

# *Aspects biochimiques et microbiologiques de la méthanisation*

*Jean-Jacques Godon*

La transformation du carbone organique en gaz carbonique et méthane, en condition anaérobie, par des organismes vivants, est un des plus anciens métabolismes. Cette réaction devait être présente dans la biosphère avant l'apparition massive de l'oxygène alors que la Terre n'était encore qu'un monde réducteur. Elle joua et continue à jouer un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques, notamment dans celui du carbone mais aussi ceux du soufre et de l'hydrogène. Cette fermentation se réalise spontanément dans des écosystèmes naturels, où la matière organique est présente dans un milieu anaérobie et dans des conditions compatibles avec l'expression du vivant. Ces communautés microbiennes méthanogènes se retrouvent ainsi dans les marais, les rizières, les sédiments lacustres et marins, le sol, l'intestin de mammifères, le tractus intestinal de certains termites.

Si Volta (1745-1872) montre en 1776 la combustion du gaz des marais, le rôle des micro-organismes dans ce processus est découvert bien plus tard. Cette minéralisation du carbone est le fruit d'un extraordinaire travail collectif et successif de nombreuses populations de micro-organismes. C'est, du point de vue biochimique, une succession de réactions chimiques catalysées par des enzymes produits par différents organismes vivants.

Ce procédé biologique essentiel a été et est encore utilisé de façon empirique. Pour mieux le comprendre, il a fallu décrire les réactions chimiques, identifier les micro-organismes qui les réalisent, enfin comprendre les interactions qui règlent la vie de ces micro-organismes. C'est un vaste chantier de recherche faisant intervenir plusieurs sciences et qui est loin d'être achevé.

Si l'on se place au niveau des réactions enzymatiques majoritaires mises en œuvre, notre niveau de compréhension est assez grand. En revanche, pour savoir quels microbes expriment ces enzymes et comment ils les expriment, notre connaissance est encore parcellaire. Enfin, pour appréhender comment l'ensemble de ces microbes (acteurs, prédateurs, etc.) interagissent, nos savoirs sont encore bien limités. Ainsi, on connaît ce qui se fait, qui est là, mais on comprend encore mal qui fait quoi.

Cet article présente les réactions biochimiques génériques à la digestion anaérobie, puis les micro-organismes acteurs en fonction des paramètres environnementaux. Enfin sera abordée l'écologie de ces micro-organismes (interactions positives, négatives, conditions de survie, prédation, virus, etc.).

## 1. ■ Les réactions enzymatiques (la biochimie)

Lors de la digestion anaérobie, les réactions enzymatiques orientent les flux métaboliques (essentiellement le flux de carbone) de molécules complexes vers une minéralisation (méthane et  $\text{CO}_2$ ) (figure 2.1).

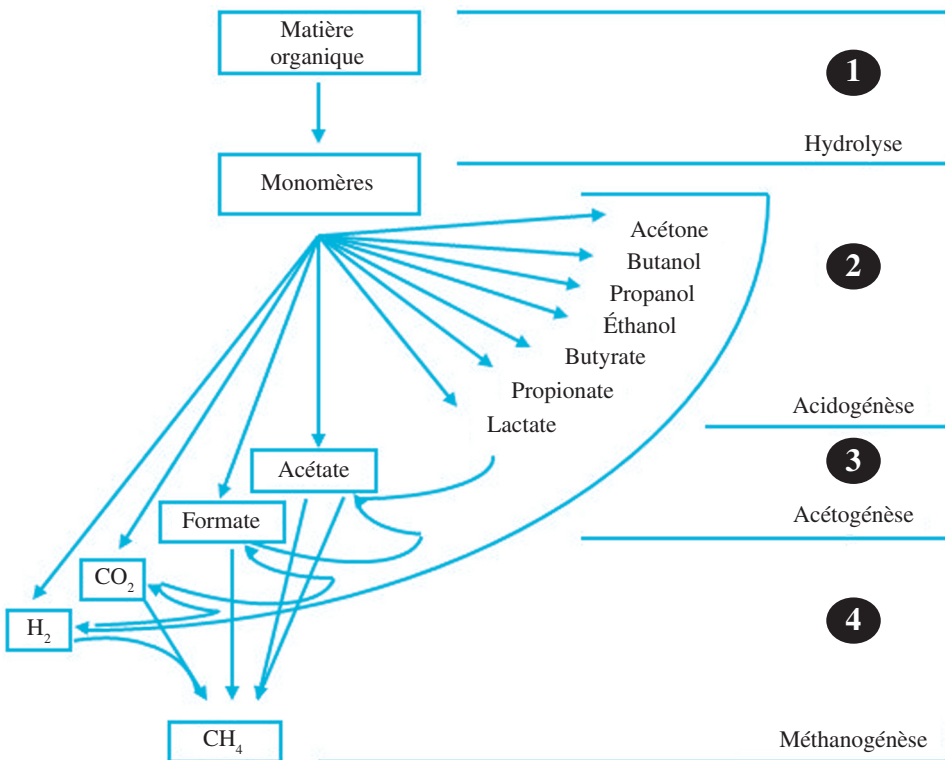
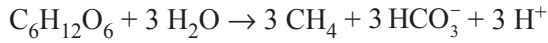


Figure 2.1. Grandes étapes de la digestion anaérobie. D'après (Garcia, 1990).

La réaction totale peut s'écrire ainsi :



Cette combustion du carbone est classiquement divisée en quatre étapes.

## 1.1. Les grandes étapes de la digestion anaérobie

Le tableau 2.I résume les équations des principales réactions ainsi que l'énergie libre associée.

### 1.1.1. L'hydrolyse

Au cours de cette étape, les molécules organiques de haut poids moléculaire comme les polysaccharides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques sont hydrolysées en monomères (monosaccharides comme le glucose, acides

**Tableau 2.I.** Réactions métaboliques principales de la digestion anaérobie à partir du glucose (Thiele, 1991).

Réaction		$\Delta G^\circ$ (kJ/réaction)
Réactions d'hydrolytiques et d'acidogénèses		
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2 \text{H}_2\text{O}$	$\rightarrow 2 \text{éthanol} + 3 \text{HCO}_3^- + 2 \text{H}^+$	-225,4
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	$\rightarrow 2 \text{lactate}^- + 2 \text{H}^+$	-198,1
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2 \text{H}_2\text{O}$	$\rightarrow \text{butyrate}^- + 2 \text{HCO}_3^- + 3 \text{H}^+ + 2 \text{H}_2$	-254,4
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	$\rightarrow 3 \text{acétate}^- + 3 \text{H}^+$	-310,6
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{HCO}_3^-$	$\rightarrow \text{succinate}^{2-} + \text{acétate}^- + \text{formiate}^- + 3 \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-144,0
$3 \text{lactate}^-$	$\rightarrow 2 \text{propionate}^- + \text{acétate}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	-164,8
Réactions d'hydrolytiques et d'acétogénèses		
$\text{lactate}^- + 2 \text{H}_2\text{O}$	$\rightarrow \text{acétate}^- + 2 \text{H}_2 + 3 \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	-3,9
$\text{éthanol} + 2 \text{HCO}_3^-$	$\rightarrow \text{acétate}^- + 2 \text{formiate}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	+7,0
$\text{éthanol} + 2 \text{H}_2\text{O}$	$\rightarrow \text{acétate}^- + 2 \text{H}_2 + \text{H}^+$	+9,6
$\text{butyrate}^- + 2 \text{H}_2\text{O}$	$\rightarrow 2 \text{acétate}^- + 2 \text{H}_2 + 3 \text{H}^+$	+48,1
$\text{propionate}^- + 3 \text{H}_2\text{O}$	$\rightarrow \text{acétate}^- + 3 \text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	+76,1
Réaction d'homoacétogénèse		
$4 \text{H}_2 + 2 \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	$\rightarrow \text{acétate}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-104,6
Réactions de méthanogénèses		
$\text{Acétate}^- + \text{H}_2\text{O}$	$\rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31,0
$4 \text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	$\rightarrow \text{CH}_4 + 3 \text{H}_2\text{O}$	-135,6
$4 \text{formiate}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	$\rightarrow \text{CH}_4 + 3 \text{HCO}_3^-$	-130,4

gras, acides aminés et bases azotées). Cette étape est généralement lente tandis que l'acidogénèse, l'étape suivante, est 30 à 40 fois plus rapide [1].

### 1.1.2. L'acidogénèse

Au cours de l'étape d'acidogénèse, les monomères issus de l'étape d'hydrolyse sont transformés en acides gras volatils (ex : acétique, propionique, butyrique, valérique), en alcool (ex : éthanol), en acides organiques (ex : lactique) et en hydrogène et dioxyde de carbone (tableau 2.I).

### 1.1.3. L'acétogénèse

L'étape d'acétogénèse permet la transformation des différents composés issus des phases précédentes en précurseurs directs du méthane : l'acétate, l'hydrogène et le gaz carbonique.

Cette transformation peut s'effectuer par deux voies. Il s'agit : soit d'une voie hétérofermentaire qui conduit en outre à la production d'hydrogène, de dioxyde de carbone et d'autres acides tels que le pyruvate, le butyrate et le propionate ; soit d'une voie homoacétogène produisant exclusivement de l'acétate, à partir de molécules organiques [2, 3] ou à partir des produits finaux de fermentation (formate et H<sub>2</sub>) pour réduire le CO<sub>2</sub> en acétate.

La thermodynamique des réactions est défavorable ( $\Delta G^0 > 0$ ) dans les conditions standards (concentration des réactifs = 1M ; pression des gaz = 1 atm) (tableau 2.II). Elles ne deviennent possibles qu'avec des pressions partielles d'H<sub>2</sub> très faibles, de l'ordre de 10<sup>-4</sup> à 10<sup>-6</sup> atm. L'accumulation d'hydrogène conduit à l'arrêt de l'acétogénèse [4, 5, 6, 7] (tableau 2.II). Ceci implique la nécessité d'une élimination constante de l'hydrogène produit. Cette élimination peut être réalisée lors de l'étape de méthanogénèse.

### 1.1.4. La méthanogénèse

Lors de cette dernière étape de minéralisation, les produits de l'acétogénèse (essentiellement acétate, formate, dioxyde de carbone et hydrogène) sont transformés en méthane. Deux types de réaction peuvent être distingués : la transformation du

**Tableau 2.II.** Équation et énergie libre des réactions de dégradation anaérobie de l'éthanol, du propionate et du butyrate.

Réaction	$\Delta G^0$ (kJ)	ppH <sub>2</sub> (atm) à partir de laquelle $\Delta G^{*'} < 0$
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	+ 9,65	< 10 <sup>-1</sup>
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 3\text{H}_2 + \text{CO}_2$	+ 71,67	< 3 × 10 <sup>-5</sup>
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	+ 48,10	< 6 × 10 <sup>-5</sup>

Les valeurs de  $\Delta G^0$  sont calculées à partir des enthalpies libres de formation des composés données par (Thauer et al., 1977) ;  $\Delta G^{*'}$  est calculée en modifiant seulement la pression partielle en H<sub>2</sub> par rapport à  $\mu\text{G}^*$ .

dioxyde de carbone et de l'hydrogène, et celle de l'acétate et de l'hydrogène (tableau 2.III). La voie acétoclastique peut utiliser d'autres métabolites tels que le formate, le méthanol et les méthylamines. Le tableau 2.III présente l'ensemble des réactions.

### 1.1.5. Les autres réactions

#### 1.1.5.1. La sulfato-réduction

Un ensemble important de réactions biochimiques permet la transformation de l'acétate, de l'éthanol, du propionate et du butyrate en utilisant le sulfate comme source d'énergie. Certaines réactions peuvent aussi oxyder l'hydrogène et le thiosulfate. Le tableau 2.IV résume ces réactions.

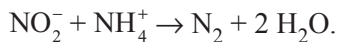
#### 1.1.5.2. Les réactions associées à l'azote

Deux réactions du cycle de l'azote peuvent se produire en condition anaérobie :

– la dénitrification :



– l'oxydation anaérobie de l'ammonium (anammox) :



#### 1.1.5.3. Les réactions minoritaires

Un certain nombre de molécules « xénobiotiques », de « micropolluants », peut être hydrolysé en condition anaérobie. Ces réactions minoritaires mais

**Tableau 2.III.** Réactions de méthanogénèse et variation d'énergie libre standard.

Réaction		$\Delta G^\circ$ à pH 7 KJ·Mole <sup>-1</sup> de CH <sub>4</sub>
4 H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	→ CH <sub>4</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	- 139,2
4 HCOO <sup>-</sup> + 2 H <sup>+</sup>	→ CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- 126,8
HCOO <sup>-</sup> + 3 H <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	→ CH <sub>4</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	- 134,3
4CO + 2 H <sub>2</sub> O	→ CH <sub>4</sub> + 3 CO <sub>2</sub>	- 185, 1
4 CH <sub>3</sub> OH	→ 3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	- 102,5
CH <sub>3</sub> OH + H <sub>2</sub>	→ CH <sub>4</sub> + H <sub>2</sub> O	- 121,1
4 CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O + 4 H <sup>+</sup>	→ 3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 4 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- 101,6
2 (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH + 2 H <sub>2</sub> O + 2 H <sup>+</sup>	→ 3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- 86,3
4 (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N + 6 H <sub>2</sub> O + 4 H <sup>+</sup>	→ 9 CH <sub>4</sub> + 3 CO <sub>2</sub> + 4 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- 80,2
2 CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> - N (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	→ 3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	- 70
CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> + H <sub>2</sub> O	→ CH <sub>4</sub> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- 28,2

**Tableau 2.IV.** Données thermodynamiques sur la sulfato-réduction (Stams *et al.*, 2005).

Réaction	$\Delta G_0'$ (kJ)
Oxydation de l'acétate $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightleftharpoons 2 \text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47,6
Oxydation de l'éthanol $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \frac{1}{2} \text{SO}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{1}{2} \text{HS}^- + \frac{1}{2} \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-46,5
Oxydation du propionate $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + \frac{3}{4} \text{SO}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{3}{4} \text{HS}^- + \frac{1}{4} \text{H}^+$	-37,7
Oxydation du butyrate $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + \frac{1}{2} \text{SO}_4^{2-} \rightleftharpoons 2 \text{CH}_3\text{COOH} + \frac{1}{2} \text{HS}^- + \frac{1}{2} \text{H}^+$	-27,8
Oxydation de l'hydrogène $4 \text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HS}^- + 4 \text{H}_2\text{O}$	-151,9
Oxydation du thiosulfate $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{SO}_4^{2-} + \text{HS}^- + \text{H}^+$	-22
$4 \text{SO}_3^{2-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons 3 \text{SO}_4^{2-} + \text{HS}^-$	-236

Les valeurs de  $\Delta G_0'$  sont calculées à partir des enthalpies de formation des composés données par (Thauer *et al.*, 1997).

importantes pour le traitement de la pollution ont lieu durant le processus de digestion anaérobie [8].

## 1.2. Les conditions physico-chimiques

Les réactions enzymatiques précédemment décrites peuvent se réaliser dans une gamme relativement large de conditions physico-chimiques.

### 1.2.1. Potentiel redox

Le potentiel redox définit un milieu anaérobie, les valeurs de -300 à -500 mV sont généralement admises [9]. Les  $\Delta G$  et les demi-couples possibles d'oxydo-réduction associée au potentiel redox (Eh) sont indiqués sur la figure 2.2.

### 1.2.2. Accepteurs d'électrons

Avec une valeur du potentiel redox, la thermodynamique permet l'utilisation de certains couples d'accepteurs d'électron. Par valeurs décroissantes, ce sont successivement le nitrate, le manganèse, le fer et le sulfate (figure 2.2). Très peu solubles, fer et manganèse ne sont pas les accepteurs majeurs. Le  $\text{CO}_2$  sert d'accepteur final d'électron lors de l'étape de méthanogénèse avec principalement l'acétate et l'hydrogène comme donneurs d'électrons.