



**HAL**  
open science

# Modélisation, estimation et commande de procédés de digestion anaérobie en vue de l'optimisation de la production de biohydrogène

Cesar Arturo Aceves Lara

► **To cite this version:**

Cesar Arturo Aceves Lara. Modélisation, estimation et commande de procédés de digestion anaérobie en vue de l'optimisation de la production de biohydrogène. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Montpellier 2 (Sciences et Techniques), 2007. Français. NNT : . tel-02824841

**HAL Id: tel-02824841**

**<https://hal.inrae.fr/tel-02824841>**

Submitted on 6 Jun 2020

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

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

UNIVERSITE MONTPELLIER II  
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

**THESE**

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II**

*Discipline : Génie des procédés.*

**Ecole Doctorale : Sciences des Procédés-Sciences des Aliments**

présentée et soutenue publiquement

par

César Arturo ACEVES LARA

le 24 Octobre 2007

sur

**Modélisation, estimation et commande de procédés de digestion anaérobie  
en vue de l'optimisation de la production de biohydrogène**

JURY

|   |                    |
|---|--------------------|
| <b>M. Olivier BERNARD</b><br>Directeur de Recherche, INRIA, Sophia Antipolis,                       | Examineur          |
| <b>M<sup>lle</sup>. Claire BOUGRIER</b><br>Ingénieur Chargée de Mission, Veolia Environnement-CRPE, | Examineur          |
| <b>M. Jean-Philippe DELGENES</b><br>Directeur de Recherche, INRA Narbonne,                          | Examineur          |
| <b>M. Eric LATRILLE</b><br>Ingénieur de Recherche, INRA Narbonne,                                   | Invité             |
| <b>M. Jack LEGRAND</b><br>Directeur du GEPEA, Université de Nantes,                                 | Rapporteur         |
| <b>M. Jean-Philippe STEYER</b><br>Directeur de Recherche, INRA Narbonne,                            | Directeur de Thèse |
| <b>M. Cristian TRELEA</b><br>Maître de conférences , AgroParisTech,                                 | Rapporteur         |



## **REMERCIEMENTS**

Cette thèse n'aurait pu être réalisée sans le soutien et l'aide de nombreuses personnes et institutions.

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble du jury, c'est un honneur pour moi que ses membres aient accepté de juger ma thèse.

Je remercie Monsieur Jean-Philippe Delgènes, Directeur du Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, de m'avoir accueilli au sein du laboratoire.

Je remercie évidemment Jean-Philippe Steyer pour son amitié, sa confiance, sa disponibilité et sa patience qui m'ont transmis sa passion pour les bioénergies.

Un grand merci également à Eric Latrille pour sa patience, ses conseils, sa confiance, son amitié et sa grande disponibilité à m'écouter. Merci aussi à toute sa famille qui m'a accueilli avec générosité.

Je remercie aussi toutes les personnes qui ont collaboré aux différents travaux développés pendant cette thèse: Gaëlle, Guillaume, Thierry, Sara, Anelyse pour votre aide lors des expérimentations et Pierre, Nicolas, Grégory, Olivier et Gonzalo pour vos précieux conseils.

Je remercie les deux organismes qui ont soutenu financièrement mes études de doctorat: le Ministère de la Science du Mexique (CONACyT) pour la bourse No 165012 et SFERE.

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes du LBE qui m'ont toujours aidé depuis mon arrivée: Nadine Le Thinh, Sylvie Farine, Véronique Maugenet, Annie Vidal, Philippe Sousbie, Michel Torrijos, Nadine Delgenès, Isabelle Berger, Hélène Carrère, Valérie Bru, Guillermina Hernandez, Renaud Escudié, Jean-Jacques Godon, Denis Loisel, Dominique Patureau, Virginie Rossard, Emmanuelle Zumstein, Diana Garcia-Bernet et Erik Trably.

Ma gratitude la plus profonde aux amis rencontrés pendant ces trois années: Djalel, Juan, Nico Fiocci, Fred, Mélanie, Maeva, Guylaine, Angelik, Romain, Samuel, Mathieu Müller,

Mathieu Lesteur, Bruno, Sylvain, Jeremy, Alexis, Maïalen, Laurie, Gaël, Adeline, Anais, Anthony, Arnaud, Jonathan, Marcelo, Consu, Elena, Carlos, Mauricio, Liliana, Ivan, Altunay, Eveline, Hugo, Victor, Fabian et Dr Victor.

Je remercie aussi la communauté de Saint Bonaventure qui m'a permis de m'adapter à la vie narbonnaise: François, Anton, Fabio, Bernard, Fabian, Sylvestre, Jean Charles et Katy, Viviane, Jeofrey, Christophe, Sandra, Magalie, Marc, Laurence, Lidia, Olivier et Virginia, Emilio, Paola.

Enfin, je remercie mes parents, Arturo et Carmela, mes sœurs et frères, Candy, Carmen, Alexandra, Daniel et Josafat et mes tantes et oncles, Rosa, Ramon, Pepe, Toño et Lucy qui m'ont toujours soutenu « muchas gracias por su amor que a pesar de la distancia me motivo». Finalement, un grand merci à Véro pour ton aide si précieuse.

## **LISTE DES PUBLICATIONS ET DES COMMUNICATIONS LIÉES A CETTE THÈSE**

### **Publications dans des revues**

**Aceves-Lara C.A.**, Aguilar-Garnica E., Alcaraz-González V., González-Reynoso O., Steyer J.P., Dominguez-Beltran J.L. et González-Álvarez V.

Kinetic parameters estimation in an anaerobic digestion process using successive quadratic programming; *Water Science & Technology*; Vol 52, No 1-2, pp 419–426, 2005.

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E., Buffière P., Bernet N. et Steyer J.P.

Experimental determination by principal component analysis of a reaction pathway of biohydrogen production by anaerobic fermentation.. *Chemical Engineering and Processing*. Sélectionné pour publication suite au congrès SIMO06 (sous presse)

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E., Bernet N., Buffière P. et Steyer J.P.

A pseudo-stoichiometric dynamic model of anaerobic hydrogen production from molasses. *Water Research*. (sous presse)

### **Communications dans de congrès internationaux**

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E., Conte T., Bernet N., Buffière P. et Steyer J.P.

Optimization of Hydrogen Production in Anaerobic Digestion Processes; *16<sup>th</sup> World Hydrogen Energy Conference*; Lyon, France; 13-16 Juin 2006, 8 pages sur CDROM (communication orale)

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E., Buffière P., Bernet N., Delgenès J.P. et Steyer J.P.

Bio-Hydrogen production from wastewater; *European PEER Environmental Technology Seminar*; Montpellier, France; 2-3 Octobre 2006 (poster)

Steyer J.P., Latrille E., **Aceves-Lara C.A.**, Ramirez I., Elias A., Hess J., Bernard O., Bangsø Nielsen H., Boe K. et Angelidaki I.

Optimizing Biogas Production from Anaerobic Digestion. Invited Presentation at the International Workshop on "Energy Savings Through Better Design, Control, & Optimization - A Compilation of US and International Experiences", *WEFTEC Conference*, 25-28 Octobre 2006, Dallas, Texas, USA, 10 pages sur CDROM (communication orale)

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E. et Steyer J.P.

Input and States Estimations of Biohydrogen Production; *10<sup>th</sup> International Symposium on Computer Applications in Biotechnology*; Cancun, Mexico; 4-8 Juin 2007, pp. 93-98 (communication orale)

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E. , Bernet N., Buffière P. et Steyer J.P.

State Estimation and Closed Loop Control for Optimization of Hydrogen Production in Anaerobic Digesters; *11<sup>th</sup> IWA World Congress on Anaerobic Digestion*; Brisbane, Australie; 23-27 Septembre 2007 (communication orale)

## **Communications dans des congrès nationaux**

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E. , Buffière P., Bernet N. et Steyer J.P.

Détermination expérimentale par ACP d'un schéma réactionnel de la production d'hydrogène par digestion anaérobie; *4<sup>ème</sup> Colloque STIC & Environnement*; Narbonne; 5-7 Avril 2006, 6 pages sur CDROM (communication orale)

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E. , Buffière P., Bernet N. et Steyer J.P.

Détermination expérimentale par analyse en composantes principales d'un schéma réactionnel de la production d'hydrogène en fermentation anaérobie; *Conférence Systèmes d'Information, Modélisation, Optimisation et Commande en génie des procédés SIMO'2006*; Toulouse; 11-12 Octobre 2006, 7 pages sur CDROM (communication orale)

Elias A., Frederic S., **Aceves-Lara C.A.**, Latrille E., Buffiere P., Bernet N., Delgenès J.P. et Steyer J.P.

Analyse technico-économique comparative des filières biogaz et biohydrogène produits à partir de déchets; *11<sup>ème</sup> Congrès de la Société Française de Génie des Procédés*; Saint-Etienne; 9-11 Octobre 2007 (communication orale).

**Aceves-Lara C.A.**, Latrille E., Bernet N., Buffière P. et Steyer J.P.

State Estimation and Closed Loop Control for Optimization of Hydrogen Production in Anaerobic Digesters; *5<sup>ème</sup> Colloque STIC & Environnement*; Lyon; 13-15 Novembre 2007. (communication orale)

Lesteur M., Latrille E., **Aceves-Lara C.A.**, Conte T., Roger J.M., Rolland G. et Steyer J.P.

Suivi en ligne par mesure in-situ en spectroscopie proche infrarouge d'un digesteur anaérobie produisant du biohydrogène; *5<sup>ème</sup> Colloque STIC & Environnement*; Lyon; 13-15 Novembre 2007 (poster)





## **GLOSSAIRE GENERAL**

|   |            |
|---|------------|
| <b>Liste des Figures .....</b>  | <b>10</b>  |
| <b>Liste des Tableaux .....</b>   | <b>12</b>  |
| <b>Introduction Générale .....</b>  | <b>15</b>  |
| <b>Chapitre I – Introduction et Revue Bibliographique .....</b>   | <b>19</b>  |
| I- Introduction .....   | 23         |
| II- Stockage et production non biologique d'hydrogène .....   | 26         |
| III- Les procédés biologiques de production d'hydrogène .....   | 32         |
| IV- Modélisation de la digestion anaérobie et de la production d'hydrogène .....                                    | 49         |
| V- Les observateurs d'états .....   | 55         |
| VI- Contrôle de bioprocédés .....   | 61         |
| VII- Références bibliographiques .....  | 65         |
| <b>Chapitre II – Matériels et Méthodes .....</b>  | <b>81</b>  |
| I- Mesures hors ligne .....   | 85         |
| II- Mise en place du bioréacteur .....  | 89         |
| III- Détermination expérimentale du $k_{1a}$ .....  | 95         |
| IV- Analyse des communautés microbiennes .....  | 96         |
| V- Références .....   | 98         |
| <b>Chapitre III – Résultats .....</b>   | <b>99</b>  |
| I- Optimisation de la production de biogaz issu de la digestion anaérobie .....                                     | 105        |
| II- Analyse technico-économique comparative des filières biogaz et biohydrogène produits à partir de déchets .....  | 125        |
| III- Détermination expérimentale du schéma réactionnel de la production d'hydrogène en fermentation anaérobie ..... | 139        |
| IV- Proposition et validation d'un modèle dynamique de la production d'hydrogène en fermentation anaérobie .....    | 157        |
| V- Estimation des états et de l'entrée pour la production de biohydrogène .....                                     | 179        |
| VI- Optimisation dynamique de la production de biohydrogène .....   | 195        |
| <b>Discussion, Conclusions Générales et Perspectives .....</b>  | <b>206</b> |
| <b>Annexe I Analyse d'électrophorèse SSCP .....</b>   | <b>221</b> |

## LISTE DES FIGURES

|                    |  |    |
|--------------------|--|----|
| <b>Figure I.1</b>  | Evolution annuelle du nombre d'articles scientifiques dédiés à la production d'hydrogène .....               | 24 |
| <b>Figure I.2</b>  | Evolution annuelle du nombre d'articles scientifiques dédiés à le stockage et distribution d'hydrogène ..... | 24 |
| <b>Figure I.3</b>  | Principe de fonctionnement d'une pile à combustible de H <sub>2</sub> .....                                  | 28 |
| <b>Figure I.4</b>  | Production photocatalytique d'hydrogène .....  | 32 |
| <b>Figure I.5</b>  | Structure cristalline des hydrogénases à Fe (A) et à NiFe (B) .....  | 33 |
| <b>Figure I.6</b>  | Production d'hydrogène à partir de la biophotolyse dans une cyanobactérie                                    | 35 |
| <b>Figure I.7</b>  | Mécanisme de la production de l'hydrogène par des bactéries photosynthétiques .....                          | 36 |
| <b>Figure I.8</b>  | Dispersion de la lumière pour diminuer la photoinhibition .....  | 36 |
| <b>Figure I.9</b>  | Exemple d'un photobioréacteur plan .....   | 37 |
| <b>Figure I.10</b> | Photobioréacteur à tubes .....   | 38 |
| <b>Figure I.11</b> | Schéma réactionnel général de la digestion anaérobie .....   | 39 |
| <b>Figure I.12</b> | Principales voies biochimiques décrivant l'acidogénèse .....   | 40 |
| <b>Figure I.13</b> | Couplage d'un digesteur anaérobie et d'une photofermentation .....   | 48 |
| <b>Figure I.14</b> | Intégration des procédés de production d'hydrogène .....   | 49 |
| <b>Figure I.15</b> | Couplage d'un réacteur produisant de l'hydrogène avec un méthaniseur ...                                     | 49 |
| <b>Figure I.16</b> | Modèle de Mosey .....  | 52 |
| <b>Figure I.17</b> | Modèle de Costello .....   | 52 |
| <b>Figure I.18</b> | Modèle de Batstone .....   | 53 |
| <b>Figure I.19</b> | Modèle ADM1 de l'IWA .....   | 54 |
| <b>Figure I.20</b> | Schéma de la commande modèle prédictive .....  | 63 |
| <b>Figure I.21</b> | Etages de la commande optimale adaptative .....  | 65 |
| <b>Figure II.1</b> | Réacteur de minéralisation .....   | 85 |
| <b>Figure II.2</b> | Chromatographe Varian GC 3900 .....  | 86 |
| <b>Figure II.3</b> | Chaîne analytique de Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) .....                                | 87 |
| <b>Figure II.4</b> | Montage pour analyse de HPLC .....   | 87 |
| <b>Figure II.5</b> | Chromatographe GC-14A .....  | 89 |
| <b>Figure II.6</b> | Système d'agitation du réacteur .....  | 90 |

|                       |   |     |
|-----------------------|---|-----|
| <b>Figure II.7</b>    | Pompes utilisées dans l'installation du réacteur .....  | 91  |
| <b>Figure II.8</b>    | Configuration du réacteur pour les premières expériences .....  | 92  |
| <b>Figure II.9</b>    | Sondes utilisées dans le réacteur .....   | 92  |
| <b>Figure II.10</b>   | Configuration du réacteur pour les expériences de commande .....  | 93  |
| <b>Figure II.11</b>   | Installation complète du réacteur .....   | 93  |
| <b>Figure II.12</b>   | Compteur de gaz "fait maison" utilisé lors des expérimentations .....   | 94  |
| <b>Figure II.13</b>   | Photographie du compteur de gaz .....   | 94  |
| <b>Figure II.14</b>   | Séquenceur analytique 3130 .....  | 98  |
| <b>Figure III.1</b>   | Comparison of anaerobic digestion with activated sludge processes .....   | 108 |
| <b>Figure III.2</b>   | Installed capacity for anaerobic treatment of municipal solid wastes in<br>Europe .....   | 109 |
| <b>Figure III.3</b>   | Development of farm scale biogas plants in Germany .....  | 110 |
| <b>Figure III.4</b>   | Increasing number of industrial biogas plants in France .....   | 112 |
| <b>Figure III.5</b>   | Increasing number of industrial biogas plants worldwide .....   | 112 |
| <b>Figure III.6</b>   | The overall architecture of the TELEMAC remote supervision system .....   | 118 |
| <b>Figure III.7</b>   | Schéma descriptif des quatre scénarii étudiés .....   | 130 |
| <b>Figure III.8</b>   | Valeur de 1 m <sup>3</sup> de biogaz pour co- génération .....  | 131 |
| <b>Figure III.9</b>   | (a) coût capital de la digestion (b) coût de fonctionnement .....   | 132 |
| <b>Figure III.10</b>  | Biochemical pathways of carbohydrate acidogenesis .....   | 142 |
| <b>Figure III.11</b>  | Schematic view of the continuous reactor used in the present study .....  | 144 |
| <b>Figure III.12</b>  | Response surface of the first reaction rate with agitation of 150 rpm .....   | 153 |
| <b>Figure III.13</b>  | Response surface of the first reaction rate with agitation of 300 rpm .....   | 153 |
| <b>Figure III.14</b>  | Response surface of the second reaction rate with agitation of 150 rpm ...  | 153 |
| <b>Figure III.15</b>  | Response surface of the second reaction rate with agitation of 300 rpm ...  | 153 |
| <b>Figure III.16</b>  | Schematic view of the continuous reactor used in the present study .....  | 163 |
| <b>Figure III.17</b>  | Dynamic inputs applied to the process during the course of the experiments  | 165 |
| <b>Figure III.18</b>  | Dynamic evolutions of the main variables of the model .....   | 173 |
| <b>Figure III.19</b>  | Comparison of our mathematical model and experimental H <sub>2</sub> gas flow obtained<br>in steady states as a function of the substrate input concentration and the<br>hydraulic retention time ..... | 174 |
| <b>Figure III.20a</b> | Hydraulic retention time applied during the course of the experiments ...   | 189 |
| <b>Figure III.20b</b> | Measurements of the H <sub>2</sub> (- ) and CO <sub>2</sub> (- -) flow rates .....  | 189 |
| <b>Figure III.21</b>  | Applied (- ) and estimated (- -) glucose concentration in the liquid inflow   | 190 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figure III.22</b> Dynamic estimation (–) and (●) offline measurements of the acetic acid in the output of the reactor .....           | 190 |
| <b>Figure III.23</b> Dynamic estimation (–) and (●) offline measurements of the butyric acid in the output of the reactor .....          | 190 |
| <b>Figure III.24</b> Dynamic estimation (–) and (●) offline measurements of the propionic acid in the output of the reactor .....        | 190 |
| <b>Figure III.25</b> Dynamic estimation (–) and (●) offline measurements of the biomass concentration in the output of the reactor ..... | 191 |
| <b>Figure III.26</b> Substrate (– –) and inflow (–) applied during the course of the Experiments .....                                   | 203 |
| <b>Figure III.27</b> Hydrogen gas flow rate measured (–) during the course of the experiment   | 203 |
| <b>Figure III.28</b> Dynamic estimation (–) and (●) off-line measurements of the acetic acid   | 203 |
| <b>Figure III.29</b> Dynamic estimation (–) and (●) off-line measurements of the butyric acid  | 203 |
| <b>Figure III.30</b> Dynamic estimation (–) and (●) off-line measurements of propionic acid  | 204 |
| <b>Figure III.31</b> Dynamic estimation (–) and (●) off-line measurements of the biomass   | 204 |
| <b>Figure IV.1</b> Analyse des communautés microbiennes par électrophorèse SSCP .....  | 223 |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |     |
|---|-----|
| <b>Tableau I.1</b> Propriétés physiques de l'hydrogène sous la forme gazeuse .....  | 25  |
| <b>Tableau I.2</b> Propriétés de l'hydrogène sous forme liquide .....   | 26  |
| <b>Tableau I.3</b> Meilleurs rendements obtenus dans la littérature pour des réacteurs<br>Continus .....  | 47  |
| <b>Tableau II.1</b> Caractéristiques d'opération de la turbine de Rushton et de l'hélice marine   | 90  |
| <b>Tableau III.1</b> Données des cycles de vie de différents types de déchets pour le traitement anaérobie .....                                    | 129 |
| <b>Tableau III.2</b> Données techniques des scénarii étudiés .....  | 134 |
| <b>Tableau III.3</b> Données économiques des scénarii étudiés .....   | 135 |
| <b>Tableau III.4</b> Experimental data used for the determination of the pseudo-stoichiometric matrix .....   | 148 |
| <b>Tableau III.5</b> Estimated pseudo-stoichiometric matrix coefficients .....  | 149 |
| <b>Tableau III.6</b> Examples of acidogenesis reactions with stoichiometric coefficients during biomass production under anaerobic conditions ..... | 150 |

|                       |   |     |
|-----------------------|---|-----|
| <b>Tableau III.7</b>  | Yield coefficients of the stoichiometric .....  | 150 |
| <b>Tableau III.8</b>  | Analysis of Variance (ANOVA) for reaction's rate. SV: stirring velocity;<br>HRT: Hydraulic retention time .....   | 151 |
| <b>Tableau III.9</b>  | Examples of acidogenesis reactions with biomass production under anaerobic<br>conditions .....  | 161 |
| <b>Tableau III.10</b> | Operating conditions applied during the course of the experiments .....   | 164 |
| <b>Tableau III.11</b> | Experimental data obtained when applying operating conditions described in<br>Table 2 ( <sup>eq</sup> indicates data near to equilibrium) .....   | 168 |
| <b>Tableau III.12</b> | Stoichiometric coefficients of the reactions described in Table III.6 and<br>expressed in g/g-glucose except for CO <sub>2</sub> in mol/g-glucose .....                                       | 170 |
| <b>Tableau III.13</b> | Kinetic coefficients using either a purely stoichiometric reaction pathway<br>(i.e., reactions (3) and (5) in Table V.4) or the pseudo-stoichiometric<br>matrix .....                         | 171 |
| <b>Tableau III.14</b> | Data of several authors ( <sup>a</sup> Data from this reference were used only when<br>biomass concentration was lower than S <sub>in</sub> , that means HRT ≈ Solid Retention<br>Time) ..... | 172 |
| <b>Tableau III.15</b> | Operating conditions .....  | 183 |
| <b>Tableau III.16</b> | Kinetic coefficients .....  | 184 |
| <b>Tableau III.17</b> | Physicochemical constants in the model .....  | 186 |



# Introduction Générale





## INTRODUCTION GENERALE

La situation environnementale de la Terre est actuellement en crise à cause des émissions de gaz à effet serre dans l'atmosphère. De plus, les combustibles fossiles, qui sont les principaux responsables des émissions de gaz, vont bientôt s'épuiser. Notre génération a ainsi un défi majeur à relever : la production et l'utilisation de nouvelles sources d'énergie ayant des émissions presque nulles en CO<sub>2</sub>.

L'hydrogène est un très bon candidat pour devenir cette source puisqu'il présente une combustion propre, produisant uniquement de l'eau et possédant un grand pouvoir calorifique (i.e., 122 kJ/g). De plus, il est un vecteur énergétique idéal car toutes les énergies primaires sont transformables en hydrogène. Malheureusement, l'hydrogène est actuellement produit à partir du réformage à la vapeur de combustibles fossiles tels que le méthane, engendrant ainsi un niveau élevé de CO<sub>2</sub>. Sa production durable devra donc se passer des combustibles fossiles.

Ces dernières années la production anaérobie d'hydrogène a reçu une attention particulière puisqu'elle permet le traitement de la pollution et des déchets, et la production simultanée d'hydrogène. Ce travail s'intéresse à ce procédé sous l'angle de l'Automatique. Ainsi, l'**objectif principal** de notre travail est d'**optimiser la production anaérobie de l'hydrogène** à l'aide d'une **commande prédictive**, en utilisant la reconstruction des états obtenus par des **observateurs asymptotiques**. Ceci n'est possible qu'après avoir développé dans un premier temps un **modèle simplifié du procédé** utilisable aussi bien par l'observateur que par la loi de commande.

Ce document est constitué de quatre chapitres. Le premier chapitre consiste en une étude bibliographique composée de plusieurs parties. La première partie s'intéresse à la problématique de la production d'hydrogène et plus particulièrement à la production anaérobie. Une seconde partie est dédiée à la modélisation de la digestion anaérobie dans le cadre de la production d'hydrogène. Nous nous intéressons ensuite aux observateurs pour le suivi en ligne de bioprocédés, en soulignant les avantages des observateurs asymptotiques. A la fin de ce chapitre, nous montrons la nécessité d'optimiser les procédés à l'aide de techniques de commande, et tout particulièrement de la commande basée sur des modèles.

Le deuxième chapitre décrit l'ensemble des moyens expérimentaux mis en œuvre lors de ce travail. Le chapitre est également divisé en plusieurs parties. Les deux premières parties

correspondent aux différentes mesures hors ligne et en ligne effectuées pendant les expérimentations sur un bioréacteur de 2 litres. La troisième partie décrit la méthode utilisée pour mesurer les coefficients d'échange gazeux entre les phases liquide et gazeuse. La dernière partie décrit les techniques de Biologie Moléculaire utilisées pour l'analyse microbiologique du procédé.

Le troisième chapitre regroupe la majorité des résultats obtenus. Il est constitué de six parties distinctes mais complémentaires, publiées sous forme d'articles. La première partie est un état de l'art sur l'optimisation – via l'instrumentation en ligne et la commande – de la production classique de méthane par digestion anaérobie. La seconde décrit un comparatif technico-économique entre la filière de production de biogaz et celle, potentiellement intéressante dans un avenir proche, de production de biohydrogène. Plusieurs configurations de procédés sont évaluées et des critères de rentabilité économique sont envisagés. La troisième partie présente la détermination du schéma réactionnel minimal en utilisant des méthodes originales d'analyse des données appliquées à nos résultats expérimentaux. Un modèle mathématique complet basé sur des équations différentielles est présenté dans la quatrième partie. Les deux dernières parties décrivent la construction d'un estimateur des variables d'états et de l'entrée du procédé et les expérimentations associées à la commande optimale de la production d'hydrogène. Les observateurs ont été développés pour connaître au mieux l'état du procédé tout en minimisant l'effort d'instrumentation du réacteur. Ceci a permis d'optimiser la production d'hydrogène à l'aide d'une stratégie de commande prédictive basée sur le modèle dynamique du procédé.

Finalement, le dernier chapitre regroupe une discussion de l'ensemble des résultats obtenus en dégageant des perspectives pour des travaux ultérieurs.

# Chapitre I

## Introduction et revue bibliographique



## CHAPITRE I – Introduction et revue bibliographique

|      |  |    |
|------|--|----|
| I-   | Introduction .....   | 23 |
| II-  | Stockage et production non biologique d'hydrogène .....                | 26 |
| III- | Les procédés biologiques de production d'hydrogène .....               | 32 |
| IV-  | Modélisation de la digestion anaérobie et de la production d'hydrogène | 49 |
| V-   | Les observateurs d'états .....   | 55 |
| VI-  | Commande de bioprocédés .....  | 61 |
| VII- | Références bibliographiques .....                                      | 65 |

**Guide de lecture:** Ce chapitre présente une introduction à la problématique de la production d'hydrogène. Tout d'abord, nous exposerons succinctement les méthodes de stockage ainsi que la pile à combustible, qui est l'application la plus connue pour l'hydrogène. Ensuite, les divers modes de production seront passés en revue avant d'aborder la production biologique, en développant la production anaérobie d'hydrogène. Nous verrons la modélisation de la digestion anaérobie dans le cadre de la production anaérobie de l'hydrogène. Puis, nous nous intéresserons aux observateurs d'états utilisés dans les bioprocédés pour faire du suivi en ligne, en soulignant les avantages des observateurs asymptotiques. Enfin, nous montrerons la nécessité d'optimiser les procédés à l'aide des techniques de contrôle, et tout particulièrement de la commande basée sur des modèles.

Le lecteur trouvera les motivations de l'intérêt d'optimiser la production anaérobie de l'hydrogène pour améliorer sa rentabilité. Cette optimisation ne devient possible que grâce à un modèle simple utilisable autant pour une commande prédictive que pour un observateur asymptotique.

## Table de matières détaillée

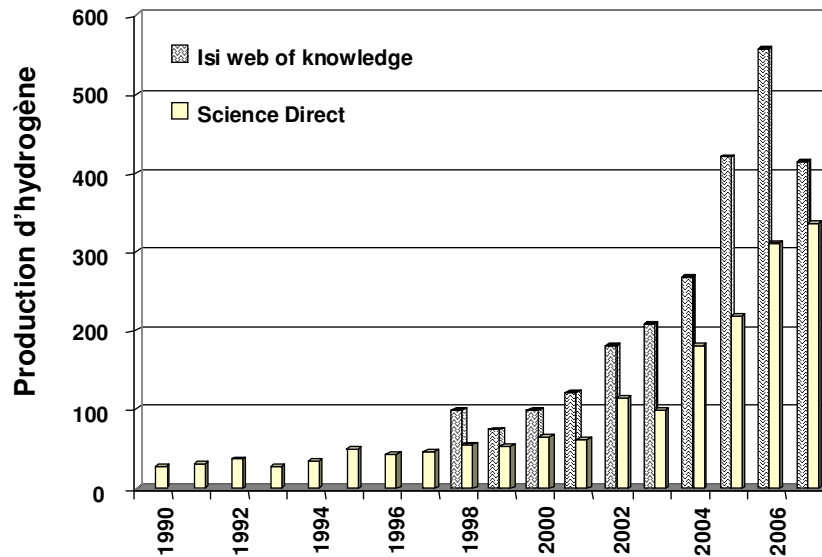
|            |   |    |
|------------|---|----|
| <b>I</b>   | <b>INTRODUCTION</b> .....   | 23 |
| <b>II</b>  | <b>STOCKAGE ET PRODUCTION NON BIOLOGIQUE D’HYDROGENE</b>                                | 26 |
|            | <i>II.1 Stockage et distribution</i> .....  | 26 |
|            | <i>II.2 La pile à combustible</i> .....   | 27 |
|            | <i>II.3 Réformage des combustibles fossiles</i> .....                                   | 28 |
|            | <i>II.4 Les différentes voies non-biologiques de production d’hydrogène</i> .....       | 29 |
|            | II.4.1 <u>Pyrolyse de la biomasse</u> .....   | 29 |
|            | II.4.2 <u>Réformage de la vapeur d’eau</u> .....  | 30 |
|            | II.4.3 <u>Electrolyse</u> .....   | 30 |
|            | II.4.4 <u>Nucléaire</u> .....   | 31 |
|            | II.4.5 <u>Photochimique</u> .....   | 31 |
| <b>III</b> | <b>LES PROCEDES BIOLOGIQUES DE PRODUCTION D’HYDROGENE</b>                               | 32 |
|            | <i>III.1 Biochimie de systèmes enzymatiques de la production de l’hydrogène</i> .....   | 32 |
|            | <i>III.2 Les photoprocédés de production d’hydrogène</i> .....                          | 34 |
|            | III.2.1 <u>Biophotolyse</u> .....   | 34 |
|            | III.2.2 <u>Photodécomposition</u> .....   | 35 |
|            | III.2.3 <u>Les photobioréacteurs</u> .....  | 37 |
|            | <i>III.3 Les bioprocédés anaérobies de production d’hydrogène</i> .....                 | 38 |
|            | III.3.1 <u>La digestion anaérobie</u> .....   | 38 |
|            | III.3.2 <u>Production anaérobie d’hydrogène</u> .....                                   | 39 |
|            | III.3.3 <u>Facteurs influençant la fermentation anaérobie des composés organiques</u> . | 40 |
|            | III.3.3-a <u>Le type d’inoculum</u> .....   | 40 |
|            | III.3.3-b <u>Composition du milieu en minéraux et en métaux</u> .....                   | 41 |
|            | III.3.3-c <u>Température</u> .....  | 42 |
|            | III.3.3-d <u>Nature du substrat</u> .....   | 43 |
|            | III.3.3-e <u>Ph</u> .....   | 43 |
|            | III.3.3-f <u>Inhibitions et autres difficultés</u> .....                                | 44 |
|            | III.3.3-g <u>Temps de séjour en réacteurs infiniment mélangés</u> .....                 | 45 |
|            | III.3.3-h <u>Rendements obtenus avec des réacteurs continus</u> .....                   | 46 |
|            | III.3.3-i <u>Couplage des procédés de production de biohydrogène</u> .....              | 48 |
| <b>IV</b>  | <b>MODELISATION DE LA DIGESTION ANAEROBIE ET DE LA PRODUCTION D’HYDROGENE</b> .....     | 49 |
|            | <i>IV.1 Les modèles de digestion anaérobie utilisant les AGV non dissociés</i> .....    | 50 |
|            | <i>IV.2 Les modèles de digestion anaérobie utilisant l’ammonium</i> .....               | 50 |
|            | <i>IV.3 Les modèles de digestion anaérobie d’effluents particuliers</i> .....           | 51 |
|            | <i>IV.4 Les modèles de digestion anaérobie utilisant l’hydrogène</i> .....              | 51 |
|            | <i>IV.5 La modélisation de la production d’hydrogène</i> .....                          | 55 |
| <b>V</b>   | <b>LES OBSERVATEURS D’ETATS</b> .....   | 55 |
|            | <i>V.1 Les observateurs classiques</i> .....  | 56 |
|            | <i>V.2 Les observateurs asymptotiques</i> .....   | 58 |
|            | <i>V.3 Autres types d’observateurs</i> .....  | 60 |
| <b>VI</b>  | <b>CONTROLE DE BIOPROCEDES</b> .....  | 61 |
|            | <i>VI.1 Commande adaptative</i> .....   | 62 |
|            | <i>VI.2 Commande prédictive</i> .....   | 62 |
|            | <i>VI.3 Commande optimale</i> .....   | 64 |
|            | <i>VI.4 Commande optimale adaptative</i> .....  | 64 |
| <b>VII</b> | <b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....  | 65 |

## I INTRODUCTION

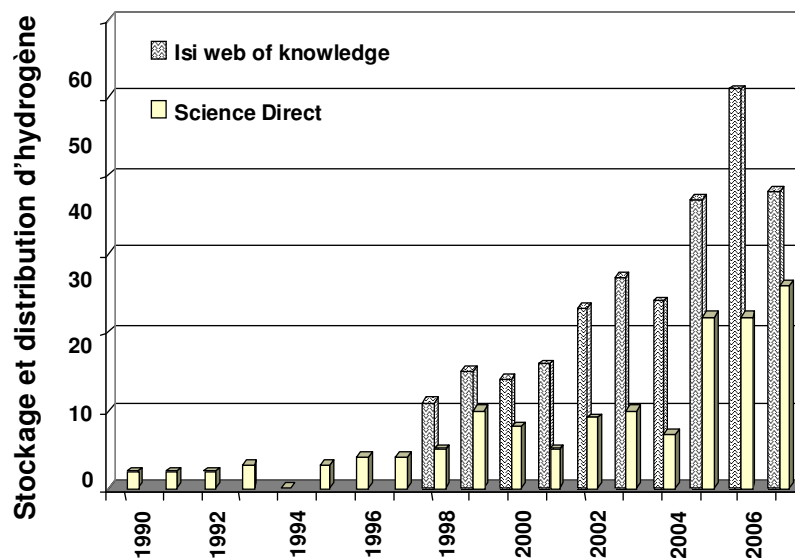
Ce nouveau siècle présente plusieurs défis environnementaux. La distribution d'eau potable, le réchauffement planétaire et l'obtention de nouvelles sources d'énergie en substitution des combustibles fossiles en sont les plus cruciaux. Ces deux derniers sont intimement liés car la majeure partie du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), considéré comme le principal responsable de l'effet de serre, est issu de l'utilisation des combustibles fossiles. Ainsi, les nouvelles sources d'énergie devront avoir comme caractéristique principale l'émission presque nulle de CO<sub>2</sub>.

L'hydrogène a été découvert par Henry Cavendish en 1766 qui le dénommait « air inflammable ». Il a montré que l'hydrogène combiné avec de l'oxygène produisait de l'eau. Cette caractéristique amena Lavoisier à proposer le nom d'hydrogène (Piera *et al.*, 2006). Ces dernières années, l'hydrogène a reçu une attention particulière car il présente une combustion propre, produisant uniquement de l'eau, et possède un grand pouvoir calorifique (*i.e.*, 122 kJ/g). Il est ainsi considéré comme étant le vecteur énergétique idéal car il permet le stockage et le transport d'énergie sur des courtes, moyennes et longues durées (Berry and Aceves, 2005; Orecchini, 2006). De plus, toutes les énergies renouvelables sont transformables en hydrogène, ce qui renforce d'autant son attrait. Pour illustration, les figures I.1 et I.2 présentent le nombre d'articles annuels référencés par « Science direct » et « ISI Web of Knowledge » en utilisant les mots clés "hydrogen production" et "hydrogen storage distribution". Il est clair qu'à compter de la fin des années 90, nous observons une croissance rapide surtout concernant la production d'hydrogène. De plus, la quantité de publications sur la production d'hydrogène est dix fois plus grande que celle sur le stockage et la distribution. Cela indique l'intérêt de la communauté scientifique pour l'amélioration des rendements des méthodes de production d'hydrogène. Cela donne également une explication quant au retard des techniques de stockage et de distribution.





**Figure I.1** Evolution annuelle du nombre d'articles scientifiques dédiés à la production d'hydrogène



**Figure I.2** Evolution annuelle du nombre d'articles scientifiques dédiés au stockage et distribution d'hydrogène

Le rêve de l'utilisation de l'hydrogène comme source inépuisable d'énergie a commencé avec Jules Verne. Dans son roman *L'Île Mystérieuse* (1874), il imagina en effet l'hydrogène comme un substitut du charbon. Bien plus tard, l'hydrogène a été utilisé comme combustible, entrant à 50 % dans le mélange de gaz de ville fourni aux grandes métropoles jusque dans les années 1950 (Bjørnar *et al.*, 2002; Maddy *et al.*, 2003). Ce gaz est d'ailleurs toujours utilisé en Chine, en Afrique du Sud et dans tous les lieux où le gaz naturel est cher (Bjørnar *et al.*, 2002).

Ceci étant, l'hydrogène présente des avantages et des inconvénients qui sont liés à ses propriétés physiques résumées dans les Tableaux I.1 et I.2. Il a un grand pouvoir énergétique par rapport à sa masse puisque 1 kg de H<sub>2</sub> est équivalent à 2,8 kg d'essence et 2,4 kg de méthane. Il a ainsi été utilisé par la NASA pour les voyages dans l'espace, dont la consommation représente actuellement 0,1 % de la production mondiale (Koroneos *et al.*, 2004). Cependant, d'un point de vue volumique, il n'est pas très attractif puisque son pouvoir calorifique est quasiment divisé par un facteur 10 (*i.e.*, 1 L de H<sub>2</sub> est équivalent au 0,27 L d'essence). De plus, sa liquéfaction nécessite des températures très basses. Les autres inconvénients sont liés à sa détonabilité et à son inflammabilité à l'état gazeux ou liquide.

**Tableau I.1** Propriétés physiques de l'hydrogène sous forme gazeuse (Piera *et al.*, 2006)

| Propriété   | Valeur                |
|---|-----------------------|
| Masse molaire (g)                                 | 2,02                  |
| Point d'ébullition (K)                            | 20,3                  |
| Température critique (K)                          | 33                    |
| Densité du gaz à TPS (kg/m <sup>3</sup> )         | 0,0838                |
| Viscosité du gaz à TPS (g/cm.s)                   | 8,9.10 <sup>-5</sup>  |
| Energie minimale d'ignition                       | 0,02                  |
| Limite d'inflammabilité dans l'air (vol. %)       | 4,1-75                |
| Limite de détonation dans l'air (vol. %)          | 18,3-59               |
| Température de flamme (K)                         | 2318                  |
| Vitesse de détonation (km/s)                      | 1,48-2,15             |
| Surpression de détonation (kPa)                   | 1470                  |
| Energie thermique minimale (kJ/g)                 | 120                   |
| Energie thermique maximale (kJ/g)                 | 142                   |
| Vitesse de combustion à TPS (cm/s)                | 265-325               |
| Pourcentage d'énergie thermique rayonnante (%)    | ~21                   |
| Flux d'énergie transmise par convection (kJ/cm.s) | 1,53.10 <sup>-2</sup> |
| Energie d'explosion (kgTNT/m <sup>3</sup> )       | 2                     |
| Coefficient de diffusion (cm <sup>2</sup> /s)     | 0,61                  |

**Tableau I.2** Propriétés physiques de l'hydrogène sous forme liquide (Piera *et al.*, 2006)

| Propriété  | Valeur  |
|--|---------|
| Température au point normal d'ébullition (PNB) (K)           | 20,3    |
| Chaleur de vaporisation (MJ/kg)                              | 0,46    |
| Densité du liquide au PNB (kg/m <sup>3</sup> )               | 71      |
| Densité du vapeur au PNB (kg/m <sup>3</sup> )                | 1,34    |
| Viscosité du liquide au PNB (g/cm.s)                         | 13,56   |
| Vitesse de vaporisation du liquide sans être brûlé (cm/min)  | 2,5-5,0 |
| Energie d'explosion (gTNT/cm <sup>3</sup> du liquide au PNB) | 1,71    |

## II STOCKAGE ET PRODUCTION NON BIOLOGIQUE D'HYDROGÈNE

### II.1 Stockage et distribution

Le stockage et la distribution d'hydrogène sont deux aspects très importants à résoudre avant d'établir une économie mondiale de l'hydrogène. Malheureusement, comme souligné précédemment, ces deux aspects n'ont reçu qu'une attention limitée par le passé. Dans le domaine du transport par exemple, vouloir substituer les combustibles fossiles par de l'hydrogène nécessite un stockage sûr et de qualité. Malheureusement, à l'image du paradoxe de la poule et de l'œuf, une infrastructure de distribution adaptée doit être mise en place mais pour y parvenir, sa rentabilité économique doit être démontrée (Shayegan *et al.*, 2006). Plusieurs solutions ont été proposées afin de résoudre ce paradoxe. Une des plus remarquables, au niveau mondial, est l'implantation d'une « autoroute de l'hydrogène » dans l'état de la Californie, aux Etats Unis, le long de laquelle 200 stations d'hydrogène seront installées avant l'année 2010 (Berry and Aceves, 2005).

De manière générale, cinq méthodes différentes ont été proposées pour stocker l'hydrogène (Boucher, 2006). Les deux techniques les mieux maîtrisées sont la compression et la liquéfaction. La compression entre 350 et 700 bars est la technologie considérée comme étant la moins chère pour la fourniture d'hydrogène aux automobiles, et plus spécialement pour les bus (Shayegan *et al.*, 2006). La liquéfaction de l'hydrogène, quant à elle, se réalise grâce à plusieurs cycles thermodynamiques (effet Joule-Thomson) afin d'arriver à des températures proches de 20 K. L'hydrogène liquide est, en fait, la meilleure option d'un point de vue

énergétique car elle procure le plus petit poids pour un combustible (Hettinger *et al.*, 1998). De plus, la liquéfaction permet le stockage d'environ 10 fois plus d'hydrogène pour le même volume que la compression à 350 bars. Malheureusement, l'hydrogène liquide présente plusieurs inconvénients dûs à ses propriétés physiques, comme un point d'ébullition très bas et une grande vitesse d'évaporation (*Cf.* Tableau I.2), qui nécessitent l'utilisation de réservoirs cryogéniques parfaitement isolés. La compression et la liquéfaction présentent un dernier obstacle à leur utilisation à grande échelle puisqu'elles consomment entre 10 et 30 % de la valeur énergétique intrinsèque de l'hydrogène (Berry and Aceves, 2005).

Les trois autres technologies de stockage de l'hydrogène sont l'utilisation de nanostructures en carbone, d'hydrures métalliques ou d'hydrures chimiques. D'un point de vue théorique, elles permettent de stocker des quantités d'hydrogène comparables à celles de l'hydrogène liquide, mais leurs rendements sont encore trop faibles et leurs coûts trop élevés (Boucher, 2006).

En parallèle, trois grands types de distribution d'hydrogène ont été proposés: (i) l'utilisation de réseaux pour les grandes distances, (ii) l'utilisation de camions-citernes pour les moyennes et courtes distances et (iii) la distribution sous forme de bouteilles pour les courtes distances. L'utilisation de réseaux est la méthode la plus ancienne puisqu'au niveau mondial, il y a déjà 1000 km de réseaux comme celui de la vallée de la Ruhr, en Allemagne, ou le complexe industriel de La Porte, au Texas, qui distribuent de l'hydrogène à plusieurs industries. Dans le cas de la vallée de la Ruhr, il est important de noter qu'il n'y a eu aucun accident au cours des cinquante années de fonctionnement. Cependant, le principal inconvénient des réseaux d'hydrogène – comme d'ailleurs des camions-citernes et des bouteilles – est la nécessité d'employer des matériaux appropriés, capables de supporter les basses températures. Ce problème peut toutefois être solutionné grâce à l'utilisation de gaz naturel pour diluer l'hydrogène.

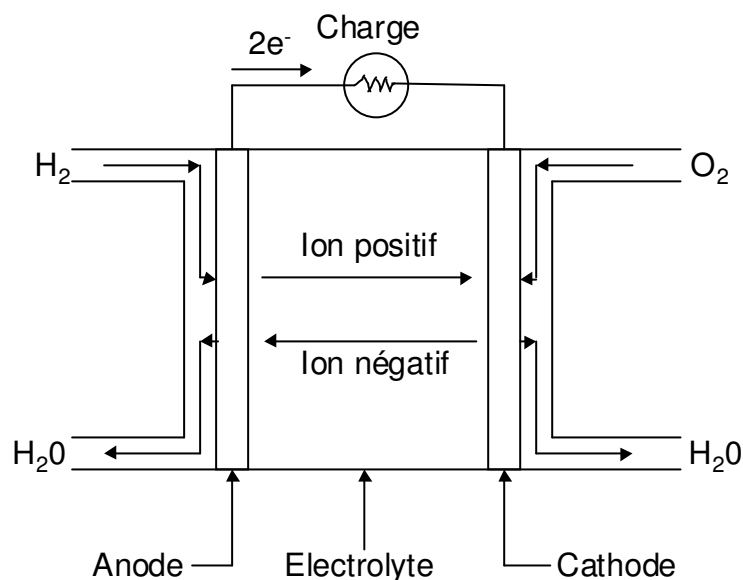
## **II.2 La pile à combustible**

Comme nous l'avons déjà mentionné, par rapport aux autres combustibles, l'hydrogène présente l'avantage de pouvoir stocker l'énergie issue d'autres sources énergétiques. La pile à combustible permet ensuite de convertir cet hydrogène en électricité.

Il est à noter que le principe de la pile à combustible a été inventé dans les années 1800 et ce, avant le moteur à combustion interne ! Son développement s'est ensuite accéléré à partir des

années 1960, principalement sous l'impulsion des programmes spatiaux de la NASA (Bjørnar *et al.*, 2002; Maddy *et al.*, 2003; Berry and Aceves, 2005). Aujourd'hui, les piles à combustibles sont utilisables pour des voitures particulières mais avec des rendements faibles, proches de 40 % seulement (Hetland and Mulder, 2007).

La pile à combustible fonctionne en fait comme une batterie, dans laquelle une membrane anodique et une membrane cathodique sont séparées par un électrolyte (FuelCellHandbook, 2000). L'anode et la cathode sont alimentées en continu par de l'hydrogène et de l'oxygène, respectivement, en produisant du courant électrique et de l'eau (Cf. Figure I.3). La principale différence entre une batterie et une pile à combustible est que cette dernière fonctionne uniquement s'il y a des débits d'hydrogène et d'oxygène et qu'elle ne consomme pas d'électrolyte. Leur inconvénient majeur réside dans la nécessité d'un catalyseur tel que le platine qui est relativement coûteux et sensible à l'empoisonnement.



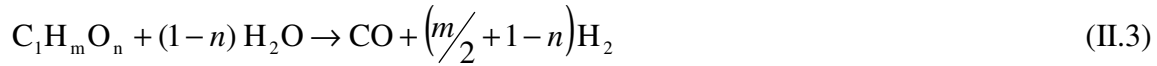
**Figure I.3** Principe de fonctionnement d'une pile à combustible à H<sub>2</sub>

### II.3 Réformage des combustibles fossiles

Actuellement, l'hydrogène est produit principalement à partir du réformage à la vapeur de combustibles fossiles tels que le méthane (Damen *et al.*, 2006). Près de 90 % de la production mondiale sont en effet obtenus par cette voie – soit 45 milliards de tonnes – mais cela engendre un niveau élevé de CO<sub>2</sub> (Maddy *et al.*, 2003). Le réformage des combustibles fossiles fait intervenir deux réactions:



Le réformage du charbon, du coke et d'autres solides carbonés est quant à lui décrit par la réaction suivante :



Ces diverses réactions se déroulent à des températures situées entre 800-900°C avec un catalyseur métallique tel que le nickel. Ces dernières années, plusieurs modifications technologiques ont été proposées afin de diminuer les quantités de CO<sub>2</sub> émises dans l'atmosphère. C'est le cas du réformage autothermique, du réformage avec des membranes et avec des unités d'absorption (Damen *et al.*, 2006), ou de l'utilisation d'un procédé hybride solaire-fossile dans lequel la chaleur est fournie par l'énergie solaire et les combustibles fossiles servent uniquement à produire de l'hydrogène (Zedtwitz *et al.*, 2006; Z'Graggen *et al.*, 2006). De plus, une partie des combustibles fossiles peut être transformée directement par réformage solaire, par cette réaction (Zedtwitz *et al.*, 2006):



Cependant, pour limiter à la fois le réchauffement planétaire et la disparition des combustibles fossiles, il est nécessaire d'imaginer des procédés de production durable d'hydrogène à partir de procédés non-biologiques ou biologiques.

## II.4 Les différentes voies non-biologiques de production d'hydrogène

La classification des procédés non-biologiques de production d'hydrogène est liée à leur énergie motrice. Par exemple, la chaleur est l'énergie motrice des procédés thermiques et l'électricité, celle des procédés d'électrolyse.

### II.4.1 Pyrolyse de la biomasse

La biomasse est ici transformée en hydrogène à hautes températures (autour de 700 °C) par un procédé semblable au réformage des combustibles carbonés et connu sous le nom de pyrolyse. Ces dernières années, ce procédé est devenu attractif grâce à la réduction des coûts obtenue en utilisant des déchets solides (Dowaki *et al.*, 2007) ou des boues d'une station d'épuration (Midilli *et al.*, 2002).

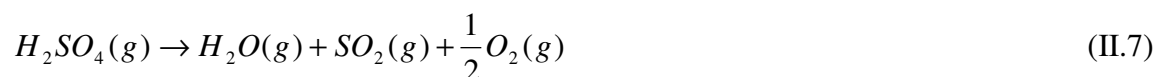
Actuellement, la pyrolyse présente des rendements proches de 30 % mais ceux-ci varient avec la température (Demirbas, 2007), l'humidité et les catalyseurs utilisés (Hao *et al.*, 2003; Wei *et al.*, 2007). Il est par ailleurs à noter que généralement, le réformage du gaz est couplé à la pyrolyse afin d'augmenter les quantités d'hydrogène produites (Demirbas, 2007; Dowaki *et al.*, 2007).

## II.4.2 Réformage de la vapeur d'eau

L'hydrogène peut également être produit à partir de la vapeur d'eau grâce à la rupture de cette molécule selon la réaction:



Malheureusement, cette réaction n'est pas spontanée et il est nécessaire de fournir une énergie thermique importante jusqu'à obtenir des températures proches de 2000 °C. L'utilisation de cycles thermiques a été proposée afin de réduire la quantité d'énergie nécessaire à la rupture des molécules d'eau en abaissant la température à 1250 °C (Maddy *et al.*, 2003). Le cycle thermochimique du sulfure-iode est le plus utilisé (Barbarossa *et al.*, 2006; Giaconia *et al.*, 2007) et a été inventé par *General Atomic* suivant les réactions:

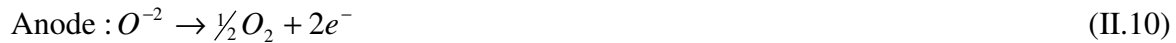


Cette méthode a été améliorée grâce à l'utilisation de catalyseurs comme le complexe Ag-Pd/PdO et le Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Barbarossa *et al.*, 2006) qui permettent de réduire la température utilisée à 600 °C.

## II.4.3 Electrolyse

L'hydrogène peut aussi être produit en utilisant de l'électricité afin de séparer l'eau en ses deux éléments constitutifs (Maddy *et al.*, 2003; Lessing, 2007). Les réactions se produisent dans un électrolyte conducteur d'ions oxygène ou de protons. Les températures nécessaires varient entre 80 °C et 1000 °C. Avec un électrolyte à ions oxygène, les températures doivent être proches de 1000 °C (Miri and Mraoui, 2007) et les réactions sont les suivantes:





Les cathodes utilisées sont constituées de membranes solides perméables à l'oxygène. Pour cette raison, l'hydrogène doit être séparé de la vapeur d'eau de différentes façons (Lessing, 2007). L'anode est habituellement constituée de nickel et de cuivre enduit d'oxydes de métaux comme le tungstène et le ruthénium. La cathode, quant à elle, est réalisée en nickel enduit de platine (Koroneos *et al.*, 2004).

Les électrolytes conducteurs de protons opèrent à des températures comprises entre 80 et 800 °C (Lessing, 2007) et suivant les réactions:



#### II.4.4 Nucléaire

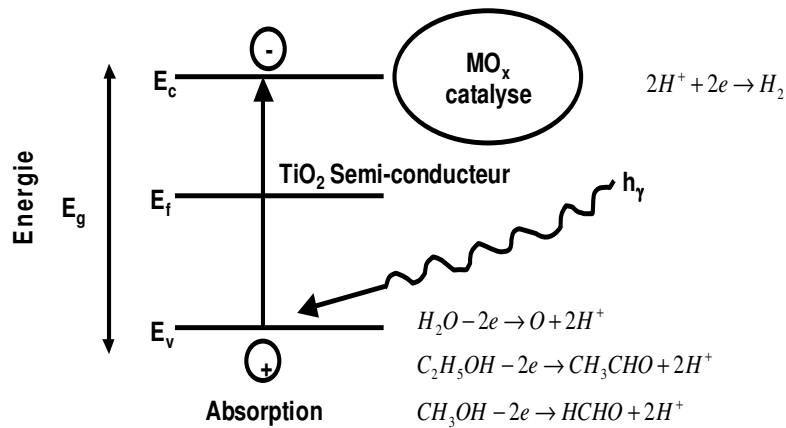
L'énergie nucléaire issue de la fission est utilisée actuellement pour la production d'électricité. Cependant, l'hydrogène peut également être produit directement à partir de l'énergie thermique libérée pendant la fission avec un rendement proche de 55 % (Piera *et al.*, 2006). Par électrolyse, il est possible d'obtenir des rendements compris entre 20 et 40 % à basses températures et jusqu'à 50 % pour de hautes températures (Piera *et al.*, 2006). L'électrolyse à hautes températures semble être un bon compromis car elle utilise l'électricité produite et la chaleur dégagée par l'énergie nucléaire.

#### II.4.5 Photochimique

L'utilisation de la photocatalyse est une voie supplémentaire de production d'hydrogène. La photocatalyse est une catalyse hétérogène où des matériaux semi-conducteurs couplés à des métaux sont utilisés pour déshydrogéner des composés organiques ou de l'eau (Cf. Figure I.4). Jusqu'à présent, des rayonnements ultraviolets ont été utilisés dans la plupart des expériences, bien qu'il soit envisagé d'utiliser de la lumière solaire afin de réduire les coûts. La figure I.4 montre le transfert d'énergie à partir de la bande de valence  $E_v$  jusqu'à la bande de conduction  $E_c$ . Le symbole  $M$  représente un métal de transition comme le Ti, Ru, Pd, etc. Le meilleur couple de photocatalyseurs découvert jusqu'à maintenant est le  $RuO_2/TiO_2$  en utilisant du méthanol et des rayonnements ultraviolets (Nada *et al.*, 2005). Le pH est un



facteur important de la photocatalyse avec des catalyseurs comme le  $\text{CuLaO}_{2.62}$  (Koriche *et al.*, 2006) et le  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (Gondal *et al.*, 2004).



**Figure I.4** Production photocatalytique d'hydrogène

### III LES PROCÉDÉS BIOLOGIQUES DE PRODUCTION D'HYDROGÈNE

En parallèle des diverses techniques présentées précédemment, l'hydrogène peut également être produit par des micro-organismes grâce aux systèmes enzymatiques des hydrogénases et des nitrogénases (Asada and Miyake, 1999).

#### III.1 Biochimie des systèmes enzymatiques de la production de l'hydrogène

Les hydrogénases sont des enzymes capables de produire de l'hydrogène ou de catalyser son oxydation, d'une façon réversible, en protons et électrons suivant les réactions (Desai *et al.*, 1999):

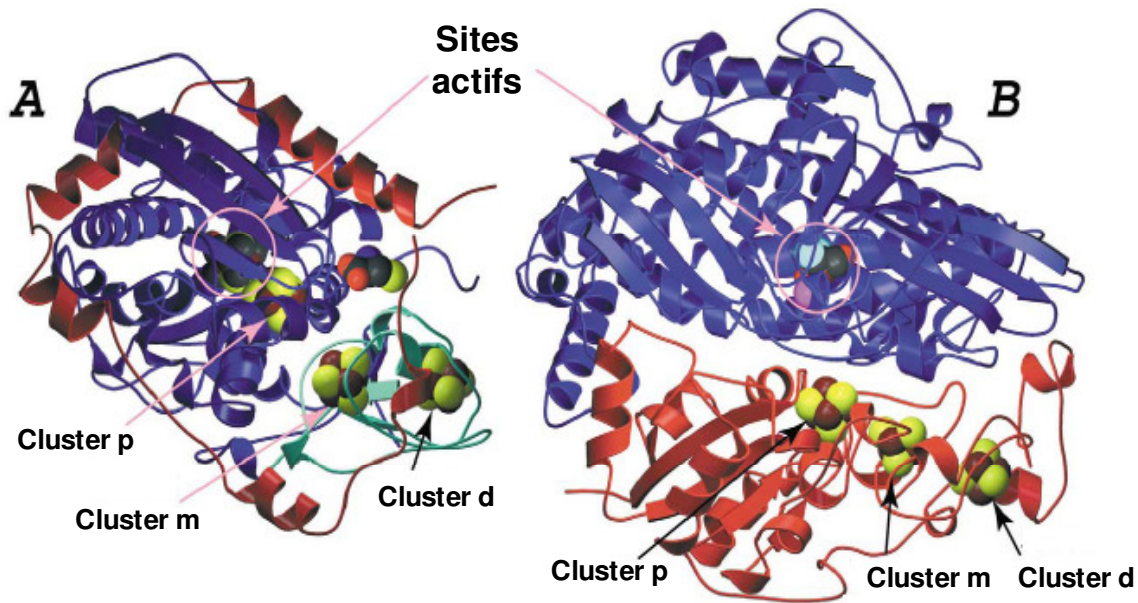


*Fd* est la ferredoxine et *NAD* est la nicotinamide adénine dinucléotide.

Dans la nature, les hydrogénases sont produites, sous conditions anaérobies ou microaérobies, par plusieurs bactéries et *archaea* (Laurinavichene *et al.*, 2001) qui utilisent l'hydrogène comme source d'électrons (Nicolet *et al.*, 2002).

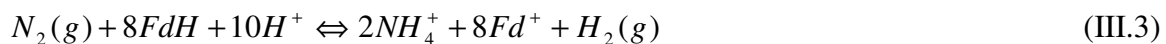
Les hydrogénases sont classées en trois types selon les centres actifs qui agissent comme coenzymes (Tamagnini *et al.*, 2002): les hydrogénases à Fe, les hydrogénases à NiFe et les

hydrogénases sans métaux. Les deux premiers types d'hydrogénases sont souvent liés à la consommation d'hydrogène (Adams and Mortenson, 1984). La configuration de leurs centres actifs (Cf. Figure I.5) leur permet d'avoir une bonne affinité aux molécules de gaz hydrophobes comme l'hydrogène (Nicolet *et al.*, 2002). Les cinétiques enzymatiques sont comprises entre 6000 et 9000 s<sup>-1</sup>, traduisant une grande spécificité de la réaction (Melis and Melnicki, 2006).



**Figure I.5** Structure cristalline des hydrogénases à Fe (A) et à NiFe (B) (Nicolet *et al.*, 2002)

Les nitrogénases sont des enzymes composées de deux protéines: la dinitrogénase, une protéine MoFe réduisant l'azote, et la dinitrogénase réductase, une protéine à Fe qui transfère les électrons à la dinitrogénase (Alberty 1994). Elles se retrouvent chez les cyanobactéries, les bactéries photosynthétiques pourpres et les bactéries photosynthétiques vertes sulfureuses. Ces enzymes réalisent trois réactions différentes :



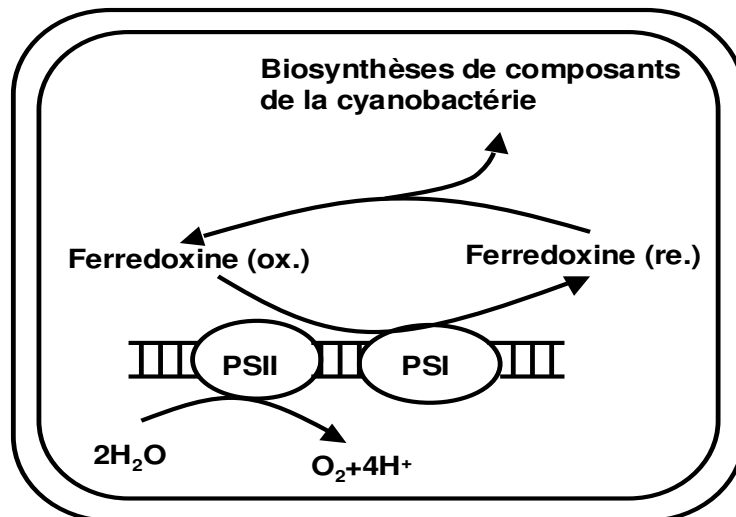
En absence d'azote, les nitrogénases ont la particularité d'agir comme des hydrogénases mais, au contraire des hydrogénases, elles ont des cinétiques de vitesse enzymatique relativement faibles, comprises entre 6 et 9 s<sup>-1</sup> (Melis and Melnicki, 2006). Les hydrogénases présentent, par ailleurs, l'inconvénient de nécessiter un environnement anaérobie et les nitrogénases de consommer des grandes quantités d'énergie.

Dans la littérature, les procédés qui utilisent des micro-organismes ont des rendements de conversion des substrats compris entre 16 et 45 % (Woodward *et al.*, 2000; Van Ginkel and Logan, 2005). Ils sont répartis en deux classes : ceux qui utilisent la lumière (*i.e.*, les photobioprocédés) et ceux qui réalisent une fermentation obscure par digestion anaérobie (Das et Veziroglu, 2001).

## **III.2 Les photoprocédés de production d'hydrogène**

### **III.2.1 Biophotolyse**

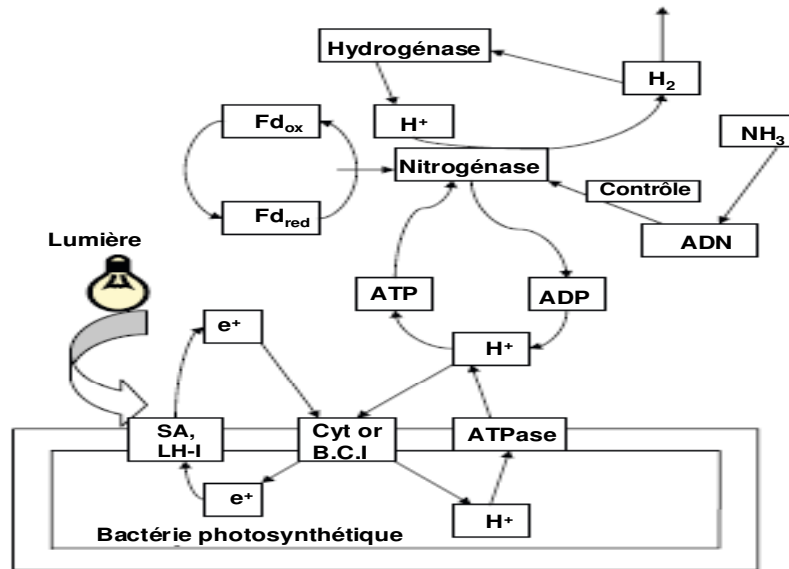
Les microalgues et les cyanobactéries sont capables de produire de l'hydrogène couplé à la photosynthèse grâce à des hydrogénases et des nitrogénases (Tamagnini *et al.*, 2002). La photosynthèse est réalisée par deux systèmes différents qui fonctionnent en série (*Cf.* Figure I.6). Le premier sépare les molécules d'eau (*i.e.*, Photosystème II, PSII) et le deuxième produit les réducteurs du CO<sub>2</sub> (*i.e.*, Photosystème I, PSI) et l'hydrogène (Melis and Happe, 2001). Les cyanobactéries profitent de façon importante des systèmes enzymatiques des nitrogénases et des hydrogénases. Les micro-organismes photoautotrophes utilisent les longueurs d'onde du spectre visible comprises entre 400 et 700 nm (Akkerman *et al.*, 2002; Melis and Melnicki, 2006). Jusqu'à présent, les micro-organismes produisant de l'hydrogène offrent des rendements de conversion de substrat de 3-10 % si l'oxygène est rapidement retiré du milieu (Akkerman *et al.*, 2002) et pour des rendements de conversion des photons supérieurs à 80 % (Melis and Happe, 2001). Ces types de procédés présentent plusieurs inconvénients : l'importante quantité d'énergie nécessaire à l'hydrolyse de l'eau (Miyake *et al.*, 1999) et l'auto-inhibition du procédé par l'oxygène produit lors de la première étape de la photosynthèse avec le système PSII, qui inhibe l'action des hydrogénases du PSI (Das and Veziroglu, 2001; Akkerman *et al.*, 2002). La production en « deux étapes » a été proposée afin d'éviter ce dernier problème. Cela consiste à faire des cycles de présence/absence de sulfure afin de limiter l'inhibition par l'oxygène, car celui-ci est induit par le sulfure (Melis and Happe, 2001; Kapdan and Kargi, 2006). Il a été aussi envisagé d'utiliser les cycles de lumière/obscurité afin de profiter de l'absence de production d'oxygène pendant la phase d'obscurité (Asada and Miyake, 1999; Akkerman *et al.*, 2002).



**Figure I.6** Production d'hydrogène à partir de la biophotolyse avec une cyanobactérie (Asada and Miyake, 1999).

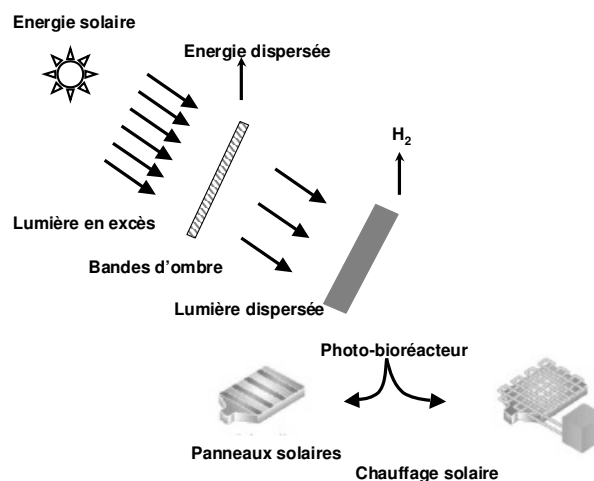
### III.2.2 Photodécomposition

L'hydrogène est également produit à partir de composés organiques par photofermentation à l'aide de micro-organismes photohétérotrophiques grâce aux nitrogénases (Das and Veziroglu, 2001; Akkerman *et al.*, 2002). Les bactéries photohétérotrophiques présentent plusieurs avantages par rapport aux microalgues: tout d'abord, elles sont anaérobie-facultatatives, ensuite les réactions de photodécomposition ont un  $\Delta G$  proche de zéro (Miyake *et al.*, 1999) et enfin, elles sont capables de travailler à des longueurs d'onde comprises entre 400 et 1000 nm, ce qui intègre une partie du spectre non-visible de la lumière et du proche infrarouge (Akkerman *et al.*, 2002; Melis and Melnicki, 2006).



**Figure I.7** Mécanisme de la production de l'hydrogène par des bactéries photosynthétiques (Basak and Das, 2007). SA, site actif; Cyt, Cytochrome; B.C.I Bactériochlorophylle I.

Les inconvénients de la photofermentation résident dans les faibles rendements de conversion de la lumière dans les photobioréacteurs et par l'inhibition due à l'excès de lumière (Wakayama and Miyake, 2002). Les rendements obtenus se situent autour de 4 %, sauf pour quelques mutants qui atteignent 35 % (Akkerman *et al.*, 2002; Shi and Yu, 2006). L'utilisation de réacteurs plans disposés en série et alimentés en parallèle est une solution au problème des faibles rendements car cette configuration permet l'utilisation de longueurs d'onde différentes avec des bactéries de différents types (Kondo *et al.*, 2002). Le deuxième inconvénient peut être résolu en utilisant des bandes pour faire des zones d'ombre, à l'aide de panneaux solaires, par exemple, de sorte que la radiation soit diminuée (figure I.8).



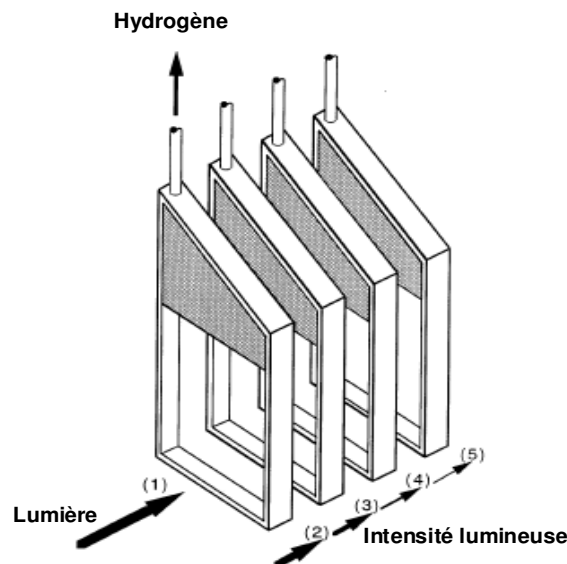
**Figure I.8** Dispersion de la lumière pour diminuer la photoinhibition

### III.2.3 Les photobioréacteurs

Les photobioréacteurs utilisés pour la production de l'hydrogène possèdent des caractéristiques différentes de celles des bioréacteurs habituels. En effet, ils doivent :

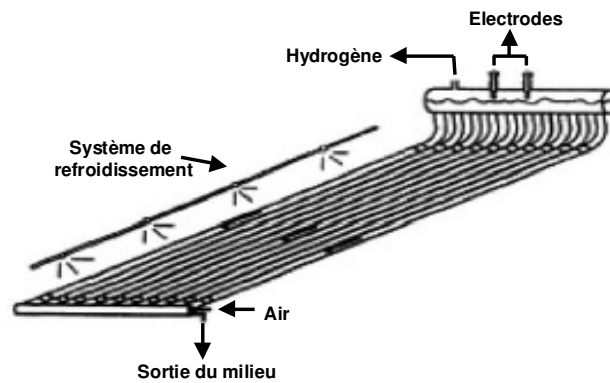
- permettre à l'hydrogène de sortir de la phase liquide,
- avoir un bon mélange afin d'être homogène,
- recevoir une bonne radiation lumineuse à tous les niveaux du réacteur.

Les deux types de photobioréacteurs les plus utilisés sont les réacteurs plans et les réacteurs tubulaires (Akkerman *et al.*, 2002). Les réacteurs plans sont constitués de compartiments rectangulaires de 1 à 5 cm d'épaisseur sur 1 m de large et de long (figure I.9). Ils sont alimentés avec des débits d'air qui varient entre 2,8 et 4,2 L.L<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup> et illuminés d'un seul côté. Les cycles de lumière/obscurité sont courts.



**Figure I.9** Exemple de photobioréacteur plan (Miyake *et al.*, 1999)

Les réacteurs tubulaires sont constitués de tubes de 3 à 6 cm de diamètre et de 10 à 100 m de long (figure I.10). Ils sont disposés de différentes manières : individuels ou en série, horizontaux (tubes droits ou en U), verticaux (cylindre ou cône) ou inclinés (tubes). Pour les deux types de réacteurs, l'aération est toujours un problème important.



**Figure I.10** Photobioréacteur à tubes (Kapdan and Kargi, 2006).

Finalement, le problème de la luminosité peut être résolu en utilisant des co-cultures d'algues et de photobactéries. De cette façon, il est possible de profiter de tout le spectre lumineux en utilisant un seul réacteur (Melis and Melnicki, 2006).

### **III.3 Les bioprocédés anaérobies de production d'hydrogène**

#### **III.3.1 La digestion anaérobie**

La digestion anaérobie est un des procédés biologiques les plus anciens utilisés par l'Homme. Les micro-organismes métabolisent la matière organique en absence d'oxygène et produisent un biogaz composé essentiellement de méthane et de gaz carbonique. D'une façon générale, quatre étapes interviennent (Cf. figure I.11). Tout d'abord la matière organique est fractionnée en sucres, lipides et protéines. Ceux-ci sont ensuite hydrolysés en acides aminés, monosaccharides et acides gras à longues chaînes à l'aide d'enzymes sécrétés par les micro-organismes. L'acidogénèse les transforme ensuite en acides gras volatils, dioxyde de carbone et hydrogène lors de l'acétogénèse et aboutit à l'acétate lors de l'acétogénèse. Finalement, l'acide acétique, le dioxyde de carbone et l'hydrogène sont convertis en méthane par des *archaeae*. Il s'agit d'un schéma réactionnel relativement complexe qui a été étudié depuis de nombreuses années mais dont la compréhension des premières étapes est encore limitée. Or, ces premières étapes sont cruciales pour la production anaérobie d'hydrogène puisqu'il s'agit de les favoriser tout en limitant les dernières étapes qui consomment l'hydrogène est consommé.

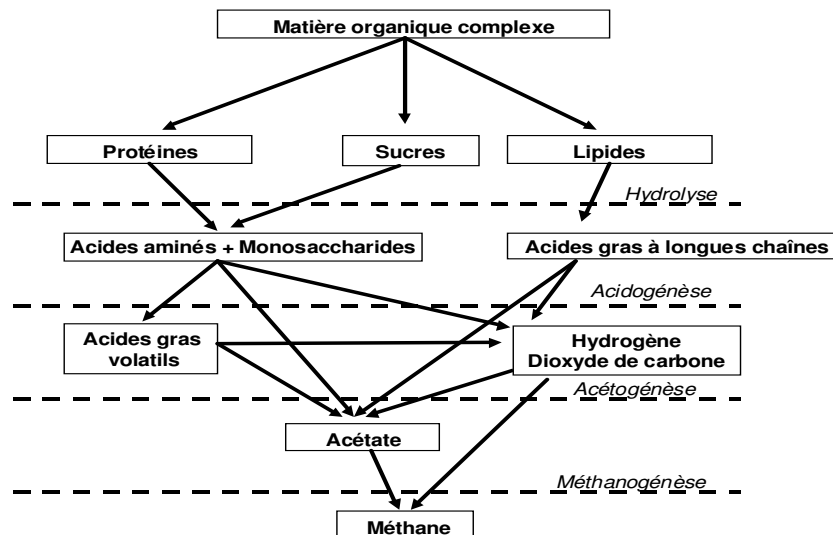


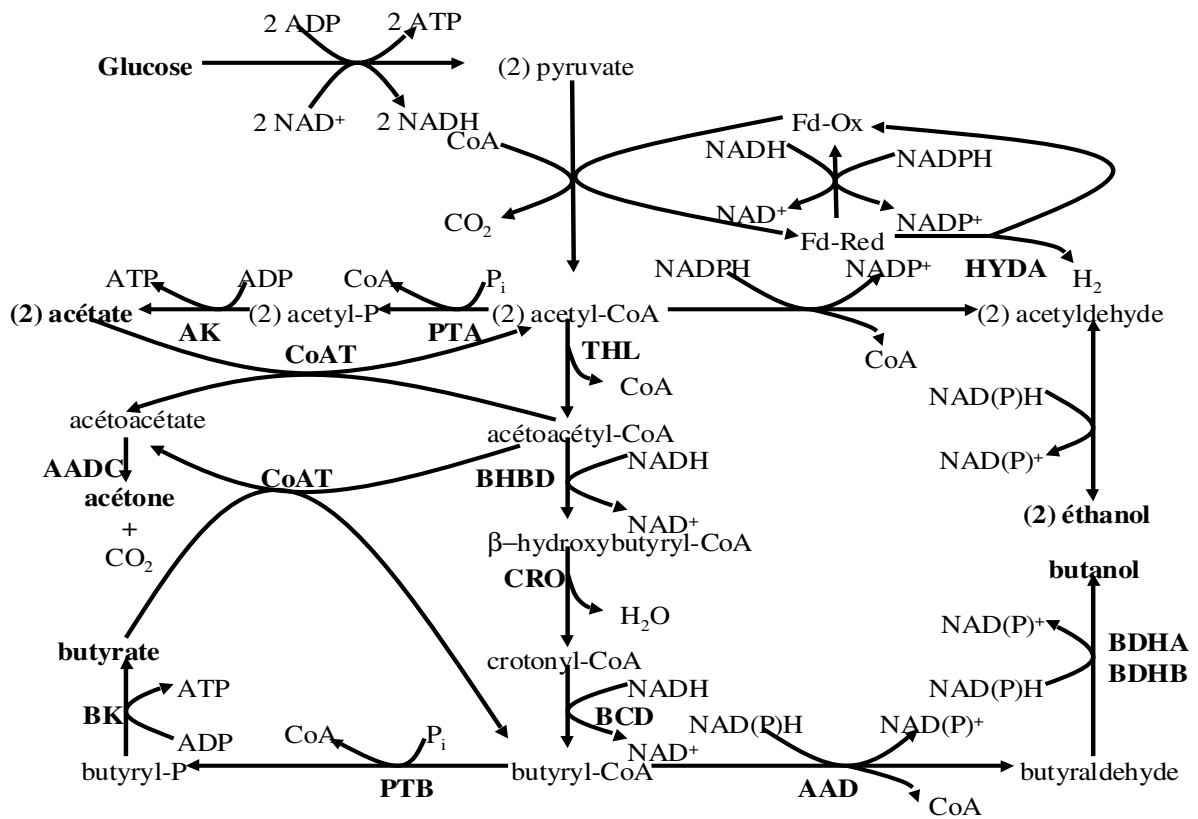
Figure I.11 Schéma réactionnel général de la digestion anaérobie

### III.3.2 Production anaérobie d'hydrogène

Le principal avantage des fermentations anaérobies par rapport aux procédés photobiologiques réside dans leurs vitesses de production supérieures et dans leur possibilité de travailler en absence de lumière et donc, aussi bien le jour que la nuit.

L'hydrogène est produit essentiellement durant l'acidogénèse des sucres par des espèces telles que *Enterobacter*, *Bacillus* et *Clostridium* (Hawkes *et al.*, 2002; Iyer *et al.*, 2004). Les voies biochimiques qui décrivent l'acidogénèse montrent que les réactions qui produisent de l'éthanol, du lactate et du propionate ne peuvent produire de l'hydrogène car elles sont en compétition pour le NADH (Cf. figure I.12). Par contre, celles qui produisent de l'acétate et du butyrate produisent de l'hydrogène (Vavilin *et al.*, 1995; Hawkes *et al.*, 2002). Les limitations énergétiques revêtent beaucoup d'importance. En effet, d'un strict point de vue stœchiométrique, il est possible de produire jusqu'à 4 moles d'hydrogène via l'acétate alors que c'est presque impossible d'un point thermodynamique. Cette limite est connue sous le nom de *limite de Thauer* (Hallenbeck, 2005). Elle établit que l'oxydation enzymatique du NADH, réalisée par les hydrogénases et associée à la production d'hydrogène, a besoin d'une pression partielle en hydrogène inférieure à  $10^{-3}$  atm. Ceci signifie que la limite supérieure de la production anaérobie d'hydrogène est de 4 moles par mole de glucose avec de faibles débits de gaz. Toutefois, dans la littérature, les rendements d'hydrogène obtenus sont proches de 2 moles/mole de glucose aboutissant à une production combinée d'acétate et de butyrate (Hallenbeck, 2005).





**Figure I.12** Principales voies biochimiques de l'acidogénèse (Desai *et al.*, 1999). (HYDA) hydrogénase, (PTA) phosphotransacétylase, (AK) acétate kinase, (THL) thiolase, (CoAT) acétoacétyl-CoA:acétatebutyrate: CoA transférase, (AADC) acétoacétate decarboxylase, (BHBD) b-hydroxybutyryl-CoA déhydrogénase, (CRO) crotonase, (BCD) butyryl-CoA déhydrogénase, (PTB) phosphotransbutyrylase, (BK) butyrate kinase, (AAD) aldehyde:alcool déhydrogénase, (BDHA&B) butanol déhydrogénase A & B.

### III.3.3 Facteurs influençant la fermentation anaérobie des composés organiques

Différents facteurs affectent l'étape d'acidogénèse et favorisent significativement la production d'hydrogène : la sélection de l'inoculum, la quantité et le type de minéraux ajoutés, la température, la nature du substrat utilisé, le pH, etc.

#### III.3.3 - a Le type d'inoculum

Des inoculum pur ou mixtes ont été utilisés en production d'hydrogène. *Clostridium butyricum* a été l'espèce la plus utilisée en culture pure (Yokoi *et al.*, 1998a; Yokoi *et al.*,

1998b; Yokoi *et al.*, 2001; Yokoi *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006a; Lin *et al.*) mais d'autres espèces telles qu'*Enterobacter* ont aussi été étudiées (Fabiano and Perego, 2002). Les cultures mixtes sont quant à elles issues de plusieurs sources telles que les boues de stations d'épuration (Chen *et al.*, 2002), les boues de compostage (Ueno *et al.*, 1996), les décanteurs (Fang *et al.*, 2002b) et les boues des digesteurs mésophiles (Lin and Chang, 1999; Zhang *et al.*, 2006b).

Trois méthodes sont généralement utilisées afin de sélectionner les espèces productrices d'hydrogène à partir de cultures mixtes. Ces méthodes mettent à profit la capacité de sporulation présente chez des espèces telles que *Clostridium*. Le traitement thermique des boues est la méthode la plus couramment utilisée (Li and Fang, 2007). Elle consiste en un chauffage des inoculums, typiquement une centaine de degrés Celsius pendant quelques dizaines de minutes (Lay, 2000; Van Ginkel and Sung, 2001; Iyer *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2006b; Mu *et al.*, 2007). La deuxième méthode consiste à appliquer, lors du fonctionnement en continu des réacteurs, des temps de séjour hydrauliques courts afin de lessiver les bactéries consommatrices d'hydrogène (Lee *et al.*, 2002b; Zhang *et al.*, 2006b). Cette méthode est basée sur le fait que les micro-organismes producteurs d'hydrogène se développent avec des taux de croissances supérieurs à celui des *archae*. Des chocs de pH, inférieurs à 4 ou supérieurs à 10, sont la dernière méthode appliquée afin d'enrichir une culture mixte (Chen *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2006b). Certains auteurs utilisent une combinaison de ces diverses méthodes afin d'obtenir une bonne sélection des micro-organismes. Ainsi, Zhang *et al.* (2006b) ont utilisé le choc thermique associé au choc de pH. D'autres auteurs ont préféré travailler avec de faibles temps de séjour associés à un pH bas (Fang and Liu, 2002; Lee *et al.*, 2002b) ou avec un prétraitement thermique (Iyer *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2006b).

### **III.3.3 - b Composition du milieu en minéraux et en métaux**

De nombreuses références montrent l'importance de la composition du milieu pour les bactéries productrices d'hydrogène. Ainsi, Lin et Chen (2006) ont montré qu'en réacteur continu (CSTR) fonctionnant à un pH de 6,7, les ions  $SO_4^{2-}$  orientent la fermentation acéto-butyrrique vers le métabolisme d'une fermentation éthanolique, avec une concentration optimale de 3000 mg/L pour un pH de 5,5.

La concentration en ions  $Fe^{2+}$  dans le milieu est également très importante car il s'agit d'un constituant des hydrogénases (Das and Veziroglu, 2001). La quantité d'ions  $Fe^{2+}$  varie avec la température, une augmentation de la température permettant d'avoir une meilleure activité des

enzymes (Zhang and Shen, 2006). Cependant, une concentration élevée peut diminuer le rendement de production de l'hydrogène. Dans la littérature, deux concentrations en  $\text{Fe}^{2+}$  sont jugées optimales à 35 °C : Lin et Lay (2005) ont fait varier la concentration de plusieurs minéraux et ils ont trouvé une concentration optimale en  $\text{Fe}^{2+}$  de 3 mg/L. Par contre, Zhang and Shen (2006) ont modifié seulement les concentrations des ions  $\text{Fe}^{2+}$  en laissant constantes celles des autres minéraux et ils ont trouvé que la concentration optimale d'ions  $\text{Fe}^{2+}$  était de 200 mg/L à une température proche de 35 °C (Zhang *et al.*, 2005). La différence entre ces deux études se trouve dans la gamme des concentrations de  $\text{Fe}^{2+}$  étudiées: Lin et Lay (2005) ont utilisé des concentrations comprises entre 0 et 5 mg/L tandis que Zhang *et al.* ont travaillé avec des concentrations comprises entre 0 et 5000 mg/L.

Les concentrations en carbone et en azote sont également intimement liées. Lin et Lay (2004a) ont ainsi montré que le ratio C/N optimal était de 47 en utilisant le saccharose comme substrat carboné. De plus, ils ont souligné une dérive métabolique de la production d'acétate vers celle de l'éthanol quand le ratio C/N diminue. Ils ont démontré qu'il était possible de limiter la concentration en carbone en utilisant des phosphates, ce qui réduit également le temps de latence. Par ailleurs, de fortes concentrations en ions  $\text{NH}_4^+$  ont une activité toxique sur les bactéries productrices d'hydrogène (Lin and Lay, 2004b). Cette inhibition peut être diminuée en réacteur continu avec de faibles concentrations en ammonium (Salerno *et al.*, 2006). Ils ont ainsi obtenu des concentrations optimales en ions phosphate et ammonium avec un mélange de 1250 mg/L de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , 200 mg/L de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 163 mg/L de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pour un rendement de production d'hydrogène de 0,84 mol- $\text{H}_2$ / mol-hexose sur du saccharose. Enfin, une étude très générale des minéraux utilisés pour la production d'hydrogène a été faite par Lin and Lay (2005), en utilisant le saccharose comme substrat. Ils ont trouvé que les minéraux les plus importants étaient le magnésium, le sodium, le zinc et le fer avec des concentrations optimales de 120 mg/L de  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 1000 mg/L de  $\text{NaCl}$ , 0,5 mg/L de  $\text{ZnCl}_2$  et 3 mg/L de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

### III.3.3 - c Température

Comme pour tous les procédés biologiques, la température est un facteur à contrôler car elle réduit l'énergie d'activation des enzymes. Bien que pour les hydrogénases, la température optimale soit de 50 °C (Adams and Mortenson, 1984), des températures mésophiles comprises entre 35 et 37 °C ont été utilisées pour la plupart des études s'intéressant à la production d'hydrogène (Kraemer, 2004; Li and Fang, 2007). La principale raison est liée à une

instabilité plus grande des procédés thermophiles par rapport aux procédés mésophiles (Hawkes *et al.*, 2002). Lin and Chang (2004) ont également montré qu'une température inférieure à 35 °C nécessitait des temps de séjour plus longs afin d'avoir une bonne production d'hydrogène. Mu *et al.* (2006) ont, quant à eux, étudié les variations du rendement de conversion du substrat en hydrogène pour une gamme de températures allant de 33° à 41 °C. Ils ont observé que l'augmentation de la température orientait le métabolisme de l'éthanol vers le butyrate et augmentait aussi le rendement de conversion. Ils ont également estimé l'énergie d'activation pour la production de l'hydrogène à environ 107,66 kJ/mol. Finalement, Li et Fang (2007) ont montré, au travers d'une étude bibliographique, que les rendements et les taux de production d'hydrogène étaient similaires pour les températures mésophiles et thermophiles mais que les rendements étaient plus faibles pour des températures ambiantes (Lin and Chang, 2004; Li and Fang, 2007).

### **III.3.3 - d Nature du substrat**

Les espèces de type *Clostridium* ont une prédilection pour les sucres et particulièrement pour le glucose (Mitchell *et al.*, 1995). Ainsi, les substrats synthétiques les plus utilisés pour produire de l'hydrogène sont le glucose (Lin and Chang, 1999; Chen and Lin, 2001; Lin and Chang, 2004; Van Ginkel and Logan, 2005; Mu *et al.*, 2006; Li and Fang, 2007) et le saccharose (Chen and Lin, 2001; Lee *et al.*, 2002b; Chen and Lin, 2003; Lin and Lay, 2004b; Lin and Lay, 2004a; Chen *et al.*, 2005; Hussy *et al.*, 2005; Lin and Lay, 2005; Zhang *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2006a; Lin and Chen, 2006; Zhang and Shen, 2006; Mu *et al.*, 2007). Des sucres plus complexes ont toutefois été utilisés comme la cellulose (Ueno *et al.*, 1995; Lay, 2001), les effluents de levureries (Guwy *et al.*, 1997), les effluents d'une distillerie de riz (Yu *et al.*, 2002), les déchets alimentaires (Han and Shin, 2004; Shin *et al.*, 2004), les déchets de la production du biodiesel (Nishio and Nakashimada, 2007), les déchets ménagers (Lay *et al.*, 1999; Nielsen *et al.*, 2001) et les mélasses (Tanisho and Ishiwata, 1995; Ueno *et al.*, 1996).

### **III.3.3 - e pH**

Li et Fang (2007) ont répertorié 22 pH optimaux dans la littérature, ces différents pH étant principalement obtenus lors d'études en réacteurs discontinus et sans régulation du pH.

Pour les études comportant une régulation du pH sur substrat synthétique, les pH optimaux sont compris entre 5,2 et 7,0. Par contre, lorsque le substrat est un effluent ou un déchet, la gamme de pH est plus réduite et est comprise entre 5,2 et 5,6.

Le pH modifie en effet le métabolisme de la production d'hydrogène. Fang et Liu (2002) ont par exemple montré que l'acétate était favorisé à un pH de 6,5 alors que le butyrate est favorisé à un pH inférieur à 6,0. D'autres pH optimaux ont été reportés pour favoriser d'autres produits comme un pH de 4,3 pour le butanol (Kim *et al.*, 2004), un pH compris entre 4,5 et 6,0 pour l'éthanol et compris entre 5,0 et 6,0 pour le propionate (Hwang *et al.*, 2004).

### **III.3.3 - f Inhibitions et autres difficultés**

La production d'hydrogène au sein d'un réacteur anaérobie peut être perturbée par divers facteurs comme des inhibitions, la sporulation et des problèmes de transfert de matière entre la phase liquide et la phase gazeuse.

Noike *et al.* (2002) ont par exemple montré que certaines bactéries lactiques produisaient des inhibiteurs des espèces *Clostridium*. Zheng et Yu (2005) ont, quant à eux, décrit l'inhibition par le butyrate par un mécanisme non-compétitif.

La sporulation est un autre problème qui peut se produire avec les micro-organismes producteurs d'hydrogène, surtout chez les espèces *Clostridium*. Elle est le résultat de la mise en place d'un système de protection lorsque les conditions ne sont pas favorables, comme un excès de nutriments, la présence d'oxygène, une baisse du pH (Sauer *et al.*, 1995) ou l'interruption de l'alimentation pendant plus de six heures (Hawkes *et al.*, 2002).

La solvatogénèse, quant à elle, produit des solvants à la place des acides et de l'hydrogène; elle est liée à l'accumulation toxique de substrats (Yu *et al.*, 2002), à l'accumulation des acides et à un pH inférieur à 5 (Sauer *et al.*, 1995; Hawkes *et al.*, 2002) ou au démarrage du réacteur (Hussy *et al.*, 2005).

Les réacteurs anaérobies présentent également une sursaturation des gaz dans la phase liquide (Pauss *et al.*, 1990; Kraemer, 2004) qui favorise la formation de bulles (Pauss *et al.*, 1990; Merkel and Krauth, 1999). Cette sursaturation peut toutefois empêcher thermodynamiquement les réactions productrices d'hydrogène et la conversion du NADH en hydrogène par les hydrogénases (Tanisho *et al.*, 1998; Mizuno *et al.*, 2000; Hallenbeck, 2005), voire en autoriser sa consommation (Kim *et al.*, 2006a). C'est pourquoi, il est important d'avoir un bon contrôle de la concentration en gaz dissous. Deux méthodes ont été utilisées pour extraire les gaz dissous : l'utilisation d'un gaz inerte, comme l'azote ou le

dioxyde de carbone, et l'augmentation de la vitesse d'agitation. Le balayage avec un gaz inerte comme l'azote (Tanisho *et al.*, 1998; Mizuno *et al.*, 2000; Hussy *et al.*, 2005) peut parfois avoir des résultats spectaculaires comme une augmentation de 80 % du rendement de la production d'hydrogène (Hussy *et al.*, 2005). Ceci étant, dans cette étude, le rendement était relativement faible puisque inférieur à 0,85 moles-H<sub>2</sub>/mol-hexose sur du saccharose. Kim *et al.* (2006a) ont également démontré que l'usage du dioxyde de carbone permettait d'avoir de meilleurs rendements que celui de l'azote car ce dernier inhibe les micro-organismes qui consomment l'hydrogène. Finalement, l'augmentation de la vitesse d'agitation de 100 à 500 tr/min a permis à Lay (2000) de doubler les rendements qui sont passés de 0,74 moles-H<sub>2</sub>/mol-hexose à 1,70 moles-H<sub>2</sub>/mol-hexose sur de l'amidon.

### **III.3.3 - g Temps de séjour**

Différents types de réacteurs continus ont déjà été utilisés pour produire de l'hydrogène tels que des réacteurs à flux ascendant (Yu *et al.*, 2002), à flux ascendant avec biomasse fixée sur des billes de verre (Zhang *et al.*, 2006a) ou sur charbon actif (Chang *et al.*, 2002), des réacteurs à membranes (Oh *et al.*, 2004), des réacteurs infiniment mélangés et des réacteurs mélangés à floccs bactériens (Fang *et al.*, 2002a).

Cependant, les réacteurs les plus utilisés sont les réacteurs infiniment mélangés (Kraemer, 2004; Li and Fang, 2007). En effet, les réacteurs à biomasse fixée présentent d'éventuels problèmes de colmatage (Zhang and Shen, 2006) et imposent des temps de séjours importants aux bactéries fixées, ce qui favorise les consommations d'hydrogène (Kraemer, 2004; Koskinen *et al.*, 2007). De plus, Ueno *et al.* (1996) ont montré que l'homoacétogénèse était favorisée par les longs temps de séjour, ce qui a un impact négatif sur la production d'hydrogène.

Dans la littérature, le plus faible temps de séjour utilisé est d'une heure (Van Ginkel and Logan, 2005) mais les temps de séjour optimaux sont généralement compris entre 3 et 8 h pour des alimentations avec du glucose ou du saccharose (Li and Fang, 2007). Par exemple, Lin and Chang (1999) ont montré qu'à un pH de 5,7, la production d'hydrogène augmentait avec la diminution du temps de séjour, avec une valeur optimale de 6 heures. D'autres études se sont intéressées à l'effet de la diminution du temps de séjour pour une concentration constante en saccharose (Ueno *et al.*, 1996; Chen and Lin, 2001, 2003) ou en glucose (Chen and Lin, 2001). Elles ont montré que le pourcentage d'hydrogène augmentait quand le temps de séjour diminuait jusqu'à une limite de 2 heures à partir de laquelle apparaissait le lessivage

(Chen and Lin, 2003). Van Ginkel et Logan (2005) ont également démontré que le temps de séjour avait un effet plus important que la charge volumique appliquée.

### III.3.3 - h Rendements de production

Le tableau I.3 présente un résumé de la littérature des différents rendements obtenus en utilisant des réacteurs continus. Ce tableau prend en compte le type de réacteur, le pH, la température, le temps de séjour hydraulique (TSH), la charge volumique appliquée (CVA) et le type d'inoculum. En général, les bons rendements correspondent à de faibles débits en hydrogène. Cette relation n'empêche pas d'obtenir des débits d'hydrogène élevés en augmentant la charge volumique appliquée. Les meilleurs rendements ont, par ailleurs, été obtenus en utilisant des réacteurs infiniment mélangés avec comme substrat du saccharose (2,26 mol d'H<sub>2</sub>/mol-hexose – Chen and Lin, 2003) et du glucose (2,8 mol d'H<sub>2</sub>/mol-hexose – Van Ginkel and Logan, 2005). Ces résultats sont très intéressants puisque le rendement théorique maximal estimé en conditions anaérobies à partir du glucose est de 3,26 mol-H<sub>2</sub>/mol-hexose (Chen *et al.*, 2006b). Ce rendement a pris en compte la formation de la biomasse par *Clostridium butyricum*. De plus, dans le cas du glucose, les rendements élevés sont liés aussi à la sélection de l'inoculum. Finalement, il est important de souligner que des espèces telles que *Klebsiella pneumoniae* permettent d'atteindre des rendements théoriques plus élevés allant jusqu'à 6,68 mol-H<sub>2</sub>/mol-hexose en conditions microaérobies (Chen *et al.*, 2006b) qui sont des conditions très difficiles à maintenir en pratique.

**Tableau I.3** Meilleurs rendements obtenus dans la littérature pour des réacteurs continus

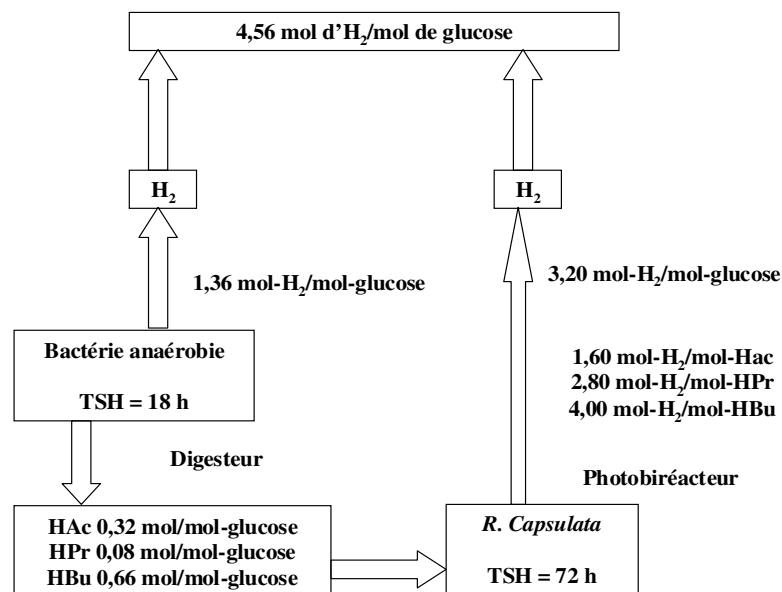
| Alimentation       | Type de réacteur                         | pH  | Température (°C) | TSH (h) | CVA ( $g_{CO_2} \cdot L^{-1} \cdot j^{-1}$ ) | Rendement ( $molH_2 \cdot mol^{-1} \cdot hexose^{-1}$ ) | Débit $H_2$ ( $mLH_2 \cdot h^{-1}$ ) | Inoculum                                     | Référence                    |
|--------------------|--|-----|------------------|---------|--|---|--------------------------------------|--|------------------------------|
| Glucose            | Infiniment mélangé                       | 5,7 | 35               | 6       | 80   | 1,7   | 209                                  | Boues de digesteur                           | (Lin and Chang, 1999)        |
| Glucose            | Infiniment mélangé                       | 5,5 | 36               | 6       | 30   | 2,1   | 97                                   | Boues de réacteur d'hydrogène (choc pH)      | (Fang and Liu, 2002)         |
| Glucose            | Semi-continu                             | 5,0 | 35               | 72      | 5  | 1,4   | 43                                   | Boues de digesteur                           | (Hwang <i>et al.</i> , 2004) |
| Glucose            | Infiniment mélangé                       | 5,5 | 37               | 10      | 24   | 1,8   | 436                                  | Sol (choc thermique)                         | (Iyer <i>et al.</i> , 2004)  |
| Glucose            | Lit fixe                                 | 6,7 | 35               | 1       | 480  | 0,5   | 1210                                 | Boues de digesteur (choc thermique)          | (Chang <i>et al.</i> , 2002) |
| Glucose            | Bioréacteur à membrane                   | 5,5 | -                | 3,3     | 77   | 1,0   | 640                                  | Boues de digesteur (choc thermique)          | (Oh <i>et al.</i> , 2004)    |
| Glucose            | Infiniment mélangé                       | -   | 30               | 10      | 6  | 2,8   | 65                                   | Sol (choc thermique)                         | (Van Ginkel and Logan, 2005) |
| Glucose            | Infiniment mélangé                       | -   | 30               | 1       | 240  | 2,8   | 65                                   | Sol (choc thermique)                         | (Van Ginkel and Logan, 2005) |
| Saccharose         | Infiniment mélangé                       | 6,7 | 35               | 13,3    | 40   | 2,23  | 2500                                 | Boues de décanteurs aérobie                  | (Chen and Lin, 2001)         |
| Saccharose         | Infiniment mélangé                       | 7,0 | 35               | 8       | 67   | 2,26  | 662                                  | Boues de décanteurs aérobie                  | (Chen and Lin, 2003)         |
| Saccharose         | Infiniment mélangé                       | 7,0 | 35               | 179     | 67   | 1,44  | 1121                                 | Boues de décanteurs aérobie                  | (Chen and Lin, 2003)         |
| Saccharose         | Infiniment mélangé avec des floes        | 5,5 | 26               | 6       | 52   | 1,95  | 541                                  | Boues de décanteurs aérobie                  | (Fang <i>et al.</i> , 2002a) |
| Saccharose         | Infiniment mélangé avec des floes        | 6,0 | 35               | 6       | 80   | 1   | 1810                                 | Boues de décanteurs aérobie (choc thermique) | (Wu and Chang, 2007)         |
| Saccharose         | Infiniment mélangé (balayage au $CO_2$ ) | 5,3 | 35               | 12      | 40   | 1,68  | 660                                  | Boues anaérobies (choc thermique)            | (Kim <i>et al.</i> , 2006a)  |
| Distillerie de riz | Flux ascendant                           | 5,5 | 55               | 2       | 408  | 2,14  | 159                                  | Boues de décanteurs aérobie                  | (Yu <i>et al.</i> , 2002)    |
| Amidon             | Infiniment mélangé (balayage à $N_2$ )   | 5,2 | 35               | 12      | 21   | 1,87  | 123                                  | Boues anaérobies (choc thermique)            | (Hussy <i>et al.</i> , 2003) |



### III.4 Couplage des procédés de production de biohydrogène

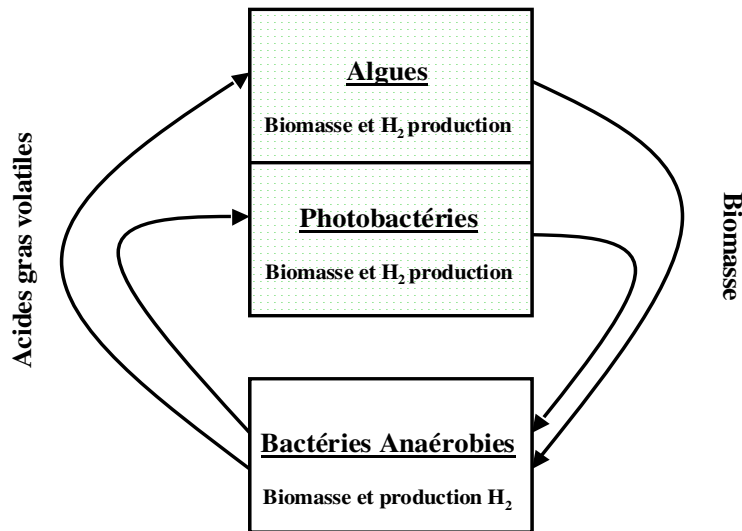
Le couplage de différents procédés biologiques a été imaginé afin d'augmenter les rendements de conversion en hydrogène et plusieurs configurations ont été imaginées et testées expérimentalement.

Un premier exemple est un procédé en deux étapes dont la première étape est une fermentation anaérobie produisant de l'hydrogène et des acides gras volatils. Dans la deuxième étape, les acides gras volatils sont métabolisés en hydrogène par des micro-organismes photo-hétérotrophes (Yokoi *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2002a; Yokoi *et al.*, 2002; Shi and Yu, 2006). Cette configuration permet d'atteindre un rendement estimé de l'ordre de 4,56 mol-H<sub>2</sub>/mol-hexose (Cf. figure I.13), ce qui représente 38 % du rendement théorique (12 moles-H<sub>2</sub>/mole-hexose) de la décomposition totale du glucose en H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> (Shi and Yu, 2006). Malheureusement, si ces co-cultures bactéries anaérobies/bactéries photo-hétérotrophes permettent d'avoir des rendements élevés proches de 4,5 molH<sub>2</sub>/mol-hexose, ils n'autorisent que de faibles taux de production (Yokoi *et al.*, 1998a).



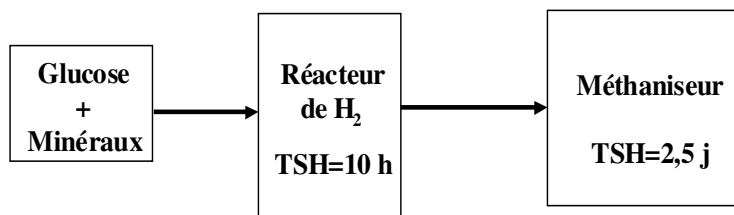
**Figure I.13** Couplage d'un digesteur anaérobie et d'une photofermentation (Shi and Yu, 2006)

Un autre exemple est présenté à la figure I.14 avec l'intégration de trois procédés biologiques en deux étapes différentes. Pendant la première étape, une co-culture d'algues et de bactéries photohétérotrophes produit de l'hydrogène et de la biomasse. Dans la deuxième étape, les bactéries anaérobies consomment la biomasse produite précédemment. On peut aussi envisager un recyclage des nutriments issus de la deuxième étape (Kim *et al.*, 2006b; Melis and Melnicki, 2006).



**Figure I.14** Intégration des procédés de production d'hydrogène (Melis and Melnicki, 2006)

Un dernier exemple est le couplage réacteur de production d'hydrogène avec un réacteur de méthanisation (Cf. figure I.15). Le méthane ayant un apport énergétique égal à 800 kJ/mole, la production d'hydrogène dans une première étape, et de méthane dans une deuxième, permet d'obtenir une distribution des productions d'énergie de 37,5 % et 62,5 % pour chacun des gaz respectivement. Liu *et al.* (Liu *et al.*, 2006) ont par ailleurs montré qu'une telle configuration était capable d'améliorer les rendements de production du méthane. Cette configuration peut toutefois présenter des problèmes de contamination si la sortie du deuxième réacteur est recyclé dans le premier (Kraemer and Bagley, 2005).



**Figure I.15** Couplage d'un réacteur produisant de l'hydrogène avec un méthaniseur

## IV MODELISATION DE LA DIGESTION ANAEROBIE ET DE LA PRODUCTION D'HYDROGENE

Les modèles de la digestion anaérobie ont des degrés divers de complexité, allant de modèles très simples jusqu'à des modèles très complexes. Cette différence de complexité provient essentiellement du niveau de prise en compte des régulations métaboliques et des inhibitions. Nous avons identifié trois catégories de modèles prenant en compte les AGV (Acides gras

volatils) non dissociés, l'ammoniaque ou l'hydrogène et une dernière catégorie concernant des effluents particuliers. Après une description sommaire de ces modèles, nous détaillerons plus particulièrement les modèles qui utilisent l'hydrogène comme régulateur métabolique.

#### **IV.1 Les modèles de digestion anaérobie utilisant les AGV non dissociés**

Les premiers modèles de digestion anaérobie s'intéressaient essentiellement à décrire parfaitement la dernière étape du processus réactionnel, à savoir la méthanogénèse. C'est en particulier le cas des modèles de Graef et Andrews (1974), Hill et Barth (1977), Kleinstreuer et Poweigha (1982) et Moletta *et al.* (1986). Ces modèles sont tous basés sur le modèle d'Andrews pour lequel les AGVs sont uniquement représentés par l'acide acétique. Ils considèrent de plus que les acides gras volatils non dissociés inhibent la méthanogénèse, ce qui explique les phénomènes d'accumulation des AGVs. Les lois cinétiques utilisées sont de type Haldane pour prendre en compte cette inhibition (Lyberatos and Skiadas, 1999). Ces modèles ont, par la suite, évolué jusqu'à considérer plusieurs étapes et plusieurs groupes bactériens. Ainsi, le modèle proposé par Kalyuzhnyi (Kalyuzhnyi, 1997; Kalyuzhnyi and Davlyatshina, 1997) considère cinq étapes avec cinq groupes de micro-organismes, ayant des fonctions dépendantes du pH.

#### **IV.2 Les modèles de digestion anaérobie utilisant l'ammonium**

La majorité des modèles de digestion anaérobie ne sont pas capables de décrire d'une façon appropriée la digestion anaérobie de substrats complexes chargés en ammoniaque tels que les lisiers à cause des effets du pH et de l'ammonium (Lyberatos and Skiadas, 1999). Le premier modèle capable de représenter correctement la digestion des lisiers a été proposé par Angelidaki (1993). Ce modèle prend en compte quatre étapes différentes : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse. Il suppose que l'ammonium inhibe la méthanogénèse, que l'acétate inhibe l'acétogénèse et que les AGV totaux inhibent l'acidogénèse. Des fonctions d'inhibitions non-compétitives sont utilisées en faisant dépendre l'ionisation de l'ammonium du pH et de la température. Le modèle de Siegriest *et al.* (1993), développé à l'origine pour la digestion anaérobie des boues de stations d'épuration, intègre lui aussi l'ammonium dans les termes de lyse et d'hydrolyse de la biomasse et donne une équation de prédiction du pH.

### **IV.3 Les modèles de digestion anaérobie d'effluents particuliers**

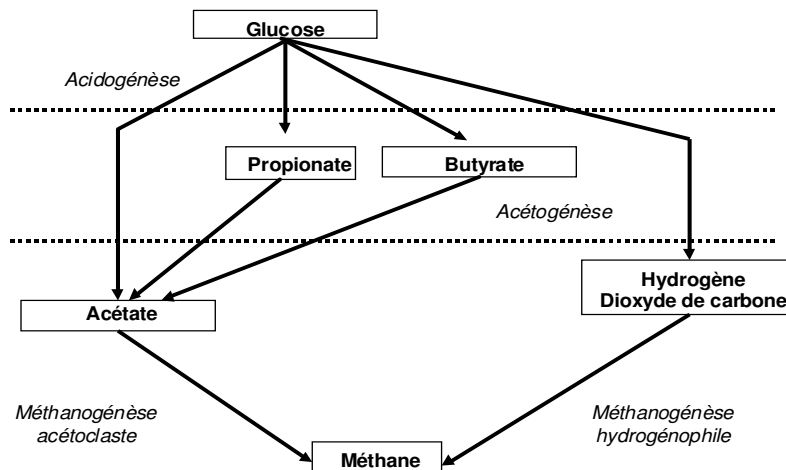
Les modèles d'effluents particuliers considèrent la matière organique comme un tout, au travers de la demande chimique en oxygène (DCO) et ne prennent pas en compte sa composition spécifique. Ils simplifient, de fait, leur degré de complexité mais limitent leur application à des effluents peu variables en composition (Gavala *et al.*, 2006). Ces modèles ont, par exemple, été utilisés pour la codigestion d'effluents de porcherie et d'effluents d'industries oléicoles et laitières (Gavala *et al.*, 1996) ou la digestion de vinasses de distillerie (Bernard *et al.*, 2001). Le premier modèle considérait quatre réactions avec trois groupes de micro-organismes, alors que le deuxième modèle considérait seulement deux réactions avec deux types de micro-organismes (*i.e.*, acidogènes et méthanogènes) mais il a été validé sur une large gamme de fonctionnements (Steyer and Bernard, 2001).

### **IV.4 Les modèles de digestion anaérobie utilisant l'hydrogène**

Le premier modèle prenant en compte la concentration en hydrogène a été développé par Mosey (1983) et considère quatre groupes des micro-organismes (*Cf.* figure I.16). Cette structuration est basée sur les différences des vitesses de croissance : les micro-organismes à croissance rapide sont les acidogènes et les hydrogénotrophes producteurs de méthane, alors que les micro-organismes à croissance lente sont ceux liés à la production et à la consommation d'acétate. Dans ce modèle, l'hydrogène joue le rôle de régulateur du potentiel d'oxydo-réduction de la cellule (Mosey, 1983; Gavala *et al.*, 2003). Les hypothèses fortes sont les suivantes :

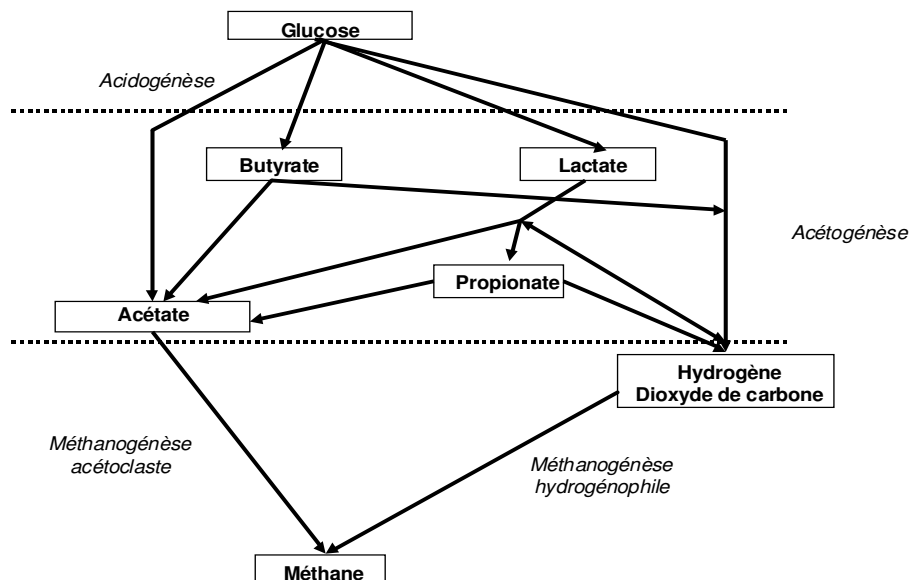
- le pH intérieur de la cellule est neutre,
- l'hydrogène diffuse rapidement au travers de la membrane bactérienne, avec une pression partielle identique à l'intérieur de la cellule et dans la phase liquide,
- le potentiel redox est identique à l'intérieur de la cellule et dans le milieu de culture.

Les limites de ce modèle proviennent des hypothèses de pH neutre et il n'est donc pas utilisable pour décrire le comportement de certaines bactéries résistantes à des pressions d'hydrogène élevées et travaillant à des pH acides, telles que *Clostridium*.



**Figure I.16** Modèle de Mosey (1983).

En 1991, Costello (1991a; b) a repris le modèle de Mosey en y intégrant la production de lactate pendant l'acidogénèse (Cf. figure I.17). L'originalité du modèle de Costello par rapport à celui de Mosey est qu'il considère que le lactate est produit pendant l'acidogénèse pour être ensuite transformé en acétate et en propionate par un autre groupe bactérien.



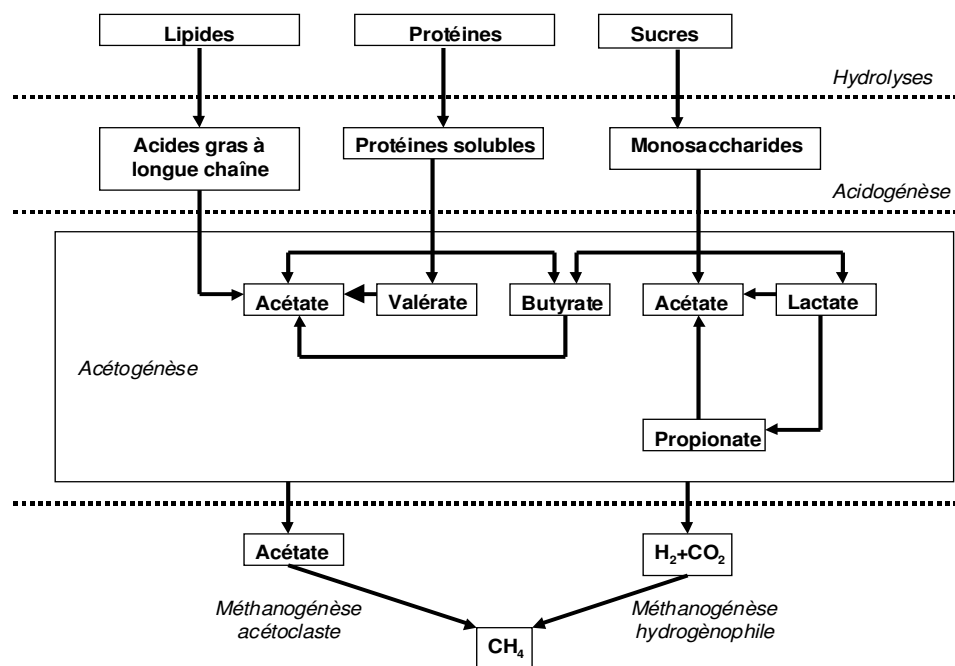
**Figure I.17** Modèle de Costello (1991a; 1991b)

Malheureusement, le modèle de Costello présente plusieurs limites notamment en sous-estimant les concentrations en propionate et en butyrate et en surestimant le débit de biogaz produit (Gavala *et al.*, 2003).

Romli *et al.* (1994) ont adapté et appliqué le modèle de Costello à des procédés en deux étapes, comportant un réacteur d'acidogénèse et un autre de méthanogénèse. Les équations

physico-chimiques ont été modifiées afin de pouvoir calculer le pH. Ce modèle donne de bonnes prédictions du pH, de la consommation en soude et de la composition du gaz. Par contre, il n'a pas donné de bons résultats dans le cas d'une recirculation de la sortie du deuxième réacteur vers le premier.

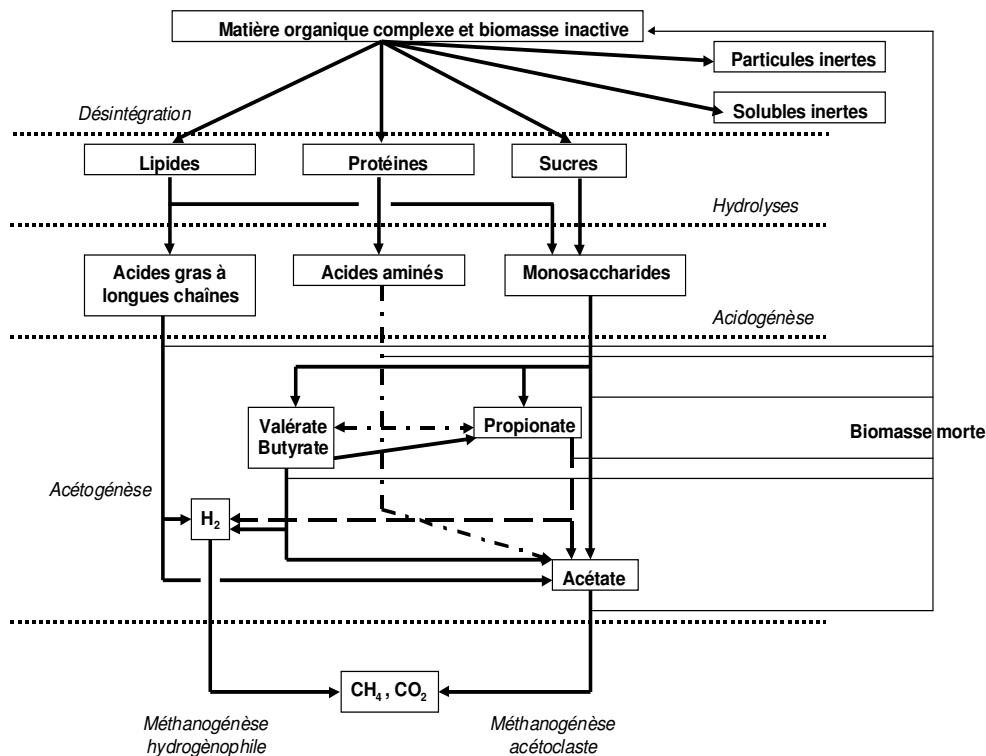
Batstone *et al.* (Batstone *et al.*, 2000a, b) ont repris les idées de Romli pour décrire la digestion anaérobie de composés complexes à l'aide de neuf groupes bactériens et de trois réactions enzymatiques (Cf. figure I.18). Ce modèle considère, en effet, l'hydrolyse enzymatique des lipides, protéines et sucres par des enzymes extracellulaires. L'acidogénèse inclut quant à elle les voies métaboliques proposées par Costello ainsi que le mécanisme de l'hydrogène proposé par Mosey. Les équilibres physico-chimiques sont utilisés pour déterminer le pH et les échanges gaz-liquide du dioxyde de carbone. Une des grandes forces de ce modèle est d'avoir été validé sur des données expérimentales obtenues avec un digesteur traitant les déchets d'abattoirs de porcs, substrat complexe s'il en est.



**Figure I.18** Modèle de Batstone (Batstone *et al.*, 2000a, b)

En 1997, un groupe de travail de l'IWA (International Water Association) a été créé pour étudier la modélisation de la digestion anaérobie et proposer un modèle aussi générique que possible. Ce modèle a été publié en 2002 (Batstone *et al.*, 2002) et dénommé ADM1 pour "Anaerobic Digestion Model No1". ADM1 considère deux étapes extracellulaires (*i.e.*, la désintégration et l'hydrolyse) et trois étapes intracellulaires (*i.e.*, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse). Ces réactions sont réalisées par sept groupes de micro-organismes et

trois d'enzymes (Cf. figure I.19). Le modèle fait l'hypothèse de coefficients de stœchiométrie constants sans régulation par la concentration en hydrogène mais avec des inhibitions de la dégradation des acides gras volatils par l'hydrogène. Les fonctions empiriques proposées par Angelidaki *et al.* (Angelidaki *et al.*, 1993) ont été utilisées pour décrire l'inhibition de la croissance des micro-organismes par le pH. Des fonctions d'inhibition non-compétitive ont été, par ailleurs, choisies pour décrire l'inhibition de la méthanogénèse acétoclaste par l'hydrogène et l'ammonium.



**Figure I.19** Modèle ADM1 de l'IWA (Batstone *et al.*, 2002)

Malheureusement, ce modèle ne considère pas le lactate, à la différence des modèles proposés antérieurement par Costello et Batstone. Par contre, il prend en considération les phénomènes d'équilibres ioniques et d'échanges gaz-liquide pour le dioxyde de carbone, l'hydrogène et le méthane. Les équilibres physico-chimiques sont représentés soit par des équations algébriques, soit par des équations différentielles suivant la dynamique considérée pour les transitoires. Le modèle considère également la mortalité des espèces bactériennes et leur recyclage en matière organique complexe. ADM1 a été validé avec des données expérimentales de plusieurs types de procédés comme, par exemple, un procédé pilote de digestion anaérobie à deux étages (Blumensaat and Keller, 2005) ou un réacteur UASB (Batstone *et al.*, 2004), la structure des granules anaérobies pouvant même être simulée (Batstone *et al.*, 2006).

## IV.5 La modélisation de la production d'hydrogène

Plusieurs approches de modélisation de la production anaérobie d'hydrogène ont été entreprises que ce soit à l'état stationnaire, ou transitoire par des études cinétiques utilisant l'équation modifiée de Gompertz (Chen *et al.*, 2006a; Mu *et al.*, 2006; Mu *et al.*, 2007), l'équation de Monod modifiée (Zheng and Yu, 2005; Chen *et al.*, 2006a; Lin *et al.*, 2007) ou des cinétiques à deux substrats (Whang *et al.*, 2006). Ce dernier modèle qui utilise le glucose et la peptone comme substrats a donné de bonnes prédictions de la croissance de la biomasse car celle-ci dépend étroitement de l'azote et du carbone disponibles.

La modélisation dynamique de la production d'hydrogène a également été entreprise en se basant sur le modèle ADM1. Cependant, les simulations ne furent pas très concluantes, ne permettant pas de prédire à la fois la production d'hydrogène et les étapes métaboliques intermédiaires (Peiris *et al.*, 2005). Une explication à ce problème est que le modèle ADM1 utilise des coefficients de rendements constants avec un pH proche de 7. Or, il est admis que les coefficients de rendement peuvent varier avec le pH et avec la concentration en hydrogène, comme l'ont suggéré Mosey (1983) et Batstone (2000a; 2000b). De plus, il peut apparaître des phénomènes d'autorégulation par le transport d'hydrogène, puisque l'hydrogène ne se trouve pas à l'équilibre à l'intérieur de la cellule (Ruzicka, 1996). Rodriguez *et al.* (2006) ont ainsi modifié le modèle ADM1 avec des coefficients de rendements variables. Ils ont aussi supposé que le transport des métabolites était ATP-dépendant. Ils ont ainsi pu obtenir, à l'état stationnaire, des prédictions des plages de valeurs des coefficients de rendements en fonction du pH, de la pression d'hydrogène et des concentrations en substrat. Malheureusement, ce modèle n'a pas été validé expérimentalement et son avantage sur les modèles à coefficients de rendement constants n'a pu être totalement démontré.

## V LES OBSERVATEURS D'ÉTATS

Les procédés biologiques, comme tous les procédés, présentent des fluctuations de fonctionnement qu'il est nécessaire de suivre en ligne. Malheureusement, les capteurs en ligne disponibles sur le marché sont peu nombreux et souvent d'un coût élevé. L'utilisation d'estimateurs numériques est donc une alternative intéressante.



Les estimateurs fournissent des mesures indirectes d'une ou plusieurs variables, à partir de variables connues et mesurées. Si la variable estimée est une variable d'état, l'estimateur prend le nom d'observateur. Les estimateurs sont aussi utilisés pour appliquer des stratégies de commande ou identifier des paramètres d'un modèle (Bastin and Dochain, 1990; Dochain, 2003).

L'incertitude sur les modèles dynamiques est une difficulté pour l'application des observateurs aux systèmes biologiques. Suivant le type d'incertitude du modèle, les observateurs de la littérature se classent en deux types (Dochain, 2003) : les observateurs classiques et les observateurs asymptotiques. Les observateurs classiques tels que ceux de Luenberger, de Kalman et les observateurs à grand gain sont applicables en absence d'incertitudes de structure du modèle, ce qui n'est généralement pas le cas pour les bioprocédés. Par contre, les observateurs asymptotiques sont utilisables en cas d'incertitudes sur les paramètres cinétiques. Malheureusement, la vitesse de convergence de ces observateurs dépend des conditions opératoires. On trouve également un troisième type d'observateurs, intermédiaire entre les deux autres, qui considère la connaissance de la structure cinétique des modèles mais pas la valeur exacte des paramètres. Par la suite, nous décrirons plus en détail ces types d'observateurs, en insistant sur les observateurs asymptotiques car ils sont encore aujourd'hui les plus utilisés dans les bioprocédés.

## V.1 Les observateurs classiques

Considérons la structure générale d'un modèle dynamique :

$$\frac{d\xi}{dt} = f(\xi, u) \quad (\text{V.1})$$

où  $\xi$  représente les variables d'état et  $u$  les entrées. De plus, les variables mesurées  $y$  sont liées au modèle par :

$$y = h(\xi, u) \quad (\text{V.2})$$

La structure générale d'un observateur est définie par :

$$\frac{d\hat{\xi}}{dt} = f(\hat{\xi}, u) + \Omega(\hat{\xi})(y - \hat{y}) \quad (\text{V.3})$$

où  $\hat{\xi}$  et  $\hat{y}$  sont les estimées de  $\xi$  et  $y$ . La matrice  $\Omega$  est une matrice de gain. Elle constitue la part la plus importante de la construction d'un observateur classique car elle sert à régler l'amplitude de la correction entre la valeur mesurée du système et la sortie fournie par

l'observateur. Le choix de la matrice  $\Omega$  se fait de la façon suivante, en utilisant l'erreur d'observation  $e$  :

$$e = \xi - \hat{\xi} \quad (\text{V.4})$$

La dynamique de l'erreur s'écrit :

$$\frac{de}{dt} = f(\hat{\xi} + e, u) - f(\hat{\xi}, u) - \Omega(\hat{\xi})(h(\hat{\xi} + e) - h(\hat{\xi})) \quad (\text{V.5})$$

Il est à noter que la dynamique de l'erreur n'est calculable que pour un système linéaire. Malheureusement, la plupart des modèles de bioprocédés sont non-linéaires. Il est donc nécessaire de faire des simplifications. Pour cela, l'erreur d'observation peut être linéarisée en utilisant le développement en séries de Taylor autour du point d'équilibre  $e = 0$ :

$$\frac{de}{dt} = [A(\hat{\xi}) - \Omega(\hat{\xi})L(\hat{\xi})]e \quad (\text{V.6})$$

où

$$A(\hat{\xi}) = \left[ \frac{\partial f}{\partial \xi} \right]_{\xi=\hat{\xi}}, \quad L(\hat{\xi}) = \left[ \frac{\partial h}{\partial \xi} \right]_{\xi=\hat{\xi}} \quad (\text{V.7})$$

Ainsi, l'erreur est exponentiellement observable si

$$\text{rank} \begin{bmatrix} L \\ LA(\hat{\xi}) \\ LA(\hat{\xi})^2 \\ \cdot \\ \cdot \\ LA(\hat{\xi})^{N-1} \end{bmatrix} = N \quad (\text{V.8})$$

Cette condition est nécessaire mais non suffisante pour qu'un système soit exponentiellement observable et pour que des observateurs tels que ceux de Luenberger, de Kalman ou des observateurs à grand gain soient applicables.

La matrice de gain de l'observateur de Luenberger est calculée de sorte que sa vitesse de convergence et sa stabilité soient garanties. Par contre, pour l'observateur de Kalman, elle est calculée en garantissant que la moyenne de l'erreur au carré est bornée tout en conservant l'étape de linéarisation. Finalement, les observateurs à grand gain sont construits en

décomposant la dynamique en une partie linéaire et une autre non-linéaire et en choisissant le gain de sorte que la partie linéaire domine sur la partie non-linéaire. Les inconvénients de ces observateurs « classiques » sont liés aux incertitudes des paramètres du modèle utilisé (Dochain, 2003).

## V.2 Les observateurs asymptotiques

Les observateurs asymptotiques sont largement utilisés dans les bioprocédés en raison de deux avantages qu'ils possèdent sur les observateurs classiques :

- ils ne nécessitent pas que le système soit exponentiellement observable,
- ils fonctionnent malgré des incertitudes sur les paramètres cinétiques.

L'idée de base des observateurs asymptotiques est d'utiliser la structure des modèles dynamiques et de les réécrire d'une façon indépendante des cinétiques (Dochain, 2003).

Considérons la structure générale d'un modèle dynamique d'un réacteur infiniment mélangé :

$$\frac{d\xi}{dt} = K\mu(\xi, t) - D\xi - Q(\xi) + F \quad (\text{V.9})$$

où  $\xi$  représente les états,  $K$  la matrice de rendements,  $\mu$  les vitesses de réaction,  $D$  le taux de dilution ( $D=F/V$ ),  $Q$  le débit gazeux,  $F$  le débit liquide, et  $V$  le volume du réacteur. Les dimensions des variables sont :  $\dim(\xi)=\dim(F)=\dim(Q)=N$ ,  $\dim(\mu)=M$  et  $\dim(K)=N \times M$ .

Supposons également que :

$$\text{rank}(K) = p$$

$K_a$  est une sous matrice de  $K$  de  $\dim(K_a)=(p \times M)$ ,

$K_b$  est la matrice restante de  $K$  de  $\dim(K_b)=(N-p \times M)$

et  $(\xi_a, \xi_b)$ ,  $(Q_a, Q_b)$  et  $(F_a, F_b)$  sont des partitions de  $\xi$ ,  $Q$  et  $F$  induites par  $(K_a, K_b)$ .

L'équation 4.9 s'écrit alors :

$$\frac{d\xi_a}{dt} = K_a \mu(\xi_a, \xi_b) - D\xi_a - Q_a + F_a \quad (\text{V.10a})$$

$$\frac{d\xi_b}{dt} = K_b \mu(\xi_a, \xi_b) - D\xi_b - Q_b + F_b \quad (\text{V.10b})$$

S'il existe une transformation d'état :

$$Z = A_0 \xi_a + \xi_b \quad (\text{V.11})$$

telle que :

$$A_0 K_a + K_b = 0 \quad (\text{V.12})$$

alors, le système en  $Z$  suit une dynamique indépendante des vitesses de réaction car

$$\frac{dZ}{dt} = -DZ + A_0(F_a - Q_a) + (F_b - Q_b) \quad (\text{V.13})$$

Finalement, les états  $\xi_b$  sont estimés à partir de la connaissance des états  $\xi_a$  par l'équation

$$\hat{\xi}_b = Z - A_0 \xi_a \quad (\text{V.14})$$

Cet observateur nécessite uniquement la connaissance de la matrice de rendement  $K$ , du débit de liquide  $F$  et du débit gazeux  $Q$ .

Une caractéristique importante de l'observateur asymptotique est qu'il est stable et converge si  $D$  est positif ou s'il ne reste pas trop longtemps égal à zéro (Dochain, 2003), c'est-à-dire qu'il existe :

$\beta > 0$  et  $\delta > 0$  tels que :

$$\int_t^{t+\delta} D(\tau) d\tau > \beta, \quad \forall t \geq 0 \quad (\text{V.15})$$

La vitesse de convergence est le seul inconvénient de l'observateur asymptotique car elle dépend de la valeur initiale de  $Z$  (Alcaraz-González, 2001) et des conditions opératoires telles que  $D(t)$ .

Les observateurs présentés jusqu'ici ne prennent toutefois pas en compte les incertitudes des mesures. Les observateurs par intervalles se proposent de le faire. Ils sont basés sur la notion de systèmes coopératifs, lorsque que tous les éléments non diagonaux de la matrice jacobienne du système sont positifs ou nuls (Gouze *et al.*, 2000; Alcaraz-González, 2001;

Hadj-Sadok and Gouze, 2001; Rapaport and Dochain, 2005). Par exemple, la matrice jacobienne pour le système représenté par l'équation (4.1) est :

$$\frac{\partial f_i}{\partial x_j}(x) \geq 0, \forall i \neq j \text{ et } t \geq 0 \quad (\text{V.16})$$

La condition qu'un système soit coopératif est nécessaire mais elle n'est pas suffisante. Finalement, un observateur asymptotique peut être utilisé comme un observateur par intervalles si la matrice  $A$  est diagonale et le terme non-homogène est positif ou égal à zéro. Un exemple d'application sur un procédé de digestion anaérobie est proposé dans (Alcaraz-Gonzalez *et al.*, 2002). Ces observateurs travaillent sur la formulation d'une limite supérieure et une limite inférieure pour définir un intervalle. Moisan and Bernard (2005) ont par ailleurs montré qu'il y avait des régions qui étaient mieux adaptées que d'autres et pour lesquelles il était possible de faire varier le gain de l'observateur afin d'améliorer son estimation et sa vitesse de convergence.

### V.3 Autres types d'observateurs

Les deux types d'observateurs décrits précédemment sont utilisés lorsque le modèle est bien connu ou lorsque la structure est connue mais pas les cinétiques. Dans ce cas, deux autres approches sont envisageables.

La première consiste à considérer les paramètres cinétiques qui sont mal connus comme étant des états supplémentaires de l'observateur. Afin de garantir une erreur d'observation faible à l'état stationnaire pour les variables d'état estimées, l'estimation des paramètres doit être séparée de l'estimation des états. Dans un premier temps, une estimation de l'incertitude paramétrique doit donc être réalisée à partir des résidus. Ensuite, l'estimation des états est faite en incluant les paramètres estimés. Les observateurs de Luenberger et Kalman étendus peuvent ici être utilisés.

Une deuxième approche consiste à inclure l'estimation en ligne des paramètres cinétiques, qui sont mal connus, dans un observateur adaptatif en les considérant comme des états supplémentaires sans dynamique (Dochain, 2003). L'estimation se fait en prenant un seul paramètre par mesure disponible et en utilisant l'observateur asymptotique pour estimer la dynamique de l'erreur. Le principal problème de ce type d'observateur réside dans son implémentation pratique parfois difficile de par la complexité mathématique engendrée.

Pour l'estimation des entrées, d'autres approches ont été utilisées. Cette estimation présente un problème différent du problème d'estimation des états, celui de l'inversion du système.

Theilliol *et al.* ont proposé l'utilisation des observateurs de Luenberger avec une réduction d'ordre du système (2003). Pillonetto et Saccomani (2006) ont proposé un autre méthode plus compliquée, basée sur l'algèbre différentielle. Cet estimateur est applicable seulement quand il n'y a pas des grandes perturbations sur les entrées. L'inconvénient de ces deux méthodes est qu'elles ont besoin des états pour reconstruire les entrées.

## **VI COMMANDE DE BIOPROCEDES**

Quand l'application des méthodes de commande a commencé dans les années 1970, les bioprocédés étaient plutôt perçus comme un art que comme une science et la seule commande utilisée était alors le régulateur pneumatique de la température (Alford, 2006). L'expérience de l'opérateur humain était ainsi l'unique indicateur permettant d'assurer le bon déroulement d'un procédé. L'opérateur observait par exemple, au travers d'un hublot placé dans la partie supérieure du réacteur, que la couleur et la texture de la couche de mousse avaient les caractéristiques qu'il connaissait déjà.

Avec le temps, cette approche a changé et actuellement, le but de la commande des bioprocédés est bien clair : offrir aux micro-organismes des conditions proches de l'environnement optimal pour sa croissance, sa multiplication et la production des produits désirés (Alford, 2006); c'est-à-dire de déterminer les proportions adéquates des nutriments (*i.e.*, carbone, azote, oxygène, minéraux), d'éliminer les produits toxiques (*i.e.*,  $H_2$ ) et de contrôler les paramètres physiques et physico-chimiques importants pour les cellules (*i.e.*, pH, température). D'une façon générale, la commande en boucle fermée d'un bioprocédé a deux avantages majeurs : la réduction de la variabilité et l'amélioration de la productivité.

Les bioprocédés utilisent la plupart du temps des contrôleurs validés sur des procédés chimiques, comme le régulateur Proportionnel Intégral (PI) largement utilisé dans les applications industrielles (Alford, 2006). Le régulateur Proportionnel Intégral Dérivée (PID) et le « tout-ou-rien » sont les deux autres contrôleurs comportant le plus d'applications industrielles. Ces trois types de contrôleurs donnent des résultats satisfaisants pour des problèmes proches de la linéarité mais ils ne sont pas adaptés pour des problèmes multi-variables, ce qui est le cas de la plupart des bioprocédés.

Par ailleurs, comme les bioprocédés sont également des systèmes non-linéaires, il faut utiliser d'autres types de commandes adaptées à ces dynamiques. Tel est le cas des commandes heuristiques et des commandes basées sur des modèles. Les commandes heuristiques utilisent l'expertise de l'opérateur humain pour créer des règles simples qui sont capables de traiter les

non-linéarités d'un système en évitant une trop grande complexité mathématique. La commande floue est un exemple des commandes heuristiques. Elle utilise pour son application des règles linguistiques et des fonctions d'appartenance. La commande floue a été appliquée sur des procédés de traitements d'eaux résiduelles afin d'éviter le choc provoqué par les perturbations du procédé (Estaben *et al.*, 1997; Muller *et al.*, 1997; Puñal *et al.*, 2000; Puñal *et al.*, 2001).

Les commandes basées sur des modèles sont utilisées lorsqu'on dispose d'un « bon » modèle. La commande adaptative, la commande prédictive, la commande optimale et la commande optimale adaptative sont des exemples de ce type de commande. Par la suite, nous allons détailler ces quatre commandes.

## **VI.1 Commande adaptative**

La commande adaptative est basée sur l'idée que les cinétiques d'un modèle ne sont pas complètement connues (Bastin and Dochain, 1990; Corriou, 1996). Cette commande fait l'estimation de certains paramètres du modèle et, de cette façon, est capable de suivre leurs variations en fonction du temps.

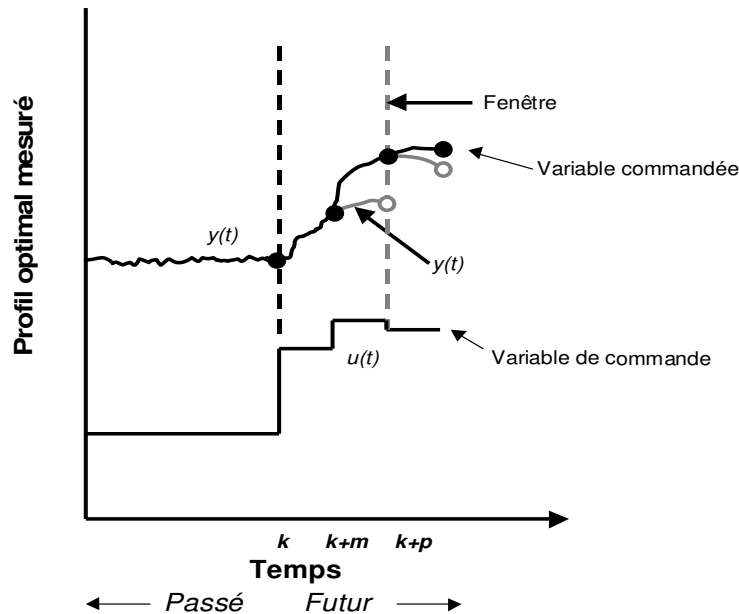
Deux types de commandes adaptatives sont considérées dans la littérature : indirecte et directe (Cf. par exemple Corriou, 1996). La commande indirecte estime les paramètres avant le calcul du régulateur. Par contre, dans la commande directe, les valeurs des paramètres du régulateur sont estimées à partir de la comparaison entre les performances réelles et désirées.

Malheureusement, l'application de la commande adaptative nécessite un système continuellement excité afin de permettre l'adaptation du système de commande aux perturbations. En cela, elle présente le risque de s'adapter à un défaut plutôt qu'à une perturbation dont elle est censée contrer les effets, conduisant alors à des actions inappropriées.

## **VI.2 Commande prédictive**

Depuis son apparition dans les années 80, la commande prédictive a joué un rôle important dans les applications industrielles de commandes (Morari and H. Lee, 1999). Elle tient son nom au fait qu'elle considère les prédictions des sorties futures du procédé pour calculer les commandes à appliquer. Elle est basée sur des modèles et, de fait, les prédictions dépendent de la qualité du modèle. Les sorties et les commandes sont ainsi prédites pour une fenêtre de

temps finie ( $p$ ), à partir de l'information disponible à l'instant déterminé ( $k$ ) (Cf. figure I.20). Les calculs sont ensuite réactualisés à l'instant  $k \neq n$  pour contrer les perturbations pouvant éventuellement affecter le procédé et occasionner des dérives par rapport à la trajectoire prédite.



**Figure I.20** Schéma de la commande prédictive basée sur un modèle

La commande prédictive a été utilisée dans plusieurs domaines, tels que les bioréacteurs (Zhu *et al.*, 2000; Mahadevan *et al.*, 2001), les réacteurs chimiques (Xaumier *et al.*, 2002), les sécheurs de bois de construction (Musch *et al.*, 1998), le traitement des déchets (Joe Qin *et al.*, 1997), les colonnes de distillation (Kawathekar and Riggs, 2007) et les générateurs de gaz (Al Seyab and Cao, 2006).

Les modèles utilisés sont, dans la plupart des cas, non-linéaires et les fonctions objectifs linéaires ou non-linéaires. Des contraintes sur les états ou sur la commande peuvent aussi être aisément ajoutées en fonction des besoins. Afin de définir le problème, considérons la fonction objectif suivante, générée à partir du système dynamique (V.1) :

$$J = \phi(f(\xi(t), u(t)), t) \quad (\text{VI.1})$$

Le problème d'optimisation se formule de la façon suivante :

$$\min_{u(t)} J = \min_{u(t)} \phi(f(\xi(t), u(t)), t) \quad (\text{VI.2})$$

avec les contraintes :

$$\frac{d\xi}{dt} = f(\xi, u) \quad (\text{VI.3})$$



Très souvent, ces problèmes utilisent des fonctions quadratiques pour lesquelles des algorithmes d'optimisation quadratique séquentielle sont utilisés (Morari and H. Lee, 1999). L'inconvénient de ces algorithmes d'optimisation est qu'ils consomment beaucoup de temps de calculs et que la convergence globale n'est pas garantie (Chen *et al.*, 1996). C'est pour cela que des recherches se font pour les améliorer en profitant de la forte structuration de la matrice hessienne (Morari and H. Lee, 1999).

### VI.3 Commande optimale

L'objectif de la commande optimale est l'optimisation de la trajectoire dont la fonction de compromis est composée d'une partie finale et d'une partie intégrale (Smets *et al.*, 2004). La fonction de compromis s'exprime de la façon suivante :

$$J = \phi(f(\xi(t_f), u(t_f)), t_f) + \int_{t_0}^{t_f} \varphi(f(\xi(t), u(t)), t) dt \quad (\text{VI.4})$$

où  $\phi$  est la fonction de compromis évaluée au temps final,  $\varphi$  la partie intégrale de cette fonction,  $t_0$  le temps initial et  $t_f$  le temps final. De la même façon que la commande prédictive, la commande optimale peut utiliser des contraintes linéaires ou non-linéaires.

Ce type de commande a essentiellement été utilisé pour optimiser les bioprocédés fonctionnant en mode semi-continu (Smets *et al.*, 2004; Kameswaran and Biegler, 2006). L'optimisation de ces réacteurs consiste, en effet, à minimiser le temps de fonctionnement, *i.e.*, la partie intégrale de la fonction de compromis, et à atteindre un objectif, *i.e.*, la partie au temps final de la fonction.

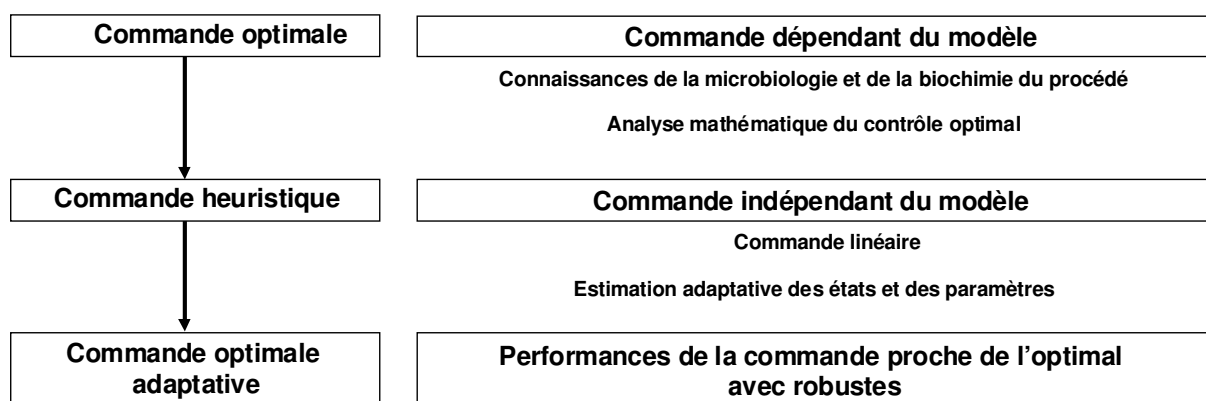
La commande optimale présente des problèmes similaires à la commande prédictive, c'est-à-dire d'importants temps de calculs. Une solution possible est l'utilisation de méthodes de collocation afin de résoudre simultanément le problème d'intégration et le respect des contraintes (Kameswaran and Biegler, 2006)

### VI.4 Commande optimale adaptative

L'inconvénient de la commande adaptative est qu'elle ne peut garantir de conditions optimales. La commande optimale, quant à elle, considère qu'il n'y a pas d'incertitudes sur les paramètres cinétiques utilisés dans le modèle, ce qui est rarement le cas pour les bioprocédés. Ces dernières années, il a ainsi été proposé un autre type de commande –

la « commande optimale adaptative » – qui a été appliquée pour l’optimisation de bioréacteurs en mode semi-continu (Van Impe and Bastin, 1995; Jadot *et al.*, 1998; Smets *et al.*, 2004).

La commande optimale adaptative comprend trois étapes différentes (figure I.21). Une solution optimale est obtenue, dans un premier temps, en supposant que les paramètres utilisés dans le modèle ont été bien identifiés. Ensuite, les variables qui caractérisent la solution optimale sont identifiées pour construire la trajectoire de référence d’une façon heuristique. Finalement, une estimation adaptative des états et des paramètres qui ne sont pas disponibles en ligne est faite à l’aide d’algorithmes de programmation non linéaire (Van Impe and Bastin, 1995; Smets *et al.*, 2004).



**Figure I.21** Etages de la commande optimale adaptative

## VII RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, M. and L. Mortenson (1984). "The physical and catalytic properties of hydrogenase II of *Clostridium pasteurianum*. A comparison with hydrogenase I." The Journal of Biological Chemistry **259**(11): 7045-7055.
- Akkerman, I., M. Janssen, J. Rocha and R. H. Wijffels (2002). "Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1195-1208.

- Al Seyab, R. K. and Y. Cao (2006). "Nonlinear model predictive control for the ALSTOM gasifier." Journal of Process Control **16**(8): 795-808.
- Alberty, R. (1994). "Thermodynamics of the nitrogenase reactions." Journal of Biological Chemistry **269**(10): 7099-7102.
- Alcaraz-González, V. (2001). "Estimation et commande robuste non-linéaires des procédés biologiques de dépollution des eaux usées: Application à la digestion anaérobie." Thèse du doctorat de l'Université de Perpignan.
- Alcaraz-Gonzalez, V., J. Harmand, A. Rapaport, J. P. Steyer, V. Gonzalez-Alvarez and C. Pelayo-Ortiz (2002). "Software sensors for highly uncertain WWTPs: a new approach based on interval observers." Water Research **36**(10): 2515-2524.
- Alford, J. S. (2006). "Bioprocess control: Advances and challenges." Computers & Chemical Engineering **30**(10-12): 1464-1475.
- Angelidaki, I., L. Ellegaard and B. K. Ahring (1993). "A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates: Focusing on ammonia inhibition." Biotechnology and Bioengineering **42**(2): 159-166.
- Asada, Y. and J. Miyake (1999). "Photobiological hydrogen production." Journal of Bioscience and Bioengineering **88**(1): 1-6.
- Barbarossa, V., S. Brutti, M. Diamanti, S. Sau and G. De Maria (2006). "Catalytic thermal decomposition of sulphuric acid in sulphur-iodine cycle for hydrogen production." International Journal of Hydrogen Energy **31**(7): 883-890.
- Basak, N. and D. Das (2007). "The prospect of purple non-sulfur (PNS) photosynthetic bacteria for hydrogen production: The present state of the art." World Journal of Microbiology & Biotechnology **23**(1): 31-42.
- Bastin, G. and D. Dochain (1990). On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publisher.
- Batstone, D. J., J. Keller, I. Angelidaki, S. V. Kalyuzhnyi, S. G. Pavlostathis, A. Rozzi, W. T. M. Sanders, H. Siegrist and V. A. Vavilin (2002). "The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1)." Water Science and Technology **45**(10): 65-73.
- Batstone, D. J., J. Keller and L. L. Blackall (2004). "The influence of substrate kinetics on the microbial community structure in granular anaerobic biomass." Water Research **38**(6): 1390-1404.
- Batstone, D. J., J. Keller, R. B. Newell and M. Newland (2000a). "Modelling anaerobic degradation of complex wastewater. I: model development." Bioresource Technology **75**(1): 67-74.

- Batstone, D. J., J. Keller, R. B. Newell and M. Newland (2000b). "Modelling anaerobic degradation of complex wastewater. II: parameter estimation and validation using slaughterhouse effluent." Bioresource Technology **75**(1): 75-85.
- Batstone, D. J., C. Picioreanu and M. C. M. van Loosdrecht (2006). "Multidimensional modelling to investigate interspecies hydrogen transfer in anaerobic biofilms." Water Research **40**(16): 3099-3108.
- Bernard, O., Z. Hadj-Sadok, D. Dochain, A. Genovesi and J. P. Steyer (2001). "Dynamical model development and parameter identification for an anaerobic wastewater treatment process." Biotechnology and Bioengineering **75**(4): 424-438.
- Berry, G. D. and S. M. Aceves (2005). "The Case for Hydrogen in a Carbon Constrained World." Journal of Energy Resources Technology Copyright **127**: 189-194.
- Bjørnar, K., G. Sondre and B. Cato (2002). "Bellona rapport nr. 6 - 2002, Hydrogen Status og muligheter." The Bellona Foundation.
- Blumensaat, F. and J. Keller (2005). "Modelling of two-stage anaerobic digestion using the IWA Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1)." Water Research **39**(1): 171-183.
- Boucher, S. (2006). "La révolution de l'hydrogène "vers une énergie propre et performante?" Editions du félin Paris.
- Chang, J.-S., K.-S. Lee and P.-J. Lin (2002). "Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1167-1174.
- Chen, C. C. and C. Y. Lin (2001). "Start-up of Anaerobic Hydrogen Producing Reactors Seeded with Sewage Sludge." Acta Biotechnologica **21**(4): 371-379.
- Chen, C. C. and C. Y. Lin (2003). "Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor." Advances in Environmental Research **7**(3): 695-699.
- Chen, C.-C., C.-Y. Lin and M.-C. Lin (2002). "Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process." Applied Microbiology and Biotechnology **58**(2): 224-228.
- Chen, C.-L., Sy-Hong Lin and C.-K. Chen (1996). "Application of Taylor transformation to nonlinear predictive control problem." Applied Mathematical Modelling **20**(9): 699-710.
- Chen, W.-H., S.-Y. Chen, S. Kumar Khanal and S. Sung (2006a). "Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation." International Journal of Hydrogen Energy **31**(15): 2170-2178.
- Chen, W. M., Z. J. Tseng, K. S. Lee and J. S. Chang (2005). "Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge." International Journal of Hydrogen Energy **30**(10): 1063-1070.

- Chen, X., Y. Sun, Z. Xiu, X. Li and D. Zhang (2006b). "Stoichiometric analysis of biological hydrogen production by fermentative bacteria." International Journal of Hydrogen Energy **31**(4): 539-549.
- Corriou, J.-P. (1996). Commande des procédés. Paris, France, Lavoisier Technique and Documentation.
- Costello, D. J., P. F. Greenfield and P. L. Lee (1991a). "Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor--I. Model derivation." Water Research **25**(7): 847-858.
- Costello, D. J., P. F. Greenfield and P. L. Lee (1991b). "Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor--II. Model verification." Water Research **25**(7): 859-871.
- Damen, K., M. van Troost, A. Faaij and W. Turkenburg (2006). "A comparison of electricity and hydrogen production systems with CO<sub>2</sub> capture and storage. Part A: Review and selection of promising conversion and capture technologies." Progress in Energy and Combustion Science **32**(2): 215-246.
- Das, D. and T. N. Veziroglu (2001). "Hydrogen production by biological processes: a survey of literature." International Journal of Hydrogen Energy **26**(1): 13-28.
- Demirbas, A. (2007). "Progress and recent trends in biofuels." Progress in Energy and Combustion Science **33**(1): 1-18.
- Desai, R. P., L. K. Nielsen and E. T. Papoutsakis (1999). "Stoichiometric modeling of *Clostridium acetobutylicum* fermentations with non-linear constraints." Journal of Biotechnology **71**(1-3): 191-205.
- Dochain, D. (2003). "State and parameter estimation in chemical and biochemical processes: a tutorial." Journal of Process Control **13**(8): 801-818.
- Dowaki, K., T. Ohta, Y. Kasahara, M. Kameyama, K. Sakawaki and S. Mori (2007). "An economic and energy analysis on bio-hydrogen fuel using a gasification process." Renewable Energy **32**(1): 80-94.
- Estaben, M., M. Polit and J. P. Steyer (1997). "Fuzzy control for an anaerobic digester." Control Engineering Practice **5**(9): 1303-1310.
- Fabiano, B. and P. Perego (2002). "Thermodynamic study and optimization of hydrogen production by *Enterobacter aerogenes*." International Journal of Hydrogen Energy **27**(2): 149-156.
- Fang, H. H. P. and H. Liu (2002). "Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture." Bioresource Technology **82**(1): 87-93.
- Fang, H. H. P., H. Liu and T. Zhang (2002a). "Characterization of a hydrogen-producing granular sludge." Biotechnology and Bioengineering **78**(1): 44-52.

- Fang, H. H. P., T. Zhang and H. Liu (2002b). "Microbial diversity of a mesophilic hydrogen-producing sludge." Applied Microbiology and Biotechnology **58**(1): 112-118.
- FuelCellHandbook (2000). "Department of Energy, U.S." Parsons, Inc.
- Gavala, H. N., I. Angelidaki and B. K. Ahring (2003). Kinetics and modeling of anaerobic digestion process. Biomethanation I. S. B. Heidelberg. **81**: 57-93.
- Gavala, H. N., I. V. Skiadas and B. K. Ahring (2006). "Biological hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor systems." International Journal of Hydrogen Energy **31**(9): 1164-1175.
- Gavala, H. N., I. V. Skiadas, N. A. Bozinis and G. Lyberatos (1996). "Anaerobic codigestion of agricultural industries' wastewaters." Water Science and Technology. Selected Proceedings of the 18th Biennial Conference of the International Association on Water Quality **34**(11): 67-75.
- Giaconia, A., R. Grena, M. Lanchi, R. Liberatore and P. Tarquini (2007). "Hydrogen/methanol production by sulfur-iodine thermochemical cycle powered by combined solar/fossil energy." International Journal of Hydrogen Energy. Path Forward to a Hydrogen Economy **32**(4): 469-481.
- Gondal, M. A., A. Hameed, Z. H. Yamani and A. Suwaiyan (2004). "Production of hydrogen and oxygen by water splitting using laser induced photo-catalysis over Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>." Applied Catalysis General **268**(1-2): 159-167.
- Gouze, J. L., A. Rapaport and M. Z. Hadj-Sadok (2000). "Interval observers for uncertain biological systems." Ecological Modelling **133**(1-2): 45-56.
- Graef, S. and J. Andrews (1974). "Stability and control of anaerobic digestion." Journal water pollution contro federation. **46**(4): 666-683.
- Guwy, A. J., F. R. Hawkes, D. L. Hawkes and A. G. Rozzi (1997). "Hydrogen production in a high rate fluidised bed anaerobic digester." Water Research **31**(6): 1291-1298.
- Hadj-Sadok, M. Z. and J. L. Gouze (2001). "Estimation of uncertain models of activated sludge processes with interval observers." Journal of Process Control **11**(3): 299-310.
- Hallenbeck, P. C. (2005). "Fundamentals of the fermentative production of hydrogen." Water Science and Technology **52**(1-2): 21-29.
- Han, S.-K. and H.-S. Shin (2004). "Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste." International Journal of Hydrogen Energy **29**(6): 569-577.
- Hao, X. H., L. J. Guo, X. Mao, X. M. Zhang and X. J. Chen (2003). "Hydrogen production from glucose used as a model compound of biomass gasified in supercritical water." International Journal of Hydrogen Energy **28**: 55 – 64.

- Hawkes, F., R. Dinsdale, D. Hawkes and I. Hussy (2002). "Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1339-1347.
- Hetland, J. and G. Mulder (2007). "In search of a sustainable hydrogen economy: How a large-scale transition to hydrogen may affect the primary energy demand and greenhouse gas emissions." International Journal of Hydrogen Energy. WHTC2005 **32**(6): 736-747.
- Hettinger, W., F. Michel, P. Ott and F. Theissen (1998). "Refueling equipment for liquid hydrogen vehicles." International Journal of Hydrogen Energy **23**(10): 943-947.
- Hill, D. T. and C. L. Barth (1977). "Dynamic model for simulation of animal waste digestion." J. Water Pollut. Control Fed.; Vol/Issue: 49:10: Pages: 2129-2143.
- Hussy, I., F. R. Hawkes, R. Dinsdale and D. L. Hawkes (2003). "Continuous fermentative hydrogen production from a wheat starch co-product by mixed microflora." Biotechnology and Bioengineering **84**(6): 619-626.
- Hussy, I., F. R. Hawkes, R. Dinsdale and D. L. Hawkes (2005). "Continuous fermentative hydrogen production from sucrose and sugarbeet." International Journal of Hydrogen Energy **30**(5): 471-483.
- Hwang, M. H., N. J. Jang, S. H. Hyun and I. S. Kim (2004). "Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH." Journal of Biotechnology **111**: 297–309.
- Iyer, P., M. A. Bruns, H. Zhang, S. Van Ginkel and B. E. Logan (2004). "H<sub>2</sub>-Producing bacterial communities from a heat-treated soil inoculum." Appl Microbiol Biotechnol **66**: 166–173.
- Jadot, F., G. Bastin and J. F. Van Impe (1998). "Optimal adaptive control of a bioprocess with yield-productivity conflict." Journal of Biotechnology **65**(1): 61-68.
- Joe Qin, S., V. M. Martinez and B. A. Foss (1997). "An interpolating model predictive control strategy with application to a waste treatment plant." Computers & Chemical Engineering. 6th International Symposium on Process Systems Engineering and 30th European Symposium on Computer Aided Process Engineering **21**(Supplement 1): S881-S886.
- Kalyuzhnyi, S. V. (1997). "Batch anaerobic digestion of glucose and its mathematical modeling. II. Description, verification and application of model." Bioresource Technology **59**(2-3): 249-258.
- Kalyuzhnyi, S. V. and M. A. Davlyatshina (1997). "Batch anaerobic digestion of glucose and its mathematical modeling. I. Kinetic investigations." Bioresource Technology **59**(1): 73-80.

- Kameswaran, S. and L. T. Biegler (2006). "Simultaneous dynamic optimization strategies: Recent advances and challenges." Computers & Chemical Engineering. Papers from Chemical Process Control VII - CPC VII **30**(10-12): 1560-1575.
- Kapdan, I. K. and F. Kargi (2006). "Bio-hydrogen production from waste materials." Enzyme and Microbial Technology **38**(5): 569-582.
- Kawathekar, R. and J. B. Riggs (2007). "Nonlinear model predictive control of a reactive distillation column." Control Engineering Practice **15**(2): 231-239.
- Kim, D.-H., S.-K. Han, S.-H. Kim and H.-S. Shin (2006a). "Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production." International Journal of Hydrogen Energy **31**(15): 2158-2169.
- Kim, I. S., M. H. Hwang, N. Jang, S. H. Hyun and S. T. Lee (2004). "Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process." International Journal of Hydrogen Energy **29**: 1133–1140.
- Kim, M.-S., J.-S. Baek, Y.-S. Yun, S. Jun Sim, S. Park and S.-C. Kim (2006b). "Hydrogen production from *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using a two-step conversion process: Anaerobic conversion and photosynthetic fermentation." International Journal of Hydrogen Energy **31**(6): 812-816.
- Kleinstreuer, C. and T. Poweigha (1982). "Dynamic simulator for anaerobic digestion processes." Biotechnology and Bioengineering **24**(9): 1941-1951.
- Kondo, T., M. Arakawa, T. Wakayama and J. Miyake (2002). "Hydrogen production by combining two types of photosynthetic bacteria with different characteristics." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1303-1308.
- Koriche, N., A. Bouguelia and M. Trari (2006). "Photocatalytic hydrogen production over new oxide CuLaO<sub>2.62</sub>." International Journal of Hydrogen Energy **31**(9): 1196-1203.
- Koroneos, C., A. Dompros, G. Roumbas and N. Moussiopoulos (2004). "Life cycle assessment of hydrogen fuel production processes." International Journal of Hydrogen Energy **29**: 1443 – 1450.
- Koskinen, P. E. P., A. H. Kaksonen and J. A. Puhakka (2007). "The relationship between instability of H<sub>2</sub> production and compositions of bacterial communities within a dark fermentation fluidised-bed bioreactor." Biotechnology and Bioengineering **97**(4): 742-758.
- Kraemer, J. T. (2004). "Effects of Methanogenic Effluent Recycle on Fermentative Hydrogen Production." University of Toronto.



- Kraemer, J. T. and D. M. Bagley (2005). "Continuous Fermentative Hydrogen Production Using a Two-Phase Reactor System with Recycle." Environmental Science & Technology **39**(10): 3819-3825.
- Laurinavichene, T. V., A. Chanal, L.-F. Wu and A. A. Tsygankov (2001). "Effect of O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> and redox potential on the activity and synthesis of hydrogenase 2 in Escherichia coli." Research in Microbiology **152**(9): 793-798.
- Lay, J.-J. (2000). "Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen." Biotechnology and Bioengineering **68**(3): 269-278.
- Lay, J.-J. (2001). "Biohydrogen Generation by Mesophilic Anaerobic Fermentation of Microcrystalline Cellulose." Biotechnology and Bioengineering **74**(4): 280-287.
- Lay, J.-J., Y.-J. Lee and T. Noike (1999). "Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste." Water Research **33**(11): 2579-2586.
- Lee, C. M., P. C. Chen, C. C. Wang and Y. C. Tung (2002a). "Photohydrogen production using purple nonsulfur bacteria with hydrogen fermentation reactor effluent." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1309-1313.
- Lee, Y.-J., T. Miyahara and T. Noike (2002b). "Effect of pH on microbial hydrogen fermentation." Journal of Chemical Technology & Biotechnology **77**(6): 694-698.
- Lessing, P. A. (2007). "Materials for hydrogen generation via water electrolysis." Journal of Materials Science **42**(10): 3477-3487.
- Li, C. and H. H. P. Fang (2007). "Fermentative Hydrogen Production From Wastewater and Solid Wastes by Mixed Cultures." Critical Reviews in Environmental Science and Technology **37**(1): 1-39.
- Lin, C.-Y. and R.-C. Chang (1999). "Hydrogen production during the anaerobic acidogenic conversion of glucose." Journal of Chemical Technology & Biotechnology **74**(6): 498-500.
- Lin, C.-Y. and R.-C. Chang (2004). "Fermentative hydrogen production at ambient temperature." International Journal of Hydrogen Energy **29**(7): 715-720.
- Lin, C.-Y. and H.-P. Chen (2006). "Sulfate effect on fermentative hydrogen production using anaerobic mixed microflora." International Journal of Hydrogen Energy **In Press, Corrected Proof**.
- Lin, C. Y. and C. H. Lay (2004a). "Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora." International Journal of Hydrogen Energy **29**(1): 41-45.
- Lin, C. Y. and C. H. Lay (2004b). "Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora." International Journal of Hydrogen Energy **29**(3): 275-281.

- Lin, C. Y. and C. H. Lay (2005). "A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora." International Journal of Hydrogen Energy **30**(3): 285-292.
- Lin, P.-Y., L.-M. Whang, Y.-R. Wu, W.-J. Ren, C.-J. Hsiao, S.-L. Li and J.-S. Chang (2007). "Biological hydrogen production of the genus Clostridium: Metabolic study and mathematical model simulation." International Journal of Hydrogen Energy **32**(12): 1728-1735.
- Liu, D. W., D. P. Liu, R. J. Zeng and I. Angelidaki (2006). "Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process." Water Research **40**(11): 2230-2236.
- Lyberatos, G. and I. V. Skiadas (1999). "Modelling of Anaerobic Digestion- A Review." Global Nest: the International Journal **1**(2): 63-76.
- Maddy, J., S. Cherryman, F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, R. M. Dinsdale, A. J. Guwy, G. C. Premier and S. Cole (2003). "HYDROGEN 2003 Report Number 1 ERDF part-funded project entitled: "A Sustainable Energy Supply for Wales: Towards the Hydrogen Economy"." University of Glamorgan.
- Mahadevan, R., S. K. Agrawal and F. J. D. III (2001). "Differential flatness based nonlinear predictive control of fed-batch bioreactors." Control Engineering Practice **9**(8): 889-899.
- Melis, A. and T. Happe (2001). "Hydrogen Production. Green Algae as a Source of Energy." Plant Phystology **127**: 740-748.
- Melis, A. and M. R. Melnicki (2006). "Integrated biological hydrogen production." International Journal of Hydrogen Energy. IHEC 2005 and COST Action 841 Final Meeting **31**(11): 1563-1573.
- Merkel, W. and K. Krauth (1999). "Mass transfer of carbon dioxide in anaerobic reactors under dynamic substrate loading conditions." Water Research **33**(9): 2011-2020.
- Midilli, A., M. Dogru, G. Akay and C. R. Howarth (2002). "Hydrogen production from sewage sludge via a fixed bedgasifier product gas." International Journal of Hydrogen Energy **27**: 1035 – 1041.
- Miri, R. and S. Mraoui (2007). "Electrolyte process of hydrogen production by solar energy." Desalination **206**(1-3): 69-77.
- Mitchell, W. J., K. A. Albasheri and M. Yazdanian (1995). "Factors affecting utilization of carbohydrates by clostridia." FEMS Microbiology Reviews. Papers presented at the Meeting on Solventogenic Clostridia **17**(3): 317-329.

- Miyake, J., M. Miyake and Y. Asada (1999). "Biotechnological hydrogen production: research for efficient light energy conversion." Journal of Biotechnology. Biotechnological Aspects of Marine Sponges **70**(1-3): 89-101.
- Mizuno, O., R. Dinsdale, F. R. Hawkes, D. L. Hawkes and T. Noike (2000). "Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging." Bioresource Technology **73**(1): 59-65.
- Moisan, M. and O. Bernard (2005). "Interval observers for non monotone systems: application to bioprocess models." Proceedings of the 16th IFAC World conference, Prague, Czech Republic, 2005.
- Moletta, R., D. Verrier and G. Albagnac (1986). "Dynamic modelling of anaerobic digestion." Water Research **20**(4): 427-434.
- Morari, M. and J. H. Lee (1999). "Model predictive control: past, present and future." Computers & Chemical Engineering **23**(4-5): 667-682.
- Mosey, F. E. (1983). "Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose." Water Science & Technology **15**: 209-232.
- Mu, Y., H.-Q. Yu and G. Wang (2007). "A kinetic approach to anaerobic hydrogen-producing process." Water Research **41**(5): 1152-1160.
- Mu, Y., X.-J. Zheng, H.-Q. Yu and R.-F. Zhu (2006). "Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures." International Journal of Hydrogen Energy **31**(6): 780-785.
- Muller, A., S. Marsili-Libelli, A. Aivasidis, T. Lloyd, S. Kroner and C. Wandrey (1997). "Fuzzy control of disturbances in a wastewater treatment plant." Water Research **31**(12): 3157-3167.
- Musch, H. E., G. W. Barton, T. A. G. Langrish and A. S. Brooke (1998). "Nonlinear model predictive control of timber drying." Computers & Chemical Engineering **22**(3): 415-425.
- Nada, A. A., M. H. Barakat, H. A. Hamed, N. R. Mohamed and T. N. Veziroglu (2005). "Studies on the photocatalytic hydrogen production using suspended modified TiO<sub>2</sub> photocatalysts." International Journal of Hydrogen Energy **30**(7): 687-691.
- Nicolet, Y., C. Cavazza and J. C. Fontecilla-Camps (2002). "Fe-only hydrogenases: structure, function and evolution." Journal of Inorganic Biochemistry. Contributions from the 10th International Conference on Bioinorganic Chemistry **91**(1): 1-8.

- Nielsen, A. T., H. Amandusson, R. Bjorklund, H. Dannerun, J. Ejlertsson, L.-G. Ekedahl, I. Lundström and B. H. Svensson (2001). "Hydrogen production from organic waste." International Journal of Hydrogen Energy **26**(6): 547-550.
- Nishio, N. and Y. Nakashimada (2007). "Recent development of anaerobic digestion processes for energy recovery from wastes." Journal of Bioscience and Bioengineering **103**(2): 105-112.
- Noike, T., H. Takabatake, O. Mizuno and M. Ohba (2002). "Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria." International Journal of Hydrogen Energy **27**: 1367 – 1371.
- Oh, S. E., P. Lyer, M. A. Bruns and B. E. Logan (2004). "Biological hydrogen production using a membrane bioreactor." Biotechnology and Bioengineering **87**(1): 119-127.
- Orecchini, F. (2006). "The era of energy vectors." International Journal of Hydrogen Energy **31**(14): 1951-1954.
- Pauss, A., G. Andre, M. Perrier and S.-R. Guiot (1990). "Liquid-to-Gas Mass Transfer in Anaerobic Processes: Inevitable Transfer Limitations of Methane and Hydrogen in the Biomethanation Process." Applied and Environmental Microbiology **56**(6): 1636-1644.
- Peiris, B. R. H., P. G. Rathnasiri, J. E. Johansen, A. Kuhn and R. Bakke (2005). "ADM1 with modifications for Bio-hydrogen Simulations." The First International Workshop on the IWA Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1): 105-112.
- Piera, M., J. M. Martinez-Vaj and M. J. Montes (2006). "Safety issues of nuclear production of hydrogen." Energy Conversion and Management **47**(17): 2732-2739.
- Pillonetto, G. and M. P. Saccomani (2006). "Input estimation in nonlinear dynamical systems using differential algebra techniques." Automatica **42**(12): 2117-2129.
- Puñal, A., J. Rodriguez, A. Franco, E. F. Carrasco, E. Roca and J. M. Lema (2001). "Advanced monitoring and control of anaerobic wastewater treatment plants: diagnosis and supervision by a fuzzy-based expert system." Water Science and Technology **43**(7): 191-198.
- Puñal, A., J. Rodriguez, A. Franco, E. F. Carrasco, E. Roca and J. M. Lema (2000). "Advanced monitoring and control of anaerobic wastewater treatment plants: Diagnosis and supervision by a fuzzy-based expert system." Water Science and Technology **43**: 191–198.
- Rapaport, A. and D. Dochain (2005). "Interval observers for biochemical processes with uncertain kinetics and inputs." Mathematical Biosciences **193**(2): 235-253.

- Rodriguez, J., J. M. Lema, M. C. M. Van Loosdrecht and R. Kleerebezem (2006). "Variable stoichiometry with thermodynamic control in ADM1." Water Science & Technology **54**(4): 101–110.
- Romli, M., J. Keller, P. L. Lee and P. F. Greenfield (1994). "The influence of pH on the performance of a two-stage anaerobic treatment system: model prediction and validation." Water Science and Technology **30**(8): 35-44.
- Ruzicka, M. (1996). "The effect of hydrogen on acidogenic glucose cleavage." Water Research **30**(10): 2447-2451.
- Salerno, M. B., W. Park, Y. Zuo and B. E. Logan (2006). "Inhibition of biohydrogen production by ammonia." Water Research **40**(6): 1167-1172.
- Sauer, U., J. D. Santangelo, A. Treuner, M. Buchholz and P. Durre (1995). "Sigma factor and sporulation genes in Clostridium." FEMS Microbiology Reviews. Papers presented at the Meeting on Solventogenic Clostridia **17**(3): 331-340.
- Shayegan, S., D. Hart, P. Pearson and D. Joffe (2006). "Analysis of the cost of hydrogen infrastructure for buses in London." Journal of Power Sources **157**(2): 862-874.
- Shi, X. Y. and H. Q. Yu (2006). "Continuous production of hydrogen from mixed volatile fatty acids with Rhodospseudomonas capsulata." International Journal of Hydrogen Energy **31**(12): 1641-1647.
- Shin, H.-S., J.-H. Younb and S.-H. Kim (2004). "Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis." International Journal of Hydrogen Energy **29**(13): 1355-1363.
- Siegrist, H., D. Renggli and W. Gujer (1993). "Mathematical modelling of anaerobic mesophilic sewage sludge treatment." Water Science & Technology **27**(2): 25-36.
- Smets, I. Y., J. E. Claes, E. J. November, G. P. Bastin and J. F. Van Impe (2004). "Optimal adaptive control of (bio)chemical reactors: past, present and future." Journal of Process Control. Dynamics, Monitoring, Control and Optimization of Biological Systems **14**(7): 795-805.
- Tamagnini, P., R. Axelsson, P. Lindberg, F. Oxelfelt, R. Wünschiers and P. Lindblad (2002). "Hydrogenases and Hydrogen Metabolism of Cyanobacteria." Microbiology and Molecular Biology Reviews **66**(1): 1-20.
- Tanisho, S. and Y. Ishiwata (1995). "Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as a support of flocks." International Journal of Hydrogen Energy **20**(7): 541-545.

- Tanisho, S., M. Kuromoto and N. Kadokura (1998). "Effect of CO<sub>2</sub> removal on hydrogen production by fermentation." International Journal of Hydrogen Energy **23**(7): 559-563.
- Theilliol, D., J.-C. Ponsart, J. Harmand, C. Join and P. Gras (2003). "On-line estimation of unmeasured inputs for anaerobic wastewater treatment processes." Control Engineering Practice. Special Section on Algorithms and Applications of Iterative Feedback Tuning **11**(9): 1007-1019.
- Ueno, Y., T. Kawai, S. Sato, S. Otsuka and M. Morimoto (1995). "Biological production of hydrogen from cellulose by natural anaerobic microflora." Journal of Fermentation and Bioengineering **79**(4): 395-397.
- Ueno, Y., S. Otsuka and M. Morimoto (1996). "Hydrogen Production from Industrial Wastewater by Anaerobic Microflora in Chemostat Culture." Journal of Fermentation and Bioengineering **82**(2): 194-197.
- Van Ginkel, S. and S. Sung (2001). "Biohydrogen Production as a Function of pH and Substrate Concentration." Environmental Science & Technology **35**(24): 4726-4730.
- Van Ginkel, S. W. and B. Logan (2005). "Increased biological hydrogen production with reduced organic loading." Water Research **39**(16): 3819-3826.
- Van Impe, J. F. and G. Bastin (1995). "Optimal adaptive control of fed-batch fermentation processes." Control Engineering Practice **3**(7): 939-954.
- Vavilin, V. A., S. V. Rytow and L. Y. Lokshina (1995). "Modelling hydrogen partial pressure change as a result of competition between the butyric and propionic groups of acidogenic bacteria." Bioresource Technology **54**(2): 171-177.
- Wakayama, T. and J. Miyake (2002). "Light shade bands for the improvement of solar hydrogen production efficiency by Rhodobacter sphaeroides RV." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1495-1500.
- Wei, L. G., S. P. Xu, L. Zhang, C. H. Liu, H. Zhu and S. Q. Liu (2007). "Steam gasification of biomass for hydrogen-rich gas in a free-fall reactor." International Journal of Hydrogen Energy **32**(1): 24-31.
- Whang, L.-M., C.-J. Hsiao and S.-S. Cheng (2006). "A Dual-Substrate Steady-State Model for Biological Hydrogen Production in an Anaerobic Hydrogen Fermentation Process." Biotechnology and Bioengineering **95**(3): 492-500.
- Woodward, J., K. A. Cordray, R. J. Edmonston, M. Blanco-Rivera, S. M. Mattingly and B. R. Evans (2000). "Enzymatic hydrogen production: Conversion of renewable resources for energy production." Energy & Fuels **14**(1): 197-201.

- Wu, K. J. and J. S. Chang (2007). "Batch and continuous fermentative production of hydrogen with anaerobic sludge entrapped in a composite polymeric matrix." Process Biochemistry **42**(2): 279-284.
- Xaumier, F., M.-V. Le Lann, M. Cabassud and G. Casamatta (2002). "Experimental application of nonlinear model predictive control: temperature control of an industrial semi-batch pilot-plant reactor." Journal of Process Control **12**(6): 687-693.
- Yokoi, H., R. Maki, J. Hirose and S. Hayash (2002). "Microbial production of hydrogen from starch-manufacturing wastes." Biomass and Bioenergy **22**(5): 389-395.
- Yokoi, H., S. Mori, J. Hirose, S. Hayashi and Y. Takasaki (1998a). "H<sub>2</sub> production from starch by a mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Rhodobacter* sp. M-19." Biotechnology Letters **20**(9): 895-899.
- Yokoi, H., A. Saito, H. Uchida, J. Hirose, S. Hayashi and Y. Takasaki (2001). "Microbial hydrogen production from sweet potato starch residue." Journal of Bioscience and Bioengineering **91**(1): 58-63.
- Yokoi, H., T. Tokushige, J. Hirose, S. Hayashi and Y. Takasaki (1998b). "H<sub>2</sub> production from starch by a mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*." Biotechnology Letters **20**(2): 143-147.
- Yu, H., Z. Zhu, W. Hu and H. Zhang (2002). "Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1359-1365.
- Zedtwitz, P. V., J. Petrasch, D. Trommer and A. Steinfeld (2006). "Hydrogen production via the solar thermal decarbonization of fossil fuels." Solar Energy **80**(10): 1333-1337.
- Z'Graggen, A., P. Haueter, D. Trommer, M. Romero, J. C. de Jesus and A. Steinfeld (2006). "Hydrogen production by steam-gasification of petroleum coke using concentrated solar power - II - Reactor design, testing, and modeling." International Journal of Hydrogen Energy **31**(6): 797-811.
- Zhang, H., M. A. Bruns and B. E. Logan (2006a). "Biological hydrogen production by *Clostridium acetobutylicum* in an unsaturated flow reactor." Water Research **40**(4): 728-734.
- Zhang, Y., G. Liu and J. Shen (2005). "Hydrogen production in batch culture of mixed bacteria with sucrose under different iron concentrations." International Journal of Hydrogen Energy **30**(8): 855-860.

- Zhang, Y. and J. Shen (2006). "Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria." International Journal of Hydrogen Energy **31**(4): 441-446.
- Zhang, Z.-P., K.-Y. Show, J.-H. Tay, D. T. Liang, D.-J. Lee and W.-J. Jiang (2006b). "Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community." Process Biochemistry. From Biochemical Engineering to Systems Biology - In honour of Dr. Wolf-Dieter Deckwer **41**(10): 2118-2123.
- Zheng, X.-J. and H.-Q. Yu (2005). "Inhibitory effects of butyrate on biological hydrogen production with mixed anaerobic cultures." Journal of Environmental Management **74**(1): 65-70.
- Zhu, G.-Y., A. Zamamiri, M. A. Henson and M. A. Hjortso (2000). "Model predictive control of continuous yeast bioreactors using cell population balance models." Chemical Engineering Science **55**(24): 6155-6167.





# Chapitre III

## Matériels et Méthodes



## CHAPITRE II – MATERIELS ET METHODES

|  |           |
|--|-----------|
| <b>I Mesures hors ligne .....</b>  | <b>85</b> |
| I.1 Demande chimique en oxygène .....                                      | 85        |
| I.2 Mesure des concentrations en acides gras volatils .....                | 85        |
| I.3 Mesure des acides organiques et des sucres .....                       | 87        |
| I.4 Mesure de la concentration en biomasse .....                           | 88        |
| I.5 Mesure de la composition du biogaz .....                               | 88        |
| <b>II Mise en place du bioreacteur .....</b>                               | <b>89</b> |
| <b>III Determination experimentale du <math>k_{\text{La}}</math> .....</b> | <b>95</b> |
| <b>IV Analyse des communautés microbiennes .....</b>                       | <b>96</b> |
| IV.1 Conservation des échantillons .....                                   | 96        |
| IV.2 Extraction-Purification de l'ADN total .....                          | 96        |
| IV.3 Amplification de l'ADN par PCR .....                                  | 97        |
| IV.4 Analyse SSCP .....  | 97        |
| <b>V References .....</b>  | <b>98</b> |

**Guide de lecture :** Ce chapitre décrit l'ensemble des moyens expérimentaux mis en œuvre lors de ce travail. Le lecteur y trouvera toutes les informations lui permettant de refaire les expérimentations. Le chapitre est divisé en plusieurs parties.

Les deux premières parties correspondent aux différentes mesures des données hors ligne et en ligne effectuées pendant les expérimentations sur un bioréacteur de 2 litres.

La troisième partie décrit la méthode utilisée pour mesurer les coefficients d'échange gazeux entre les phases liquides et gazeuses.

La dernière partie décrit les techniques de biologie moléculaire utilisées pour l'analyse microbiologique du procédé.



# I MESURES HORS LIGNE

## I.1 Demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO mesure la concentration en matières organiques dissoutes ou en suspension dans la phase liquide et se quantifie en mg/L ou en g/L. Elle s'obtient à partir de la mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder totalement la matière organique. La matière est oxydée, en milieu acide ( $H_2SO_4$ ), à haute température et en présence d'un catalyseur (sulfate d'argent), par le bichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) introduit en excès.

Lors de nos expérimentations, la DCO a été déterminée par une méthode colorimétrique (Jirka and Carter, 1975). Dans cette méthode, l'échantillon doit être préalablement dilué de façon à obtenir une DCO comprise entre 0 et 1500 mg  $O_2/L$ . 2 mL de la solution à analyser sont ensuite placés dans un tube contenant une solution oxydante (Merck Spectroquant). Puis, le tube est placé dans un réacteur de minéralisation (HACH, Suisse) (figure II.1) à 150 °C pendant 2 heures. Après refroidissement, l'absorbance est lue sur un spectrophotomètre portable (*DR/2010*, HACH, Suisse) à une longueur d'onde de 620 nm et convertie en DCO. Un tube de référence ou blanc, contenant d'eau déminéralisée, est utilisé afin de faire cette conversion.



Figure II.1 Réacteur de minéralisation.

### I.1.1 Mesure des concentrations en acides gras volatils (AGV)

La détermination des AGVs est effectuée par chromatographie en phase gazeuse. Cette analyse donne les concentrations en acide acétique, acide propionique, acide butyrique et iso-butyrique et en acide valérique et iso-valérique grâce à une table d'identification programmée. Bien que le système soit entièrement automatisé, il est nécessaire de diluer 0,5 mL de

l'échantillon à analyser avec 0,5 mL d'une solution d'étalon interne dont la surface de pic sert de référence.

Deux appareils de chromatographie ont été utilisés au cours des expériences. Le premier est un chromatographe *GC 8000* avec un passeur d'échantillon *AS 800* de Fisons Instruments. Il est composé d'un détecteur à ionisation de flammes. Les conditions opératoires étaient les suivantes :

- Gaz vecteur : azote,  $P = 335$  KPa
- Température de l'injecteur :  $250$  °C
- Température du détecteur :  $275$  °C
- Gradient de température du four : de  $80$  à  $120$  °C (rampe de  $10$  °C par minute)

L'acquisition des données s'est faite grâce au logiciel *MFC 800* de Fisons Instruments adapté à ce chromatographe. Les données ont également été acquises sur un intégrateur *FX-870* de EPSON.

Le deuxième chromatographe est un *Varian GC 3900* (figure II.2). Le détecteur utilisé était un détecteur à ionisation de flammes. Les conditions opératoires étaient les suivantes :



**Figure II.2** Chromatographe Varian GC 3900

- Gaz vecteur: azote,  $P = 20$  psi
- Température de l'injecteur :  $210$  °C
- Température du détecteur :  $280$  °C
- Débit du gaz :  $6$  mL/min
- Gradient de température du four: de  $80$  à  $120$  °C (rampe de  $10$  °C par minute)

L'acquisition des données s'est faite grâce au logiciel *Galaxie Works Station* de Varian (version 1.9.3.2).

Il est à noter que les deux chromatographes étaient équipés d'une colonne semi-capillaire *FFAP* de  $15$  m de long et de  $0,52$  mm de diamètre, *Phase EC<sup>TM</sup> 1000*.

Au cours de nos expérimentations, chaque échantillon était injecté trois fois et seulement la valeur médiane des trois mesures était retenue.

### I.1.2 Mesure des concentrations en acides organiques et en sucres

La séparation des sucres et des acides organiques a été réalisée par une chaîne analytique de Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) (Cf. figures II.3 et II.4) munie d'une colonne chromatographique HPX 87 (Biorad, USA) et d'un éluant composé de  $H_2SO_4$  (0,006 mol/L)

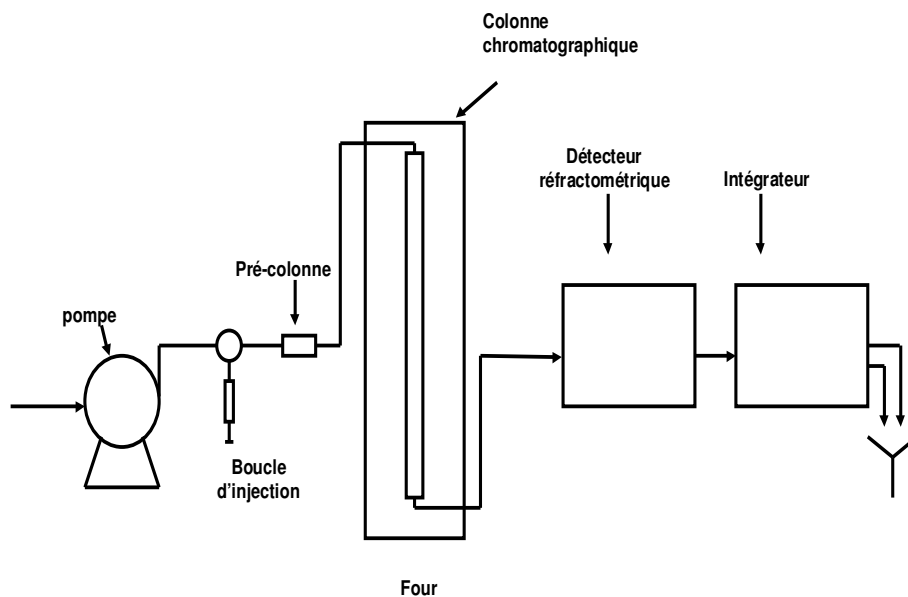


Figure II.3 Chaîne analytique de Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)



Figure II.4 Montage pour analyse de HPLC

L'échantillon à analyser était placé dans la boucle d'injection à l'aide d'une seringue de 1 mL et pompé à un débit de 0,4 mL/min. Une pré-colonne (Micro guard cation H refill cartridges, Bio-rad) était disposée avant la colonne pour filtrer les éventuels résidus.



La colonne chromatographique était disposée dans un four à température constante. Les températures de travail variaient entre 35 °C et 45 °C avec une température maximale de 65 °C, suivant le type d'analyse et de séparation des composés désiré. Le détecteur utilisé était un réfractomètre 410 de WATERS relié à un intégrateur C-R 3A SHIMADZU pour le traitement des données.

Diverses solutions ont été utilisées afin d'étalonner la chaîne. Dans un premier temps, tous les solutés ont été injectés séparément avec un concentration de 1 g/L pour connaître leur temps de rétention. Ensuite, une solution avec tous les solutés à 1 g/L a été injectée, ainsi que plusieurs dilutions (4 ou 5) de cette solution, *i.e.* 0,5 g/L, 0,3 g/L et 0,1 g/L. Un facteur de réponse a été calculé et introduit dans la table d'identification de l'intégrateur.

### **I.1.3 Mesure de la concentration en biomasse**

La concentration en biomasse a été déterminée à partir de la mesure des matières volatiles selon les *Standard Methods* (APHA, 1998).

Après centrifugation de 30 mL d'échantillon liquide, le culot était disposé dans une capsule de porcelaine préalablement tarée (P1) et placé dans une étuve à 105°C pendant 24 heures afin d'obtenir les matières sèches (MS) suivant la formule:

$$MS = \frac{P_2 - P_1}{0,030} \text{ (g/g)} \quad (7.1)$$

La capsule était ensuite mise dans un four à 550 °C pendant 2 heures afin de brûler les matières volatiles (MV). Après refroidissement, elle était de nouveau pesée (P3) et les MV étaient obtenues par la formule:

$$MV = \frac{P_2 - P_3}{0,030} \text{ (g/g)} \quad (7.2)$$

Au cours de nos expérimentations, cette analyse a été faite en double et la valeur moyenne a été retenue.

### **I.1.4 Mesure de la composition du biogaz**

L'analyse du biogaz produit a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse (GC). Le chromatographe utilisé était un GC-14A de Shimadzu (Japon) (figure II.5) équipé d'un intégrateur CR8A. 1 mL d'échantillon gazeux était injecté dans le chromatographe à l'aide d'une seringue (Seringue Perfectum, COSGE) et entraîné à l'argon (phase mobile) qui

balayait de manière continue la colonne (CTR I, Alltech). Celle-ci comprenait 2 colonnes concentriques : la colonne intérieure 1/8" permettait de séparer le  $CO_2$  et le  $N_2O$  des autres gaz; la colonne externe 1/4" était garnie d'un tamis moléculaire de 5 Å et permettait de séparer  $O_2$ ,  $N_2$ ,  $H_2$  et  $CH_4$ . Les composés étaient élués suivant leur diffusivité.



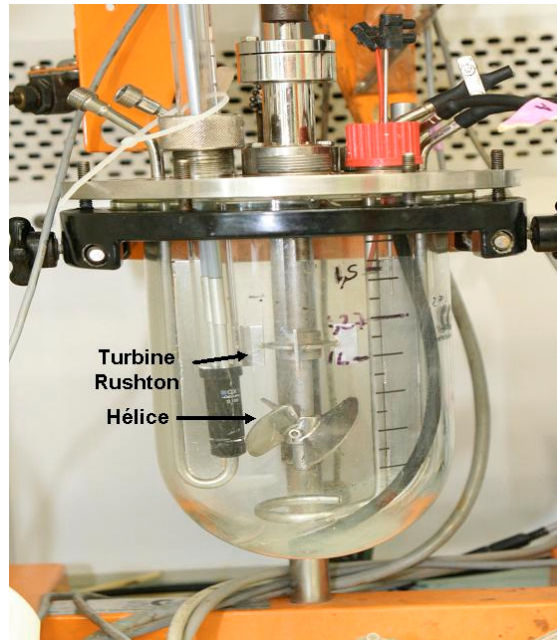
**Figure II.5** Chromatographe GC-14A

La colonne était maintenue à une température de 35 °C et la température de l'injecteur était fixée à 100 °C. La détection était effectuée à l'aide d'un catharomètre (principe du pont Wheatstone) dont l'intensité est initialement fixée à 80 mA.

Le chromatographe était étalonné à l'aide d'un mélange de 25 % (v/v) de dioxyde de carbone, 58 % de méthane, 10 % d'azote, 2 % d'oxygène et 5 % d'hydrogène. L'erreur de mesure était de l'ordre de 5 %.

## **II MISE EN PLACE DU BIOREACTEUR**

Le réacteur utilisé était un *Set 002* de Setric Génie Industriel de 2 litres de volume total. Le système d'agitation (SGI) assurait un mélange homogène à l'aide d'une turbine de Rushton et d'une hélice marine (figure II.6). Au cours de nos expérimentations, la turbine de Rushton était positionnée à 7,9 cm de la platine (diamètre : 5 cm) et séparée à 2,3 cm de l'hélice (diamètre : 4,7 cm) dont les propriétés sont indiquées au tableau II.1. Un tachymètre à micro-contact magnétique faisait office de compte-tours.



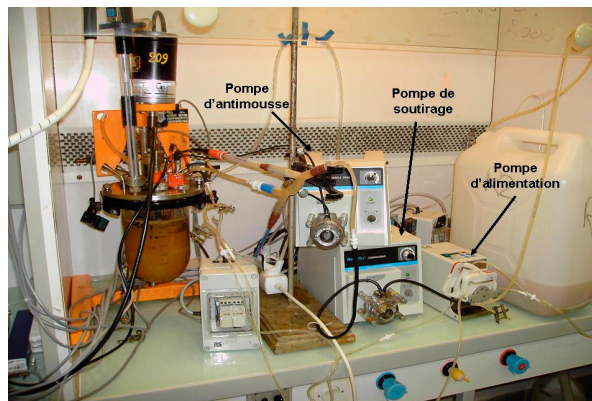
**Figure II.6** Système d'agitation du réacteur.

**Tableau II.1** Caractéristiques d'opération de la turbine de Rushton et de l'hélice marine

| Caractéristiques                   | Turbine de Rushton   | Hélice marine  |
|------------------------------------|--|--|
| <b>Type d'écoulement du mobile</b> | Radial   | Axial :<br>de haut en bas près de l'axe et<br>inverse au niveau des parois |
| <b>Cisaillement/turbulence</b>     | Faible   | Important  |
| <b>Type d'opération</b>            | Extraction et<br>Dispersion liquide- liquide<br>Dispersion gaz-liquide | Homogénéisation<br>Suspension liquide-gaz                                  |
| <b>Consommation d'énergie</b>      | Importante   | Plus faible  |
| <b>Déconseillé pour</b>            | Transfert thermique<br>Homogénéisation                                 | Dispersion liquide ou gazeuse  |

L'alimentation du réacteur en mélasse se faisait avec une micro-pompe péristaltique commandable ISMATEC (Reglo digital MS-4/8, tuyaux tygon R3603, diamètre interne du tuyau : 0,1099 in) (figure II.7). Les mélasses sont le résidu issu de la production du sucre à partir de la betterave (Fives Cail). Elles étaient diluées avant d'être alimentées au réacteur en ajoutant une solution minérale composée de (mg/L):  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 150; NaCl, 1000;  $ZnCl_2$ , 10;  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 25;  $NH_4Cl$ , 1000;  $CoCl_2 \cdot 5H_2O$ , 5;  $CuCl_2$ , 5;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 10;  $K_2HPO_4$ , 150;  $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ , 20;  $MnCl_2 \cdot 6H_2O$ , 20.

Une sonde de niveau, constituée d'une tige en acier inoxydable, était plongée dans le réacteur. Lorsque le fluide entrant en contact avec la sonde, un courant alternatif de faible intensité y circulait et actionnait un relais de détection de niveau qui démarrait la pompe de soutirage MASTERFLEX (Consol Drive n°77521-47, diamètre tuyau: 0,06). Une deuxième pompe MASTERFLEX était utilisée pour ajouter de l'antimousse dans le réacteur à intervalles réguliers.

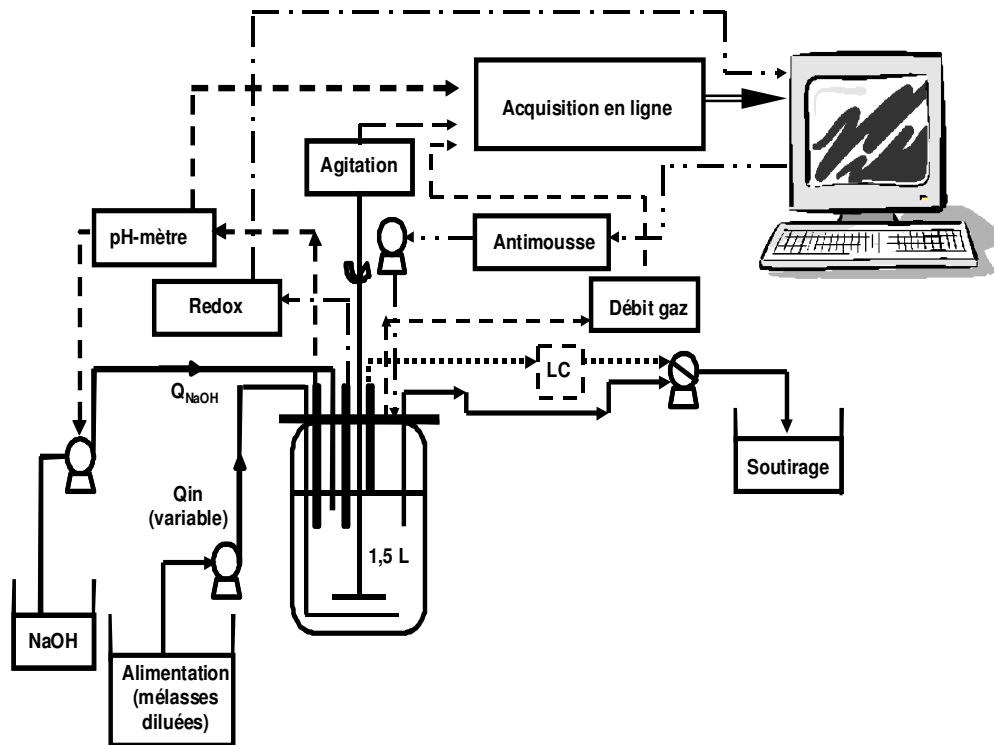


**Figure II.7** Pompes utilisées dans l'installation du réacteur

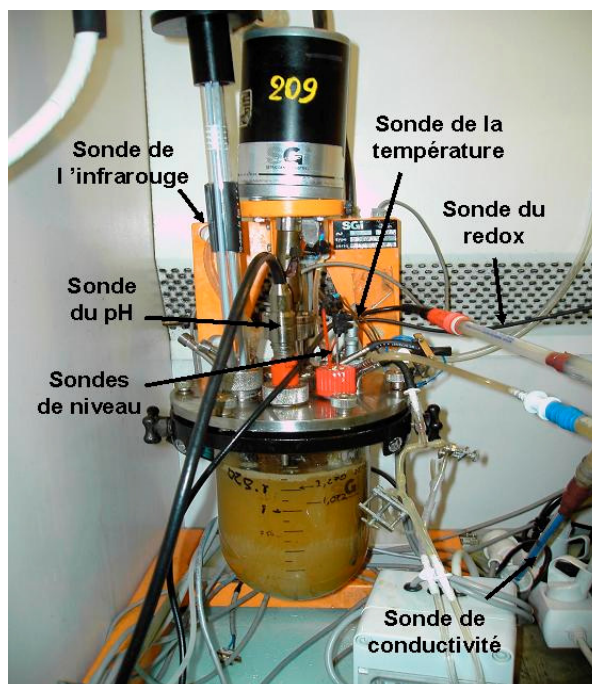
Le réacteur était équipé de plusieurs sondes de mesure *in situ*. Au cours des expérimentations, il y a eu différentes configurations de sondes. Pour les premières expériences (Cf. figure II.8), seules deux sondes *in situ* étaient installées :

- une sonde de potentiel redox (Pt 4805 – DXK – S8 / 225, METTLER, TOLEDO)
- une sonde de pH (4010/120/Pt100, METTLER, TOLEDO)

Cette configuration a ensuite été modifiée pour les expériences de commande optimale et plusieurs capteurs additionnels ont été ajoutés. Une fibre optique connectée à un spectromètre proche infrarouge a été placée dans le réacteur à la place de la sonde de redox, celle-ci étant déplacée dans le circuit de soutirage du réacteur à proximité d'une sonde de conductivité électrique. (figures II.9 à II.11). La sonde de conductivité était constituée de deux électrodes de platine (constante de cellule:  $1 \text{ cm}^{-1}$ , Heito).



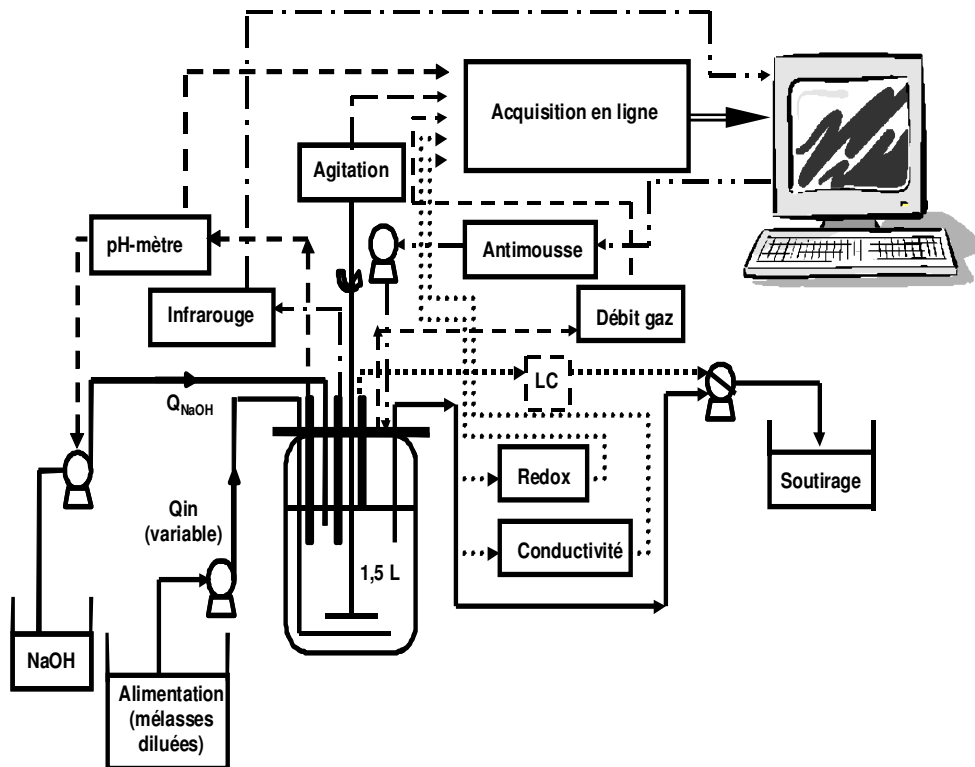
**Figure II.8** Configuration du réacteur pour les premières expériences



**Figure II.9** Sondes utilisées dans le réacteur

Le pH-mètre (2300, Ingold) et le transmetteur redox (pH Transmitter 2500, Mettler, Toledo) étaient reliés à un ordinateur via un convertisseur analogique/numérique TES (Leroy Automatique Industrielle, Toulouse). La sonde du pH disposait aussi d'une sonde Pt100 qui

permettait de faire l'acquisition en ligne de la température. Le pH était régulé grâce à l'ajout automatique de soude à 2 mol/L à l'aide du pH-mètre. Le système de régulation de température était composé d'une sonde de platine *Pt100* et d'une résistance chauffante.

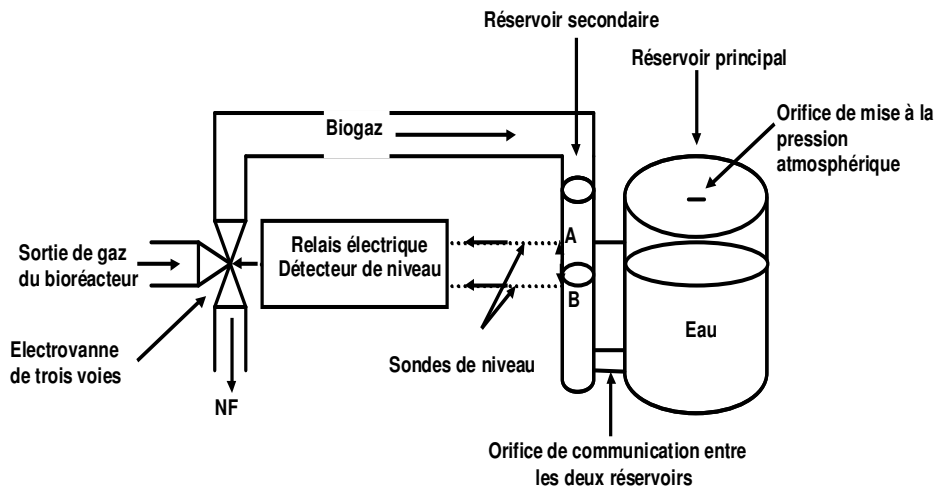


**Figure II.10** Configuration du réacteur pour les expériences de commande.

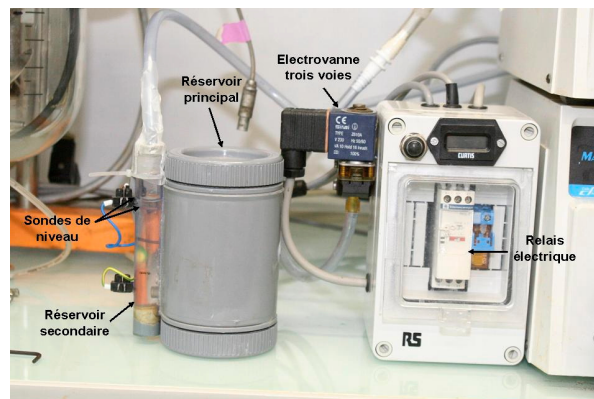


**Figure II.11** Installation complète du réacteur

La quantité de gaz produite était mesurée à l'aide d'un compteur de gaz "fait maison" (Cf. figures II.12 et II.13) constitué de deux compartiments remplis d'eau et communicants, de sorte que le niveau d'eau se trouve en A (niveau supérieur). Lorsque du biogaz est produit, le niveau dans le récipient secondaire diminue jusqu'à arriver en B (niveau inférieur). Le relais ouvre alors la troisième voie de la vanne (NF) libérant ainsi la quantité de biogaz comprise entre les points A et B et dont le volume est proche de 2 mL.



**Figure II.12** Compteur de gaz "fait maison" utilisé lors des expérimentations



**Figure II.13** Photographie du compteur de gaz

Un spectromètre Proche Infrarouge (PIR) a également été utilisé dans la dernière série d'expériences pour mesurer en ligne la concentration des différents composés. Le spectromètre utilisé était un *NIRVIS 91* (BUCHI, Suisse). Il était équipé d'une sonde à transmission par fibres optiques directement immergées dans le réacteur. La gamme spectrale utilisée couvrait les longueurs d'onde de 1000 à 2500 nm avec un pas de 3 nm. Le logiciel NIRCAL (BUCHI) a été utilisé pour déterminer des modèles d'étalonnage de la méthode.

L'acquisition automatique des données était assurée par un convertisseur analogique digital TES (Leroy Automation, Toulouse) comportant 4 entrées analogiques, 4 entrées « Tout Ou Rien » et 4 sorties analogiques. Il était piloté par MSPC, logiciel développé au LBE en Visual Basic et fonctionnant sous Windows (Steyer *et al.*, 1997). Ce logiciel permet de communiquer avec le langage de programmation scientifique Matlab<sup>®</sup> 6.5. Les données étaient ensuite envoyées au logiciel ODIN développé lors du projet européen TELEMAR (Bernard *et al.*, 2005). ODIN permet le traitement avancé des données grâce à diverses fonctions permettant le

tracé graphique, le traitement du signal, le calcul de lois de commandes et l'archivage dans une base de données.

### III DETERMINATION EXPERIMENTALE DU $k_1a$

L'importance d'avoir un bon transfert gaz-liquide lors la production d'hydrogène a été décrite en section III.3.2-a.6 comme une façon d'éviter l'inhibition ou la consommation de l'hydrogène. Le coefficient de transfert volumique ( $k_1a$ ) est un paramètre très important pour connaître ce transfert. Il s'agit du produit entre le coefficient de transfert côté liquide ( $k_l$ ) et l'aire interfaciale spécifique ( $a$ ). Le  $k_1a$  dépend de nombreux paramètres : la vitesse d'introduction ou de production du gaz, les propriétés physico-chimiques de la phase liquide, le type de distributeur utilisé, la puissance dissipée, ...

La méthode utilisée pour mesurer le coefficient de transfert consistait à sursaturer le liquide en oxygène ( $C_0$ ) en ajoutant 1 mL de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$  à 30%) et 1 mL de chlorure de fer (en solution aqueuse à 25 %). La réaction suivante se produisait alors :



De l'air était ensuite utilisé et injecté en forme de fines bulles afin de faire baisser la concentration en oxygène dissous jusqu'à sa valeur d'équilibre avec l'air. A partir des courbes expérimentales obtenues, il a été possible de déterminer le  $k_1a$  en utilisant l'équation de transfert :

$$\frac{dC}{dt} = k_1a(C_s - C) \quad (7.4)$$

où  $C$  est la valeur de la concentration en oxygène dissous et  $C_s$  la valeur de la concentration de saturation (*i.e.*, 8 mg/L) en équilibre avec l'air et  $C_0$  est la condition initiale. Finalement, le  $k_1a$  a été estimé à l'aide d'une régression non-linéaire sur les concentrations en oxygène dissous en fonction du temps.

L'ordre de grandeur des mesures du coefficient de transfert de gaz pour les conditions de fonctionnement en anaérobie dans le bioréacteur utilisé était compris entre 3 et 20  $h^{-1}$  pour des vitesses d'agitation respectives de 100 et 300 tr/min.



## IV ANALYSE DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES

L'analyse des communautés microbiennes a été faite uniquement lors des premières et des dernières séries d'expériences. Une vision globale des communautés microbiennes a été obtenue par amplification PCR (« polymerase chain reaction » *i.e.*, réaction de polymérisation en chaîne) de la région V<sub>3</sub> des gènes de l'ADNr 16S et électrophorèse SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism). Cette technique permet d'obtenir un profil électrophorétique présentant une image globale de la diversité des espèces microbiennes de l'écosystème et de leur abondance relative sous la forme d'un profil de pics. Pour les dernières expériences, les régions V<sub>3</sub> ont été aussi amplifiées et clonées chez *Escherichia coli*. Les micro-organismes impliqués ont alors pu être identifiés par comparaison des séquences obtenues à celles présentes dans les banques de données et par analyse phylogénétique.

### IV.1 Conservation des échantillons

Pour chaque mesure, 10 mL d'échantillon ont été prélevés du réacteur et centrifugés à 7000 rpm pendant 10 min. Le culot a été mis dans 2 mL de guanidine thiocyanate 4M Tris-Cl pH=7,5 et 600 mL de N-Lauroyl-sarcosine 10%. Des aliquotes de 500 mL ont ensuite été conservés en chambre froide à -20 °C.

### IV.2 Extraction-Purification de l'ADN total

Le protocole détaillé de l'extraction et de la purification de l'ADN total est donné par Godon *et al.* (1997). La lyse cellulaire a été réalisée par chauffage (70 °C pendant 1 h) puis par action mécanique de micro-billes de zirconium dans un micro-broyeur (10 min). Les inhibiteurs de PCR (acides humiques) ont été éliminés par ajout de polyvinylpolypyrrolidone. L'ADN a été précipité par l'isopropanol, puis purifié avec la micro-colonne du kit (DNA stool minikit, Qiagen Hilden). L'estimation de la quantité d'ADN a été effectuée par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,7 %-TBE 1X en présence de bromure d'éthidium (BET) permettant la visualisation de l'ADN sous UV. Le marqueur de taille Lambda DNA /Hin dIII a été utilisé.

### IV.3 Amplification de l'ADN par PCR

La PCR est une technique qui permet d'amplifier une région de l'ADN. Cette réaction s'effectue grâce à des amorces (oligonucléotides) spécifiques qui encadrent la région ciblée de l'ADN, une polymérase thermostable (*i.e.*, qui résiste à la chaleur) et des briques élémentaires d'ADN (nucléotides: dNTP), suivant plusieurs cycles de température. A chaque cycle, les échantillons passent par trois phases différentes:

- la *phase de dénaturation* des deux brins d'ADN par élévation de la température,
- la *phase d'hybridation* correspondant à la fixation des amorces sur les matrices simple brin, au niveau de leurs séquences complémentaires, autour de la région à amplifier,
- la *phase d'élongation* réalisée à la température optimale de la polymérase, cette enzyme permettant de synthétiser le nouveau brin d'ADN grâce aux dNTP présents en excès.

Puis, chaque fragment est à son tour dénaturé pour recommencer un nouveau cycle d'amplification. La quantité d'ADN double donc à chaque cycle.

### IV.4 Analyse SSCP

La SSCP est une technique qui permet de séparer des fragments d'ADN monobrin de séquences différentes mais de même taille selon leur structure secondaire. Appliquée à la région V<sub>3</sub> de l'ADNr 16S, elle permet d'obtenir une empreinte moléculaire des écosystèmes microbiens appelée « fingerprint ».

Les produits de PCR obtenus précédemment ont été mélangés à la formamide pure, agent dénaturant, et à un étalon interne, marqueur de taille 400 HD-rox, (Applera). Ce mélange était porté à 95 °C durant cinq minutes afin de dénaturer les fragments, puis refroidi immédiatement dans un mélange eau-glace afin d'éviter toute renaturation des deux brins.

Les fragments d'ADN simple brin adoptent alors une conformation secondaire stable qui permettra de les séparer par électrophorèse capillaire. La détection pour les bactéries se faisait grâce au marquage fluorescent des amorces w104 et w49. Les *archaeae* ont été identifiées avec une PCR nichée *archaea* avec les amorces w02 et w17. Finalement, les amorces w02 et w18 ont été utilisées pour l'identification des pics de la dernière expérience.

La première série d'analyses d'électrophorèse a été effectuée avec un séquenceur automatique ABI Prism 310 Perkin Elmer Applied Biosystems et l'analyse des résultats avec le logiciel GeneScan Analysis (version 3.7.1). La deuxième série d'analyses a été réalisée avec le

séquenceur analytique 3130 Génétique Analyser (Applied Biosystems, HITACHI) (figure II.14) et le logiciel GeneMapper (version 4.0).



**Figure II.14** Séquenceur analytique 3130

## **V REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- APHA (1998). APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Waste-Water. L.S. Clesceri, A.E. Greenberg and A.D. Eaton, Editors. Washington, D.C, American Public Health Association.
- Bernard, O., B. Chachuat, A. Helias, B. Le Dantec, B. Sialve, J. P. Steyer, L. Lardon, P. Neveu, S. Lambert, J. Gallop, M. Dixon, P. Ratini, A. Quintaba, S. Frattesi, J. M. Lema, E. Roca, G. Ruiz, J. Rodriguez, A. Franco, P. Vanrolleghem, U. Zaher, D. J. W. De Pauw, K. De Neve, K. Lievens, D. Dochain, O. Schoefs, H. Fibrianto, R. Farina, V. A. Gonzalez, V. G. Alvarez, P. Lemaire, J. A. Martinez, F. Esandi, O. Duclaud and J. F. Lavigne (2005). "An integrated system to remote monitor and control anaerobic wastewater treatment plants through the internet." Water Science and Technology **52**(1-2): 457-464.
- Godon, J., E. Zumstein, P. Dabert, F. Habouzit and R. Moletta (1997). "Molecular microbial diversity of an anaerobic digester as determined by small-subunit rDNA sequence analysis." Appl. Envir. Microbiol. **63**(7): 2802-2813.
- Jirka, A. M. and M. J. Carter (1975). "Micro Semi-Automated Analysis of Surface and Wastewaters for Chemical Oxygen Demand." Analytical Chemistry **47**(8): 1397.
- Steyer, J.-P., D. Gleize, C. Bronner and R. Moletta (1997). "Control-BUFFER: une solution à l'automatisation des procédés de dépollution." L'Eau, l'Industrie, les Nuisances **206**: 46-49.

# Chapitre III

## Résultats



## CHAPITRE III – RESULTATS

|  |            |
|--|------------|
| <b>I- Optimisation de la production de biogaz issu de la digestion anaérobie</b>   | <b>105</b> |
| <b>II- Analyse technico-économique comparative des filières biogaz et biohydrogène produits à partir de déchets .....</b>  | <b>125</b> |
| <b>III- Détermination expérimentale du schéma réactionnel de la production d'hydrogène en fermentation anaérobie .....</b> | <b>139</b> |
| <b>IV- Proposition et validation d'un modèle dynamique de la production d'hydrogène en fermentation anaérobie .....</b>    | <b>157</b> |
| <b>V- Estimation des états et de l'entrée pour la production de biohydrogène</b>   | <b>179</b> |
| <b>VI- Optimisation dynamique de la production de biohydrogène .....</b>   | <b>195</b> |

***Guide de lecture:*** Le travail développé dans cette thèse est constitué de six parties distinctes mais complémentaires. Chacun de travaux a été publié sous forme d'article, ici présenté avec un résumé étendu en version française.

Le lecteur intéressé par un état de l'art de l'optimisation – via l'instrumentation en ligne et la commande – de la production classique de méthane par digestion anaérobie pourra se référer au premier article. Le second décrit un comparatif technico-économique entre la filière de production de biogaz et celle, potentiellement intéressante dans un avenir proche, de production de biohydrogène. Plusieurs configurations de procédés sont évaluées et des critères de rentabilité économique sont envisagés.

Le troisième article étudie la détermination du schéma réactionnel minimal obtenu à partir de données expérimentales obtenues aux états stationnaires. Celui-ci est traduit sous forme mathématique en intégrant un modèle des cinétiques réactionnelles et sa validation en régime transitoire est présentée dans le quatrième article.

Un estimateur des variables d'états et de l'entrée du procédé a également été développé pour connaître au mieux l'état du procédé tout en minimisant l'effort à réaliser sur l'instrumentation du réacteur. Finalement, une optimisation dynamique est proposée grâce à une stratégie de commande prédictive basée sur le modèle dynamique et utilisant les résultats de l'estimateur.

Il est à noter que tous les développements méthodologiques présentés dans les quatre derniers articles ont été validés par des expérimentations dédiées qui ont toutes été réalisées dans le cadre de cette thèse.

## Table de matières détaillée

|                |   |            |
|----------------|---|------------|
| <b>I</b>       | <b>OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DE BIOGAZ PRODUIT PAR DIGESTION ANAEROBIE .....</b>  | <b>105</b> |
| <b>I.1</b>     | <b><i>Introduction</i> .....</b>  | <b>107</b> |
| <b>I.2</b>     | <b><i>Situation en Europe</i> .....</b>   | <b>109</b> |
| <b>I.3</b>     | <b><i>Optimisation des usines de biogaz</i> .....</b>   | <b>113</b> |
| <b>I.3.1</b>   | <b><u>La production de méthane</u> .....</b>  | <b>114</b> |
| <b>I.3.2</b>   | <b><u>La concentration en hydrogène</u> .....</b>   | <b>115</b> |
| <b>I.3.3</b>   | <b><u>Les acides gras volatils et le pH</u> .....</b>   | <b>115</b> |
| <b>I.3.4</b>   | <b><u>Les mesures en ligne des AGV</u> .....</b>  | <b>116</b> |
| <b>I.4</b>     | <b><i>Le contrôle et la surveillance avancée</i> .....</b>  | <b>117</b> |
| <b>I.5</b>     | <b><i>Conclusion</i> .....</b>  | <b>118</b> |
| <b>I.6</b>     | <b><i>Remerciements</i> .....</b>   | <b>119</b> |
| <b>I.7</b>     | <b><i>Références</i> .....</b>  | <b>119</b> |
| <br>           |   |            |
| <b>II</b>      | <b>ANALYSE TECHNICO-ECONOMIQUE COMPARATIVE DES FILIERES BIOGAZ ET BIOHYDROGENE PRODUITS A PARTIR DE DECHETS .....</b>                                   | <b>125</b> |
| <b>II.1</b>    | <b><i>Introduction</i> .....</b>  | <b>127</b> |
| <b>II.2</b>    | <b><i>Méthodologie</i> .....</b>  | <b>128</b> |
| <b>II.3</b>    | <b><i>Les paramètres techniques pris en compte</i> .....</b>  | <b>130</b> |
| <b>II.4</b>    | <b><i>Les paramètres économiques étudiés</i> .....</b>  | <b>131</b> |
| <b>II.4.1</b>  | <b><u>Le coût de production</u> .....</b>   | <b>131</b> |
| <b>II.4.2</b>  | <b><u>Valorisation énergétique</u> .....</b>  | <b>132</b> |
| <b>II.4.3</b>  | <b><u>Comparaison des données techniques et économiques des scénarii étudiés</u> .....</b>  | <b>133</b> |
| <b>II.5</b>    | <b><i>Discussion et conclusion</i> .....</b>  | <b>135</b> |
| <b>II.6</b>    | <b><i>Références</i> .....</b>  | <b>136</b> |
| <br>           |   |            |
| <b>III</b>     | <b>DETERMINATION EXPERIMENTALE PAR ACP D'UN SCHEMA REACTIONNEL DE LA PRODUCTION DE BIOHYDROGENE PAR DIGESTION ANAEROBIE.....</b>                        | <b>139</b> |
| <b>III.1</b>   | <b><i>Introduction</i> .....</b>  | <b>141</b> |
| <b>III.2</b>   | <b><i>Matériels et méthodes</i> .....</b>   | <b>144</b> |
| <b>III.2.1</b> | <b><u>Le réacteur</u> .....</b>   | <b>144</b> |
| <b>III.2.2</b> | <b><u>Les mesures hors ligne</u> .....</b>  | <b>145</b> |
| <b>III.2.3</b> | <b><u>La composition du milieu</u> .....</b>  | <b>145</b> |
| <b>III.2.4</b> | <b><u>L'inoculum</u> .....</b>  | <b>145</b> |
| <b>III.2.5</b> | <b><u>Le plan d'expériences</u> .....</b>   | <b>145</b> |
| <b>III.3</b>   | <b><i>Les résultats</i> .....</b>   | <b>146</b> |
| <b>III.3.1</b> | <b><u>Le modèle du procédé</u> .....</b>  | <b>146</b> |
| <b>III.3.2</b> | <b><u>Détermination du nombre de réactions et de la dimension du vecteur de cinétiques <math>r</math></u> .....</b>                                     | <b>147</b> |
| <b>III.3.3</b> | <b><u>Estimation des coefficients de pseudo-stœchiométrie par un algorithme d'optimisation de programmation séquentielle quadratique (SQP)</u>.....</b> | <b>148</b> |
| <b>III.3.4</b> | <b><u>Les cinétiques et les effets des conditions opératoires</u> .....</b>   | <b>151</b> |
| <b>III.4</b>   | <b><i>Conclusion</i> .....</b>  | <b>153</b> |
| <b>III.5</b>   | <b><i>Remerciements</i> .....</b>   | <b>154</b> |
| <b>III.6</b>   | <b><i>Références</i> .....</b>  | <b>154</b> |

|                   |  |     |
|-------------------|--|-----|
| <b>IV</b>         | <b>MODELE DYNAMIQUE PSEUDO-STœCHIMETRIQUE DE LA PRODUCTION ANAEROBIE D’HYDROGENE A PARTIR DE MELASSES</b>      | 157 |
| <b>IV.1</b>       | <b>Introduction</b>  | 160 |
| <b>IV.2</b>       | <b>Matériels et méthodes</b>   | 162 |
| <b>IV.2.1</b>     | <b>Milieu</b>  | 162 |
| <b>IV.2.2</b>     | <b>Configuration du réacteur</b>   | 162 |
| <b>IV.2.3</b>     | <b>Mesures hors ligne</b>  | 163 |
| <b>IV.2.4</b>     | <b>Inoculum</b>  | 164 |
| <b>IV.2.5</b>     | <b>Conditions opératoires</b>  | 164 |
| <b>IV.3</b>       | <b>Modèle mathématique</b>   | 165 |
| <b>IV.3.1</b>     | <b>Schéma de réactions biochimiques</b>  | 165 |
| <b>IV.3.2</b>     | <b>Les processus physico-chimiques</b>   | 166 |
| <b>IV.3.2 - a</b> | <b>Equilibres acido-basiques</b>   | 167 |
| <b>IV.3.2 - b</b> | <b>Les échanges gazeux</b>   | 167 |
| <b>IV.4</b>       | <b>Résultats</b>   | 168 |
| <b>IV.4.1</b>     | <b>Estimation des coefficients de rendements</b>   | 168 |
| <b>IV.4.2</b>     | <b>Simulations</b>   | 171 |
| <b>IV.5</b>       | <b>Conclusion</b>  | 174 |
| <b>IV.6</b>       | <b>Remerciements</b>   | 175 |
| <b>IV.7</b>       | <b>Références</b>  | 175 |
| <b>V</b>          | <b>ESTIMATION D’ETATS ET DE L’ENTREE POUR LA PRODUCTION DE BIOHYDROGENE</b>                                    | 179 |
| <b>V.1</b>        | <b>Introduction</b>  | 181 |
| <b>V.2</b>        | <b>Matériels and méthodes</b>  | 182 |
| <b>V.2.1</b>      | <b>Milieu</b>  | 182 |
| <b>V.2.2</b>      | <b>Réacteur</b>  | 182 |
| <b>V.2.3</b>      | <b>Mesures hors ligne</b>  | 182 |
| <b>V.2.4</b>      | <b>Inoculum</b>  | 183 |
| <b>V.2.5</b>      | <b>Conditions opératoires</b>  | 183 |
| <b>V.3</b>        | <b>Modèle mathématique</b>   | 183 |
| <b>V.3.1</b>      | <b>Schéma de réactions biochimiques</b>  | 183 |
| <b>V.3.2</b>      | <b>Les processus physico-chimiques</b>   | 185 |
| <b>V.3.3</b>      | <b>Equilibres acido-basiques</b>   | 185 |
| <b>V.3.4</b>      | <b>Les échanges gazeux</b>   | 185 |
| <b>V.4</b>        | <b>Observateur asymptotique</b>  | 187 |
| <b>V.5</b>        | <b>Résultats</b>   | 188 |
| <b>V.6</b>        | <b>Conclusion</b>  | 191 |
| <b>V.7</b>        | <b>Remerciements</b>   | 191 |
| <b>V.8</b>        | <b>Références</b>  | 192 |
| <b>VI</b>         | <b>ESTIMATION D’ETATS ET OPTIMISATION DYNAMIQUE POUR LA PRODUCTION ANAEROBIE D’HYDROGENE DANS UN DIGESTEUR</b> | 195 |
| <b>VI.1</b>       | <b>Introduction</b>  | 197 |
| <b>VI.2</b>       | <b>Matériels and méthodes</b>  | 198 |



|  |     |
|--|-----|
| <u>VI.2.1 Milieu</u> .....                                     | 198 |
| <u>VI.2.2 Réacteur</u> .....                                   | 198 |
| <u>VI.2.3 Mesures hors ligne</u> .....                         | 198 |
| <u>VI.2.4 Inoculum</u> .....                                   | 199 |
| <b>VI.3 <i>Modèle mathématique</i></b> .....                   | 199 |
| <u>VI.3.1 Schéma de réactions biochimiques</u> .....           | 199 |
| <u>VI.3.2 Processus physico-chimiques</u> .....                | 200 |
| <b>VI.4 <i>Optimisation</i></b> .....                          | 201 |
| <b>VI.5 <i>Observateur asymptotique non-linéaire</i></b> ..... | 201 |
| <b>VI.6 <i>Résultats</i></b> .....                             | 202 |
| <b>VI.7 <i>Conclusion</i></b> .....                            | 204 |
| <b>VI.8 <i>Remerciements</i></b> .....                         | 204 |
| <b>VI.9 <i>Références</i></b> .....                            | 205 |

## **I OPTIMIZING BIOGAS PRODUCTION FROM ANAEROBIC DIGESTION**

La production de biogaz et biohydrogène au niveau industriel exige des procédés rentables. En général, la viabilité économique de ces procédés est assurée par les aides publiques. Cela varie d'un pays à l'autre en fonction des politiques appliquées. Pour réduire cette dépendance, nous proposons de les envisager sous l'angle de « l'optimisation ». Les questions qui viennent à l'esprit sont : que faut-il optimiser avec les procédés actuels ? Comment et quand y parvenir ? Nous dresserons ici un état de l'art des différents aspects de l'optimisation des "usines à biogaz".

Nous montrerons que certaines installations perdent entre 25 et 40 % du biogaz à cause de leur fonctionnement éloigné des conditions optimales. Cette sous-production de biogaz est liée aux pratiques utilisées pour la surveillance des procédés, qui dépendent principalement du savoir-faire des opérateurs. Afin de faire évoluer ces pratiques, il est nécessaire de mettre en place une acquisition en ligne des données afin de suivre les évolutions du procédé. Pour cela, il faut disposer de capteurs commerciaux des paramètres pertinents du procédé.

Les quatre paramètres les plus utilisés pour la surveillance en ligne de ces procédés sont la mesure du débit du méthane produit, la concentration en hydrogène, les concentrations en acides gras volatils (AGV) et le pH. Une des meilleures stratégies de surveillance consiste à observer les fluctuations des concentrations en AGV et du débit de biogaz.

Finalement, nous suggérons d'utiliser des lois de commande basées sur les mesures en ligne afin d'optimiser le procédé. Notons que celles-ci sont applicables à distance avec l'aide des technologies issues du développement d'Internet.

# Optimizing Biogas Production from Anaerobic Digestion

J.P. Steyer<sup>(1)</sup>, E. Latrille<sup>(1)</sup>, C. Aceves<sup>(1)</sup>, I. Ramirez<sup>(1)</sup>, A. Elias<sup>(1)</sup>

J. Hess<sup>(2)</sup>, O. Bernard<sup>(2)</sup>,

H. Bangsø Nielsen<sup>(3)</sup>, K. Boe<sup>(3)</sup>, I. Angelidaki<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement,

Avenue des Etangs, Narbonne, F-11100, France.

<sup>(2)</sup> INRIA – Projet COMORE

BP 93, 06902 Sophia-Antipolis cedex, France

<sup>(3)</sup> Environment and Resources, Building 113,

Technical University of Denmark, Lyngby 2800, Denmark

*Article présenté oralement à l'International Workshop on  
"Energy Savings Through Better Design, Control, & Optimization;  
A Compilation of US and International Experiences",  
WEFTEC Conference, 25-28 Octobre 2006, Dallas, Texas, USA.*

## **Abstract**

Anaerobic treatment of organic wastes for biogas production is a way to substitute fossil fuels and to reduce disposal of waste in landfills. Economic evaluation of biogas plants has revealed that many plants can only survive economically if special incentives are applied. Moreover, recent findings indicate that many biogas plants are operating sub-optimal and 25 to 40% of the biogas potential of biomass is not utilized by the traditional operation of the plants. It is therefore necessary to find ways to optimize the biogas production in order to make biogas plants economically viable with decreased or no subsidies. Optimization of the biogas process can undoubtedly lead to better economy. This optimization can be achieved by advanced monitoring and control of the biogas process.

## **Keywords**

Anaerobic digestion, biogas, optimization, modeling, control

## I.1 INTRODUCTION

The world presently derives some 60% of its energy from fossil fuels. It is however widely recognized that the supplies of these are limited and, at projected future rates of consumption, are likely to be depleted well before the end of this century (ASPO 2002). One of the great challenges of the new century is therefore to obtain new sources of renewable energy, capable of replacing fossil fuels.

In addition to renewable sources of energy such as solar, wind or hydroelectric energy, the use of solid, liquid and gaseous fuels from biomass-based raw materials is of importance. Biomass includes a broad range of materials (agriculture and forestry products and residues, fast-growing trees and grasses, farm and food wastes, municipal sludge and solid wastes, animal manure, marine and aquatic plants, industrial and manufacturing wastes) which are biological in nature and can be used to generate various forms of bioenergy. As such, biomass is a desirable source of renewable energy which can be converted by direct combustion or biological and/or thermochemical liquefaction or gasification into a variety of biofuels.

Among these biofuels, biogas produced from anaerobic digestion of biomass is potentially a very important one.

Anaerobic Digestion (AD) is a complex series of biological processes that take place in the absence of oxygen and by which organic matter is decomposed and bioconverted on one hand into biogas (*i.e.*, a mixture of mainly carbon dioxide and methane) and, on the other hand, into microbial biomass and residual organic matter. AD process is naturally present in many ecosystems such as the digestive tract of insects (*e.g.*, termite) and mammals (*e.g.*, cows, pigs, sheep, rats) and human beings as well as in natural and cultivated ecosystems like wetlands, lakes, marine sediments and rice fields where it is actively involved in biogeochemical cycles of matter.

Uncontrolled anthropogenic emission of methane into atmosphere from man-made sources (domestic animal wastes, landfills, rice fields, agricultural and forestry residues, industrial wastes, lagoons, ...) is approximately 250 millions metric tons/yr worldwide. The energy value of this biomethane is about  $14.2 \times 10^{18}$  joules/yr which is equivalent to 15 percent of the energy consumed in the United States. Recovery of this energy as biofuels is the first step towards optimization of biogas plants. It would first reduce global warming (methane is indeed an important greenhouse gas because of its capacity to trap heat) and second, avoid use of fossil fuels. All told, a 20 percent reduction in global warming may be achieved by

utilization of organic wastes and residues for the production of biofuels and chemicals (Ghosh, 1997).

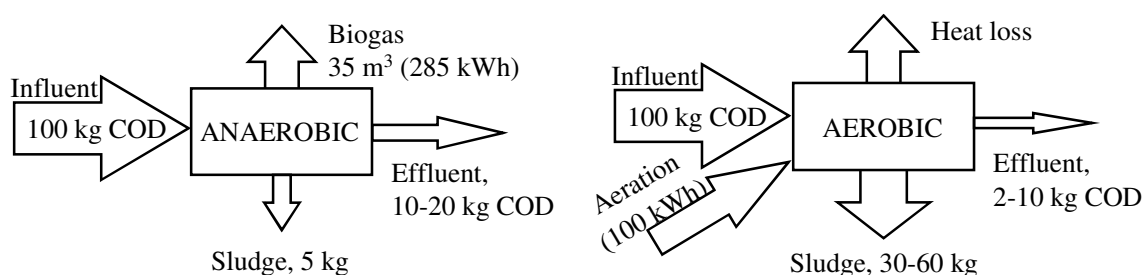
AD is also considered as one of the oldest technologies for waste and wastewater treatment. It has been indeed applied since the end of the 19<sup>th</sup> century for the treatment of household waste(water)s in septic tanks, of slurries in digesters and of sewage sludge in municipal treatment plants. It is also probably the major biological process involved in landfill wastes decomposition.

Several advantages are recognized to AD processes when used for waste and wastewater treatment: high capacity to treat slowly degradable substrates at high concentrations, very low sludge production (5 to 10 times less than in aerobic processes), potentiality for valuable intermediate metabolites production, low energy requirements (no aeration is required), reduction of odors in a closed system, pathogens reduction and possibility for energy recovery through methane combustion. As a consequence, AD compares very favorably with activated sludge processes in terms of energy balance and sludge production (*Cf.* Figure III.1) and this makes it very well adapted to highly concentrated wastewater and solid wastes. Last but not least, when carried out properly and thoroughly, the digestion process will transform toxic organic materials into clean fertilizers which are free of pathogens and weed seeds.

As an illustration, Cecchi and Bolzonella (2005) reviewed the full scale experiences of AD of the organic fraction of municipal solid waste in Italy and they showed that 3.9 to 4.4 kWh could be produced for 1 kWh consumed when treating source sorted municipal waste.

AD is also used in different country worldwide. For example, 85 full-scale reactors were in operation in 1998 for wastewater treatment in Mexico (Monroy *et al.*, 2000). Their total installed volume was 228,551 m<sup>3</sup> and they were treating 216,295 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> wastewater and 590 tons COD per day, which is equivalent to a population of 12.3 million.

AD has been also applied in China for the control of pollution and production of energy for more than 80 years and more than one million small scale digestion tanks have been built in farmers household in South East of China since 1950's (Yi, 1997).

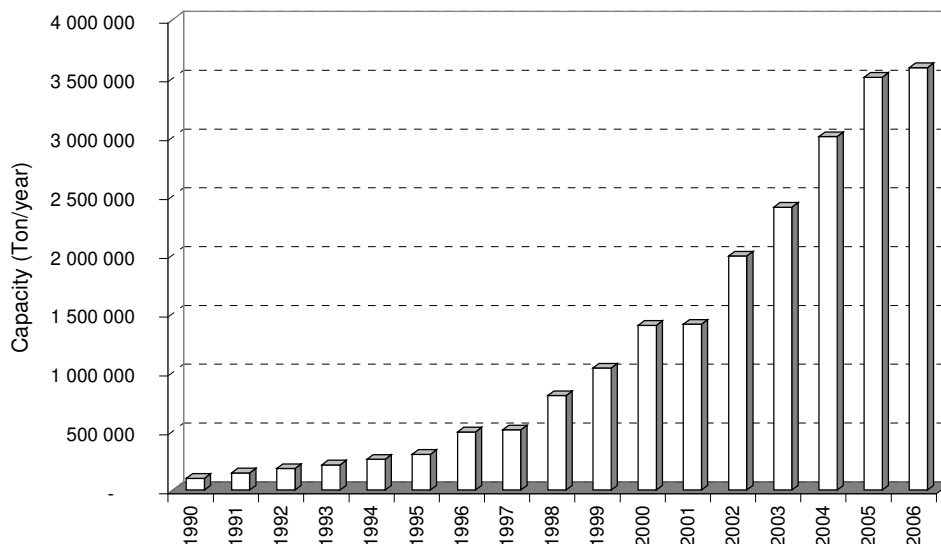


**Figure III.1** Comparison of anaerobic digestion with activated sludge processes

## I.2 SITUATION IN EUROPE

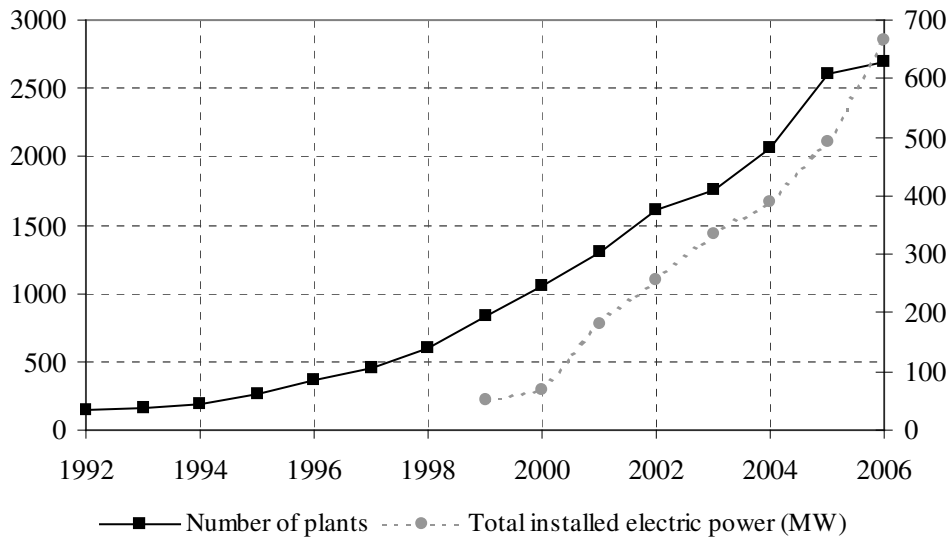
It has been demonstrated that a systematic approach to anaerobic treatment offers promise as the single most cost effective means of reducing direct and indirect greenhouse gas and nutrient emissions, and hence make a substantial contribution to meeting EU common environmental, economic and agricultural policies (van Lier *et al.*, 2001).

Europe is thus very active in conducting research on AD process. For example, anaerobic treatment of organic wastes in biogas plants has been promoted for the last two decades in many European countries, both as a way to substitute fossil fuels (reducing global emissions) and to reduce disposal of waste in landfills (*Cf.* Figure III.2). Indications are indeed that anaerobic treatment can provide a cost effective solution to municipal organic waste problem while at the same time providing renewable energy (Murphy and Power, 2006).



**Figure III.2** Installed capacity for anaerobic treatment of municipal solid wastes in Europe (from De Baere, 2005)

As an illustration of this European increasing interest for AD technology, there are presently about 2700 biogas plants at the farm scale in Germany with an installed total electrical output of approximately 665 MW (*Cf.* Figure III.3). Moreover, the increasing number of biogas plants is not only accompanied by an improvement of the plants, but also by an increasing number of different procedures and equipment suppliers.



**Figure III.3** Development of farm scale biogas plants in Germany

In Sweden, several studies were conducted to evaluate the economical feasibility of biogas plants from crop residues on a farm-scale level. It appeared that simple but effective high-solids reactor systems have a better chance of being economically viable and that the methane yield, the degree of gas utilization and operational costs have the strongest impact on the financial success of the process (Svensson *et al.*, 2005; 2006)

The situation is a little bit different in Denmark where "only" 22 full scale biogas plants are in operation but these plants are centralized processes. Each plant is indeed shared by several farms or owned by a municipality and their main purpose is to treat livestock manure and reuse the material as fertilizer. The plants range in size from 550 m<sup>3</sup> to 8500 m<sup>3</sup> with a conversion capacity of 25 to 700 tons biomass per day. In 2001, these centralized biogas plants treated approximately 1.2 million tons of manure. The methane yield of manure typically ranges from 10 to 20 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/t of manure treated, which unfortunately is today inadequate to obtain an economically profitable result (Angelidaki and Ellegaard 2003). As a consequence and in order to increase the biogas production of the plants, the manure is often co-digested with organic waste from food industries and municipalities that is rich in carbohydrates, fat and protein. The use of these substrates can improve the economy of the plants but may also, if not handled properly, lead to inhibitions of the process. At various intervals, the plants are indeed suffering severe process imbalance and it often takes months to recover with serious economic consequences.

As an illustration, in the autumn of 2004, the biogas plant codigesting pig manure and industrial wastewater in Blaabjerg, Denmark, experienced a serious accident due to

unintentional overdose of industrial waste. It led to a reduced gas production and periodically, the gas quality was so poor that it could not be used in the engines for cogeneration but had to be burned in the torch, serving no useful purpose. Following this overload, it took about three months before the biological process was stable again and the gas production returned to its normal level. The total operational loss was subsequently calculated as just under one million DKK (approximately 150,000 US\$).

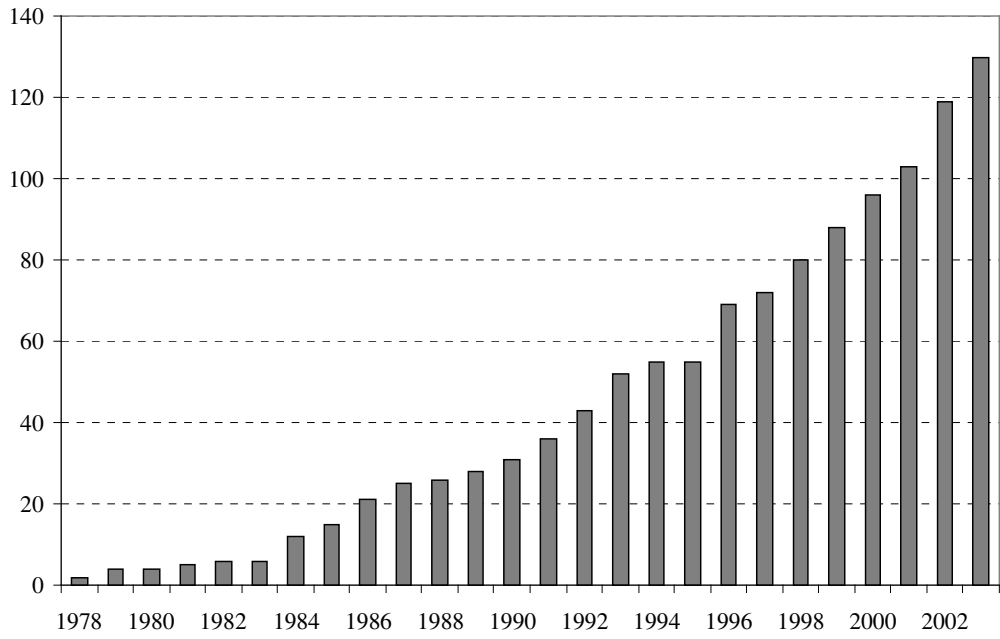
The most frequent process imbalances in the centralized Danish biogas plants are due to increasing concentrations of free ammonia or long chain fatty acids, which is a result of:

- a) Inexpedient mixing of the different waste products in pre-storage tanks, hindering exact feeding of specific waste to the reactors.
- b) Inadequate knowledge about the substrate composition.
- c) Inadequate knowledge about the degradation characteristics of the waste, with regard to inhibition level and biogas potential.
- d) Inadequate process surveillance, especially with regard to volatile fatty acids and ammonia.

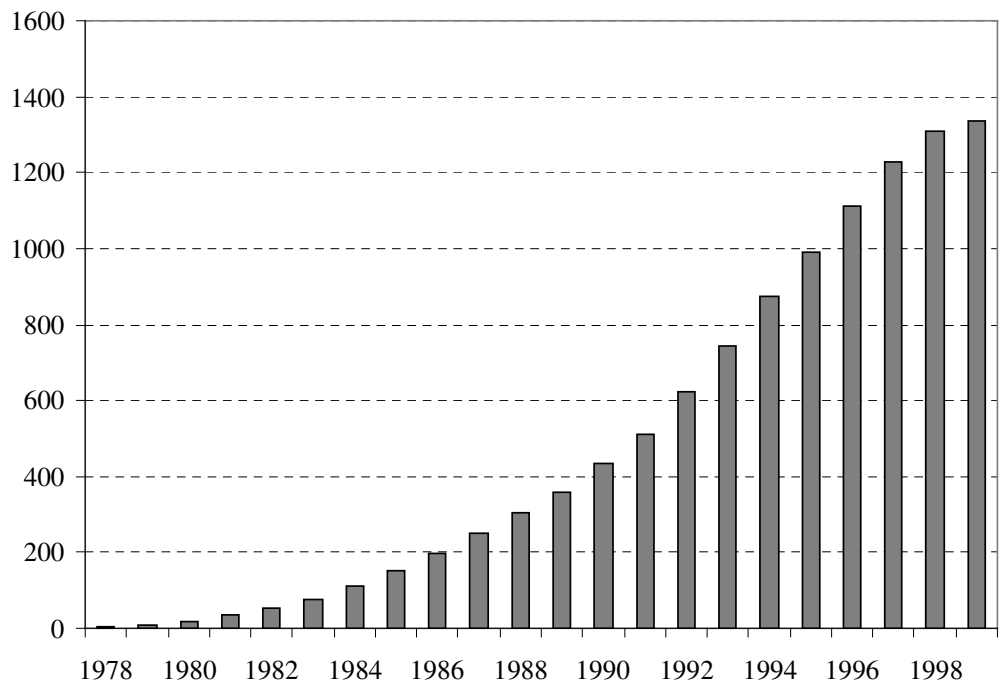
Moreover, economic evaluation of biogas plants has revealed that small scale plants can only survive economically if special incentives favor energy from biogas compared to energy from conventional fossil fuels. As a consequence, in France, since energy from biogas plants was rather cheap (4 to 7 cents per kWh), AD was not as popular at the farm level as in Germany. Only 3 plants were indeed in operation in France in 2005 (Ragonnaud, 2005), a rather small number compared to the 2700 in German farms ! But the increase of the price of energy from biogas decided in July 2006 by the French Ministry of Industry (9 to 14 cents per kWh – JORF, 2006) should hopefully change these figures in the near future.

Nevertheless, in France, AD is rather popular for the treatment of industrial wastewater and especially in the food, chemical and paper industries. Hundred thirteen digesters were indeed constructed in 2003 for industrial wastewater (*Cf.* Figure III.4) and previsions are that this number should be doubled within 10 years (AND, 2003). The exact same trend can be noticed worldwide (*Cf.* III.5) with about 1350 plants referenced in 1999 (Totzke, 1999) and this trend is confirmed since more than 2000 industrial plants were installed in 2004.





**Figure III.4** Increasing number of industrial biogas plants in France



**Figure III.5** Increasing number of industrial biogas plants worldwide

### **I.3 OPTIMIZATION OF BIOGAS PLANTS**

Despite this already high interest for biogas plants worldwide and to significantly further expand anaerobic waste treatment, it is necessary to find ways to optimize the biogas production. This will make biogas plants economically viable without, or with fewer subsidies. Indeed, optimization of the biogas process will undoubtedly lead to better economy and this can be achieved with better monitoring and control of the biogas processes.

As an illustration, in Denmark, it is recognized that on-line sensors and efficient monitoring of the process could give early warnings which are valuable information for control and optimization of the biogas process: 10% more biogas can thus be obtained due to better stability of the plants, which corresponds to 5 million m<sup>3</sup> biogas per year.

Nevertheless, the monitoring of biogas plants is currently rudimentary, mainly based on observation of the biogas production. Evaluation of the plant by the operator is generally subjective, and by change in influent flow. Two types of operation strategies can result from this type of control. The “cautious operator” keeps the loading low to be sure to avoid overloading and unpleasant surprises. However, the process will run at a sub-optimal level and the microbial populations will be present in a slow and un-dynamic state, as often it is the case today. The result is low plant productivity, with stable but relative low operating profit.

The second type of strategy is chosen by the “brave operator”, who keeps increasing the loading resulting in an increased production of biogas, until the point where the process shows signs of overloading. Since overloading may be difficult to detect in time without real process monitoring, this strategy may lead to occasional long lasting process failures. Often these failures have serious economical consequences. The operating profit might be relatively high for periods, but the long-term result is risky.

In order to obtain an optimal (*i.e.*, brave but safe) operation of anaerobic digestion processes, the missing link is reliable information of the true biological state of the process. This indication can be supplied by monitoring specific intermediates formed during the anaerobic digestion process. Development of robust on-line process indicators can indeed lead to proper control strategies that will allow optimization of the process, without undue risk of process failures.

Many parameters have been considered for their suitability as process state parameters (see for example Rozzi *et al.*, 1985; Smith and Mc Carthy, 1990; Mathiot *et al.*, 1992; Moletta *et al.*, 1994; Vanrolleghem 1995; Bjornsson *et al.*, 2001b; Steyer *et al.*, 2002a; Liu, 2003; Premier, 2003; Angelidaki and Pind, 2003; Morel *et al.*, 2004; Boe, 2006 and related

references). As a summary of these studies and from the point of view of a plant manager, a control parameter must:

- give clear warning of a potential collapse but, on the other hand, not give unnecessary warning (*i.e.*, minimize the false alarms and avoid the "Christmas tree" syndrome for plant operators),
- early warn of an unstable process, not just a total collapse since it is then too late to react on the process,
- reflect when the process has re-established itself after a collapse,
- be easy to measure and preferably on-line.

If the above-mentioned guidelines are taken into account, four parameters are of particular interest: the methane production, the concentration of hydrogen, pH and the concentration of volatile fatty acids.

### **I.3.1 The methane production**

As the end products of the digestion process mainly consist of biogas, a registration of the gas production is today the most commonly used control parameter. Usually, a distinction is made between the total gas production and the relative production, which indicates the amount of methane in relation to the amount of waste or wastewater added.

The total gas production may be used to gain an impression of the activity of the methane bacteria, but it does not give a precise impression of the process situation. Indeed, a decline in the gas production may be related to the methane bacteria being inhibited, but it may also be due to failure to add enough substrate to be degraded. Moreover, overloading of the reactors will often result in increased biogas production followed by a sudden drop and by then, it may be too late to intervene. Use of the total gas production as the only control parameter is therefore not recommended.

On the other hand, the relative gas production reflects how effectively the added material is degraded. The obtained values can be compared with a theoretical methane yield (*i.e.*, 0.350 liter per gram of COD degraded), which can be calculated assuming that the input substrate quality has not changed. Unfortunately, it is a rather time-consuming process, partly because the theoretical methane yield from complex substrate (*e.g.*, animal manure) can vary considerably. The relative gas production is therefore not practically useful for registering sudden changes in the process, although it can be quite useful for the subsequent evaluation of total collapses.

### **I.3.2 The concentration of hydrogen**

Laboratory tests have determined that a low hydrogen pressure in a reactor is necessary to ensure an effective process. This is obtained when various bacteria convert hydrogen and carbon dioxide into methane and water. An increase of the hydrogen pressure may therefore be an indication of an imbalance between the different microorganisms, for instance when large amounts of easily convertible material have been added.

As hydrogen can be measured relatively easily in both the gas and the liquid phases, use of hydrogen as a control parameter has received quite a lot of attention in recent years (see for example the pioneer work of Archer *et al.*, 1986; Pauss *et al.*, 1990; 1993; Strong and Cord-Ruwisch, 1995; Guwy *et al.*, 1997 and later Bjornsson *et al.*, 2001a). Unfortunately, the results have been very variable. The problem is that the concentration of hydrogen is often very sensitive to changes in the gas transfer, the composition and amount of added material and it is to be expected that the concentration of hydrogen may give rise to many false alarms. The use of hydrogen as a single control parameter is therefore not realistic in many biogas plants and not at all as the only parameter.

### **I.3.3 Volatile fatty acids and pH**

Volatile fatty acids (VFA) constitute most of the intermediates in the biogas process and among researchers, there is no doubt that the VFA level is very important for the maintenance of a stable digestion process.

There has been, however, much dispute about how to use a registration of VFA. Many studies have compared the concentration of the acid level with occurring interruptions of the process. For instance, it has been mentioned that a concentration of 0.8 grams of acetate/liter indicates an interruption of the process, while up to 9 grams of VFA/liter, anaerobic digesters can still work efficiently without any sign of imbalance (Dupla *et al.*, 2004). However, it is not possible to generalize on the basis of such results, as the individual reactors have their own acid levels dependent on the operating conditions. Instead, the VFA level of each individual reactor should be used as an indicator. Several biogas plants measure the total acid level in the reactors from time to time. This may be done in a relatively simple way by means of titration and can give a hint of changes in the process, but it is advisable to use this with care as the only control parameter.

Despite some indication in the early scientific literature (Clark and Speece, 1971), it can be debated whether pH can be used as a control parameter, because an increase in the concentration of acids must be expected to affect the pH. This is particularly true when treating highly buffered wastewater. An increase in the acid level will indeed not necessarily result in a substantial pH drop and often, a pH drop will not be registered until the VFA level has increased considerably and the process has become unstable. Therefore, pH is too slow to be useful as a single indicator, although it may be suitable in connection with other parameters.

### **I.3.4 On-line Measurements of VFA**

How often is it necessary to measure the VFA concentration? During a normal stable process operation, where no major disturbances are present, it might be sufficient to measure the level few times a week. However, in periods when operational changes are made, for instance by the addition of new types of waste in case of codigestion, measurements should be made as often as possible.

Unfortunately, measuring the VFA has been regarded as complicated for many years. One main reason is that, in practice, it is often difficult to undertake automatic sampling and the treatment of samples is itself time-consuming.

However, in recent years, there have been developments in this area ( see for example Steyer *et al.*, 2002b, Feitkenhauer *et al.*, 2002, Pind *et al.*, 2003; Boe *et al.*, 2005; Ruiz *et al.*, 2005). Online measurement of the VFA level will make it much easier to avoid possible process interruptions and it will be safer to treat new and complex types of waste. At the same time, the use of the VFA measurements will provide various information that can be used to develop different "recipes" for regulating the operation of a biogas plant. Greater pressure can thus be put on the reactors than today without the risk of a collapse of the process (see for example Punal *et al.*, 2003, Steyer *et al.*, 2006).

Unfortunately, despite some reliable industrial sensors already available on the market (see for example the Anasense<sup>®</sup> VFA sensor from Applitek, a Belgium company – De Neve *et al.*, 2004), it is likely to take some years before these systems are commonly available, reasonable priced and sufficient reliable. Until then, much can be gained by following the below procedures:

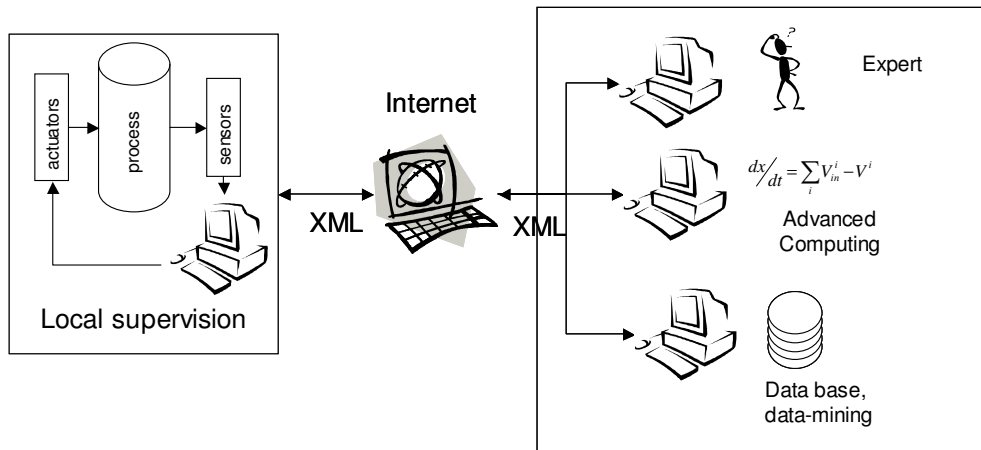
- Generally ensure constant process temperature, agitation, load and composition of raw material,

- Make all necessary changes on the basis of a precautionary principle and gradually, especially with regards to changes in the composition of the material to be treated and the load,
- Always introduce new raw material with great care, especially if they contain a big amount of fat, proteins or similar. If possible, new types of raw materials should also be tested before being added by means of a simple test in a laboratory plant.
- Continuously evaluate the gas production in relation to expectations based on the addition over the last few days and hold back if inexplicable drops or major increases occur
- Undertake regular VFA measurements. The VFA level should be checked on a regular basis, even if there may be long periods without any "interesting" results.

## **I.4 ADVANCED MONITORING AND CONTROL**

On the other hand, a modern way of improving performances and stability of biogas plants is to set up advanced control strategies derived from the information and communication techniques. A series of validated models for ordinary working conditions and also for specific failures can provide the basis for the development of robust controllers to achieve an optimal control strategy in normal conditions and to recover in case of failures. Advanced control strategies must be supplemented by a supervision system able to detect in real-time or as early as possible any fault which can occur on any element of the process. In order to avoid the cost of a local permanent expertise, an automatic supervision system can perform this task and send the relevant analyses to remote experts only when it is needed.

For this last point, computer communication technology provides one with new tools able to improve remote process supervision: thanks to Internet resources, a remote center can indeed efficiently collect and manage data from several plants and run a database diagnosis, and a human expert can remotely reconfigure the control policy of a plant at any time and from anywhere in the world (see Figure III.6). The European project TELEMAT (Telemonitoring and advanced telecontrol of high yield wastewater treatment plants, European Information Society Technologies Program, project IST-2000-28156) tackled this problem and proposed a prototype for such an advanced supervision system (see Bernard *et al.*, 2005 and <http://www.ercim.org/telemac>). With such a system, even plants without local expertise can become profit earning thanks to improvement of process stability and to on-line optimization of biogas production and use.



**Figure III.6** The overall architecture of the TELEMAT remote supervision system

## I.5 CONCLUSION

Several advantages are recognized to anaerobic digestion processes: high capacity to treat slowly degradable substrates at high concentrations, very low sludge production, potentiality for valuable intermediate metabolites production, low energy requirements, reduction of odors and pathogens and possibility for energy recovery through methane combustion or even hydrogen production. However, AD processes also have drawbacks:

- The low sludge production is closely linked to the slow growth of micro-organisms. As a consequence, the start-up phase is often tedious and some time is required (*e.g.*, 2-4 months or longer) before steady state conditions are obtained.
- AD micro-organisms are highly sensitive to overloads of the process and disturbances of several causes.
- AD is a complex process involving many different micro-organisms which is still not completely understood.

These drawbacks explain probably that AD processes are not more widely used at the industrial scale. In the past, the lack of knowledge concerning AD processes led indeed to breakdowns, ranging from minor to catastrophic, mainly due to organic overloads of various origins. They created some kind of suspicion towards this process and delayed its development at the industrial scale. This is why actual research aims not only to extend the potentialities of anaerobic digestion, but also to optimize anaerobic processes and increase their robustness towards perturbations. Thus, the importance of implementing appropriate,

carefully designed and efficient monitoring and control strategies (including use of on-line sensors) is of no doubt and will lead to a better economy of the biogas processes. It is indeed our strong belief that with appropriate information about the current state of the process, biogas plants are quite easy to operate and to optimize.

## I.6 ACKNOWLEDGEMENTS

Jean-Philippe Steyer wishes to thank the European Community for its financial support through the EU Marie Curie Program under contract MEIF-CT-2005-009500 (CONTROL-AD4H2). Cesar Aceves wishes to thank the CONACYT for its financial support. Ivan Ramirez wishes to thank the European Community for its financial support through the EU Alfa LABIOPROC project (project ALFA II-0407-FA). Jonathan Hess wishes to thank the French Energy Agency ADEME and the Provence-Alpes-Côtes-d'Azur Region for their financial support.

## I.7 REFERENCES

- AND (2003) *Le marché de la méthanisation en France – Hypothèse d'évolution à 5 et 10 ans* (in French), Report for Gaz de France and ADEME, AND International, 11 pages.
- Angelidaki I. and Ellegaard L. (2003) Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **109**: 95–105
- Angelidaki I. and Pind P. (2003). Monitoring the biogas process. *Ecolog. Eng. Environ. Prot.*, **2**(1) 21:32
- Archer D.B., Hilton M.G., Adams P. and Wiecko H. (1986). Hydrogen as a process control in a pilot scale anaerobic digester, *Biotechnology Letters*, **8**(3), 197-202.
- ASPO (2002) *Statistical review of world oil and gas*. Association for the study of peak oil, Proceedings 1<sup>st</sup> International Workshop on Oil Depletion. Uppsala. Sweden. Editors: Aleklett K and Campbell C.
- Bernard O., B.Chachuat, A.Hélias, B. L. Dantec, B. Sialve, J-Ph. Steyer, L. Lardon, P.Neveu, S.Lambert, P. Ratini, S.Frattesi, J. Lema, E. Roca, G. Ruiz, J.Rodriguez, A.Franco, P. Vanrolleghem, U.Zaher, D. J. W. D. Pauw, K. D. Neve, K. Lievens, D.Dochain, O.Schoefs, H.Fibrianto, R.Farina, V. A. Gonzalez, V. G. Alvarez, P. Lemaire, J. A. Martinez, O. Duclaud, J. F. Lavigne (2005) TELEMAT: an integrated system to remote



- monitor and control anaerobic wastewater treatment plants through the internet, *Wat. Sci. Tech.*, **52**(1-2), 457–464.
- Bjornsson L., Hornsten E. G. and Mattiasson B. (2001) Utilization of a Pd-MOS sensor for on-line monitoring of dissolved hydrogen in anaerobic digestion. *Biotechnol. Bioeng.*, **73**, 35-43.
- Bjornsson L., Murto M., Jantsch T.G. and Mattiasson B. (2001) Evaluation of new methods for the monitoring of alkalinity, dissolved hydrogen and the microbial community in anaerobic digestion, *Wat. Res.*, **35**(12), 2833–2840.
- Boe K., Batstone D.J., Angelidaki I. (2005) Online headspace chromatographic method for measuring VFA in biogas reactor, *Wat. Sci. Tech.*, **52**, 473-478.
- Boe K. (2006) *Online monitoring and control of biogas process*, Ph.D. thesis, Institute of Environment and Resources, DTU, Lyngby Denmark.
- Cecchi F. and Bolzonella D. (2005) Full scale experiences of anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste in Italy – From collection to energy and valuable end products, *4<sup>th</sup> IWA Anaerobic Digestion of Solid Waste Conference*, **1**, 60-71, Copenhagen, Denmark, August 31- September 2, 2005.
- Clark R.H. and Speece R.E. (1971) The pH tolerance of anaerobic digestion. *Advances in Water Pollution Research*, **1**, 1-13.
- De Beare L. (2005) Will anaerobic digestion of solid waste survive in the future? *4<sup>th</sup> IWA International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste*, **1**, 72 – 81, Copenhagen, Denmark, August 31 – September 2, 2005.
- De Neve K., Lievens K., Steyer J.P. and P. Vanrolleghem (2004) Development of an on-line titrimetric analyser for the determination of volatile fatty acids, bicarbonate, and alkalinity (TELEMAC Contribution #7), Proc. of *10<sup>th</sup> IWA World Congress on Anaerobic Digestion (AD10)*, **3**, 1316-1318, 29 August-2 September 2004, Montreal, Canada.
- Dupla M., Conte T., Bouvier J.C., Bernet N. and J.P. Steyer (2004) Dynamic evaluation of a fixed bed anaerobic digestion process in response to toxic shocks, *Wat. Sci. Tech.*, **49**(1), 61–68.
- Feitkenhauer H., von Sachs J., Meyer U. (2002) On-line titration of volatile fatty acids for the process control of anaerobic digestion plants, *Wat. Res.*, **36**, 212–218.
- Ghosh S. (1997), Anaerobic digestion for renewable energy and environmental restoration, *8<sup>th</sup> IWA International Conference on Anaerobic Digestion*, **1**, 9-15, May 25-29, 1997, Sendai, Japan.

- Guwy A.J. Hawkes I.F.R., Hawkes D.L. and Rozzi, A. (1997) Hydrogen production in a high rate fluidised bed anaerobic digester, *Wat. Res.* **31**(6), 1291-1298.
- JORF (2006) Arrêté du 10 juillet 2006 fixant les conditions d'achat de l'électricité produite par les installations qui valorisent le biogaz (in French), *Journal Officiel de la République Française*, 26 Juillet 2006, Texte 22.
- Liu J. (2003) *Instrumentation, control and automation in anaerobic digestion*, Ph.D. thesis, Lund University, Sweden.
- Mathiot S., Escoffier Y., Ehlinger F., Couderc J. P., Leyris, J. P., et Moletta, R. (1992) Control parameter variations in an anaerobic fluidised bed reactor subjected to organic shockloads. *Wat. Sci. Tech.*, **25**(7), 93-101.
- Moletta, R., Escoffier, Y., Ehlinger, F., Coudert, J.P. and Leyris, J.P. (1994) On-line automatic control system for monitoring an anaerobic fluidized bed reactor, *Wat. Sci. Tech.*, **30**(12), 11-20.
- Monroy O., Fama G., Meraz M., Montoya L. and H. Macarie (2000) Anaerobic digestion for wastewater treatment in Mexico: State of the technology, *Wat. Res.*, **34**(6), 1803-1816.
- Morel E., Santamaria K., Perrier M., Guiot S.R., Tartakovsky B. (2004) Application of multi-wavelength fluorometry for on-line monitoring of an anaerobic digestion process, *Wat. Res.*, **38**, 3287–3296.
- Murphy J.D. and Power N.M. (2006) A technical, economic and environmental comparison of composting and anaerobic digestion of biodegradable municipal waste, *Journal of Environment Science and Health Part A*, **41**, 1-15
- Pauss A., Beauchemin C., Samson R. and Guiot S. R. (1990). Continuous measurement of dissolved H<sub>2</sub> in an anaerobic reactor using a new hydrogen/air fuel cell detector. *Biotechnol. Bioeng.* **35**, 492-501.
- Pauss A. and Guiot S. R. (1993). H<sub>2</sub> monitoring in methanogenic sludge-bed reactors at various hydraulic regime and loading rate. *Water Environ. Res.*, **65**(3), 276-280.
- Pind, P.F., Angelidaki, I. and Ahring, B.K. (2003) A new VFA sensor technique for anaerobic reactor systems. *Biotechnol. Bioeng.*, **82**(1), 54-61
- Premier G. (2003) *Towards simple generic control in anaerobic digestion*, Ph.D. thesis, Glamorgan University, UK.
- Punal A., Palazzotto L., Bouvier J.C., Conte T. and Steyer J.P. and Delgenes J.P. (2003) Automatic control of VFA in anaerobic digestion using a fuzzy logic based approach, *Wat. Sci. Tech.*, **48**(6), 103-110.

- Ragonnaud G. (2005) Le biogaz agricole (in French), *Agriculture et énergies renouvelables*, FNSEA, February 2005, 9 pages.
- Rozzi A., Di Pinto A.C. and Brunetti A. (1985). Anaerobic process control by bicarbonate monitoring, *Environ. Technol. Lett.*, **6**, 594-601.
- Ruiz G., Molina F., Steyer J.P., Vanrolleghem P., Zaher U., Roca E. and Lema J.M. (2005) Industrial scale validation of a new titrimetric sensor for anaerobic digestion processes: comparison of methodologies, *IWA International Conference on Instrumentation Control & Automation (ICA 2005)*, Pusan, Korea, 29 May-2 June 2005, **1**, 133-142.
- Smith, D.P. and McCarthy P.L. (1990). Factor governing methane fluctuations following shock loading of digesters. *Research Journal WPCF*, **62**(1), 39-54.
- Steyer J.P., Bouvier J.C., Conte T., Gras P. and Sousbie P. (2002a) Evaluation of a four year experience with a fully instrumented anaerobic digestion process, *Wat. Sci. Tech.*, **45**(4-5), 495-502.
- Steyer J.P., Bouvier J.C., Conte T., Gras P., Harmand J. and J.P. Delgenes (2002b) On-line measurements of COD, TOC, VFA, total and partial alkalinity in anaerobic digestion processes using infra-red spectrometry, *Wat. Sci. Tech.*, **45**(10), 133-138.
- Steyer J.P., Bernard O., Batstone D., Angelidaki I. (2006) Lessons learnt from 15 years of ICA in anaerobic digestion processes, *Wat. Sci. Tech.*, **53**(4-5), 25-33.
- Strong G.E. and Cord-Ruwisch R. (1995). An in situ dissolved-hydrogen probe for monitoring anaerobic digesters under overload conditions. *Biotechnol. Bioeng.*, **45**, 63-68.
- Svensson L.M., Christensson K., Bjornsson L. (2005): Biogas production from crop residues on a farm-scale level: is it economically feasible under conditions in Sweden?, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, **28**, 139-148.
- Svensson L.M., Christensson K., Bjornsson L. (2006): Biogas production from crop residues on a farm-scale level in Sweden: scale, choice of substrate and utilisation rate most important parameters for financial feasibility, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, **29**, 137-142.
- Totzke D.E. (1999) 1999 *Anaerobic Treatment Technology Overview*, Internal report, Applied Technologies Inc., USA, 14 pages, September 1999.
- van Lier J., Tilche A., Ahring B.K., Macarie H., Moletta R., Dohanyos M., Hulshoff Pol L.W., Lens P. and Verstraete W. (2001) New perspectives in anaerobic digestion. *Wat. Sci. Tech.*, **43**(1), 1-18.
- Vanrolleghem P.A. (1995) Sensors for anaerobic digestion: an overview. *Int. Workshop on Monitoring and Control of Anaerobic Digestion processes*, Narbonne, France, 6-7 December 1995, 1-7.

Yi Q. (1997) Current status of anaerobic digestion in China, *8<sup>th</sup> IWA International Conference on Anaerobic Digestion*, **1**,17-23, May 25-29, 1997, Sendai, Japan.



## **II ANALYSE TECHNICO-ECONOMIQUE COMPARATIVE DES FILIERES BIOGAZ ET BIOHYDROGENE PRODUITS A PARTIR DE DECHETS**

L'industrialisation de la production du biogaz ou du biohydrogène demande une bonne rentabilité économique. Dans cette perspective, nous avons effectué une analyse technico-économique des filières de production du biogaz et du biohydrogène, en comparant plusieurs configurations de procédés à une ou deux étapes. Nous avons envisagé des configurations qui prenaient en compte la valorisation à des degrés variables du biogaz et du biohydrogène en co-génération. Suivant les hypothèses faites en terme de coûts d'investissement et de fonctionnement, ces configurations présentent finalement des temps d'amortissement assez proches compris entre 5 et 6 ans. De plus, la réduction de ce temps est surtout dépendante du prix de rachat de l'électricité, qui est fonction des politiques publiques. Ainsi, nous pensons que la production anaérobie de l'hydrogène ne deviendra intéressante qu'avec l'amélioration des rendements de conversion en électricité. Il faut dire que c'est le prix du traitement des déchets qui donne l'essentiel des revenus. Finalement, nous suggérons qu'il vaudrait mieux considérer l'hydrogène pour le transport plutôt que pour la production d'électricité.

# Analyse technico-économique comparative des filières biogaz et biohydrogène produits à partir de déchets

ELIAS Adèle<sup>a</sup>, FREDERIC Sylvain<sup>b</sup>, ACEVES César<sup>a</sup>, LATRILLE Eric<sup>a</sup>, BUFFIERE Pierre<sup>a</sup>, BERNET Nicolas<sup>a</sup>, DELGENES Jean-Philippe<sup>a</sup>, STEYER Jean-Philippe<sup>a</sup>

<sup>a</sup>INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement

Avenue des Etangs, 11100 Narbonne

<sup>b</sup> Naskeo Environnement - 4 rue Antonin Raynaud, 92300 Levallois-Perret

*Article accepté pour présentation orale lors du 11<sup>ème</sup> congrès de la Société Française de Génie des Procédés, 9-11 Octobre 2007, Saint-Etienne.*

## Résumé

La digestion anaérobie des résidus liquides et des déchets est apparue industriellement au milieu des années 80 et depuis, elle a connu un important développement. En 2005, plus de 3,5 millions de tonnes de déchets ont ainsi été traitées par digestion anaérobie en Europe. Récemment, une alternative à la production de méthane issu du biogaz est apparue: la production d'hydrogène à partir de déchets et ce, toujours en utilisant des procédés initialement prévus pour la digestion anaérobie. L'hydrogène étant considéré comme le vecteur énergétique du futur, cette nouvelle filière permet une production de « biohydrogène » propre et une utilisation directe de cette énergie. Cet article présente une analyse technico-économique comparative des unités de traitement des déchets par digestion anaérobie et de la valorisation des bioénergies (biogaz et biohydrogène) afin de déterminer la possibilité de mise en place de cette nouvelle filière au stade industriel.

**Mots-clés:** biogaz, hydrogène, déchets, filière, analyse économique et environnementale

## II.1 INTRODUCTION

La prise de conscience internationale sur le changement climatique est marquée pour la première fois lors du sommet de Rio en 1992. En 1997, le protocole de Kyoto a proposé un calendrier de réduction des émissions de gaz à effet de serre. Assurer une sécurité énergétique, réduire les émissions de gaz à effet de serre et parvenir à une économie à faible intensité de carbone sont essentiels à la réalisation de cet objectif.

En 1992, cinq ans avant la mise en œuvre de Kyoto et suite à la conférence de Stockholm, la première consacrée aux questions de l'environnement, la politique agricole commune a offert aux agriculteurs la possibilité d'affecter une partie de leurs terres à des cultures non alimentaires. Des betteraves destinées à la production d'éthanol ont ainsi pu être cultivées à une échelle importante. Par la suite, deux directives européennes ont été adoptées en 2003, la première visant à promouvoir l'utilisation et le développement des biocarburants ou autres carburants renouvelables dans les transports (EU, 2003a) et la seconde permettant la restructuration du cadre communautaire de taxation des produits énergétiques et de l'électricité (EU, 2003b). Dans ce cadre politique, le développement et la pénétration du marché des technologies des énergies renouvelables et des remplacements des combustibles doivent être aux services de la croissance économique et du développement durable (EU, 2006).

Il ne peut être remis en question qu'aujourd'hui, l'énergie est indispensable à la plupart des activités humaines: transport, industrie, alimentation et autres. Or, selon les estimations de la Banque Mondiale, la demande et les besoins énergétiques pourraient être tripler voire quintupler d'ici à 2050 et ce, malgré une pénurie annoncée comme proche des énergies fossiles. Ceci étant, les sources d'énergie sont diverses. Elles sont soit renouvelables, soit épuisables. Les énergies renouvelables utilisent les flux d'énergies d'origine naturelle. En 2005, ces dernières représentaient 16 % du total des énergies primaires consommées en France (Delmon, 2006).

Les productions d'énergies renouvelables peuvent en effet être d'origines hydraulique, éolienne, solaire, géothermique ainsi que via les biocombustibles ou l'hydrogène provenant de ressources renouvelables. Pour cette étude, nous avons retenu la production d'énergie sous forme de biogaz et de biocarburants issus de procédés de digestion anaérobie des déchets agricoles, industriels et urbains.

Fiable et compétitive, la valorisation énergétique des produits de la digestion anaérobie (e.g., le biogaz) a connu un large développement ces dernières années (De Baere, 2006). La



digestion anaérobie est en effet un processus biologique naturel qui permet de valoriser en matière et en énergie des substrats initialement polluants pour notre environnement. L'énergie produite est issue du biogaz, mélange de méthane et du gaz carbonique. Ce biogaz est capté, épuré et valorisé sous forme de chaleur et/ou d'électricité (via la co-génération) ou de biocarburants (i.e., biogaz composé à 97 % de méthane). Dans ce contexte – et afin d'encourager cette technologie de production d'énergie renouvelable et d'assurer un seuil de rentabilité suffisant – de nouvelles conditions tarifaires de rachat de l'électricité produite à partir du biogaz issu d'une unité de méthanisation ont été fixées et publiées dans l'arrêté de 10 Juillet 2006 (Arrêté, 2006).

En parallèle, une filière nouvelle est apparue récemment et a reçu une considérable attention dans la littérature scientifique: la production d'hydrogène à partir de procédés de digestion anaérobie (Cf. par exemple Wallman *et al.*, 1998; Das *et al.*, 2001; Boucher et Stefen, 2006, Goltsov *et al.*, 2006; Van Ginkel *et al.*, 2006). Le potentiel de production de l'hydrogène varie en fonction de la nature du substrat utilisé (Levin, 2007; Lay, 2001).

La présente étude a pour objectif d'établir une analyse technico-économique comparative des unités de traitement des déchets par digestion anaérobie et la valorisation des bioénergies (biogaz ou bio-hydrogène) afin de définir les possibilités de mise en place de telles installations au stade industriel.

## **II.2 METHODOLOGIE**

La digestion peut s'appliquer à l'ensemble des déchets municipaux, agricoles ou industriels qu'ils soient sous forme liquide ou solide (Cf. par exemple Maeng *et al.*, 1999; Zakiah *et al.*, 2003; Ademe, 2006; Svensson *et al.*, 2006). Pourtant, une production maximale d'énergie dépend du choix de la matière organique traitée et de la technologie des installations mises en œuvre (Archer *et al.*, 2005). Le tableau suivant récapitule les données techniques des cycles de vie des différents types de déchets pour le traitement anaérobie.

Quatre scénarii seront par la suite analysés. Le scénario 1 est un modèle classique destiné à la co-génération. Le scénario 2 est dédié à la production de biogaz contenant au moins 97 % de méthane. Les scénarii 3 et 4 quant à eux diffèrent respectivement des premier et second scénarii du fait de la présence d'une phase de valorisation énergétique de l'hydrogène produit lors de la phase acidogène de la digestion anaérobie.

**Tableau III.1** Données des cycles de vie de différents types de déchets pour le traitement anaérobie.

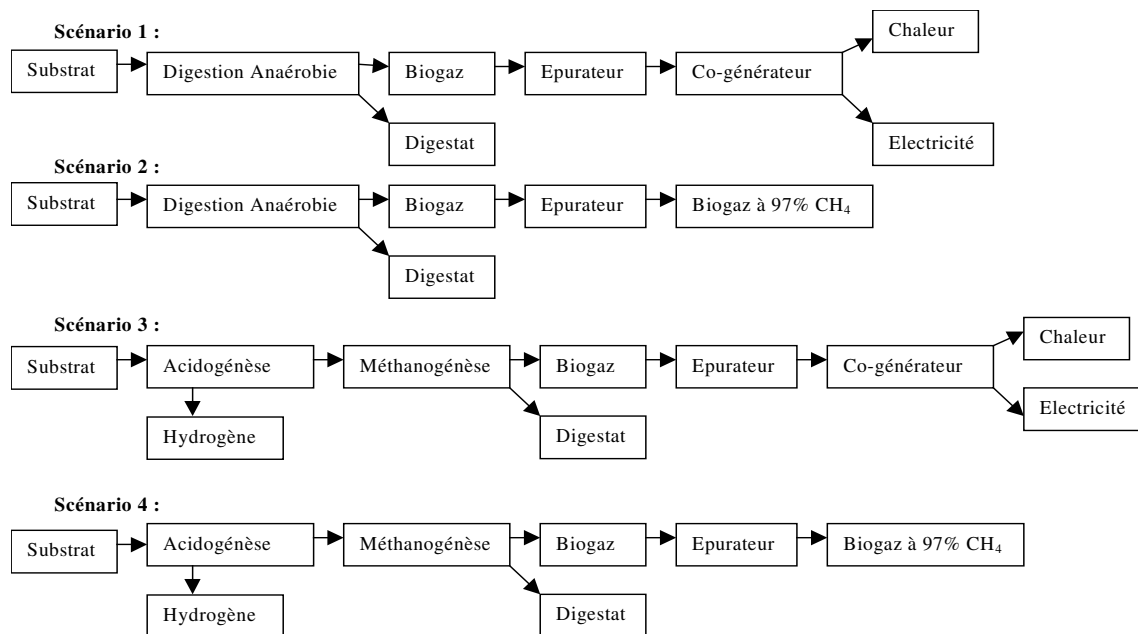
| Données                              | Unités  | Boues de stations d'épuration |      | Ordures ménagères grises       |      | Biodéchets ménagers et assimilés |     | Déjection animale (lisier)   |      |
|--------------------------------------|---|-------------------------------|------|--------------------------------|------|----------------------------------|-----|------------------------------|------|
|                                      |   | min                           | Max  | min                            | max. | mi                               | max | Min.                         | max  |
| Matière sèche                        | %   | 2                             | 6    | 35                             | 66   | 10                               | 70  | 5                            | 30   |
| Matière volatile                     | %   | 40                            | 78   | -                              | 50   | 75                               | 80  | 70                           | 85   |
| Pré- traitement                      | -   | Epaissement, pulpage, ...     |      | tri / broyage, dilution        |      | tri / broyage, dilution          |     | Tri / broyage, Hygiénisation |      |
| Technologie (appliquée en général)   | -   | CSTR <sup>1</sup>             |      | Piston sec, batch, percolation |      | Piston sec, CSTR liquide         |     | Piston liquide, CSTR         |      |
| Procédé                              | -   | Thermophile, sec ou humide    |      | Thermophile ou mésophile       |      | Thermophile ou mésophile         |     | Thermophile ou mésophile     |      |
| CVA <sup>1</sup>                     | kg <sub>DCO</sub> <sup>1</sup> /m <sup>3</sup> .j | 1                             | 5    | 8                              | 10   | 5                                | 10  | 3                            | 8    |
| Taux de dégradation                  | %   | 48                            | 64   | -                              | 50   | -                                | 50  | 50                           | 66   |
| Biogaz produit                       | m <sup>3</sup> /t                                 | 621                           | 1200 | 390                            | 564  | 252                              | 730 | 408                          | 539  |
| Méthane produit <sup>2</sup>         | t <sub>MVD</sub> <sup>1</sup> m <sup>3</sup> /t   | -                             | -    | 0,392 x 10 <sup>3</sup>        |      | 0,474 x 10 <sup>3</sup>          |     | 0,35 x 10 <sup>3</sup>       |      |
| Bio-hydrogène produit <sup>2</sup>   | m <sup>3</sup> /t                                 | -                             | -    | 0,192 x 10 <sup>3</sup>        |      | 0,286 x 10 <sup>3</sup>          |     | 0,192 x 10 <sup>3</sup>      |      |
| Productivité électrique <sup>3</sup> | kWh /Nm <sup>3</sup>                              | 1,2                           | 2,5  | 1,2                            | 2,3  | -                                | -   | 1,95                         | 2,52 |
| Productivité thermique <sup>3</sup>  | kWh /Nm <sup>3</sup>                              | 5,4                           | 6,3  | 2,6                            | 3,5  | -                                | -   | 3                            | 3,5  |

<sup>1</sup>CSTR . réacteur continu infiniment mélangé; CVA: charge volumique maximale; DCO: Demande chimique en oxygène; MVD: Matières volatiles dégradées

<sup>2</sup> Données des tableaux 2 et 4 (Levin, 2007)

<sup>3</sup> Electricité et chaleur produite kWh /Nm<sup>3</sup> biogaz (Coppin, 2005)

Les chiffres des tableaux suivants sont issus d'études réalisées et de données enregistrées en laboratoire et industriellement ainsi que d'un modèle de bilan énergétique développé sur Microsoft Excel. Ce modèle est basé sur des modèles similaires des études précédentes et il permet une comparaison quantitative des filières étudiées.



**Figure III.7** Schéma descriptif des quatre scénarii étudiés.

## II.3 LES PARAMETRES TECHNIQUES PRIS EN COMPTE

Par la suite, certains paramètres sont analysés pour évaluer d'une part le potentiel et les performances des différentes voies de valorisation possibles et d'autre part, les dépendances du marché vis à vis d'une technologie particulière. Les paramètres étudiés sont:

- le substrat, dont la nature et les caractéristiques physico-chimiques varient d'un type de déchets à un autre (degré d'homogénéisation, taux de matières sèches, taux de matières volatiles, concentration en DCO, etc.).
- la charge volumique appliquée souhaitée permettant de déterminer le volume du digesteur adapté.
- Le temps de séjour hydraulique, court ou long, qui dépend du substrat traité (et par conséquent de la concentration en DCO) et qui influe sur les apports calorifiques et énergétiques nécessaires pour chauffer et faire fonctionner l'unité de digestion selon la technique appliquée (i.e., psychrophile, mésophile ou thermophile),
- la quantité et la nature de l'énergie produite.

Dans la mesure des données disponibles, une estimation du taux d'énergie produite (biogaz ou bio-hydrogène) est possible selon le mode de calcul précisé dans l'encadré 1.

Encadré 1 : une estimation de la quantité d'énergie produite est possible selon le mode de calcul suivant :

- $Q_{\text{déchets entrants}} = \text{Kg} / \text{jour}$
- $MV^1$  ou DCO = % de matière volatile ou DCO dans le type de déchet à traité  
 = % de MV (ou % de DCO) \*  $Q_{\text{déchets entrants}}$   
 =  $x \text{ Kg}_{MV}$  ou  $\text{Kg}_{DCO} / \text{jour}$
- MV ou DCO dégradé au cours de la digestion =  $y \%$   
 MV ou DCO dégradé =  $x * y = z \text{ Kg}_{MV}$  ou  $\text{Kg}_{DCO}$  dégradé / jour
- Pour un déchet  $\alpha$ , une production de  $u \text{ m}^3$  biogaz / Kg de MV ou DCO dégradé.
- Biogaz produit =  $z * u = \text{m}^3$  biogaz / jour.

<sup>1</sup> MV = matières volatiles

## II.4 LES PARAMETRES ECONOMIQUES ETUDIES

La production de méthane correspond toujours à  $0,35 \text{ m}^3$  par kg de DCO dégradée. Un mètre cube de méthane possède par ailleurs un pouvoir calorifique de 35 MJ soit l'équivalent d'environ 10 kWh. Or, la méthanisation produit du biogaz dont le pourcentage de méthane varie de 40 à plus de 80 % et un mètre cube de biogaz possède donc un pouvoir calorifique moyen de 6 kWh soit l'équivalent de 0,6 litre de fioul. (ADEME, 2006).

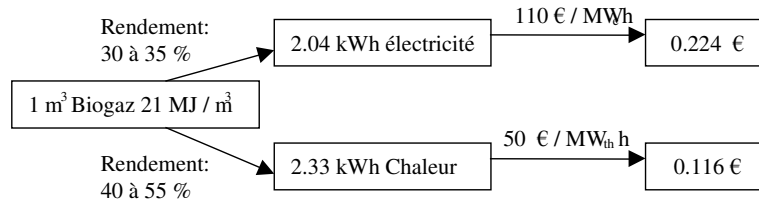


Figure III.8 Valeur de  $1 \text{ m}^3$  de biogaz par co- génération.

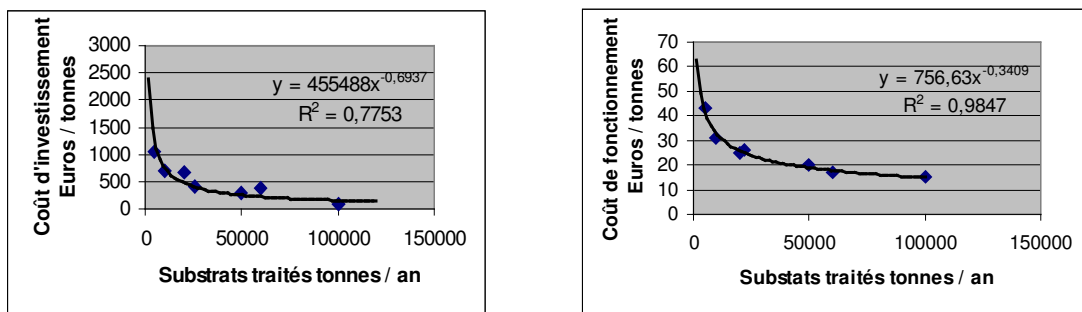
Par la suite, la synthèse des données économiques est faite en analysant le coût de production et les voies de valorisation énergétique possible.

### II.4.1 Le coût de production

Le coût de production est lié aux coûts du capital (i.e., d'investissement et de fonctionnement), au coût de l'énergie (i.e., valeurs des énergies consommées) et au coût lié à l'environnement (i.e., taxe sur le taux du gaz à effet de serre produit). Au total, il varie en fonction de la localisation de l'installation, de la nature et des capacités de production (Murphy *et al.*, 2004).

A la ferme ou centralisée, le coût de production d'une unité de digestion est influencé par deux facteurs principaux: le volume de déchets traités et le transport de ces déchets jusqu'à l'unité de traitement. Au coût capital d'une unité de digestion centralisée, il faut en effet ajouter le coût du transport qui est plus ou moins négligeable dans une installation à la ferme (la moyenne des distances parcourues et les tonnes de substrats emportés) mais qui peut être non négligeable dans le cas d'une unité centralisée (Hélias *et al.*, 2001).

L'analyse de ces paramètres montre que les coûts spécifiques sont également étroitement liés à la capacité de traitement des installations. Ainsi, les informations recueillies des études et des aperçus économiques réalisés (ADEME, 2003; Murphy, 2006) permettent la production des graphiques présentés en Figure III.9.



**Figure III.9** (a) coût capital de la digestion (b) coût de fonctionnement.(selon Murphy, 2006 )

Dans la suite de l'étude, nous avons choisi de calculer le coût d'investissement total en fonction du volume de digesteur. En terme d'investissement, le coût spécifique ramené au volume du digesteur est en effet le moins influencé par les conditions opératoires propres à chaque installation (nature et volume des co-substrats admis, régime de température, etc. – Cf. ADEME, 2003).

## II.4.2 Valorisation énergétique

La valorisation énégetique permet de déterminer le potentiel énergétique du type de valorisation choisi et par suite, sa valeur économique. Les détails du calcul sont présentés dans l'encadré 2.

L'ensemble de ces paramètres techniques et économiques nous permet ensuite de calculer les obligations financières et les revenus et par conséquent, une estimation du gain et de la période de rentabilisation.

Encadré 2 : soit  $X$  kW la puissance du moteur adapté pour  $Y$  m<sup>3</sup> de taux d'alimentation.

- Potentiel énergétique = Biogaz produit m<sup>3</sup>.h \*  $X$  kW /  $Y$  m<sup>3</sup> ( en kWh)

- Valeur de l'énergie =  $X$  kW \*  $Z$  % \* Prix de l'énergie\* 24 h / j \* 365 j / an (en €/an)

$Z$  = Taux d'énergie valorisable (en %)

Avec taux d'énergie valorisable = énergie produite – énergie consommée – perte d'énergie (10 %)

### II.4.3 Comparaison des données techniques et économiques des scénarii étudiés

Les tableaux suivants présentent une comparaison des données techniques et économiques des scénarii étudiés pour une capacité annuelle de 50.000 tonnes/an. Dans l'exemple retenu, le déchet traité est une boue de station d'épuration dont les caractéristiques physico-chimiques sont décrites dans le tableau III.1. Les valeurs sont issues des études bibliographiques réalisées (ADEME, 2006; Coppin, 2005; Murphy, 2005 et Van-Ginkel, 2006) ainsi que du modèle de calcul utilisé (Cf. encadrés 1 et 2).

Pour l'analyse technique présenté en tableau III.2, les potentiels énergétiques sont calculés en fonction des caractéristiques du déchet traité (i.e., pourcentage des matières volatiles, de la DCO, etc.) et du taux de dégradation des DCO après acidogénèse ou méthanogénèse. Nous avons par ailleurs effectué les hypothèses suivantes:

- La charge volumique appliquée est de 3 kgDCO/m<sup>3</sup>.j, ce qui conduit à un volume d'installation du digesteur de 1456 m<sup>3</sup>.
- Lors de la configuration "acidogénèse+méthanogénèse" (i.e., scénarii 3 et 4), le volume utile (et donc le coût d'investissement lié aux réacteurs biologiques) est identique à une configuration classique "digestion anaérobie" (scénarios 1 et 2).
- Il est classiquement admis que 10 à 15 % de la DCO sont dégradés par acidogénèse pour produire de l'hydrogène (nous avons retenu 15 % dans nos calculs) alors qu'une moyenne de 50 % de la DCO est dégradée après méthanogénèse (Van Ginkel, 2006).
- Le coût d'investissement total et de fonctionnement est calculé en fonction du volume du digesteur et est fonction de la taille de l'installation (Cf. Figure III.9). Retenons que le coût d'un mètre cube digesteur varie entre 1000 et 5000 euros (Archer, 2005). Pour nos calculs, nous avons décidé de retenir les formules proposées par Murphy (2006) et décrites en Figure III.9. Nous avons toutefois majoré le coût de fonctionnement des

scénarios 3 et 4 de 10% car plus de technicité est nécessaire pour opérer ces configurations par rapport aux schémas classiques des scénarii 1 et 2.

- Lors de l'utilisation d'une installation de co-génération, 90% du biogaz est valorisé avec des rendements de 35% lors de la production d'électricité et de 45% pour la chaleur.
- Le coût de traitement des déchets est pris égal à 60 €/tonnes. Le prix de revente du digestat valorisé est également fixé à 60 €/tonne.
- Le coût d'installation d'une unité de co-génération est pris égal à 1750 €/KW (une puissance utile d'environ 120 KW est nécessaire dans les deux configurations où le biogaz est valorisé sur site).
- Le prix de revente de l'énergie thermique est pris égal à 0,05 €/KWh, celui de l'électricité issue du biogaz à 0,125 €/KWh, celui du méthane pur à 97% à 0,65 €/m<sup>3</sup>. Nous avons également choisi, hypothèse importante, que le prix de rachat du m<sup>3</sup> d'hydrogène était égal à celui du m<sup>3</sup> de méthane (i.e., 0,65 €/m<sup>3</sup>)

Sur la base des hypothèses prises pour cette synthèse, les 4 scénarii dégagent un profit de plus de 3 M€/an pour un investissement supérieur à 12 M€, ce qui induit un temps de retour sur investissement relativement semblable dans chacun des scénarii et autour de 5,5 années, ce qui est conforme aux données industrielles disponibles.

**Tableau III.2** Données techniques des scénarii étudiés.

| Données techniques          | Unités                        | Scénario | Scénario | Scénario | Scénario |
|-----------------------------|-------------------------------|----------|----------|----------|----------|
|                             |                               | 1        | 2        | 3        | 4        |
| Quantité de déchets traités | Tonnes x 10 <sup>3</sup> / an | 50 000   | 50 000   | 50 000   | 50 000   |
| Biogaz produit              | m <sup>3</sup> / J            | 1457     | -        | 1247     | -        |
| Méthane produit             | m <sup>3</sup> / J            | -        | 856      | -        | 727      |
| Bio-hydrogène produit       | m <sup>3</sup> / J            | -        | -        | 157      | 157      |
| Electricité valorisée       | KW/h                          | 112      | -        | 93       | -        |
| Chaleur valorisée           | KW/h                          | 144      | -        | 122      | -        |

**Tableau III.3** Données économiques des scénarii étudiés.

| Données économiques   | Unités       | Scénario 1 | Scénario 2 | Scénario 3 | Scénario 4 |
|---|--------------|------------|------------|------------|------------|
| Quantité de déchets traités x 10 <sup>3</sup>                             | Tonne/<br>an | 50 000     | 50 000     | 50 000     | 50 000     |
| Coût d'investissement total   | €            | 12 524 818 | 12 524 818 | 12 524 818 | 12 524 818 |
| Coût de la partie de co-génération  | €            | 208 086    | -          | 176 873    | -          |
| Coût d'un épurateur de biogaz   | €            | -          | 280 381    | -          | 238 324    |
| Obligations financières ou dépenses                                       |              |            |            |            |            |
| Coût de fonctionnement, main-d'œuvre, maintenance, énergies consommées... | € / an       | 946 182    | 946 182    | 1 040 800  | 1 040 800  |
| Total des dépenses  | € / an       | 13 679 086 | 13 751 381 | 13 742 491 | 13 803 942 |
| Revenus ou Recettes   |              |            |            |            |            |
| Traitement des déchets  | € / an       | 3 000 000  | 3 000 000  | 3 000 000  | 3 000 000  |
| Valorisation du digestat  | € / an       | 46 299     | 46 299     | 46 299     | 46 299     |
| Valorisation de la chaleur  | € / an       | 63 278     | -          | 53 786     | -          |
| Valorisation de l'électricité   | € / an       | 136 712    | -          | 116 205    | -          |
| Valorisation du biogaz enrichi ( 97% méthane )                            | € / an       | -          | 203 116    | -          | 172 648    |
| Valorisation de l'hydrogène   | € / an       | -          | -          | 37 307     | 37 307     |
| Total des recettes  | € / an       | 3 246 289  | 3 249 415  | 3 253 597  | 3 256 254  |
| Temps de retour sur investissement  | an           | 5.53       | 5.55       | 5.74       | 5.76       |

## II.5 DISCUSSION ET CONCLUSION

Il ressort de cette étude que si les revenus issus du traitement des déchets est majoritaire dans les bénéfiques pouvant être retirés d'installation de digestion anaérobie, la quantité d'électricité pouvant être récupérée est loin d'être négligeable et peut pour le moins subvenir aux besoins des installations mises en œuvre.

Par ailleurs, comparée aux filières classiques de co-génération et de bio-carburants, la production d'hydrogène par digestion anaérobie peut s'avérer intéressante d'un point de vue économique mais cela est fortement lié au prix de rachat de l'électricité produite qui doit, à l'heure actuelle, être soutenu. Ce soutien n'est toutefois pas illusoire. En effet, nous avons choisi un prix de rachat identique pour les volumes produits de méthane et d'hydrogène. Or, si le rendement énergétique de l'hydrogène (i.e., 122 KJ/g) est 2,7 fois plus important que celui du méthane, le méthane est 8 fois plus lourd que l'hydrogène, ce qui au final, fournit un coût du KWh obtenu à partir de l'hydrogène 3 fois supérieur à celui obtenu à parti du méthane. Ce



prix peut paraître élevé mais il est tout à fait similaire à celui du KWh obtenu par la voie photovoltaïque.

Pour conclure, si la technologie de production de biohydrogène à partir de déchets est encore aujourd'hui au stade du laboratoire et peut être considérée comme futuriste, elle est tout à fait susceptible de connaître un essor important dans l'avenir. Des calculs plus fins sont toutefois nécessaires pour mieux prendre en compte les spécificités techniques, économiques et réglementaires et les conditions opératoires permettant de réduire les coûts.

## II.6 REFERENCES

- ADEME. (2006) Réalisation d'un référentiel technique et économique d'unités de traitement de déchets organiques par méthanisation avec ou sans valorisation du biogaz. Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie. [www.ademe.fr](http://www.ademe.fr)
- ADEME. (2006) La méthanisation à la ferme. Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie. [www.ademe.fr](http://www.ademe.fr)
- Archer, E., Baddeley, A., Klein, A. Schwager, J., Whitin, K. (2005) Mechanical – Biological – Treatment: A guide for decision makers, processes, policies and markets. [www.juniper.co.uk](http://www.juniper.co.uk).
- Arrêté du 10 Juillet (2006) fixant les conditions d'achat d'électricité produite par les installations qui valorisent le biogaz. *Journal officiel de la république Française*, 26 Juillet 2006.
- Banque Mondiale (2006) Energies propres et développement: vers un cadre d'investissement.
- Boucher M. et Stephen M. (2006) La révolution d'hydrogène vers une énergie propre et performante? *Association Française de l'Hydrogène*, 158p..
- Capoor, K. et Ambrosi, P. (2006) State and trends of the carbon market 2006. *World Bank*, 57p.
- Coppin, Y., Mallard, P., Pierre, N., Estelle Vial, E., Muller O., Renou, S., Carrere, M., Vignoles, M., Sablayrolles, C., Le Corff, V., Gabrielle, B., Rogeau, D. (2005) Impacts environnementaux de la gestion biologique des déchets. [www.ademe.fr](http://www.ademe.fr); 331p.
- Das, D. and Neyat Veziroglu, T. (2001) Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 26, 13-28.
- De Baere, L. (2006) Will anaerobic digestion of solid waste survive in the future? *Water, Science and Technology*, 53 (8); 187 – 194.

- Delmon, C. and Thiénard, H. (2006) Les énergies renouvelables en France, 1997- 2005. Energies et matières premières. Observatoire de l'énergie - Direction générale de l'énergie et des matières premières - Juin 2006.
- European communities. (2006) Introducing hydrogen as an energy carrier, safety, regulatory and public acceptance issues.
- European communities. (2003a) Council directive on the promotion of the use of biofuels or other renewable fuels for transport; ( 2003 / 30 /EEC).
- European communities. (2003b) Council directive: restructuring the community framework for the taxation of energy products and electricity; ( 2003 / 96 /EEC).
- Goltsov, V.A., Veziroglu, T.N. and Goltsova, L.F. (2006) Hydrogen civilization of the future- A new competition of IAHE. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, 153-159.
- Hélias A., Guerrin F., Lopez P., Steyer J-Ph. (2001) Simulating management policies on stock supplied by multiple production units: Application to a pig slurry treatment plant, *Third European Conference of the European Federation for Information Technology in Agriculture, Food and the Environment*, EFITA 2001, Montpellier, France, 18-20 June 2001, 6 pages on CDROM.
- Kuik O. (2006) Some reflections on methodological aspects of recent climate change damage cost studies. Produced for the global forum on sustainable development on the economic benefits of climate change policies. 6 – 7 July 2006, Paris, France.
- Lay, J.J., Lee, Y.J. and Noike, T. (1999) Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. *Water Research*, 33 (11), 2579-2586.
- Levin, D.B., Pitt, L. and Love, M. (2004) Bio-hydrogen production: prospects and limitation to practical application. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 173-185.
- Levin, D.B., Zhu, H., Beland, M., Cicek, N. and Holbein, B.E. (2007) Potential for hydrogen and methane production from biomass residues in Canada. *Bioresource technology*, 98, 654-660.
- Mæng, H., Lund, H. and Hvelplund, F. (1999) Biogaz plant in Denmark: technological and economic developments. *Applied energy*, 64; 195 – 206.
- Mendelsohn, R., Nordhaus, W.D., Shaw, D. (1994) The impact of global warming on Agriculture: A Ricardian Analysis. *The American Economic Review*, 84 (4 ); 753 – 771.
- Murphy, J.D., McKeogh, E., Kiely, G. (2004) Technical / economic /environmental analysis of biogas utilization. *Applied Energy*, 77, 407-427.

- Murphy, J.D. et Mckeogh, E. (2005) The optimal production of biogaz for use as a transport fuel in Ireland. *Renewable Energy*, 30, 2111-2127.
- Murphy, J.D. et Power, N.M. (2006) A technical, economic and environmental comparison of composting and anaerobic digestion of biodegradable municipal solid waste. *Journal of Environmental Science and Health*, part A, 41, 1-15.
- Svensson, L.M., Christensson, K., Björnsson, L. (2006) Biogas production from crop residues on a farm scale level in Sweden: scale, choice of substrate and utilization rate most important parameters for financial feasibility. *Bioprocess Biosystem Engineering*, 29; 137–142.
- Van Ginkel, S.W., Oh, S.E., and Logan, B. E. (2006) Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. *International Journal of Hydrogen Energy*, 30, 1535- 1542.
- Wallman, P.H., Thorsness, C.B., Winter, J.D. (1998) Hydrogen production from wastes. *Energy*, 23 (4), 271-278.
- Kassam, Z.A., Yerushalmi, L. and Guiot, S.R. (2003) A market study on the anaerobic waste water treatment study. *Water, Air and Soil Pollution*, 143, 179-192.

### **III Experimental determination by principal component analysis of a reaction pathway of biohydrogen production by anaerobic fermentation**

Cette étude avait pour objectif de déterminer un schéma réactionnel minimal et les conditions optimales pour la production d'hydrogène. La première étape a consisté à faire une analyse en composantes principales (ACP) des flux de métabolites afin de déterminer le nombre minimal de réactions impliquées dans l'acidogénèse. Pour l'analyse mathématique, nous avons utilisé des mesures expérimentales des concentrations en substrats et produits à différents états stationnaires d'un réacteur continu parfaitement agité et alimenté par des mélasses. Les conditions opératoires ont été choisies suivant un plan d'expérience factoriel à trois facteurs et à deux niveaux, complété d'un point central afin de déterminer les influences du pH, du temps de séjour, de la vitesse d'agitation et de leurs interactions sur la production d'hydrogène. Une fois le nombre de réactions fixé à deux, nous avons développé une méthode d'estimation des coefficients pseudo-stœchiométriques à l'aide d'une optimisation non-linéaire par programmation quadratique séquentielle (SQP) pour garantir des vitesses de réaction positives. De cette façon, nous avons estimé les coefficients pseudo-stœchiométriques et les vitesses de chacune des deux réactions.

Finalement, ces vitesses ont été modélisées en fonction des conditions opératoires (temps de séjour hydraulique, pH et agitation) et interprétées en fonction de leur rôle dans la production d'hydrogène. Nous avons ainsi montré l'effet positif de l'agitation et les effets négatifs du pH et du temps de séjour sur la production d'hydrogène. La meilleure production d'hydrogène, de  $5,4 \text{ Lj}^{-1}\text{L}^{-1}$ , a été observée pour un pH de 5,5, un temps de séjour de 6 h et une vitesse d'agitation de 300 tr/min et a donné un rendement de  $2,5 \text{ mol-H}_2/\text{mol-saccharose}$ .

# Experimental determination by principal component analysis of a reaction pathway of biohydrogen production by anaerobic fermentation

Aceves-Lara César-Arturo, Latrille Eric, Buffiere Pierre,  
Bernet Nicolas, Steyer Jean-Philippe

INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement,  
Avenue des Etangs, Narbonne, F-11100, France

*Soumis à Chemical Engineering and Processing en Février 2007*

## **Abstract.**

Biohydrogen produced by fermentation depends of the operating conditions. The objective of this experimental work was to establish a reaction pathway based on measured values of compound concentrations and to estimated the relative effect of environmental conditions like pH, stirring velocity and hydraulic retention time (HRT). The experiments were carried out at 37°C using a continuous stirred tank reactor fed with molasses. A principal component analysis was used to determine the main reactions implied in the degradation of sucrose into acetate, propionate, butyrate, hydrogen, inorganic carbon and biomass. Two reactions explain 89% of the experimental variance. The estimation of the pseudo-stoichiometric coefficients, using SQP optimization, shows that the first reaction mainly produced butyrate, hydrogen and biomass whereas the second reaction mainly produced acetate and biomass. HRT ranged from 6 to 14 h, pH from 5.5 to 6 and the stirring velocity from 150 to 300 rpm. The maximum hydrogen production of  $5.4 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}\text{L}^{-1}$  was obtained for a pH of 5.5, a HRT of 6 h and a stirring velocity of 300 rpm, at a loading rate of  $37.12 \text{ gCOD}\cdot\text{d}^{-1}\text{L}^{-1}$ , which corresponds to  $2.5 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$ . Only linear effects of pH, HRT and stirring velocity were significant and not their interactions or quadratic effects.

## **Keywords.**

Biohydrogen, modeling, pseudo-stoichiometric matrix, PCA, SQP.

## Nomenclature

|                         |  |
|-------------------------|--|
| <i>Ace</i>              | Total acetate (g.L <sup>-1</sup> )   |
| <i>Bu</i>               | Total butyrate (g.L <sup>-1</sup> )  |
| <i>Pro</i>              | Total propionate (g.L <sup>-1</sup> )  |
| <i>C<sub>i</sub></i>    | Inorganic carbon concentration (g.L <sup>-1</sup> )  |
| <i>D</i>                | Dilution rate (d <sup>-1</sup> )   |
| <i>G</i>                | Matrix of base change ( <i>dim</i> = <i>n</i> x <i>n</i> )                                     |
| <i>G<sub>i,j</sub></i>  | Orthogonal Vectors of <i>G</i> ( <i>dim</i> = <i>n</i> x <i>n</i> )                            |
| <i>H<sub>2</sub></i>    | Hydrogen (g.L <sup>-1</sup> )  |
| HRT                     | Hydraulic retention time (d <sup>-1</sup> )  |
| <i>K</i>                | Matrix of pseudo-stoichiometric coefficients.  |
| <i>k<sub>ij</sub></i>   | Pseudo-stoichiometric coefficients   |
| <i>Suc</i>              | Concentration of sucrose (g.L <sup>-1</sup> )  |
| <i>Suc<sub>in</sub></i> | Feeding concentration of sucrose (g.L <sup>-1</sup> )  |
| <i>X</i>                | Biomass (g.L <sup>-1</sup> )   |
| <i>r</i>                | Vector of kinetics that involved biological reactions (in g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) |
| <i>q<sub>Ci</sub></i>   | Gas flow rate of inorganic carbon (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )                        |
| <i>q<sub>H2</sub></i>   | Gas flow rate of hydrogen (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )                                |
| <i>U</i>                | Measurement matrix of <i>p</i> steady states ( <i>dim</i> = <i>p</i> x <i>m</i> )              |
| <i>u</i>                | Measurement matrix ( <i>dim</i> = <i>m</i> x <i>n</i> )  |
| <i>ρ</i>                | Matrix formed with the eigen vectors ( <i>dim</i> = <i>m</i> x <i>n</i> )                      |
| <i>σ</i>                | Estimated standard deviation of measurements.  |

## III.1 INTRODUCTION

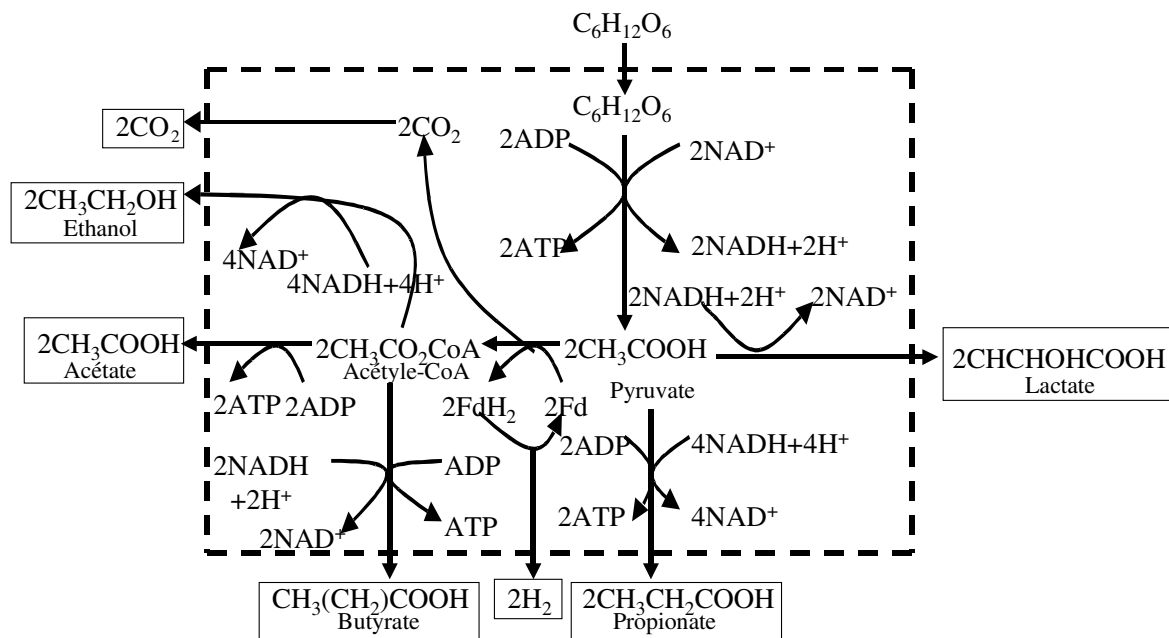
One of the great challenges of the new century is to obtain a new source of renewable energy, capable of replacing fossil fuels. Hydrogen is a promising hope because of its great calorific value, 122kJ.g<sup>-1</sup> and the great diversity of options to produce it. Moreover, hydrogen as a new energetic vector can be stored and transferred as a chemical energy (Orecchini, 2006). Unfortunately, hydrogen is presently produced mainly from the reforming of fossil materials (90% of worldwide production, representing 45 billion tons) with a high level of pollution generated, *i.e.*, 10 tons CO<sub>2</sub>.ton<sup>-1</sup> H<sub>2</sub> (Maddy *et al.*, 2003).

In parallel, biological processes show strong potentialities for sustainable hydrogen production. Hydrogen can indeed be produced by micro-organisms using two enzymes (*i.e.*, hydrogenase and nitrogenase) active in their metabolic pathways (Asada and Miyake, 1999). However, up to now, the microbial production of hydrogen has still a low efficiency of substrate conversion, ranging between 16 and 24% (Woodward *et al.*, 2000).

The involved processes can be classified into three main classes (Das and Veziroglu, 2001): biophotolysis, photodecomposition and acidogenic fermentation of carbohydrates

(acidogenesis). The two first processes are photobiological (*i.e.*, light is needed) whereas the acidogenesis step presents several advantages such as a production rate higher than those obtained with photobiological processes and the capacity of being run all over the day even during the night) (Das and Veziroglu, 2001).

The main species identified as responsible for the biological hydrogen production during the acidogenesis of the carbohydrates are (Hawkes *et al.*, 2002) *Enterobacter*, *Bacillus* and *Clostridium*. Their metabolism can be represented by the biochemical pathways described in Figure III.10 (Ren *et al.*, 1997). It shows that, from a theoretical point of view, fermentation pathways that produce acetate and butyrate are those which are mainly responsible for hydrogen production (Hawkes *et al.*, 2002; Vavilin *et al.*, 1995). On the other hand, the pathways that produce ethanol, lactate and propionate are unable to produce hydrogen, because they consume the hydrogenated biochemical intermediates, like NADH.



**Figure III.10** Biochemical pathways of carbohydrate acidogenesis (Ren *et al.*, 1997)

During the acidogenesis process, several operating conditions must be optimized to increase the hydrogen production. Among these conditions, the hydraulic retention time (HRT), pH of the medium and agitation of the liquid phase (also called stirring velocity) are considered as very important parameters. The pH is a key factor because a pH lower than 5 can induce the solvatogenesis (Hawkes *et al.*, 2002; Sauer *et al.*, 1995) or the bacterial sporulation (Sauer *et al.*, 1995). Fang and Liu studied pH values ranged from 4 to 7, for a volumetric loading rate of  $28 \text{ g.L}^{-1}\text{d}^{-1}$  and found an optimal pH close to 5.5 (Fang and Liu, 2002). Other studies have

been made to analyze the effects of HRT with a constant influent substrate concentration of sucrose (Chen and Lin, 2001; Chen and Lin, 2003; Ueno *et al.*, 1996) and glucose (Chen and Lin, 2001; Lin and Chang, 1999). They showed that the hydrogen production increases with the reduction of HRT until a limit value of 2 hours (Chen and Lin, 2003). Recently, van Ginkel and Logan (2005) demonstrated that HRT is a parameter more significant than the applied volumetric load to increase the H<sub>2</sub> production.

Anaerobic reactors present a gas over-saturation in the liquid phase (Kraemer, 2004; Pauss *et al.*, 1990) which induces formation of bubbles (Merkel and Krauth, 1999; Pauss *et al.*, 1990). This over-saturation can thermodynamically inhibit the hydrogen production (Mizuno *et al.*, 2000; Tanisho *et al.*, 1998) or permit its consumption. It is thus very important to have a good control of the dissolved gas concentration and to keep it as low as possible. Up to now, two methods have been used to ensure a good stripping of the dissolved gas: sparging with an inert gas and increase of the stirring velocity. Stripping with an inert gas could lead up to a 50% increase of the hydrogen yield (Hussy *et al.*, 2005; Mizuno *et al.*, 2000; Tanisho *et al.*, 1998) while changing the stirring velocity from 100 to 500 rpm could increase it up to 100% more (Lay, 2000).

All these operating conditions determine the biological pathways that are followed inside the cell in order to have a good energetic balance. Unfortunately up to now, the in situ study of this pathways is difficult, because there are a lack of measurements. One possibility is to use a macroscopic approach like the pseudo-stoichiometric matrix, *i.e.* the matrix that contains the minimal number of reactions capable of describing a biochemical pathways (Bernard and Bastin, 2004; Bernard and Bastin, 2005).

The aim of the present work is to find the pseudo-stoichiometric matrix, involved in the sucrose degradation to acetate, propionate, butyrate, hydrogen and CO<sub>2</sub>, from a mathematical analysis of experimental data. It is important to notice that operating conditions were chosen in order to determine the interactions of the three studied factors (the hydraulic retention time, pH and agitation speed) and thus, were not dedicated to the accurate determination of the optimal conditions. Pseudo-stoichiometric coefficients and reaction rates are estimated with an optimisation algorithm coupled to a Principal Components Analysis (PCA). The first step is to estimate the number of reactions by using the PCA. After, coefficient estimation is performed with an optimization based on algorithms of Sequential Quadratic Programming (SQP), by considering that pseudo-stoichiometric coefficients are constants and that the kinetics rates are unknown. Finally, reactions rates are expressed as functions of operational

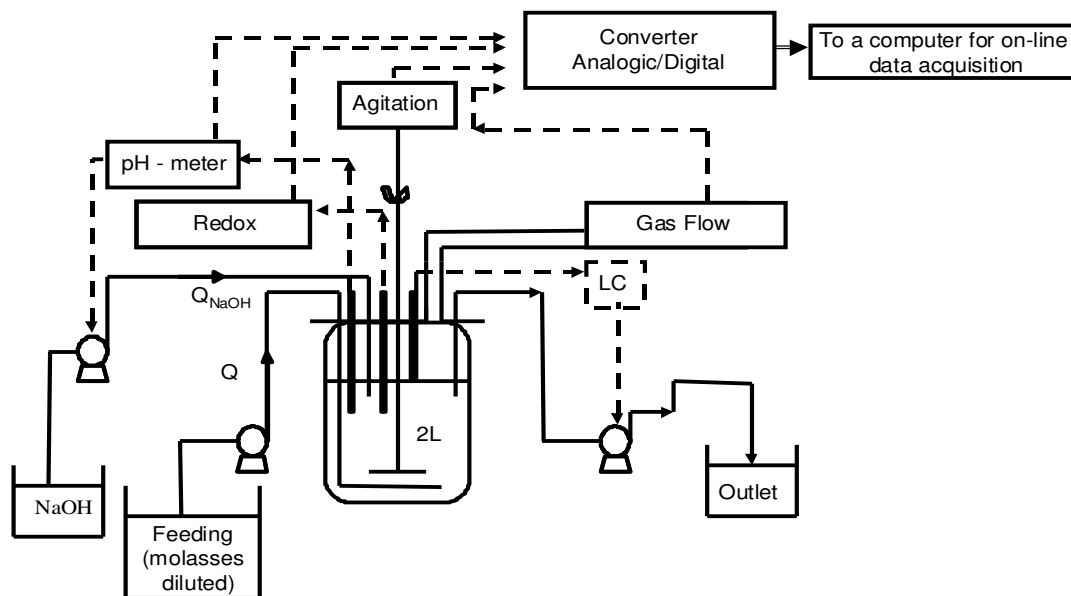


conditions (hydraulic retention time, pH and agitation) in order to compare their role in the hydrogen production.

## III.2 MATERIALS AND METHODS

### III.2.1 Reactor Design

Experiments were carried out in a continuous stirred tank reactor (Setric) of 2 L with a useful volume of 1125 mL (Figure III.11). The reactor was equipped with a stirring system made of a Rushton turbine and a marine propeller in order to ensure a homogeneous mixture and an important agitation. A revolution counter was connected to access to the measurement of the stirring velocity. The gas flow rate was measured with a home-made electronic gas volumeter emitting an electric pulse each milliliters. Two additional sensors were connected to the reactor for measuring the redox potential (Pt 4805 - DXK-S8/225, Mettler Toledo) and pH (4010/120/Pt100, Mettler Toledo). The pH-meter (2300, Ingold) and the transmitter for redox potential (Mettler Toledo) were connected to a computer for on-line data acquisition. The pH was controlled by adding NaOH (2 M) with a peristaltic pump. Temperature in the reactor was also controlled using a platinum probe Pt100 and a heating electric resistance. The temperature of culture was maintained at 37°C. The quantity of NaOH added and the temperature were also recorded on-line.



**Figure III.11** Schematic view of the continuous reactor used in the present study

### **III.2.2 Off-line measurements**

Gas composition was analyzed by manual sampling using a gas chromatograph (GC-14A, Shimadzu). Operating conditions were as follows: carrier gas, nitrogen; pressure of 335 kPa; temperature of the injector, 250°C; temperature of the detector, 275°C; temperature gradient for heating, 80 to 120 °C with steps of 10°C each minute.

Composition of volatile fatty acids (VFA) in the liquid phase, *i.e.*, acetic acid (C2), propionic acid (C3), butyric and iso-butyric acids (C4 and iC4) and in valeric and iso-valeric acids (C5 and iC5), were determined by liquid injection into a gas chromatograph (GC 8000, Fisons Instruments). The residual absence or presence of sugar and other bioproducts such as organic acids (lactate), ethanol or acetone was confirmed by an High Performance Liquid Chromatography analysis.

The biomass was determined through the volatile suspended solid (VSS) concentration measured according to the standard method of the APHA (1995).

### **III.2.3 Medium composition**

Molasses resulting from the sugarbeet production were used as feeding substrate. They were diluted to a concentration of 11 gCOD.L<sup>-1</sup> by adding a nutritional medium rich in minerals and containing (in mg/L): MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 150; NaCl, 1000; ZnCl<sub>2</sub>, 10; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 25; NH<sub>4</sub>Cl, 1000; CoCl<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O, 5; CuCl<sub>2</sub>, 5; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 10; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 150; NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20; MnCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20.

### **III.2.4 Inoculum**

The inoculum was prepared with one liter of sludge taken from an anaerobic methane digester fixed bed reactor of 1m<sup>3</sup> used for several years for the treatment of wine distillery wastewater. The sludge was centrifuged for 15 minutes at 17700 g. The reactor was stripped with nitrogen for 15 minutes before continuous feeding was applied.

### **III.2.5 Experimental design**

In order to determine the influences of pH, HRT, stirring velocity and their interactions on the hydrogen production, a factorial experimental design of three factors duplicated and two levels with a central point was defined. Overall, nine different operating conditions were

applied, carrying out a total of 18 experiments. The retention times were 6 and 14 hours, pH 5.5 and 6 and the stirring velocity 150 and 300 rpm for the factorial points whereas the central point was conducted with an HRT of 10 hours, pH of 5.75 and stirring velocity of 225 rpm. Each operating condition was maintained for a duration ranging from 5 to 8 HRT in order to reach a steady state. Measurements of the different concentrations in liquid and gas phases were performed after reaching each steady state. Reynolds number for these stirring velocities were calculated, they were 6250, 9375 and 12500 respectively for 150, 225 and 300 rpm. These Reynolds number show that the stirring velocity is turbulent, then it is possible to assume well stirred conditions.

### III.3 RESULTS

#### III.3.1 Process model

The mass balance model of the continuous stirred tank reactor fed with sucrose (the main component of molasses ) and producing mainly acetate, propionate, butyrate, biomass, carbon inorganic (*i.e.*, CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, etc.) and hydrogen was written according to equation (1):

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} Suc \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ C_i \\ H_2 \end{bmatrix} = K \cdot r - D \begin{bmatrix} Suc - Suc_{in} \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ C_i \\ H_2 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ q_{C_i} \\ q_{H_2} \end{bmatrix} \quad (1)$$

where *Suc*, *Ace*, *Pro*, *Bu*, *X*, *C<sub>i</sub>* and *H<sub>2</sub>* represent, respectively, the concentrations in g.L<sup>-1</sup> of sucrose, acetate, propionate, butyrate, biomass, inorganic carbon and dissolved hydrogen in the liquid phase. *K* represents the matrix of pseudo-stoichiometric coefficients (without units and dimension equal to *m* x *n*), *r* the vector of the kinetics (dimension *n* x 1 in g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>), *D* the dilution rate (d<sup>-1</sup>) and *q<sub>ci</sub>* and *q<sub>H2</sub>* the gas flow rates of inorganic carbon and hydrogen expressed in g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>.

### III.3.2 Determination of the number of reactions and the dimension of the kinetic vector $r$

In order to obtain a simplified reaction pathway of the acidogenesis and hydrogen production, only the experimental values measured at the steady states can be considered. Under these conditions, the left term of equation (1) is cancelled and one obtains equation (2) defining the vector  $u$  ( $dim = m \times 1$ ):

$$K \times r = u \quad (2)$$

where

$$u = D \cdot \begin{bmatrix} Suc - Suc_{in} \\ Ace \\ Pr o \\ Bu \\ X \\ C_i \\ H_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ q_{C_i} \\ q_{H_2} \end{bmatrix}$$

Measuring  $m$  components at  $p$  steady states, one can then build the following  $U$  matrix ( $dim U = p \times m$ ):

$$U = \begin{bmatrix} {}^t u_1 \\ {}^t u_2 \\ \vdots \\ {}^t u_p \end{bmatrix} \quad (3)$$

Then a PCA was made onto the  $U$  matrix in order to obtain a space of reduced dimensions for the kinetics. The eigen vectors of the covariance matrix of  $U$  are linear combinations of the measured variables and the  $K$  matrix was expressed as a linear combination of the eigen vectors according to the method described by Bernard and Bastin (2004;2005);

$$K = \rho \times G \quad (4)$$

where  $\rho$  ( $dim = m \times n$ ) is the matrix formed by the eigen vectors and  $G$  ( $dim = n \times n$ ) is a base change matrix.

Equations (2) and (4) give :

$$G \times r = \rho^T \times U \quad (5)$$

The calculation of the variance of each principal vectors of the PCA was made from the data presented in Table III.4 with the *pcacov* Matlab function (Matlab 6.5, Mathworks). These data take into account the chemical equilibrium for the determination of inorganic carbon concentrations  $C_i$ . One interesting result is that using only the two first principal components, up to 89% of the total variance of the experimental data is explained. In addition, the third component accounts for only 10% of the variance which is lower than the variance of each initial variables (*i.e.*  $100/m=14\%$ ,  $m$  being equal to 7). Thus, only the first two factorial axes collect the correlation between the components and are interpretable. They represent the two main reactions of our study. The reaction pathway is thus reduced to two reactions: the vector  $r$  is of dimension  $n=2$  and  $K$ , the matrix of the pseudo-stoichiometric coefficients is of dimension  $7 \times 2$ .

**Table III.4** Experimental data used for the determination of the pseudo-stoichiometric matrix and their measurement errors. <sup>(a)</sup> Measurements made in triplicate and <sup>(b)</sup> measurements made in duplicate.  $\sigma$ : estimated standard deviation of measurements. Max-min: difference between the maximal and the minimal value. ND: not determined.

| Agitation<br>rpm | pH   | HRT<br>h | $C_2$<br>g.L <sup>-1</sup> | $\sigma^{(a)}$ | $C_3$<br>g.L <sup>-1</sup> | $\sigma^{(a)}$ | $C_4$<br>g.L <sup>-1</sup> | $\sigma^{(a)}$ | Biomass<br>g.L <sup>-1</sup> | max-<br>min <sup>(b)</sup> | CO <sub>2</sub><br>% | $\sigma^{(a)}$ | H <sub>2</sub><br>% | $\sigma^{(a)}$ | QGas<br>mL.h <sup>-1</sup> |
|------------------|------|----------|----------------------------|----------------|----------------------------|----------------|----------------------------|----------------|------------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|---------------------|----------------|----------------------------|
| 300              | 6    | 14       | 2.08                       | 0.16           | 0.11                       | 0.01           | 1.79                       | 0.11           | 0.81                         | 0.01                       | 65                   | 1.14           | 35                  | 1.14           | 29.9                       |
| 225              | 5.75 | 10       | 2.31                       | 0.01           | 0.34                       | 0.01           | 2.16                       | 0.01           | 1.21                         | 0.03                       | 65                   | 0.21           | 35                  | 0.21           | 133.9                      |
| 150              | 6    | 6        | 3.14                       | 0.04           | 0.27                       | 0.01           | 1.82                       | 0.02           | 1.52                         | 0.01                       | 60                   | 0.06           | 40                  | 0.06           | 74.0                       |
| 150              | 5.5  | 14       | 3.31                       | 0.04           | 0.25                       | 0.01           | 1.88                       | 0.02           | 1.38                         | 0.01                       | 94                   | 0.01           | 6                   | 0.01           | 10.5                       |
| 300              | 5.5  | 14       | 3.45                       | 0.04           | 0.39                       | 0.18           | 1.62                       | 0.03           | 1.40                         | 0.01                       | 76                   | 0.06           | 24                  | 0.06           | 74.0                       |
| 300              | 6    | 6        | 3.70                       | 0.13           | 0.22                       | 0.01           | 2.03                       | 0.05           | 1.75                         | 0.01                       | 50                   | 0.29           | 50                  | 0.29           | 173.9                      |
| 150              | 6    | 14       | 4.25                       | 0.04           | 0.31                       | 0.01           | 1.46                       | 0.01           | 1.48                         | ND                         | 91                   | 0.47           | 1                   | 0              | 25.9                       |
| 300              | 5.5  | 6        | 1.91                       | 0.01           | 0.49                       | 0.01           | 1.94                       | 0.02           | 1.53                         | 0.01                       | 47                   | 0.17           | 53                  | 0.29           | 479.5                      |
| 150              | 5.5  | 6        | 2.13                       | 0.04           | 0.11                       | 0.01           | 2.45                       | 0.04           | 1.48                         | 0.01                       | 55                   | 0.06           | 45                  | 0.06           | 232.2                      |

### III.3.3 Estimation of the pseudo-stoichiometric coefficients by optimisation algorithm

Optimisation has been made using an algorithm based on Sequential Quadratic Programming (SQP). This algorithm has been extensively described and discussed by several workers (Aceves-Lara *et al.*, 2005; Bhaskar *et al.*, 2000; Biegler, 1984; Rajesh *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2003). It has been used to solve several optimisation problems, especially in biological processes, and more particularly for parameters estimation (Aceves-Lara *et al.*, 2005), model

predictive control (Zhu *et al.*, 2000) and optimal control (Van Ginkel and Sung, 2001). In this work, optimization problem of equation (5) is defined as:

$$\min(G \ r - \rho \ U) \quad (6)$$

where  $\dim(G \ r - \rho \ U) = n \times 1$ .  $(G \ r - \rho \ U)$  is in fact a vector with  $n=2$  objectives to minimize. The hypothesis that define the constraints are :

a) Matrix  $G$  is an orthogonal space, that is

$$G_{i,1} \perp G_{i,2}$$

b) Sucrose is the only substrate which leads to

$$k_{1j} < 0 \quad \forall j = 1 \text{ and } 2 \text{ and}$$

$$k_{ij} \geq 0 \quad \forall i \begin{cases} \geq 2 \\ \neq 5 \end{cases} \text{ et } \forall j = 1 \text{ and } 2$$

c) Biomass is the reference compound that is

$$k_{5j} = 1 \quad \forall j = 1 \text{ and } 2$$

d) Reactions rates are always positives or zero, that is

$$r \geq 0$$

This approach assures that all the reactions rates will be positive. That is the first advantage of the present approach compared to that one proposed by Bernard and Bastin (Bernard and Bastin, 2004; Bernard and Bastin, 2005). Numerical values estimated by this optimisation procedure using *fminmax* Matlab function (Matlab 6.5, Mathworks) are shown in Table III.5. Numerous optimizations were made by randomizing initial values between -5 and 20, which allows to assure the best minimum in this region.

**Table III.5** Estimated pseudo-stoichiometric matrix coefficients

|       |       |       |
|-------|-------|-------|
| $K =$ | -4,85 | -4,62 |
|       | 0     | 2,31  |
|       | 0,21  | 0,15  |
|       | 1,60  | 0,61  |
|       | 1     | 1     |
|       | 0,65  | 0,12  |
|       | 0,13  | 0     |

It can be seen that biomass growth is associated to the two reactions. The first reaction produces hydrogen, butyric acid and a small quantity of propionic acid. In addition, it doesn't

produce acetic acid. In the other hand, the second reaction produces acetic acid and small quantities of propionic and butyric acids but doesn't produce any hydrogen.

Table III.6 shows some of the reactions associated to hydrogen production assuming a biomass composition equivalent to  $C_4H_7O_2N$  as it is often done in the literature.

**Table III.6** Examples of acidogenesis reactions with stoichiometric coefficients during biomass production under anaerobic conditions

| Reactions |  |
|-----------|--|
| (I)       | $C_6H_{12}O_6 + 1.07H_2O + 0.28NH_3 \rightarrow 0.28C_4H_7O_2N + 1.63C_2H_4O_2 + 3.26H_2 + 1.63CO_2$                                 |
| (II)      | $C_6H_{12}O_6 + 1.63H_2 + 0.28NH_3 \rightarrow 0.28C_4H_7O_2N + 1.63C_3H_6O_2 + 2.18H_2O$  |
| (III)     | $C_6H_{12}O_6 + 0.22NH_3 \rightarrow 0.22C_4H_7O_2N + 0.85C_4H_8O_2 + 1.71H_2 + 1.71CO_2 + 0.45H_2O$                                 |
| (IV)      | $C_6H_{12}O_6 + 0.26NH_3 \rightarrow 0.26C_4H_7O_2N + 0.54C_2H_4O_2 + 0.54C_3H_6O_2 + 0.28C_4H_8O_2 + 1.11CO_2 + 1.11H_2 + 0.52H_2O$ |
| (V)       | $C_6H_{12}O_6 + 0.11NH_3 \rightarrow 0.11C_4H_7O_2N + 1.43C_2H_4O_2 + 0.06C_3H_6O_2 + 0.5C_4H_8O_2 + 0.53CO_2 + 0.74H_2O$            |

Assuming that  $NH_3$  and  $H_2O$  are not limiting compounds, it is quite remarkable to notice that the yield coefficients of reaction (III) in Table III.7 (except for propionate) are just the double of those ones present into the first column of  $K$  pseudo-stoichiometric matrix (Table III.5). Moreover, yield coefficients of reaction (V) in Table III.7 are near to four times of those ones present into the second column of  $K$  pseudo-stoichiometric matrix (Table III.5). These differences can be explained by the uncertainty in the biomass concentration and composition measurements, but validate the reaction schema proposed.

**Table III.7** Yield coefficients of the stoichiometric

|                            | Reaction (I) | Reaction (II) | Reaction (III) | Reaction (IV) | Reaction (V) |
|----------------------------|--------------|---------------|----------------|---------------|--------------|
| Glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ) | -7,21        | -7,21         | -9,18          | -7,77         | -18,35       |
| Acetate ( $C_2H_4O_2$ )    | 3,92         | 0             | 0              | 1,41          | 8,75         |
| Propionate ( $C_3H_6O_2$ ) | 0            | 4,84          | 0              | 1,74          | 0,45         |
| Butyrate ( $C_4H_8O_2$ )   | 0            | 0             | 3,82           | 1,08          | 4,49         |
| Biomass ( $C_4H_7O_2N$ )   | 1            | 1             | 1              | 1             | 1            |
| Inorganic carbon           | 0,79         | 0,00          | 1,05           | 0,58          | 0,64         |
| Hydrogen ( $H_2$ )         | 0,26         | -0,13         | 0,17           | 0,10          | 0            |

### III.3.4 Kinetics and operational conditions effects

The values of the kinetic terms obtained after the optimization are further modeled according to the applied operating conditions with respect to pH, stirring velocity and hydraulic retention time. To this end, a linear model with first order interactions was assumed. The variance analysis of the factors, Table III.8, (Statgraphics 3.0, Statistical Graphics Corp.) shows that only linear effects of pH, HRT and stirring velocity were significant and not their interactions. The lack of fit test was applied to determine whether the linear model is adequate to describe the observed data, or whether a more complicated model should be used. The test is performed by comparing the variability of the current model residuals to the variability between observations at replicate settings of the factors.

**Table III.8** Analysis of Variance (ANOVA) for reaction's rate. SV: stirring velocity; HRT: Hydraulic retention time

| Reaction 1                    |                |         | Reaction 2                    |                |         |
|-------------------------------|----------------|---------|-------------------------------|----------------|---------|
| Source                        | Sum of Squares | p-Value | Source                        | Sum of Squares | p-Value |
| SV                            | 4,64           | 0,05    | SV                            | 0,66           | 0,35    |
| pH                            | 5,31           | 0,04    | pH                            | 2,26           | 0,10    |
| HRT                           | 9,09           | 0,01    | HRT                           | 16,02          | 0,00    |
| SV * pH                       | 0,85           | 0,35    | SV * pH                       | 0,45           | 0,43    |
| SV * HRT                      | 1,23           | 0,27    | SV * HRT                      | 0,08           | 0,75    |
| pH * HRT                      | 1,12           | 0,29    | pH * HRT                      | 1,74           | 0,14    |
| SV * pH * HRT                 | 0,23           | 0,61    | SV * pH * HRT                 | 0,75           | 0,32    |
| Lack-of-fit                   | 0,23           | 0,62    | Lack-of-fit                   | 0,40           | 0,46    |
| Pure error                    | 7,85           |         | Pure error                    | 6,05           |         |
| Total (corr.)                 | 30,58          |         | Total (corr.)                 | 28,41          |         |
| R-squared = 73,56 %           |                |         | R-squared = 77,29 %           |                |         |
| Standard Error of Est. = 0,89 |                |         | Standard Error of Est. = 0,80 |                |         |

The p-value for lack of fit in the ANOVA indicates that the linear model is adequate without interaction of the effects at the 95,0% confidence level. The HRT has a significant effect on the kinetics of the two reactions with a *p*-values smaller than 0,05 for the first and the second reaction, respectively. Besides, pH and stirring velocity have significant effects only on the kinetics of the first reaction with *p*-values of 0,02 and 0,03, respectively whereas the effect on the second reaction is not significant with *p*-values of 0,09 and 0,34, respectively. Moreover,



operational conditions, that have a positive effect for the first reaction, increase the hydrogen production whereas those, which have a positive effect for the second reaction, decrease the hydrogen production. Figures 3 to 6 represent the response surfaces of the reactions rates  $r_1$  and  $r_2$  according to the operating conditions modeled by a linear model with first order interactions.

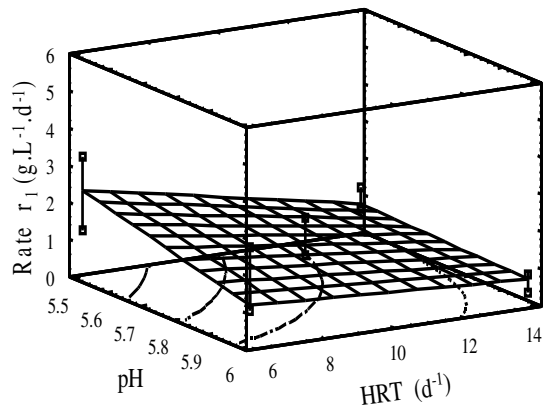
The equations of the fitted model, using only the significant effects are

$$r_1 = 12,55 + 0,087 * SV - 2,19 * pH - 1,51 * HRT$$

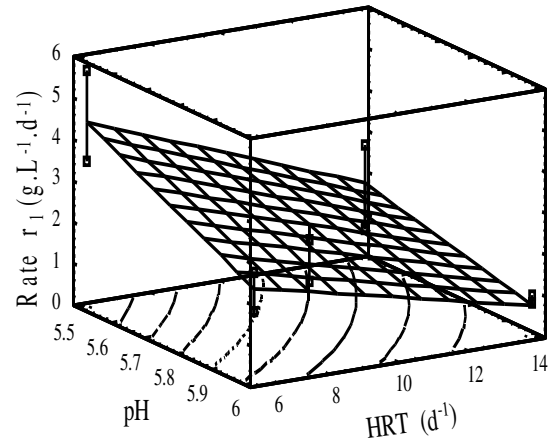
$$r_2 = -32,07 + 6,82 * pH + 1,60 * HRT$$

Figures 3 and 5 have been plotted for a stirring velocity of 150 rpm while Figures 4 and 6 are for 300 rpm. The squared symbols represent the values of the kinetics calculated from the experimental data for each steady state and the response surfaces are obtained directly from the model.

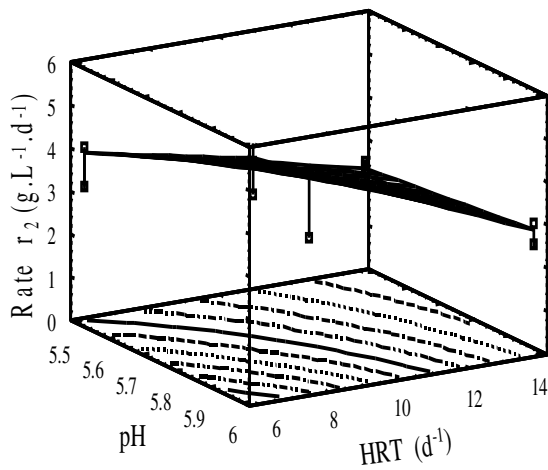
Comparison of Figures 3 and 4 highlights the positive effect of stirring velocity on the hydrogen production. This effect is more pronounced at low pH values and at low hydraulic retention time. This effect of stirring velocity on hydrogen production is not frequently described in the literature. It would be explained by an increase of the liquid/gas transfer coefficients of the dissolved gases which would reduce inhibitions of hydrogen formation and would reduce the consumption, in the liquid phase, of hydrogen by microorganisms. The most favorable conditions for the hydrogen production were obtained for a pH value of 5,5, a HRT of 6h (feed flow of 174 mL/h) and a stirring velocity of 300 rpm. These conditions led to an hydrogen productivity of 5,4 L.d<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> with an hydrogen conversion yield of 2,5 mol-H<sub>2</sub>/mol-sucrose whereas the highest theoretical value is 4 mol-H<sub>2</sub>/mol-sucrose following the pathway of butyrate production.



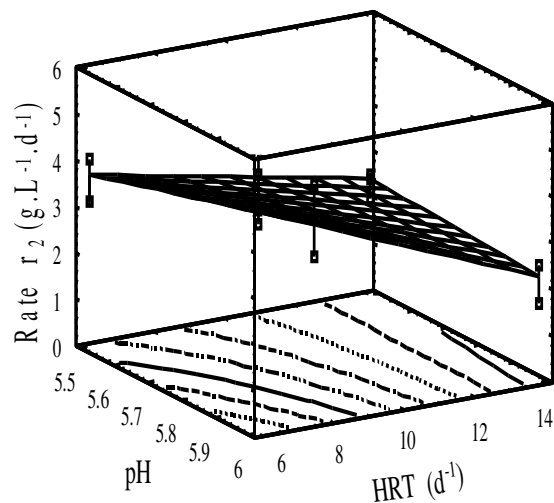
**Figure III.12** Response surface of the first reaction rate with agitation of 150 rpm



**Figure III.13** Response surface of the first reaction rate with agitation of 300 rpm



**Figure III.14** Response surface of the second reaction rate with agitation of 150 rpm



**Figure III.15** Response surface of the second reaction rate with agitation of 300 rpm

### III.4 CONCLUSION

In anaerobic hydrogen production, the knowledge of the involved biological reactions is very important and simple models are needed to apply closed loop optimization control laws. In this work, it was shown that only two reactions could explained 89% of the total variance of the experimental data. Pseudo-stoichiometric coefficients were estimated with a SQP optimisation procedure coupled to a principal component analysis. The reaction rates that were calculated showed that the stirring velocitystirring velocity had a positive effect in

hydrogen production while an increase pH and hydraulic retention time have a negative effect. The maximum hydrogen production rate obtained in this study was  $5.4 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ , for a pH of 5.5, a retention time of 6h and a stirring velocity of 300 rpm.

### III.5 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the CONACyT (Mexico) for the scholarship **165012** that made this study possible and to Dr Olivier Bernard (INRIA-Comore) for his fruitful comments.

### III.6 REFERENCES

- Aceves-Lara, C.A., E. Aguilar-Garnica, V. Alcaraz-González, O. González-Reynoso, J.P. Steyer, J.L. Dominguez-Beltran, and V. González-Álvarez, *Kinetic parameters estimation in an anaerobic digestion process using successive quadratic programming*. Water Science & Technology, 2005. **52**(1-2): p. 419-426.
- Asada, Y. and J. Miyake, *Photobiological hydrogen production*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1999. **88**(1): p. 1-6.
- Bernard, O. and G. Bastin, *Identification of reaction networks for bioprocesses: determination of a partially unknown pseudo-stoichiometric matrix*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2004. **27**(5): p. 293-301.
- Bernard, O. and G. Bastin, *On the estimation of the pseudo-stoichiometric matrix for macroscopic mass balance modelling of biotechnological processes*. Mathematical Biosciences, 2005. **193**(1): p. 51-77.
- Bhaskar, V., S.K. Gupta, and A.K. Ray, *Applications of multiobjective optimization in chemical engineering*. Reviews in Chemical Engineering, 2000. **16**(1): p. 1-54.
- Biegler, L.T., *Solution of dynamic optimization problems by successive quadratic programming and orthogonal collocation*. Computers & Chemical Engineering, 1984. **8**(3-4): p. 243-247.
- Chen, C.C. and C.Y. Lin, *Start-up of Anaerobic Hydrogen Producing Reactors Seeded with Sewage Sludge*. Acta Biotechnologica, 2001. **21**(4): p. 371-379.

- Chen, C.C. and C.Y. Lin, *Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor*. *Advances in Environmental Research*, 2003. **7**(3): p. 695-699.
- Das, D. and T.N. Veziroglu, *Hydrogen production by biological processes: a survey of literature*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2001. **26**(1): p. 13-28.
- Fang, H.H.P. and H. Liu, *Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture*. *Bioresource Technology*, 2002. **82**(1): p. 87-93.
- Hawkes, F., R. Dinsdalea, D. Hawkes, and I. Hussy, *Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2002. **27**(11-12): p. 1339-1347.
- Hussy, I., F.R. Hawkes, R. Dinsdalea, and D.L. Hawkes, *Continuous fermentative hydrogen production from sucrose and sugarbeet*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2005. **30**(5): p. 471-483.
- Kraemer, J.T., *Effects of Methanogenic Effluent Recycle on Fermentative Hydrogen Production*. University of Toronto, 2004.
- Lay, J.-J., *Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2000. **68**(3): p. 269-278.
- Lin, C.-Y. and R.-C. Chang, *Hydrogen production during the anaerobic acidogenic conversion of glucose*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 1999. **74**(6): p. 498-500.
- Maddy, J., S. Cherryman, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, G.C. Premier, and S. Cole, *HYDROGEN 2003 Report Number 1 ERDF part-funded project entitled: "A Sustainable Energy Supply for Wales: Towards the Hydrogen Economy"*. University of Glamorgan, 2003.
- Merkel, W. and K. Krauth, *Mass transfer of carbon dioxide in anaerobic reactors under dynamic substrate loading conditions*. *Water Research*, 1999. **33**(9): p. 2011-2020.
- Mizuno, O., R. Dinsdale, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes, and T. Noike, *Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging*. *Bioresource Technology*, 2000. **73**(1): p. 59-65.
- Najafpour, G.D. and C. Poi Shan, *Enzymatic hydrolysis of molasses*. *Bioresource Technology*, 2003. **86**(1): p. 91-94.
- Orecchini, F., *The era of energy vectors*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2006. **31**(14): p. 1951-1954.
- Pauss, A., G. Andre, M. Perrier, and S.-R. Guiot, *Liquid-to-Gas Mass Transfer in Anaerobic Processes: Inevitable Transfer Limitations of Methane and Hydrogen in the*

- Biomethanation Process*. Applied and Environmental Microbiology, 1990. **56**(6): p. 1636-1644.
- Rajesh, J.K., S.K. Gupta, G.P. Rangaiah, and A.K. Ray, *Multi-objective optimization of industrial hydrogen plants*. Chemical Engineering Science, 2001. **56**: p. 999-1010.
- Ren, N., B. Wang, and J.-C. Huang, *Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor*. Biotechnology and Bioengineering, 1997. **54**(5): p. 428-433.
- Sauer, U., J.D. Santangelo, A. Treuner, M. Buchholz, and P. Durre, *Sigma factor and sporulation genes in Clostridium*. FEMS Microbiology Reviews Papers presented at the Meeting on Solventogenic Clostridia, 1995. **17**(3): p. 331-340.
- Tanisho, S. and Y. Ishiwata, *Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as a support of flocks*. International Journal of Hydrogen Energy, 1995. **20**(7): p. 541-545.
- Tanisho, S., M. Kuromoto, and N. Kadokura, *Effect of CO<sub>2</sub> removal on hydrogen production by fermentation*. International Journal of Hydrogen Energy, 1998. **23**(7): p. 559-563.
- Ueno, Y., S. Otsuka, and M. Morimoto, *Hydrogen Production from Industrial Wastewater by Anaerobic Microflora in Chemostat Culture*. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996. **82**(2): p. 194-197.
- Van Ginkel, S. and S. Sung, *Biohydrogen Production as a Function of pH and Substrate Concentration*. Environmental Science & Technology, 2001. **35**(24): p. 4726-4730.
- Van Ginkel, S.W. and B. Logan, *Increased biological hydrogen production with reduced organic loading*. Water Research, 2005. **39**(16): p. 3819-3826.
- Vavilin, V.A., S.V. Rytow, and L.Y. Lokshina, *Modelling hydrogen partial pressure change as a result of competition between the butyric and propionic groups of acidogenic bacteria*. Bioresource Technology, 1995. **54**(2): p. 171-177.
- Woodward, J., K.A. Cordray, R.J. Edmonston, M. Blanco-Rivera, S.M. Mattingly, and B.R. Evans, *Enzymatic hydrogen production: Conversion of renewable resources for energy production*. Energy & Fuels, 2000. **14**(1): p. 197-201.
- Yu, W., K. Hidajat, and A.K. Ray, *Application of Multiobjective Optimization in the Design and Operation of Reactive SMB and Its Experimental Verification*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2003. **42**: p. 6823-6831.
- Zhu, G.-Y., A. Zamamiri, M.A. Henson, and M.A. Hjortso, *Model predictive control of continuous yeast bioreactors using cell population balance models*. Chemical Engineering Science, 2000. **55**(24): p. 6155-6167.

## IV A PSEUDO-STOICHIOMETRIC DYNAMIC MODEL OF ANAEROBIC HYDROGEN PRODUCTION FROM MOLASSES

Une série d'expériences a été réalisée afin de valider un modèle dynamique basé sur la structure de la matrice de pseudo-stœchiométrie déterminée à la section précédente. Plusieurs valeurs de charge volumique ont été appliquées en modifiant les débit d'alimentation et en gardant le pH et la vitesse d'agitation aux valeurs optimales déterminées précédemment (*i.e.*, 5,5 et 300 tr/min, respectivement).

La matrice de pseudo-stœchiométrie déterminée à la section III considérait des coefficients de rendements constants sur une large plage de valeurs de pH alors que celles-ci variaient entre un pH de 5,5 et un pH de 6,0. Afin de déterminer ces coefficients avec une meilleure précision pour un pH fixé de 5,5, nous avons réestimé les valeurs de la matrice pseudo-stœchiométrique. Un des résultats remarquables est que ces valeurs se révèlent être proches des valeurs stœchiométriques théoriques.

Les modèles utilisant la matrice des coefficients de pseudo-stœchiométrie et de stœchiométrie théorique ont été simulés et comparés pour plusieurs conditions opératoires. Ces deux modèles décrivent correctement la dynamique et les états stationnaires. Cependant, le modèle qui utilise les coefficients de pseudo-stœchiométrie fournit de meilleures estimations des concentrations en acétate, propionate, butyrate et de composition du gaz.

Le modèle a aussi été simulé pour de larges plages de valeurs de débit et de concentration d'alimentation pour les comparer aux données issues de la littérature qui ont été regroupées au sein d'un même graphique. Il est ainsi démontré que ce modèle réalise une bonne synthèse des données disponibles dans la littérature.

# **A pseudo-stoichiometric dynamic model of anaerobic hydrogen production from molasses**

Cesar-Arturo Aceves-Lara, Eric Latrille, Nicolas Bernet,  
Pierre Buffière, Jean-Philippe Steyer

INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Avenue des Etangs,  
Narbonne, F-11100, France.

*Soumis à Water Research en Août 2007*

## **Abstract**

Despite many mathematical models available in the literature for simulation and optimization of anaerobic digestion processes, only few can accurately account for hydrogen production. In the present study, experiments were performed in a continuous stirred tank reactor with a hydraulic retention time close to 6 hours. pH was regulated to 5.5 and agitation was maintained at 300 rpm. Molasses were used as substrate with feeding concentrations of 7, 9.35, 14, 14.49, 18.69 and 20.09 g.L<sup>-1</sup>. Experimental data were used to estimate the pseudo-stoichiometric coefficients with a constrained nonlinear optimization. The obtained pseudo-stoichiometric matrix is made of two reactions, one being associated to hydrogen production and the other one to acetate production. Finally, a dynamic model is derived and the kinetic parameters are determined to fit the experimental data. This model is able to simulate accurately the dynamic evolution of hydrogen production, but also biomass and intermediate compounds (*i.e.*, individual volatile fatty acids) concentrations while being very close to stoichiometric balance. Finally, the best hydrogen production was 15.3 L<sub>H<sub>2</sub></sub>.d<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> for a concentration of substrate of 20.09 g.L<sup>-1</sup> and a liquid feed flow of 5 L.d<sup>-1</sup>.

## **Keywords**

Hydrogen production, anaerobic digestion, stoichiometry, dynamic modeling.

## Nomenclature

|                  |  |
|------------------|--|
| $Ace$            | : Total acetic acid concentration (g.L <sup>-1</sup> )   |
| $Ace^-$          | : Ionized acetic acid concentration (M)  |
| $Bu$             | : Total butyric acid concentration (g.L <sup>-1</sup> )  |
| $Bu^-$           | : Ionized butyric acid concentration (M)   |
| $Pro$            | : Total propionic acid concentration (g.L <sup>-1</sup> )  |
| $Pro^-$          | : Ionized propionic acid concentration (M)   |
| $CO_2$           | : Carbon dioxide concentration in the liquid phase (mol.L <sup>-1</sup> )                                  |
| $CO_{2,gas}$     | : Carbon dioxide concentration in gas phase (M)  |
| $D$              | : Dilution rate (d <sup>-1</sup> )   |
| $D_{out}$        | : Factor for dilution rate (d <sup>-1</sup> )  |
| $Dif_i$          | : Diffusion coefficients of $H_2$ and $CO_2$   |
| $Glu$            | : Glucose concentration (g.L <sup>-1</sup> )   |
| $Glu_{in}$       | : Glucose concentration in the feeding (g.L <sup>-1</sup> )  |
| $H_2$            | : Hydrogen concentration in the liquid phase (g.L <sup>-1</sup> )  |
| $H_{2,gas}$      | : Hydrogen concentration in the gas phase (M)  |
| $Hac$            | : Unionized acetic acid concentration (M)  |
| $Hbu$            | : Unionized butyric acid concentration (M)   |
| $HCO_3^-$        | : Bicarbonate concentration (M) ( $HCO_3^- = CO_2 - CO_{2,dis}$ )  |
| $Hpro$           | : Unionized propionic acid concentration (M)   |
| $HRT$            | : Hydraulic retention time (d <sup>-1</sup> )  |
| $K$              | : Matrix of pseudo-stoichiometric coefficients   |
| $k_{A/B,i}$      | : Rate coefficient for the acid-base reaction (d <sup>-1</sup> )   |
| $K_{a,i}$        | : Acid-base equilibrium coefficient (M)  |
| $k_{de}$         | : Decay rate constant (d <sup>-1</sup> )   |
| $K_{Glu,i}$      | : Glucose half saturation parameter of the $i^{th}$ reaction (g.L <sup>-1</sup> )                          |
| $K_{H,i}$        | : Henry's law coefficient (M.bar <sup>-1</sup> )   |
| $K_{ij}$         | : Coefficients of the pseudo-stoichiometric matrix (g/g-glucose except for $CO_2$ , mol/g-glucose)         |
| $k_La$           | : Overall mass transfer coefficient (d <sup>-1</sup> )   |
| $P_{atm}$        | : Atmospheric pressure (bar)   |
| $p_{gas,i}$      | : Partial pressure of component $i$ (bar)  |
| $p_{vap,H_2O}$   | : Water pressure (bar)   |
| $q_{CO_2,gas}$   | : Carbon dioxide gas flow rate (mol.d <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> )                                     |
| $q_{gas}$        | : Total gas flow rate (L.d <sup>-1</sup> )   |
| $q_{H_2,gas}$    | : Hydrogen gas flow rate (g.d <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> )   |
| $Q_{in}$         | : Input liquid flow rate (L.d <sup>-1</sup> )  |
| $r$              | : Vector of the growth rates of the biological reactions involved (in g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) |
| $R$              | : Ideal gas constant (bar.K <sup>-1</sup> .M <sup>-1</sup> )   |
| $S_{in}$         | : Substrate concentration in the feeding (g.L <sup>-1</sup> )  |
| $T_{react}$      | : Reactor temperature (K)  |
| $V_{gas}$        | : Volume of the gas phase (L)  |
| $V_{liq}$        | : Working volume of the reactor (L)  |
| $X$              | : Biomass concentration (g.L <sup>-1</sup> )   |
| $\mu_{max,i}$    | : Monod maximum specific growth rate of the $i^{th}$ reaction (d <sup>-1</sup> )                           |
| $\rho_{A/B} B^-$ | : Production rate of $B^-$ (M.d <sup>-1</sup> )  |
| $\rho_{T,i}$     | : Specific mass transfer rate of gas $i$ (M.d <sup>-1</sup> )  |



### Physicochemical constants

|                  |   |
|------------------|---|
| $Dif_{H_2}$      | : 4.65 m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>                         |
| $Dif_{CO_2}$     | : 1.98 m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>                         |
| $K_{a,Ace}$      | : 1.51×10 <sup>-8</sup> M                                     |
| $K_{a,Bu}$       | : 1.74×10 <sup>-5</sup> M                                     |
| $k_{A/B,i}$      | : 1×10 <sup>8</sup> d <sup>-1</sup>                           |
| $K_{a,CO_2}$     | : 4.94×10 <sup>-7</sup> M                                     |
| $K_{a,Pro}$      | : 1.32×10 <sup>-5</sup> M                                     |
| $K_{H,CO_2}$     | : 0.0271 M.d <sup>-1</sup>                                    |
| $K_{H,H_2}$      | : 7.38×10 <sup>-4</sup> M.d <sup>-1</sup>                     |
| $k_{i,a_{CO_2}}$ | : 2000 d <sup>-1</sup>  |
| $k_{i,a_{H_2}}$  | : 3065 d <sup>-1</sup>  |
| $P_{atm}$        | : 1.013 bar   |
| $P_{vap,H_2O}$   | : 0.0557 bar  |
| $R$              | : 8.314×10 <sup>-2</sup> bar.K <sup>-1</sup> .M <sup>-1</sup> |
| $T_{react}$      | : 310 K   |

## IV.1 INTRODUCTION

One of the great challenges of the new century is to obtain a new source of renewable energy, capable of replacing fossil fuels. Hydrogen is a promising hope because of its great calorific value, *i.e.*, 122 kJ.g<sup>-1</sup>. Unfortunately, even though biological processes have shown strong potentialities for sustainable H<sub>2</sub> production, hydrogen is presently mainly produced from the reforming of fossil materials (90% of world production, 45 billion Tons) with a high level of pollution generated, *i.e.*, 10 Tons CO<sub>2</sub>.Ton<sup>-1</sup> (Maddy *et al.* 2003).

Hydrogen can be produced by micro-organisms using two enzymes (*i.e.*, hydrogenase and nitrogenase) active in their metabolic pathways. However, up to now, the microbial production of hydrogen has still a low efficiency for substrate conversion, ranging between 16 and 45% (Das and Veziroglu, 2001).

The involved processes can be classified into three main classes: biophotolysis, photodecomposition and acidogenic fermentation of carbohydrates (acidogenesis). The two first processes are photobiological (*i.e.*, light is needed) while the acidogenesis step presents several advantages, such as a production yield higher than those obtained with photobiological processes and the capacity of working all day long (*i.e.*, even with no light). In addition, its growth rate is greater than in the other processes and it allows one to use waste and wastewater as substrates (see for example Kapdan and Kargi (2006), Liu *et al.* (2006), Ueno *et al.* (2007), Nishio and Nakashimada (2007)).

The main species identified as responsible for the biological hydrogen production during the acidogenesis of the carbohydrates are *Enterobacter*, *Bacillus* and *Clostridium* (Hawkes *et al.* 2002). Table III.9 shows some of the reactions associated to hydrogen production assuming a biomass composition equivalent to  $C_4H_7O_2N$  as it is often done in the literature (see for example Chen *et al.* (2006)).

**Table III.9** Examples of acidogenesis reactions with biomass production under anaerobic conditions

| Reactions  |
|--|
| (1) $C_6H_{12}O_6 + 1.07H_2O + 0.28NH_3 \rightarrow 0.28C_4H_7O_2N + 1.63C_2H_4O_2 + 3.26H_2 + 1.63CO_2$                                 |
| (2) $C_6H_{12}O_6 + 1.63H_2 + 0.28NH_3 \rightarrow 0.28C_4H_7O_2N + 1.63C_3H_6O_2 + 2.18H_2O$  |
| (3) $C_6H_{12}O_6 + 0.22NH_3 \rightarrow 0.22C_4H_7O_2N + 0.85C_4H_8O_2 + 1.71H_2 + 1.71CO_2 + 0.45H_2O$                                 |
| (4) $C_6H_{12}O_6 + 0.26NH_3 \rightarrow 0.26C_4H_7O_2N + 0.54C_2H_4O_2 + 0.54C_3H_6O_2 + 0.28C_4H_8O_2 + 1.11CO_2 + 1.11H_2 + 0.52H_2O$ |
| (5) $C_6H_{12}O_6 + 0.11NH_3 \rightarrow 0.11C_4H_7O_2N + 1.43C_2H_4O_2 + 0.06C_3H_6O_2 + 0.5C_4H_8O_2 + 0.53CO_2 + 0.74H_2O$            |

The pH is a key factor for hydrogen production because a pH lower than 5 can induce bacterial sporulation or solvatogenesis. Theoretically, it has been shown that products yields change with pH (Rodriguez *et al.* 2005). Fang and Liu (2002) studied the effects of pH between 4 and 7, for a volumetric loading rate of  $28 \text{ g-glucose} \cdot L^{-1}d^{-1}$  and they found the pH being optimal when close to 5.5. Other studies have analyzed the effects of hydraulic retention time (*HRT*) with substrates such as sucrose (Ueno *et al.* 1996; Chen and Lin, 2003) and glucose (Lin and Chang, 1999) in constant concentrations in the influent. They showed that the hydrogen production increases with the reduction of *HRT* until a limit value of 2 hours. Recently, van Ginkel and Logan (2005) demonstrated that *HRT* was a parameter more significant than the applied volumetric load to increase the  $H_2$  production.

Several approaches were developed to model anaerobic bio-hydrogen production, like kinetic study using the modified Gompertz equation (Chen *et al.* 2006; Mu *et al.* 2007), the modified Monod equation (Chen *et al.* 2006; Zheng and Yu, 2005; Lin *et al.*, 2007) and dual-substrate kinetics (Whang *et al.* 2006) to model steady states. In this dual-substrate study, glucose and peptone were used as substrates. This model was accurate to predict the biomass concentration since biomass growth depends mainly on glucose and nitrogen concentrations. A last approach adapted a model previously developed for complete anaerobic digestion (*i.e.*, ADM1, the anaerobic digestion model #1 from IWA – Batstone *et al.* 2002). However, the fitting of the experimental data was not very accurate for both the bio-hydrogen production and the intermediates concentrations in the liquid phase (Peiris *et al.* 2005). One way to go

further in the modeling of hydrogen production is to use a variable product stoichiometry in the anaerobic digestion reaction network. As an illustration, Rodriguez *et al.* (2005) converted the ADM1 model in mol.L<sup>-1</sup> (instead of g<sub>COD</sub>.L<sup>-1</sup>) and predicted the product formation by maximizing the biomass growth in the metabolic network constrained by the thermodynamic feasibility in different environmental conditions. Variable biomass yields could thus be obtained for a broad range of pH, hydrogen pressure and substrate concentration in steady state operation of the reactor. In dynamic situations, however, the advantage of using variable stoichiometry was not so clearly demonstrated since simulations were close to those obtained using a fixed stoichiometry model and no experimental data were available to validate the approach (Rodriguez *et al.* 2006).

The present study has, as main objectives, to develop a dynamic model that (i) accurately represents anaerobic hydrogen production from wastewater, both in steady state (like other models) and in transitory states, and (ii) is simple enough (in terms of mathematical complexity) to be further used in closed loop control schemes that can be applied to optimize biohydrogen production.

## **IV.2 MATERIALS AND METHODS**

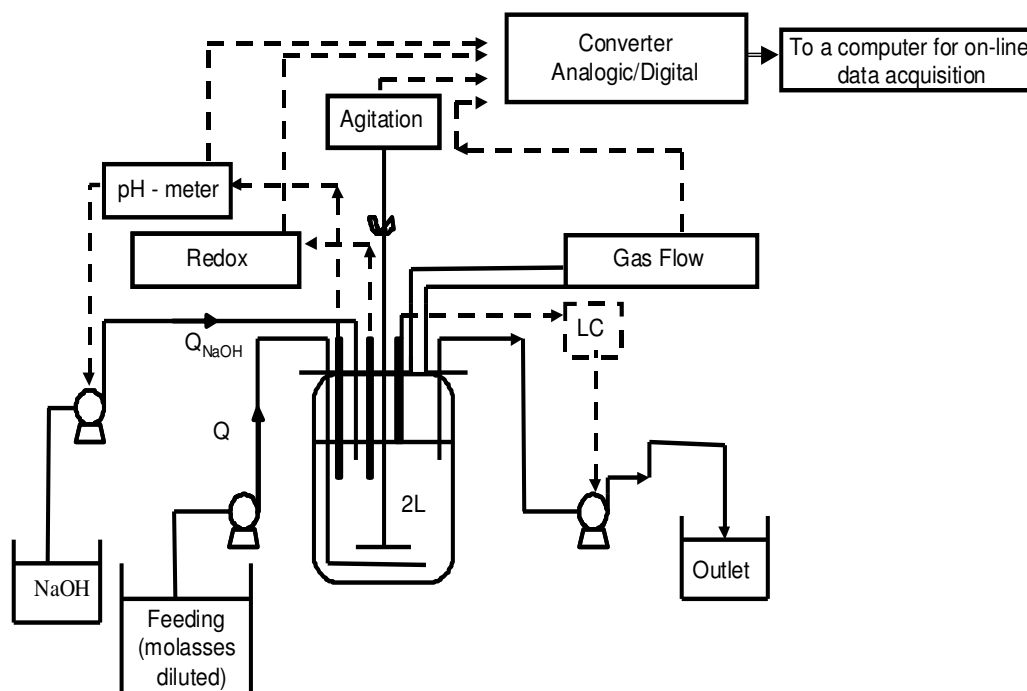
### **IV.2.1 Medium**

Raw molasses resulting from the industrial sugarbeet production were used as feeding substrate. They were diluted to concentrations ranging from 7 to 20.09 g.L<sup>-1</sup> by adding a nutritional medium rich in minerals and containing (in mg.L<sup>-1</sup>): MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 150; NaCl, 1000; ZnCl<sub>2</sub>, 10; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 25; NH<sub>4</sub>Cl, 1000; CoCl<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O, 5; CuCl<sub>2</sub>, 5; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 10; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 150; NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20; MnCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20.

### **IV.2.2 Reactor Design**

Experiments were carried out in a continuous stirred tank reactor (Setric) of 2 L with a useful volume of 1200 ml (See Figure III.16). The reactor was equipped with a stirring system made of a Rushton turbine (on the top) and a marine propeller (on the bottom) in order to ensure a homogeneous mixture and an important agitation. A revolution counter was connected to access to the measurement of the stirring velocity. Stirring velocity was maintained at 300 rpm. Two additional sensors were connected to the reactor for measuring the redox potential

(Pt 4805 - DXK-S8/225, Mettler Toledo) and pH (4010/120/Pt100, Mettler Toledo). The pH-meter (2300, Ingold) and the transmitter for redox potential (Mettler Toledo) were connected to a computer for on-line data acquisition. The pH was controlled at 5.5 by adding NaOH (2 M) with a peristaltic pump. Temperature in the reactor was also controlled using a platinum probe Pt100 and a heating electric resistance. The temperature of the culture media was maintained at 37 °C. The quantity of NaOH added and the temperature were also recorded on-line.



**Figure III.16** Schematic view of the continuous reactor used in the present study

### IV.2.3 Off-line measurements

Gas composition was analyzed using a gas chromatograph (GC-14A, Shimadzu, colon CTR I, Alltech) with the following operating conditions: carrier gas, argon; gas flow, 30 mL.min<sup>-1</sup>; temperature of the injector, 100 °C; column temperature 35 °C; initial catarometer intensity 80mA.

Composition of volatile fatty acids (VFA) in the liquid phase, *i.e.*, acetic acid (*Ace*), propionic acid (*Pro*), butyric (*Bu*), and valeric acids, were determined by liquid injection into a gas chromatograph (GC 8000, Fisons Instruments). Operating conditions were as follows: carrier gas, nitrogen; pressure of 335 KPa; temperature of the injector, 250 °C; temperature of the detector, 275 °C; temperature gradient for heating, 80 to 120 °C with levels of 10 °C by minute.

The residual absence or presence of sugar and other bioproducts such as organic acids (lactate), ethanol or acetone was confirmed by a HPLC (colon HPx 87H, BioRad). Operating conditions were: temperature of column, 35 °C; temperature of refratometer, 40 °C.

The biomass was determined through the volatile suspended solid (VSS) concentration measured according to the standard method of the APHA (1995).

#### IV.2.4 Inoculum preparation

The inoculum was prepared with one liter of sludge taken from a pilot-scale fixed bed digester of 1 m<sup>3</sup> working volume and used for several years for the anaerobic treatment of wine distillery wastewater. The sludge was centrifuged for 15 minutes at 17700 g. The reactor was stripped with nitrogen for 15 minutes before continuous feeding during four days with a retention time of 6 h and a pH equal to 5.5. Finally, it was boiled at 98 °C during 30 min.

#### IV.2.5 Experimental conditions

The operating conditions applied during the experiments are showed in Table III.10 where  $S_{in}$ ,  $Q_{in}$ ,  $HRT$  and  $OLR$  represent respectively the feeding concentration in the influent, the input liquid flow rate, the hydraulic retention time ( $HRT=V/Q_{in}$ ,  $V$  being the working volume in the reactor) and the organic loading rate ( $OLR=Q_{in}\cdot S_{in}/V$ ). These conditions consisted in step changes of the organic loading rate and hydraulic retention time applied to the reactor (see Figure III.17).

**Table III.10** Operating conditions applied during the course of the experiments

| Time of changes<br>(days) | $S_{in}$<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | $Q_{in}$<br>(L.d <sup>-1</sup> ) | $HRT$<br>(days) | $OLR$<br>(g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) |
|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------|--|
| 0                         | 9.35                             | 3.4                              | 0.35            | 26.49  |
| 4.042                     | 9.35                             | 4.5                              | 0.27            | 35.06  |
| 10.208                    | 14.02                            | 4.5                              | 0.27            | 52.58  |
| 12.042                    | 14.49                            | 5.9                              | 0.20            | 71.24  |
| 14.317                    | 7.01                             | 4.5                              | 0.27            | 26.29  |
| 17.062                    | 18.69                            | 4.1                              | 0.29            | 63.86  |
| 19.021                    | 0.00                             | 0.0                              | -               | -  |
| 19.319                    | 18.69                            | 4.5                              | 0.27            | 70.09  |
| 19.875                    | 20.09                            | 5.0                              | 0.24            | 83.71  |
| 20.875                    | 20.09                            | 5.0                              | 0.24            | 83.71  |

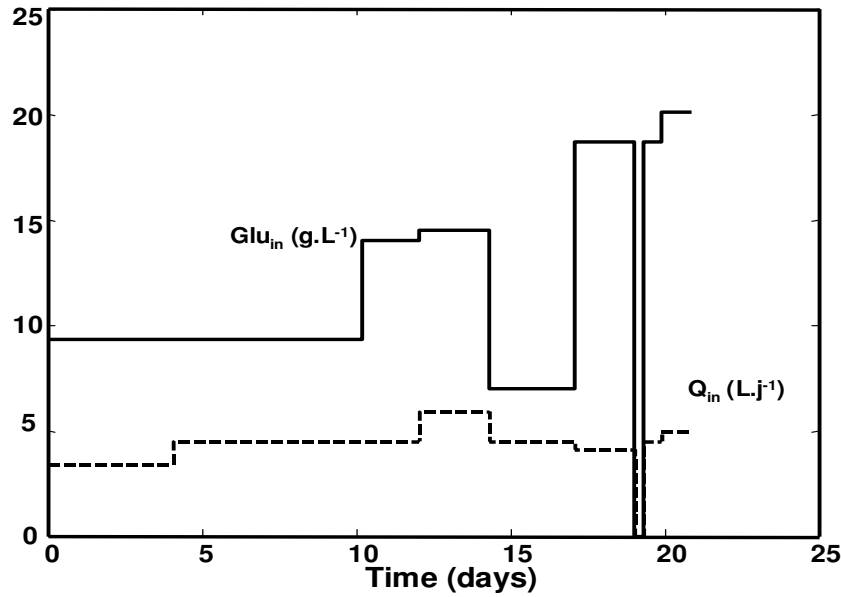


Figure III.17 Dynamic inputs applied to the process during the course of the experiments

## IV.3 MATHEMATICAL MODEL

### IV.3.1 Structure of Biochemical Reactions

A general mass balance model of a continuous stirred tank reactor fed with glucose, (*i.e.* molasses contain only sugars: sucrose, fructose and glucose (Tanisho and Ishiwata, 1995)) and producing acetate, propionate, butyrate, biomass, carbon inorganic (*i.e.*,  $CO_2$ ,  $HCO_3^-$ , etc.) and hydrogen from sucrose uptake performed by a single micro-organism can be written according to equation (1):

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} Glu \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix} = K \cdot r - D \begin{bmatrix} Glu - Glu_{in} \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ q_{CO_2,gas} \\ q_{H_2,gas} \end{bmatrix} \quad (1)$$

where  $Glu$ ,  $Ace$ ,  $Pro$ ,  $Bu$ ,  $X$ ,  $CO_2$  and  $H_2$  represent, respectively, the concentrations in  $g.L^{-1}$  of glucose, acetate, propionate, butyrate, biomass, carbon dioxide and dissolved hydrogen in the liquid phase. The vector  $r$  describes the kinetics of the involved biological reactions (in  $g.L^{-1}.d^{-1}$ ),  $D$  is the dilution rate ( $d^{-1}$ ) and  $q_{CO_2,gas}$  and  $q_{H_2,gas}$  the gas flow rates of carbon dioxide and hydrogen expressed in  $g.d^{-1}.L^{-1}$ .  $K$  represents the matrix of pseudo-stoichiometric coefficients.

In a previous study (Aceves-Lara *et al.* 2006), the influence of the operational conditions such as pH in the reactor (between 5.5 and 6), agitation of the liquid phase (between 150 and 300 rpm) and *HRT* (between 6 to 14 hours) on hydrogen production from molasses was investigated in steady states. In the present study, dynamic evolution of hydrogen production is studied around a pH of 5.5, a retention time of 6 h and an agitation speed of 300 rpm, which were the operating conditions to obtain a maximum hydrogen production rate.

The mathematical analysis of the experimental data previously obtained in steady states with changes of pH, agitation and *HRT* revealed that only two reactions could explain 89 % of the total variance of the experimental data. Moreover, adding a third reaction would account for only 10 % of the variance of the experimental data which is lower than the  $100/7 = 14$  % of the variance of each state variable (model (1) indeed contains 7 state variables). The reaction pathway could thus be reduced to two reactions. As a consequence, the vector  $r$  is assumed in the following to be of dimension 2 and  $K$ , the matrix of the pseudo-stoichiometric coefficients is of dimension  $7 \times 2$  and its structure is:

$$K = \begin{bmatrix} -K_{11} & -K_{12} \\ 0 & K_{22} \\ K_{31} & K_{32} \\ K_{41} & K_{42} \\ K_{51} & K_{52} \\ K_{61} & K_{62} \\ K_{71} & 0 \end{bmatrix}$$

It is important to emphasize that this structure (*i.e.*,  $K_{21} = K_{72} = 0$ ) is the only one that allowed us to obtain realistic values for all  $K_{ij}$  (*i.e.*,  $K_{ij} \geq 0$ ).

Finally, the vector  $r$  is composed of the specific growth rate (assumed to be represented by Monod mathematical expressions) multiplied by the biomass concentration in the reactor.

$$r = \begin{bmatrix} \frac{\mu_{\max,1} Glu}{K_{Glu1} + Glu} \\ \frac{\mu_{\max,2} Glu}{K_{Glu2} + Glu} \end{bmatrix} X$$

### IV.3.2 Physicochemical Processes

The physicochemical processes (*i.e.*, the exchange of ions and the gas-liquid transfer) are important aspects that are considered in the present model. They are represented by a system of differential equations.

### IV.3.2 - a Acid-base reactions

The acid-base equilibrium reactions are modeled by the following differential equations:

$$\frac{dAce^-}{dt} = -\rho_{A/B Ace^-} \quad (2a)$$

$$\frac{dPro^-}{dt} = -\rho_{A/B Pro^-} \quad (2b)$$

$$\frac{dBu^-}{dt} = -\rho_{A/B Bu^-} \quad (2c)$$

$$\frac{dHCO_3^-}{dt} = -\rho_{A/B CO_2} \quad (2d)$$

where

$$\rho_{A/B Ace^-} = k_{A/B Ace^-} (Ace^- \cdot H^+ - K_{a,Ace} \cdot H Ace)$$

$$\rho_{A/B Pro^-} = k_{A/B Pro^-} (Pro^- \cdot H^+ - K_{a,Pro} \cdot H Pro)$$

$$\rho_{A/B Bu^-} = k_{A/B Bu^-} (Bu^- \cdot H^+ - K_{a,Bu} \cdot H Bu)$$

$$\rho_{A/B CO_2} = k_{A/B CO_2} (HCO_3^- \cdot H^+ - K_{a,CO_2} \cdot CO_2)$$

### IV.3.2 - b Gas phase

The differential equations for the gas phase with a constant gas volume are:

$$\frac{dCO_{2,gas}}{dt} = -\frac{CO_{2,gas} q_{gas}}{V_{gas}} + \rho_{T,CO_2} \frac{V}{V_{gas}} \quad (3a)$$

$$\frac{dH_{2,gas}}{dt} = -\frac{H_{2,gas} q_{gas}}{V_{gas}} + \rho_{T,H_2} \frac{V}{V_{gas}} \quad (3b)$$

with

$$\rho_{T,H_2} = k_L a_{H_2} (H_2 - 2K_{H,H_2} p_{gas,H_2})$$

$$\rho_{T,CO_2} = k_L a_{CO_2} (CO_2 - K_{H,CO_2} p_{gas,CO_2})$$

$$k_L a_{H_2} = k_L a_{CO_2} \left( \frac{Dif_{H_2}}{Dif_{CO_2}} \right)^{1/2}$$

$$q_{gas,T} = \frac{RT}{P_{atm} - p_{vap,H_2O}} V \left( \frac{\rho_{T,H_2}}{2} + \rho_{T,CO_2} \right)$$

$$p_{gas,H_2} = \frac{H_{2,gas} R^* T_{react}}{2}$$



$$P_{gas,CO_2} = CO_{2,gas} R * T_{react}$$

The term  $V/V_{gas}$  is required since the gas transfer kinetic rate is liquid volume specific. The pressure of each gas component can be calculated using the ideal gas law for the two gases (in bar, factors in denominators are  $g.L^{-1}$  equivalent for  $H_2$  and  $mol.L^{-1}$  for  $CO_2$ ).  $R$  is the ideal gas constant ( $bar.K^{-1}.M^{-1}$ ) and  $T_{react}$  is the reactor temperature (K).  $Dif_{H_2}$  and  $Dif_{CO_2}$  are the diffusion coefficients of  $H_2$  and  $CO_2$  respectively.

This model has some differences with respect to acidogenesis of carbohydrates in structured models such as ADM1. Only one biomass is indeed here assumed for the two biological reactions while in ADM1, a specific biomass is responsible of each reaction. Moreover, the specific growth rate is here not inhibited by the pH nor by inorganic nitrogen limitation. Finally, valeric acid is not considered since it was measured as very close to 0 during the course of the performed experiments.

## IV.4 RESULTS

### IV.4.1 Estimation of yield coefficients

Table III.11 shows the experimental data that were obtained when applying the operating conditions described in Table III.10. Estimation of the coefficients of the pseudo-stoichiometric matrix  $K$  was made using data close to equilibrium (indicated with *eq* as exponent in Table III.8) according to the method proposed by Bernard and Bastin (2004).

**Table III.11** Experimental data obtained when applying operating conditions described in Table III.10 (<sup>eq</sup> indicates data near to equilibrium).

| Days                | <i>Glu</i><br>g.L <sup>-1</sup> | <i>Ace</i><br>g.L <sup>-1</sup> | <i>Pro</i><br>g.L <sup>-1</sup> | <i>Bu</i><br>g.L <sup>-1</sup> | <i>Biomass</i><br>g.L <sup>-1</sup> | <i>CO</i> <sub>2</sub><br>% | <i>H</i> <sub>2</sub><br>% | <i>q</i> <sub>CO2</sub><br>mL.h <sup>-1</sup> | <i>q</i> <sub>H2</sub><br>mL.h <sup>-1</sup> |
|---------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|--|
| 0.00                | 5.43                            | 0.35                            | 0.14                            | 0.12                           | 0.19                                | 40                          | 60                         | 4   | 7  |
| 2.96 <sup>eq</sup>  | 0.02                            | 0.93                            | 0.02                            | 2.31                           | 1.81                                | 47                          | 53                         | 212   | 244  |
| 4.00 <sup>eq</sup>  | 0.02                            | 0.92                            | 0.02                            | 2.90                           | 1.31                                | 46                          | 54                         | 206   | 242  |
| 4.92 <sup>eq</sup>  | 0.04                            | 0.93                            | 0.02                            | 2.56                           | 1.42                                | 45                          | 55                         | 271   | 329  |
| 5.92 <sup>eq</sup>  | 0.01                            | 0.98                            | 0.02                            | 2.72                           | 1.39                                | 45                          | 55                         | 266   | 321  |
| 11.25 <sup>eq</sup> | 0.12                            | 1.75                            | 0.03                            | 3.83                           | 1.50                                | 46                          | 54                         | 447   | 527  |
| 11.96 <sup>eq</sup> | 0.12                            | 1.71                            | 0.03                            | 3.42                           | 1.39                                | 46                          | 54                         | 434   | 505  |
| 12.93 <sup>eq</sup> | 0.21                            | 1.92                            | 0.04                            | 3.73                           | 1.35                                | 46                          | 54                         | 497   | 591  |
| 13.92 <sup>eq</sup> | 0.19                            | 1.81                            | 0.03                            | 3.73                           | 1.26                                | 46                          | 54                         | 494   | 590  |
| 17.02               | 0.000                           | 0.88                            | 0.02                            | 1.87                           | 0.71                                | 44                          | 56                         | 215   | 276  |
| 18.17               | 7.00                            | 1.45                            | 0.05                            | 2.36                           | 0.99                                | 45                          | 55                         | 476   | 582  |
| 18.94               | 3.64                            | 1.90                            | 0.04                            | 3.25                           | 1.27                                | 46                          | 54                         | 502   | 597  |
| 19.28               | 0.45                            | 2.70                            | 0.05                            | 4.94                           | 1.58                                | 49                          | 51                         | 26  | 27   |
| 19.94               | 11.96                           | 2.89                            | 0.06                            | 2.25                           | 0.47                                | 42                          | 58                         | 466   | 654  |
| 20.93               | 2.28                            | 2.13                            | 0.01                            | 4.65                           | 0.52                                | 46                          | 54                         | 652   | 764  |

In steady state, equation (1) is equal to

$$K \cdot r = U \quad (4)$$

$$\text{where } U = D \begin{bmatrix} Glu - Glu_{in} \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ C_i \\ H_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ q_{C_i} \\ q_{H_2} \end{bmatrix}$$

The optimization problem can be written as

$$\min(Ker(K^T)^T U) \quad (5)$$

with the following constraint

$$0 \leq K_{ij} \leq 1$$

where  $Ker(K)$ , the null space of  $K$  is,

$$Ker(K^T) = \left\{ \begin{array}{l} \begin{pmatrix} K_{41} \\ K_{41} - K_{42} \\ K_{22} \\ 0 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} K_{61} \\ K_{61} - K_{62} \\ K_{22} \\ 0 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} K_{31} \\ K_{31} - K_{32} \\ K_{22} \\ 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} K_{51} \\ K_{51} - K_{52} \\ K_{22} \\ 0 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} K_{71} \\ K_{71} \\ K_{22} \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} \end{array} \right\}$$

Constraints on  $K_{ij}$  were incorporated to avoid negative values of the yield coefficients. It is important to emphasize that this method is independent of the reaction rates. As a consequence, there is no identifiability problem generated for the parameters involved in the reaction rates. The estimated numerical values are the following:

$$\begin{bmatrix} K_{11} & K_{12} \\ 0 & K_{22} \\ K_{31} & K_{32} \\ K_{41} & K_{42} \\ K_{51} & K_{52} \\ K_{61} & K_{62} \\ K_{71} & 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ 0 & 0.2421 \\ 0 & 0.0047 \\ 0.3345 & 0.1984 \\ 0.2510 & 0 \\ 0.0108 & 0.0037 \\ 0.0285 & 0 \end{bmatrix}$$

One can notice that the biomass growth is associated only with the reaction that produces hydrogen, carbon dioxide and butyrate (*i.e.*,  $K_{51}=0.2510$  while  $K_{52}=0$ ). On the other hand, the second reaction produces primarily acetate and butyrate (*i.e.*,  $K_{22}=0.2421$  and  $K_{42}=0.1984$ ) with only small quantities of propionate and carbon dioxide (*i.e.*,  $K_{32}=0.0047$  and  $K_{62}=0.0037$ ) and without any hydrogen production nor biomass growth (*i.e.*,  $K_{52}=K_{72}=0$ ). This seems to indicate that the second reaction is mainly catalyzed by the biomass but not associated to biomass growth. Moreover, this pseudo-stoichiometric is in line with the postulate of Thauer on the fact that hydrogen is mainly produced through the butyrate pathway, since the acetate is not favored from an energetic point of view (Thauer *et al.* 1977). On the other hand, the acetate production can be explained from the consumption of CO<sub>2</sub> and hydrogen.

In order to further analyze these results, Table III.9 was transformed into the component equivalents in g.L<sup>-1</sup>, assuming that NH<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O are not limiting compounds (see Table III.12). It is quite remarkable to notice that reaction (3) from Table III.12 has almost the same values as the first column of  $K$  pseudo-stoichiometric matrix. Moreover, the obtained stoichiometric coefficients of the second column of the  $K$  matrix are similar to those of reaction (5) of Table III.12, but with differences in biomass and propionate production. These differences can be explained because a low propionate production was always obtained during our experiments.

**Table III.12** Stoichiometric coefficients of the reactions described in Table III.9 and expressed in g/g-glucose except for CO<sub>2</sub> in mol/g-glucose

|                  | Reaction<br>(1) | Reaction<br>(2) | Reaction<br>(3) | Reaction<br>(4) | Reaction<br>(5) |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Glucose          | -1              | -1              | -1              | -1              | -1              |
| Acetate          | 0.5438          | 0               | 0               | 0.1813          | 0.4771          |
| Propionate       | 0               | 0.6708          | 0               | 0.2236          | 0.0247          |
| Butyrate         | 0               | 0               | 0.4161          | 0.1387          | 0.2448          |
| Biomass          | 0.1386          | 0.1386          | 0.1089          | 0.1287          | 0.0545          |
| Inorganic carbon | 0.0091          | 0               | 0.0095          | 0.0062          | 0.0029          |
| Hydrogen         | 0.0362          | -0.0181         | 0.0190          | 0.0124          | 0               |

Finally, the quality of the overall model was evaluated through dynamic simulations. The kinetic parameters of the specific growth rates (*i.e.*,  $K_{Glu,i}$  and  $\mu_{max,i}$ ) were manually adjusted to fit the transient evolutions and their values are indicated in Table III.13. Two different sets of simulation were then performed: (i) using the pseudo-stoichiometric matrix  $K$  and (ii) replacing these values by the exact stoichiometric coefficient of reaction (3) and (5) in Table

III.12. Others possibilities of reaction pathways were tried (*i.e.*, combination of reactions (1) and (3), (1) and (5), incorporating reaction (4), etc.) but the best results were obtained using only reactions (3) and (5).

**Table III.13** Kinetic coefficients using either a purely stoichiometric reaction pathway (*i.e.*, reactions (3) and (5) in Table III.12) or the pseudo-stoichiometric matrix.

|                                 | Using the stoichiometric coefficient in Table III.12 |              | Using the pseudo-stoichiometric matrix |                 |
|---------------------------------|--|--------------|--|-----------------|
|                                 | Reaction (3)   | Reaction (5) | First Reaction                         | Second reaction |
| $\mu_{\max}$ (d <sup>-1</sup> ) | 57   | 37.13        | 43.91                                  | 37.13           |
| $K_{Glu}$ (g.L <sup>-1</sup> )  | 0.08   | 0.20         | 0.18                                   | 0.22            |

#### IV.4.2 Simulations

Both models were implemented using the software Matlab<sup>®</sup> 6.5 and simulated with the above parameters and the operating conditions described in Table III.10. Two small additional changes were included to account for operating problems. Foam was indeed produced between 17.37 and 17.79 days. This affected the working volume of the reactor (due to the presence of foam, the output liquid flow rate was indeed higher than the input liquid flow rate) and it was modeled using, only during this period of time, a factor for dilution rate in the effluent, *i.e.*,  $D_{out} = 3.35 \text{ d}^{-1}$ . The second addition to the model was made between 19.0 to 19.3 days when feeding was stopped. A mortality coefficient was then added (*i.e.*,  $k_{de} = 18.79 \text{ d}^{-1}$ ) in the biomass equation which could be explained by spore formation caused by the batch mode of the reactor during this short period. Besides these two minor changes, all physical parameters were taken as identical to the standard values proposed in the ADM1 model (Batstone *et al.* 2002) while, assuming  $kla$  to be proportional to the power input per unit volume and accounting for gas diffusivity,  $k_{laH_2}$  and  $k_{laCO_2}$  were taken equal to  $3065 \text{ d}^{-1}$  and  $2000 \text{ d}^{-1}$ , respectively.

Figures III.18.a to III.18.e present the dynamic evolutions in the liquid phase (*i.e.*, sugar, individual VFAs and biomass concentrations) while Figures III.18.f to III.18.h illustrate the gas phase (*i.e.*, gas production and gas composition). One can notice that in general, both model are closely related and account very well for both the dynamic and steady states obtained experimentally over these 21 days (*i.e.*, more than 70 *HRT*s). However, the pseudo-stoichiometric model is better than the purely stoichiometric one in several occasions (see for example Figures III.18.c and III.18.d for propionic and butyric acids and Figures III.18.g and V.3.h for the gas composition).

Moreover, Figures III.18.g and III.18.h show that the best concentrations in hydrogen were obtained when the gas flow was low (see Figure III.18.f), that is during the start-up of the process or after stopping the feed flow for some time. This means that a high percentage of H<sub>2</sub> produced in the gas phase is not equivalent to a good productivity of the overall hydrogen production process.

During the best hydrogen productivity, the percentages of hydrogen and carbon dioxide were very constant and close to 56% and 44% respectively. The maximum hydrogen rate production obtained in our experimental conditions was 15.3 L.d<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> for a concentration of substrate equal to 20.09 g.L<sup>-1</sup> and  $Q_{in}$  of 5 L.d<sup>-1</sup>.

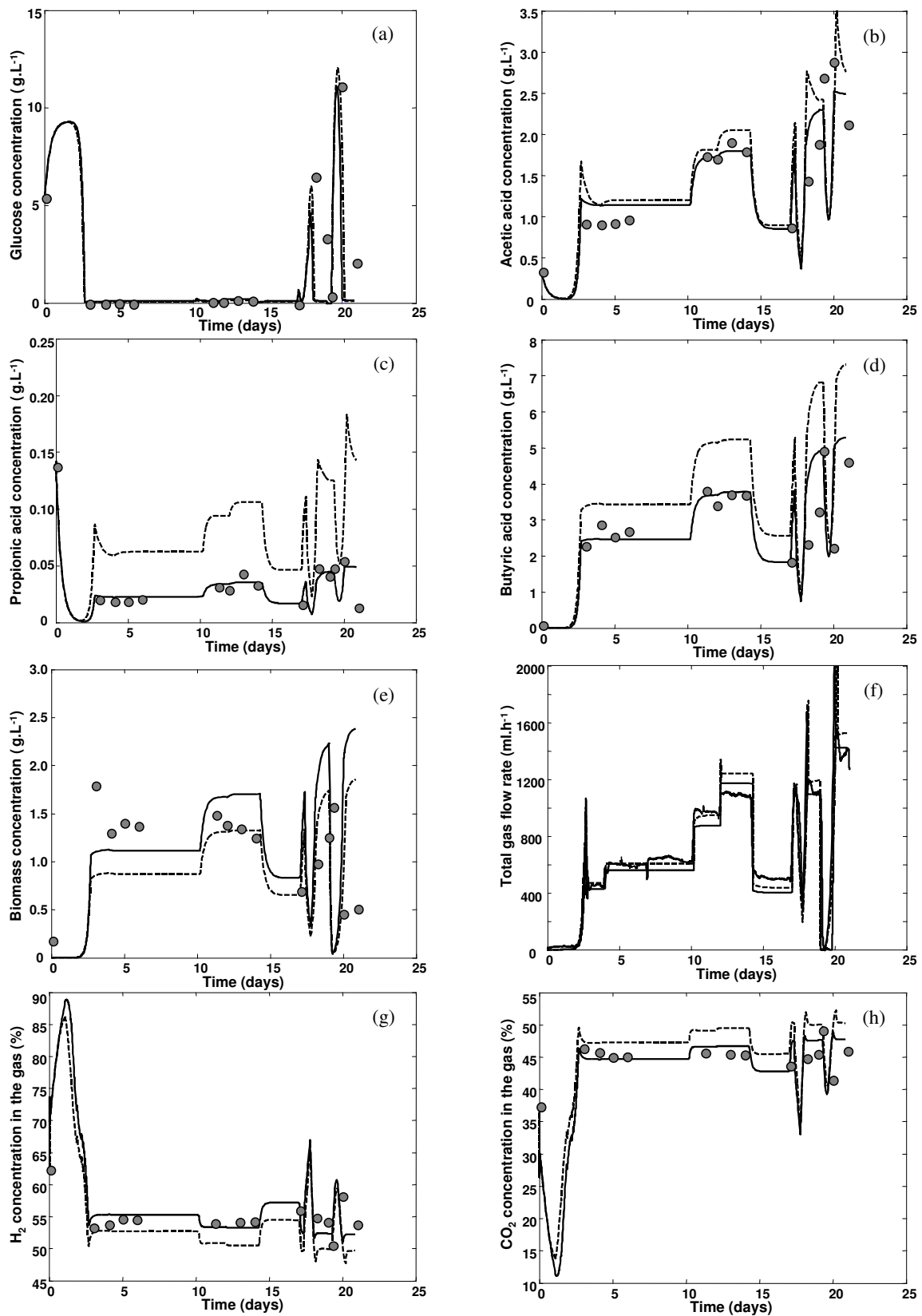
Steady-states obtained from the pseudo-stoichiometric model simulated for different *HRTs* and  $S_{in}$  were also compared with data available in the literature (see Table III.14). Simulations are shown in Figure III.19. It can be seen that the present model is quite realistic since simulated steady states are close to most of the literature data.

**Table III.14** Data of several authors (<sup>a</sup> Data from this reference were used only when biomass concentration was lower than  $S_{in}$ , that means  $HRT \approx$  Solid Retention Time)

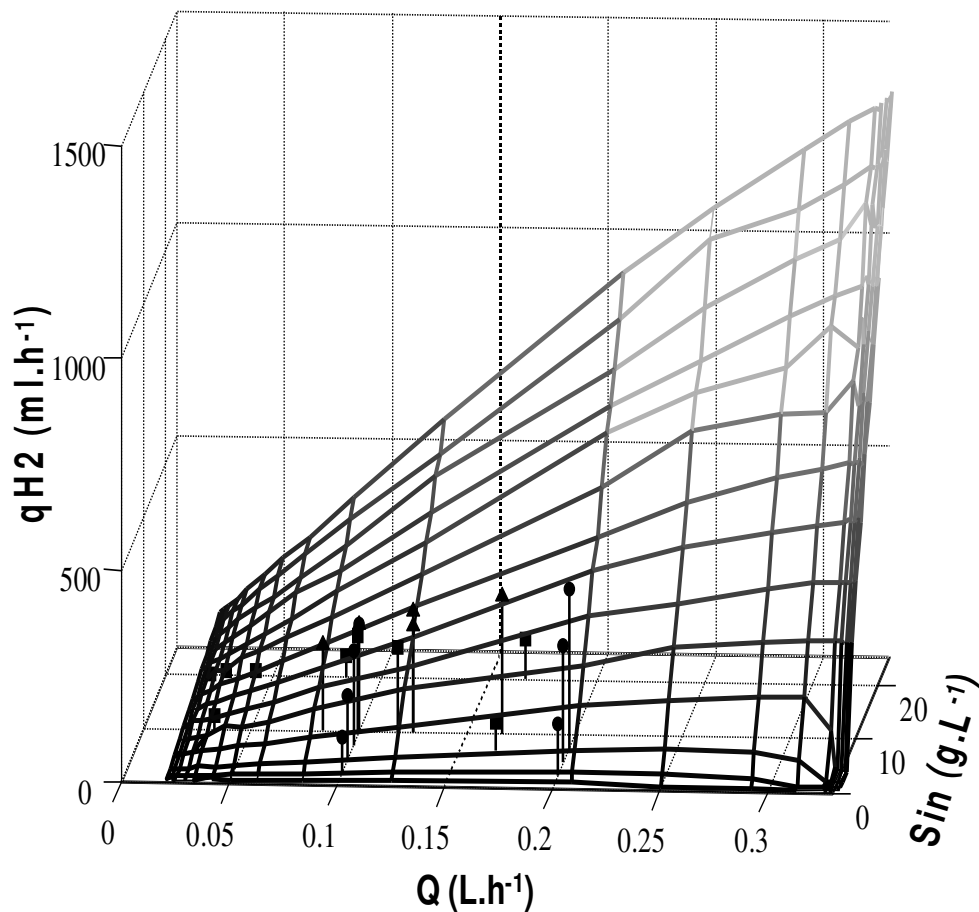
| <i>Reference</i>                         | $S_{in}$ | HRT | $q_{H_2}$ (ml.h <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> ) |
|--|----------|-----|--|
| Mizuno <i>et al.</i> (2000)              | 10       | 8.5 | 199  |
| Fang and Liu (2002)                      | 7        | 6   | 64   |
| Iyer <i>et al.</i> (2004)                | 9.5      | 10  | 232  |
|  | 9.5      | 30  | 40   |
|  | 20       | 48  | 4  |
| Lin and Chang (1999)                     | 20       | 36  | 10   |
|  | 20       | 24  | 14   |
|  | 20       | 12  | 49   |
|  | 20       | 6   | 95   |
|  | 10       | 10  | 252  |
|  | 7.5      | 10  | 222  |
| van Ginkel and Logan (2005) <sup>a</sup> | 7.5      | 5   | 375  |
|  | 5        | 10  | 147  |
|  | 5        | 5   | 273  |
|  | 2.5      | 10  | 81   |
|  | 2.5      | 5   | 123  |
|  | 10       | 8   | 253  |
| Zhang <i>et al.</i> (2006)               | 10       | 6   | 324  |
|  | 10       | 8   | 288  |
|  | 10       | 10  | 255  |
|  | 10       | 12  | 206  |

Finally, this model should be considered as of minimal complexity to allow us to represent the experimental data, both in steady states and transient periods, but not as an exact and perfect explanation of the anaerobic biohydrogen production. Nevertheless, this macroscopic model

is very useful to determine closed loop control laws that can be applied in order to optimize the hydrogen production. This topic is presently being studied.



**Figure III.18** Dynamic evolutions of the main variables of the model (● Experimental data; — — Simulations using stoichiometric coefficients from reactions (3) and (5); — Simulations using the pseudo-stoichiometric coefficients of the  $K$  matrix)



**Figure III.19** Comparison of our mathematical model and experimental H<sub>2</sub> gas flow obtained in steady states as a function of the substrate input concentration and the hydraulic retention time. (• Data from van Ginkel and Logan (2005), ▲ Data from Zhang *et al.* (2006), ■ Data from other authors indicated in Table III.14)

## IV.5 CONCLUSION

Dynamic simple models are important in order to optimize biological process. In this work, a simple but accurate dynamic model of anaerobic biohydrogen production was proposed. Its pseudo-stoichiometric coefficients were estimated as very close to exact stoichiometric coefficients of two reactions usually involved in the biological pathway. The kinetics parameters were calibrated using experimental data from the fermentation of molasses. The simulations were shown to be capable to follow accurately the overall dynamic of the process, *i.e.*, the steady state and the transitory state. Moreover, this model highlighted that the best concentrations in hydrogen were obtained when the gas flow was low, that is during the start-up of the process or after stopping the feed flow for some time. It can thus be concluded that a

high percentage of H<sub>2</sub> produced in the gas phase is not necessarily equivalent to a good productivity of the overall hydrogen production process.

## **IV.6 ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors gratefully acknowledge the CONACyT (Mexico) for its financial support that made this study possible.

## **IV.7 REFERENCES**

- Aceves-Lara, C.A., Latrille, E., Conte, T., Bernet, N., Buffière, P. and J.-P. Steyer (2006) Optimization of Hydrogen Production in Anaerobic Digestion Processes. 16<sup>th</sup> World Hydrogen Energy Conference, Lyon, France, 13-16 June 2006, 6 pages on CDROM.
- APHA (1995). American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and waste-water. L.S. Clesceri, A.E. Greenberg and A.D. Eaton, Editors 18<sup>th</sup> edition.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W.T.M., Siegrist, H., Vavilin, V.A. (2002). Anaerobic Digestion Model No1 (ADM1), IWA Task Group for Mathematical Modelling of Anaerobic Digestion Processes. London: IWA Publishing.
- Bernard, O. and Bastin, G. (2004) Identification of reaction networks for bioprocesses: determination of a partially unknown pseudo-stoichiometric matrix. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 27(5), 293-301.
- Chen, C.C. and Lin, C.Y. (2003) Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor. *Advances in Environmental Research* 7(3), 695-699.
- Chen, X., Sun, Y., Xiu, Z., Li X. and Zhang D. (2006) Stoichiometric analysis of biological hydrogen production by fermentative bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy* 31(4), 539-549.
- Chen, W.H., Chen, S.Y., Kumar Khanal, S. and Sung, S. (2006) Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy* 31(15), 2170-2178.
- Das, D. and Veziroglu, T.N. (2001) Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy* 26(1), 13-28.
- Fang, H.H.P. and Liu, H. (2002) Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Technology* 82(1), 87-93.



- Hawkes, F., Dinsdale, R., Hawkes, D. and Hussy, I. (2002) Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. *International Journal of Hydrogen Energy* 27(11-12), 1339-1347.
- Iyer, P., Bruns, M.A., Zhang, H., van Ginkel, S. and Logan, B.E. (2004) H<sub>2</sub>-producing bacterial communities from a heat-treated soil inoculum. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 166–173.
- Kapdan, I.K. and Kargi, F. (2006) Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology* 38(5), 569-582.
- Lin, C.Y. and Chang, R.C. (1999) Hydrogen production during the anaerobic acidogenic conversion of glucose. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 74(6), 498-500.
- Lin, P.Y., Whang, L.M., Wu, Y.R., Ren, W.J., Hsiao, C.J., Li, S.L. and Chang, J.S. (2007) Biological hydrogen production of the genus *Clostridium*: Metabolic study and mathematical model simulation. *International Journal of Hydrogen Energy*. In Press, doi:10.1016/j.ijhydene.2006.12.009.
- Liu, D., Liu, D., Zeng, R.J., Angelidaki, I. (2006) Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. *Water Research* 40, 2230-2236.
- Maddy, J., Cherryman, S., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., Premier, G.C. and Cole, S. (2003) HYDROGEN 2003 Report Number 1 ERDF part-funded project entitled: “A Sustainable Energy Supply for Wales: Towards the Hydrogen Economy”. University of Glamorgan, 2003.
- Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L. and Noike, T. (2000) Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. *Bioresource Technology* 73(1), 59-65.
- Mu, Y., Yu, H.Q. and Wang, G. (2007) A kinetic approach to anaerobic hydrogen-producing process. *Water Research* 41(5), 1152-1160.
- Nishio, N. and Nakashimada, Y. (2007) Recent development of anaerobic digestion processes for energy recovery from wastes. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 103(2), 105-112.
- Peiris, B.R.H., Rathnasiri, P.G., Johansen, J.E., Kuhn, A. and Bakke, R. (2005) ADM1 with modifications for bio-hydrogen simulations. The First International Workshop on the IWA Anaerobic Digestion Model No1 (ADM1), Lyngby, Denmark, 105-112.

- Rodriguez, J., Kleerebezem, R., Lema, J.M. and van Loosdrecht, M.C.M. (2005) Modeling Product Formation in Anaerobic Mixed Culture Fermentations. *Biotechnology and Bioengineering* 93(3), 592-606.
- Rodriguez, J., Lema, J.M., van Loosdrecht, M.C.M. and Kleerebezem, R. (2006) Variable stoichiometry with thermodynamic control in ADM1. *Water Science & Technology* 54(4), 101–110.
- Tanisho, S. and Ishiwata, Y. (1995) Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as a support of flocks. *International Journal of Hydrogen Energy* 20(7), 541-545.
- Thauer, R.K., Jungermann, K. and Decker, K. (1977) Energy Conservation in chemotrophic anaerobic bacteria, *Bacteriological Reviews* 41(1), 100-180.
- Ueno, Y., Otsuka, S. and Morimoto, M. (1996) Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 82(2), 194-197.
- Ueno, Y., Tatara, M., Fukui, H., Makiuchi, T., Goto, M. and Sode, K. (2007) Production of hydrogen and methane from organic solid wastes by phase-separation of anaerobic process. *Bioresource Technology* 98(9), 1861-1865.
- Van Ginkel, S.W. and Logan, B. (2005) Increased biological hydrogen production with reduced organic loading. *Water Research* 39(16), 3819-3826.
- Whang, L.M., Hsiao, C.J. and Cheng, S.S. (2006) A dual-substrate steady-state model for biological hydrogen production in an anaerobic hydrogen fermentation process. *Biotechnology and Bioengineering* 95(3), 492-500.
- Zhang, Z.P., Show, K.Y., Tay, J.H., Liang, D.T., Lee, D.J. and Jiang, W.J. (2006) Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. *Process Biochemistry* 41(10), 2118-2123.
- Zheng, X.J. and Yu, H.Q. (2005) Inhibitory effects of butyrate on biological hydrogen production with mixed anaerobic cultures. *Journal of Environmental Management* 74(1), 65-70.



## V INPUT AND STATES ESTIMATIONS OF BIOHYDROGEN PRODUCTION

Les observateurs mathématiques représentent une alternative intéressante au manque de capteurs en ligne disponibles sur le marché pour le suivi des procédés biologiques. Nous avons ainsi développé un estimateur des états et de l'entrée dans le cadre de la production anaérobie d'hydrogène en utilisant un nombre minimal de capteurs en ligne.

L'estimateur d'état développé est un observateur asymptotique (*Cf.* section IV.2 du chapitre I) retenu pour ces avantages par rapport aux autres observateurs. En particulier, les observateurs classiques ne satisfont pas au critère de convergence globale et, dans notre cas, le rang de la matrice de l'équation IV.8 du chapitre I est égal à 4, alors qu'il aurait dû être égal à 7.

Par ailleurs, la concentration de l'alimentation à l'entrée de notre réacteur a été estimée à partir d'une modification de l'observateur asymptotique. Celle-ci a été faite en supposant que :

- le substrat est consommé dans sa totalité,
- la dynamique de consommation du substrat est très rapide (*i.e.*, l'état stationnaire est atteint rapidement),
- et les gaz dissous sont à l'équilibre avec la phase gaz.

Lors de la validation expérimentale, nous montrons que l'estimateur proposé pour la concentration de l'alimentation et l'observateur pour les états internes du procédé ont conduit à d'excellents résultats, ces "capteurs logiciels" pouvant ainsi être utilisés ultérieurement dans un schéma de commande en boucle fermée en remplacement des capteurs physiques.

# **Input and States Estimations of Biohydrogen Production**

Cesar-Arturo Aceves-Lara, Eric Latrille,  
Jean-Philippe Steyer

INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement,  
Avenue des Etangs, Narbonne, F-11100, France.

*Article présenté oralement à le 10<sup>th</sup> IFAC International Conference  
on "Computer Applications in Biotechnology", CAB2007,  
4-6 Juin 2007, Cancun, Mexique, pages 93-98.*

## **Abstract**

This paper addresses the problem of estimating simultaneously the states and the input concentrations of an acidogenic process used for biohydrogen production. This process is described by a nonlinear model. The input and states estimations were solved using a state transformation and an asymptotic observer. Finally, the method was tested with experimental data and its interest was demonstrated.

*Copyright © 2007 IFAC*

## **Keywords**

Biohydrogen production, input estimation, dynamic modeling, asymptotic observer.

## V.1 INTRODUCTION

One of the great challenges of the new century is to obtain a new source of renewable energy, capable of replacing fossil fuels. Hydrogen is a promising hope because of its great calorific value, i.e.,  $122 \text{ kJ.g}^{-1}$ . Unfortunately, even though biological processes have shown strong potentialities for sustainable  $\text{H}_2$  production, hydrogen is presently mainly produced from the reforming of fossil materials (90% of world production, 45 billion tons) with a high level of pollution generated, i.e.,  $10 \text{ tons CO}_2.\text{ton}^{-1}$  (Maddy *et al.*, 2003).

Hydrogen can be produced by micro-organisms using two enzymes (i.e., hydrogenase and nitrogenase) active in their metabolic pathways (Asada and Miyake, 1999). However, up to now, the microbial production of hydrogen has still a low efficiency for substrate conversion, ranging between 16 and 24% (Woodward *et al.*, 2000).

The involved processes can be classified into three main classes (Das and Veziroglu, 2001): biophotolysis, photodecomposition and acidogenic fermentation of carbohydrates (acidogenesis). The two first processes are photobiological (i.e., light is needed) while the acidogenesis step presents several advantages, such as a production yield higher than those obtained with photobiological processes and the capacity of working all day long (i.e., even with no light) (Das and Veziroglu, 2001).

In the acidogenic process, several perturbations can be present affecting the operating conditions and it is thus very important to have an efficient monitoring strategy. Unfortunately, only few measurements (i.e., the biogas flowrate and biogas composition) are usually available online limiting the control possibilities (Hawkes *et al.*, 2002). An interesting alternative is the use of observers for combined input (Theilliol *et al.*, 2003) and states estimation (Bastin and Dochain, 1990; Dochain, 2003). However, compared with state estimation, less research has been carried out on simultaneous estimation of the state of a dynamic system and its input (Ha and Trinh, 2004; Floquet and Barbot, 2006; Nordberg and Gustafsson, 2006; Pillonetto and Saccomani, *inpress*).

The present study has, as main objective, the on-line estimation of the influent concentration and of the output states of a bioreactor used for the biohydrogen production from wastewater. Practical evaluation of the estimation scheme will be also performed from experimental data.

## **V.2 MATERIALS AND METHODS**

### **V.2.1 Medium**

Molasses resulting from the industrial sugarbeet production were used as feeding substrate. They were diluted to concentrations ranging from 7 to 20 g.L<sup>-1</sup> by adding a nutritional medium rich in minerals and containing (in mg.L<sup>-1</sup>): MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 150; NaCl, 1000; ZnCl<sub>2</sub>, 10; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 25; NH<sub>4</sub>Cl, 1000; CoCl<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O, 5; CuCl<sub>2</sub>, 5; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 10; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 150; NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20; MnCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20.

### **V.2.2 Reactor Design**

Experiments were carried out in a continuous stirred tank reactor (Setric) of 2 L with a useful volume of 1200 ml. The reactor was equipped with a stirring system made of a Rushton turbine (on the top) and a marine propeller (on the bottom) in order to ensure a homogeneous mixture and an important agitation. A revolution counter was connected to access to the measurement of the stirring velocity. Stirring velocity was maintained at 300 rpm. Two additional sensors were connected to the reactor for measuring the redox potential (Pt 4805 - DXK-S8/225, Mettler Toledo) and pH (4010/120/Pt100, Mettler Toledo). The pH-meter (2300, Ingold) and the transmitter for redox potential (Mettler Toledo) were connected to a computer for on-line data acquisition. The pH was controlled at 5.5 by adding NaOH (2 M) with a peristaltic pump. Temperature in the reactor was also controlled using a platinum probe Pt100 and a heating electric resistance. The temperature of the culture media was maintained at 37°C. The quantity of NaOH added and the temperature were also recorded on-line.

### **V.2.3 Off-line measurements**

Gas composition was analyzed using a gas chromatograph (GC-14A, Shimadzu, colon CTR I, Alltech). Operating conditions: carrier gas, argon; gas flow, 30 mL/min; temperature of the injector, 100°C; column temperature 35°C; initial catarometer intensity 80mA.

Composition of volatile fatty acids (VFA) in the liquid phase, i.e., acetic (Ace), propionic (Pro), butyric (Bu) and valeric acids, were determined by liquid injection into a gas chromatograph (GC 8000, Fisons Instruments). Operating conditions were: carrier gas, nitrogen; pressure of 335 KPa; temperature of the injector, 250°C; temperature of the detector, 275°C; temperature gradient for heating, 80 to 120 °C with levels of 10°C per minute. The residual absence or presence of sugar and other bioproducts such as organic acids

(lactate), ethanol or acetone was confirmed by a HPLC (colon HPx 87H, BioRad). Operating conditions were: temperature of column, 35°C; temperature of refractometer, 40°C.

The biomass was determined through the volatile suspended solid (VSS) concentration measured according to the standard method (APHA, 1995).

### V.2.4 Inoculum preparation

The inoculum was prepared with one liter of sludge taken from a pilot-scale fixed bed digester of 1m<sup>3</sup> working volume and used for several years for the anaerobic treatment of wine distillery wastewater. The sludge was centrifuged for 15 minutes at 17700 g. The reactor was stripped with nitrogen for 15 minutes before continuous feeding during four days with a retention time of 6 h and a pH equal to 5.5. Finally, it was boiled at 98°C during 30 min.

### V.2.5 Experimental conditions

The operating conditions applied during the experiments are showed in Table III.15 where  $S_{in}$  and HRT represent respectively the feeding concentration in the influent and the hydraulic retention time ( $HRT=V/Q_{in}$ , V being the working volume in the reactor).

**Table III.15** Operating conditions

| Time of changes<br>(h) | $S_{in}$<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | HRT<br>(h) |
|------------------------|----------------------------------|------------|
| 0                      | 9.35                             | 8.4        |
| 97.0008                | 9.35                             | 6.48       |
| 244.9992               | 14.02                            | 6.48       |
| 289.0008               | 14.49                            | 4.8        |
| 343.6008               | 7.01                             | 6.48       |
| 409.5                  | 18.69                            | 6.96       |

## V.3 MATHEMATICAL MODEL

### V.3.1 Structure of Biochemical Reactions

A general mass balance model of a continuous stirred tank reactor fed with glucose, (i.e. molasses contain only sugars: sucrose, fructose and glucose) and producing acetate, propionate, butyrate, biomass, carbon inorganic (i.e., CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, etc.) and hydrogen from sucrose uptake performed by a single micro-organism can be written according to equation (1):



$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} Glu \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix} = K \cdot r - D \begin{bmatrix} Glu - Glu_{in} \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ q_{CO_2, gas} \\ q_{H_2, gas} \end{bmatrix} \quad (1)$$

where Glu, Ace, Pro, Bu, X, CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> represent, respectively, the concentrations in g.L<sup>-1</sup> of glucose, acetate, propionate, butyrate, biomass, carbon dioxide (mol.L<sup>-1</sup>) and dissolved hydrogen in the liquid phase. The vector r describes the kinetics of the involved biological reactions (in g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>), D is the dilution rate (h<sup>-1</sup>) and q<sub>CO<sub>2</sub></sub> and q<sub>H<sub>2</sub></sub> the gas flow rates of carbon dioxide and hydrogen expressed in g.d<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup>. K represents the matrix of pseudo-stoichiometric coefficients (Bernard and Bastin, 2004). The matrix of the pseudo-stoichiometric coefficients is of dimension 7x2 and its structure is determined as (Aceves-Lara *et al.*, 2006):

$$\begin{bmatrix} K_{11} & K_{12} \\ 0 & K_{22} \\ K_{31} & K_{32} \\ K_{41} & K_{42} \\ K_{51} & K_{52} \\ K_{61} & K_{62} \\ K_{71} & 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ 0 & 0.2421 \\ 0 & 0.0047 \\ 0.3345 & 0.1984 \\ 0.2510 & 0 \\ 0.0108 & 0.0037 \\ 0.0285 & 0 \end{bmatrix}$$

Finally, the vector r is composed of the specific growth rate (assumed to be represented by Monod mathematical expressions) multiplied by the biomass concentration in the reactor.

$$r = \begin{bmatrix} \frac{\rho_{max,1} Glu}{K_{Glu1} + Glu} \\ \frac{\rho_{max,2} Glu}{K_{Glu2} + Glu} \end{bmatrix} X$$

The kinetic coefficients are show in Table III.16.

**Table III.16** Kinetic coefficients

|                                 | $r_1$  | $r_2$  |
|---------------------------------|--------|--------|
| $\rho_{max}$ (h <sup>-1</sup> ) | 1.8296 | 1.5470 |
| $K_{Glu}$ (g.L <sup>-1</sup> )  | 0.18   | 0.22   |

### V.3.2 Physicochemical Processes

The physicochemical processes (i.e., the exchange of ions and the gas-liquid transfer) are important aspects that are considered in the present model. They are represented by a system of differential equations.

### V.3.3 Acid-base reactions

The acid-base equilibrium reactions are modeled by the following differential equations:

$$\frac{dAce^-}{dt} = -\rho_{A/B Ace^-} \quad (2a)$$

$$\frac{dPro^-}{dt} = -\rho_{A/B Pro^-} \quad (2b)$$

$$\frac{dBu^-}{dt} = -\rho_{A/B Bu^-} \quad (2c)$$

$$\frac{dHCO_3^-}{dt} = -\rho_{A/B CO_2} \quad (2d)$$

where

$$\rho_{A/B Ace^-} = k_{A/B Ace^-} (Ace^- \cdot H^+ - K_{a,Ace^-} \cdot HAce)$$

$$\rho_{A/B Pro^-} = k_{A/B Pro^-} (Pro^- \cdot H^+ - K_{a,Pro^-} \cdot HPro)$$

$$\rho_{A/B Bu^-} = k_{A/B Bu^-} (Bu^- \cdot H^+ - K_{a,Bu^-} \cdot HBu)$$

$$\rho_{A/B CO_2} = k_{A/B CO_2} (HCO_3^- \cdot H^+ - K_{a,CO_2} \cdot CO_2)$$

### V.3.4 Gas phase

The differential equations for the gas phase with a constant gas volume are:

$$\frac{dCO_{2,gas}}{dt} = -\frac{CO_{2,gas} q_{gas}}{V_{gas}} + \rho_{T,CO_2} \frac{V}{V_{gas}} \quad (3a)$$

$$\frac{dH_{2,gas}}{dt} = -\frac{H_{2,gas} q_{gas}}{V_{gas}} + \rho_{T,H_2} \frac{V}{V_{gas}} \quad (3b)$$

where

$$\rho_{T,H_2} = k_L a_{H_2} (H_2 - 2K_{H,H_2} p_{gas,H_2})$$

$$\rho_{T,CO_2} = k_L a_{CO_2} (CO_2 - K_{H,CO_2} p_{gas,CO_2})$$

$$q_{gas,T} = \frac{RT}{P_{atm} - p_{vap,H2O}} V \left( \frac{\rho_{T,H2}}{2} + \rho_{T,CO2} \right)$$

$$p_{gas,H_2} = \frac{H_{2,gas} R * T_{react}}{2}$$

$$p_{gas,CO_2} = CO_{2,gas} R * T_{react}$$

The term  $V/V_{gas}$  is required since the gas transfer kinetic rate is liquid volume specific. The pressure of each gas component can be calculated using the ideal gas law for the two gases (in bar, factors in denominators are  $g.L^{-1}$  equivalent for  $H_2$  and  $mol.L^{-1}$  for  $CO_2$ ).  $R$  is the ideal gas constant ( $bar.K^{-1}.M^{-1}$ ) and  $T_{react}$  is the reactor temperature (K).

This model has some differences with respect to acidogenesis of carbohydrates in structured models such as ADM1 (IWA, 2002). Only one biomass is indeed here assumed for the two biological reactions while in ADM1, a specific biomass is responsible of each reaction. Moreover, the specific growth rate is assumed not to be affected by pH nor by inorganic nitrogen limitation. Finally, valeric acid is not considered since it was measured as very close to 0 during the course of the performed experiments. Finally the physicochemical constants are show in Table III.17.

**Table III.17** Physicochemical constants in the model

| Constant      | Value                                    |
|---------------|--|
| $K_{a,Ace}$   | $1.51 \times 10^{-8} M$                  |
| $K_{a,Bu}$    | $1.74 \times 10^{-5} M$                  |
| $K_{a,CO2}$   | $4.94 \times 10^{-7} M$                  |
| $K_{a,Pro}$   | $1.32 \times 10^{-5} M$                  |
| $K_{H,CO2}$   | $0.0271 M.h^{-1}$                        |
| $K_{H,H2}$    | $7.38 \times 10^{-4} M.h^{-1}$           |
| $k_L a_{H2}$  | $127.7 h^{-1}$                           |
| $k_L a_{CO2}$ | $83.3 h^{-1}$                            |
| $P_{atm}$     | 1.013 bar                                |
| $R$           | $8.314 \times 10^{-2} bar.K^{-1}.M^{-1}$ |
| $p_{vap,H2O}$ | 0.0557 bar                               |
| $T_{react}$   | 310 K                                    |
| $K_{A/B,i}$   | $1 \times 10^8 h^{-1}$                   |

## V.4 THE NON-LINEAR ASYMPTOTIC OBSERVER

In order to estimate online the influent concentration together with the states in the output of the bioreactor, a state transformation based on the methodology described by Bastin and Dochain (Bastin and Dochain, 1990; Dochain, 2003) will be used. To this end, the model needs to fulfill all the structural conditions for the observer design. This is obtained by reducing the model to its biochemical structure and by assuming that the gas phase is close to steady state. Then, the dissolved gas in the liquid phase can be calculated from the measurements in the gas phase:

$$P_{gas,H_2} = \frac{\rho_{T,H_2}}{\rho_{T,CO_2} + \rho_{T,H_2}} (P_{atm} - p_{vap,H_2O}) \quad (4a)$$

$$P_{gas,CO_2} = \frac{\rho_{T,CO_2}}{\rho_{T,CO_2} + \rho_{T,H_2}} (P_{atm} - p_{vap,H_2O}) \quad (4b)$$

$$H_2 = \rho_{T,H_2} / k_L a_{H_2} + 2K_{H,H_2} P_{gas,H_2} \quad (4c)$$

$$CO_2 = \rho_{T,CO_2} / k_L a_{CO_2} + 2K_{H,CO_2} P_{gas,CO_2} \quad (4d)$$

Assuming that the dilution rate, the gas flow rate and the gas composition are measured online, the following asymptotic observer can be proposed:

$$Z = A_o E_a + E_b \quad (5)$$

where  $E_a = \begin{bmatrix} CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix}$

$$E_b = \begin{bmatrix} Glu \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \end{bmatrix}$$

and  $A_o * K_a + K_b = 0$ .

In such a case, we have:

$$K_a = \begin{bmatrix} 0.0108 & 0.0037 \\ 0.0285 & 0 \end{bmatrix}$$

and

$$K_b = \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ 0 & 0.2421 \\ 0 & 0.0047 \\ 0.3345 & 0.1984 \\ 0.2510 & 0 \end{bmatrix}$$

This leads to:

$$\frac{dGlu}{dt} = -A_o^* \frac{dE_a}{dt} - A_o^*(DE_a + Q_a) + DGlu_{in} - DGlu \quad (6)$$

where

$$A_o^* = A_{1,j} \quad \forall j = 1,2 \quad \text{and} \quad Q_a = \begin{bmatrix} q_{CO_2} \\ q_{H_2} \end{bmatrix}.$$

In addition, the terms  $Glu$  and  $\frac{dGlu}{dt}$  can be neglected compared to the others terms (they are

indeed close to zero in most of the experiments) and we obtain:

$$Glu_{in} = \left( A_o^* \frac{dE_a}{dt} + A_o^*(DE_a + Q_a) \right) / D$$

Finally, the asymptotic observer for the acetate, propionate, butyrate and biomass is:

$$\frac{dZ}{dt} = -DZ - A_o'(Q_a) \quad (7)$$

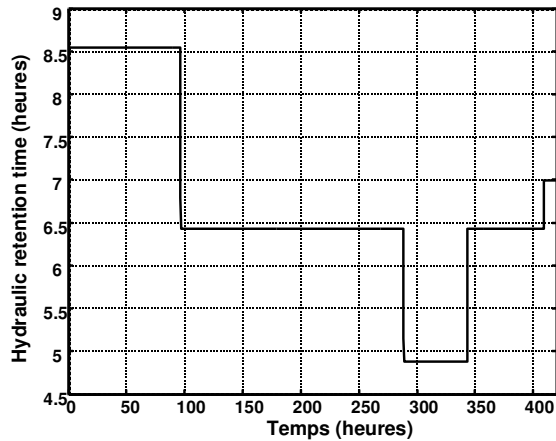
with

$$A_o' = A_{i,j} \quad \forall i = 2, \dots, 5 \quad \& \quad \forall j = 1,2$$

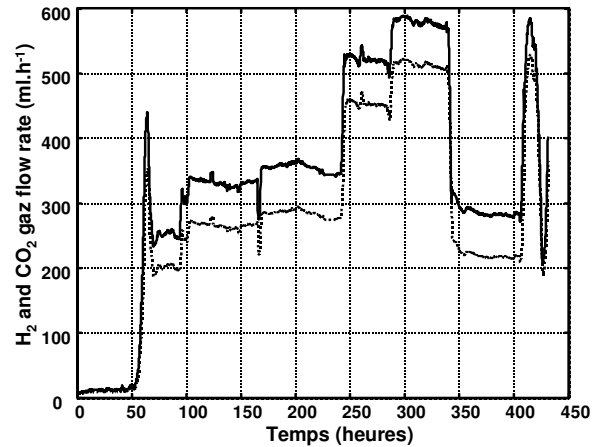
$$E_b = Z - A_o E_a$$

## V.5 RESULTS

Figure III.20 shows the hydraulic retention time applied to the process during the course of the experiments (fig. III.20a) together with the measured gas flow of hydrogen and carbon dioxide (fig. III.20b). These measurements were used by the asymptotic observer and the obtained results are shown in Figures III.21 to III.25.



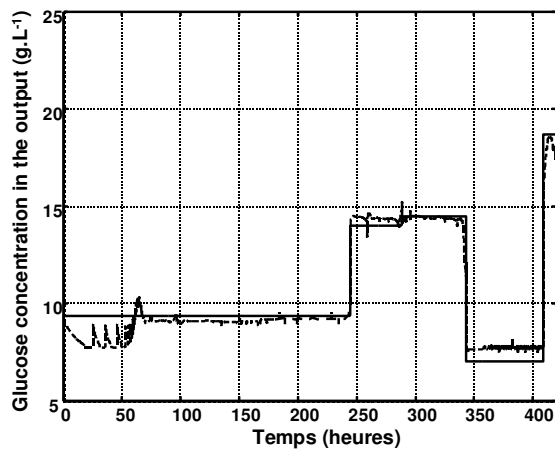
**Figure III.20a** Hydraulic retention time applied during the course of the experiments



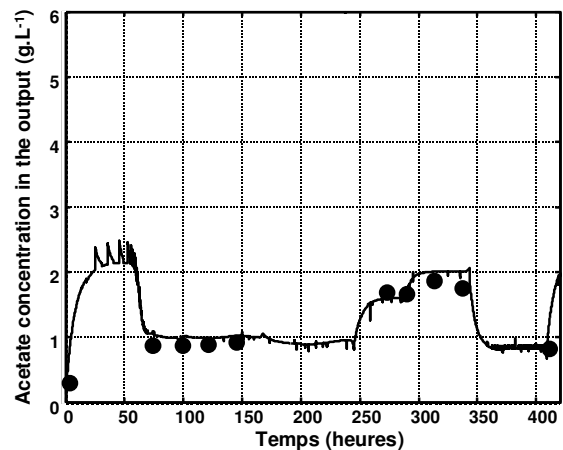
**Figure III.20b** Measurements of the  $H_2$  (—) and  $CO_2$  (- -) flow rates

Figure III.21 presents the applied input glucose concentration together with its estimation. Preparation of the input was manually performed and thus, the feeding concentration can be assumed to be very stable with sharp changes made on purpose to evaluate the observer performances. One can notice that the unknown input estimation is quite close to the expected values with only a small offset in steady states. This offset is primarily due to the neglecting of the terms  $Glu$  and  $dGlu/dt$  in the observer design.

In Figures III.22 to III.25, the output liquid concentrations of the main process states are presented. Again, it can be seen that the proposed observer demonstrates very good performances with online estimations close to the offline manual measurements. It can be in particular noticed that the steady states values of these variables are very nicely determined but also that the observer allows us to precisely characterize the dynamic transitions between two steady states.



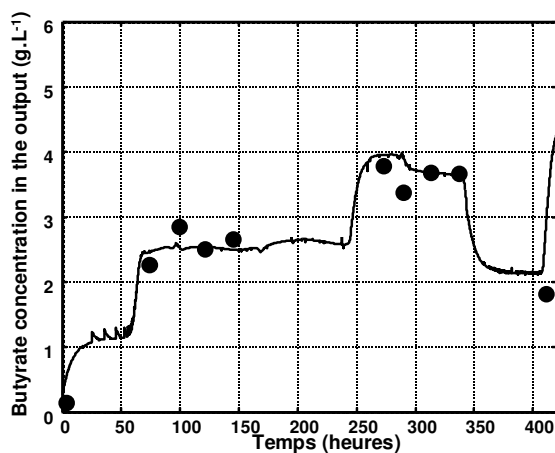
**Figure III.21** Applied (—) and estimated (---) glucose concentration in the liquid inflow



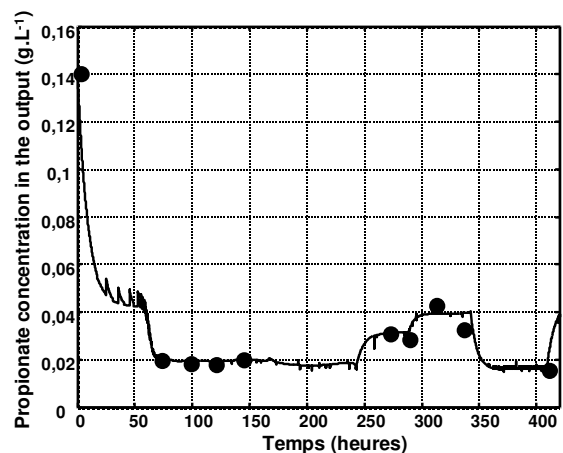
**Figure III.22** Dynamic estimation (—) and (•) offline measurements of the acetic acid in the output of the reactor.

This information is of the outmost importance to optimize the biohydrogen production with very few efforts spent on manual monitoring of the overall process.

There is another important aspect of the present study. Indeed, as previously said, the assumption of negligible glucose concentration and dynamics in the output of the reactor can be regarded as a strong assumption. However, as highlighted by our results, this assumption is valid when the process is running correctly and it leads to a small offset in steady state which does not affect the final process optimization. But if a disturbance suddenly occurs on the process (e.g., presence of a toxicant in the feeding line, problems of the temperature or pH regulation, etc.), this assumption will not be valid anymore and the present observer scheme will lead to poor results.

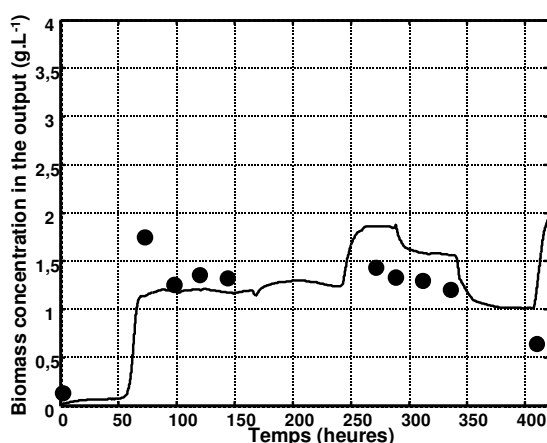


**Figure III.23** Dynamic estimation (—) and (•) offline measurements of the butyric acid in the output of the reactor.



**Figure III.24** Dynamic estimation (—) and (•) offline measurements of the propionic acid in the output of the reactor.

However, it is important to emphasize that these disturbances – that can occur in many different locations in the process – will be easily detected by comparing the estimation of input glucose concentration with offline measurements in the feeding. The benefits of using the present observer is thus twofold: closed loop control of the bioreactor is possible for optimization of hydrogen production and fault detection to guarantee long term operation of the process. These aspects are presently under consideration in our laboratory.



**Figure III.25** Dynamic estimation (–) and (•) offline measurements of the biomass concentration in the output of the reactor

## V.6 CONCLUSION

This paper presented an approach of combined estimation of the output states and of the unknown input concentration for an acidogenic process used for biohydrogen production. The design and performance of the proposed method are illustrated using experimental data. This method was demonstrated to be able to reproduce accurately the dynamics and steady states of the influent and effluent concentrations. Many benefits can be withdrawn from this approach such as closed loop optimization and fault detection.

## V.7 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the CONACyT (Mexico) for the support that made this study possible and to Dr. Gonzalo Acuña for his usefull comments.



## V.8 REFERENCES

- Aceves-Lara, C.-A., E. Latrille, T. Conte, N. Bernet, P. Buffière and J.-P. Steyer (2006). "Optimization of Hydrogen Production in Anaerobic Digestion Processes." 16 th World Hydrogen Energy Conference: 6 cd pages.
- Asada, Y. and J. Miyake (1999). "Photobiological hydrogen production." Journal of Bioscience and Bioengineering **88**(1): 1-6.
- Bastin, G. and D. Dochain (1990). "On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors." Elsevier Science Publiser.
- Bernard, O. and G. Bastin (2004). "Identification of reaction networks for bioprocesses: determination of a partially unknown pseudo-stoichiometric matrix." Bioprocess and Biosystems Engineering **27**(5): 293-301.
- Das, D. and T. N. Veziroglu (2001). "Hydrogen production by biological processes: a survey of literature." International Journal of Hydrogen Energy **26**(1): 13-28.
- Dochain, D. (2003). "State and parameter estimation in chemical and biochemical processes: a tutorial." Journal of Process Control **13**(8): 801-818.
- Floquet, T. and J.-P. Barbot (2006). "State and unknown input estimation for linear discrete-time systems." Automatica **42**(11): 1883-1889.
- Ha, Q. P. and H. Trinh (2004). "State and input simultaneous estimation for a class of nonlinear systems." Automatica **40**(10): 1779-1785.
- Hawkes, F., R. Dinsdalea, D. Hawkes and I. Hussy (2002). "Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1339-1347.
- IWA (2002). "Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1)." International Water Association Scientific and Technical Report No. 13.
- Maddy, J., S. Cherryman, F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, R. M. Dinsdale, A. J. Guwy, G. C. Premier and S. Cole (2003). "HYDROGEN 2003 Report Number 1 ERDF part-funded project entitled: "A Sustainable Energy Supply for Wales: Towards the Hydrogen Economy"." University of Glamorgan.
- Najafpour, G. D. and C. Poi Shan (2003). "Enzymatic hydrolysis of molasses." Bioresource Technology **86**(1): 91-94.
- Nordberg, T. P. and I. Gustafsson (2006). "Dynamic regularization of input estimation problems by explicit block inversion." Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering **195**(44-47): 5877-5890.

- Pillonetto, G. and M. P. Saccomani (inpress). "Input estimation in nonlinear dynamical systems using differential algebra techniques." Automatica.
- Tanisho, S. and Y. Ishiwata (1995). "Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as a support of floccs." International Journal of Hydrogen Energy **20**(7): 541-545.
- Theilliol, D., J.-C. Ponsart, J. Harmand, C. Join and P. Gras (2003). "On-line estimation of unmeasured inputs for anaerobic wastewater treatment processes." Control Engineering Practice Special Section on Algorithms and Applications of Iterative Feedback Tuning **11**(9): 1007-1019.
- Woodward, J., K. A. Cordray, R. J. Edmonston, M. Blanco-Rivera, S. M. Mattingly and B. R. Evans (2000). "Enzymatic hydrogen production: Conversion of renewable resources for energy production." Energy & Fuels **14**(1): 197-201.



## **VI STATE ESTIMATION AND CLOSED LOOP CONTROL FOR OPTIMIZATION OF HYDROGEN PRODUCTION IN ANAEROBIC DIGESTERS**

Nous avons vu précédemment que la production anaérobie d'hydrogène pouvait être décrite par le modèle proposé en section IV de ce chapitre. De plus, nous disposons d'un estimateur de l'entrée du système et d'un observateur asymptotique de certaines variables d'état, développés lors de la section précédente. Nous nous proposons désormais d'optimiser la production d'hydrogène en utilisant une loi de commande prédictive. Ce type de commande est basé sur le modèle, les estimations des états et de l'alimentation et sur des prédictions réalisées toutes les quinze minutes.

Le critère que nous cherchons à optimiser est la productivité maximale d'hydrogène avec un taux de conversion maximal de la concentration en substrat dans l'alimentation. Après une phase de détermination de la productivité de cette stratégie en simulation, nous avons testé expérimentalement l'algorithme sur notre procédé.

Cette stratégie a permis d'augmenter la production d'hydrogène de 75 % tout en maintenant un taux de conversion du substrat supérieur à 95 %. Ceci a été obtenu malgré le manque de précision sur l'estimation de la concentration en biomasse et en mesurant uniquement le débit gazeux et sa concentration en hydrogène.

# **State Estimation and Closed Loop Control for Optimization of Hydrogen Production in Anaerobic Digesters**

**C. A. Aceves-Lara, E. Latrille, N. Bernet, P. Buffière, J. P. Steyer**

INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Avenue des Etangs, Narbonne, F-11100, France

*Article accepté pour présentation orale lors du 11<sup>th</sup> IWA World Congress on Anaerobic Digestion, Brisbane, Australie, 23-27 Septembre 2007.*

## **Abstract**

This paper addresses the problem of optimization of hydrogen production in continuous anaerobic digesters using an model predictive control (MPC) strategy. The process is described by a dynamic nonlinear model. The influent COD concentration together with the effluent substrate and product concentrations are considered as state variables and estimated by an asymptotic online observer from measurements of gas composition and gas flow rate. It is experimentally demonstrated that a 75% increase of the hydrogen production can be obtained using the influent flow rate as the main control variable while keeping the conversion of the influent COD concentration higher than 95 %.

## **Keywords**

Anaerobic digestion, hydrogen production, modeling, asymptotic observer, model predictive control.

## VI.1 INTRODUCTION

One of the great challenges of the new century is to obtain a new source of renewable energy, capable of replacing fossil fuels. Hydrogen is a promising hope because of its great calorific value, *i.e.*,  $122 \text{ kJ.g}^{-1}$ . Unfortunately, even though biological processes have shown strong potentialities for sustainable  $\text{H}_2$  production, hydrogen is presently mainly produced from the reforming of fossil materials (90% of world production, 45 billion tons) with a high level of pollution generated, *i.e.*,  $10 \text{ tons CO}_2.\text{ton}^{-1}$  (Maddy *et al.*, 2003).

Hydrogen can be produced by micro-organisms using two enzymes (*i.e.*, hydrogenase and nitrogenase) active in their metabolic pathways (Asada and Miyake, 1999). However, up to now, the microbial production of hydrogen has still a low efficiency for substrate conversion, ranging between 16 and 45% (Woodward *et al.*, 2000; Van Ginkel and Logan, 2005).

The involved processes can be classified into three main classes (Das and Veziroglu, 2001): biophotolysis, photodecomposition and acidogenic fermentation of carbohydrates (*i.e.*, acidogenesis). The two first processes are photobiological (*i.e.*, light is needed) while the acidogenesis step presents several advantages such as a production yield higher than those obtained with photobiological processes and the capacity of working all day long (*i.e.*, even with no light) (Das and Veziroglu, 2001). Until now, almost all the studies dedicated to optimization of the anaerobic hydrogen production have been focused on the determination of the best operational conditions in steady state (Das and Veziroglu, 2001; Hawkes *et al.*, 2002; Hussy *et al.*, 2005; Van Ginkel and Logan, 2005).

In this work, we propose a closed loop optimization of the biohydrogen production using an MPC strategy. The practical implementation requires the measurement of the state variables (*i.e.*, COD and individual volatile fatty acids VFAs) in the input and in the reactor. Because of the lack of cheap and reliable on-line sensors for these variables, we also propose an asymptotic observer (AO) which estimates these state variables from the measurements of the biogas flow rate and its composition. Experiments were performed to demonstrate the usefulness of this approach. The observer was tested alone over 60 hydraulic retention times (HRT) and the combined AO-MPC strategy was tested for 50 HRTs which is significant to evaluate their performances.

## VI.2 MATERIALS AND METHODS

### VI.2.1 Medium

Molasses resulting from the industrial sugarbeet production were used as feeding substrate. They were diluted to concentrations ranging from 5 to 11 g.L<sup>-1</sup> by adding a nutritional medium rich in minerals and containing (in mg.L<sup>-1</sup>): MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 150; NaCl, 1000; ZnCl<sub>2</sub>, 10; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 25; NH<sub>4</sub>Cl, 1000; CoCl<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O, 5; CuCl<sub>2</sub>, 5; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 10; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 150; NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20; MnCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20.

### VI.2.2 Reactor design

Experiments were carried out in a continuous stirred tank reactor (Setric) with a useful volume of 1270 ml. The reactor was equipped with a stirring system made of a Rushton turbine and a marine propeller in order to ensure a homogeneous mixture and an important agitation. A revolution counter was connected to access to the measurement of the stirring velocity. Stirring velocity was maintained at 300 rpm. Two additional sensors were connected to the reactor for measuring the redox potential (Pt 4805 - DXK-S8/225, Mettler Toledo) and pH (4010/120/Pt100, Mettler Toledo). The pH-meter (2300, Ingold) and the transmitter for redox potential (Mettler Toledo) were connected to a computer for on-line data acquisition. The pH was controlled at 5.5 by adding NaOH (2 M) with a peristaltic pump. Temperature in the reactor was also controlled using a platinum probe Pt100 and a heating electric resistance. The temperature of the culture media was maintained at 37°C. The volume of NaOH added and the temperature were also recorded on-line.

### VI.2.3 Off-line measurements

Gas composition was analyzed using a gas chromatograph (GC-14A, Shimadzu, colon CTR I, Alltech). Composition of volatile fatty acids (VFA) in the liquid phase, *i.e.*, acetic (Ace), propionic (Pro), butyric (Bu) and valeric acids, were determined by liquid injection into a gas chromatograph (3900 GC, Varian Inc.). Operating conditions: carrier gas, argon; gas flow, 30 mL/min; temperature of the injector, 100°C; column temperature 35°C; initial catarometer

intensity 80mA. The residual absence or presence of sugar and other bioproducts such as organic acids (lactate), ethanol or acetone was confirmed by a HPLC (column HPx 87H, BioRad). Operating conditions were: temperature of column, 35°C; temperature of refractometer, 40°C. The biomass concentration was determined through the volatile suspended solid (VSS) concentration measured according to the standard method (APHA, 1995).

## VI.2.4 Inoculum preparation

The inoculum was prepared with 1 L of sludge taken from a 1m<sup>3</sup> pilot-scale fixed bed digester used for several years for the anaerobic treatment of wine distillery wastewater. The sludge was centrifuged for 15 minutes at 17700 g. The reactor was stripped with nitrogen for 15 minutes before continuous feeding with diluted molasses during four days with a retention time of 6 h and a pH equal to 5.5. Finally, it was heated at 98°C during 30 min.

## VI.3 MATHEMATICAL MODEL

### VI.3.1 Structure of biochemical reactions

A general mass balance model of a continuous stirred tank reactor fed with glucose, (*i.e.* molasses containing only sugars like sucrose, fructose and glucose are considered as glucose because of the fast hydrolysis of sucrose) and producing acetate, propionate, butyrate, biomass, carbon inorganic (*i.e.*, CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, etc.) and hydrogen from sucrose uptake performed by a single micro-organism can be written according to equation (1):

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} Glu \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix} = K \cdot r - D \begin{bmatrix} Glu - Glu_{in} \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \\ CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ q_{CO_2} \\ q_{H_2} \end{bmatrix} \quad (1)$$

where *Glu*, *Ace*, *Pro*, *Bu*, *X*, CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> represent, respectively, the concentrations in g.L<sup>-1</sup> of glucose, acetate, propionate, butyrate, biomass, carbon dioxide (in mol.L<sup>-1</sup>) and dissolved



hydrogen in the liquid phase. The vector  $r=[r_1 \ r_2]^t$  describes the kinetics of the involved biological reactions (in  $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ),  $D$  is the dilution rate ( $\text{h}^{-1}$ ) and  $q_{CO_2}$  and  $q_{H_2}$  the gas flow rates of carbon dioxide and hydrogen expressed in  $\text{g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ .  $K$  represents the matrix of pseudo-stoichiometric coefficients. The matrix of the pseudo-stoichiometric coefficients for our specific case was determined in a previous work (Aceves-Lara *et al.*, 2006):

$$\begin{bmatrix} K_{11} & K_{12} \\ 0 & K_{22} \\ K_{31} & K_{32} \\ K_{41} & K_{42} \\ K_{51} & K_{52} \\ K_{61} & K_{62} \\ K_{71} & 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ 0 & 0.2421 \\ 0 & 0.0047 \\ 0.3345 & 0.1984 \\ 0.2510 & 0 \\ 0.0108 & 0.0037 \\ 0.0285 & 0 \end{bmatrix}$$

Finally, the vector  $r$  is composed of the specific growth rate (assumed to be represented by Monod mathematical expressions) multiplied by the biomass concentration in the reactor:

$$r = \begin{bmatrix} \frac{\rho_{\max,1} \text{Glu}}{K_{\text{Glu}1} + \text{Glu}} \\ \frac{\rho_{\max,2} \text{Glu}}{K_{\text{Glu}2} + \text{Glu}} \end{bmatrix} X$$

with  $\rho_{\max 1} = 1.8296 \text{ h}^{-1}$ ,  $\rho_{\max 2} = 1.547 \text{ h}^{-1}$ ,  $K_{\text{Glu}1} = 0.18 \text{ g.L}^{-1}$  and  $K_{\text{Glu}2} = 0.22 \text{ g.L}^{-1}$ .

### VI.3.2 Physicochemical Processes

The physicochemical processes (*i.e.*, ions exchange and gas-liquid transfer) are represented, like in the IWA-ADM1 model (Batstone *et al.*, 2002) by a system of differential equations and their parameters were taken from IWA-ADM1 model. However, this model has some differences with respect to acidogenesis of carbohydrates in structured models such as IWA-ADM1. Only one biomass is indeed here assumed for the two biological reactions while in IWA-ADM1, a specific biomass is responsible of each reaction. Moreover, the specific growth rate is assumed not to be affected by pH nor by inorganic nitrogen limitation. Finally, valeric acid is not considered since it was always measured as very close to 0 during the course of the performed experiments.

## VI.4 OPTIMISATION

Closed loop optimization has been extensively discussed by several workers (Smets *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2005; Kameswaran and Biegler, 2006). In biological processes, it was mainly applied for fed-bath reactors (Van Impe and Bastin, 1995; Smets *et al.*, 2004). In the present study, the formulation of the closed loop optimization problem is expressed as a model predictive controller using the dynamic model previously described and rewritten as:

$$\dot{\xi} = f(\xi, Glu_{in}, Q_{in}, t) \quad (2)$$

where  $\xi$  are the state variables,  $Glu_{in}$  is the disturbed input variable and  $Q_{in}$  ( $Q_{in}=D/V_r$  where  $V_r$  is the reactor volume) is the control variable. The objective function to be maximized is:

$$\max J(\xi, Glu_{in}, Q_{in}, t) \quad (3)$$

In this case, the criteria  $J(t) = \sum_{u=t}^{t+H} qH_2(u)$  is subject to the following constraints:

- $\dot{\xi} = f(\xi, Glu_{in}, Q_{in}, t)$ , the dynamic model,
- $Glu \leq 0.05 \cdot Glu_{in}$ , meaning that 95% of the substrate is converted,
- $Q_{in} \leq 7.05 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  (HRT  $\geq 2.98$  h), in order to avoid a possible wash-out.

A predictive horizon of 3.5 hours was used. This problem was solved every fifteen minutes, requiring the knowledge of the initial conditions, that is the values of states and process input at time  $t$ . The lack of sensors led us to use an asymptotic observer.

## VI.5 THE NON-LINEAR ASYMPTOTIC OBSERVER

In order to estimate the influent concentration together with the compound concentrations in the bioreactor, a state transformation based on the methodology described by Bastin and Dochain (1990) was used. To this end, the model needs to fulfill all the structural conditions for the observer design. This is obtained by reducing the model to its biochemical structure and by assuming that the gas phase is close to the chemical equilibrium. Then, the dissolved gas in the liquid phase is calculated from the gas phase concentrations:

$$p_{gas,H2} = \frac{\rho_{T,H2}}{\rho_{T,CO2} + \rho_{T,H2}} (P_{atm} - p_{vap,H2O}) \quad p_{gas,CO2} = \frac{\rho_{T,CO2}}{\rho_{T,CO2} + \rho_{T,H2}} (P_{atm} - p_{vap,H2O})$$

$$H_2 = \rho_{T,H2} / k_L a_{H2} + 2K_{H,H2} p_{gas,H2} \quad CO_2 = \rho_{T,CO2} / k_L a_{CO2} + 2K_{H,CO2} p_{gas,CO2}$$

where  $p_{gas,i}$  is the partial pressure of compound  $i$  (bar),  $\rho_{T,i}$  the specific mass transfer rate of gas  $i$ , and  $p_{vap,H2O}$  the water pressure (bar).

Assuming that the dilution rate, the gas flow rate and the gas composition are measured on-line, the following asymptotic observer is proposed:

$$Z = A_o E_a + E_b \quad (4)$$

$$\text{where } E_a = \begin{bmatrix} CO_2 \\ H_2 \end{bmatrix} \quad E_b = \begin{bmatrix} Glu \\ Ace \\ Pro \\ Bu \\ X \end{bmatrix} \quad \text{and} \quad A_o * Ka + Kb = 0.$$

This leads to:

$$\frac{dGlu}{dt} = -A_o^* \frac{dE_a}{dt} - A_o^* (DE_a + Q_a) + DGlu_m - DGlu \quad (5)$$

$$\text{where } A_o^* = A_{1,j} \quad \forall j = 1,2 \quad \text{and} \quad Q_a = \begin{bmatrix} q_{CO_2} \\ q_{H_2} \end{bmatrix}.$$

In addition, the terms  $Glu$  and  $dGlu/dt$  can be neglected compared to the other terms because they are very close to zero in most of the experiments. Equation(5) then leads to:

$$Glu_{in} = \left( A_o^* \frac{dE_a}{dt} + A_o^* (DE_a + Q_a) \right) / D$$

Finally, the asymptotic observer for the acetate, propionate, butyrate and biomass concentrations is:  $\frac{dZ}{dt} = -DZ - A_o' (Q_a)$  with

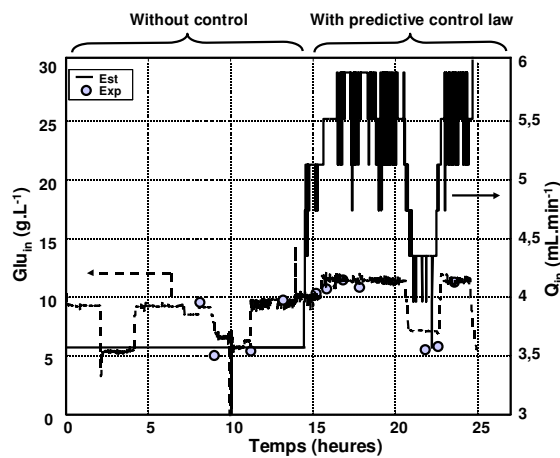
$$A_o' = A_{i,j} \quad \forall i = 2, \dots, 5 \quad \& \quad \forall j = 1, 2$$

$$E_b = Z - A_o E_a$$

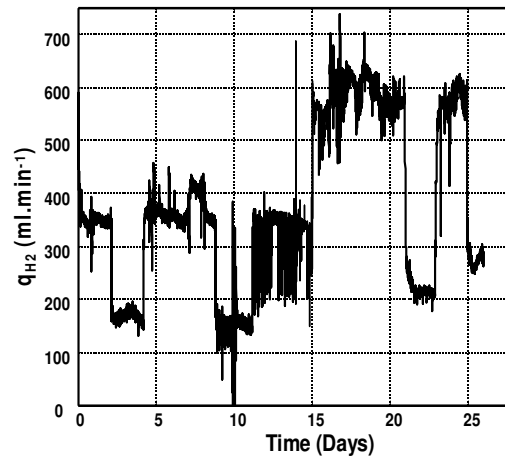
## VI.6 RESULTS

Figure III.26 shows the feed flow, the estimated inlet glucose concentration and the available off-line glucose measurements. The first fifteen days were used to assess the performance of the observer without controller (*i.e.*, MPC was turned off). The input flow rate was kept constant (HRT = 6 h) and the influent concentrations were varied (*i.e.*,  $S_{in}$  close to 11 g<sub>COD</sub>.L<sup>-1</sup> during days 1-2, 4-8 and 11-15 and close to 6 g<sub>COD</sub>.L<sup>-1</sup> during days 2-4 and 8-11). This duration is equal to 60 times the HRT which is long enough to assess AO performance. In order to test the combined AO-MPC strategy, the closed loop controller was then turned on during the last 10 days (*i.e.*, 50 HRTs) and additional input perturbations were applied. HRT was automatically adjusted by the MPC and varied between 3.6 h and 6 h. It is interesting to

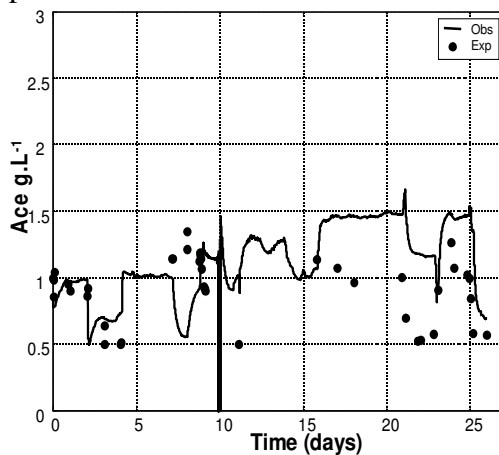
see that, during days 22 and 23 (*i.e.*, when  $S_{in}$  was decreased to  $6 \text{ gCOD}\cdot\text{L}^{-1}$ ), the input flow rate was automatically decreased by the MPC. This is explained by the non linear constraints included in the algorithm (and in particular the fact that 95% of the influent substrate should be treated) that allow the controller to avoid wash-out of the reactor. Figure III.27 shows the increase of the hydrogen gas flow rate  $q_{H_2}$ . It can be seen that when MPC was applied (*i.e.*, after day 15),  $q_{H_2}$  was increased by almost 75% when  $S_{in}$  was  $11 \text{ gCOD}\cdot\text{L}^{-1}$  (days 15-20 and 23-25) and by almost 30% when  $S_{in}$  was  $6 \text{ gCOD}\cdot\text{L}^{-1}$  (days 21-22). The acetate, butyrate, propionate and biomass concentrations measured and estimated by the observer over the whole experiment (*i.e.*, with and without MPC) are shown in Figures III.28 to III.31 respectively.



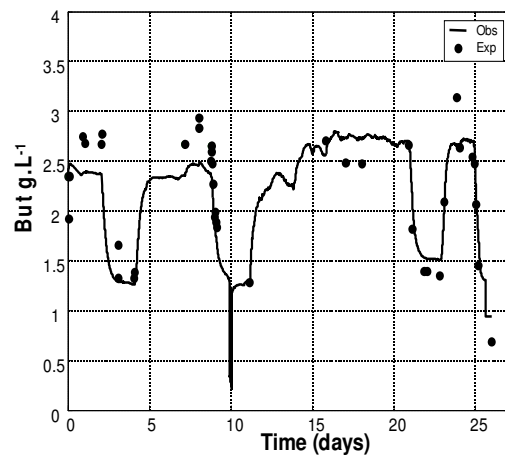
**Figure III.26** Substrate (— —) and inflow (—) applied during the course of the experiments



**Figure VII.27** Hydrogen gas flow rate measured (—) during the course of the experiment



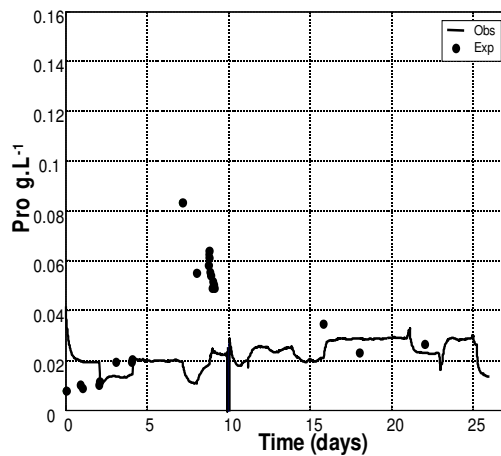
**Figure III.28** Dynamic estimation (—) and (●) off-line measurements of the acetic acid.



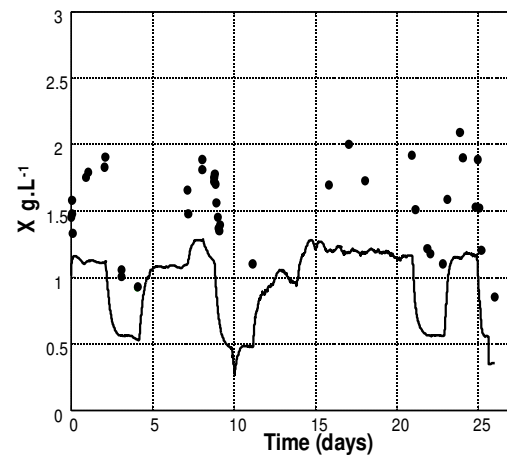
**Figure III.29** Dynamic estimation (—) and (●) off-line measurements of the butyric acid.

Except for biomass where one can notice a similar trend but a constant offset, the estimations are very close to the experimental data, the best results being obtained for butyrate. In order to further validate the observer in a broad range of situations, the MPC was turned off for the

last day and the input flow rate was set at a high value (*i.e.*,  $9.92 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  corresponding to  $\text{HRT} = 2.1 \text{ h}$ ). One can notice that again, the input observer estimated well the experimental data despite a situation very close to wash-out.



**Figure III.30** Dynamic estimation (—) and (•) off-line measurements of propionic acid



**Figure III.31** Dynamic estimation (—) and (•) off-line measurements of the biomass.

## VI.7 CONCLUSION

This paper presented an approach of dynamic optimization of hydrogen production from wastewater by combining an optimal closed loop control together with states and input estimations. The design and performance of the proposed method were applied in a reactor during 27 days. Compared to open loop (*i.e.*, uncontrolled) situations, this led to an increase of 75% of the hydrogen production, from  $360$  to  $630 \text{ mL}\cdot\text{H}_2\cdot\text{h}^{-1}$ , while keeping removal efficiency of glucose higher than 95%. It is also to be emphasized that only cheap and reliable sensors were needed (*i.e.*, gas flow and composition).

## VI.8 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge CONACyT in Mexico for the financial support of C.A. Aceves-Lara and Dr. Grégory François for his useful comments.

## VI.9 REFERENCES

- Aceves-Lara, C.-A., E. Latrille, T. Conte, N. Bernet, P. Buffière and J.-P. Steyer (2006). "Optimization of Hydrogen Production in Anaerobic Digestion Processes." 16 th World Hydrogen Energy Conference: 6 cd pages.
- Asada, Y. and J. Miyake (1999). "Photobiological hydrogen production." Journal of Bioscience and Bioengineering **88**(1): 1-6.
- Batstone, D. J., J. Keller, I. Angelidaki, S. V. Kalyuzhnyi, S. G. Pavlostathis, A. Rozzi, W. T. M. Sanders, H. Siegrist and V. A. Vavilin (2002). "The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1)." Water Science and Technology **45**(10): 65–73.
- Costa, C. B. B., A. C. da Costa and R. M. Filho (2005). "Mathematical modeling and optimal control strategy development for an adipic acid crystallization process." Chemical Engineering and Processing **44**(7): 737-753.
- Das, D. and T. N. Veziroglu (2001). "Hydrogen production by biological processes: a survey of literature." International Journal of Hydrogen Energy **26**(1): 13-28.
- Hawkes, F., R. Dinsdale, D. Hawkes and I. Hussy (2002). "Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation." International Journal of Hydrogen Energy **27**(11-12): 1339-1347.
- Hussy, I., F. R. Hawkes, R. Dinsdale and D. L. Hawkes (2005). "Continuous fermentative hydrogen production from sucrose and sugarbeet." International Journal of Hydrogen Energy **30**(5): 471-483.
- Kameswaran, S. and L. T. Biegler (2006). "Simultaneous dynamic optimization strategies: Recent advances and challenges." Computers & Chemical Engineering. Papers from Chemical Process Control VII - CPC VII **30**(10-12): 1560-1575.
- Maddy, J., S. Cherryman, F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, R. M. Dinsdale, A. J. Guwy, G. C. Premier and S. Cole (2003). "HYDROGEN 2003 Report Number 1 ERDF part-funded project entitled: "A Sustainable Energy Supply for Wales: Towards the Hydrogen Economy"." University of Glamorgan.
- Najafpour, G. D. and C. Poi Shan (2003). "Enzymatic hydrolysis of molasses." Bioresource Technology **86**(1): 91-94.
- Smets, I. Y., J. E. Claes, E. J. November, G. P. Bastin and J. F. Van Impe (2004). "Optimal adaptive control of (bio)chemical reactors: past, present and future." Journal of Process Control. Dynamics, Monitoring, Control and Optimization of Biological Systems **14**(7): 795-805.
- Tanisho, S. and Y. Ishiwata (1995). "Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as a support of floccs." International Journal of Hydrogen Energy **20**(7): 541-545.
- Van Ginkel, S. W. and B. Logan (2005). "Increased biological hydrogen production with reduced organic loading." Water Research **39**(16): 3819-3826.
- Van Impe, J. F. and G. Bastin (1995). "Optimal adaptive control of fed-batch fermentation processes." Control Engineering Practice **3**(7): 939-954.
- Woodward, J., K. A. Cordray, R. J. Edmonston, M. Blanco-Rivera, S. M. Mattingly and B. R. Evans (2000). "Enzymatic hydrogen production: Conversion of renewable resources for energy production." Energy & Fuels **14**(1): 197-201.



Discussion,  
Conclusions générales  
et Perspectives





## **DISCUSSION, CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES**

Au cours de ce travail de thèse, une étude bibliographique relative à la problématique générale de la production d'hydrogène a été réalisée en focalisant notre attention sur la voie anaérobie. Cette étude a également porté sur des aspects plus spécifiques du domaine de l'Automatique tels que la modélisation, les estimateurs d'états et la commande.

Elle a ensuite été complétée par un article de synthèse sur l'optimisation des procédés de production de biogaz. Nous avons en particulier souligné qu'actuellement, il y avait une sous-production de biogaz estimée entre 25 et 40 % et qu'elle était liée aux pratiques de gestion des unités industrielles de production. L'optimisation de ces procédés doit donc accroître leur rentabilité et éviter leur dépendance vis-à-vis des politiques de prix de rachat des bioénergies. Cette étude a également permis de mettre en exergue la grande faiblesse des travaux relatifs à l'optimisation – via des stratégies de commande en boucle fermée – des procédés de production anaérobie de biohydrogène. La plupart des études sur le biohydrogène disponibles dans la littérature se sont en effet focalisées sur l'amélioration des procédés en jouant sur les conditions opératoires mais peu d'attention a été portée sur l'impact des méthodologies de l'Automatique. Cela s'explique en partie par le manque de modèles simples disponibles dans la littérature et par l'intérêt relativement récent porté à la production anaérobie d'hydrogène. L'hydrogène a en effet été longtemps considéré comme un facteur à surveiller pour éviter les dysfonctionnements (*e.g.*, les surcharges organiques) des procédés de digestion anaérobie (Archer *et al.*, 1986; Pauss *et al.*, 1990; Pauss and Guiot, 1993; Strong and Cord-Ruwisch, 1995; Guwy *et al.*, 1997; Bjornsson *et al.*, 2001) car son accumulation est un indicateur très efficace de l'accumulation des acides gras volatils qui inhibent le déroulement de la méthanisation. Ce faisant, la production d'hydrogène était perçue davantage comme un problème à éviter que comme une possibilité de production énergétique.

Par ailleurs, un comparatif technico-économique entre les filières de la production de méthane et de biohydrogène a démontré, à partir de critères de rentabilité économique, un avantage du procédé en deux étapes (*i.e.*, biohydrogène + méthane) par rapport au procédé en une seule étape produisant uniquement du méthane. Mais la rentabilité économique dépend essentiellement du prix de revente de l'hydrogène en tant que biocarburant pour les transports. De plus, nous avons montré que l'intérêt économique de produire du méthane et de l'hydrogène était surtout lié au prix du traitement des déchets qui apporte la majorité des recettes. Il est également possible d'affirmer que tant que le prix des combustibles fossiles sera bas, il n'y aura pas de véritable intérêt pour la production biologique de méthane, ni pour celle de biohydrogène, sauf à prendre en compte des critères, certes très pertinents d'un point de vue environnemental, mais peu rentables au plan économique.

Dans l'étape expérimentale de cette thèse, l'influence des conditions opératoires telles que le pH, le temps de séjour et la vitesse d'agitation sur la production d'hydrogène a été en premier lieu étudiée en régime stationnaire. Cela a permis de montrer que la vitesse d'agitation avait un effet positif sur la production d'hydrogène mais qu'à l'inverse, le temps de séjour et le pH ont des effets négatifs. La grande difficulté de ce type d'études a été de trouver des valeurs optimales à partir d'un plan d'expériences avec répétitions car la variation du temps de séjour lessive certaines espèces, empêchant d'avoir des conditions opératoires réellement similaires lors d'un retour à un état d'équilibre. Ce phénomène a été présent dans nos études tout comme dans celles réalisées par Zhang *et al.* (2006) où, pour des temps de rétention identiques, des débits d'hydrogène différents étaient obtenus. De plus, il est relativement complexe de trouver une valeur optimale du pH qui soit valide pour tous les procédés de production anaérobie d'hydrogène, comme cela a été montré dans la bibliographie avec 22 valeurs reportées comme étant "optimales" (Li and Fang, 2007). Cela renforce le fait que si les études avec des cultures mixtes sont très utiles pour connaître les influences des conditions opératoires d'un procédé,

l'extrapolation et la généralisation des valeurs optimales trouvées dans des conditions particulières à tous les procédés similaires sont relativement difficiles, voire risquées, si elles ne sont pas menées avec attention.

A partir d'expérimentations supplémentaires, des coefficients de pseudo-stœchiométrie de la production d'hydrogène ont tout de même été déterminés à partir d'une analyse en composantes principales (ACP) des flux de métabolites. Pour cela, une méthode d'estimation de ces coefficients a été proposée en lien avec une optimisation non-linéaire. Cette méthode utilise les vecteurs propres issus de l'ACP et un algorithme de programmation quadratique séquentielle (SQP). La méthode ici proposée s'inspire d'études réalisées par (Bernard and Bastin, 2004, 2005) et présente l'avantage de garantir des vitesses de réaction positives. De plus, avec cette méthode, il est possible de trouver la structure et les valeurs des coefficients de stœchiométrie en une seule étape, minimisant ainsi le temps de calcul. L'inconvénient est la possibilité de trouver des minima locaux et non le minimum global. Pour cela, il faudrait tester des plages importantes de variations des valeurs des paramètres – ce qui est une tâche de très longue haleine au plan expérimental – ou utiliser des méthodes d'optimisation globale. Bien que cela n'ait pas été discuté en détails dans ce manuscrit, une étude microbienne a également été réalisée à l'aide d'outils de Biologie Moléculaire pour fournir des explications aux variations de la production d'hydrogène observées dans quelques expériences. Par exemple, les premières expériences ont donné un débit maximal de  $225 \text{ ml-H}_2\cdot\text{h}^{-1}$  alors qu'avec des conditions similaires, les dernières expériences ont donné  $360 \text{ ml-H}_2\cdot\text{h}^{-1}$ . Les analyses SSCP ont démontré qu'il y avait une plus grande complexité microbienne dans les premières expériences – avec environ onze espèces majoritaires – par rapport aux dernières expériences qui ne comportaient que cinq espèces majoritaires (Cf. Annexe I). De plus, le séquençage de l'ARN16s a montré que les meilleures productivités étaient obtenues en présence des bactéries du genre *Clostridium*. Cela semble indiquer que la simplification

microbienne a amélioré la productivité d'hydrogène probablement en éliminant les espèces consommatrices d'hydrogène. Ceci étant – et cela explique le faible développement de ces aspects au sein du manuscrit – des expériences complémentaires sont nécessaires pour confirmer définitivement ce résultat.

Un modèle dynamique a par ailleurs été validé à partir de la structure qui avait été trouvée précédemment. Les coefficients ont été re-estimés à partir d'expérimentations complémentaires réalisées autour d'un pH de 5,5. Cela a permis de trouver une pseudo-stœchiométrie assez proche des coefficients de stœchiométrie théoriques en incluant la formation de biomasse dans les réactions. Ce résultat est tout à fait intéressant et semble conférer au modèle une certaine généralité. La validation du modèle a en effet été réalisée avec nos données expérimentales – obtenues en régimes stationnaires et transitoires – mais aussi avec de nombreuses données issues de la littérature et obtenues à l'état stationnaire. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour le butyrate et la composition du gaz. Il est à noter que ce modèle présente deux différences par rapport aux modèles structurés utilisés dans la digestion anaérobie tels que l'ADM1 (Batstone *et al.*, 2002): il n'utilise pas de fonctions d'inhibition des lois cinétiques et il suppose une seule biomasse commune (*i.e.*, un "super" micro-organisme) aux deux réactions biochimiques impliquées. Des lois cinétiques de Monod ont en effet été utilisées car les conditions opératoires appliquées n'ont pas donné lieu à des conditions d'inhibition. Ceci a permis d'obtenir un modèle assez simple pour être facilement applicable dans des lois de commande. La deuxième différence est liée à la difficulté de mesurer des biomasses différentes dans des écosystèmes à diversité microbienne relativement faibles tels que ceux obtenus dans cette thèse. Cela a été justifié *a posteriori* grâce aux résultats des analyses de Biologie Moléculaire qui ont démontré la présence du seul genre bactérien, *i.e. Clostridium*, mais cela rend difficile la différenciation de chacune des 5 ou 11 espèces prises individuellement. Notre hypothèse d'avoir une seule biomasse est ainsi

justifiée, d'autant plus que la première réaction biologique de notre modèle sert à produire l'énergie nécessaire à la production de la biomasse et la deuxième produit de l'énergie pour les autres processus du métabolisme cellulaire.

Le modèle a ensuite été utilisé pour estimer diverses variables d'état à l'aide d'un observateur asymptotique et l'estimation de l'entrée du procédé a été faite avec une modification de cet observateur. Le schéma d'observation utilisé a été facile à appliquer car il ne nécessitait pas de calculs complexes ni d'avoir besoin de données expérimentales faites avec des instruments onéreux (*i.e.*, seuls le débit et la concentration du gaz produit ont été utilisés). Lors de nouvelles expérimentations réalisées pour tester spécifiquement ces observateurs, de très bonnes performances d'estimation ont été obtenues, notamment pour le butyrate. De plus, l'estimation – simultanée – des entrées et des états a été possible en utilisant la même information en ligne. Il s'agit là de l'avantage majeur de notre proposition car, dans la littérature, les états sont estimés en utilisant les entrées et les entrées sont estimées en utilisant les états (*Cf.* par exemple Theilliol *et al.*, (2003) et Pillonetto and Saccomani, (2006)) mais il n'y a pas beaucoup de références sur leurs estimations simultanées avec des schémas simples à utiliser en ligne, si ce n'est pour des systèmes stochastiques qui sortent du cadre de cette thèse (Ha and Trinh, 2004; Floquet and Barbot, 2006; Nordberg and Gustafsson, 2006). Les inconvénients de l'observateur utilisé ont été (i) l'impossibilité de régler sa vitesse de convergence qui dépend du taux de dilution, inconvénient habituel des observateurs asymptotiques et (ii) le manque de précision de l'estimation de la biomasse qui peut être dû pour partie au manque de précision des mesures expérimentales. Il a en effet été observé, lors de nos expériences, que les microorganismes s'agrégeaient souvent en flocons, ce qui peut avoir une incidence non négligeable sur les mesures de biomasse. Un dernier inconvénient réside dans la nécessité de fournir à l'estimateur des entrées des conditions initiales proches de l'état

réel pour éviter des problèmes de convergence qui affecteraient également l'estimation des variables d'état.

Ceci étant, l'optimisation de la production d'hydrogène a tout de même été possible en utilisant une loi de commande prédictive basée sur les observateurs proposés. Une fenêtre glissante de prédiction de 3,5 h (*i.e.*, proche du temps de séjour hydraulique du procédé) a été retenue. Cela a permis de presque doubler la production d'hydrogène qui est passée de 360 à 630 ml-H<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>. La loi de commande a utilisé comme objectif la maximisation du débit en hydrogène et comme contrainte d'avoir une conversion en substrat supérieur au 95 %. Cela est justifiable car il n'y a aucune utilité à avoir de grands débits en hydrogène si le substrat n'est pas traité de façon optimale (*i.e.* avec un rendement de conversion maximal). Il est certain qu'un procédé en deux étapes pourrait permettre l'utilisation d'autres types de contraintes, comme par exemple l'obtention d'une concentration spécifique en acétate afin de maximiser la production de méthane lors de l'étape de méthanisation ou celle d'hydrogène si une photofermentation est utilisée lors de la deuxième étape.

Par ailleurs, le recyclage de la sortie dans notre procédé n'a pas été jugé pertinent, puisque cela aurait uniquement impliqué l'augmentation du temps de séjour. De plus, dans la littérature, une diminution de la production d'hydrogène a été reportée du fait de la ré-introduction des micro-organismes consommateurs d'hydrogène (Kraemer, 2004).

Bien que cela n'ait été qu'évoqué pour garder une certaine homogénéité au manuscrit, différents capteurs en ligne ont également été testés afin d'acquérir des mesures des concentrations en phase liquide, utiles pour la commande. Dans ce cadre, des expériences complémentaires ont été réalisées pour évaluer la faisabilité et l'intérêt de la spectrométrie Proche Infrarouge et de la conductivité électrique. La spectrométrie Proche Infrarouge ayant démontré sa grande pertinence pour suivre l'évolution de la biomasse et potentiellement les concentrations en butyrate, une thèse va s'initier sur ce sujet à partir d'Octobre 2007. Les

mesures de conductivité ont quant à elles seulement donné une information globale de l'évolution de la concentration en acides gras volatils sans pouvoir malheureusement distinguer les compositions spécifiques de chaque acide. La mesure de conductivité étant une mesure fiable, robuste et peu onéreuse, des travaux complémentaires sont tout de même en cours sur ces aspects.

Enfin, il est à noter que cette étude était la première à combiner deux aspects importants de l'Automatique – *i.e.*, les observateurs et la commande en boucle fermée – pour optimiser la production de l'hydrogène mais nous espérons que les résultats obtenus au cours de cette thèse permettront de motiver des travaux complémentaires dans cette direction.

De notre point de vue, les perspectives envisageables à ce travail offrent en effet plusieurs possibilités :

- Faire de nouveaux calculs économiques dans un contexte "Analyse des Cycles de Vie" en utilisant d'autres variables plus spécifiques afin de mieux évaluer l'importance d'autres technologies, telles que la pile à combustible qui peut améliorer les rendements de conversion en électricité.
- Développer une méthode qui soit capable de lier les approches micro et macroscopique pour trouver un schéma réactionnel à partir des analyses thermodynamiques et des données expérimentales. Cela permettrait en effet de développer un modèle dynamique plus complet sur la production de l'hydrogène. Cette piste est d'ailleurs explorée dans le cadre d'une thèse initiée récemment au laboratoire.
- Améliorer l'estimation en ligne des concentrations de la phase liquide. Il est en effet possible d'imaginer l'utilisation des outils mathématiques capables d'intégrer toute l'information générée par les différentes mesures (la spectrométrie Proche Infrarouge et les mesures de conductivité) à l'aide d'observateurs d'états. Cela permettrait d'avoir de



meilleures conditions initiales pour les prédictions de la commande et la possibilité d'appliquer des méthodes de surveillance et de diagnostic en ligne très performantes.

- Utiliser des observateurs d'états qui permettraient de régler la vitesse de convergence de manière indépendante du taux de dilution. Cela permettrait d'avoir de meilleurs résultats pour appliquer des schémas de commande en ligne encore plus efficaces.
- Développer un observateur des entrées du procédé en s'assurant que la dynamique interne a été prise en compte. Cela aiderait aussi à avoir de meilleures prédictions. De plus, l'observation de la concentration de l'alimentation pourrait être utilisée comme indicateur précoce de changement de l'alimentation.
- Appliquer la loi de commande sur un procédé en plusieurs étapes (*i.e.*, acidogénèse + méthanogénèse, acidogénèse + photofermentation, etc). Cela permettrait l'utilisation d'autres contraintes dans l'algorithme d'optimisation comme la maximisation du débit d'hydrogène pour une concentration donnée en acétate. Cela permettrait également de maximiser la production d'hydrogène à l'aide d'une photofermentation lors de la deuxième étape. Il est par ailleurs possible d'imaginer la méthanisation comme deuxième étape. De cette façon, une optimisation en deux étapes est envisageable avec des contraintes qui maximiseraient le débit d'hydrogène et qui donneraient une concentration optimale en méthane. Ces aspects, liés à la robustesse de l'installation globale et à la diversité microbienne, comme suggéré par nos mesures de Biologie Moléculaire, seraient assurément très intéressants à étudier d'un point de vue méthodologique et applicatif.
- Finalement, démontrer la faisabilité industrielle par une action d'envergure qui associerait les piles à combustible pour produire de l'électricité. Cela permettrait également d'appliquer des schémas d'observation et de commande pour éviter la présence de composés toxiques pour les piles à combustible comme le CO<sub>2</sub>.

Pour conclure, nous espérons que cette étude a contribué à améliorer les connaissances sur la production anaérobie de l'hydrogène et en paraphrasant Jules Verne, nous sommes convaincus que l'hydrogène deviendra dans l'avenir une source inépuisable et « propre » d'énergie :

*«Je crois qu'un jour l'hydrogène et l'oxygène, qui forment l'eau, seront employés seuls ou ensemble comme une source inépuisable de chaleur et lumière.»*

Jules Verne, L'Île Mystérieuse, 1874.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Archer, D. B., M. G. Hilton, P. Adams and H. Wiecko (1986). "Hydrogen as a process control in a pilot scale anaerobic digester,." Biotechnology Letters 8(3): 197-202.
- Batstone, D. J., J. Keller, I. Angelidaki, S. V. Kalyuzhnyi, S. G. Pavlostathis, A. Rozzi, W. T. M. Sanders, H. Siegrist and V. A. Vavilin (2002). "The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1)." Water Science and Technology 45(10): 65-73.
- Bernard, O. and G. Bastin (2004). "Identification of reaction networks for bioprocesses: determination of a partially unknown pseudo-stoichiometric matrix." Bioprocess and Biosystems Engineering 27(5): 293-301.
- Bernard, O. and G. Bastin (2005). "On the estimation of the pseudo-stoichiometric matrix for macroscopic mass balance modelling of biotechnological processes." Mathematical Biosciences 193(1): 51-77.
- Bjornsson, L., M. Murto, T. G. Jantsch and B. Mattiasson (2001). "Evaluation of new methods for the monitoring of alkalinity, dissolved hydrogen and the microbial community in anaerobic digestion." Water Research 35(12): 2833-2840.
- Floquet, T. and J.-P. Barbot (2006). "State and unknown input estimation for linear discrete-time systems." Automatica 42(11): 1883-1889.
- Guwy, A. J., F. R. Hawkes, D. L. Hawkes and A. G. Rozzi (1997). "Hydrogen production in a high rate fluidised bed anaerobic digester." Water Research 31(6): 1291-1298.
- Ha, Q. P. and H. Trinh (2004). "State and input simultaneous estimation for a class of nonlinear systems." Automatica 40(10): 1779-1785.
- Kraemer, J. T. (2004). "Effects of Methanogenic Effluent Recycle on Fermentative Hydrogen Production." University of Toronto.
- Li, C. and H. H. P. Fang (2007). "Fermentative Hydrogen Production From Wastewater and Solid Wastes by Mixed Cultures." Critical Reviews in Environmental Science and Technology 37(1): 1-39.
- Nordberg, T. P. and I. Gustafsson (2006). "Dynamic regularization of input estimation problems by explicit block inversion." Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering 195(44-47): 5877-5890.
- Pauss, A., C. Beauchemin, R. Samson and S. R. Guiot (1990). "Continuous measurement of dissolved H<sub>2</sub> in an anaerobic reactor using a new hydrogen/air fuel cell detector." Biotechnology and Bioengineering 35: 492-501.

- Pauss, A. and S. R. Guiot (1993). "H<sub>2</sub> monitoring in methanogenic sludge-bed reactors at various hydraulic regime and loading rate." Water Environ. Res. 65(3): 276-280.
- Pillonetto, G. and M. P. Saccomani (2006). "Input estimation in nonlinear dynamical systems using differential algebra techniques." Automatica 42(12): 2117-2129.
- Strong, G. E. and R. Cord-Ruwisch (1995). "An in situ dissolved-hydrogen probe for monitoring anaerobic digesters under overload conditions." Biotechnology and Bioengineering 45: 63-68.
- Theilliol, D., J.-C. Ponsart, J. Harmand, C. Join and P. Gras (2003). "On-line estimation of unmeasured inputs for anaerobic wastewater treatment processes." Control Engineering Practice. Special Section on Algorithms and Applications of Iterative Feedback Tuning 11(9): 1007-1019.
- Zhang, Z.-P., K.-Y. Show, J.-H. Tay, D. T. Liang, D.-J. Lee and W.-J. Jiang (2006). "Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community." Process Biochemistry. From Biochemical Engineering to Systems Biology - In honour of Dr. Wolf-Dieter Deckwer 41(10): 2118-2123.

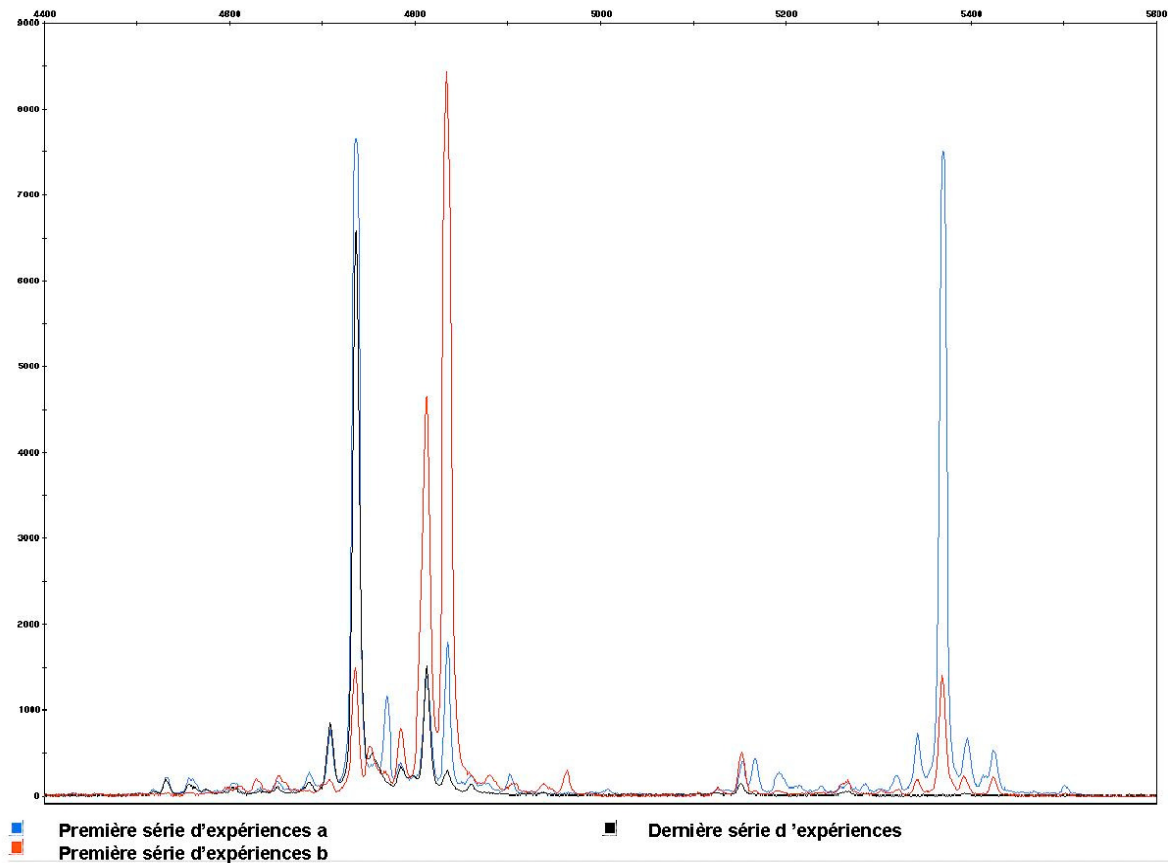


# Annexe I



## ANNEXE I ANALYSE D'ELECTROPHORESE SSCP

La figure IV.1 montre l'analyse des communautés microbiennes par électrophorèses SSCP qui ont été faite aux cours des premières et dernières expériences. Dans cette figure nous pouvons constater qu'il y a eu une diminution dans la complexité microbienne entre les premières et dernières expériences, passant d'environ onze espèces majoritaires à seulement cinq espèces.



**Figure IV.1** Analyse des communautés microbiennes par électrophorèse SSCP



## RESUME

Au cours de ce travail, une étude bibliographique a été effectuée sur la problématique de la production de l'hydrogène et sur divers aspects de l'Automatique: modélisation, estimation et commande. Elle a été complétée par un article de synthèse sur les procédés de production de biogaz. Nous avons souligné qu'actuellement, il y avait une sous-production de biogaz estimée entre 25 et 40%. L'optimisation de ces procédés doit donc accroître leur rentabilité et éviter leur dépendance vis-à-vis des politiques de prix de rachat des bioénergies. Par ailleurs, un comparatif technico-économique a démontré l'avantage du procédé en deux étapes ( $H_2+CH_4$ ) par rapport au procédé produisant uniquement du méthane.

A partir de données expérimentales obtenues sur mélasses industrielles, une matrice de pseudo-stœchiométrie de la production d'hydrogène a été déterminée à l'aide d'une analyse en composantes principales (ACP) des flux de métabolites. Les coefficients de la matrice ont été estimés avec une optimisation non-linéaire garantissant des vitesses de réaction positives. Cette méthode utilise les vecteurs propres de l'ACP et un algorithme de programmation quadratique séquentielle. Nous avons ensuite proposé et validé un modèle dynamique basé sur cette matrice de pseudo-stœchiométrie. Les coefficients, dépendants du pH, ont été re-estimés autour d'un pH de 5,5 et des valeurs très proches des valeurs théoriques ont été obtenues. La validation du modèle a également été réalisée sur des données issues de la littérature. Finalement, l'optimisation de la production d'hydrogène a été possible en utilisant une loi de commande prédictive à l'aide d'observateurs asymptotiques et d'un observateur d'entrée. Ces observateurs généraient les conditions initiales pour faire les prédictions sur une fenêtre glissante de 3,5 h. Ce faisant, nous avons presque doublé la production d'hydrogène en passant de 360 à 630 ml- $H_2$ .h<sup>-1</sup> tout en garantissant un rendement de conversion du substrat supérieur à 95%.

---

### TITLE

**Modeling, estimation and control of anaerobic digestion processes for optimal hydrogen production**

---

### ABSTRACT

During this study, a bibliographic review on hydrogen production has been performed together with applied mathematics considerations such as modelling, estimation and control. This has been combined with a survey paper on biogas production which showed that nowadays, biogas is under produced by 25 to 40%. Optimisation of industrial biogas processes has thus a great potential and should provide a better economy of these plants, independent of political decisions. Moreover, a techno-economical comparison demonstrated the benefits of a 2-step process ( $H_2+CH_4$ ) compared to the classical 1-step methane production.

From experimental data obtained using industrial molasses, a pseudo-stoichiometric matrix of hydrogen production has been determined based on a Principal Component Analysis (PCA) of the metabolites fluxes. Coefficients of the matrix were identified from a non linear optimisation that guaranteed positive reaction rates. This procedure used the eigen vectors of the PCA combined with a sequential quadratic programming algorithm. A dynamic mass balanced model was then proposed based on the stoichiometric matrix and models parameters were identified for pH values around 5.5. Values very close to theoretical ones were obtained and the model was validated using experimental data from our lab scale process and from different data found in the literature. Finally, hydrogen production was optimised using a predictive control law using asymptotic and an input observers. These observers were used to generate the initial conditions and a predictive horizon of 3.5 h. was chosen. Experiments demonstrated that hydrogen production could be almost doubled (360 to 630 ml- $H_2$ .h<sup>-1</sup>) while keeping substrate conversion higher than 95%.

---

DISCIPLINE : Génie des Procédés

---

MOTS-CLES : Biohydrogène, digestion anaérobie, modélisation, commande prédictive, observateurs, estimation

---

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE : INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Avenue des Etangs, Narbonne, F-11100, France