentiel de biodégradation sans définition précise (soit à l'échelle procédé, soit à l'échelle scientifique) et sans recours à des procédures recommandées (voire normalisées) d'évaluation de la biodégradabilité des déchets dans le cadre précis de scénarios de gestion et de traitement des déchets.

Notre étude a donc consisté tout d'abord à :

- fournir les informations de base en biochimie et microbiologie permettant de donner une définition scientifique générale de la « biodégradation » de la matière organique et des termes associés,
- Préciser dans quels domaines de gestion et de traitement des déchets organiques intervient cette notion de biodégradation.

Nous avons proposé une liste de définitions scientifiques et techniques des termes liés à la notion de biodégradation et une liste de procédures d'évaluation de la biodégradabilité.

En outre, nous avons établi une première liste non exhaustive de scénarios concernés par la notion de biodégradabilité pour lesquels nous avons ébauché quelques pistes d'utilisation de tests d'évaluation de la biodégradabilité en scénario.

En conclusion et au regard du travail déjà réalisé dans le cadre de ce contrat RECORD 00-0118/1A, il nous apparaît utile de poursuivre l'étude en privilégiant l'approche scénario pour la mise au point d'une méthodologie globale permettant la sélection et la hiérarchisation des tests d'évaluation de la biodégradabilité adaptée au domaine de la gestion et du traitement des déchets organiques solides ou semi-solides :

L'approche serait divisée en 6 étapes :

- 1- Définition des principaux scénarios de gestion et de traitement des déchets,
- 2- Sélection de certaines procédures existantes d'évaluation de la biodégradabilité et adaptation de ces procédures à l'évaluation dans les principaux scénarios de gestion et traitement des déchets,
- 3- Hiérarchisation des procédures pour chaque scénario,
- 4- Mise au point si nécessaire de nouvelles procédures d'évaluation de la biodégradabilité en scénario,
- 5- Validation des tests sur deux déchets organiques en fonction des scénarios de gestion et de traitement possibles :
  - *Tests d'évaluation de la **biodégradabilité facile**,*
  - *Tests d'évaluation de la **biodégradabilité intrinsèque**,*
  - *Tests de simulation tenant compte des conditions du scénario pour l'évaluation de la **biodégradabilité en scénario**.*
- 6- Elaboration de la méthodologie globale de sélection des tests pour un déchet donné en fonction des scénarios de gestion et de traitement possibles.

## Liste des figures

Figure 1 : Schéma général d'une bactérie. ....	13
Figure 2 : Schéma de la structure filamenteuse des moisissures. ....	14
Figure 3 : Schéma d'une cellule de levure, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ....	15
Figure 4: Courbe de croissance d'une culture bactérienne ....	17
Figure 5 : Métabolisme énergétique. ....	24
Figure 6 : Principe général des réactions d'oxydo-réduction. ....	25
Figure 7 : Chaîne de transport électronique. ....	26
Figure 8 : Hydrolyse des polymères organiques. ....	31
Figure 9 : Les principales voies cataboliques. ....	33
Figure 10 : Processus d'humification de la matière organique dans les sols (Dauthuille, 1982). ....	35
Figure 11. Modèle de structure des acides humiques proposé par Stevenson (1982). ....	36
Figure 12 : Modèle de structure des acides fulviques proposé par Schnitzer et Khan (1972). ....	36
Figure 13 : Taux de biodégradation des composants de la biomasse végétale dans les sols et litières (d'après Mustin, 1987).....	39
Figure 14 : Composition des ordures ménagères Françaises en 1960 et 1993. ....	44
Figure 15 : Production moyenne d'ordures ménagères en France, pour l'année 1993 (en masse humide produite par habitant et par an) (ADEME, 1998). ....	44
Figure 16 : Schéma d'un centre de traitement des eaux usées. Origine des boues. ....	47
Figure 17 : Principe du compostage. ....	54
Figure 18 : Les deux étapes de transformation de la matière organique. ....	54
Figure 19 : Evolution de la microflore au cours de compostage. ....	56
Figure 20 : Courbe de variation de pH au cours du compostage. ....	59
Figure 21 : Les 4 étapes de la méthanisation (d'après Gourdon, 1987). ....	61
Figure 22 : Schéma global de la biodétérioration directe d'un déchet contenant de la matière organique et stabilisé par des liants hydrauliques. ....	73
Figure 23 : Schéma global de la biodétérioration indirecte d'un déchet contenant de la matière organique et stabilisé par des liants hydrauliques. ....	74
Figure 24 : La décharge : réacteur bio-physico-chimique. ....	79

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les aliments constitutifs des micro-organismes.....	16
Tableau 2 :Principales interactions possibles entres différentes populations dans un système donné (d’après Atlas, 1988 ; Alexander, 1994, 1997). .....	18
Tableau 3 : Facteurs physico-chimiques de croissance des micro-organismes.....	19
Tableau 4. Substituants influençant la biodégradabilité des substrats organiques. ....	20
Tableau 5 : Classification physiologique des bactéries en fonction de la température [30].....	21
Tableau 6 : Composition des déchets municipaux (IFEN, 1998).....	43
Tableau 7 : Caractérisation des OM françaises selon la campagne menée par l'ADEME. ....	45
Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques des déchets putrescibles contenus dans les ordures ménagères en 1993 (source ADEME, 1998). ....	45
Tableau 9 : Analyse chimique de la matière organique putrescibles des ordures ménagères. ....	45
Tableau 10 : Rapport C/N et humidité de différents déchets de végétaux (d’après Mustin, 1987).....	46
Tableau 11 : Composition moyenne des boues urbaines fraîches en Europe (d’après Williams, 1998). ....	48
Tableau 12 : Les micro-organismes du compost.....	56
Tableau 13 : Valeurs optimales de compostage de substrats organiques. ....	57
Tableau 14 : Composition en carbone et en azote de différents déchets organiques.....	59
Tableau 15 : Liste des déchets industriels spéciaux à stabiliser (Arrêté du 18 décembre 1992, modifié le 18 février 1994).....	69
Tableau 16 : Définition des principaux termes liés à la notion de dégradation.....	84
Tableau 17 : Définition des principaux termes liés à la notion de biodégradation.....	84
Tableau 18 : Définition des principaux termes liés à la notion de biodégradation dans les traitements biologiques des déchets. ....	85
Tableau 19 : Sites sur Internet sur la biodégradabilité des molécules organiques. ....	87
Tableau 20 : Liste des adresses électroniques des organismes de normalisation consultés. ....	93
Tableau 21 : Liste des adresses électroniques des organismes d’informations consultés. ....	93
Tableau 22 : Classement des normes suivants les conditions du milieu d’exposition. ....	94
Tableau 23 : Classement des normes s’appliquant à un composé donné. ....	95
Tableau 24 : Méthodes d’évaluation de la biodégradabilité facile d’une substance organique. Conditions d’application des tests. (OCDE, 1993).....	99
Tableau 25: Conditions générales et particulières des procédures d’évaluation de la biodégradabilité faciles des substances organiques. ....	100
Tableau 26 : Substances organiques de référence pour l’évaluation de l’activité de l’inoculum dans les essais de biodégradabilité facile.....	101
Tableau 27 : Essai de disparition du COD- Méthode 301A OCDE.....	104
Tableau 28 : Essai de dégagement de CO <sub>2</sub> - Méthode 301B OCDE. (également connu sous le nom de test de Sturm Modifié).....	104
Tableau 29 : Essai du MITI modifié (I) - Méthode 301C OCDE.....	105
Tableau 30 : Essai en flacon fermé - Méthode 301D OCDE. ....	105
Tableau 31 : Essai de « Screening » - Méthode 301E OCDE.....	106
Tableau 32 : Essai de respirométrie manométrique - Méthode 301F OCDE.....	106
Tableau 33 : Détermination de la demande biochimique en oxygène après <i>n</i> jours (DBO <sub>n</sub> ). ....	107
Tableau 34 : Essai de biodégradabilité dite intrinsèque – Méthode SCAS modifiée - Méthode 302A OCDE...	109
Tableau 35 : Essai de biodégradabilité dite intrinsèque – Méthode Zahn-Wellens/EMPA - Méthode 302B OCDE. ....	110

Tableau 36 : Essai de biodégradabilité dite intrinsèque – Essai MITI Modifié (II) - Méthode 302C OCDE. ....	111
Tableau 37 : Test d'évaluation de la biodégradabilité des composés organiques dans les boues de digesteurs..	112
Tableau 38 : Test d'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque des substrats organiques dans les sols ou sédiments et en conditions aérobies. ....	113
Tableau 39 : Test d'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque des substrats organiques dans les sols et en conditions anaérobies. ....	114
Tableau 40 : Test d'évaluation de la biodégradabilité intrinsèque des substrats organiques en conditions anaérobies. ....	115
Tableau 41 : Procédures normalisées d'évaluation de la résistance des matériaux aux agents microbiens en milieu solide (tests en boîte de Petri sur milieu gélosé). ....	119
Tableau 42 : Evaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques dans des conditions aérobies.....	123
Tableau 43 : Evaluation de la biodégradabilité des matériaux plastiques dans des conditions anaérobies.....	123
Tableau 44 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par suivi de la production du dioxyde de carbone (biodégradation ultime). ....	124
Tableau 45 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé.....	125
Tableau 46 : Evaluation de la biodégradabilité anaérobie des matériaux plastiques en milieu aqueux – Méthode par détermination de la production de biogaz (biodégradation ultime).....	126
Tableau 47 : Procédures normalisées d'évaluation de la résistance des peintures aux agressions fongiques en chambre sous atmosphère humide contrôlée (95°C).....	128
Tableau 48 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques dans une boue activée de station d'épuration d'eaux usées domestiques.....	129
Tableau 49 : Plastiques - Evaluation de la biodégradabilité anaérobie ou de la désintégration dans des conditions de digestion anaérobie à teneur élevée en solides – Méthode par analyse du biogaz libéré pour le suivi de la biodégradation anaérobie ultime. ....	130
Tableau 50 : Evaluation de la biodégradabilité aérobie et de la désintégration des matériaux plastiques dans des conditions contrôlées de compostage - Méthode analyse du dioxyde de carbone libéré pour le suivi de la biodégradation aérobie ultime.....	132
Tableau 51 : Plastiques – Détermination de la biodégradabilité aérobie dans le sol par mesure de la demande en oxygène dans un respiromètre ou de la production de dioxyde de carbone libéré (biodégradabilité aérobie ultime).....	133

## Liste des Normes et procédures

Liste de normes sur la biodégradabilité							
(en grisé, les normes encore en projet à la date indiquée)							
N° normes	Date publication	Référence Publication AFNOR	Intitulé	Condition d'application	Nature / Objectif du test	Paramètre d'évaluation	Objet d'application
98/710671 DC	31/07/1998		New European Standart. Packaging. Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation. Test scheme and evaluation criteria for the final acceptance of packaging.		compostage, biodégradation		emballages
ASTM D 5210	01/12/1998		Test method for determining the anaerobic biodegradation of plastic materials in the presence of municipal sewage sludge	aérobie	biodégradabilité	CO2/CH4	plastique
ASTM D 5247	01/07/1992		Test method for determining the aerobic biodegradability of degradable plastic by specific microorganisms	aérobie	biodégradabilité	Mw, MP (molecular weight, mechanical properties)	plastique
ASTM D 5271	01/09/1993		Test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials <i>an activated sludge wastewater treatment system</i>	aérobie	biodégradabilité	O2	plastique
ASTM D 5338	01/08/1999		Test method for determining aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions	aérobie	compostage	CO2	plastique
ASTM D 5509	01/08/1996		Practice for exposing plastics to a simulated compost environment		compostage		plastique
ASTM D 5511	01/04/1994		Test method for determining anaerobic biodegradation of plastic materials under high-solids anaerobic-digestion conditions	anaérobie	biodégradabilité		plastique
ASTM D 5512	01/08/1996		Practice for exposing plastics to a simulated compost environment using an externally heater reactor		compostage		plastique
ASTM D 5526	01/11/1994		Test method for determining anaerobic biodegradation of plastic materials under accelerated landfill conditions	anaérobie	biodégradabilité		plastique
ASTM D 5988	01/09/1996		Test method for determining aerobic biodegradation in soil of plastic materials or residual plastic materials after composting	aérobie	biodégradation dans les sols		plastique
ASTM D 6003	01/02/1997		Test method for determining weight loss from plastic materials exposed to simulated municipal solid waste (MSW) aerobic compost environment		compostage		plastique
ASTM D5209	01/09/1992		Standart Test Method for Determining the Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Presence of Municipal Sewage Sludge	aérobie	biodégradabilité		plastique
ASTM D5210	1992		Standart Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Presence of Municipal Sewage Sludge	anaérobie	biodégradabilité		plastique
ASTM E 1196	01/12/1992		Test method for determining the anaerobic biodegradation potential of organic chemicals	anaérobie			produits chimiques organiques
ASTM D 5929	01/05/1996		Standart test method for determining biodegradability of materials exposed to municipal solid waste composting conditions by compost respirometry		compostage		
ASTM D 5975	01/10/1996		Test method for determining the stability of compost by measuring oxygen consumption		compostage		
ASTM E 1279	1989		Test method for biodegradation by a shake-flask die-away method				
CEN ENV 12920	11/1997	XP ENV 12920 (06/1998) indice de	Caractérisation des déchets. Méthodologie pour la détermination du comportement à la lixiviation d'un déchet dans des conditions spécifiées				

		classement X 30-421					
N° normes	Date publication	Référence Publication AFNOR	Intitulé	Condition d'application	Nature / Objectif du test	Paramètre d'évaluation	Objet d'application
CEN TC 249 WG 9 N 39	28/03/2001		Plastics. Evaluation of (bio?)degradability in soil. Test scheme for final acceptance and specifications				plastique
CEN TC 249 WG 9 N29	10/11/2000		Plastics. Evaluation of compostability. Test scheme for final acceptance and specifications	aérobie	compostage		plastique
CEN TC 249 WG 9 N38			Plastics. Evaluation of anaerobic treatability. Test scheme for final acceptance and specifications	anaérobie			plastique
CEN TC 249 WG 9 N40			Pastics. Terminology in the field of degradable and biodegradable Polymers and Plastics				plastique
CSA Z 218-0 (Canada)	1993		Test method for determining the anaerobic biodegradability of plastic materials	anaérobie	biodégradabilité		plastique
EN 13193	01/05/2000	NF EN 13193 (01/08/2000) indice de classement H 60-000	Emballage. Emballage et environnement. Terminologie				emballages
EN 13427	01/09/2000	NF EN 13427 (01/11/2000) indice de classement H 60-005	Emballage et environnement. Exigences relatives à l'utilisation des normes européennes dans le domaine de l'emballage et des déchets d'emballage				emballages
EN 13432	01/09/2000	NF EN 13432 (01/11/2000) indice de classement H 60-140	Emballage. Exigences relatives aux emballages valorisables par compostage et biodégradation. Programme d'essai et critères d'évaluation de l'acceptation finale des emballages		compostage		emballages
EN ISO 846	01/06/1997	NF EN ISO 846 (01/08/97) indice de classement T 51-022	Plastics. Evaluation of the action of microorganisms				plastique
FD ISO/TR 15462	1997		Qualité de l'eau. Sélection des essais de biodégradabilité		biodégradabilité		
ISO 10707	15/01/1994	NF EN ISO 10707 (01/04/1998) indice de classement T 90-321	Qualité de l'eau. Evaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie "ultime" des composés organiques. Méthode par analyse de la demande biochimique en oxygène (essai en fiole fermée)	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	DBO	composés organiques
ISO 10708:1997	01/01/1997		Qualité de l'eau. Evaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques. Détermination de la demande biochimique en oxygène en fiole fermée à deux phases.	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	DBO	composés organiques
ISO 11733	15/12/1995	NF EN ISO 11733 (01/11/1998)	Qualité de l'eau. Evaluation de l'élimination et de la biodégradabilité des composés organiques en un milieu aqueux. Essai de simulation des boues activées.	milieux aqueux	élimination biodégradabilité		composés organiques
ISO 11734	14/12/1995	NF EN ISO 11734 (01/11/1998)	Qualité de l'eau. Evaluation de la biodégradabilité anaérobie "ultime" des composés organiques dans les boues de digesteurs. Méthode par mesure de la production de biogaz	anaérobie	biodégradabilité ultime	biogaz libéré	composés organiques
ISO 14593:1999	15/03/1999		Qualité de l'eau. Evaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques. Méthode par analyse du carbone inorganique dans les récipients hermétiquement clos (essai au dioxyde de carbone dans l'espace de tête)	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	analyse du carbone inorganique	composés organiques

N° normes	Date publication	Référence Publication AFNOR	Intitulé	Condition d'application	Nature / Objectif du test	Paramètre d'évaluation	Objet d'application
ISO 7827	14/09/1994	NF EN ISO 7827 (01/02/1996) indice de classement T 90-312	Qualité de l'eau. Evaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie "ultime" des composés organiques. Méthode par analyse du carbone organique dissous (COD)	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	analyse COD	composés organiques
ISO 9408	01/08/1999	NF EN ISO 9408 (01/10/1999) indice de classement T 90-309	Qualité de l'eau. Evaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie "ultime" des composés organiques. Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	demande O2	composés organiques
ISO 9439	01/02/1999	NF EN ISO 9439 (01/09/2000) indice de classement T 90-306	Qualité de l'eau. Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime en milieu aqueux des composés organiques. Essai de dégagement de dioxyde de carbone	aérobie milieu aqueux	biodégradation ultime	CO2 émis	composés organiques
ISO 9887	30/11/1992	NF EN ISO 9887 (01/02/1995) indice de classement T 90-314	Qualité de l'eau. Evaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques. Méthode semi-continue par boue activée (Méthode SCAS)	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité	SCAS	composés organiques
ISO 9888	01/06/1999	NF EN ISO 9888 (01/09/1999) indice de classement T 90-316	Qualité de l'eau. Evaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques. Essai statique. Méthode Zahn-Wellens	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité	Zahn-Wellens	composés organiques
ISO/DIS 14592-1			Evaluation de la biodégradabilité aérobie des composés organiques présents en faibles concentrations. Partie 1: essai par agitation de lots de flacons avec des eaux de surface ou des suspensions eaux de surface/sédiments	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité		composés organiques
ISO/DIS 14592-2			Qualité de l'eau. Evaluation de la biodégradabilité aérobie des composés organiques présents en faibles concentrations. Partie 2 : Modèle de cours d'eau à courant continu avec biomasse associée	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité		composés organiques
ISO 10634	15/08/1995	NF EN ISO 10634 (01/01/1995) indice de classement T 90-313	Qualité de l'eau. Lignes directrices pour la préparation et le traitement de composés organiques peu solubles dans l'eau en vue de l'évaluation de leur biodégradabilité en milieu aqueux	milieu aqueux	biodégradabilité		composés organiques peu solubles
ISO 14851	15/05/1999		Détermination de la biodégradabilité ultime des matériaux plastiques dans un milieu aqueux. Méthode par détermination de la demande en oxygène dans une enceinte fermée	milieu aqueux	biodégradabilité ultime	demande O2	plastique
ISO 14852	15/05/1999		Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques dans un milieu aqueux. Méthode par analyse du dioxyde de carbone émis	aérobie milieu aqueux	biodégradation ultime	CO2 émis	plastique
ISO 14855	15/05/1999		Détermination de la biodégradabilité aérobie ultime et désintégration des matières plastiques dans des conditions de compostage contrôlées. Méthode par analyse du dioxyde de carbone émis. Amendement en projet : utilisation d'un lit minéral à la place d'un compost nature	aérobie	biodégradation ultime compostage	CO2 émis	plastique
ISO 15986	(citée dans ISO/DIS 16929)		Plastiques. Evaluation de l'aptitude au compostage. Plan d'essai pour l'acceptation finale	aérobie	compostage		plastique



N° normes	Date publication	Référence Publication AFNOR	Intitulé	Condition d'application	Nature / Objectif du test	Paramètre d'évaluation	Objet d'application
ISO 17556 (DIS 2)			Plastics. Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved	aérobie	biodégradabilité ultime	demande O2 CO2 émis	plastique
ISO/CD 14854	24/03/1995		Plastiques. Evaluation en milieu aqueux de la biodégradation aérobie ultime des matériaux plastiques. Méthode par détermination de la demande en oxygène et de la production de biomasse et carbone organique dissous, dans un respiromètre fermé	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	demande O2, production biomasse, COD	plastique
ISO/CD 20200		02/04/2001	Plastics. Determination of the disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test.		compostage		plastique
ISO/DIS 14853	1999		Plastiques. Evaluation de la biodégradabilité anaérobie ultime en milieu aqueux. Méthode par détermination de la production de biogaz	anaérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	biogaz libéré	plastique
ISO/DIS 15985		NF EN 13193 (01/08/2000) indice de classement H 60-044	Plastiques. Evaluation de la biodégradabilité anaérobie ultime et de la désintégration dans des conditions de digestion anaérobie à teneur élevée en solides. Méthode par analyse du biogaz libéré.	anaérobie	biodégradabilité ultime, désintégration	biogaz libéré	plastique
ISO/DIS 16929			Plastiques. Détermination de la désintégration des matériaux plastiques dans des conditions de compostage définies lors d'un essai à échelle pilote	aérobie	compostage		plastique
ISO 11266	01/10/1994	NF ISO 11266 (01/04/1997) indice de classement X 31-220	Qualité du sol. Lignes directrices relatives aux essais en laboratoire pour la biodégradation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies.	aérobie			produits chimiques organiques dans les sols
ISO 14239	01/06/1997		Qualité du sol. Méthode de mesure de la minéralisation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies, au moyen de systèmes d'incubation de laboratoire	aérobie	minéralisation		produits chimiques organiques dans les sols
ISO/DIS 15473	12/1999		Soil quality. Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under anaerobic conditions	anaérobie			produits chimiques organiques dans les sols
NF EN 14046:2001			Emballage. Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime et de la désintégration des matériaux d'emballage dans des conditions contrôlées de compostage. Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré	aérobie	biodégradabilité ultime, désintégration, compostage	CO2 émis	emballages
NF oct 2000			Qualité du sol. Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime, dans les sols, de composés organiques. Méthode par dosage du dioxyde de carbone dégagé	aérobie	biodégradation ultime	CO2 émis	composés organiques dans les sols
WI 261 074			Evaluation of the disintegration of packaging materials in practical oriented tests under defined composting conditions		compostage		plastique
WI 261 085			Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of packaging materials under controlled composting conditions. Method by analysis of released carbon dioxide		compostage		plastique
	01/08/1977	NF indice de classement T 90-302	Essais des eaux. Méthode d'évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité dite "totale" des produits organiques	milieux aqueux	biodégradabilité totale		composés organiques

N° normes	Date publication	Référence Publication AFNOR	Intitulé	Condition d'application	Nature / Objectif du test	Paramètre d'évaluation	Objet d'application
	01/02/1998	NF indice de classement T 90-309	Qualité de l'eau. Evaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques en milieu aqueux par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé	aérobie milieu aqueux	biodégradabilité ultime	demande O <sub>2</sub>	composés organiques
EN 1899-1		NF EN 1899-1 (01/05/1998) indice de classement T 90-103-1	Qualité de l'eau. Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBOn). Partie 1: méthode par dilution et ensemencement avec apport d'allyl thio-urée	dilué	DBOn		
EN 1899-2	01/03/1998	NF EN 1899-2 (01/05/1998) indice de classement T 90-013-2	Qualité de l'eau. Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBOn). Partie 2: méthode pour les échantillons non dilués	non dilué	DBOn		
ISO 5663	1984	NF EN 25663 (01/01/1994) indice de classement T 90-110	Qualité de l'eau. Dosage de l'azote Kjeldhal. Méthode après minéralisation au sélénium		NK		
ISO 6060	1989	NF (01/02/2001) indice de classement T 90-101	Qualité de l'eau. Détermination de la DCO		DCO		
ISO 8245	01/03/1999		Qualité de l'eau. Guide pour le dosage du carbone organique total (COT)		COT		
XP T 90-318	1995		Essais des eaux. Evaluation en milieu aqueux du carbone organique dissous biodégradable. Méthode par bactéries en suspension		COD		
	1995	NF indice de classement T 90-319	Essais des eaux. Evaluation en milieu aqueux du carbone organique dissous biodégradable (méthode par bactéries fixées)	milieux aqueux	COD		

## Liste des documents réglementaires

Type	Date	Références	Intitulé	JO
Circulaire	22/02/1973		Evacuation et traitement des résidus urbains	20/03/1973
Directive	15/05/1975	n° 75/442/CEE	Déchets	JOCE n° L 194 25/07/75
Loi	15/07/1975	75-633	Elimination des déchets et récupération des matériaux	16/07/1975
Circulaire	18/05/1977		Service d'élimination des déchets des ménages	09/07/1977
Circulaire	15/07/1981		Intervention du Ministère de l'Agriculture et de l'ANRED pour le valorisation des déchets	non publié
Circulaire	17/02/1992	DEPPR/SEJ n°12-22	Installations classées pour la protection de l'environnement - Evolution de la réglementation concernant les décharges de classe II	1
Arrêté	18/12/1992	NOR : ENV P 92 50386 A	Stockage de certains déchets industriels spéciaux ultimes et stabilisés pour les installations nouvelles	30/03/1993
Arrêté	18/12/1992	NOR : ENV P 92 50387 A	Stockage de certains déchets industriels spéciaux ultimes et stabilisés pour les installations existantes	30/03/1993
Loi	02/02/1995	n° 95-101 NOR : ENV X 9400049L	Renforcement de la protection de l'environnement	
Arrêté	09/09/1997	NOR : ATE 97 60348 A	Décharges existantes et nouvelles installations de stockage de déchets ménagers et assimilés	02/10/1997
Avis	11/11/1997	NOR : ATE 97 60427 S	Nomenclature des déchets	11/11/1997
Directive	26/04/1999	n° 1999/31/CE	Mise en décharge des déchets	JOCE n° L 182 16/07/99 JOCE n° L 282 05/11/99
Circulaire	05/01/2000	DPPR/SDPD n° 99- 011	Nomenclature des installations classées, classement des installations de compostage et des points d'apport volontaire de déchets ménagers triés	BO MATE n°2000/3 02/03/2000

## Références bibliographiques

- ADEME, (1998). Déchets municipaux : les chiffres clés. ADEME Ed, Paris. 12 p.
- ADEME, (1999). La composition des ordures ménagères en France, données et références. Première édition, ADEME Ed, Paris. 59 p.
- Alexander, M. (1965). Biodegradation : Problems of Molecular Recalcitrance and Microbial Fallibility. *Adv. appl. Microbiol.* Vol. 7. p. 35-80.
- Alexander, M. (1994) Biodegradation-Bioremediation, Ed. Academic Press, 1994, 302 p.
- Alexander, M. (1997). Microbial Communities & Interactions. In *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, C.J. et al, Eds, ASM Press, 1997.
- Almendros, G. ; Gonzales-Vila, F.J. ; Martin, F. ; Fründ, R. & Lüdemann, H.D. (1992). Solid State NMR Studies of Fire-Induced Changes in the Structure Humic Substances. *Sci. Total Environment*. Vol. 117/118, p. 63-74.
- Almendros, G. ; Dorado, J. ; Gonzalez-Vila, F.J. ; Blanco, M.J. & Lankes, U. (2000). <sup>13</sup>C RMN assessment of Decomposition Patterns during Composting of Forest and Shrub Biomass. *Soil Biology & Biochemistry*. Vol. 32, p. 793-804.
- Association RECORD (1992) Les biotechnologies appliquées au traitement des déchets : Etat de l'art, Etat des connaissances Rapport final et complément du contrat n°91-401/EUR, 1992, 163 p.
- Atlas, R.M. (1988) Principles of microbiology, Ed. Mosby, 1994.
- Avella, M. ; Bonadies, E. Martuscelli, E. & Rimedio, R. (2001). European Current Standardization for Plastics Packaging Recoverable through Composting and Biodegradation. *Polymer Testing*. Vol. 20, p ; 517-521.
- Barlaz, M.A. ; Ham, R.K. & Schaefer, D.M. (1990). Methane Production from Municipal Refuse : A Review of Enhancement Techniques and Microbial Dynamics. *Crit. Rev. Environ. Control*. Vol. 19, p. 557-584.
- Barlaz, M.A. (1996). Microbiology of Solid Waste Landfills. In *Microbiology of Solid Waste*. Palmisano, A.C. & Barlaz, M.A. Eds. CRC Press.
- Barriuso, E. ; Andreux, F. & Portal, J.-M. (1985). Quantification des Acides Humiques et Fulviques d'un Sol Acide de Montagne. Discussion Méthodologique. *Sc. Sol*, 1985, vol. 23 n°1, pp. 23-35.
- Bates et al. (1992). Chemical stabilization of mixed organic and metal compounds : EPA SITE program demonstration of the silicate technology corporation process in Air & waste management association volume 42, n°5. May 1992. p724-728.
- Bayard R. (1993). Evaluation de la biodétérioration des déchets solidifié. Mémoire de DEA : institut national des sciences appliquées de Lyon. 86 p.
- Berthelin, J. (1976). Etude expérimentale des mécanismes d'altération des minéraux par des micro-organismes hétérotrophes. Thèse : Université Nancy I, 198p.
- Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* Vol 37, p. 911-917.
- Bollag, J.-M. (1974). Microbial Transformation of Pesticides. *Adv. Appl. Microbiol.* Vol. 18, p. 75-130.
- Bossert, I.D. & Kosson, D.S. (1997). Methods for Mesuring Hydrocarbon Biodegradatooon in Soils. In *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, C.J. et al, Eds, ASM Press, 1997.
- Brown R.E. et al. (1992). A critical review of the effectiveness of stabilization and solidification of hazardous organic wastes. In: Stabilization and solidification of hazardous, radioactive, and mixed wastes, 2nd volume, ASTM STP 1123, M. Gilliam and C.C. Wiles Eds. 1992, p 43-60.
- Butcher, S.S. ; Charlson, R.J. ; Orians, G.H. & Wolfe, G.V. (1994). Global Geochemical Cycles. Academic Press Limited, San, Diego, CA. 379 p.
- Cabridenc, R. (1993). L'approche de la Biodégradabilité au Laboratoire. Collque SCE ECOTOX. 8-12 mars 1993.
- CEMAGREF-ADEME (1999) Matériaux biodégradables et environnement, Actes du colloque de Paris 5-6 mai 1999, Cemagref Editions, 275 p.
- Cerniglia, C.E. (1992) Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Biodegradation*. vol. 3. p. 351-368.

- Ciferri et al. (2000). Of microbes and art, the role of microbial communities in the degradation and protection of cultural heritage, edited by Orio Ciferri, Piero Tiano and Giorgio Mastomei, 2000, 250 p.
- Chynoweth, D.P. & Pullammanappallil, P. (1996). Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste. In *Microbiology of Solid Waste*. Palmisano, A.C. & Barlaz, M.A. Eds. CRC Press.
- Commission Européenne (2001). Direction Générale de l'Environnement *Traitement biologique des biodéchets – 2° version*, Document de travail DG ENV.A.2., 12 février 2001, 28 p.
- Conner J.R. (1990). Chemical fixation and solidification of hazardous wastes. New York : Van Nostrand Reinhold, 692 p.
- Cullinane, B. (1993) : An evaluation of organic materials that interfere with stabilization / solidification processes chapter 12 of *Petroleum contaminated soils*, Lewis Publishers 1993, p 349-358.
- Dec, J. & Bollag, J. M. (1997). Determination of Covalent and Noncovalent Binding Interactions Between Xenobiotic Chemicals and Soil. *Soil Sci.*, 162, 858-74.
- Desachy, C. (1996). La Production des Déchets. In : *Les déchets : Sensibilisation à une Gestion Ecologique*. AGHTM, Londres, Paris, New York. 90 p.
- Dommergues, Y. & Mangenot, F. (1970). Ecologie microbienne des sols. Paris, Masson. 796 p.
- Duchauffour, P. (1991) *Pédologie : Sol, Végétation, Environnement*. 3<sup>ème</sup> édition. Paris : Masson, 1991, ISBN : 2-225-82421-5, 289 p.
- Eaton et al (1987). Organic interference of solidified / stabilized hazardous wastes in Environmental monitoring and assessment 9, Reidel publishing compagny. p 133-142.
- Eckenfelder, W.W. Jr. (2000). *Industrial Water Pollution Control*. McGraw-Hill International Editions. Environmental Engineering Series, Third Edition. 584 p.
- Ehrig, H.J. (1983). Quality and Quantity of Sanitary Landfill Leachate. *Waste Management and Research*. Vol. 1, p. 53-68.
- Ekman, R. & Ketola, M. (1981). Analysis of Lipid Components in Peat from a Finnish Sphagnum Bog. *Kemia Kemi*. Vol. 8, p. 488-493.
- Focht, D.D. (1997). Aerobic Biotransformation of Polychlorinated Biphenyls. In *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, C.J. et al, Eds, ASM Press, 1997.
- Gendebien, A. et al, (1992). Landfill Gas : from Environment to Energy. State of the Art in the European Community Context. In *Proceedings of Sardinia 91, The Third International Landfill Symposium, 1991, Cagliari, Sardinia, Italy* : Vol. 1, p. 69-75.
- Gonzales-Vila, F.J. ; Almendros, G. & Madrid, F. (1999). Molecular Alteration of Organic Fraction from Urban Waste in the Course of Composting and their Further Transformation in Amended Soil. *The Science of the Total Environment*. Vol. 236, p. 215-229.
- Gourdon, R., Bayard, R., Valla, G. (1996) Biodétérioration microbienne des déchets : définitions, principes et méthodes d'évaluation. *Déchets, Sciences et Techniques* n° 1, 1<sup>er</sup> trimestre 1996, p. 13 à 21
- Gourdon, R. & Bayard, R. (1998) *Traitements biologiques des déchets, Cours de DEA "Science et Technique des Déchets" Version 1.1*, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 1998
- Gourdon, R. (2001). *Traitement Biologique des Déchets. Techniques de l'Ingénieur, traité Environnement G2*, 16 p.
- Graindorge, P. Contribution à l'étude du traitement des déchets urbains par fermentation méthanique : a) cinétiques de la fermentation et application au contrôle d'un réacteur ouvert ; b) modélisation de l'étape acétate du processus biologique. Thèse Doct. Montpellier II, Univ. des Sciences et Techniques du Languedoc. 156 p.
- Griffin, P.S., Indictor, N. & Koestler, R.J. (1991). The biodeterioration of stone : a review of Deterioration mechanisms, Conservation Case Histories, and Treatment. *International Biodeterioration*, 28, 187-207.
- Hartz, S.R. ; Klink, R.E. & Ham, R.K. (1982) Temperature Effects : Methane Generation from Landfill Samples. *Journal of the Environment Engineering Division*,. Vol. 108, p. 629-638.
- Hayes, M.H.B. (1991). Concept of the Origins, Composition, and Structures of Humic Substances. In *Advances in Soil Organic Matter Research : The Impact on Agriculture and the Environment*. Ed Wilson, W.S., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 3-22.
- Heges et al. (2000). The Molecularly-Uncharacterized Component of Non-Living Organic Matter in Natural Environments. *Organic Geochemistry*. Vol. 31, p. 945-958.

- Hilaire, D. (1998). Biodétérioration des Polymères. In Biodeterioration des Matériaux. Edts Lemaître, Pébere, N. & Festy, D. EDP Sciences. 1998.
- Itävaara, M. & Vikman, M. (1995). A Simple Screening Test for Studying the Biodegradability of Insoluble Polymers. *Chemosphere*, Vol. 31, p. 4359-4373.
- Itävaara, M. & Vikman, M. (1996). An Overview of Methods for Biodegradability Testing of Biopolymers and Packaging Materials. *J. Environ. Polym. Degrad.*, Vol. 4, p. 29-36.
- Jeffries, T.W. (1994). Biodegradation of Lignin and Hemicelluloses. In *Biochemistry of Microbial Degradation*, C. Rattledge (ed.) Kluwer Academic Publishers. P. 233-277.
- Joisel, A. (1973). *Les Adjuvants du Ciment*. Ouvrage édité par l'auteur, 1973, 253 p.
- Kögel-Knaber, I. (1997). <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N NMR Spectroscopy as a Tool in Soil Organic Matter Studies. *Geoderma*, Vol. 80, P. 243-270.
- Kögel, I. & Bochter, R. (1985). Characterization of Lignin Forest Humus Layers by High-Performance Liquid Chromatography of Cupric Oxide Oxidation Products. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 17, p. 637-640.
- Krumbein, W. E. (1988). Microbial interaction with mineral materials. In *Biodeterioration 7*, ed. D. R. Houghton, R. N. Smith, & H. O. W. Egging. Elsevier, New York, p 78-100.
- Krumbein, W. E & Lange, C. (1978). Decay of plaster, paintings and walls material of the interior of buildings via microbial activity. In *environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology*, vol 2 : the Terrestrial Environment, ed. W. E. Krumbein, Ann Arbor Science. Ann Arbor, MI, 687-697.
- Leclerc, H. ; Izard, D. ; Husson, M.-O. ; Wattre, P. & Jakuczak, E. (1983). *Microbiologie Générale*. Dion Editeur, Paris. 369 p.
- Lemaître, C., Pébere, N., Festy, D. (1998) *Biodétérioration des matériaux*, Ed. EDP Sciences, 1998, 310 p.
- Lin, J-G ; Ma Y-S ; Chao, A.-C. & Hunag, C-L. (1999) BMP Test on Chemically Pretreated Sludge. *Bioresource Technology*. Vol. 98, p. 187-192.
- Madsen, E.L. (1997). Methods for Determining Biodegradability. In *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, C.J. et al, Eds, ASM Press, 1997.
- Manfe, C. (1993). *Approche Mycologique de la Bioépuration des Lixiviats de Décharges de Classe I*. Thèse Doct. INSA, 1993, 199 p.
- Micales, J.A. & Skog, K.E. (1997). The Decomposition of Forest Products in Landfills. *Internat. Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 39, p. 145-158.
- Mustin, M. (1987) *Le Compost, gestion de la matière organique*, Ed. François Dubusc Paris, 1987, 954 p.
- Niemi, G.J. & Veith, G.D. (1989) An Approach for Development of Structure-Biodegradation Relationships of Organic Chemicals. *Aquat. Toxicol. Environ. Fate*. Vol. 11. p. 459-467.
- Nishino, S.F. & Spain, J.C. (1997). Biodegradation and Transformation of Nitroaromatic Compounds. In *Manual of Environmental Microbiology*. Hurst, C.J. et al, Eds, ASM Press, 1997.
- Nyholm, N. (1991). The European System of Standardized Legal Tests for Assessing the Biodegradability of Chemical. *Environ. Toxicol. Chem.* Vol. 10, p. 1237-1246.
- OCDE (1992) *Lignes directrices pour les essais de produits chimiques*. Paris.
- OCDE (1994) *La biotechnologie pour un environnement propre. Prévention, détection, dépollution*, OCDE Paris, 1994, 220 p.
- Owen, W.F. ; Stuckey, D.C. ; Healy, J.B. ; Young, I.Y. & McCarty, P.L. (1979). Bioassay for Monitoring Biochemical Methane Potential and Anerobic Toxicity. *Wat. Res.* Vol. 13, p. 485-492.
- Owens, J.M. & Chynoweth, D.P. (1993). Biochemical Methane Potential of Municipal Solid Waste (MSW) Components. *Wat. Sci. Technol.* Vol. 27, p. 1-14
- Pagga, U. (1997). Testing Biodegradability with Standardized Methods. *Chemosphere*. Vol. 35, p. 2953-2972.
- Pagga, U. (1998). Biodegradability and Compostability of Polymeric Materials in the Context of the European Packaging Regulation. *Polymer Degradation & Stability*. Vol. 59, p. 371-376.
- Pagga, U. ; Schäfer, A. ; Müller, R-J & Pantke, M. (2001). Determination of the Aerobic Biodegradability of Polymeric Material in Aquatic Batch Tests. *Chemosphere*. Vol. 42, p. 319-331.
- Pakulski, J.D. and Benner, R. (1992). An Improved Method for the Hydrolysis and MBTH analysis of Dissolved and Particulate Carbohydrates in Seawater. *Mar. Chem.*, vol. 40, p. 143-160.

- Pelmont, J. (1993) Bactéries et environnement - Adaptations physiologiques. Presses Universitaire de Grenoble, 899 pages.
- Pettigrew, C.A. & Johnson, B.N. (1996). Testing the Biodegradability of Synthetic Polymeric Materials in Solid Waste. In *Microbiology of Solid Waste*. Palmisano, A.C. & Barlaz, M.A. Eds. CRC Press.
- Portland Cement Association (1991). Solidification and stabilization of wastes using portland cement, First edition print history.
- Ratajska, M. & Boryniec, S. (1998). Physical and Chemical Aspects of Biodegradation of Natural Polymers. *Reactive & Functional Polymer*. Vol. 38, p. 35-49.
- Reynolds, L. et al, (1987). Evaluation of Toxicity of Substances to be Assessed for Biodegradability. *Chemosphere*. Vol. 16. P. 2259.
- Rees, J.F. (1980). The Fate of Carbon Compounds in the Landfill Disposal of Organic Matter. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* Vol. 30, p. 161-175.
- Riachi, K. (1998). Compostage d'ordures ménagères et de déchets verts. Flore fongique et risques sanitaires potentiels, Thèse Université Joseph Fourier Grenoble I, 1998, 200 p.
- Robinson, J.A. & Tiedje, J.M. (1984) Competition between Sulfate reducing & Methanogenic Bacteria for H<sub>2</sub> under Resting & Growing Conditions. *Arch. Microbiol.* Vol. 37, p. 26-32.
- Robertson, J.B. ; van Soest, P.J. (1981). The Detergent System of Analysis and its Application to Human Foods. In, *The Analysis of Dietary Fiber in Food*. James W.P.T., Theander O. (Eds). Marcel Dekker, New York, P. 123-158.
- Robles-Martinez, F. (1999) Etude de l'évolution bio-physico-chimique des ordures ménagères en condition de mise en balles enrubannées Thèse Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 1999, 210 p.
- Robles Martinez F. & Gourdon R. (1999) Effect of baling on the behavior of domestic wastes : Laboratory study on the role of pH in biodegradation. *Bioresource Technol.*, **69**, 15-22.
- Robles-Martinez F. & Gourdon R. (2000) Long-term behaviour of baled household waste. *Bioresource Technol.*, **72**, 125-130.
- Rogers, H.J. (1961). The Dissimilation of High Molecular Weight Substances. In : *The bacteria Tome II : Metabolsim*. Edited by Gunsalus, I.C. & Stanier, R.Y. Londres : Academic Press. P ; 257-318.
- Rose, A.H. (1981). *Economic Microbiology*, Vol. 6, p. 1-18, Rose A.H. ed, Academic Press, London.
- Sanchez F. (1996). Etude de la lixiviation de milieux poreux contenant des espèces solubles : application au cas des déchets solidifiés par liants hydrauliques. Thèse de doctorat : institut national des sciences appliquées de Lyon, 1996, 269 p.
- Sawada, H. (1998). ISO Standard Activity in Standardization of Biodegradability of Plastics – Development of Test Methods and Definition. *Polym. Degrad. & Stab.* Vol. 59, p. 365-370.
- Sheffield et al. (1987). The Effects of Three Organics on Selected Physical Properties of Type in Portland Cement in Hazardous Waste & Hazardous Materials. Volume 4, Number 3, Mazry Ann Liebert, Inc, Publishers. p 273-286.
- Scherer, P.A. ; Schultz, K.H. ; Meyer-Pittroff, R. (1992). Comparaison of Methods to Characterize the Biodegradation Rate during Solid Waste Fermentations. In : *Dechema Biotechnology Conferences*, Vol. 4. D. Behrens, P. Krämer (Eds). P. 661-665.
- Schnitzer, M. & Khan, S.U. (1972). *Humic Substance in the Environment*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Schworer, V. (1998) Matière Organique des Sols : Etude Structurale et Interactions avec des Substances Xénobiotiques. Thèse, Université L. Pasteur de Strasbourg. 174 p.
- Seal, K.J. & Pantke, M. (1986). An interlaboratory investigation into the biodegradation testing of plastics, with special reference to polyurethanes. Part 1 : Petri Dish Test. *Material und organismen*, 21 Bd, Heft 2, 150-166.
- Segura, J. (1984) Interactions entre la fermentation méthanique et la sulfato-réduction, Thèse Université Paris VII, 1984, 200 p.
- SEFA : Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée, (1990). Evaluation de la Dégradation des Substances Organiques dans l'Environnement. Rapport et Communications du Congrès International de Paris. SEFA et Ministère de l'Environnement. 205 p.
- Serclérat I. (1996). Les métaux traces dans le clinker de ciment portland : Rétenion dans les mortiers et intégration dans les hydrates de ciment. Thèse de doctorat : institut national des sciences appliquées de Lyon, 1996, 235 p.

- Stevenson, F.J. & Cheng, C.-N. (1970). Amino-Acids in Sediments : Recovery by Acid Hydrolysis and Quantitative Estimation by a Colormetric Procedure. *Geochim. Cosmochim. Acta*. Vol. 34, p. 77-88.
- Stevenson, I.L. (1982) *Humus Chemistry; Genesis; Composition; Reactions*. New York, Wiley-Inter-Science, 1982, 443 p.
- Stewart, J.M. ; Bhattacharya, S.K. ; Madura, R.L. ; Mason, S.H. & Schonberg, J.C. (1995). Anaerobic Treatability of Selected Organic Toxicants in Petrochemical Wastes. *Wat. Res.* Vol ; 29, p. 2730-2738.
- Sturm, R.N. (1973). Biodegradability of Nonionic Surfactants : Screening Test for Predicting Rate and Ultimate Biodegradation. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* Vol. 50, p. 159-167.
- Taché, Guy. (1998). Corrosion Batcérienne des Bétons. In *Biodeterioration des Matériaux*. Edts Lemaître, Pébere, N. & Festy, D. Edp Sciences. 1998.
- Taylor, G.T. (1982). The Methanogenic Bacteria. *Progress in Industrial Microbiology*. Vol. 16 . p. 231-329.
- Tittlebaum et al (1986) Procedures for characterizing effects of organics on solidification / stabilization of hazardous wastes in Hazardous and industrial solid waste testing and disposal : sixth volume, Lacy Eds, 1986, p 308-318.
- Tseng, D.Y. ; Vir, R. ; Traina, S.J. & Chalmers, J.J. (1996). A Fourier Transform Infrared Spectroscopy Analysis of Organic Matter Degradation in Bench-Scale Solid Substrate Fermentation Composting System. *Biotechnol. Bioeng.* Vol. 52, p. 661-671.
- Trémillon, Jean-Michel. (1998). Corrosion des Polymères. In *Biodeterioration des Matériaux*. Edts Lemaître, Pébere, N. & Festy, D. Edp Sciences. 1998.
- Tuomela, M. ; Vikman, M. ; Hatakka, A. & Itavaara, M. (2000). Biodegradation of Lignin in a Compost environnement : A Review. *Bioresource Technology*. Vol. 72, p ; 169-183.
- Uzaki, M. ; Ishiwatari, R. (1983). Determination of Cellulose and non-Cellulose Carbohydrates in Recent Sediments by Gas Chromatography. *J. Chromatro.*, Vol. 260, 487-492.
- Van der Zee, M. ; Sijtsma, L. ; Tan, G.B. ; Tournois, H. & de Wit, D. (1994). Assessment of Biodegradation Water Insoluble Polymeric Materials in aerobic and Anaerobic Aquatic Environments. *Chemosphere*, Vol. 28, p. 1757-1771.
- Van der Zee, M. ; Stoutjesdijk, J.H. ; Feil, H. & Feijen, J. (1998). Relevance of Aquatic Biodegradation Tests for Predicting Degradation of Polymeric Materials During Biological Solid Waste Treatment. *Chemosphere*, Vol. 36, p. 461-473.
- Venuat, M. (1971). *Adjuvants et Traitement des Mortiers et Bétons*. Ouvrage édité par l'auteur, 1971, 430 p.
- Vert, M. (1999) . Intérêt et Enjeu des matériaux Biodégradables. In *Matériaux Biodégradables et Environnement*. Actes de Colloque, Paris 5-6 mai 1999, France. Cemagref Editions.
- Verschueren, K. (1993). *Handbook of Environmental Data on organic Chemicals*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Vincent, F. (1991). Contribution à l'étude du fonctionnement d'une Décharge. Modélisation d'un déchet-type. Thèse Doct. : Ecole Nationale Supérieure des Mines. 210 p.
- Walsh M.B et al. (1986) The effect of two organic compounds on a portland cement-based stabilization matrix. In: *Hazardous Waste & Hazardous Materials* volume 3, number 1, Mary Ann Lieber, Inc Publishers, 1986, p 111-123.
- Wang, Y.S. ; Byrd, C.S. & Barlza, C.S. (1994) . Anaerobic Biodegradability of Cellulose and Hemicellulose in Excavated Refuse Samples Using a Biochemical Methane Potential Essay. *J. Industrial Microbiol.* Vol. 13, p. 147-153.
- Weber, W.J.Jr., Huang, W.L. & Yu, H. 1998. Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soils and sediments - 2. Effects of soil organic matter heterogeneity. *J. Contaminant Hydrol.* 31, 149-65.
- Wershaw, R.L. (1993) Model for Humus. *Environ. Sci. Technol.*. Vol.27. p. 814-817.
- Williams, P.T; (1998). *Waste Treatment and Disposal*. John Wiley 1 Sons Ed, 1998. 417 p.
- Wilson, B.H. et al. (1986). Biotransformation of Selected Alkylbenzenes and Halogenated Aliphatic Hydrocarbons in Methanogenic Aquifer Material : A Microcosm Study. *Environ. Sci. & Technol.* Vol. 20. P. 997-1002.
- Wolf, D.C., Dao, T.H., Scott, H.D. & Lavy, T.L. Influence of Sterilization Methods on Selected Soil Microbiological, Physical, and Chemical Properties. *J. Environ. Qual.*, 1989, Vol. 18, p. 39-44.



WTC (1990). Wastewater Technology Center. Proposed Evaluation Protocol for Cement-based Solidified Wastes. Environmental Protection Agency (EPA). Service Research and Development. Ontario Ministry of the Environment, Waste Management Branch.

Yakabe ; Y. ; Nohara, K. ; Hara, T. & Fujino, Y. (1992). Factors Affecting the Biodegradability of Polyester in Soil. Chemosphere. Vol. 24, p. 1879-1888.

Young, L.Y. & Frazer, (1987). The Fate of Lignin and Lignin Derived Compounds in Anaerobic Environments. Geomicrobiol. J. Vol. 5, p. 261-293.

Young, L.Y. & Frazer, A.C. (1987). The Fate of Lignin and Lignin Derived Compounds in Anaerobic Environments. Geomicrobiology. Vol. 5, p. 261-293.