

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC EN ABITIBI-TÉMISCAMINGUE

LA BIOMÉTHANISATION DE FUMIER DE BOVIN À UNE
TEMPÉRATURE PSYCHROTROPHE

THÈSE

PRÉSENTÉE

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DU DOCTORAT EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PIERRE J. RIVARD

FÉVRIER 2015



BIBLIOTHÈQUE

Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue
Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

Mise en garde

La bibliothèque du Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue et de l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue a obtenu l'autorisation de l'auteur de ce document afin de diffuser, dans un but non lucratif, une copie de son œuvre dans Depositum, site d'archives numériques, gratuit et accessible à tous.

L'auteur conserve néanmoins ses droits de propriété intellectuelle, dont son droit d'auteur, sur cette œuvre. Il est donc interdit de reproduire ou de publier en totalité ou en partie ce document sans l'autorisation de l'auteur.

Warning

The library of the Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue and the Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue obtained the permission of the author to use a copy of this document for non-profit purposes in order to put it in the open archives Depositum, which is free and accessible to all.

The author retains ownership of the copyright on this document. Neither the whole document, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVANT-PROPOS

Je me suis intéressé à la biométhanisation à l'époque où j'ai réalisé mon baccalauréat en génie rural il y a plus de 25 années. J'étais alors intéressé par le sujet des énergies renouvelables et des systèmes autarciques en agriculture. Je me souviens d'être tombé sur un article écrit par un chercheur canadien qui avait évalué la technique de la digestion anaérobie en agriculture et ne recommandait pas son application pour des raisons de faibles rendements énergétiques. J'ai toujours conservé un intérêt pour ce sujet. En 2002, alors que je faisais un voyage dans l'Ouest canadien j'ai rencontré un groupe d'industriels dans le domaine du béton et des producteurs de bovin de boucherie qui faisaient la promotion de cette technique dans cette partie du pays. On définit la biométhanisation comme une technique de traitement des matières organiques à bilan énergétique normalement positif. Cette technologie a été utilisée par le passé d'abord comme traitement des eaux usées à fortes charges organiques. Elle est aujourd'hui de plus en plus utilisée à travers le monde pour le traitement des déjections animales, des résidus de culture, des déchets municipaux organiques et de boues usées municipales.

Cette technologie s'adresse principalement aux éleveurs qui possèdent un gros cheptel d'animaux, mais pourrait s'étendre à des élevages de plus petites dimensions. C'est plutôt cet aspect qui m'a intéressé au départ, faire de la recherche afin de développer cette technique et l'adapter aux productions existantes. Tenir compte de leur gestion quotidienne et des différentes échelles de dimensions de ferme que l'on retrouve en agriculture. Je me suis surtout concentré sur la production bovine puisque c'est un secteur important dans la région où je vis. Comme la majorité des

producteurs de bovin de boucherie gèrent le fumier de leurs animaux sous forme solide, j'ai proposé à mon directeur de thèse d'étudier le sujet sous cet angle. La maturité de cette technique pour le traitement de déchets agricoles solides n'est pas encore atteinte à ce jour. J'estime que par la recherche et le développement, cette technique devrait s'adapter au traitement de plus petit volume. Elle s'adresse aujourd'hui plutôt à un collectif d'agriculteurs qui regrouperaient ses effluents ou à des porteurs de projets individuels, capables de mobiliser des volumes importants et des coproduits conséquents pour lesquels ils reçoivent un prix pour les traiter.

J'ai écrit cette thèse de doctorat en deux parties. Le premier chapitre est une revue de la littérature qui vise à permettre au lecteur d'avoir une vue d'ensemble de la technique de biométhanisation : l'importance que revêt cette technologie pour l'agriculture et l'environnement et les différents procédés et équipements qui ont été testés ou commercialisés pour réaliser la biométhanisation de différents types de déchets solides agricoles. Elle permet au lecteur de mieux comprendre les différents procédés qui se produisent à l'intérieur d'un digesteur anaérobie à l'aide de modèles stoechiométriques, de modèles mathématiques, de bilans et schémas d'écoulement. Ce chapitre a été écrit afin de placer les lecteurs, peu importe leur champ d'expertise, dans un meilleur esprit de connaissance par rapport à cette technologie peu connue. Les ingénieurs du génie civil ou agricole et les spécialistes en traitement des eaux usées et en biotechnologie sont habituellement les personnes les mieux informées dans ce domaine. J'ai écrit les trois chapitres suivants afin de décrire les expériences qui ont été réalisées sur la biométhanisation de déchets agricoles solides d'une ferme bovine typique. Les substrats utilisés (fumier de bovin, litière de paille, de bois ou de mousse de sphaigne) pour les expériences peuvent être considérés comme difficiles à dégrader principalement à cause de leur contenu en matériel lignocellulosique et les résultats permettent de mieux définir les paramètres à connaître afin d'utiliser ce type de matériel en digestion anaérobie psychrotrophe. Des recherches sur la température utilisée lors des expériences ont été peu documentées pour ce type de matériel et ces

données peuvent être utiles pour les recherches futures dans ce domaine ou dans le domaine de l'agroenvironnement. Ces chapitres ont été écrits afin d'être publiés sous la forme d'articles scientifiques, mais n'ont pas encore été soumis pour être publiés. Leurs contenus décrivent les différentes méthodes utilisées et discutent des résultats et conclusions tirées de ces expériences pour chacun des chapitres. Le dernier chapitre traite des perspectives de recherches et comporte une conclusion générale afin d'aider le lecteur à mieux saisir les liens qui existent entre les différentes expériences et de quelle façon elles peuvent servir à la compréhension du but de cette recherche. Ces chapitres ont été écrits avec la collaboration de mon directeur de thèse Dr Pascal Drouin et mon codirecteur de thèse Dr Daniel I. Massé.

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier Dre Carole Lafrenière, qui m'a fait confiance et m'a ouvert la porte à un domaine que je chérirai le restant de mes jours : la recherche scientifique. Je remercie Dr Daniel I. Massé qui m'a toujours été de conseils justes, éclairés et intelligents. Je remercie également Dr Pascal Drouin d'avoir réussi à insuffler l'énergie dont j'avais parfois besoin pour perfectionner mon travail. Je garde mes remerciements les plus tendres et chaleureux à tous les membres de ma famille qui définissent ma raison de donner toujours le meilleur de mon être et qui m'apportent, chaque jour, les meilleurs enseignements que la vie puisse vous offrir. Peu importe le projet, chaque partie est importante sans quoi le tout n'existerait pas, du moins sous la forme que nous connaissons, et c'est une raison pour laquelle les remerciements sont placés au début d'un manuscrit, d'un roman, d'une thèse ou de tout autre travail important auquel une personne aura consacré une partie de ses efforts, son temps, ses énergies et sa vie. Les remerciements, sans être gratuits, gratifie de la pensée la plus pure qui soit et remets par ce geste un don que l'on a déjà reçu, qui fût donné avec générosité et qui a fait une différence aussi petite soit-elle. Ils cèlent les liens qui unissent différents collaborateurs autour d'un projet. Merci à vous pour cette collaboration !

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	ii
LISTE DES FIGURES.....	x
LISTE DES TABLEAUX	xiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES.....	xvi
RÉSUMÉ.....	xviii
ABSTRACT.....	xx
CHAPITRE I	
DIMINUER L'EMPREINTE ÉCOLOGIQUE DES FERMES BOVINES AU CANADA À L'AIDE DE LA BIOMÉTHANISATION.....	1
1.1 Résumé	1
1.2 Introduction.....	2
1.3 La production bovine au Canada.....	6
1.4 La gestion des déjections animales au Canada.....	8
1.5 Les éléments contenus dans les déjections animales.....	11
1.5.1 Les éléments inorganiques	11
1.5.2 Les éléments organiques.....	13
1.6 L'usage des déjections animales et l'environnement	15
1.6.1 Les effets sur le sol.....	15
1.6.2 Les effets sur l'eau.....	19
1.6.3 Les effets sur l'air.....	20
1.7 Les nouvelles approches environnementales.....	26
1.8 Description de la digestion anaérobie.....	33
1.8.1 Consortium bactérien.....	33
1.8.2 La température du traitement.....	49

1.8.3	Les procédés pour traiter les fumiers de bovins	52
1.9	Les modèles	60
1.9.1	Les équations stoechiométriques	60
1.9.2	Le modèle de Eastman et Furguson (1981).....	62
1.9.3	Le modèle de Pavlostathis et Gosset (1986).....	65
1.9.4	Le modèle de Angelidaki <i>et al.</i> , (1999).....	70
1.9.5	Le modèle « Anaerobic Digestion Model » (ADM1)	74
1.9.6	Modèle proposé pour le traitement de déchets solides en deux étapes	81
1.10	Conclusion	87
CHAPITRE II		
ESSAI DE DÉMARRAGE D'UN DIGESTEUR ANAÉROBIE		
PSYCHROTROPHE À L'AIDE DE LIQUIDE DU RUMEN DE BOVIN ET		
D'ORIGNAL ET SUIVI DES BACTÉRIES PATHOGÈNES CONTENUS		
DANS LE SUBSTRAT		
2.1	Résumé	91
2.2	Introduction.....	92
2.3	Objectifs spécifiques.....	95
2.4	Matériel et méthodes.....	96
2.4.1	Description des digesteurs	96
2.4.2	Essai 1 : Adaptation des populations microbiennes impliquées dans la digestion anaérobie en condition psychrotrophe.....	101
2.4.3	Essai 2 : Effet du gel (-20 °C) sur les microorganismes pathogènes dans les déjections de bovin de boucherie.....	105
2.4.4	Analyses des substrats	107
2.4.5	Rendement en biogaz des digesteurs anaérobies.....	108
2.4.6	Statistique	110
2.5	Résultats et discussion	111
2.5.1	Les paramètres physico-chimiques (essai 1).....	111
2.5.2	La production de biogaz	114
2.5.3	Évolution du pH et des AGV dans les digesteurs anaérobies	119

2.5.4	Les microorganismes pathogènes (essai 1)	128
2.5.5	Les microorganismes pathogènes (essai 2)	133
2.6	Conclusion du chapitre II.....	136
CHAPITRE III		
ESSAIS DE DIGESTION ANAÉROBIE À UNE TEMPÉRATURE		
PSYCHROTROPHE EN PROCÉDÉ DISCONTINU À DEUX ÉTAPES		
COMME STRATÉGIE DE DÉMARRAGE		
138		
3.1	Résumé	138
3.2	Introduction.....	139
3.3	Objectifs spécifiques.....	141
3.4	Matériel et méthodes.....	142
3.4.1	Description des digesteurs.....	142
3.4.2	Digestion anaérobie à une et deux étapes.....	144
3.4.3	Analyses des substrats	148
3.4.4	Production de biogaz et de méthane	149
3.4.5	Statistique	150
3.5	Résultats et discussion.....	151
3.5.1	Les paramètres physico-chimiques.....	151
3.5.2	La production de méthane	154
3.5.3	La demande chimique en oxygène	158
3.5.4	Évolution des AGV et du pH.....	161
3.5.5	Les microorganismes pathogènes.....	170
3.6	Conclusion du chapitre III	176
CHAPITRE IV		
LE POTENTIEL BIOMÉTHANIER DE TROIS TYPES DE LITIÈRES AVEC		
UN INOCULUM NON ADAPTÉ: INFLUENCE DES PARAMÈTRES		
PHYSICO-CHIMIQUES À UNE TEMPÉRATURE PSYCHROTROPHE		
DE 20 °C		
179		
4.1	Résumé	179
4.2	Introduction.....	180

4.3	Objectifs spécifiques.....	183
4.4	Matériel et méthodes.....	184
4.4.1	Description du dispositif expérimental.....	184
4.4.2	Échantillonnage et analyse chimique	186
4.4.3	Statistique	190
4.5	Résultats et discussions	191
4.5.1	Les paramètres physico-chimiques.....	191
4.5.2	La production de méthane	192
4.5.3	Le contenu en fibre lignocellulosique	199
4.6	Conclusion.....	206
CHAPITRE V		
CONCLUSION GÉNÉRALE DE LA THÈSE ET RETOUR SUR LES		
QUATRE EXPÉRIENCES.....		208
BIBLIOGRAPHIE		217

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Variations du nombre d'animaux par classes selon leur taille entre 1976 et 2006	7
1.2	Diagramme d'écoulement tel que proposé pour le modèle ADM1 pour la dégradation anaérobie des matières organiques complexes (Batstone <i>et al.</i> , 2002)	35
1.3	Comparaison de la croissance typique de deux organismes méthanogènes acétotrophes (Gujer et Zehnder, 1983).....	46
1.4	Photo de <i>Methanosarcina</i> regroupé en agrégats de 10 μm (Vavilin <i>et al.</i> , 2008).	47
1.5	Niche thermodynamique favorable pour la méthanogénèse réalisée à partir des équations du tableau 1.5 et l'énergie de Gibbs ΔG de ces réactions à un pH de 7 et une température de 25 °C (Harper et Pohland, 1986)	48
1.6	Digesteurs agricoles pilotes de type sac tubulaire pour ensilage (à gauche) et projet de la ferme Yttereneby (à droite) (Schäfer, Lehto et Teye, 2006).....	57
1.7	Digesteur anaérobie solide pilote (Ankom) testé avec du fumier sur litière profonde	58
1.8	Digesteur anaérobie vertical	59
1.9	Diagramme d'écoulement du modèle d'Eastman et Ferguson (1981).	64
1.10	Diagramme d'écoulement modèle de Massé (1995).....	67
1.11	Diagramme d'écoulement du modèle de Angelidaki <i>et al.</i> (1999)	72

Figure	Page
1.12	Diagramme d'écoulement du modèle ADM1 modifié pour la dégradation anaérobie de cultures énergétiques et de déchets agricoles, indiquent les modifications apportées au modèle de départ (Banks, 2004) 83
2.1	Schéma en coupe des DAS et DAL de laboratoire utilisés pour l'expérience 97
2.2	Photographie des digesteurs anaérobies en mode d'alimentation par lot discontinu séquentiel (volume de 18,3 L)..... 99
2.3	Moyenne de la production cumulée de biogaz en fonction de l'inoculum de liquide du rumen utilisé..... 116
2.4	Évolution du pH, des AGV, de la DCOs et de la production quotidienne de biogaz pour les deux types de liquide du rumen..... 125
2.5	Évolution des bactéries pathogènes mesurées dans les déjections animales (jour zéro) et le digestat et production de biogaz cumulé pour les deux types de liquide du rumen 129
3.1	Dispositif expérimental de l'expérience de digestion anaérobie à deux étapes. 145
3.2	Graphique de la production quotidienne de méthane, de la DCOs, des AGVt et du pH pour chaque traitement 156
3.3	Graphique de l'évolution du pH pour chaque traitement et pour les phases solides et liquides du traitement en deux phases..... 163
3.4	Graphique de la production de méthane, de la DCOs et des AGVt .. 172
3.5	Production cumulée du biogaz et dénombrement des bactéries pathogènes 173
4.1	Dispositif expérimental de l'essai 185
4.2.	Quantité de biogaz cumulée et contenu en méthane dans le biogaz produit pour chacune des phases solides et liquides et pour les quatre mélanges de litière traités par digestion anaérobie 195

Figure		Page
4.3	Graphique des courbes de production de méthane cumulée pour tous les traitements à partir de la régression non linéaire suivant une équation dynamique de premier ordre	197
4.4	Production de méthane cumulée (déjections de bœuf et litières) obtenue à partir des modèles de régression non linéaire établis sur deux périodes.....	201
4.5	Analyse en composantes principales sur les fibres contenues dans chacun des mélanges de litières utilisés comme substrat	205

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1	Caractéristiques des fumiers de vache de boucherie..... 12
1.2	Différents composés odorants contenus dans les déchets organiques et leurs caractéristiques physico-chimiques. 20
1.3	Émissions de différents gaz lors de l'entreposage de fumier..... 30
1.4	Produits de la dégradation du glucose 41
1.5	Produits de l'acétogénèse..... 44
1.6	Synthèse des bactéries 44
1.7	Équations stœchiométriques de la dégradation des substrats complexes et intermédiaires pour le procédé de digestion anaérobie 63
1.8	Liste des équations et variables du modèle d'Eastman et Furguson (1981)..... 65
1.9	Liste des symboles, des unités et la valeur des paramètres utilisés pour le modèle d'Eastman et Furguson (1981)..... 65
1.10	Liste des équations du modèle de Massé (1995) 68
1.11	Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle de Massé (1995)..... 69
1.12	Équations d'inhibition du procédé utilisées par le modèle de Angelidaki <i>et al.</i> (1999)..... 73
1.13	Liste des équations dynamiques du modèle de Angelidaki <i>et al.</i> (1999)..... 74
1.14	Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle de Angelidaki <i>et al.</i> (1999)..... 74
1.15a	Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle ADM1 de Batstone <i>et al.</i> (2002)..... 77

Tableau	Page
1.15b	Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle ADM1 de Batstone et al. (2002)..... 78
1.16	Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle pour les substrats solubles de Batstone <i>et al.</i> (2002)..... 79
1.17	Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle pour les substrats particuliers de Batstone <i>et al.</i> (2002) 80
2.1	Alimentation des digesteurs anaérobies à partir de l'introduction de l'inoculum 102
2.2	Échantillonnage des bouteilles (expérience 2) à partir de l'introduction du substrat (jour 0)..... 106
2.3	Caractéristiques physico-chimiques du liquide de rumen utilisé en tant qu'inoculum pour les digesteurs (6 échantillons) 111
2.4	Caractéristiques physico-chimiques des déjections animales utilisées et du digestat à la fin de l'expérience 112
2.5	Suivi du pH du digestat pendant toute la durée de l'adaptation microbienne 120
2.6	Suivi des AGV pour les digesteurs anaérobies démarrés à l'aide du liquide de rumen de bovin et d'orignal..... 124
2.7	Caractéristiques physico-chimiques des déjections de bovin utilisées pour l'essai 2..... 133
2.8	Résultats des dénombrements bactériens et de la concentration de méthane mesurée dans les bouteilles contenant les déjections de bovin utilisées pour l'essai 2..... 135
3.1	Alimentation des digesteurs anaérobies sur une base hebdomadaire..... 146
3.2	Principaux paramètres de l'inoculum, de substrat (fumier) et des digestats 152
3.3	Échelle des paramètres utilisée pour vérifier le modèle de Massé (1995)..... 169
4.1	Alimentation des DAS pour les différents mélanges de litières 187

Tableau		Page
4.2	Paramètres chimiques de l'inoculum, du digestat solide à la fin de l'essai et des substrats	193
4.3	Paramètres de rendement et constante de production de méthane....	199

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

GES	Gaz à effet de serre
MAPAQ	Ministère de l'agriculture des pêcheries et de l'alimentation du Québec
MDDELCC	Ministère du développement durable de l'environnement et de la limite aux changements climatiques
ASAE	American society of agricultural engineers
SF	Streptocoques fécaux
CT	Coliformes totaux
EC	<i>Escherichia coli</i>
P	Phosphore
P total	Phosphore total
N	Azote
N total	Azote total Kjeldahl
NH ₄ ⁺	Azote ammoniacal
Ca	Calcium
Mg	Magnésium
K	Potassium
SV	Solides volatils
ST	Solides totaux

AGV	Acides gras volatils
COV	Composés organiques volatils
GIEC	Groupe intergouvernemental sur l'évolution du climat
<i>P</i>	Probabilité
DAS	Digesteur anaérobie en phase solide
DAL	Digesteur anaérobie en phase liquide

RÉSUMÉ

Pour réaliser cette étude, quatre expériences ont été réalisées : 1) démarrage de la biométhanisation, à température psychrotrophe, à l'aide de liquide du rumen provenant d'un bovin et celui d'un orignal; 2) mesurer les quantités de bactéries pathogènes contenues dans des fumiers solides de bovin de boucherie soumis à différentes conditions de température (-20 à 20 °C) et de traitements anaérobies; 3) démarrage à l'aide d'une technique de digestion anaérobie en lot discontinu à une et deux étapes et les comparer; 4) évaluer la digestion anaérobie de différents mélanges de litières (bois, paille d'avoine et mousse de sphaigne) afin de mesurer leur production de méthane et leur niveau de dégradation après leur traitement. Cette recherche visait à explorer des solutions agroenvironnement pour les producteurs de bovins de boucherie. Cette recherche a permis de développer un nouveau procédé de biométhanisation destiné au traitement des matières organiques sous une texture solide. La biométhanisation ou digestion anaérobie est un procédé biologique de dégradation de la matière organique qui se réalise en absence d'oxygène et produit du biogaz contenant principalement du méthane (CH₄), du dioxyde de carbone (CO₂) et dans une plus faible proportion du H₂S et d'autres types de gaz (H₂, N₂, NH₃, SO₄²⁻) (Degrémont, 2005). La production de méthane à partir de déchets solides a fait l'objet de peu de recherche jusqu'à maintenant en agriculture. Les objectifs de cette recherche étaient d'étudier la biométhanisation, à des températures psychrotropes, comme technique de stabilisation pour le fumier de bovin de boucherie et évaluer la production de méthane associé à cette technique.

Les liquides contenus dans l'estomac des ruminants contiennent des microorganismes spécifiques efficaces pour dégrader des matières contenant de la cellulose. La flore de l'estomac des ruminants est mésophile (37 °C) et en réduisant la température de façon graduelle (par strate de 4 °C), les microorganismes psychrotolérants ont produit du méthane à une température de 20 °C après une période de 67 jours d'adaptation. Cependant, les rendements méthaniers ont été très faibles et malgré d'autres essais de démarrage (digestion à deux étapes), les microorganismes du rumen ne se sont pas adaptés à dégrader un matériel riche en fibres lignocellulosiques à une température psychrotrophe de 20 °C.

La digestion anaérobie est réalisée par des populations bactériennes qui forment des associations stables entre chaque étape du procédé. Le procédé se divise en quatre

étapes : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse. Dans cette expérience, la digestion anaérobie a été séparée en deux étapes. La digestion anaérobie en deux étapes a produit un volume de biogaz de 27,7 % supérieur en comparaison à une digestion anaérobie à une seule étape ($P < 0,05$). Le pH à l'intérieur des digesteurs anaérobies à deux étapes a été supérieur et plus près d'un niveau optimal de pH (7,10-7,21) propice à la méthanisation. Un pH neutre et un faible niveau d'AGV ont été observés et sont des indices d'une absence d'inhibition durant le procédé de dégradation anaérobie.

Les différentes litières utilisées en agriculture (paille de céréales, bois et mousse de sphaigne) ont des propriétés physiques et chimiques différentes. Ces propriétés modifient la vitesse de dégradation des matières organiques et influencent la production de méthane et les propriétés physiques et chimiques du digestat produit. Des mesures sur le rendement méthanier de trois différents mélanges de litière (1:1 massique pour des composés binaires et 1:1:1 pour un mélange des trois litières) ont permis de constater la contribution apportée par la mousse de sphaigne sur les quantités produites de biométhane. La mousse de sphaigne utilisée lors de nos expériences contenait des quantités importantes d'azote total en comparaison aux autres types de litière testée. La présence de mousse de sphaigne dans la litière a favorisé la production de méthane pour les différents mélanges de litières. La production de méthane, le contenu en lignine, en hémicellulose et en azote total expliquent 94,5 % des variations des différents paramètres mesurés.

Mots clés : biométhanisation, digestion, anaérobie, sèche, solide, lignocellulosique, rumen.

ABSTRACT

Four experiences have been completed to realise this study : 1) Anaerobic digestion start-up with the content of two types of rumen taken from a beef cattle and from a moose ; 2) The count of bacteria pathogens content in fresh beef cattle manure, in frozen manure (for a period of 4 months) and in digestate after two different period of time and process ; 3) The performance of the inoculums tested for the start-up of psychrotrophic anaerobic lab scale digesters working in batch sequences at one and two stages ; and finally 4) The methane production from the anaerobic digestion of three types of bedding usually used in agriculture (wood, straw and peat moss). This first objective of this study was to explore environment solutions for the cattle and beef producers. Anaerobic digestion is a biological degradation process realised in natural and synthetic environment where oxygen is absent. The end product is stabilized organic matter and biogas which the main components are normally methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂), and at a lower level hydrogen sulfide (H₂S) and other types of gas (H₂, N₂, NH₃, SO₄²⁻) (Degrémont, 2005). World researches in agriculture on methane production with solid organic waste are scarce. The objective of the research was to investigate the anaerobic digestion of beef cattle manure with a high rate of lignocellulosic content at a solid state and at psychrophilic temperature.

The microbial diversity of the rumen fluid is particularly efficient to degrade lignocellulosic material especially cellulose. The microbial population in rumen is mesophilic and reducing the temperature in a step wise manner (per 4°C steps) helped psychrotolerant microorganisms to adapt at a lower temperature and produce methane after a period of 67 days. Perhaps those results, mainly, the methane yield was low at a psychrotrophic temperature of 20 °C compared to the literature, and the research did not demonstrate high efficiency of those microorganisms to biodegrade lignocellulosic material at those temperature.

Anaerobic digestion is realised by microbial populations forming a stable association between each stages of the process (hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis). The separation of these stages produced 27,7 % more methane at a two stages anaerobic digestion process compared to one stage ($P < 0,05$). The pH levels of the two stages anaerobic digesters were higher and closer to an ideal range for methanogenesis (7,10-7,21). The volatile fatty acids were low during the

experience and these observations combined with a measured pH near neutral are indicators of low inhibition during the degradation.

Bedding used in agriculture will have different physical and chemical properties. These properties will modify the degradation speed and level in an anaerobic digester and will influence the methane production and the final properties of the digestate. The methane production from three different mixtures of bedding (1:1 mass rate for binary mixtures and 1:1:1 mass rate for the mix of the three bedding types) were measured. The total nitrogen content in the peat moss used in our experience was higher than the other types of bedding tested. The presence of peat moss enhanced the methane production in the anaerobic digesters. Methane production, lignin content, hemicellulose and total nitrogen present in the anaerobic digesters explain 94,5 % of the variations observed on the different parameters measured.

Key words : anaerobic, digestion, dry, solid, lignocellulosic, rumen.

CHAPITRE I

DIMINUER L'EMPREINTE ÉCOLOGIQUE DES FERMES BOVINES AU CANADA À L'AIDE DE LA BIOMÉTHANISATION

1.1 Résumé

La production de déjections animales par les bovins de boucherie est une source d'inquiétude pour l'environnement à cause des éléments contenus dans les déjections qui peuvent se retrouver dans l'environnement en l'absence d'un contrôle adéquat. Le type de gestion de cette production et les marges bénéficiaires que ces derniers peuvent utiliser pour investir sur le plan agroenvironnemental réduisent les solutions applicables, particulièrement dans l'est du Canada. Cette revue de littérature dresse un portrait des installations d'élevage dans le domaine du bovin de boucherie que l'on retrouve au Canada et des types de gestion des fumiers qui sont utilisés. La biométhanisation est une nouvelle approche environnementale qui permettrait aux productions agricoles de stabiliser les matières organiques tout en produisant du méthane qui peut être utilisé comme source d'énergie renouvelable. L'utilisation des déjections de bovin de boucherie comme fertilisant ainsi que divers procédés de biométhanisation sont décrits dans ce chapitre. La majorité des élevages de bovin de boucherie au Canada sont sous une gestion solide des fumiers. La biométhanisation des matières organiques sous une texture solide comporte des avantages sur la biométhanisation sous texture liquide. Elle exige par exemple des volumes de réservoir plus faibles, moins d'énergie pour contrôler la température du traitement,

des coûts de manutention des substrats et digestats réduits et peu d'énergie requise pour mélanger les substrats. Elle peut aussi être utilisée sur des fermes d'élevage sur litière (Schäfer, Lehto et Teye, 2006). Plusieurs modèles ont été développés afin de prédire la production de méthane et sont décrits dans ce chapitre. Ils permettent de contribuer à faire avancer les connaissances et la compréhension du procédé. Un modèle est proposé dans ce chapitre afin de décrire le traitement des matières organiques en deux étapes sous une texture solide.

1.2 Introduction

Au Canada, les installations d'élevage ayant une gestion des fumiers sous forme solide ou semi-solide représentent 93,9 % des cheptels bovin (Statistique Canada, 2003). L'industrialisation des productions agricoles a permis aux fermes de répondre à la demande croissante de denrées alimentaires causée par une population mondiale croissante et une mondialisation des marchés. L'intensification des élevages et des cultures représentent une demande plus élevée en éléments nutritifs et entraîne un accroissement des pertes d'azote, de phosphore et de matières solides en suspension vers les eaux superficielles ou souterraines. En 2001, 40 % des exploitations élevant du bétail en Alberta et en Saskatchewan n'étaient munies d'aucune installation d'entreposage des fumiers (Statistique Canada, 2003). Au Québec, en 2007, seulement 36 % des entreprises bovines possédaient une structure étanche pour entreposer les déjections animales (BPR, 2008).

La production de fumier peut accroître les risques de contamination de l'eau si ces substances ne font pas l'objet d'une bonne gestion, un problème exacerbé par l'utilisation croissante de l'épandage des boues sur les terres agricoles selon Chambers *et al.* (2008). Le ruissellement qui se produit à partir d'amas de fumier

laissés aux champs et d'installations de stockage non étanches entraîne le rejet direct de contaminants dans les eaux de surface et les eaux souterraines (gouvernement du Québec, 2008). L'azote, le phosphore et les métaux lourds sont les principaux contaminants inorganiques présents dans les fumiers qui peuvent affecter la qualité des eaux de surface et des eaux souterraines. Les bactéries pathogènes, tout comme les autres éléments contenus dans les matières organiques d'origines animales, peuvent être disséminées dans l'environnement par la voie de l'air, du sol, de l'eau ou de l'eau du sol. Les impacts des activités agricoles sur l'environnement se réalisent à deux échelles différentes : une échelle locale (environnement de la ferme, bassin versant, lacs et cours d'eau) et une échelle globale par les différentes émissions polluantes associées aux GES. Sur une échelle locale, les différentes émissions de nutriments, de microorganismes pathogènes sont des problèmes parfois difficiles à contrôler pour les producteurs agricoles. Cette activité émet de façon directe ou indirecte différents polluants dans l'air, le sol, l'eau et l'eau du sol en plus de prélever une partie des nutriments contenus dans le sol sous la forme organique ou minérale.

La digestion anaérobie est une forme de production d'énergie renouvelable qui possède des avantages environnementaux sur les autres formes de productions d'énergie. Bien qu'elle puisse être utilisée pour produire du méthane à partir d'une culture énergétique, elle utilise en majeure partie des déchets agricoles tels que les déjections animales, le fumier et les litières. Les effets positifs de ce type de traitement sont d'augmenter le bilan énergétique tout en recyclant les résidus des récoltes et les autres déchets organiques. Ce type de production permet un recyclage des nutriments et un retour de ceux-ci comme fertilisant organique dans les champs cultivés. L'utilisation de la biométhanisation comme traitement du fumier de bovin de boucherie dans une perspective de production d'énergie renouvelable est une avenue intéressante pour ces producteurs qui font face à des marges de profit souvent faibles

où peu de solutions environnementales existent pour leur type de production au Québec. Certains chercheurs voient dans la digestion anaérobie de déchets contenant une grande proportion de matériel lignocellulosique une façon de maintenir une proportion importante de la fraction humique du sol qui est un élément crucial pour la productivité à long terme des sols agricoles (Svensson, 2005). L'idée de réduire les effets négatifs de la dégradation des matières organiques sans contrôle et sans récupération des énergies potentielles libérées lors des processus de dégradation a été une motivation de départ pour plusieurs projets européens. La digestion anaérobie est considérée comme l'une des plus efficaces dans le traitement de déchets organiques pour réduire les GES (Ayalon, Avnimelech et Shechter, 2000; Batool et Chuadhry, 2009; Cornejo et Wilkie, 2010).

Le procédé de digestion anaérobie fait l'objet de plusieurs recherches dans le monde et ces études sont justifiées par l'importance de développer de nouvelles sources d'énergies renouvelables combinées à une quête de solutions pour résoudre les problèmes environnementaux liés à la production de déchets organiques de source anthropique dans le monde. Historiquement, les recherches en digestion anaérobie étaient concentrées dans le domaine du traitement des eaux usées. Elles se sont ensuite étendues dans d'autres domaines soumis à des problématiques environnementales de charges polluantes importantes comme l'agriculture. Peu de recherches ont été réalisées jusqu'à maintenant sur le traitement du fumier sous une texture solide. Bien que la quantité de déchets solides en agriculture soit importante, le contexte productiviste lié à cette technologie ne favorisait pas de développement dans ce secteur alors que dans le domaine municipal et industriel plusieurs digesteurs anaérobies fonctionnent depuis des années et la technologie a acquis une maturité intéressante. La biométhanisation sous texture solide à l'échelle de la ferme n'est pas présente à l'échelle commerciale et seuls quelques prototypes ont été testés en Europe

et en Asie (Schäfer, Lehto et Teye, 2006; Muller, 2007). Les aspects novateurs de cette thèse commandaient de faire une revue de littérature sur ce sujet afin de bien cerner les problématiques associées à ce type de procédé et les différents avancements réalisés à ce jour en agriculture et dans les autres secteurs où la digestion anaérobie est présente.

La dynamique des procédés de digestion anaérobie joue un rôle central dans le développement et les opérations des systèmes de traitement anaérobie. Les premiers modèles utilisés en digestion anaérobie visaient à décrire l'utilisation de substrat par des bactéries dans différents milieux naturels ou artificiels (Williamson et McCarty, 1976). Certains modèles ont permis aux chercheurs de conceptualiser les différents procédés qui sont réalisés à plusieurs échelles dans la nature et ont permis de faire des avancées importantes au niveau de la compréhension des phénomènes et de la dynamique du vivant. Le transfert de masse entre le substrat et le milieu récepteur et la cinétique enzymatique largement utilisée en biochimie ne sont que quelques exemples de modèles qui permettent de mieux comprendre les différentes relations qui existent entre les microorganismes, les substrats et leur concentration dans le milieu environnant.

Cette revue de littérature vise à décrire les risques environnementaux associés à la production de bovin de boucherie au Canada et de quelles façons le procédé de digestion anaérobie de déchets solides peut contribuer à diminuer ceux-ci. La biométhanisation est traitée dans ce texte comme une nouvelle approche environnementale pour aider les producteurs à stabiliser les déjections de bovin de boucherie produites sur la ferme et la revue de littérature veut décrire de façon exhaustive les connaissances acquises sur ce procédé dans une perspective de traitement des matières organiques sous une texture solide.

1.3 La production bovine au Canada

On retrouve la production bovine au Canada dans toutes les provinces et cette production se présente sous différents types de fermes selon la définition de Statistique Canada : 1) des fermes d'élevage de bovins laitiers et de production laitière, 2) des fermes d'élevage de bovins de boucherie y compris l'exploitation de parcs d'engraissement, et 3) des fermes mixtes où on y fait l'élevage de bovin laitier et de boucherie (Statistique Canada, 2013). Selon Statistique Canada (2012), au 1^{er} janvier 2012, les éleveurs de bovins canadiens avaient un peu plus de 12,5 millions de bovins dans leur ferme sur 95 105 fermes de bovins et veaux. Les producteurs de bovins de boucherie représentaient environ 85 % du nombre total de fermes d'élevage de bovins au Canada. Les provinces de l'Ouest possédaient 31,6 % du total des exploitations d'engraissement et représentaient 76,8 % des stocks de bovins dans les exploitations d'engraissement au pays. Le 1^{er} janvier 2012, 16 270 fermes ont déclaré des bovins laitiers et 85,6 % d'entre elles se trouvaient dans l'Est du pays. Les fermes laitières spécialisées représentaient 88,0 % de toutes les fermes produisant des produits laitiers. Le nombre d'exploitations laitières qui ont également produit des veaux de boucherie était de 1155 le 1^{er} janvier 2012 et les fermes avaient en moyenne 132 têtes de bétail, ce qui représente une augmentation du nombre de têtes par ferme de 97,0 % depuis 1976. La figure 1.1 a été réalisée à partir des données de Statistique Canada (2013) pour les années 1976, 1986, 1996 et 2006. Cette figure permet de visualiser la diminution du nombre de têtes de bovin représentées dans les classes de ferme de plus petite taille (1 à 32, 33 à 77, et 78 à 122 animaux) qui passent de 55 % des animaux possédés en 1976 à 23,4 % des animaux possédés en 2006 alors que les classes de fermes de plus grande taille (273 à 527, 528 à 1127, et 1128 et plus) passent de 20,5 % des animaux possédés à 52,3 % pour, respectivement, les mêmes années alors que les classes se situant entre ces deux groupes n'ont à peu près pas changé pour ces mêmes années (24,5 à 24,3 %) (Statistique Canada, 2013). Cette

figure démontre une tendance à la concentration d'un plus grand nombre d'animaux possédés pour des fermes de plus grande taille au détriment des fermes de plus petite taille de façon générale au Canada.

Au Canada, 16,3% des animaux de ferme se trouvaient dans des régions à forte densité animale. Ces régions avaient plus de 70 unités animales au kilomètre carré de territoire agricole. La population animale de bovin la plus nombreuse située dans les régions à forte densité animale était celle des bovins de boucherie en Alberta, des bovins laitiers au Québec et des bovins laitiers en Ontario (Statistique Canada, 2003).

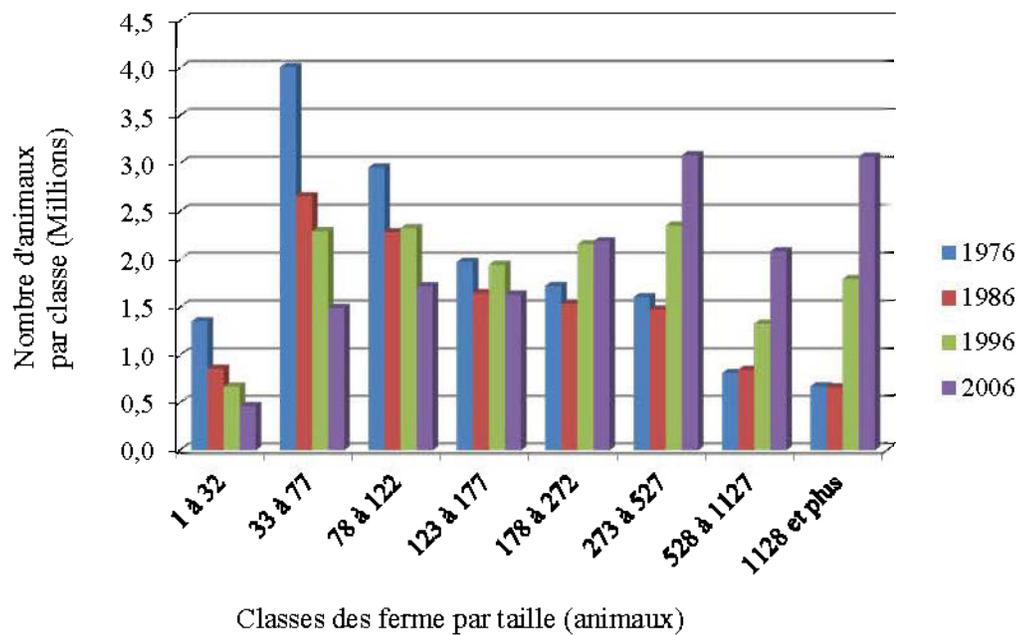


Figure 1.1 Variations du nombre d'animaux par classes selon leur taille entre 1976 et 2006

1.4 La gestion des déjections animales au Canada

Au Canada, les bovins sont gardés une partie du temps dans des bâtiments d'élevage, ou sur des enclos pourvus ou non d'abris artificiels (brise-vent ou abri couvert) ou naturels (aménagement boisé) et une partie du temps aux pâturages. Ces éleveurs ont souvent des marges bénéficiaires trop faibles pour investir dans des infrastructures dispendieuses sans pénaliser la rentabilité de l'entreprise. Cette faible marge limite leurs investissements souvent à de l'entreposage aux champs et à l'utilisation de grande quantité de litière. Par exemple, en Abitibi-Témiscamingue, une région importante en production bovine au Québec, où le nombre de vaches représentait 11,9 % du cheptel québécois en 2007, les producteurs pouvaient investir au maximum 350\$/vache pour l'environnement (Sarrazin, 2007). Les connaissances sur l'entreposage de fumier aux champs ont progressé au Québec depuis les dix dernières années, mais demeure une méthode à risque pour l'environnement par la diffusion ponctuelle de minéraux (N, P et K) ou encore de pathogènes dans l'environnement (Côté, 2005). Selon les données du MAPAQ, 54,2% des producteurs en bovin de boucherie qui se sont conformés aux règles du MDDELCC ont aménagé des sites extérieurs conformes aux règles environnementales en vigueur et leurs fumiers sont entreposés aux champs pour la plupart (Sarrazin, 2007).

Le temps passé dans les différentes aires de production dépend du type d'élevage (laitier ou bovin), du climat, de l'éleveur, de l'âge des animaux ou encore de leur stade de cycle de production. En bovin de boucherie, les veaux peuvent naître dans des bâtiments d'élevage ou selon la période de l'année au pâturage. Selon Schwartzkopf-Genswien *et al.* (2012), les vaches de boucherie sont parfois gardées sur les pâturages pendant la période hivernale et des abris artificiels ou naturels ne sont pas toujours présents. Selon un sondage auprès des agriculteurs de la province canadienne de Manitoba, les éleveurs de bovins de cette province hivernaient les

animaux dans cinq types d'installations : boisé, pâturage, enclos ouvert, bâtiment avec enclos ouvert et bâtiment fermé (Small et McCaughey, 1999). Au Québec, les animaux peuvent être gardés pendant les périodes de l'automne au printemps dans des bâtiments fermés, des bâtiments ouverts avec enclos ou sur des enclos. Les enclos peuvent être de type haute ou faible densité. Les enclos d'hivernement sont habituellement de faible densité et les enclos pour le printemps et l'automne seront de haute densité. Le guide des bonnes pratiques agroenvironnementales pour la gestion des fumiers des bovins de boucherie publié par la fédération des producteurs de bovins de boucherie du Québec suggère une superficie minimale de $150 \text{ m}^2 \text{ vache}^{-1}$ pour un enclos à faible densité alors que les enclos à haute densité devront avoir un minimum de $30 \text{ m}^2 \text{ vache}^{-1}$ lorsqu'ils sont aménagés sur le sol, la superficie par animal est réduite à $5 \text{ m}^2 \text{ vache}^{-1}$ lorsque l'enclos est aménagé sur un matériau étanche par exemple du béton (MAPAQ, 1999).

Les enclos d'élevage possèdent habituellement des zones où l'activité d'alimentation se concentre et que l'on désigne comme aire d'alimentation et des superficies de repos où la litière et les conditions sanitaires et environnementales sont plus propices au repos et à la période de rumination des animaux. La répartition des déjections animales sera alors différente d'une zone à l'autre et les producteurs font habituellement une gestion différente des quantités de litières utilisées dans ces zones en fonction du confort des animaux souhaité par le producteur. L'aire de couchage recevra habituellement des quantités plus importantes de litière comparativement à l'aire d'alimentation. Les quantités et les types de litières utilisées sont très variables et sont régis par leur disponibilité, les conditions climatiques, les conditions de drainage des enclos, la qualité de la nourriture et les superficies à l'abri des intempéries. Les quantités de litières utilisées à l'intérieur de bâtiments d'élevage seront fonction de la configuration du bâtiment, du type de revêtement sur le sol, de la

fréquence du nettoyage et du type de stabilisation (entravée ou libre). Les litières utilisées habituellement au Canada sont composées de pailles de céréales, d'écorce, de sciure ou de copeaux de bois ou plus rarement de mousse de sphaigne.

La texture des fumiers animaux varie en fonction principalement de la teneur en eau des déjections animales, des quantités de litières utilisées et de leur teneur en eau. Les fumiers peuvent également contenir des refus d'alimentation, de la terre ou de l'eau qui influenceront sa teneur en eau et sa texture. La texture des déjections animales varie en fonction du type d'animal, de la diète et de leur stade de croissance. De façon générale, les bovins à l'engraissement produiront des déjections semi-solides (siccité $\approx 12\%$). Les déjections animales subissent différents traitements aérobies et/ou anaérobies, contrôlés ou non lors de l'entreposage ou après un séjour dans une fosse. L'équipement utilisé lors de la reprise des fumiers sera déterminé en fonction de sa siccité lors de cette opération. À la reprise, le fumier sera caractérisé comme liquide ou pâteux à une siccité de moins de 12 % pour tous les types de fumier et peut être repris par pompage. Entre 12 et 20 % de siccité le fumier sera repris à l'aide de pompe à piston ou d'un chargeur de tracteur alors qu'à une siccité plus élevée que 20 %, seul un chargeur frontal peut être utilisé.

Les pratiques de gestion du fumier adoptées dans la majeure partie du Canada consistent à stocker temporairement le fumier non traité à l'air libre, dans des bassins de terre ou des réservoirs de béton couvert ou non ou encore les amas peuvent être entreposés aux champs près des enclos d'hivernement ou des superficies destinées à leur épandage. Finalement, ce fumier peut être appliqué, par épandage, sur des terres en culture à différentes périodes de l'année.

1.5 Les éléments contenus dans les déjections animales

1.5.1 Les éléments inorganiques

Les matières organiques émettent des quantités de métaux lourds dans le sol et l'eau du sol (Jolliet *et al.*, 2005), et les principaux métaux inventoriés par l'ASAE (2002) contenus dans les fumiers de bovin de boucherie sont énumérés au tableau 1.1. L'azote, le phosphore et les métaux lourds sont les principaux contaminants inorganiques présents dans les fumiers qui peuvent affecter la qualité des eaux de surface et des eaux souterraines. Certaines formes d'azote sont toxiques pour les organismes aquatiques et peuvent avoir une incidence sur la biodiversité aquatique. C'est notamment le cas de l'azote ammoniacal (NH_3 et/ou NH_4^+ selon le pH) qui est un des facteurs responsables de la diminution des effectifs de 17 des 45 espèces de grenouilles, de crapauds et de salamandres du Canada, lorsque sa concentration dans les cours d'eau et l'eau de ruissellement agricole dépasse les seuils de toxicité chronique et aiguë pour les amphibiens (Rouse, Bishop et Struger, 1999).

Bien qu'il n'existe pas de données nationales sur la portion des charges inorganiques qui migre vers les eaux superficielles et souterraines, une évaluation récente des pertes en azote dans les terres agricoles marquées par un excédent d'eau évaluait que 17 % des terres de la province de l'Ontario, 6 % des terres du Québec et 3 % des terres de la région de l'Atlantique produiraient des écoulements ou des eaux d'infiltration contenant plus de 14 mg L⁻¹ d'azote (Environnement Canada, 2001). En Colombie-Britannique, 5 % des terres agricoles possèdent un excédent d'eau, et on prévoyait que 69 % des terres de cette région produiraient des écoulements ou des eaux d'infiltration contenant plus de 14 mg L⁻¹ d'azote. Une fois introduits dans les eaux souterraines, les contaminants peuvent ensuite s'infiltrer dans les puits

d'approvisionnement des exploitations agricoles, les puits des résidences environnantes, les puits municipaux et les cours d'eau.

Tableau 1.1 Caractéristiques des fumiers de vache de boucherie

Éléments	Unité	Moyenne	Écart-type
ST	%	14,66	8,78
pH		7,00	0,34
ST	%	84,71	32,62
K ₂ O	g kg ⁻¹ b.s.	24,71	14,73
NH ₄	g kg ⁻¹ b.s.	10,12	9,21
N total	g kg ⁻¹ b.s.	40,00	20,82
P ₂ O ₅	g kg ⁻¹ b.s.	10,82	6,49
Bore (B)	mg kg ⁻¹ b.s.	103,53	39,20
Calcium (Ca)	g kg ⁻¹ b.s.	16,47	17,98
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹ b.s.	36,47	25,27
Fer (Fe)	g kg ⁻¹ b.s.	0,92	0,97
Magnésium (Mg)	g kg ⁻¹ b.s.	5,76	3,53
Manganèse	mg kg ⁻¹ b.s.	141,18	103,18
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹ b.s.	129,41	90,17
Coliformes Totaux	colonies 100 mL ⁻¹ fumier	6,30 x 10 ⁷	5,90 x 10 ⁷
Coliformes fécaux	colonies 100 mL ⁻¹ fumier	2,70 x 10 ⁷	2,60 x 10 ⁷
Streptocoques fécaux	colonies 100 mL ⁻¹ fumier	3,10 x 10 ⁷	4,50 x 10 ⁷

(Adapté de ASAE, 2002)

Des apports de phosphore dans un lac ou un cours d'eau se traduisent par une augmentation de son activité trophique. La végétation devient alors plus abondante et

il en résulte une diminution de la transparence de l'eau et de la quantité d'oxygène présente, particulièrement dans les eaux plus profondes (Labelle et Fournier, 2001). Hutchinson *et al.* (1991) proposent qu'une augmentation de la concentration de phosphore dans un lac soit au maximum de 100% de la concentration à l'état naturel. Dépasser ce seuil, des problèmes d'anoxie et une transformation significative de l'écosystème surviennent. Récemment, des épisodes de fleurs d'eau de cyanobactéries sont apparus dans les lacs et rivières du Québec. Selon le ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec, le nombre de lacs touchés par le phénomène en 2007 totalisait 190 incluant 40 lacs où la présence des cyanobactéries était généralisée (MSSS, 2007). Il est envisageable que les changements climatiques favorisent l'amplification du phénomène à l'avenir (Lavoie, Laurion et Vincent, 2007). Plusieurs études scientifiques soulignent le rôle majeur des nutriments dans la prolifération des cyanobactéries. Parmi les nutriments nécessaires à leur croissance, le phosphore joue un rôle majeur dans leur prolifération. Toutefois, le fer et le molybdène interviennent aussi dans une moindre mesure (Hyenstrand, Blomqvist et Petterson, 1998). L'azote et le phosphore sont des éléments essentiels à la croissance des cyanobactéries et sont généralement limitants (Lavoie, Laurion et Vincent, 2007). L'épandage de lisiers, les labours d'automne et les cultures à grand interligne, comme celles du maïs, contribuent à la pollution des cours d'eau par le ruissellement (Lanez, 2005).

1.5.2 Les éléments organiques

Les bactéries pathogènes les plus importantes rencontrées dans les fumiers sont : *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* spp., *Campylobacter* spp., et *Yersinia enterocolitica* (Sahlstrom, 2003). L'ASAE (2002)

établit dans ses standards sur l'agriculture que le fumier de bovin de boucherie contient des quantités de coliformes fécaux en moyenne de $2,7 \times 10^7$ avec un écart-type de $2,6 \times 10^7$ colonies 100 mL^{-1} (tableau 1.1). Une grande partie de ces bactéries sont de pathogènes zoonoses et peuvent causer des infections chez les humains et les animaux. Selon Sahlstrom (2003), le *Salmonella* est la bactérie la plus largement répandue dans l'environnement par les fèces animales et humaines.

Le meilleur indicateur pour le dénombrement des bactéries est le genre *Enterococcus* qui constitue la majorité des SF et qui comprend : *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus avium* et *Enterococcus gelinarium* (Larsen, Munch et Schlundt, 1994). Les SF sont des bactéries à Gram positifs sphériques et forment une partie de la flore du tube digestif des humains et autres mammifères. Ce sont des bactéries commensales qui causent rarement des maladies. Selon De Luca *et al.* (1998), le dénombrement des SF est le seul test vraiment significatif statistiquement pour indiquer avec une bonne corrélation la présence de *Listeria monocytogenes* dans un échantillon de boues usées. Les autres tests inclus dans leurs études comprenaient les analyses de coliformes totaux et fécaux. Selon un rapport canadien sur la qualité de l'eau écrit par Chambers *et al.* (2008), dans les régions du Canada à forte densité d'élevage, le nombre de coliformes fécaux dans l'eau dépasse les recommandations pour la qualité des eaux au Canada établies pour l'évaluation de l'eau potable et l'eau d'irrigation. Le ruissellement agricole est également une source importante de contamination bactérienne. Sur la côte atlantique, ce phénomène a été directement mis en cause dans la fermeture de certaines zones de pêche de mollusques. En Ontario, la proportion de puits de surface et artésiens dans lesquels la quantité d'*Escherichia coli* dépassait les recommandations est passée de 15 % entre 1950 et 1954 à 25 % entre 1991 et 1992 (Fairchild *et al.*, 2000).

Les substances perturbatrices du système endocrinien des organismes vivants sont des substances chimiques naturelles et synthétiques. Le système endocrinien régularise et coordonne la croissance, le développement des embryons et la reproduction des invertébrés, des poissons, des oiseaux et des mammifères. Selon Chambers *et al.* (2008), le secteur agricole a été identifié comme une source potentielle de ce type de substances introduites par leur dissémination dans l'environnement et proviennent de fumier et des boues d'épuration épandues sur les terres agricoles. On en connaît peu sur les risques potentiels que présentent ces substances perturbatrices issues du secteur agricole, bien que certaines données indiquent que les œstrogènes peuvent avoir une incidence sur les eaux de surface, lorsqu'il y a écoulement ou drainage souterrain peu après l'épandage de lisier de bovins laitiers ou de truies en gestation (Environnement Canada, 2001).

1.6 L'usage des déjections animales et l'environnement

1.6.1 Les effets sur le sol

La matière organique influence positivement la structure du sol, la capacité de rétention en eau et diminue le compactage et les risques d'érosion sans compter qu'elle est l'une des principales sources d'azote et d'éléments traces utiles à la croissance des plantes (Tabi *et al.*, 1990). Selon ces auteurs, les déchets d'animaux incorporés à la surface des sols cultivés sont rapidement transformés en humus par les microorganismes avec une importante libération de molécules simples, de minéraux et de gaz à effet de serre (GES). L'humus colmate et cimente les particules minérales, il réagit avec les colloïdes minéraux par l'intermédiaire des cations, et forme des complexes argilohumiques responsables de la stabilité des agrégats et de la qualité de la structure du sol. À l'état d'humus, la matière organique est principalement

constituée de substances humiques stabilisées par les colloïdes du sol qui les protègent d'une dégradation rapide ou de l'érosion (éolienne et hydrique).

Le bilan humique est un paramètre important en agronomie et la pratique en continu de monocultures de céréales ou d'oléagineux laissant peu de résidus au sol entraîne souvent une accélération de l'oxydation du sol par son travail accru et un risque plus important d'une diminution de la matière organique du sol (Tabi *et al.*, 1990). Les gains en matière organique dépendent de la nature des amendements apportés au sol et de la composition biochimique des résidus organiques, principalement le rapport carbone azote (C/N) et la quantité de fibre lignocellulosique (Clément et N'Dayegamiye, 2009). L'apport de fumier contenant des quantités importantes de fibres lignocellulosiques est un facteur positif apporté aux sols agricoles. Selon Clément et N'Dayegamiye. (2009), le coefficient isohumique (paramètre de mesure d'accumulation de matière organique au sol) d'un fumier frais ou bien décomposé est de respectivement 0,25 et 0,40 alors qu'un lisier de bovin sera de seulement 0,15, ce qui représente 0,67 à 1,67 fois plus de résidu organique stable apporté aux sols agricoles respectivement pour un fumier frais et celui bien décomposé. Une note importante soulevée par les résultats de l'étude de Tabi *et al.* (1990) concerne la diminution de la teneur en matière organique qui affectait plus de 50% des sols sous monoculture au Québec, ce qui représente plus de 252 000 ha de terre agricole.

Les sols agricoles perdent des quantités importantes de nutriments (N, P, K) lorsque les fumiers et les résidus sont laissés au sol. La dégradation de matière organique laissée sur le sol est réalisée par des microorganismes et des microarthropodes présents dans le sol et les fertilisants. Les procédés de dégradation utilisés peuvent être anaérobies et aérobies et l'activité de ses organismes dépendra du type de sol, des conditions climatiques, du mode d'application (enfoui ou non) et de la vitesse avec laquelle les matières organiques sont enfouies dans le sol (Svensson, 2005). Selon

l'auteur, certaines études suédoise et européenne ont mesuré sur des champs agricoles le bilan d'azote et les résultats démontrent que seulement 4 à 24 % de l'azote apporté est retenu par le sol alors que 40 à 60% de l'azote migre dans l'eau et dans l'air sous différentes formes chimiques le reste est assimilé et contenu dans les plantes récoltées.

Selon Beaudin (2006), le ratio P : N des fertilisants organiques dépasse celui nécessaire aux plantes ce qui peut entraîner une surfertilisation en phosphore lorsque les besoins en fertilisants des plantes sont basés seulement sur l'azote. Toujours selon l'auteure, des bilans excédentaires ont été rapportés à l'échelle des fermes, des bassins versants ou des régions dans la littérature scientifique et technique, elle notait aussi que la forme de fertilisant ainsi que la période et le mode d'épandage des engrais ont une influence sur les quantités et les formes de phosphore qui seront exportées des champs agricoles vers les autres milieux. Dans les facteurs qui influencent la mobilité des sources de phosphore, l'auteure souligne le lien étroit entre le contenu en eau des engrais organiques qui augmente la mobilité du phosphore dans l'environnement. Le groupe technique sur la norme sur le phosphore au Québec a proposé différents outils pour évaluer les risques reliés à la mobilité du P dans les sols et fait peu état de la texture du fumier. Dans les outils proposés, les paramètres les plus importants reliés aux fertilisants organiques sont axés sur la provenance du fumier (type d'animaux, compost), le taux de fertilisation et la méthode d'application (Beaudin, 2006).

L'élaboration d'un plan agroenvironnemental de fertilisation sur les fermes du Canada a permis de faire évoluer l'application d'une fertilisation raisonnée par plusieurs producteurs et a permis d'utiliser de façon optimale les fertilisants organiques produits à la ferme. En 2011, 35% des fermes canadiennes avaient un plan

agroenvironnemental et 95 % des fermes ayant un tel plan avaient partiellement ou entièrement mis en œuvre ce dernier (Statistique Canada, 2011).

1.6.2 Les effets sur l'eau

Les fumiers entreposés sur sol ou encore sur dalle de béton sans muret perdent une partie de leur contenu en éléments fertilisants selon une revue de littérature commandée par le Gouvernement du Québec (2008). Selon les différentes études consultées, ces pertes sont de l'ordre de 8 % à 63 % pour l'azote, 0 % à 26 % pour le phosphore et 20 % à 67 % pour le potassium. Selon le rapport, la contamination des eaux de surface et souterraines constitue la principale préoccupation environnementale reliée à l'entreposage d'amas de fumier au champ. Diverses méthodes de mitigation ont fait l'objet d'études. Les méthodes étudiées concernaient le recouvrement des amas, l'entreposage sur sol gelé, l'utilisation d'une couche d'affinage sous les amas, l'utilisation de bandes filtrantes, l'utilisation d'un andain de matériel absorbant et la réduction de la durée d'entreposage. Toujours selon ce rapport, le degré de perméabilité du fumier et du sol environnant influence grandement l'importance de ces pertes.

Selon l'ensemble des rapports de recherche consultés, les amas de fumier, temporairement entreposés au champ, perdent des éléments fertilisants et des coliformes fécaux par ruissellement et lixiviation. Bien que certaines des mesures de mitigation rapportées permettraient de réduire les pertes et le mouvement des éléments fertilisants dans les sols et dans les eaux de surface et souterraines, leur efficacité dans diverses conditions demeure inconnue. Le rapport conclut que l'entreposage de fumier sur une structure non étanche a le potentiel de porter préjudice à la qualité de l'environnement si elle n'est pas encadrée par des mesures de contrôle et de mitigation basées sur des essais concluants et pertinents relativement aux conditions du Québec.

1.6.3 Les effets sur l'air

1.6.3.1 Les odeurs

Les odeurs habituellement associées aux élevages d'animaux peuvent avoir plusieurs causes différentes et la principale est habituellement la gestion des fumiers de l'entreprise. Les composés odorants sont produits dans un premier temps par les gaz organiques et inorganiques dégagés par le fumier lors de sa décomposition anaérobie. Les émissions des composés odorants varient en fonction de la volatilité du composé et des propriétés chimiques et physiques du fumier dans lequel ce composé est émis. La température ambiante, le mouvement de l'air et l'humidité relative de l'air sont d'autres facteurs qui peuvent modifier l'intensité et le déplacement des odeurs par rapport à la source. Plus de 150 composés ont été identifiés dans la littérature scientifique comme éléments contributifs aux mauvaises odeurs à partir de la dégradation du fumier (ASAE, 2002). Les principaux groupes de composés apparaissent au tableau 1.2. À ces différents groupes de composés odorants généralement reconnus, on peut ajouter les AGV, les amines et les alcools.

Les différents effets physiologiques causés par le stress relié aux odeurs sont aujourd'hui mieux connus que les conséquences de ces dernières sur la santé du corps humain. Smet, Van Langenhove et De Bo (1999) ont comparé les émissions de trois groupes d'éléments volatils réputés odorants (COV, NH₃ et H₂S) pendant le compostage de déchets organiques municipaux et lors d'un processus de digestion anaérobie suivi d'un compostage des digestats. Les auteurs de cette étude ont mesuré des émissions totales des trois groupes de 742 g d'éléments volatils t⁻¹ de déchets pour le compostage alors que les essais combinant les procédés compostage et digestion anaérobie avaient émis 44 et 236 g d'éléments volatils t⁻¹ respectivement, soit une diminution totale de 62,3% d'émissions par tonne de déchet en faveur de la digestion anaérobie combinée au compostage. Dans cette étude, le compostage

générât en majorité des COV (80 % base massique) comme composé odorant alors que la combinaison digestion anaérobie/compostage les émissions étaient à prédominance des COV (87 %) et du H₂S (7 %) pour l'étape anaérobie et du NH₃ (93 %) pour l'étape aérobie. Dans une étude réalisée en laboratoire sur des digesteurs anaérobies mésophiles, Aldin *et al.*, (2011) ont mesuré une diminution de 97 ± 1 % et 92 ± 5 % des AGV et des réductions de 31 ± 3 % à 61 ± 3.2 % sur trois types de protéines présentes dans des boues usées.

Tableau 1.2 Différents composés odorants contenus dans les déchets organiques et leurs caractéristiques physico-chimiques.

Composé Odorant	Formule chimique	Poids moléculaire	Limite de détection ppm (b. volume)	Odeur caractéristique
Ammoniaque	NH ₃	17	46,8	Ammoniacale, putride
Dichlore	Cl ₂	71	0,314	Putride, suffocante
Mercaptans :				
Éthylique	CH ₃ CH ₂ -SH	62	0,00019	Choux en décomposition
Méthylique	CH ₃ SH	48	0,0021	Choux en décomposition
Diméthyl sulfure	CH ₃ -S-CH ₃	62	0,0001	Végétaux en décomposition
Dihydrogène de soufre	H ₂ S	34	0,00047	Œufs pourris
Dioxyde de soufre	SO ₂	64	0,009	Putride, irritante
Scatol	C ₉ H ₉ N	131	0,019	Fécale, verrat

Tableau réalisé à partir de Tchobanoglous, Burton et Stensel (2003)

Leurs observations indiquent une réduction possible de la génération d'odeurs associée à la stabilisation des solides volatils en suspension et à la dégradation des protéines liées aux solides qui sont la source principale des différents COV contenant du soufre (H_2S , mercaptans, etc.).

1.6.3.2 Les gaz à effet de serre (GES)

Les deux causes les plus importantes d'émissions de GES en production animale sont la fermentation entérique des ruminants et la gestion du fumier des animaux de la ferme. Lors de l'entreposage des fumiers solides, Sneath, Beline et Hilhorst (2006) ont mesuré des taux d'émission de GES importants pour le méthane (CH_4), le dioxyde de carbone (CO_2) et des taux plus faibles pour l'ammoniac (NH_3), alors que pour le protoxyde d'azote (N_2O) aucune mesure n'a été réalisée dans leur expérience. Le CO_2 produit lors de la dégradation anaérobie des fumiers provient des matières organiques non digérées par les animaux en l'occurrence les fourrages et les céréales. Le CO_2 libéré des fumiers contribue peu à l'accumulation des GES, car il a été fixé par la plante lors de la photosynthèse durant les saisons de croissance précédentes. Il fait partie du cycle du carbone et n'est pas considéré comme une source additionnelle d'émission de GES ce qui n'est pas le cas du CH_4 et du N_2O . D'après le GIEC, le CH_4 et le N_2O possèdent un potentiel en tant que GES de 23 et 296 fois plus élevés respectivement que le CO_2 sur une base de 100 ans (Houghton, 1997).

En 2009, le secteur agricole canadien était responsable de 24% des émissions de CH_4 dans le pays (Environnement Canada, 2011). Il s'agit donc d'une préoccupation importante pour les entreprises d'élevage dans le cadre d'une agriculture durable. Au Canada, les émissions de GES totales étaient de 747 $MtCO_{2\text{éq}}$ et l'agriculture canadienne était responsable de 57 $MtCO_{2\text{éq}}$ de ces émissions, ce qui représente

7,63% des émissions totales (Statistique Canada, 2008a). Au tournant des années 2000, les producteurs agricoles québécois émettaient 8,37 MtCO₂éq, ce qui représentait 9,48 % des GES d'origine anthropique au Québec (Houle, Chhem et Bougie, 2002). Ces gaz proviennent de différentes sources et leur diminution en agriculture passe par des pratiques agricoles qui sont sensiblement les mêmes mises de l'avant pour améliorer la qualité des sols et de l'eau. Ces pratiques concernent une gestion plus efficace des sols, des fertilisants organiques et inorganiques et l'emploi de meilleures rations alimentaires. En plus de ces pratiques, une réduction des GES peut être réalisée en réduisant les pertes gazeuses à l'entreposage des fumiers et des lisiers (CDAQ, 2007). Selon Houle, Chhem et Bougie (2002) le type de gestion des fumiers des élevages québécois représentait 2,59 MtCO₂éq d'émissions dans l'atmosphère annuellement.

L'entreposage des fumiers contribue de façon significative aux émissions globales de méthane (Møller, Sommer et Ahring, 2004). Le type d'entreposage des fumiers a un effet sur le relâchement des différents gaz à effet de serre (GES). Le brassage et la longueur de la période d'entreposage des fumiers et lisiers influencent la quantité de GES émis dans l'environnement. Plus un fumier sera entreposé longtemps, plus il émettra des GES (Massé *et al.*, 2003). Durant l'entreposage des fumiers, le CH₄ et le CO₂ sont formés par la dégradation anaérobie des matières organiques (Steed et Hashimoto, 1994). Le CO₂ produit lors de la dégradation anaérobie des fumiers provient des matières organiques digérées par les animaux et ce CO₂ contribue peu à l'accumulation des GES, car il a été fixé peu de temps avant sa libération par la photosynthèse des fourrages et céréales produits à la ferme. Il fait donc partie du cycle du carbone et n'est pas considéré comme une source additionnelle d'émission de GES. Hansen *et al.* (2006) ont mesuré une diminution d'émissions gazeuses de 99 % et 88 % pour le N₂O et le CH₄ respectivement en couvrant des amas de solides

provenant de la séparation de la fraction solide d'un lisier de porc. L'agitation et le brassage du fumier augmentent de façon temporaire de 2 à 7 fois les émissions de CH₄ par rapport aux jours précédents l'opération (Kebreab *et al.*, 2006). Afin de simuler l'entreposage, Huang *et al.* (2010) ont mesuré en laboratoire les émissions de méthane à partir d'échantillons de lisier de porc maintenu à une température de 25 °C sans brassage et ont obtenu une production de méthane de 118 L CH₄ kg⁻¹ SV après 146 jours d'entreposage. Selon les auteurs, la valeur nominale proposée par le Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC) est de 392 L CH₄ kg⁻¹ SV pour ce type de gestion. Dans une autre étude, le lisier de porc a été comparé au lisier de vache laitière afin d'évaluer en laboratoire les émissions de méthane des réservoirs d'entreposage des fumiers pendant 180 jours à une température de 15 °C. Ces émissions ont été de 62,6 et 127,8 L CH₄ kg⁻¹ SV pour un lisier de porc contenant respectivement 4,9 et 11,3 % de ST, les émissions pour le lisier de vache laitière ont été de 3,64 et 11,53 L CH₄ kg⁻¹ SV pour des teneurs en ST respectivement de 4,2 et 9,2 % (Massé *et al.*, 2003).

L'inventaire des émissions comme recommandé par le GIEC ne tient pas compte de l'utilisation des énergies fossiles comme les carburants ou encore l'utilisation des autres formes d'énergie par les fermes pour réaliser le bilan sectoriel des GES émis par le secteur agricole, les carburants utilisés en agriculture sont ajoutés aux GES émis pour les transports du pays. Les émissions associées à ces utilisations d'énergie en fonction de leur source représentent au Canada 15,6 MtCO₂éq et au Québec 1,7 MtCO₂éq. Ces émissions ont été estimées à partir des données sur l'utilisation de l'énergie à la ferme au Canada et au Québec (Tampier *et al.*, 2004; Revéret, Brodeur et Michaud, 2006; Hydro-Québec, 2009b; Environnement Canada, 2011). En 2009, le Canada a révisé ses objectifs en relation avec le Protocole de Kyoto pour les réduire à 607 MtCO₂éq d'ici 2020. Cette réduction équivaut à 7 MtCO₂éq de plus que les

émissions réalisées par le Canada en 1990 et équivaut à une diminution de 17% des émissions de GES du pays en 2005 (Environnement Canada, 2011).

En 2009, le secteur agricole canadien était responsable de 72 % des émissions de N_2O dans le pays (Environnement Canada, 2011). Certains chercheurs rapportent que l'entreposage des fumiers solides pourrait produire plus de GES que l'entreposage des fumiers liquides (Monteny, Bannink et Chadwick, 2006; Schäfer, Lehto et Teye, 2006). L'oxygène présent à l'entreposage des fumiers influence les émissions de GES. Les émissions de N_2O sont directement liées à la quantité de solides contenus dans le fumier, ceci s'explique par la facilité à laquelle l'oxygène pénètre à l'intérieur de l'amas de fumier et augmente ainsi la quantité de N_2O produite qui diffusera à l'extérieur des amas de fumier. La teneur en eau influence également la quantité de N_2O émis dans l'atmosphère. En effet, Kebreab *et al.* (2006) ont découvert que des fumiers entreposés à des teneurs en eau entre 55,0 % et 70,0 % produisaient la plus grande quantité de N_2O . Une étude sur la gestion du fumier de bovin de boucherie logé sur de la litière profonde (litière accumulée) a mesuré une perte en azote total de 28% pendant les 132 jours de compostage auxquels les litières et fumiers étaient soumis (Sommer, 2001).

McGinn et Sommer (2007) ont étudié l'effet de différentes opérations culturales sur les pertes de NH_3 aux champs. Ces auteurs ont découvert que l'irrigation de 6 mm d'eau immédiatement après l'épandage de fumier de bovin de boucherie réduit les pertes de NH_3 de 21 à 52 % alors que le travail du sol (15 cm de profondeur) les diminue de 76 à 85 %, comparativement à ce qu'on observe quand on laisse le fumier à la surface du sol. Le compost répandu sur le sol perd peu de NH_3 , car il contient peu de N disponible comparativement au fumier venant des enclos ou d'un amas. L'amas au champ ne fait l'objet d'aucun retournement ce qui a pour conséquence de contenir des matières organiques peu dégradées en comparaison au compost. Les émissions

mesurées de N-NH₃ par les chercheurs après les épandages de fumier composté étaient réduites respectivement de 96,6 % et 95,3 % par rapport au fumier provenant des enclos avec un contenu en N-total légèrement supérieur (+6,0 %) à celui du fumier frais et supérieur au fumier provenant des amas (+54,0 %). Le N-total du fumier frais prélevé dans les enclos représentait entre 1,9 et 2,2 % des ST contenus dans le fumier alors que le fumier en amas en contenait 1,7 % et le compost 2,4%. Des pertes en N-total de 11% ont été observées lors du compostage du fumier. Le fumier frais et le fumier en amas contenaient en majorité de l'azote sous forme ammoniacal alors que pour le compost, la majorité de l'azote était sous forme de nitrate (N-NO₃). Le fumier gardé en amas perd 27,9 % moins de NH₃ que celui prélevé directement des enclos au moment de l'épandage pour un contenu en azote ammoniacal total similaire. Il faut noter dans cet article que même si les épandages de fumier avaient été équilibrés au niveau de l'azote inorganique, le N-total du fumier provenant des amas était de 31,2 % inférieur à celui fraîchement prélevé dans les enclos et peut expliquer en grande partie la réduction d'émission observée entre ces deux traitements.

1.7 Les nouvelles approches environnementales

La digestion anaérobie et l'utilisation du biométhane pourraient contribuer à diminuer ces émissions de GES de façon durable. La digestion anaérobie est un procédé sans perte d'éléments nutritifs pour les plantes comme le ferait le compostage par exemple où on retrouve une perte par transformation de l'azote en N₂O et NH₃ qui s'échappe sous forme gazeuse et occasionne du même coup une augmentation importante des GES émis dans l'atmosphère (Hishinuma *et al.*, 2008). Massé *et al.* (2007) ont réalisé des essais sur des digesteurs anaérobies psychrotrophes discontinus alimentés avec du

lisier de porc et ont observé une augmentation du ratio d'azote ammoniacal (NH_4) sur l'azote total Kjeldal (N-total), passant de 57% dans le lisier à 80% dans l'effluent après digestion. Des mesures effectuées sur ces digesteurs anaérobies en laboratoire ont permis d'observer une répartition du phosphore à 62,3 % dans les boues, 12,2 % dans le surnageant alors que le digesteur en retenait en moyenne 25,5 %. Selon les auteurs, ce changement favoriserait l'accroissement de la valeur fertilisante du lisier de porc à court terme par une assimilation plus rapide de l'azote par les plantes si les applications sont réalisées durant la saison de croissance.

La biométhanisation est un procédé qui permettrait aux producteurs agricoles de produire une ressource renouvelable à partir des déchets produits à la ferme. En Europe, les pays de l'Allemagne et le Danemark soutiennent la production à la ferme de biogaz (Shäfer, Lehto et Teye, 2006). Les effets positifs de ce type de production permettent d'augmenter le bilan énergétique des entreprises agricoles et de recycler les fumiers et les résidus des récoltes. Ce type de production permet un recyclage des nutriments et un retour de ceux-ci comme fertilisant organique dans les champs cultivés. Cette idée de produire du biogaz par la digestion anaérobie est maintenant fort répandue dans plusieurs pays de l'Europe et de l'Asie. L'idée de réduire les effets négatifs de la dégradation des matières organiques sans contrôle et sans récupération des énergies potentielles libérées lors des processus de dégradation a été une motivation de départ pour plusieurs projets européens. Cette stratégie de développement n'est pas sans conséquence sur la destination des denrées agricoles produites, d'ailleurs en Allemagne plusieurs biométhaniseurs traitent une partie des cultures qui seraient autrement destinées à l'alimentation humaine ou animale (Shäfer, Lehto et Teye, 2006).

Les digesteurs anaérobies installés dans les secteurs agricole, municipal ou industriel peuvent émettre des quantités variables de gaz à effet de serre qui ne sont pas ou peu

contrôlées par le procédé. Ces émissions que l'on considère comme fugitives peuvent provenir des composantes même du digesteur anaérobie ou encore en l'absence de torchère destinée à brûler les biogaz produits en excès. Ces émissions sortent du contrôle des opérateurs et peuvent être émises lors de l'entretien des équipements ou pendant la période d'entreposage ou de stabilisation des digestats dépendamment des différents procédés utilisés pour la stabilisation des digestats par exemple la pasteurisation ou le compostage. Peu de mesures ont été prises afin d'évaluer les émissions fugitives de CH₄ pendant le processus de digestion anaérobie, la littérature suggère d'estimer ces taux d'émissions normalement entre 5 et 15% du méthane produit (Schäfer, Lehto et Teye, 2006; Flesch, Desjardins et Worth, 2011). Plusieurs méthodes sont actuellement mises au point afin de permettre de mesurer de façon précise des émissions de GES sur différents types de site agricole (Amon *et al.*, 2006a; Sneath, Beline et Hilhorst, 2006; Huang *et al.*, 2010; Flesch, Desjardins et Worth, 2011; Godbout, Pelletier et Fournel, 2011). Un digesteur anaérobie à la ferme a été suivi au Canada pendant un an à l'aide d'une technique de micrométéorologie et de détecteurs de gaz au laser afin de mesurer les émissions fugitives de CH₄. Ces émissions ont été mesurées à la hauteur de 1,7% pendant l'été et jusqu'à 5,2% pendant le printemps avec une moyenne annuelle de 3,1% de la quantité annuelle de méthane produit par le digesteur anaérobie (Flesch, Desjardins et Worth, 2011).

Les chercheurs Novak et Fiorelli (2010) ont réalisé une revue de littérature sur les technologies disponibles pour entreposer les fumiers et arrivent à la conclusion que les résultats de recherche sont trop contradictoires pour permettre de faire des recommandations appropriées sur la gestion des fumiers (solide ou liquide) afin de réduire les GES émis par les entreprises agricoles. La densité, la température, la composition des déjections animales et des litières utilisées influencent les émissions de façon importante. Certains résultats découvrent des avantages à l'entreposage qui

sont perdus lors de l'épandage lorsque ces types de gestion sont comparés. Les auteurs concluent que parmi toutes les technologies disponibles pour l'entreposage des fumiers, la digestion anaérobie semble la technologie la plus prometteuse pour réduire les GES de l'entreposage à l'épandage sans augmenter les émissions de NH_3 . Une étude a retenu l'attention des auteurs Novak et Fiorelli (2010) pour ses applications in-situ sur différentes techniques de gestion des fumiers. Il s'agit de l'étude de Amon *et al.*, (2006a) qui ont mesuré les émissions de quatre gaz (NH_3 , CH_4 , N_2O et CO_2) lors de l'entreposage et après l'application du fertilisant produit par les différentes gestions de fumier de vache étudiées. Les résultats ont permis de constater que les émissions de NH_3 survenaient surtout après l'épandage aux champs. Les émissions de NH_3 provenant des digestats étaient similaires aux émissions provenant des lisiers sans traitement (Amon *et al.*, 2006a). Le tableau 1.3 résume les résultats de cette étude pour trois des traitements et compare une gestion avec un entreposage conventionnel, un entreposage après avoir séparé les solides et les liquides du lisier et une digestion anaérobie des lisiers. Selon les auteurs, les émissions de gaz à effet de serre étaient réduites d'une façon très importante avec la technique de digestion anaérobie et elle s'est avérée être le meilleur des traitements étudiés pour réduire les GES. Afin que les recherches réalisées sur les fumiers et le compost puissent être transposées directement aux digestats liquides ou solides il serait important d'analyser les différentes formes d'azote présentes dans chacun des types de digestats et faire l'essai en comparant ces différents substrats.

Une étude réalisée en Ontario sur du lisier de bovin laitier a permis de mesurer pendant deux années les émissions dans l'air et le sol de différents polluants émis dans l'environnement après l'application du lisier de vache laitière et du digestat de ce lisier. Les émissions de N_2O dans l'air ont été respectivement entre 0,025 et 0,027 $\text{kg N}_2\text{O-N kg}^{-1}$ appliqué pour le lisier et 0,021 et 0,031 $\text{kg N}_2\text{O-N kg}^{-1}$

appliqué pour le digestat (Crolla *et al.*, 2008). Aucune comparaison n'a été faite avec du fumier solide ou encore

Tableau 1.3 Émissions de différents gaz lors de l'entreposage de fumier (g m⁻³ de fumier)

Description	Entreposage conventionnel				Séparation solide/liquide				Digestion anaérobie			
	NH ₃	CH ₄	N ₂ O	CO ₂	NH ₃	CH ₄	N ₂ O	CO ₂	NH ₃	CH ₄	N ₂ O	CO ₂
Entreposage	41	4046	20	91	327	2344	22	56	10	1343	29	37
Application aux champs	185,8	1,3	3,8	1,2	75,8	19,7	6,4	2,4	220,0	2,0	2,7	0,9
Total N-NH ₃ et CO _{2eq}	227	84987	7440	92	403	49629	8866	59	230	28237	9672	38
Total	453,8	92519 gCO _{2eq}		805,8	58554 gCO _{2eq}		460,0	37946 gCO _{2eq}				

Tableau réalisé à partir des résultats de l'étude de Amon *et al.* (2006a)

du digestat sous gestion solide. Il faut cependant considérer les effets positifs de la digestion anaérobie qui peuvent être perdus lors de l'épandage.

Le bilan peut, dans certains cas, être négatif après l'épandage. Les émissions de NO₃ dans l'eau du système de drainage souterrain ont été mesurées pour des applications de lisier et de digestat au printemps et à l'automne à des taux de 140 à 280 kg N ha⁻¹ avec une incorporation moins de 24 heures après l'épandage. Les concentrations mesurées 30 jours après l'épandage dans l'eau de drainage souterrain ont été respectivement de 9,6 et 15,5 mg NO₃-N L⁻¹ pour le lisier et 17,5 et 28,4 mg NO₃-N L⁻¹ pour le digestat (Crolla *et al.*, 2010). Des comparaisons réalisées avec du fertilisant minéral et du digestat de lisier de porc appliqués sur un sol argileux et un sol limoneux ont permis de mesurer des contradictions importantes de la réponse du sol aux applications d'azote de sources différentes (minéral ou organique). Les sols argileux émettaient moins de N₂O dans l'air lorsqu'ils étaient fertilisés à l'aide de

digestat alors que les sols limoneux en émettaient plus. Les auteurs expliquent ces différences par les conditions de drainage des sols et les propriétés des sols comme la texture et le contenu en matières organiques qui peuvent influencer les émissions de N₂O en fonction de leur source (Chantigny *et al.*, 2010). Des essais sur un sol à trois teneurs en eau différentes fertilisé à l'aide de lisier de vache et de digestat du même lisier ont permis de mesurer un effet direct de la teneur en eau du sol sur les émissions de N₂O. Plus le sol était saturé d'eau, plus importantes étaient les émissions peu importe le type de fertilisant organique utilisé (Clemens et Huschka, 2001).

Selon certains auteurs, il faut faire attention aux émissions de gaz acidifiant tel que le NH₃ qui peut être produit en plus grande quantité lorsque le digestat est utilisé comme fertilisant en comparaison au compost (Hishinuma *et al.*, 2008). Dans de tels cas, les auteurs recommandent d'épandre le digestat en bande ou encore de l'injecter dans le sol afin de réduire ces pertes aux champs lors de l'épandage. Ces recommandations valent pour le digestat liquide et pour l'instant peu de recherches ont été réalisées sur le digestat sous forme solide.

Le T90 est le temps requis afin de réduire la population de microorganismes de 90% ou une diminution d'une unité logarithmique (log₁₀). Dans un digesteur anaérobie thermophile, le T90 est atteint en 24 heures. Un digesteur anaérobie mésophile prendra quelques semaines voir quelques mois à diminuer les bactéries pathogènes d'une unité logarithmique (Olsen, Jorgensen et Nansen, 1985; Plym-Forshell, 1995). Gadre, Ranade et Godbole (1986) ont observé une inactivation de *Salmonella* après une incubation de 10 jours à 37 °C. Plym-Forshell (1995) a étudié la survie de bactéries spécifiques à une température constante de 55 °C alors que *Salmonella* avait disparu en 24 heures. Kearney, Larkin et Levett (1993) ont observé un plus grand déclin des bactéries *Escherichia coli* et *Yersinia enterocolitica* dans les digesteurs anaérobies en discontinu plutôt qu'en continu. Selon McGarvey *et al.*, (2007) le

traitement des fumiers de bovins par la digestion anaérobie (37 °C, pendant 20 jours) et l'entreposage de digestat (pendant 155 jours) a permis de diminuer les bactéries coliformes de plus de 99 %. Une autre étude sur la digestion anaérobie à la ferme de lisier de bovin laitier (40 °C) a mesuré une réduction des pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* spp.) de 70 à 95% dans les échantillons de digestat en comparaison aux échantillons de lisier de bovin laitier (Crolla *et al.*, 2010). Selon Côté, Massé et Quessy, (2006) il existe peu d'informations publiées sur l'efficacité de la digestion anaérobie à de basses températures (15-20 °C) à réduire les organismes pathogènes. Les résultats de leurs essais réalisés sur du lisier de porc à 20 °C pendant 20 jours ont permis de réaliser les observations suivantes : (1) la population indigène de coliformes totaux a été réduite de 97,94 à 100 % ; (2) la population indigène d'*Escherichia coli* a été réduite de 99,67 à 100 % ; (3) les populations de *Salmonella*, *Cryptosporidium* et *Giardia* étaient inférieures au niveau de détection. Ils concluent par cette étude que la digestion anaérobie est une technologie prometteuse pour réduire les populations de microorganismes indigènes pathogènes servant d'indicateurs et les pathogènes que l'on retrouve dans le lisier de porc. Mais quant est-il pour le fumier de bovin ? Des études réalisées sur des digesteurs anaérobies en lot séquentiel à des températures psychrotrophes (20,0 à 26,5 °C) à l'échelle de la ferme ont mesuré une réduction des coliformes fécaux et totaux, de *Salmonella*, de *Campylobacter* spp., et de *Yersinia enterocolitica* à des niveaux indétectables sur la plupart des échantillons alors que le nombre de *Clostridium perfringens* et *Enterococcus* spp. est demeuré élevé tout au long du processus de digestion anaérobie (Massé, Gilbert et Topp, 2011).

Clements (1983) et Keller (1983) ont découvert un risque de prolifération des bactéries dans les boues pasteurisées après traitement. Ceci a conduit à un abandon de la pasteurisation après digestion anaérobie et une adoption systématique de la

pasteurisation avant le traitement de digestion anaérobie. Une pasteurisation de lisier et fumier de 60 minutes (à 70 °C) avant un traitement mésophile et 30 minutes avant un traitement thermophile est recommandée en Allemagne et en Autriche.

Des études récentes sur les effets des émissions dans l'air provenant de différentes opérations culturales visaient à vérifier la susceptibilité des parois des poumons des animaux et des humains à différentes poussières de sol contaminées ou non avec du compost ou du digestat (Viau, Levi-Schaffer et Peccia, 2010). Les observations ont révélé que l'épandage de compost et de digestat sur les sols agricoles augmente l'exposition pour les humains et les animaux aux différents pathogènes présents dans l'air et augmente le potentiel d'inflammation des poumons et malgré le fait que le compostage n'élimine pas entièrement les pathogènes, le compostage de digestat serait une méthode efficace pour réduire les risques d'infection pour l'humain (Viau, Levi-Schaffer et Peccia, 2010). Les paramètres influençant la réduction des pathogènes dans les digesteurs anaérobies sont : la température, le temps de rétention, le pH, les AGV, le type de digesteur anaérobie (continu ou discontinu), les espèces de bactéries et la disponibilité des nutriments.

1.8 Description de la digestion anaérobie

1.8.1 Consortium bactérien

Chacune des étapes de la digestion anaérobie (figure 1.2) est réalisée par des communautés de microorganismes complexes qui dans des conditions d'environnement précises forment des associations stables (Degrémont, 1989; Massé, 1995). Les performances d'un digesteur anaérobie sont étroitement liées à la structure de la communauté microbienne présente. Les paramètres environnementaux et les

conditions d'opération des procédés influencent ces communautés et par extension les performances du système (Demirel et Scherer, 2008). Les principaux paramètres opérationnels en digestion anaérobie sont : le type de digesteur anaérobie, le temps de séjour, la charge organique, la température du traitement, la composition du substrat, les nutriments et les composés toxiques ou inhibiteurs contenus dans le substrat (Tchobanoglous *et al.*, 2003). Pavlostathis et Giraldo-Gomez (1991) décrivent la digestion anaérobie (figure 1.2), comme un procédé gouverné principalement par quatre groupes de microorganismes (bactéries hydrolytiques acidogènes, bactéries acétogènes et productrices d'hydrogène, archaea méthanogènes hydrogénotrophe et archaea méthanogènes acétotrophes) et divisé en huit étapes de réaction :

- 1) L'hydrolyse des matières organiques particulières et complexes ;
- 2) La fermentation des acides aminés et des hydrates de carbone ;
- 3) L'oxydation anaérobie des alcools et des acides gras à longue chaîne ;
- 4) L'oxydation anaérobie de produits intermédiaires (acides gras volatils) ;
- 5) Production d'acétate par voie hydrogène et dioxyde de carbone (homoacétogénèse) ;
- 6) Conversion de l'acétate en méthane (méthanogénèse acétotrophe) ;
- 7) Réduction de l'hydrogène et du dioxyde de carbone en méthane ;
- 8) Conversion des microorganismes décrite par leur naissance et leur mort.

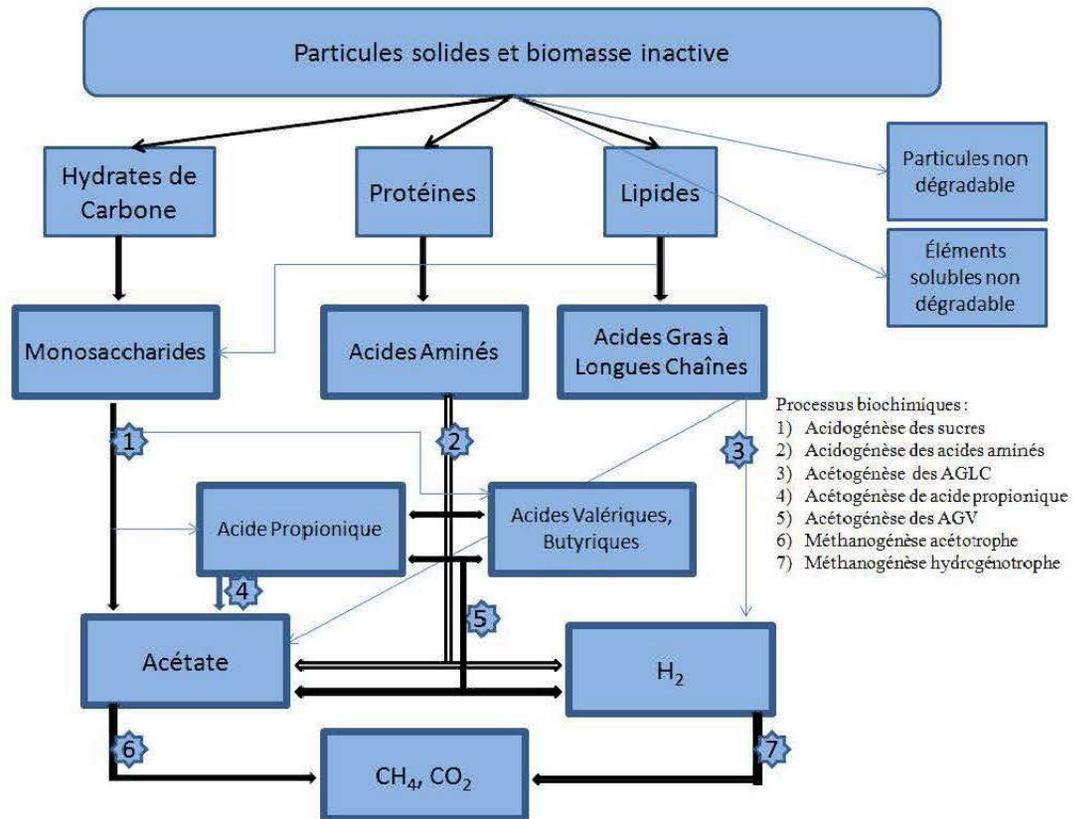


Figure 1.2 Diagramme d'écoulement tel que proposé pour le modèle ADM1 pour la dégradation anaérobie des matières organiques complexes (Batstone *et al.*, 2002)

L'étape d'hydrolyse permet aux matières organiques complexes (fibres, sucres, protéines et lipides) d'être dégradées et transformées en des composés organiques simples (osides, peptides, acides aminés). L'étape d'acidogénèse est normalement l'étape la plus rapide de la digestion anaérobie (Batstone *et al.*, 2002), elle se réalise généralement en milieu anaérobie et transforme les monomères issus de l'étape hydrolyse en AGV, dont les principaux sont : l'acide acétique, l'acide lactique, l'acide propionique et l'acide butyrique. Cette étape produit aussi des composés

neutres (éthanol), des gaz (CO_2 et H_2) et de l'ammonium (NH_4^+). L'étape d'acétogénèse transforme directement les différents composés des étapes précédentes en précurseurs directs du méthane : l'acétate et les gaz hydrogène et dioxyde de carbone.

La méthanisation est la dernière étape du procédé et implique des microorganismes méthanogènes qui s'alimentent à partir de l'acétate, du CO_2 et du H_2 présents dans l'environnement anaérobie du système. Normalement, dans les digesteurs anaérobies, toutes les étapes du procédé se réalisent à l'intérieur d'un seul digesteur. Les activités des bactéries méthanogènes acétotrophes peuvent être plus importantes que les bactéries réductrices d'acétate qui produit du CO_2 .

Les réactions biochimiques de digestion anaérobie se réalisent à un pH voisin de la neutralité lorsque la matière organique est à une concentration suffisamment élevée (3,2 à 32 kg DCO m^3) et maintenue en anaérobiose (Tchobanoglous, Burton et Stensel, 2003). Dans la nature, les bactéries utiliseront de façon séquentielle les molécules de transfert d'électrons : O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} , CH_2O et CO_2 selon le potentiel d'oxydoréduction de ces composés. En utilisant l' O_2 pour dégrader les composés organiques, les cellules bactériennes obtiennent plus d'énergie des composés organiques que n'importe quelle autre molécule de transfert. Avec plus d'énergie, la population microbienne croîtra plus rapidement et ainsi plus de déchets bactériens seront produits. Par contre, en digestion anaérobie le groupe de microorganismes responsables des étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse est composé de bactéries anaérobies strictes et aérotolesantes tandis que les microorganismes méthanogènes sont anaérobies stricts et la présence d'oxygène leur est létale. Lorsque l' O_2 n'est pas disponible, et que le NO_3^- est disponible, ce dernier sera utilisé pourvu que les bactéries soient accompagnées des enzymes requis pour utiliser les ions nitrate. L'utilisation du NO_3^- possède un rendement énergétique microbien au second rang

après l'O₂ et la deuxième plus grande production de bactéries. À cause de cette décroissance de rendement énergétique en fonction de la molécule de transfert, il y a un ordre séquentiel respectant le choix final de transfert d'électron. Cet ordre est déterminé en mesurant le potentiel de réduction de l'oxygène ou potentiel d'oxydoréduction, ce potentiel pour les bactéries méthanogènes est inférieur à -300 mV. C'est pour ces raisons que les bactéries méthanogènes proliféreront dans des milieux contenant peu d'oxygène libre tels que les milieux humides, le fond des lacs, les marécages ainsi que dans les systèmes digestifs des ruminants et de certaines espèces d'insectes (ex : le termite). C'est le principal procédé de dégradation de la matière organique que l'on retrouve dans les sites d'enfouissement sanitaire (Rapport *et al.*, 2008). On retrouve ce type de dégradation dans les litières profondes, les amas des fumiers d'animaux et les systèmes étanches d'entreposage des lisiers d'animaux de ferme (Sommer, 2001; Massé *et al.*, 2003; Sommer *et al.*, 2004).

L'étape complète de l'hydrolyse enzymatique est un processus complexe en plusieurs étapes pour les hydrates de carbone, les protéines et les lipides et peut inclure plusieurs types de productions d'enzymes, de la diffusion, de l'adsorption et des étapes de réactions et de désactivation. L'étape de l'hydrolyse peut être réalisée par des communautés de bactéries diverses : psychrotrophes, mésophiles ou thermophiles, anaérobies stricts ou facultatifs. Ces microorganismes produisent des enzymes responsables de la réduction des hydrates de carbone, des protéines et des lipides et leur solubilisation en sucre, en acide aminé et en acide gras respectivement. Ces éléments solubles serviront d'énergie pour le métabolisme des microorganismes une fois passé à travers leur paroi cellulaire. L'hydrolyse des composés organiques des substrats est divisée en deux catégories : l'hydrolyse des solides en suspension et l'hydrolyse des solides solubles. L'hydrolyse des solides dans les digesteurs anaérobies avec des matières organiques en suspension est considérée comme l'étape

limitative de la production de méthane (Pavlostathis et Giraldo-Gomez, 1991). Dans la littérature scientifique, le terme désintégration est parfois utilisé pour l'hydrolyse (Batstone *et al.*, 2002). Les composés solides en suspension tels que les fibres, les protéines et les lipides sont des polymères qui seront brisés par les exoenzymes des bactéries en monomères solubles. Par exemple, les hydrates de carbone complexes seront réduits en sucres simples (ex. glucose), les lipides en acides gras et les protéines en acides aminés (Chandra *et al.*, 2012). Les protéines sont constituées de chaînes d'acides aminés dont la structure chimique et la longueur varient. Les protéines peuvent aussi être transformées en peptides (acides aminés à courte chaîne). Les protéines et les lipides sont riches en énergie et produisent une quantité importante de méthane. Les lipides sont constitués d'acides gras et de glycérol et leur composition chimique varie. Ils peuvent être difficiles à dégrader et peuvent inhiber le processus de digestion anaérobie lorsqu'ils sont en quantité relative trop importante dans le substrat (Schnürer et Jarvis, 2010). Les autres composés issus de la désintégration des particules solides sont des particules solides non dégradables et des particules solubles non dégradables. La biomasse anaérobie morte est également présente lors de ce processus et fait partie des composés organiques produits et recyclés lors du procédé de digestion anaérobie (Batstone *et al.*, 2002).

Certains substrats d'intérêt pour la digestion anaérobie diffèrent grandement par rapport à leur composition. Du substrat tel que le lisier de porc contient de grandes quantités de matières facilement dégradables alors que d'autres (ex. la paille de blé) sont composés principalement de matières organiques structurales (fibres) plus difficiles à dégrader (Chandler, Jewell et Gossett, 1980). Les fibres constituées de chaînes de molécules de carbone, d'hydrogène et d'oxygène sont normalement divisées en trois types de molécules : la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. La cellulose est un polymère de glucose ($C_6H_{10}O_5$). L'hémicellulose ($C_5H_8O_4$) est un

polymère composé de différents types de sucres et fait le pont entre les chaînes de cellulose (Saady et Massé, 2013). La lignine également un polymère, mais de composés d'origine phénolique, dont la structure chimique exacte ($C_9H_{10}O_2$, $C_{10}H_{12}O_3$, $C_{10}H_{13}O_3$ ou $C_{11}H_{14}O_4$) est mal connue (Triolo *et al.*, 2011). La cellulose se retrouve principalement au niveau de la membrane cellulosique et ses associations avec la lignine et l'hémicellulose forment des structures compactes peu perméables et les interactions intracellulaires ne peuvent se réaliser que par l'intermédiaire de pores au niveau de la membrane cellulosique. La paroi cellulosique est formée de deux structures différentes : la paroi primaire, qui renferme près de 70% de la lignine, et la paroi secondaire, qui est la plus importante et le résultat de l'incrustation de la cellulose par la lignine et l'hémicellulose. La lignine est difficile à dégrader en raison de son haut poids moléculaire et sa composition chimique hétérogène. Elle contient des anneaux aromatiques stables et ne possède pas de structure régulière, ce qui rend le travail des enzymes peu efficace (Sierra-Alvarez et Lettinga, 1991). Des scientifiques s'intéressent à l'influence de la lignine sur la dégradation des substrats en digestion anaérobie puisque c'est un élément déterminant sur lequel peu de modèles ont été développés (Chandler, Jewell et Gossett, 1980; Lacourt, 2011).

À l'étape d'acidogénèse, les bactéries importantes sont des bactéries productrices d'acide gras volatil qui utiliseront les substrats solubilisés pour les transformer en hydrogène moléculaire, en dioxyde de carbone, en acide acétique, propionique et butyrique et en d'autre acide gras à longue chaîne. Ces bactéries peuvent être sensibles à la présence d'hydrogène comme certains clostridies qui transforment les substrats en acide butyrique ou encore des entérobactériacées et des propionibactéries qui ne sont pas affectées par la présence d'hydrogène et qui produisent de l'acide acétique ou propionique (McCarty, 1991).

L'acidogénèse est généralement définie comme un procédé microbiologique anaérobie producteur acide sans addition d'électron donneur ou receveur. Basé sur les quantités de substrats utilisées et les rendements en biomasse produite, l'étape acidogène est probablement l'étape significativement la plus productive de toutes les étapes de la digestion anaérobie (Gujer et Zehnder, 1983). Cette étape inclut la dégradation des sucres solubles et des acides aminés en plusieurs types de produits simples alors que la dégradation des acides gras à longues chaînes est une réaction d'oxydation exigeant un électron receveur externe et certains chercheurs préfèrent l'inclure dans l'étape acétogène qui décrit mieux son procédé de dégradation (Batstone *et al.*, 2002). Les étapes de l'acidogénèse et de l'acétogénèse sont étroitement liées. Elles utilisent les produits de la dégradation de l'hydrolyse et elles se réalisent par une communauté de bactéries sensibles à la présence d'hydrogène. L'action des acidogènes producteurs obligés d'hydrogène est considérée comme le lien entre l'étape acétogène et l'étape suivante et ultime à la méthanisation, l'étape méthanogène. Les réactions chimiques qui décrivent les réactions de dégradation du glucose en acide acétique, propionique et butyrique ont été bien décrites par Mosey (1983) et par Batstone *et al.* (2002). Le tableau 1.4 a été tiré de Batstone *et al.* (2002) afin de décrire la production d'acide gras volatil à partir du glucose comme hydrate de carbone simple à dégrader. La production d'ATP et les conditions liées à la présence d'H₂ favorables à la production de chaque AGV sont également représentées sur le tableau. Ce tableau démontre que les réactions à l'étape acidogénèse peuvent se produire à des concentrations en H₂ élevées. Dans le cas de la transformation du glucose en acide propionique, Batstone *et al.* (2002) affirment qu'aucun organisme produisant seulement de l'acide propionique n'a été cultivé et recommandent d'utiliser plutôt la réaction apparaissant au tableau 1.4 où l'acide acétique et l'acide propionique sont produits simultanément lors de la même réaction et cela malgré

l'utilisation de la réaction directe de transformation du glucose en acide propionique par plusieurs chercheurs.

L'acide acétique peut aussi être formé par une réaction d'oxydation à partir d'AGV à plus longue chaîne (ex. acide propionique, acide butyrique, acide valérique). Les microorganismes responsables de cette réaction utilisent l' H_2 ou le CO_2 comme receveur d'électron afin que cette réaction puisse être complétée (Batstone *et al.*, 2002). L'acétogénèse est réalisée par des bactéries acétogènes qui sont actives sur le plan métabolique qu'à des concentrations très faibles en hydrogène dans l'environnement (Gerardi, 2003). Les transformations qui sont alors requises sont défavorables sur le plan thermodynamique, sauf lorsque leur déchet métabolique, en l'occurrence l'hydrogène, est continuellement enlevé du milieu. La déshydrogénation des composés acides est défavorable sur le plan thermodynamique, voire impossible en l'absence de microorganismes capables d'utiliser l'hydrogène. C'est pourquoi on désigne ces bactéries comme des producteurs obligés d'hydrogène. À de très faibles pressions partielles d'hydrogène, la réaction chimique devient possible sur le plan thermodynamique. Par exemple pour la dégradation des acides propionique et butyrique en acide acétique et en hydrogène, le niveau d'hydrogène devra être inférieur à 10 Pa et 101 Pa de pression partielle respectivement ou la réaction ne se produira pas (Massé, 1995). Il est important d'ajouter ici que l'acide acétique se converti en ion acétate à un pH de moins de 5,5 ce qui libère d'avantage d'hydrogène, nuit aux réactions biochimiques et entraîne une accumulation des AGV (Batstone *et al.*, 2002).

Les taux typiques de génération et de mortalité des microorganismes présents aux réactions acétogènes sont 2 à 2,5 fois supérieurs à ceux que l'on retrouve aux réactions méthanogènes (Tchobanoglous, Burton et Stensel, 2003). Trois groupes de bactéries peuvent être responsables de la production d'acétate : les acétogènes

productrices obligées d'hydrogène (bactéries syntrophes), les bactéries homoacétogènes et les bactéries sulfatoréductrices (Girardi, 2003).

Tableau 1.4 Produits de la dégradation du glucose

Produits	Réaction	ATP par mole glucose	Conditions
Acide acétique	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$	4	Bas niveau H_2
Acide propionique	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$	faible	pas observé
Acide acétique, propionique	$3C_6H_{12}O_6 \rightarrow 4CH_3CH_2COOH + 2CH_3COOH + 2CO_2 + 2H_2O$	4/3	Tout niveau H_2
Acide butyrique	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$	2	Bas niveau H_2
Éthanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2OH + 2CO_2$	2	Bas pH

(Massé, 1995, (Tchobanoglous, Burton et Stensel, 2003)

Les bactéries syntrophes les plus communes que l'on retrouve dans la littérature sont les genres *Syntrophomonas wolfei*, *Syntrophomonas sapovorans* et *Syntrophobacter wolinii*. Elles utilisent le propionate et le butyrate comme sources d'énergie et de carbone (Massé, 1995 ; Pandey *et al.*, 2001 ; Moletta, 2011). Les homoacétogènes les plus communs sont les genres *Clostridium* et *Acetobacterium*, qui ont la particularité d'utiliser le CO_2 et de réduire ce dernier à l'aide d' H_2 via la déshydrogénase du monoxyde de carbone afin de produire de l'acétate. Elles peuvent également utiliser les déchets produits par les autres bactéries de la fermentation comme l'acide

propionique ou butyrique. (Batstone *et al.*, 2002). En consommant l'hydrogène, les bactéries homoacétogènes autotrophes contribuent au maintien d'une basse pression partielle en hydrogène, mais elles peuvent à la fois réduire l' H_2 disponible aux organismes méthanogènes hydrogénotrophes.

Batstone *et al.* (2002) et Tchobanoglous *et al.* (2003) recommandent d'utiliser la formulation chimique $C_5H_7O_2N$ pour représenter la biomasse produite lors des différentes étapes de la dégradation des matières organiques solides et solubles. Massé (1995) énumère dans sa thèse plusieurs espèces de bactéries et la formulation stoechiométrique qui est associée à leur synthèse (Tableau 1.6). À des températures psychrotrophes, l'homoacétogénèse est favorisée selon Batstone *et al.* (2002), alors que l'oxydation de l'acétate est davantage favorisée à des températures plus élevées. Comme la production de méthane est fortement associée à la pression partielle en H_2 , il existe une niche énergétique associée aux réactions décrites au tableau 1.5 et à la figure 1.5. À des températures mésophiles, l'hydrogène sera davantage dégradé par les bactéries méthanogènes puisque la croissance des bactéries homoacétogènes est affectée par l'accumulation d' H_2 (520-950 ppm) avant que les organismes méthanogènes et les bactéries sulfatoréducteurs ne le soient à cette gamme de température. Ces bactéries ne sont donc pas dominantes à des températures mésophiles, mais peuvent l'être à des températures sous $20^\circ C$ puisque, les bactéries méthanogènes sont moins actives et l' H_2 devient disponible pour les bactéries homoacétogènes. Il n'est pas rare de voir alors une accumulation d'acétate dans ces conditions le temps que la population microbienne s'adapte à de nouvelles conditions (Nozhevnikova *et al.*, 2007).

Tableau 1.5 Produits de l'acétogénèse

Produits	Réaction	ATP par mole	Conditions
H ₂ , CO ₂	$4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	1	
Acide propionique	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 3\text{H}_2 + \text{CO}_2$	1	H ₂ faible
Acide butyrique	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$	2	H ₂ faible
Acide acétique	$\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	0.25	H ₂ faible

Adapté de Massé (1995).

Tableau 1.6 Synthèse des bactéries

Produits	Réaction	Bactéries sollicitées
Glucose	$5\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{NH}_3 \rightarrow 6\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 18\text{H}_2\text{O}$	Acidogènes Acétogènes
Acide propionique	$3\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3 \rightarrow \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 4\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2$	Acétogènes syntrophes (ex. <i>Syntrophobacter wolinii</i>)
Acide butyrique	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + \text{CO}_2 + \text{NH}_3 \rightarrow 2\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	Acétogènes syntrophes (ex. <i>Syntrophomonas wolfei</i>)
Acide acétique	$5\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{NH}_3 \rightarrow 2\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	Méthanogènes acétotrophes
H ₂ , CO ₂	$5\text{CO}_2 + 10\text{H}_2 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 8\text{H}_2\text{O}$	Méthanogènes Hydrogéntrophes

Adapté de Massé (1995).

La méthanisation est réalisée par plusieurs types d'organismes méthanogènes, qui sont parmi les plus anciens que l'on retrouve sur la terre et font partie d'un groupe d'organismes distinct des bactéries et nommé *Archaea*. Il existe environ 50 espèces

d'*Archaea* méthanogènes que l'on retrouve dans le phylum des *Euryarchaeota*. La méthanisation est réalisée selon deux voies : hydrogénotrophe, qui utilise le couple $H_2 - CO_2$ et acétotrophe par décarboxylation de l'acétate (Pevere, 2006). La voie acétotrophe de la méthanisation est réalisée par un petit nombre de microorganismes connus alors que la voie hydrogénotrophe est réalisée par la plupart des microorganismes méthanogènes connus. La dégradation des acétates est responsable de 67 % à 80 % de la production totale en biogaz, il est normal que ce soit généralement les populations de bactéries acétotrophes qui soient dominantes dans un digesteur anaérobie (Gujer et Zehnder, 1983; Massé, 1995; Siegrist *et al.*, 2002; Moletta, 2011). Pourtant la voie acétotrophe offre moins d'énergie que la voie hydrogénotrophe lorsqu'on regarde strictement le taux de croissance des deux populations de microorganismes : le temps pour doubler la population microbienne hydrogénotrophe est jusqu'à dix fois plus rapide que celui pour doubler la population acétotrophe (Svensson, 2005; Schnürer et Jarvis, 2010). La majorité du méthane obtenu dans les digesteurs anaérobies par la voie acétate serait produite principalement par deux genres d'*Archaea* : *Methanosarcina* et *Methanosaeta* (McCarty, 1991; Gerardi, 2003; Tchobanoglous, Burton et Stensel, 2003). *Methanosarcina* croît plus rapidement que *Methanosaeta*, mais ne possède pas la même affinité pour l'acétate comme substrat tel que démontré dans la figure 1.3 (Gujer et Zehnder, 1983). D'après ce graphique, lorsque la concentration en acétate est faible, *Methanosaeta* est favorisé par une croissance supérieure par rapport à *Methanosarcina* alors que l'inverse se produit lorsque la concentration d'acétate dépasse une concentration équivalente à 50 mg DCO L⁻¹. Vavilin *et al.* (2008) ont expliqué ce phénomène en observant des formations de colonies de *Methanosarcina* regroupées en agrégats (figure 1.4).

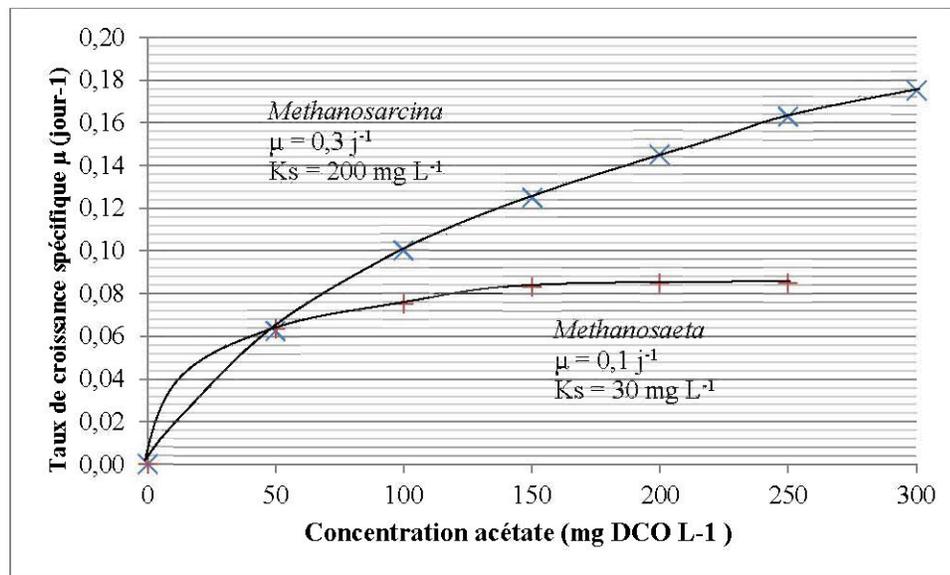


Figure 1.3 Comparaison de la croissance typique de deux organismes méthanogènes acétotrophes (Gujer et Zehnder, 1983)

Cette caractéristique propre à cette archée semble protéger l'intérieur des colonies, selon les auteurs, aux concentrations élevées en AGV et par extension à d'autres éléments inhibiteurs tels que le NH_3 . Wiegant et Zeeman (1986) associaient la plus grande tolérance à l'ammoniaque qu'ils observaient sur l'*Archaea* méthanogène *Methanosarcina*, en comparaison à *Methanosaeta*, à son plus grand ratio volume-surface qui ralentit le passage d'éléments solubles inhibiteur à l'intérieur de la cellule tout en offrant un meilleur volume de dilution une fois que l'élément eut traversé la paroi de la cellule.

Le dernier groupe d'archée important pour la production de méthane utilise l' H_2 et le CO_2 pour former du méthane et peut être représenté par plusieurs espèces : *Methanobacterium formicium*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanosarcina bakerii* (Gerardi, 2003). Ce groupe d'archées est responsable

d'environ 27 à 30% de la production de méthane (Gujer et Zehnder, 1983; Siegrist *et al.*, 2002) et démontre un rôle important comme régulateur afin de maintenir une basse pression partielle en hydrogène ce qui est primordial pour les bactéries acétogènes tel que vu précédemment. La production d'acide acétique, de méthane et de CO_2 est fortement associée à la pression partielle en H_2 , et ce phénomène de régulation de l'acétate et des acides propionique et butyrique peut être visualisé à la figure 1.4. Cette figure indique que la conversion de l'acide acétique en CH_4 et CO_2 est indépendante de la pression partielle d' H_2 (tableau 1.5), tandis que la conversion de l'acide propionique et butyrique en acide acétique se produit seulement à une pression partielle d' H_2 inférieure à 10^{-4} et 10^{-3} atm respectivement.

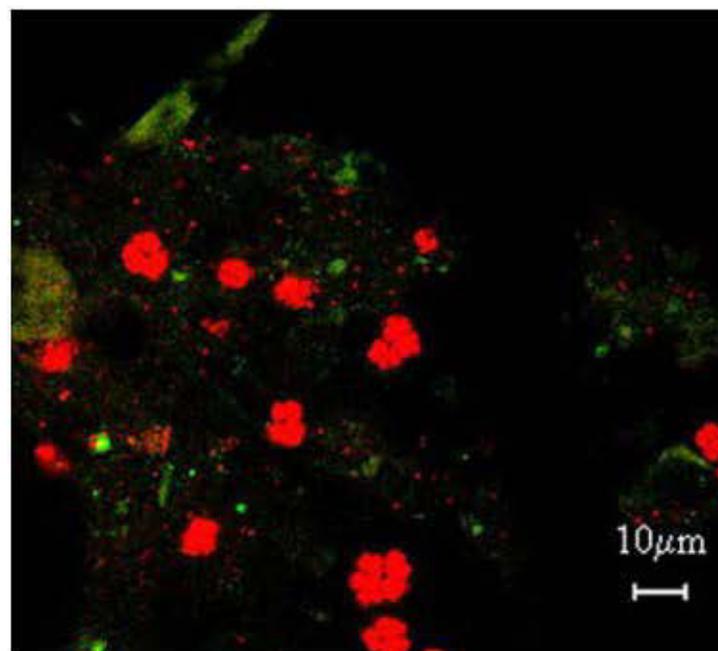


Figure 1.4 Photo de *Methanosarcina* regroupé en agrégats de 10 μm (Vavilin *et al.*, 2008).

Lorsque la pression partielle sera supérieure à 10^{-4} atm, la variation d'énergie de Gibbs sera supérieure pour la réduction du CO_2 en comparaison de la transformation de l'acétate. *Methanosarcina* qui utilise les deux substrats favorisera alors la réduction du CO_2 par rapport à la réaction liée à l'acétate. Cette étape est très importante puisqu'elle permet de réduire le niveau d' H_2 suffisamment pour favoriser la conversion de l'acide acétique en méthane (Massé, 1995).

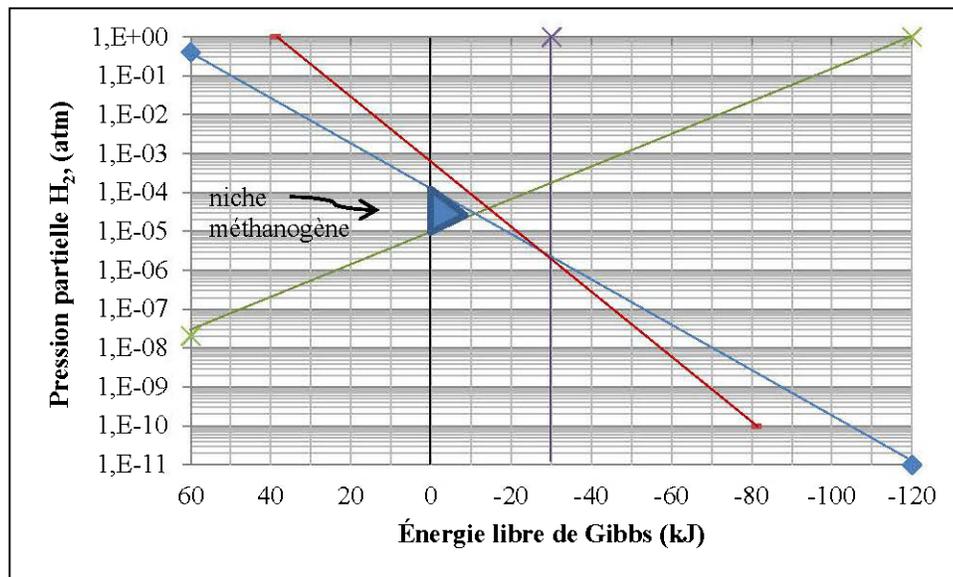


Figure 1.5 Niche favorable sur le plan thermodynamique pour la méthanogénèse réalisée à partir des équations du tableau 1.5 et l'énergie de Gibbs ΔG de ces réactions à un pH de 7 et une température de 25°C (Harper et Pohland, 1986)

1.8.2 La température du traitement

Les performances d'un digesteur anaérobie sont influencées de façon importante par la température. Les microorganismes méthanogènes dans la nature peuvent être actifs à des intervalles de températures différentes. Des chercheurs ont d'ailleurs isolé des Archaea méthanogènes et des bactéries acétogènes provenant de différents écosystèmes naturels ou encore construits par l'humain et fonctionnant à de très basses températures (Nozhevnikova *et al.*, 2001). Différentes populations de microorganismes prélevées dans les sédiments des lacs ont été testées en laboratoire et produisent du méthane à des températures variant de 2°C à 70°C (Nozhevnikova *et al.*, 2007). Isoler et utiliser les microorganismes qui vivent naturellement dans l'environnement pourraient contribuer à améliorer les performances des digesteurs anaérobies. Des études récentes sur l'influence de la température de dégradation et les voies de prédominance de dégradation des matières organiques ont apporté un éclairage plus précis et distinct des voies de prédilections pour la transformation des matières organiques en biogaz. La production de méthane à l'aide d'un précurseur H₂ – CO₂ et de l'acétate fut étudiée en laboratoire à des températures variant entre 2 et 70 °C. Ces essais ont été réalisés sur des sédiments provenant du lac Baldegg en Suède. Des communautés d'Archaea méthanogènes psychrophiles (5 °C), psychrotrophes (15 °C), mésophiles (35-45 °C) et thermophiles (45 – 70 °C) ont été cultivées en laissant incuber des boues de 1 à 3 mois sans amendement à des températures de 5, 15, 30 et 50 °C. Des mesures à l'aide de marqueurs sur les isotopes utilisés sur des nutriments ont permis de démontrer que pour la communauté d'Archaea méthanogène psychrophile (enrichie à 5 °C), environ 95% du méthane provenait de la transformation des acétates alors que la communauté thermophile (enrichie à 50 °C), 98% du méthane produit était formé par la voie H₂ – CO₂. Dans la communauté mésophile, les acétates étaient précurseurs d'environ 80% du méthane produit. Lorsque le mélange H₂ – CO₂ était utilisé comme substrat, le produit était

directement transformé en méthane sous des conditions thermophiles (70 et 50 °C). Sous des conditions mésophiles (30 °C), les deux voies de transformation (H₂ – CO₂ et acétate) ont été observées. À des températures basses (5 et 15 °C), le couple H₂ – CO₂ était d'abord converti en acétate puis transformé en méthane. Il a également été observé qu'à de hautes concentrations en acétate et à une température sous les 15 °C, une lente adaptation aux concentrations élevées en acétate de la communauté de bactéries psychrophiles une partie de l'acétate accumulé n'était toujours pas utilisée après un an d'incubation (Nozhevnikova *et al.*, 2007).

Il existe trois intervalles de températures auxquelles la digestion anaérobie est favorisée et commercialement exploitée : entre 15 °C et 25 °C ; entre 25 °C et 45 °C et entre 50 °C et 65 °C. Les termes psychrophiles, mésophiles et thermophiles, respectivement, sont régulièrement utilisés pour ces trois gammes de température en science du traitement des eaux usées et le terme psychrophile sera remplacé dans cette thèse par le terme psychrotrophe qui est plus précis et définit davantage le type de microorganismes présents dans les digesteurs anaérobies aux températures utilisées dans ces expériences. Le lecteur observera dans les sections sur les microorganismes que ces termes peuvent être utilisés à des intervalles de températures différentes lorsqu'ils s'appliquent à décrire les microorganismes en rapport avec leur écosystème naturel. Par exemple on peut trouver des bactéries mésophiles psychrotolérantes dans des digesteurs anaérobies fonctionnant à des températures basses, c'est-à-dire entre 15 °C et 25 °C. Présentement l'industrie de la digestion anaérobie est presque exclusivement occupée par un traitement réalisé à des températures supérieures à 18 °C (Collins *et al.*, 2003). La majorité des digesteurs à l'échelle industrielle ainsi que les efforts de recherche dans ce domaine ont été concentrés, jusqu'à tout récemment, sur la digestion anaérobie dans une gamme de température dite mésophile (25-45°C) (Connaughton, Collins et O'Flaherty, 2006).

Des avancées significatives ont été accomplies dernièrement dans le design de digesteurs anaérobies fonctionnant à des températures inférieures à 20 °C (Connaughton, Collins et O'Flaherty, 2006; Massé, Talbot et Gilbert, 2011). L'utilisation de plusieurs versions de digesteurs anaérobies selon un procédé de cultures fixées sur lit fluidisé ascendant, de recirculation et de procédés utilisant des cultures fixées sur lit de boues granulaires a facilité la démonstration avec succès de la digestion anaérobie à des températures basses en laboratoire pour traiter une variété d'eaux usées différentes (Connaughton, Collins et O'Flaherty, 2006). Le métabolisme de l'ensemble des populations présentes et ayant un rôle important dans l'acidogénèse et la méthanogénèse est plus lente sur le plan thermodynamique à ces températures (Batstone *et al.*, 2002; Gerardi, 2003).

Pavlostathis et Giraldo-Gomez (1991) observent que l'activité microbologique augmente avec l'augmentation de la température et soulignent le travail de plusieurs auteurs qui ont étudié l'effet de la température sur l'activité microbologique et le temps de rétention sur la digestion anaérobie de boues usées municipales. Selon ces auteurs, l'équation la plus utilisée pour décrire la relation entre l'activité microbologique et la température est l'équation d'Arrhenius :

$$V = A \cdot e^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \quad \text{Éq. 1.1}$$

V : vitesse du procédé (j^{-1})

A : constante de procédé (j^{-1})

E_a : énergie d'activation apparente (kcal mol^{-1})

R : constante des gaz ($0.001987 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)

T : température du procédé (K)

Cependant selon Donoso-Bravo *et al.* (2009), le modèle de Arrhenius est limité par une température maximale au-dessus de laquelle l'effet de la température ne peut plus

être évalué. Les auteurs suggèrent plutôt d'utiliser le modèle cardinal de Rosso *et al.* (1995) :

$$b = b_{opt} \frac{(T-T_{max}) \cdot (T-T_{min})^2}{(T_{opt}-T_{min})[(T_{opt}-T_{min}) \cdot (T-T_{opt}) - (T_{opt}-T_{max}) \cdot (T_{opt}+T_{min}-2T)]} \quad \text{Éq. 1.2}$$

T_{min} : Température minimale

T_{opt} : Température optimale

T_{max} : Température maximale

b_{opt} : paramètre dynamique étudié optimal

1.8.3 Les procédés pour traiter les fumiers de bovins

Il existe plusieurs procédés de digestion anaérobie à travers le monde. Sur la base du contenu en solides totaux, trois types de technologies différentes ont été développés : la digestion anaérobie liquide lorsque le taux de matière sèche est $\leq 10\%$, semi-solide lorsque le taux de matière sèche est entre 10 et 20 % et solide lorsqu'il est $\geq 20\%$ (Abbassi-Guendouz *et al.*, 2012). Depuis les années 1980, la digestion anaérobie des produits humides s'est fortement développée dans les exploitations agricoles (Allemagne, Danemark) alors que la DAS a été utilisée à grande échelle pour le traitement des déchets fermentescible des ménages (Wawrzyniak et Viard, 2007). Les publications récentes utilisent aussi le terme fermentation sèche ou procédé de digestion sèche (Moletta, 2011). Des digesteurs anaérobies qui fonctionnent à une siccité aussi élevée que 40 % sont de plus en plus utilisés en Europe pour le traitement de déchets organiques municipaux (Braun, 2007). Une concentration supérieure à 40% en ST peut entraîner une inhibition du procédé, principalement causée par un potentiel de diffusion dans le milieu réduit pour les microorganismes (Rapport *et al.*, 2008). La DAS comporte certains avantages lorsqu'elle est comparée à la DAL. Elle exige par exemple des volumes de réservoir plus faibles, moins d'énergie pour contrôler la température du traitement, des coûts de manutention des

substrats et digestat réduits et peu d'énergie requise pour mélanger les substrats. En Europe, environ 90% de la capacité des digesteurs anaérobies installés en agriculture sont des systèmes à une étape (Rapport *et al.*, 2008). Les digesteurs à une étape sont simples à concevoir, construire et opérer et sont généralement moins dispendieux. Le digesteur anaérobie de type « complètement mélangé liquide à une étape » est le plus communément rencontré en agriculture. Ces digesteurs ont normalement des volumes compris entre 1000 et 4000 m³ (Weiland, 2009). Ces digesteurs anaérobies sont composés de réservoirs cylindriques verticaux étanches et souvent munis d'une double membrane flexible et étanche agissant à la fois comme toit et comme réservoir pour les biogaz produits. Ces digesteurs doivent être mélangés de façon constante par un procédé mécanique, hydraulique ou parfois pneumatique. Ce mélange facilite la remontée des biogaz produits et homogénéise la température et le contact des microorganismes avec le substrat à digérer. Plus de 90% des digesteurs anaérobies utilisent un procédé mécanique pour mélanger le système. Le nombre de mélangeurs dans un digesteur anaérobie dépendra de son volume et peut nécessiter jusqu'à quatre mélangeurs. Lorsque le digesteur anaérobie fonctionne à des teneurs élevées en ST, des mélangeurs à rotation lente seront utilisés. La position du mélangeur crée un mouvement continu (circulaire ou ascendant) dans le réservoir. Les mélangeurs pneumatiques utilisent le biogaz produit en introduisant ce biogaz au bas des réservoirs (courant ascendant seulement). Ces systèmes ont l'avantage de placer les composantes mécaniques à l'extérieur du réservoir ce qui facilite l'entretien, mais ces systèmes bloquent fréquemment et ne réussissent pas à briser adéquatement les agrégations qui se développent à l'intérieur des digesteurs anaérobies (Gerardi, 2003). Les mélangeurs hydrauliques sont utilisés uniquement dans des digesteurs spécifiques. La DAS est réputée offrir un procédé stable, fiable, sans problèmes de production de mousse, de sédimentation, économique par rapport aux investissements pour la construction, permet l'utilisation des mêmes équipements de ferme utilisés

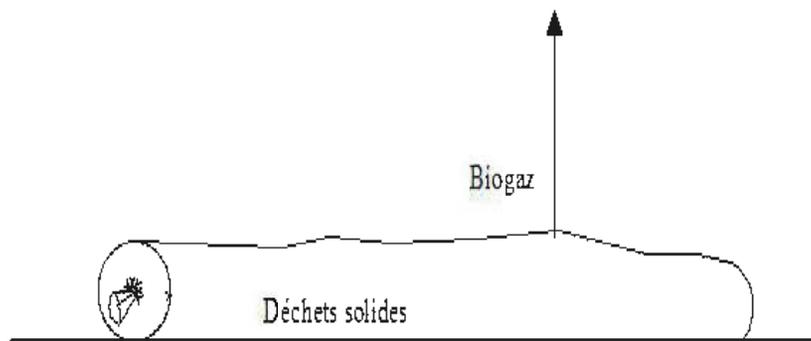
normalement pour l'alimentation et la reprise, une réduction des émissions d'odeur et une réduction des émissions de nutriment dans l'environnement par ruissellement principalement lors de l'entreposage et de l'épandage (Schäfer, Lehto et Teye, 2006). L'utilisation de digesteurs anaérobies solides permet une réduction de l'utilisation d'eau de procédé et par extension une réduction de la production d'eaux usées (Ahn *et al.*, 2010). Ces systèmes requièrent une plus grande quantité d'inoculum et un temps de rétention plus élevé (Li, Park et Zhu, 2011). Elle peut être utilisée sur des fermes d'élevage sur litière (Schäfer, Lehto et Teye, 2006). Selon ces auteurs, beaucoup d'informations existent sur les bienfaits des résidus de la digestion anaérobie de lisiers, cependant il y a très peu d'informations sur les propriétés des effluents provenant de la digestion anaérobie des solides.

Ce n'est que depuis quelques années que l'on s'intéresse à la digestion de déchets agricoles solides tels que les fumiers et les cultures énergétiques. La plupart des technologies commercialisées ont été développées à partir des recherches et du développement dans le secteur du traitement des eaux usées industrielles et municipales et dans le domaine du traitement des déchets solides municipaux, d'où l'utilisation de procédés utilisant de grands volumes d'eau. Dans le domaine municipal et industriel, cet intérêt est d'abord apparu pour stabiliser les boues usées municipales afin de sécuriser leur valorisation. L'enfouissement des déchets solides banni dans plusieurs pays à travers le monde pour des raisons de pollution diffuse et d'émissions importantes de GES s'est ajouté à la liste des raisons d'appliquer la digestion anaérobie comme traitement de stabilisation des déchets. Ceci contraste avec la capacité de traitement des déchets solides municipaux puisque 54% de la capacité totale de digestion anaérobie européenne est réalisée par une technologie solide et ce ratio est en augmentation depuis 2005 (Li, Park et Zhu, 2011). La DAS à l'échelle de la ferme n'est pas économique par rapport à la DAL puisque, selon

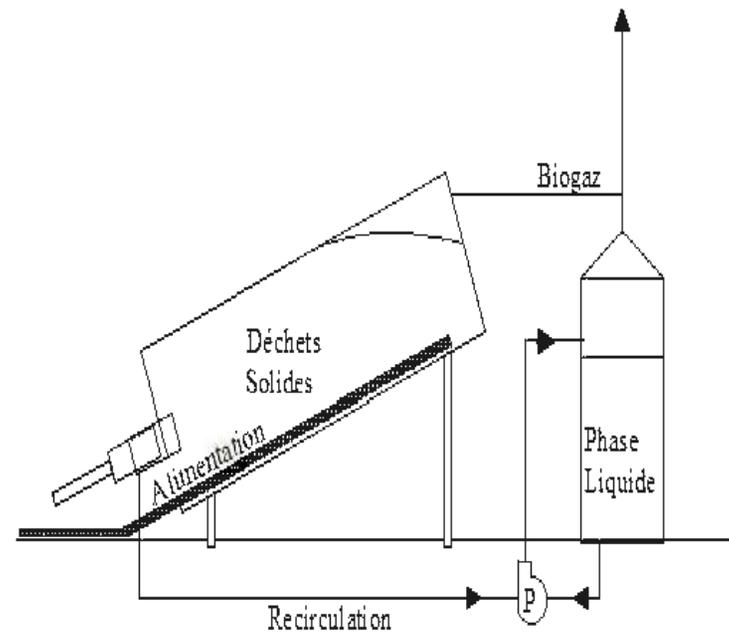
Schäfer, Lehto et Teye (2006), le seul élément de comparaison retenu jusqu'à maintenant concerne la production d'énergie alors que des analyses par rapport à la réduction des odeurs, la pollution diffuse ou encore les pertes d'azote sembleraient favoriser la DAS. Ces mêmes arguments sont souvent repris pour justifier l'installation de digesteurs anaérobies sur des entreprises où le volume de déchets à traiter est faible et la rentabilité insuffisante. La digestion anaérobie de la fraction organique des déchets municipaux est souvent justifiée par des considérations environnementales contrairement aux déchets agricoles dont le traitement sera la plupart du temps motivé pour des raisons économiques (Moletta, 2011). Certains auteurs expliquent l'absence de la digestion anaérobie solide dans les fermes américaines par des faiblesses sur le plan du design, de la construction et d'une acclimatation inadéquate de la biomasse à traiter (Hoffmann *et al.*, 2008).

Les figures 1.6 et 1.7 présentent de façon schématique des digesteurs anaérobies destinés à la DAS agricole solide et qui ont été testés en agriculture. Jusqu'à maintenant, la technologie de la digestion anaérobie de produits solides à l'échelle de la ferme n'offre pas d'avantage compétitif dans la production de biogaz en comparaison à la technologie de digestion anaérobie de boue ou de lisier sur le plan énergétique (Schäfer, Lehto et Teye, 2006). Dans cette étude, plusieurs types de digesteurs prototypes ont été comparés au niveau des investissements et du rendement méthanier. L'utilisation de sac tubulaire destiné à l'ensilage (figure 1.6, gauche) offrait de faibles coûts d'investissement, mais le rendement méthanier était faible en comparaison aux autres technologies. Un projet pilote sur un digesteur prototype en deux étapes a été construit sur la ferme Yttereneby à Järna en Finlande (figure 1.6, droite) (Schäfer, Lehto et Teye, 2006). Dans cette étude, le prototype à l'échelle de la ferme a été suivi pendant près de 6 mois et conclut que la meilleure solution technique n'est pas encore connue. Le développement de nouveaux

prototypes de digesteurs anaérobies destinés à la DAS devra compenser de façon adéquate pour les bénéfices environnementaux tels que l'utilisation autonome de l'énergie et le cycle de nutriment afin d'améliorer la rentabilité engendrée par la production de biogaz.



Projet pilote avec sac tubulaire pour ensilage



Projet pilote ferme Yttereneby, Järna

Figure 1.6 Digesteurs agricoles pilotes de type sac tubulaire pour ensilage (à gauche) et projet de la ferme Yttereneby (à droite) (Schäfer, Lehto et Teye, 2006)

Un prototype de 10 m³ (figure 1.7) développé par Wellinger, Baserga et Egger (1992) a été testé avec des déchets solides agricoles. Ce dernier a démontré un bon rendement spécifique en méthane avec un rendement de 400 L CH₄ kg⁻¹ SV (54% de méthane) en traitant du fumier de vache sur litière profonde contenant un taux de matières sèches de 18% à 22% à une température de 50 °C.

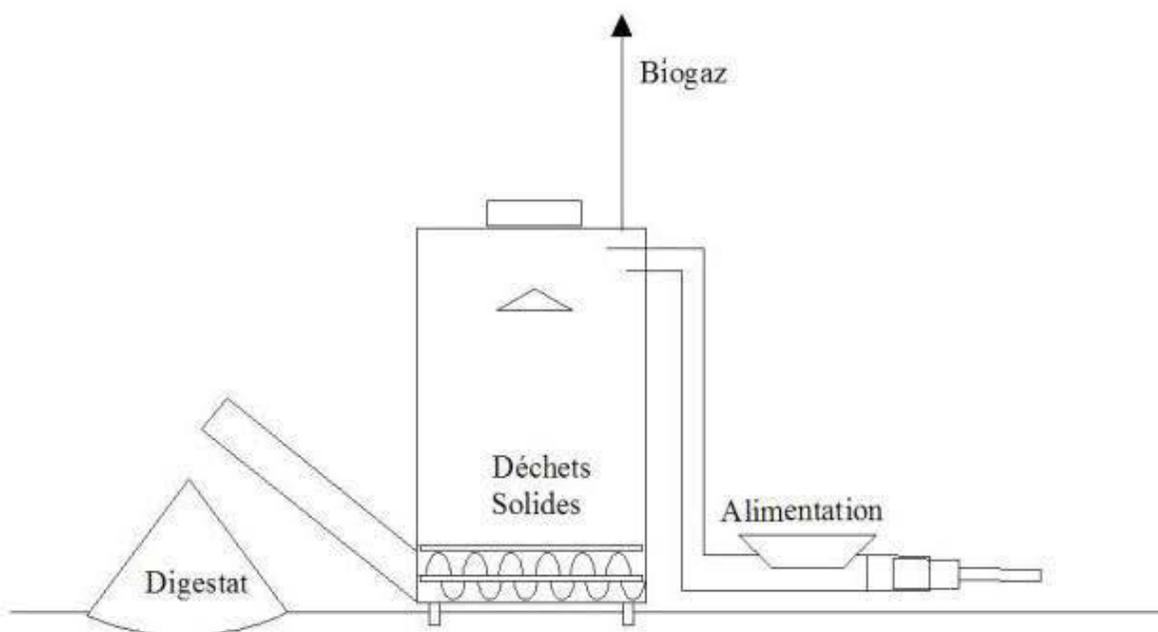


Figure 1.7 Digesteur anaérobie solide pilote (Ankom) testé avec du fumier sur litière profonde

La figure 1.8 présente un type de digesteur anaérobie vertical en mode continu commercialisé en Europe depuis plusieurs années pour le milieu municipal et industriel et qui est parfois utilisé dans des systèmes communautaires incluant des producteurs de bovins. La technologie Dranco présente un digesteur où les matières organiques fraîches sont mélangées à des digestats et préchauffées avant d'être introduites dans le haut du digesteur.

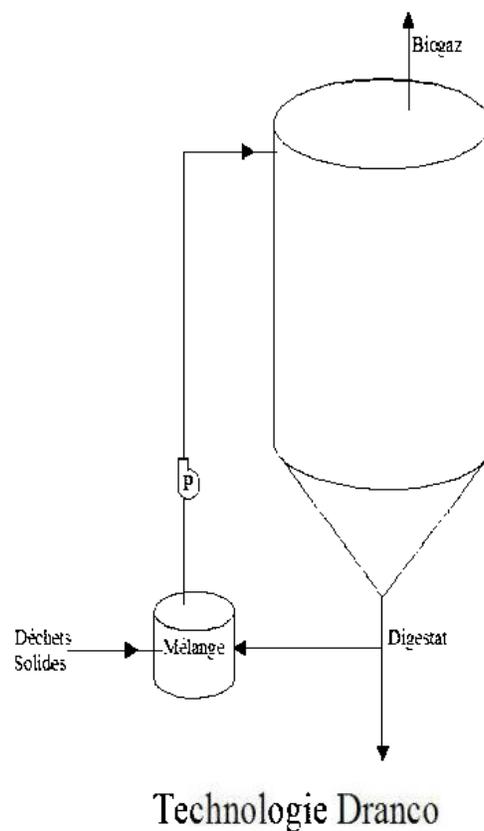


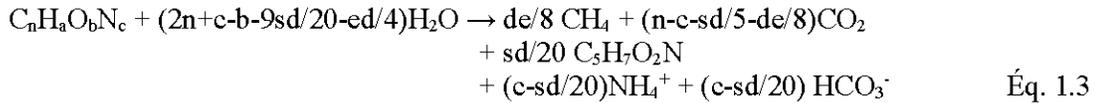
Figure 1.8 Digesteur anaérobie vertical

Lorsque les matières entrent dans le corps principal du digesteur, il faut compter entre deux et quatre jours à des températures avoisinant les 50 °C à ces matières pour compléter le traitement. Le substrat à traiter descend à travers le digesteur par gravité tout en se dégradant (Plug flow). Aucun équipement de mélange et aucune injection de gaz ne sont nécessaires à l'intérieur du digesteur, cette opération est remplacée par un recyclage intense de digestat. Le biogaz monte et sort du digesteur à travers le toit. Ce digesteur est utilisé pour les déchets organiques municipaux et industriels à haute siccité et son investissement est élevé. Des expériences réalisées à l'aide de la technologie Dranco ont été réalisées afin d'évaluer l'efficacité de cette technologie en agriculture et la première installation testée a prouvé que la digestion anaérobie solide en alimentation continue est une alternative viable aux systèmes de DAS en discontinue et offre une production de biogaz cinq fois plus élevée que cette dernière sur une base quotidienne (De Baere et Mattheeuws, 2010).

1.9 Les modèles

1.9.1 Les équations stoechiométriques

Le potentiel biométhanier des différents substrats peut-être évalué de façon théorique à partir de la composition chimique du substrat à dégrader. Plusieurs équations réalisées à partir de la composition chimique du substrat à dégrader ont été proposées (Symons et Buswell, 1933 ; Buswell et Mueller, 1952 ; McCarty, 1972). L'équation suivante a été tirée de l'article scientifique de McCarty (1972).



$C_nH_aO_bN_c$ = formule empirique des substrats à dégrader

$C_5H_7O_2N$ = formule empirique de la biomasse

$d = 4n+a-2b-3c$

s = fraction des substrats transformée en biomasse

e = fraction des substrats transformée en biométhane

Les formules empiriques pour les substrats intermédiaires peuvent également être développées. McCarty (1972) a présenté une procédure basée sur la thermodynamique et les principes bioénergétiques qui permettent de dériver les équations stœchiométriques et les rendements des microorganismes et leur taux d'utilisation des substrats. En résumé, l'énergie dégagée durant la respiration cellulaire est convertie en ATP afin d'être utilisée par la synthèse de la biomasse. L'énergie requise pour la synthèse de la biomasse est divisée en trois parties : 1) transfert de l'énergie libre pour la conversion de l'électron en pyruvate (molécule intermédiaire lors de la synthèse des bactéries) ; 2) transfert de l'énergie libre pour la réduction d'une unité d'azote en ion ammoniacque ; et 3) énergie libre utilisée pour la conversion du pyruvate et de l'ion ammoniacque en biomasse. L'auteur a également développé une méthode pour calculer le taux de dégradation des substrats. Cette méthode exige de connaître le nombre d'électron transféré lorsque la réaction n'est pas complète comme dans le cas de la fermentation. Des équations stœchiométriques ont été développées par l'auteur pour la conversion anaérobie des substrats complexes (hydrate de carbone, protéine, lipide), des AGV ainsi que leur conversion en H_2 et en CH_4 . Pour la conversion du CO_2 en CH_4 avec l'aide de H_2 comme électron donneur, une réaction autotrophe a été utilisée ce qui signifie que le carbone utilisé provient en totalité du CO_2 . Les équations stœchiométriques sont présentées au tableau 1.7 pour une molécule d'électron donneur. Pour chaque équation les fractions du substrat

utilisé pour la synthèse de la biomasse et pour la production d'énergie sont données. Ce tableau identifie les molécules qui peuvent être obtenues des différentes réactions que l'on retrouve dans un procédé de digestion anaérobie à partir des substrats complexes et intermédiaires et peuvent servir pour estimer les besoins en nutriments. Ceci est particulièrement utile pour l'industrie du traitement des eaux usées qui peut faire face à des carences en certains éléments. L'utilisation des équations stœchiométriques peut servir par exemple à estimer les besoins en azote et par association les besoins en phosphore puisque selon Pavlostathis et Giraldo-Gomez, (1991), les besoins en azote représentent habituellement 15% des besoins en phosphore.

1.9.2 Le modèle d'Eastman et Furguson (1981)

Les pages suivantes présentent quelques modèles qui ont été développés afin de simuler la digestion anaérobie. Le premier modèle présenté est celui d'Eastman et Furguson (1981). Ce modèle simple a été imaginé pour décrire le traitement de boues primaires à l'aide d'un digesteur anaérobie complètement mélangé (Completely Stirred Tank Reactor). Dans ce modèle, la dégradation des matières organiques est divisée en deux étapes : 1) les particules solides sont hydrolysées en particules solubles, 2) les particules solubles sont transformées par les bactéries acidogènes et cette transformation s'ajoute à la biomasse laissée par les bactéries mortes pour former les AGV (figure 1.9). Les hypothèses proposées sont : la mort des cellules contribue à enrichir les produits de l'acidogénèse, les concentrations en oxygène, en nitrate et en sulfate sont négligeables, et l'électron receveur se limite au CO_2 et aux AGV. L'équation proposée par ce modèle pour expliquer l'étape hydrolyse est une équation empirique de 1^{er} ordre (Tableau 1.8).

Tableau 1.7 Équations stœchiométriques de la dégradation des substrats complexes et intermédiaires pour le procédé de digestion anaérobie

Produits	Équations stœchiométriques	<i>e</i>	<i>s</i>
Hydrate de carbone	$C_6H_{12}O_6 + 0,595NH_4^+ + 1,458 HCO_3^- \rightarrow 0,595C_5H_7NO_2 + 0,535CH_3COO^- + 0,190CH_3CH_2COO^- + 0,140CH_3CH_2CH_2COO^- + 2,272 CO_2 + 2,898 H_2O$	0,504	0,496
Protéine	$C_4H_6ON + 1,478H_2O + 0,114 HCO_3^- \rightarrow 0,247C_5H_7NO_2 + 0,300CH_3COO^- + 0,280CH_3CH_2COO^- + 0,286CH_3CH_2CH_2COO^- + 0,753NH_4^+ + 0,298 CO_2$	0,710	0,290
Lipide	$C_{15}H_{31}COO^- + 0,235NH_4^+ + 6,822HCO_3^- \rightarrow 0,235C_5H_7NO_2 + 7,587CH_3COO^- + 3,319CH_4 + 3,850 CO_2 + 0,530H_2O$	0,948	0,052
Butyrate	$CH_3CH_2CH_2COO^- + 0,082NH_4^+ + 0,918HCO_3^- \rightarrow 0,082C_5H_7NO_2 + 1,835CH_3COO^- + 0,459CH_4 + 0,377 CO_2 + 0,165H_2O$	0,918	0,082
Propionate	$CH_3CH_2COO^- + 0,036NH_4^+ + 0,407H_2O \rightarrow 0,036C_5H_7NO_2 + 0,949CH_3COO^- + 0,711CH_4 + 0,196 CO_2 + 0,016H_2O$	0,949	0,051
Acétate	$CH_3COO^- + 0,018NH_4^+ + 0,027 CO_2 + 0,928H_2O \rightarrow 0,018C_5H_7NO_2 + 0,955CH_4 + 0,982 HCO_3^-$	0,955	0,045
H ₂	$H_2 + 0,256CO_2 + 0,004HCO_3^- + 0,004NH_4^+ \rightarrow 0,004C_5H_7NO_2 + 0,239CH_4 + 0,517H_2O$	0,958	0,042

L'hydrolyse fut traditionnellement modélisée à l'aide de formules mathématiques de premier ordre (Massé, 1995, Batstone *et al.*, 2002, Vavilin *et al.*, 2008). Ce type d'équation a été utilisé par de nombreux chercheurs et cette équation permet de simuler avec suffisamment de précisions la complexité du processus de l'étape hydrolyse (Batstone *et al.*, 2002). Les étapes complexes de l'hydrolyse peuvent inclure la production de nombreux types d'enzymes, de la diffusion, des phénomènes biochimiques d'absorption, de réaction et de désactivation. Pour cette raison l'équation de premier ordre est une équation empirique qui permet de décrire avec suffisamment de justesse les effets cumulatifs des processus microscopiques impliqués (Eastman et Ferguson, 1981). Le tableau 1.9 présente la liste des symboles et leur définition. La valeur de P indique la concentration des particules biodégradables solides alors que le paramètre X indique la concentration de la

biomasse qui se nourrit des particules solides et solubles. La croissance des bactéries est définie par une équation de Monod alors que la mort des cellules suit une équation de 1er ordre qui sera fonction de la concentration des bactéries présentes dans le digesteur anaérobie.

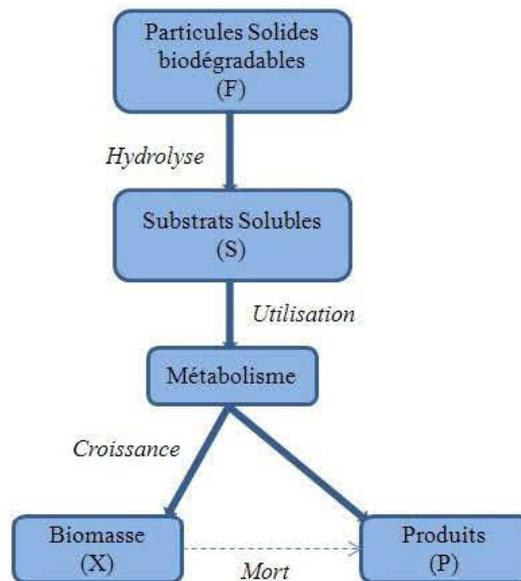


Figure 1.9 Diagramme d'écoulement du modèle d'Eastman et Furguson (1981)

Tableau 1.8 Liste des équations et variables du modèle d'Eastman et Furguson (1981)

Étape du procédé	Équation
Hydrolyse des particules solides	$\frac{dP}{dt} = -k_h P$
Utilisation des substances solubles	$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y} \frac{\hat{\mu} SX}{K_S + S}$
Mort des cellules	$\frac{dX}{dt} = k_d X$

Tableau 1.9 Liste des symboles, des unités et la valeur des paramètres utilisés pour le modèle d'Eastman et Furguson (1981)

Paramètre	Définition	Valeur*	Unité
k_h	Constante hydrolyse	3	h^{-1}
$\hat{\mu}$	Taux de croissance spécifique maximale		h^{-1}
K_S	Constante de demi-saturation		$g\ DCO\ L^{-1}$
Y	Rendement en biomasse	0,48	$g\ DCO\ g\ DCO^{-1}$
k_d	Constante de mort/lyse des cellules	0,018	h^{-1}
P	Concentration des particules solides		$g\ DCO\ L^{-1}$
S	Concentration des particules solubles		$g\ DCO\ L^{-1}$
X	Concentration de la biomasse		$g\ DCO\ L^{-1}$

*Les valeurs pour la boue primaire à 35 °C, pH de 5,15 dans un digesteur complètement mélangé

1.9.3 Le modèle de Pavlostathis et Gosset (1986)

Ce modèle suppose que le traitement des boues par la digestion anaérobie est limité par deux procédés, la mort et la solubilisation des cellules et l'hydrolyse des composés organiques. Les boues ont été passées dans un autoclave afin d'induire la mort et la solubilisation des cellules. De plus, l'étape de solubilisation des cellules a

été éliminée alors que seulement 80% de la demande chimique en oxygène (DCO) dans l'effluent du digesteur anaérobie est constitué des protéines en particules (non hydrolysées). Les résultats suggèrent que l'hydrolyse, ou encore les mécanismes de conversion primaires et non la solubilisation des cellules sont limitatifs parmi toutes les étapes de dégradation des matières organiques anaérobies. Cependant l'étude n'a pas été en mesure de bien distinguer l'étape de mort de la cellule et la solubilisation des éléments intracellulaires. Ils ont alors simplifié leur approche et Massé (1995) a repris et adapté ce modèle dans sa thèse de doctorat (Figure 1.10). Ce modèle est basé sur des réactions en régime hydraulique constant. Les équations développées par ont servi à prédire la production de méthane à partir de la digestion anaérobie du lisier de porc dans des digesteurs anaérobies de laboratoire (tableaux 1.10 et 1.11). Le modèle tient compte d'un système dynamique basé sur un bilan de masse simple à partir de particules solides et solubles contenues dans les lisiers et des interactions entre des populations microbiennes acidogènes et méthanogènes et leurs produits et substrats respectifs. C'est un modèle de diagnostic descriptif des phénomènes de dégradation des matières organiques contenues dans les fumiers d'animaux. À l'origine, le modèle a été développé pour prédire de façon simple, avec peu de paramètres cinétiques, le bilan de masse d'un procédé de digestion anaérobie par lot séquentiel. La simplification du modèle limite la précision des résultats et donne une description imprécise des différents phénomènes réactionnels rencontrés dans un digesteur anaérobie.

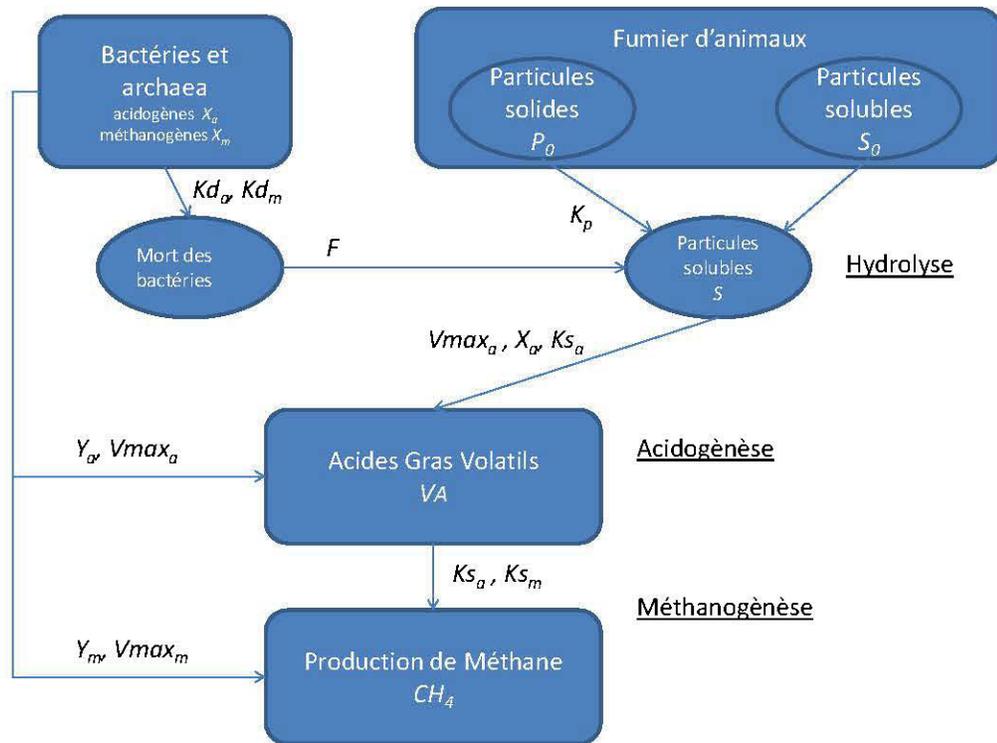


Figure 1.10 Diagramme d'écoulement du modèle de Massé (1995)

Elle permet cependant de visualiser les transformations biologiques des particules solides et solubles, des AGV et la production du méthane et des bactéries associées. Ce modèle réalise un bilan de masse pour les substrats particuliers, les produits intermédiaires (AGV) et le produit final. Comme il n'y a pas de sortie de matériel digéré (lot séquentiel), le bilan peut s'écrire ainsi :

$$\text{Accumulation} = \text{Entrée} + \text{Production} - \text{Utilisation.}$$

Ce modèle propose les hypothèses de départ suivantes :

- 1) Le modèle considère un régime hydraulique par lot séquentiel
- 2) Le substrat contient des particules solides et solubles
- 3) Les particules solides sont solubilisées
- 4) Les particules solubles sont transformées en AGV et en biomasse
- 5) Les AGV sont transformés en méthane et en bactéries méthanogènes
- 6) Le pH et les concentrations en AGV et NH_3 n'affectent pas le procédé
- 7) Les substrats solubles suivent une dynamique de type Monod
- 8) Les populations acidogènes et méthanogènes évoluent durant la simulation
- 9) La solubilité du méthane est négligeable et le méthane produit est celui mesuré à la sortie du digesteur anaérobie
- 10) Une seule population de bactérie méthanogène acétotrophe est présente dans le digesteur anaérobie
- 11) Les conditions psychrotrophes sont maintenues dans le digesteur anaérobie ($T=20\text{ }^\circ\text{C}$)

Tableau 1.10 Liste des équations du modèle de Massé (1995)

Description	Équation
Hydrolyse des particules solides	$\frac{dP}{dt} = \frac{Q(P_0 - P)}{V_1} - K_p P$
Dynamique des substances solubles	$\frac{dS}{dt} = \frac{Q(S_0 - S)}{V_1} + K_p P - \frac{V_{\max_a} X_a S}{K_{s_a} + S} + (K_{d_a} X_a + K_{d_m} X_m) F$
Acidogénèse	$\frac{dVA}{dt} = \frac{Q(VA_0 - VA)}{V_1} + \frac{Y_A (V_{\max_a} X_a S)}{K_{s_a} + S} - \frac{(V_{\max_m} X_m VA)}{K_{s_m} + VA}$
Dynamique des bactéries acidogènes	$\frac{dX_a}{dt} = -\frac{QX_a}{V_1} + Y_a \left(\frac{V_{\max_a} X_a S}{K_{s_a} + S} \right) - K_{d_a} X_a$
Dynamique des bactéries méthanogènes	$\frac{dX_m}{dt} = -\frac{QX_m}{V_1} + Y_m \left(\frac{V_{\max_m} X_m VA}{K_{s_m} + VA} \right) - K_{d_m} X_m$
Production de méthane	$\frac{dQ_{\text{CH}_4}}{dt} = \left(\frac{(V_{\max_m} X_m VA)}{K_{s_m} + VA} - F \right) * Y_m \left(\frac{V_{\max_m} X_m VA}{K_{s_m} + VA} \right) * V_1$

Tableau 1.11 Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle de Massé (1995)

Paramètre	Définition	Unité
Q	Débit d'entrée dans le digesteur	L j ⁻¹
P ₀	Concentration des particules solides dans l'affluent	mg DCO L ⁻¹
S ₀	Concentration des substrats solubles dans l'affluent	mg DCO L ⁻¹
VA ₀	Concentration des AGV dans l'affluent	mg DCO L ⁻¹
V _{maxa}	Taux de dégradation maximal des substrats solubles	mg DCO mg ⁻¹ DCO j ⁻¹
X _a	Concentration des bactéries acidogènes	mg L ⁻¹
X _m	Concentration des bactéries méthanogènes	mg L ⁻¹
K _p	Constante de solubilisation des solides	j ⁻¹
K _{da}	Constante de lyse (mortalité) des bactéries acidogènes	j ⁻¹
K _{dm}	Constante de lyse des bactéries méthanogènes	j ⁻¹
F	Équivalent théorique de la DCO en fonction de SV	mg DCO mg ⁻¹ SV
Y _A	Rendement réel des AGV dans les substrats	DCO
K _{sa}	Constante de saturation des acidogènes	mg DCOs L ⁻¹
K _{sm}	Constante de saturation des méthanogènes	mg DCO L ⁻¹
V _{maxm}	Taux de dégradation maximale des AGV	mg DCO mg ⁻¹ DCO j ⁻¹
Y _a	Facteur de rendement des bactéries acidogènes	
Y _m	Facteur de rendement des bactéries méthanogènes	
T	Temps	j
P	Concentration des particules solides dans le digesteur	mg DCO L ⁻¹
S	Concentration des substrats solubles dans le digesteur	mg DCO L ⁻¹
V _A	Concentration des AGV	mg DCO L ⁻¹
Q _{CH4}	Production de méthane	mg DCO j ⁻¹

1.9.4 Le modèle d'Angelidaki *et al.*, (1999)

Ce modèle a permis de décrire la digestion anaérobie d'un mélange de différents déchets organiques puisque la caractérisation du substrat exigée par le modèle est composée des mêmes paramètres analytiques utilisés normalement dans la caractérisation de déchets organiques. La composition organique du substrat est décomposée en hydrate de carbone, lipide et protéine alors que la composition inorganique est composée des éléments : NH_4 , P, C, H_2S , A^- , Z^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ . Le modèle inclut la décomposition des composés simples (glucose) et complexes (protéines, lipides) et incorpore la conversion enzymatique et microbiologique des composés organiques simples et complexes en acides gras volatils. La dynamique de l'hydrogène n'est pas prise en compte, alors qu'il est considéré que le remplacement de l'hydrogène dans les échanges est rapide et peu sensible comparativement aux étapes sur lesquels ils ont choisi de concentrer leurs études. Le modèle a été testé à l'aide des modèles précédents développés par les auteurs (Angelidaki *et al.* 1993). La dynamique de l'inhibition par l' H_2 telle que suggérée par Mosey (1983) a été étudiée et les résultats se sont avérés irréalistes et plutôt rapides selon les essais réalisés, mettant en évidence le rôle exagéré de régulation opéré par l'hydrogène. Ce modèle se base sur la caractérisation des différents composés à partir de méthodes standards. Le modèle se base sur des modèles d'équations de réactions équilibrées (stœchiométrie) pour chaque catégorie de composé. Le diagramme d'écoulement du modèle d'Angelidaki *et al.* (1999) est présenté à la figure 1.11. Les réactions impliquent deux procédés principaux : l'hydrolyse des hydrates de carbone et des protéines solides (étapes A et B) et huit (8) réactions métaboliques réalisées par différents groupes de bactéries :

- 1) Bactéries acidogènes responsables de la dégradation du glucose et de lipides et des acides aminés ;
- 2) Bactéries acétogènes (dégradation des acides gras à longues chaînes, de l'acide propionique, de l'acide butyrique et de l'acide valérique) ;
- 3) Bactéries méthanogènes acétotrophes.

Le modèle inclut des équations dynamiques d'inhibition non compétitive et également de type Haldane. Les hydrates de carbone dans le modèle peuvent être solides, solubles ou non dégradables. La fraction solide est hydrolysée en hydrates de carbone solubles et ensuite converti en AGV par les bactéries acidogènes. Les lipides sont dégradés en glycérol et en acides gras à longues chaînes (AGLC) par un groupe spécifique de bactéries, le glycérol est dégradé en acide propionique suivant une dynamique rapide alors que les AGLC sont transformés en acétate et en H_2 par des bactéries acétogènes. Les protéines sont également divisées en partie solides et solubles. Tout comme vu précédemment avec les hydrates de carbone, les protéines solides sont d'abord hydrolysées en acide aminé pour ensuite être converties en acide propionique, butyrique et valérique. La dynamique de l'hydrolyse est exprimée par une équation de premier ordre ainsi que la mort/lyse des cellules tout comme ce qui est retrouvé dans les modèles décrits précédemment dans le texte. Le produit de la dégradation de la biomasse est utilisé comme substrat pour les bactéries acidogènes. Les procédés biologiques sont présentés par des équations Monod et la croissance des bactéries est limitée par la disponibilité de l'azote ammoniacal. Les AGLC peuvent inhiber le procédé, peu importe la concentration d'acide gras à longues chaînes présente sauf dans le cas de la production d'acétate (équation de Haldane) où la concentration d'AGLC aura une influence sur le niveau d'inhibition de ce substrat important pour la méthanisation. Le modèle simule l'inhibition de la dégradation des AGLC par la présence de l'acétate alors que l'hydrolyse des AGLC sera régulée par la présence des AGV. L'inhibition de type Haldane par l'azote ammoniacal est

également intégrée dans le modèle pour l'étape de la méthanogénèse acétotrophe. Un résumé des fonctions d'inhibition du modèle est décrit au tableau 1.12 et les fonctions dynamiques sont décrites aux tableaux 1.13 et 1.14. Les variations du pH et de la température ont également été considérées dans ce modèle.

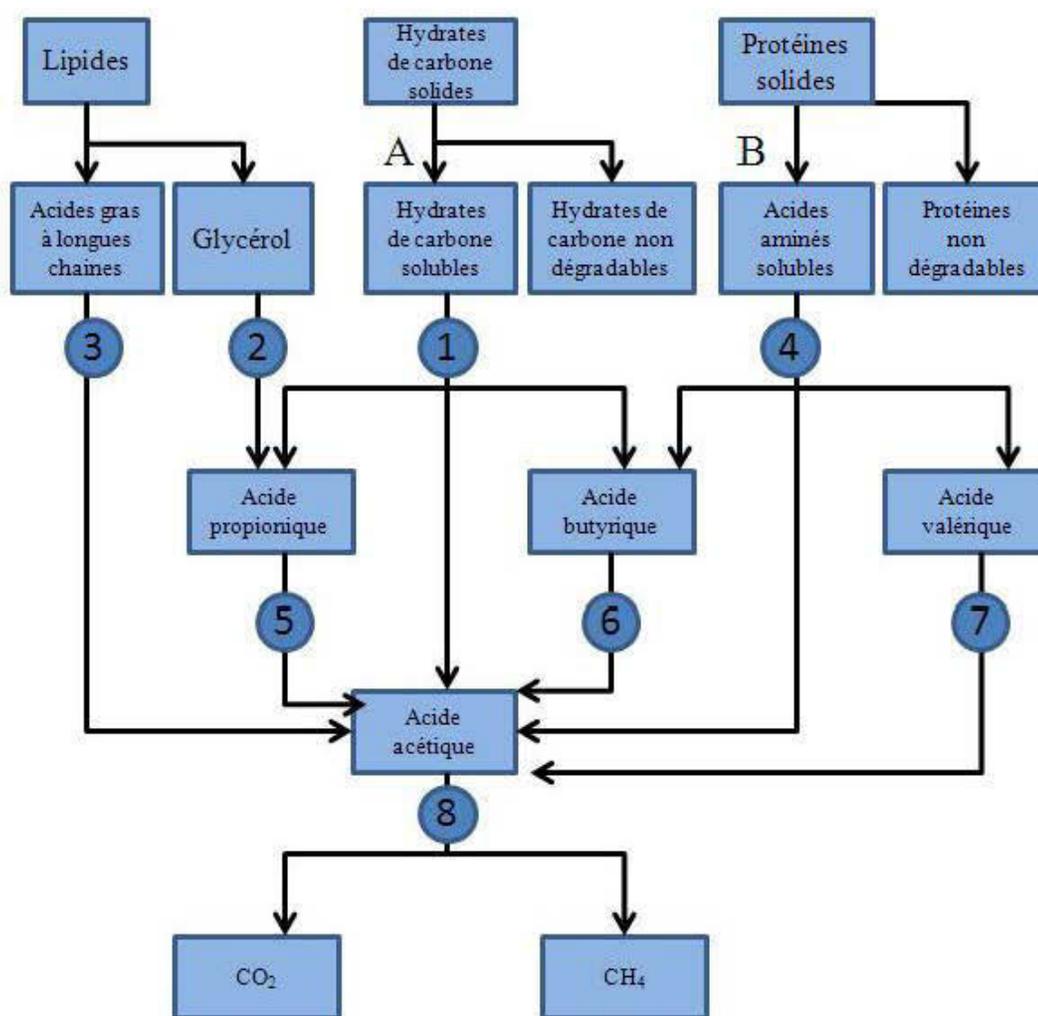


Figure 1.11 Diagramme d'écoulement du modèle d'Angelidaki *et al.* (1999)

Tableau 1.12 Équations d'inhibition du procédé utilisées par le modèle d'Angelidaki *et al.* (1999)

Équation d'inhibition	Élément inhibiteur	Type d'inhibition	Étape du procédé
$I_{AGV-T} = \frac{K_{i,AGV}}{K_{i,AGV} + \sum AGV}$	AGV	Non compétitive	Hydrolyse
$I_{NH_3-T} = \frac{[T - NH_3]}{[T - NH_3] + K_{S,NH_3}}$	Azote ammoniacal total	Co-substrat	Toutes les étapes
$I_{AGLC} = \frac{K_{i,AGLC}}{K_{i,AGLC} + [AGLC]}$	AGLC	Non compétitive	Hydrolyse lipide Acétogène Acétogène des AGV Méthanogène acétotrophe
$I_{NH_3} = \frac{K_{i,NH_3}}{K_{i,NH_3} + [NH_3]}$	ion ammoniacal	Non compétitive	Méthanogène acétotrophe
$I_{pH} = \frac{1 + 2 \cdot 10^{0,5(pK_l - pK_h)}}{1 + 10^{(pH - pK_h)} + 10^{0,5(pK_l - pH)}}$	pH		Acétogène ; Méthanogène
$I_{AGLC} = \left(1 + \frac{K_{S,AGLC}}{[AGLC]} + \frac{[AGLC]}{K_{i,AGLC}} \right)^{-1}$	AGLC	Haldane	Acétogène des AGLC
$I_{HAC} = \frac{K_{i,HAC}}{K_{i,HAC} + [HAC]}$	Acide acétique (HAc)	Non compétitive	Acétogène des AGV

Note : pK_l et pK_h sont les limites inférieures et supérieures de la valeur du pH pour lesquels le groupe de microorganisme est inhibé à 50%

Tableau 1.13 Liste des équations dynamiques du modèle d'Angelidaki *et al.* (1999)

Description	Équation
Hydrolyse	$R_s = k_0 * S * I_{AGV-T}$
Dégradation du glucose	$\mu = \mu_{max}(T) * \left(\frac{1}{1 + \frac{K_s}{[(C_6H_{10}O_5)_s]}} \right) * I_{NH_3-T} * I_{AGLC}$
Dégradation des lipides	$\mu = \mu_{max}(T) * \left(\frac{[AGLC]}{[AGLC] + K_s} \right) * I_{NH_3-T} * I_{AGLC} * I_{pH}$
Acétogénèse des AGLC	$\mu = \mu_{max}(T) * I_{AGLC} * I_{NH_3-T} * I_{pH}$
Acétogénèse des AGV	$\mu = \mu_{max}(T) * \left(\frac{[AGV]}{[AGV] + K_s} \right) * I_{NH_3-T} * I_{HAc} * I_{AGLC} * I_{pH}$
Méthanogénèse acétotrophe	$\mu = \mu_{max}(T) * \left(\frac{[HAc]}{[HAc] + K_s} \right) * I_{NH_3-T} * I_{NH_3} * I_{AGLC} * I_{pH}$

Tableau 1.14 Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle d'Angelidaki *et al.* (1999)

Paramètre	Définition	Unité
R_s	Taux de dégradation des solides dans l'affluent	$g L^{-1} j^{-1}$
S	Concentration des particules solides dans l'affluent (hydrate de carbone et protéine)	$g L^{-1}$
k	Constante de solubilisation des solides	j^{-1}
VFA	Concentration des AGV dans l'affluent	$g L^{-1}$
μ_{max}	Taux de croissance spécifique maximum des microorganismes (fonction de la température)	j^{-1}
K_i	Constante d'inhibition (pour AGLC, NH_3 , HAc)	$g L^{-1}$
K_{S,NH_3}	Constante de saturation pour l'ammoniaque	$g L^{-1}$
$[T-NH_3]$	Concentration en azote ammoniacal total	$g L^{-1}$
$[A]$	Concentration en acide aminé	$g L^{-1}$
$[HAc]$	Concentration en acide acétique	$g L^{-1}$
$[AGLC]$	Concentration en acide gras à longues chaînes	$g L^{-1}$
$[(C_6H_{10}O_5)_s]$	Concentration en glucose soluble	

1.9.5 Le modèle « Anaerobic Digestion Model » (ADM1)

Un des modèles de simulation du procédé de digestion anaérobie le plus employé dans l'industrie de la digestion anaérobie est le modèle Anaerobic Digestion Model No.1 (ADM1) développé par l'International Wastewater Association (IWA). Ce modèle résulte d'un travail de collaboration initié lors du 8^{ème} congrès (1997) sur la digestion anaérobie organisé par l'IAWQ (International Association on Water Quality) à Sendai au Japon (Batstone *et al.*, 2002). Le modèle développé a été simplifié de façon à réduire la complexité des phénomènes de digestion anaérobie sans trop affecter la précision de la simulation. Selon Banks (2004) ce modèle requiert moins de paramètres d'entrée en comparaison à un modèle de type neuronal (Neural Network) et utilise la DCO comme unité de base pour les principaux composés organiques que l'on retrouve dans les substrats (protéine, lipide et hydrate de carbone). Le diagramme d'écoulement a déjà été présenté dans ce chapitre à la figure 1.2. Les principaux processus intégrés dans le modèle sont : l'hydrolyse des polymères en monomères, l'acidogénèse des sucres solubles, l'acidogénèse des acides aminés solubles, l'acétogénèse des AGLC, des AGV et de l'H₂, ainsi que la méthanogénèse acétotrophe et hydrogénotrophe. Les fonctions d'inhibition introduites dans ce modèle impliquent : le pH, l'H₂ et l'ammoniac. D'autres fonctions régulatrices viennent également gouverner la dégradation de l'acide butyrique et valérique et une dynamique à partir d'une équation de Monod simule la diminution de la croissance lorsque la disponibilité de l'azote est faible. Le modèle a été validé sur des digesteurs anaérobies complètement mélangés (Batstone *et al.*, 2002). Il a également été validé sur des digesteurs anaérobies à lit de boues et flux ascendant (upflow anaerobic sludge bed) à l'échelle laboratoire (Batstone, Hernandez et Schmidt, 2005). Le modèle a également été validé sur des digesteurs anaérobies à deux étapes, mais a requis d'optimiser le nombre de paramètres d'entrée utilisé qui était trop volumineux à gérer par le modèle (Blumensaat et Keller, 2005).

Afin de simplifier les fonctions d'inhibition, les équations sont exprimées en termes de consommation du substrat et non en termes de croissance microbienne. Les processus sont classifiés en deux groupes distincts (réactions biochimiques et physico-chimiques). Les réactions biochimiques sont catalysées par les enzymes intra et extracellulaires qui agissent sur les substances organiques biologiquement disponibles. La dégradation des substrats solubles est réalisée par l'intermédiaire des bactéries et ce processus implique la croissance, la mort et la lyse de la biomasse. Les réactions chimiques et physiques sont décrites principalement par les associations/dissociations ioniques. Les phénomènes de transfert gaz/liquide font partie des réactions physico-chimiques modélisées. Les réactions de précipitations ne sont pas incluses dans le modèle ADM1. Les réactions biochimiques sont irréversibles et les réactions physico-chimiques sont réversibles. Les mécanismes de compétition pour les différents substrats par une communauté microbienne sont simulés (inhibition compétitrice). La réduction de la communauté microbienne est simulée lorsque les ressources en azote sont limitées. Les processus étudiés sur le plan de la chimie-physique sont : les associations/dissociations ioniques dans la phase liquide, les transferts de masse entre la phase liquide et gazeuse et vice-versa, les précipitations et la solubilisation ionique. Les couples acide/base les plus importants dans le système anaérobie modélisé sont $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$, AGV/AGV^- , $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-/\text{H}^+$. Les conditions d'équilibre sont atteintes et l'équilibre massique est atteint dans les équations algébriques puisque les réactions ioniques d'association/dissociation sont très rapides en comparaison aux réactions biologiques. La relation biologique de la dégradation est définie par une équation de Monod. Les applications de ce modèle dans des milieux hétérogènes n'ont pas été évaluées par leurs auteurs et les paramètres dynamiques ne sont normalement pas intrinsèques. Les auteurs ont voulu réaliser un type de modèle qui pourrait facilement être amélioré en ajoutant des équations pour représenter les phénomènes absents du modèle. Ce type

de modèle peut être affecté par les résistances de diffusion des différents éléments introduits par les phénomènes de transport entre les différentes phases (Batstone *et al.*, 2002). Dans tous les cas, l'équation est utilisée dans des systèmes hétérogènes et les phénomènes de transfert dans les différentes phases sont déterminés par des paramètres dynamiques dits « apparents ». Cette approche est couramment utilisée pour la modélisation de processus biologique (Batstone *et al.*, 2002). Toutes ces équations doivent également être combinées au bilan massique pour chaque phase du processus complet (tableaux 1.15, 1.16 et 1.17).

Tableau 1.15a Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle ADM1 de Batstone *et al.* (2002)

Paramètre	Définition	Unité
S_i	Particule soluble associée au substrat i	kg DCO m ⁻³
X_i	Particule solide associée au substrat i	kg DCO m ⁻³
$k_{A/Bi}$	Paramètre dynamique de l'équilibre acide base	mole ⁻¹ j ⁻¹
k_{dec}	Taux de mortalité des cellules	j ⁻¹
$I_{inhibiteur,procédé}$	Fonction d'inhibition relative au produit inhibiteur et appliquée à l'étape du procédé indiquée	
$k_{procédé}$	Taux de croissance des microorganismes associé au produit à dégrader et à l'étape du procédé	j ⁻¹
k_{La}	Coefficient de transfert gaz-liquide	j ⁻¹
$K_{i,inhibiteur,substrat}$	Concentration associée à une inhibition de 50% du produit du substrat par le produit inhibiteur	kg DCO m ⁻³
$k_{m,procédé}$	Taux de dégradation maximale du substrat à l'étape du procédé indiquée (μ_{max}/Y)	kg DCO S kg DCO X ⁻¹ j ⁻¹
$K_{S,procédé}$	Constante de demi-saturation du substrat soluble	kg DCO S m ⁻³
ρ_j	Taux de croissance dynamique associé à l'étape j du procédé	kg DCO S m ⁻³ j ⁻¹
$Y_{substrat}$	Rendement en biomasse associé au substrat	kg DCO X kg DCO S ⁻¹
μ_{max}	Taux de croissance spécifique maximum	j ⁻¹
C_i	Contenu en carbone du substrat i	kmole C kg DCO ⁻¹

Tableau 1.15b Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle ADM1 de Batstone *et al.* (2002) (Suite)

Paramètre	Définition	Unité
N_i	Contenu en azote du substrat i	kmole N kg DCO ⁻¹
$v_{i,j}$	Coefficient de rendement associé au substrat i à l'étape j du procédé	kg DCO m ⁻³
$f_{produit, substrat}$	Rendement (associé seulement au catabolisme des cellules) du produit associé au substrat	kg DCO kg DCO ⁻¹
X_c	Polymère	kg DCO m ⁻³
X_{ch}	Hydrate de carbone	kg DCO m ⁻³
X_{pr}	Protéine	kg DCO m ⁻³
X_{li}	Lipide	kg DCO m ⁻³
X_I	Particule solide non dégradabile	kg DCO m ⁻³
S_I	Particule soluble non dégradabile	kg DCO m ⁻³
S_{su}	Sucre soluble	kg DCO m ⁻³
S_{aa}	Acide aminé	kg DCO m ⁻³
S_{fa}	AGLC	kg DCO m ⁻³
S_{va}	Acide valérique	kg DCO m ⁻³
S_{bu}	Acide butyrique	kg DCO m ⁻³
S_{pro}	Acide propionique	kg DCO m ⁻³
S_{ac}	Acide acétique	kg DCO m ⁻³
S_{h2}	Hydrogène	kg DCO m ⁻³
S_{ch4}	Méthane	kg DCO m ⁻³
S_{IC}	Carbone inorganique	Mole
S_{IN}	Azote inorganique	Mole
X_{su-h2}	Biomasse	kg DCO m ⁻³
S_{cat}	Cations	Mole
S_{an}	Anions	Mole

Selon Banks (2004) le modèle ADM1 aura permis d'avoir une base commune pour le développement des futurs modèles et les études de validation des procédés sont plus facilement comparables avec ce modèle. Le développement de ce modèle aura également permis de faciliter le transfert technologique entre la recherche et l'industrie. Le modèle requiert cependant une grande quantité de paramètres et la caractérisation

Tableau 1.16 Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle pour les substrats solubles de Batstone *et al.* (2002)

j	Composé →	i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Taux (ρ_j , kg DCO m ⁻³ d ⁻¹)
	Étape du procédé ↓		S _{su}	S _{aa}	S _{fa}	S _{va}	S _{bu}	S _{pro}	S _{ac}	S _{h2}	S _{ch4}	S _{ic}	S _{in}	S _l	
1	Désintégration														$f_{sl,xc}$ k _{dis} Xc
2	Hydrolyse hydrate de carbone	1													k _{hyd,ch} Xch
3	Hydrolyse protéines			1											k _{hyd,pr} Xpr
4	Hydrolyse lipides	1-f _{fa,li}			f _{fa,li}										k _{hyd,li} Xli
5	Dégradation sucre	-1					(1-Y _{su})f _{bu,su}	(1-Y _{su})f _{pro,su}	(1-Y _{su})f _{ac,su}	(1-Y _{su})f _{h2,su}		-SC _{1,V1,5}	-Y _{su} N _{bac}		k _{m,su} S _{su} /K _s +S _{su} X _{su} I ₁
6	Dégradation acide aminé			-1		(1-Y _{aa})f _{va,aa}	(1-Y _{aa})f _{bu,aa}	(1-Y _{aa})f _{pro,aa}	(1-Y _{aa})f _{ac,aa}	(1-Y _{aa})f _{h2,aa}			N _{aa} -Y _{su} N _{bac}		k _{m,aa} S _{aa} /K _s +S _{aa} X _{aa} I ₁
7	Dégradation AGLC				-1				(1-Y _{fa})0.7	(1-Y _{fa})0.3			-Y _{fa} N _{bac}		k _{m,fa} S _{fa} /K _s +S _{fa} X _{fa} I ₂
8	Dégradation acide valérique					-1		(1-Y _{o4})0.54	(1-Y _{o4})0.31	(1-Y _{o4})0.15			-Y _{o4} N _{bac}		k _{m,o4} S _{va} /K _s +S _{va} X _{o4} 1/1+S _{bu} /S _{va} I ₂
9	Dégradation acide butyrique						-1		(1-Y _{o4})0.8	(1-Y _{o4})0.2			-Y _{o4} N _{bac}		k _{m,o4} S _{bu} /K _s +S _{bu} X _{o4} 1/1+S _{va} /S _{bu} I ₂
10	Dégradation acide propionique							-1	(1-Y _{pro})0.57	(1-Y _{pro})0.43			-SC _{1,V1,10}	-Y _{pro} N _{bac}	k _{m,pr} S _{pro} /K _s +S _{pro} X _{pro} I ₂
11	Dégradation acide acétique								-1		(1-Y _{ac})		-SC _{1,V1,11}	-Y _{ac} N _{bac}	k _{m,ac} S _{ac} /K _s +S _{ac} X _{ac} I ₃
12	Utilisation H ₂									-1	(1-Y _{h2})		-SC _{1,V1,12}	-Y _{h2} N _{bac}	k _{m,h2} S _{h2} /K _s +S _{h2} X _{h2} I ₁
13	Mortalité/lyse X _{su}														k _{dec,Xsu} X _{su}
14	Mortalité/lyse X _{aa}														k _{dec,Xaa} X _{aa}
15	Mortalité/lyse X _{fa}														k _{dec,Xfa} X _{fa}
16	Mortalité/lyse X _{o4}														k _{dec,Xo4} X _{o4}
17	Mortalité/lyse X _{pro}														k _{dec,Xpro} X _{pro}
18	Mortalité/lyse X _{ac}														k _{dec,Xac} X _{ac}
19	Mortalité/lyse X _{h2}														k _{dec,Xh2} X _{h2}
			Monosaccharide (kg DCO m ⁻³)	Acides aminés (kg DCO m ⁻³) Acides Gras a Longues Chaines (kg DCO m ⁻³)	Acide Valérique Total (kg DCO m ⁻³)	Acide Butyrique Total (kg DCO m ⁻³)	Acide Propionique Total (kg DCO m ⁻³)	Acide Acétique Total (kg DCO m ⁻³)	Gaz Hydrogène (kg DCO m ⁻³)	Gaz Méthane (kg DCO m ⁻³)	Carbon Inorganique (kmole C m ⁻³)	Azote Inorganique (kmole N m ⁻³)	Solubles Non-dégradables (kg DCO m ⁻³)	Facteurs Inhibiteurs I ₁ =I _{pH} I _N I _{lim} I ₂ =I _{pH} I _N I _{lim} I _{h2} I ₃ =I _{pH} I _N I _{lim} I _{NH3,ac}	

Tableau 1.17 Liste des paramètres d'entrée et de sortie du modèle pour les substrats particuliers de Batstone et al. (2002)

Composé →	i	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	Taux (ρ , kg DCO m ⁻³ d ⁻¹)
j	Étape du procédé ↓	X _c	X _{ch}	X _{pr}	X _{li}	X _{su}	X _{aa}	X _{fa}	X _{o4}	X _{pro}	X _{ac}	X _{h2}	X _i	
1	Désintégration	-1	$f_{ch,xc}$	$f_{pr,xc}$	$f_{li,xc}$									$k_{dis} X_c$
2	Hydrolyse hydrate de carbone		-1											$k_{hyd,ch} X_{ch}$
3	Hydrolyse protéines			-1										$k_{hyd,pr} X_{pr}$
4	Hydrolyse lipides				-1									$k_{hyd,li} X_{li}$
5	Dégradation sucre					Y _{su}								$k_{m, su} S_{su}/K_s + S_{su} X_{su} I_1$
6	Dégradation acide aminé						Y _{aa}							$k_{m, aa} S_{aa}/K_s + S_{aa} X_{aa} I_1$
7	Dégradation AGLC							Y _{fa}						$k_{m, fa} S_{fa}/K_s + S_{fa} X_{fa} I_2$
8	Dégradation acide valérique								Y _{o4}					$k_{m, o4} S_{va}/K_s + S_{va} X_{o4} / (1 + S_{bu}/S_{va} I_2)$
9	Dégradation acide butyrique								Y _{o4}					$k_{m, o4} S_{bu}/K_s + S_{bu} X_{o4} / (1 + S_{va}/S_{bu} I_2)$
10	Dégradation acide propionique									Y _{pro}				$k_{m, pr} S_{pro}/K_s + S_{pro} X_{pro} I_2$
11	Dégradation acide acétique										Y _{ac}			$k_{m, ac} S_{ac}/K_s + S_{ac} X_{ac} I_3$
12	Utilisation H ₂											Y _{h2}		$k_{m, h2} S_{h2}/K_s + S_{h2} X_{h2} I_1$
13	Mortalité/lyse X _{su}	1				-1								$k_{dec, X_{su}} X_{su}$
14	Mortalité/lyse X _{aa}	1					-1							$k_{dec, X_{aa}} X_{aa}$
15	Mortalité/lyse X _{fa}	1						-1						$k_{dec, X_{fa}} X_{fa}$
16	Mortalité/lyse X _{o4}	1							-1					$k_{dec, X_{o4}} X_{o4}$
17	Mortalité/lyse X _{pro}	1								-1				$k_{dec, X_{pro}} X_{pro}$
18	Mortalité/lyse X _{ac}	1									-1			$k_{dec, X_{ac}} X_{ac}$
19	Mortalité/lyse X _{h2}	1										-1		$k_{dec, X_{h2}} X_{h2}$
		Particules Solides (kg DCO m ⁻³)	Hydrates de Carbone (kg DCO m ⁻³)	Protéines (kg DCO m ⁻³)	Lipides (kg COD m ⁻³)	Bactéries Dégradantes des sucres (kg DCO m ⁻³)	Bactéries Dégradantes des Acides Aminés (kg DCO m ⁻³)	Bactéries Dégradantes des AGLC (kg DCO m ⁻³)	Bactéries Dégradant les Acides Valériques et Butyriques (kg DCO m ⁻³)	Bactéries Dégradant l'Acide Propionique (kg COD m ⁻³)	Bactéries Acétotrophe (kg DCO m ⁻³)	Bactéries Dégradant l'Hydrogène (kg DCO m ⁻³)	Particules Solides Non-dégradables (kg DCO m ⁻³)	Inhibition Factors I ₁ =I _{pH} I _N I _{lim} I ₂ =I _{pH} I _N I _{lim} I _{h2} I ₃ =I _{pH} I _N I _{lim} I _{NH3} X _{ac}

des substrats à traiter demeure un point limitatif du modèle et cela malgré les efforts de simplification des auteurs du modèle.

1.9.6 Modèle proposé pour le traitement de déchets solides en deux étapes

La DAS a fait l'objet de moins d'études de simulation, mais suscite dernièrement l'intérêt de plusieurs chercheurs à travers le monde (Legrand et Jewell, 1987; Mata-Alvarez, 1987; Richards *et al.*, 1991; Kayhanian, Tchobanoglous et Mata-Alvarez, 1996; Fujishima, Miyahara et Noike, 1999; Kayhanian, 1999; Kalyuzhnyi, Veeken et Hamelers, 2000; Viéitez, Mosquera et Ghosh, 2000; Vavilin *et al.*, 2003; Banks, 2004; Møller, Sommer et Ahring, 2004; Blumensaat et Keller, 2005; Nopharatana, Pullammanappallil et Clarke, 2007; Gan *et al.*, 2008; Trzcinski et Stuckey, 2009 ; Lübken, Gehring et Wichern, 2009; Klimiuk *et al.*, 2010; Labatut, Angenent et Scott, 2010; Chandra, Takeuchi et Hasegawa, 2012; Girault *et al.*, 2012; Thamsiriroj, Nizami et Murphy, 2012). Le modèle ADM1 suggère des paramètres pour l'hydrolyse de substrat solide afin de permettre aux utilisateurs du modèle de l'adapter à plusieurs procédés de digestion anaérobie (Batstone *et al.*, 2002). Dans le modèle ADM1, la dégradation des fibres n'est pas modélisée et plusieurs chercheurs se sont servi de la structure du modèle afin de vérifier son potentiel à modéliser la DAS (Koch *et al.*, 2010; Bollon *et al.*, 2011; Zhou, Löffler et Kranert, 2011). Un groupe de chercheurs de l'université Wageningen aux Pays-Bas a modifié le modèle ADM1 afin de simuler la digestion anaérobie de cultures énergétiques et de déchets agricoles (Banks, 2004). Pour tenir compte des matériaux récalcitrants (fibres lignocellulosiques) à la digestion anaérobie, ils ont modifié le modèle en ajoutant certains éléments : l'ajout de particules solubles lentes à dégrader (fibres lignocellulosiques) et un processus de réduction de sulfate (Figure 1.12).

Le modèle a permis de simuler de façon satisfaisante la digestion anaérobie à des concentrations élevées de trois types de substrats (ensilage de maïs grains, ensilage de maïs plante entière et déchets de tournesol) dans un digesteur anaérobie complètement mélangé et confirme que l'ajout des paramètres au modèle ADM1 (dégradation lente de certains hydrates de carbone et procédé de réduction du sulfate) a démontré de bonnes qualités de simulation pour les variations des AGV, du pH et de la DCO. La production de méthane n'a cependant pas été prédite avec suffisamment de précision, selon les auteurs, et de la recherche et du développement devraient être réalisés pour faire évoluer ce type de modèle.

Les modèles pour décrire la DAS devraient tenir compte de la dégradation des composés lignocellulosiques importants dans les différents déchets à haute teneur en solides totaux peu importe leur origine. Pour des substrats complexes, les formules de premier ordre employées sont parfois modifiées afin de tenir compte des composés difficiles à dégrader (Banks, 2004). Il a été démontré que les modèles d'hydrolyse liés à la croissance des bactéries hydrolytiques fonctionnent bien à des hautes charges organiques ou à des charges fluctuantes. Les modèles à deux étapes (fonction de la surface) et les modèles de Contois, ont démontré de bons résultats par rapport aux expérimentations réalisées sur une gamme étendue de déchets organiques. Les deux modèles peuvent être considérés comme plus généraux puisqu'ils tendent vers une dynamique de premier ordre lorsqu'utilisé avec un ratio biomasse : déchets élevé (Vavilin *et al.*, 2008). Afin de mieux comprendre le procédé d'hydrolyse, d'autres auteurs ont tenté de développer un modèle déterministe (Sanders, 2001).

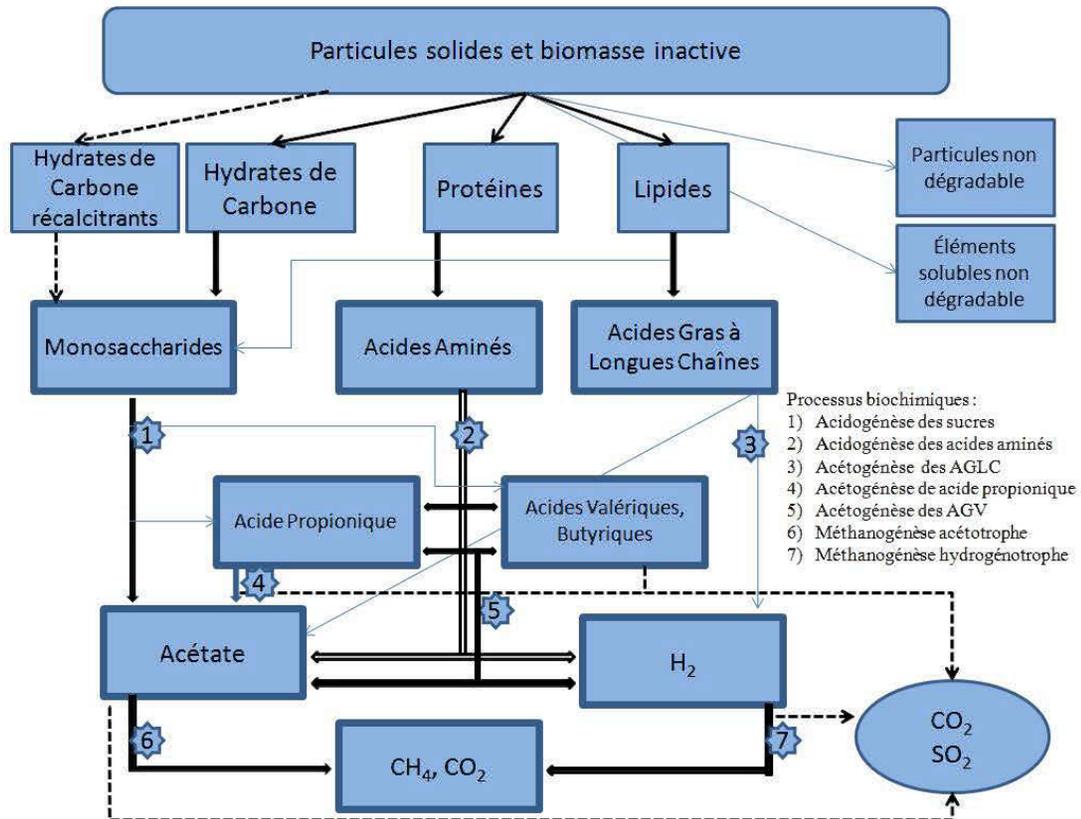


Figure 1.12 Diagramme d'écoulement du modèle ADM1 modifié pour la dégradation anaérobie de cultures énergétiques et de déchets agricoles, indiquent les modifications apportées au modèle de départ (Banks, 2004)

Cette approche basée sur des modèles d'éléments finis en deux et trois dimensions est fondamentale selon Vavilin *et al.* (2008) afin d'apporter de nouvelles informations et mieux décrire ce procédé complexe. Dans ce modèle, la particule solide est entièrement couverte par les bactéries et le niveau d'hydrolyse est constant par unité de surface disponible. L'avantage de cette approche est d'avoir un modèle qui n'est pas affecté par la dimension des substrats.

$$\frac{dM}{dt} = -k_{pDS} A \quad \text{Éq. 1.4}$$

M : Masse du substrat (kg)

t : temps (jour)

k_{pDS} : constante hydrolyse particulaire dynamique de surface (kg/m²-jour⁻¹)

A = surface disponible (m²)

La forme sigmoïde de la dégradation des matières organiques que l'on peut observer dans l'étape d'hydrolyse des particules solides telle que décrite par Vavilin *et al.* (2008) suggère deux processus distincts pour expliquer ce phénomène : un premier processus de colonisation des particules où les bactéries coloniseront les matières organiques et diffuseront des enzymes et des monomères qui seront utilisés par les bactéries hydrolytiques et un second où la dégradation et la diffusion des substrats suivent une nouvelle vitesse d'hydrolyse et sont accompagnées d'une colonisation moins intensive des particules.

Le temps de rétention (TR) du substrat est un paramètre fondamental pour le design et les paramètres opérationnels d'un procédé de traitement anaérobie. En général, un TR de 20 jours et plus sera requis pour un procédé de traitement anaérobie performant à une température près de 30 °C alors que ce TR sera beaucoup plus élevé pour des températures plus basses (Tchobanoglous *et al.*, 2003). Le TR est défini comme le temps requis pour remplacer la capacité totale du volume du digesteur anaérobie en substrat à traiter. Le TR et la charge organique quotidienne (CO_q) introduite dans le digesteur anaérobie sont des éléments essentiels aux bonnes conditions d'opération d'un digesteur anaérobie (Moletta, 2011). Le temps de rétention peut être gouverné par les objectifs de traitement de la charge organique à la sortie du digesteur ou encore par les objectifs de rendement méthanier et de production volumique en méthane. Le substrat organique ajouté au digesteur

anaérobie est en partie occupé par une partie liquide et une partie solide. Comme c'est un procédé de solubilisation, la quantité de substrat solide est continuellement réduite et peut être mesurée par une diminution de la quantité de ST ou par la diminution de la demande chimique en oxygène totale (DCOt). Le TR appliqué au liquide contenu dans le digesteur anaérobie est divisé en deux parties : le temps de rétention hydraulique (TRH) et le temps de rétention des solides (TRS). Ces TR peuvent être différents lorsque la configuration d'un digesteur anaérobie entraîne la séparation des deux phases d'un système (Schnürer et Jarvis, 2010). Dans un digesteur anaérobie à débit (entrée – sortie) constant, comme les microorganismes se retrouvent en grande partie dans la phase solide, le TRS ne peut être inférieur au taux de croissance spécifique maximal des microorganismes impliqués dans le procédé de digestion anaérobie, un temps de rétention trop court entraîne une diminution de la quantité de microorganismes et peut provoquer l'arrêt du procédé de digestion anaérobie (Pavlostathis et Giraldo-Gomez, (1991).

$$TR = \frac{V}{Q_f} \quad \text{Éq. 1.5}$$

TR = Temps de rétention (j)
 V = Volume du digesteur anaérobie (m^3)
 Q_f = Débit du substrat frais introduit ($m^3 \text{ jour}^{-1}$)

$$TRH = \frac{V_L}{Q_L} \quad \text{Éq. 1.6}$$

TRH = Temps de rétention hydraulique (j)
 V_L = Volume de liquide dans le digesteur anaérobie (m^3)
 Q_L = Débit du rejet liquide à la sortie du digesteur anaérobie ($m^3 \text{ jour}^{-1}$)

$$TRS = \frac{M_S}{F_b} \quad \text{Éq. 1.7}$$

TRS = Temps de rétention des solides (j)

M_S = Masse contenue dans le digesteur anaérobie (kg)

F_L = Flux massique à la sortie du digesteur anaérobie (kg jour⁻¹)

$$CO_q = \frac{Q_f \cdot X_f}{V} \quad \text{Éq. 1.8}$$

CO_q = Charge organique quotidienne (kg DCO jour⁻¹ ou kg SV jour⁻¹)

X_f = Concentration du substrat en charge polluante (kg DCO m⁻³ ou kg SV m⁻³)

Habituellement lorsque la digestion anaérobie se réalise en une seule étape dans un réservoir unique sans qu'il y ait recirculation des solides ou des liquides, les TRH et TRS sont identiques. Le temps de séjour peut être différent lorsqu'un digesteur anaérobie entre dans une étape de démarrage ou d'augmentation de charge par rapport à une charge quotidienne déterminée. Le TR aura une incidence sur l'adaptation des microorganismes aux substrats à traiter et certaines bactéries peuvent s'acclimater à de fortes concentrations d'éléments toxiques. Pour le traitement des eaux usées, comme la biomasse se retrouve en majorité dans les matières solides d'un digesteur anaérobie, le TRS aura une grande influence sur la population microbienne présente dans les digesteurs anaérobies et sa stabilité. Dans le cas d'un digesteur anaérobie solide, la difficulté sera davantage de mettre en contact les microorganismes avec les solides du substrat à traiter. Dans les DAS, le liquide occupe les micropores de la matrice organique et ne réalise que peu de mouvement diminuant ainsi de façon importante le transport des substrats solubles et des microorganismes produits lors des différentes étapes de la digestion anaérobie (Mata-Alvarez, Macé et Llabrés, 2000; Bollon *et al.*, 2011). Le TR devra également être adapté lors de variations dans la charge organique quotidienne introduite dans le digesteur anaérobie, la nature du substrat à traiter ou encore les variations de température de traitement. Les variations de la charge organique quotidienne affecteront la décarboxylation de l'acétate et peut faire chuter le pH ce qui entraînera

le digesteur anaérobie à fonctionner en régime acide et créer une instabilité qui peut être fatale pour le procédé de digestion anaérobie (Gujer et Zehnder, 1983).

1.10 Conclusion

La digestion anaérobie offre des avancées importantes au niveau de l'environnement (réduction des GES, des pathogènes), sur le plan agronomique (fertilisant naturel et maintien de la fraction humique du sol) et sur le plan de l'acceptabilité sociale des fermes d'élevage (réduction des odeurs). Ce type de traitement des matières organiques possède un bilan énergétique positif et produit du méthane un carburant tiré de ressources renouvelables. Sur le plan environnemental, un meilleur contrôle de la dissémination des éléments produits par l'agriculture fait partie d'une stratégie pour diminuer l'empreinte écologique de cette activité. La diminution de la teneur en matière organique affecte plus de 50% des sols sous monoculture au Québec, ce qui représentait plus de 252 000 ha de terre agricole en 1990 et aucune étude n'a été réalisé dans cette province du Canada depuis.

Les résultats de recherche sont trop contradictoires pour permettre de faire des recommandations précises sur la gestion des fumiers (solide ou liquide) la plus appropriée afin de réduire les GES émis par les entreprises agricoles. La densité, la température, la composition des déjections et des litières utilisées influencent les émissions de façon importante et certains résultats montrent des avantages à l'entreposage qui sont perdus lors de l'épandage lorsque ces types de gestion sont comparés. Parmi toutes les technologies disponibles pour l'entreposage des fumiers, la digestion anaérobie semble être la technologie la plus prometteuse pour réduire les GES de l'entreposage à l'épandage sans augmenter les émissions de NH_3 .

Le nombre total de fermes a diminué de 21,7 % entre 1986 et 2006 alors que les superficies détenues par ferme ont augmenté de 27,7 %. L'intensification des élevages et des cultures représentent une demande plus élevée en éléments nutritifs et entraîne un accroissement des pertes d'azote, de phosphore et de matières solides en suspension vers les eaux superficielles ou souterraines. Des recherches sur la digestion anaérobie des déchets organiques combinées à l'utilisation de digestat solide et liquide comme fertilisant organique et comparé au fumier normalement utilisé par les producteurs agricoles pourraient permettre de connaître les effets de ce procédé par rapport aux paramètres agronomiques, environnementaux, sociaux et économiques les plus significatifs pour le développement durable de l'agriculture.

À l'échelle de la ferme, la technologie de la DAS est peu présente à l'échelle commerciale, seuls quelques prototypes à l'échelle de la ferme ont été testés en Europe et en Asie. La DAS à l'échelle de la ferme n'est pas compétitive par rapport à la DAL puisque le seul élément de comparaison retenu jusqu'à maintenant concerne la production d'énergie alors que des analyses par rapport à la réduction des odeurs, la pollution diffuse ou encore les pertes d'azote sembleraient favoriser la DAS. L'absence de la DAS dans les fermes américaines peut être expliquée par des faiblesses sur le plan du design, de la construction et d'une acclimatation inadéquate de la biomasse à traiter.

Peu de modèles mathématiques ont été développés et testés afin de décrire les procédés existants de digestion anaérobie solide. La plupart des modèles développés ont surtout contribué à mieux comprendre l'évolution anaérobie des matières organiques facilement dégradables et éclairent peu sur la dégradation des matières peu solubilisées dans la matrice solide et surtout les réactions qui ont lieu à l'étape hydrolyse sur les particules solides. Le modèle ADM1, fortement recommandé par les spécialistes du domaine du traitement biologique des matières organiques, intègre les

fibres comme composante inerte du substrat. Ceci entraîne une distorsion par rapport à leur utilisation par les microorganismes. Les différentes recherches pourraient s'orienter sur les différentes fibres que l'on rencontre dans la nature et qui se retrouvent dans les déchets organiques importants. Les connaissances sur leur degré de réfraction à la dégradation et leur rôle comme cellule de croissance microbienne pourraient améliorer les connaissances sur le processus d'hydrolyse déterminant pour le procédé.

Afin de permettre à cette technologie de mieux se répandre à travers le monde, des développements multidisciplinaires seront requis : des améliorations sur l'efficacité des procédés et des développements de nouvelles technologies de mélange, de suivi et de contrôle des procédés sont nécessaires. Ces développements permettraient aux chercheurs, ingénieurs et microbiologistes de proposer des actions qui auront un effet sur le rendement global d'un digesteur anaérobie. Le peu d'articles scientifiques relevé avant 2005 et la publication récente de plusieurs articles sur la modélisation de matériel récalcitrant à la dégradation anaérobie incitent à penser qu'une accélération des développements peut être attendue à moyen terme dans le domaine de la digestion anaérobie solide. La recherche entreprise dans cette thèse voulait explorer la dégradation anaérobie de fumier de bovin de boucherie afin de produire du méthane valorisable sur le plan énergétique. L'utilisation du digestat provenant de la biométhanisation de fumier de bovin de boucherie solide pourrait contribuer à conserver une teneur en matières organiques élevées de ce fertilisant organique. L'utilisation de cette technologie doit nécessairement passer par des étapes de développements et de recherches, soit par le développement de nouveaux procédés ou encore la recherche d'inoculum adapté pour dégrader le type de substrats rencontrés sur les fermes. Un nouveau procédé a été développé à partir d'un inoculum provenant du rumen de deux types d'animaux (bœuf de boucherie et orignal), des essais ont été

réalisés afin de tenter d'adapter les microorganismes du rumen à dégrader du fumier solide de bovin de boucherie. Des analyses sur les caractéristiques du fumier sous différentes conditions anaérobies, par exemple des analyses sur le fumier congelé ont été réalisées afin d'étudier le décompte cellulaire des microorganismes pathogènes et ainsi observé le comportement de ces derniers contenus dans le fumier sous des conditions semblables aux températures souvent atteintes pendant les hivers canadiens. Le suivi de la production de biogaz dans les différentes expériences ont permis de vérifier par modélisation certains paramètres importants de la biométhanisation comme le lecteur aura l'occasion de le lire dans les chapitres suivants.

CHAPITRE II

ESSAI DE DÉMARRAGE D'UN DIGESTEUR ANAÉROBIE PSYCHROTROPHE À L'AIDE DE LIQUIDE DU RUMEN DE BOVIN ET D'ORIGNAL ET SUIVI DES BACTÉRIES PATHOGÈNES CONTENUS DANS LE SUBSTRAT

2.1 Résumé

Le liquide du rumen contient des microorganismes spécifiques efficaces pour dégrader les matières végétales contenant des fibres lignocellulosiques. Des digesteurs anaérobies d'une capacité volumique de 18,3 L ont été inoculés à l'aide du liquide provenant du rumen d'un bœuf de boucherie (*Bos taurus*) et d'un orignal (*Alces americanus*). Ces digesteurs ont été inoculés à une température mésophile (37 °C) pendant 26 jours, puis la température a été abaissée par strate de 4 °C et stabilisée à 20 °C. Douze digesteurs anaérobies ont été alimentés avec une charge organique équivalente quotidienne moyenne de $3,74 \pm 0,04$ g SV L⁻¹ pour une durée de 41 jours. La fréquence de l'alimentation était d'une fois par semaine avec une charge équivalente de $8,74 \pm 0,81$ kg SV déjection kg SV⁻¹ inoculum. L'alimentation a débuté le 20^{ième} jour après le début de l'essai. Le projet avait pour but d'étudier la capacité des microorganismes contenus dans le rumen à croître dans les conditions de température psychrotrophe (20 °C) et de transformer en biométhane des déjections de bovin de boucherie riches en fibres lignocellulosiques ($71,08 \pm 1,31$ % ST). La production cumulée de biogaz a été de $55,8 \pm 8,9$ L biogaz kg⁻¹ DCOt pour les digesteurs anaérobies inoculés à l'aide de liquide du rumen de bovin (RB) et de 62,1

$\pm 17,33$ L biogaz kg^{-1} DCOt pour ceux inoculés à l'aide du liquide du rumen d'original (RO). Le potentiel biométhanier théorique calculé à partir de l'équation chimique des composantes est $166 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1}$ SV. Cette valeur théorique est largement supérieure aux résultats obtenus dans la présente étude. Cette observation permet de supposer que la population microbienne ne s'est pas adaptée à la digestion anaérobie des déjections de bovin de boucherie à des conditions de température psychrotrophe ($20 \text{ }^\circ\text{C}$) pendant la période de l'expérience.

Ce projet avait aussi pour but d'étudier le dénombrement des CT, EC, et des SF soumis au traitement anaérobie pendant les essais de démarrage de la digestion anaérobie. D'autres essais anaérobies en période de réchauffement (4 à $20 \text{ }^\circ\text{C}$) ont été réalisés sur les déjections de bovin après un gel prolongé (4 mois à $-20 \text{ }^\circ\text{C}$). Le dénombrement des microorganismes pathogènes n'indique pas de différences significatives entre les déjections animales fraîches et les déjections congelées lors d'une augmentation des températures en milieu anaérobie entre 4 et 20°C .

2.2 Introduction

La période de démarrage des digesteurs anaérobies est importante pour l'atteinte d'un rendement optimal du traitement et de la production de méthane (Griffin *et al.*, 1998; Escudié *et al.*, 2011). Le fonctionnement des digesteurs anaérobies à des températures psychrotrophes ($< 25 \text{ }^\circ\text{C}$) pourrait permettre à des systèmes d'être installés dans des régions froides comme le Canada pourvu que les performances soient suffisamment intéressantes pour justifier les investissements nécessaires à la construction, au fonctionnement et à leur entretien. Ces performances peuvent être très variables selon le type du substrat utilisé, les investissements et les coûts de chauffage et d'entretien. Le bilan énergétique mesuré en Allemagne sur des digesteurs anaérobies centralisés

correspond environ à 30% de l'énergie générée par le biogaz produit (Berglund et Borjesson, 2006) alors que Schäfer, Lehto et Teye (2006) ont évalué un projet non rentable en Finlande avec un bilan énergétique maximal de 49 % basé sur l'énergie générée par le biogaz produit.

La méthanisation est réalisée par plusieurs types d'organismes méthanogènes. Ces organismes méthanogènes sont parmi les plus anciens que l'on retrouve sur la terre et font partie d'un groupe de microorganismes distinct des bactéries et nommé *Archaea* (Gerardi, 2003). On peut les retrouver dans des environnements riches en composés organiques dégradables tel que le fond des lacs, les milieux humides, l'estomac des animaux (en particulier les ruminants). La production de méthane en milieu anaérobie est impossible sans la présence de bactéries méthanogènes. Le liquide du rumen contient des populations de microorganismes particulièrement efficaces pour dégrader les végétaux riches en fibres, telles la cellulose, l'hémicellulose et les lignines (Nair, Kuang et Pullammanappallil, 2005). Cette source d'inoculum microbien a fait l'objet de quelques études, réalisées à des températures mésophiles, afin d'améliorer les performances des procédés de digestion anaérobie sur des substrats contenant des proportions importantes de fibres lignocellulosiques (Gijzen *et al.*, 1988; Weimer, Russell et Muck, 2009; Lacourt, 2011). Le liquide provenant des deux types de rumen était adapté à dégrader la cellulose. Les rendements obtenus à l'aide des deux types d'inoculum adaptés par Gijzen *et al.* (1988) et Lacourt (2011) ont été, respectivement, de $438 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ avec l'inoculum adapté d'un rumen de mouton et $400 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ avec l'inoculum adapté d'un rumen d'original. Les populations de microorganismes peuvent s'adapter à certains changements de conditions environnementales en autant que ces changements respectent les limites métaboliques des différents individus de la population microbienne.

Au Canada, les installations avec une gestion des fumiers sous forme solide ou semi-solide représentent respectivement 57,3%, 93,9% et 14,3% des cheptels laitiers, bovins et porcins (Statistique Canada, 2003). La plupart des déjections des animaux de ferme au Canada sont entreposées ou accumulées à l'extérieur des bâtiments d'élevage et passe une période variable, à une température sous le point de congélation. En production bovine, les animaux sont dans plusieurs cas élevés complètement à l'extérieur dans des enclos d'hivernement ou les déjections s'accumulent sur place à même l'enclos. Dans ces cas, le traitement des déjections animales ne peut se faire qu'après une période prolongée, par exemple lorsque les animaux quittent l'enclos, le fumier accumulé peut alors être retiré de l'enclos et transporté pour être épandu ou traité. Les recherches sur la survie au gel des bactéries pathogènes et méthanogènes contenues dans les déjections des animaux sont rares. Kinsley, Kennedy et Crolla (2012) ont comparé des boues de fosses septiques soumises à des traitements de gel et dégel et ont mesuré une diminution d'EC de 2 log après le dégel des boues. Cependant, l'article ne donne pas d'informations sur la température des boues et le temps entre le dégel et le prélèvement des échantillons. La congélation du fumier dans les enclos d'hivernement peut-elle modifier les matières organiques et modifier le nombre de bactéries pathogènes présentes? La congélation est une technologie proposée en traitement anaérobie afin d'augmenter la solubilisation des matières organiques (Stabnikova, Liu et Wang, 2008). Selon Örmeci et Aarne Vesilind (2001), le gel endommage une partie des cellules présentes dans les matières organiques et permet un enrichissement du milieu en matières organiques solubles provenant de matériel intra et extracellulaire. La congélation modifie la population microbienne sans modifier de façon significative la composition chimique des matières organiques et minérales présentes (Montusiewicz *et al.*, 2010). La congélation forme des cristaux entre les cellules et peuvent occasionner des dommages aux parois (Stabnikova, Liu et Wang, 2008) des

organismes non adaptés. Les mécanismes de protection au gel ne sont pas encore bien compris, ces mécanismes sont multiples et ont comme finalité une grande stabilité des parois des cellules (Thomashow, 1998).

Ce chapitre vise à communiquer les résultats mesurés sur le biogaz produit et les différentes observations réalisées par rapport aux microorganismes pathogènes contenus dans les déjections et le digestat pendant l'essai de démarrage de la digestion anaérobie. Les observations réalisées sur les paramètres physico-chimiques mesurés pendant l'étude sur la production de biogaz ainsi que les microorganismes pathogènes contenus dans les déjections soumises au gel et dégel sont aussi présentées.

2.3 Objectifs spécifiques

L'objectif du premier essai traité dans ce chapitre était de suivre l'adaptation des microorganismes contenus dans le rumen d'un bœuf de boucherie (*Bos taurus*) et d'un orignal (*Alces americanus*) une fois placé dans un digesteur anaérobie à environnement contrôlé et alimenté par un substrat de fumier de bovin riche en fibres lignocellulosiques. Le but était d'enrichir les digesteurs anaérobies en populations microbiennes mésophiles adaptées à dégrader un matériel riche en fibres et à suivre son adaptation à des températures psychrotrophes de 20 °C. L'étude visait à vérifier l'adaptation de ces populations bactériennes à produire du biogaz. Les indicateurs d'adaptation étant la production de biogaz, le pH, les AGV et la réduction des bactéries pathogènes.

Le gel des fumiers entraîne une modification de sa population microbienne sans modifier de façon significative la composition chimique des matières organiques et minérales contenues dans ce dernier. L'objectif du deuxième essai traité dans ce

chapitre était d'étudier l'amorce de la phase hydrolyse acidogène en conservant des déjections de bœuf, congelées pendant plusieurs mois, en plaçant celles-ci en milieu anaérobie et en faisant varier la température entre 2°C et 18°C par strates de 4 °C afin de simuler l'effet de l'entreposage au champ. L'étude visait aussi à mesurer le nombre de bactéries pathogènes présent dans les déjections après un gel de quatre mois à -20 °C et pendant une période de réchauffement graduel sous des conditions anaérobies.

2.4 Matériel et méthodes

2.4.1 Description des digesteurs

Le procédé développé et testé dans le cadre de ce doctorat est un procédé qui fonctionne en deux étapes. Le digesteur anaérobie est composé principalement de deux réservoirs cylindriques d'une capacité totale de 18,3 L : un réservoir cylindrique dont le volume assure une rétention des solides durant plusieurs jours et un digesteur identique conçu pour recevoir seulement le liquide provenant du premier réservoir (figure 2.1). À l'intérieur du DAS, deux tamis permettent de séparer par gravité et par pression des gaz, le solide et le liquide et permet également un passage du liquide et des gaz à partir du fond du réservoir vers le haut du réservoir ou encore à partir d'une pression exercée dans la partie supérieure du réservoir pour transférer le liquide du haut vers le bas puis vers le DAL. Ce système peut être utilisé en mode d'alimentation et de traitement par lot, par lot séquentiel et pourrait être utilisé par lot continu en ajoutant certaines composantes destinées à permettre la sortie des digestats solides d'une façon continue. Les essais dans ce doctorat ont été réalisés en mode d'alimentation par lot séquentielle. Lors d'un fonctionnement à une étape, les solides et le liquide sont confinés en totalité dans un seul réservoir, le DAS.

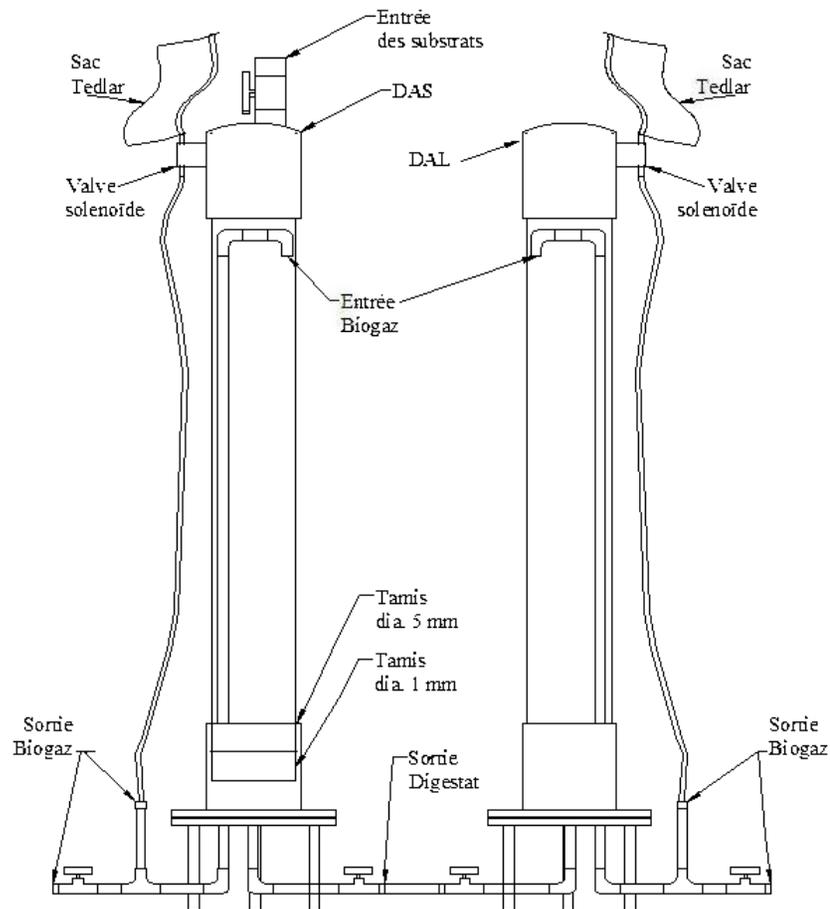


Figure 2.1 Schéma en coupe des DAS et DAL de laboratoire utilisés pour l'expérience

Lors d'un fonctionnement en deux étapes, le solide est confiné dans le DAS par-dessus les tamis et la majeure partie du liquide est transférée dans le DAL. Une partie du liquide demeure à l'intérieur du réservoir de DAS (environ 2,5 L) et a pour rôle

d'améliorer l'étanchéité du réservoir au gaz présent puisque les tuyaux de transfert des liquides et des gaz passent à travers le bas du réservoir. Les solides demeurent en permanence au-dessus des tamis. Les tamis ont un diamètre d'ouverture de 5 mm et de 1mm pour le tamis le plus fin.

La configuration des digesteurs anaérobies à deux étapes à l'échelle laboratoire permet de réaliser une comparaison entre la digestion anaérobie à une étape et une digestion anaérobie à deux étapes. Le liquide contenu dans le DAL servait à faciliter l'étape d'inoculation des nouveaux substrats en les inondant lors de leur introduction dans le DAS. Une fois les solides introduits à l'intérieur du réservoir, le liquide contenu dans le DAL était transféré par le bas du DAS afin d'inonder toute la colonne de solide du bas vers le haut, ensuite une légère pression des gaz introduits par le bas du DAS permettait un mélange des solides présents. Une fois les solides nouvellement introduits à l'intérieur du DAS et mélangés, le processus de digestion anaérobie pouvait débiter. Comme les solides introduits se trouvent sur le dessus du digesteur, ils pouvaient migrer au sein de la colonne de solides pendant l'opération de mélange. Cette migration avait pour but d'augmenter les chances de mettre en contact les particules solides avec les microorganismes responsables de l'hydrolyse et de faciliter leur colonisation sur les particules solides. Le digesteur anaérobie solide est maintenu à une pression faible (moins de 1 psig) par un système de mesureur à pression et valve solénoïde afin d'expulser les gaz au fur et à mesure de leur production.

Les essais ont été réalisés à partir de 12 digesteurs anaérobies d'une capacité volumique moyenne de 18,3 L (150 mm de diamètre, 1020 mm de hauteur) et d'un volume utile de 15,0 L. Ces digesteurs verticaux ont été construits en polychlorure de vinyle (PVC) clair (figure 2.2).



Figure 2.2 Photographie des digesteurs anaérobies en mode d'alimentation par lot discontinu séquentiel (volume de 18,3 L)

Les digesteurs sont munis de trois valves à bille de diamètres différents : une valve d'entrée des substrats (diamètre de 50 mm), une valve de sortie de digestat (diamètre de 12,7 mm) et deux valves de sortie des biogaz : une valve manuelle (diamètre de 12,7 mm) et une valve automatique (diamètre de 1,6 mm). Les digesteurs ont été alimentés en mode discontinu, séquentiel. Afin d'assurer l'étanchéité des digesteurs anaérobies, chaque digesteur a été pressurisé avant l'expérience afin de mesurer une

pression constante des gaz contenus à différentes pressions internes sans matériel organique dans le réservoir pendant un minimum de 24 heures. La pression des digesteurs anaérobies a été maintenue à une valeur inférieure aux pressions maximales mesurées. L'accumulation de la pression à l'intérieur des digesteurs anaérobies a été régulée selon la production de biogaz, sans excéder 2900 ± 290 Pa. Afin de maintenir une faible pression des gaz à l'intérieur des digesteurs anaérobies, un interrupteur à pression (Omega, Canada, PSW21) et une valve solénoïde (Omega, Canada, SV-1200) ont été installés sur le tuyau d'évacuation des biogaz de chacun des digesteurs. Le biogaz produit était évacué par différentiel de pression interne et était acheminé vers un sac en Tedlar® de 3 litres étanche aux gaz produits et installé à la sortie de la valve de contrôle de la pression des digesteurs anaérobies.

Un mesureur à pression (Omega, Canada, PX26-001GV) a été installé sur chacun des digesteurs et l'ensemble des mesureurs a été raccordé à un acquiiseur de données (Omega, Canada, DAQ-55). Un ordinateur a enregistré avec le logiciel Personal Daqview Plus v.2.0.10 (Omega Engineering inc., Canada) les variations du potentiel électrique mesuré par chaque mesureur à pression installé sur les digesteurs anaérobies à des intervalles de cinq minutes pendant toute la durée de l'expérience. Les mesureurs à pression ont été calibrés à des températures variant entre 18 et 22 °C en faisant varier la pression entre 0 et 6895 Pa ± 1 % (linéaire). Les résultats de pressions relatives obtenus ont ensuite été corrigés à l'aide des paramètres calculés par régression linéaire à partir de la tension mesurée (V) à chacune des mesures de pression avec une précision de $\pm 1,0$ % (linéaire) et $\pm 0,2$ % (répétabilité et hystérésis).

2.4.2 Essai 1 : Adaptation des populations microbiennes impliquées dans la digestion anaérobie en condition psychrotrophe

Chacun des neuf digesteurs a été inoculé à l'aide de liquide ($648,3 \pm 68,1$ g base humide) provenant du rumen d'un bovin de boucherie fraîchement abattu et deux digesteurs ont été inoculés à l'aide de liquide provenant du rumen d'un orignal. Un dernier digesteur a été en partie rempli d'eau distillée (2 L) et a servi à valider les changements de pression occasionnés par les variations de la pression atmosphérique. Le liquide du rumen de bovin a été prélevé quelques heures avant d'être introduit dans les digesteurs qui avaient été vidés et remplis d'azote gazeux (N_2). Le liquide du rumen d'orignal avait été réfrigéré à 4 °C dans un contenant hermétique pendant une période de quatre mois avant d'être introduit dans les digesteurs anaérobies.

Le niveau d'activité microbiologique des deux liquides de rumen utilisé n'a pas été vérifié avant le début de l'expérience. Les digesteurs ont été placés à l'intérieur d'une chambre conçue à l'aide d'un isolant thermique (Air Thermofoil®) et maintenu à une température moyenne de $37,2 \pm 2,1\text{ °C}$ pendant une période de 26 jours. La température était contrôlée à l'aide d'un aérotherme (Plas Labs, model 800-Heater) muni d'un mesureur électronique de haute précision placé à la sortie de l'air. Ensuite, la température d'incubation a été diminuée par strate de 4 °C et maintenue à chaque plateau de température pour des périodes variant de 6 jours à 22 jours jusqu'à ce que la température atteigne la température ambiante du laboratoire. La période totale de réduction de la température a été de 60 jours. Le changement de température était initié dès que la pression interne des digesteurs anaérobies augmentait de façon quasi constante pour tous les digesteurs, sur une période de plus de six jours, signifiant ainsi une reprise de la production de biogaz. La température ambiante du laboratoire était contrôlée par les systèmes de climatisation et chauffage du bâtiment. L'isolant thermique a été enlevé pendant la période de digestion anaérobie à la température

ambiante, lors de laquelle la température a varié de 18,6 à 21,6 °C. Les digesteurs ont été alimentés, sur une base hebdomadaire, à l'aide de fumier de bovin de boucherie à partir du 20^{ième} jour du début de l'expérience et pendant une période de 7 semaines (tableau 2.1). Le taux d'alimentation a été en moyenne l'équivalent d'une charge de $7,30 \pm 0,75$ kg DCO déjection kg^{-1} DCO inoculum ou $8,74 \pm 0,81$ kg SV déjection kg^{-1} SV inoculum.

Les déjections provenaient de vaches de boucheries alimentées, depuis un minimum de 30 jours, au fourrage sec (mélange de graminées et de légumineuses) (Ferme Métivier, Laverlochère, Québec). Les déjections ont été prélevées le 18 mars 2009, sans la litière et placées manuellement dans des capsules de 845 mL. Les déjections ont été prélevées fraîches (moins de 12 heures) et conservé à 4 °C pendant une période maximale d'un mois avant d'être introduit dans les digesteurs anaérobies. Les digesteurs anaérobies ont été alimentés avec une moyenne de 670,2 g (base humide) de fumier une fois par semaine. Un total de $909,1 \pm 29,07$ g DCOt de fumier frais a été introduit en moyenne dans les digesteurs anaérobies durant l'expérience d'adaptation microbienne.

Chaque jour où les digesteurs anaérobies étaient alimentés de déjections animales, un échantillon composite de fumier pour l'ensemble des capsules de fumier utilisé a été prélevé. Un échantillon de digestat a été prélevé pour chacun des digesteurs anaérobies après avoir mélangé le contenu des digesteurs à l'aide d'un gaz (N_2) introduit au bas du cylindre par le tuyau de sortie des digestats, pendant 10 secondes à une pression de 34 kPa en laissant la valve de gaz ouverte à la pression atmosphérique. Un volume de 500 mL de digestat était d'abord prélevé et homogénéisé, puis un échantillon de 50 mL représentatif du mélange était prélevé et transféré dans des contenants stériles pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques.

Tableau 2.1 Alimentation des digesteurs anaérobies à partir de l'introduction de l'inoculum

Digesteur anaérobie	Inoculum		Fumier (g base humide)							
			Jour 0	20	27	34	41	48	54	61
DAS-1	RB ^a	654,0	668,0	660,9	527,9	737,8	657,6	726,5	544,4	4523,2
DAS-2	RB	663,1	723,0	691,5	677,2	711,2	650,8	708,4	653,0	4815,1
DAS-3	RB	640,2	703,3	620,3	595,8	687,5	767,6	733,8	655,6	4763,9
DAS-4	RB	674,2	670,9	626,5	665,0	624,5	728,4	752,8	711,1	4779,3
DAS-5	RB	680,8	709,4	606,8	678,8	676,9	749,9	661,4	662,0	4745,2
DAS-6	RB	703,2	611,9	628,0	693,6	713,0	762,5	705,2	587,1	4701,2
DAS-7	RO ^b	708,0	610,3	568,2	720,3	717,8	749,7	700,8	632,6	4699,6
DAS-8	RO	743,6	641,6	653,0	689,5	692,5	726,6	734,5	675,0	4812,7
DAS-10	RB	576,3	610,3	566,1	570,1	677,8	665,0	677,3	658,6	4425,1
DAS-11	RB	574,1	627,7	597,9	749,3	741,5	681,8	749,5	587,3	4734,9
DAS-12	RB	514,2	598,1	680,0	708,7	633,7	656,0	732,4	592,2	4601,2
Moyenne		648,3	652,2	627,2	661,5	692,2	708,7	716,6	632,6	4691,0
Écart-Type		68,1	45,0	41,5	68,0	38,0	46,7	29,0	49,0	124,6
ET/Moyenne		10,5%	6,9%	6,6%	10,3%	5,5%	6,6%	4,0%	7,7%	2,7%

^a ; Liquide provenant du rumen de bovin

^b ; Liquide provenant du rumen d'original

Le pH était mesuré avant de remettre les surplus de l'échantillon homogénéisé (450 mL) à l'intérieur du digesteur anaérobie. Le pH a été mesuré une fois par semaine après le mélange des digesteurs anaérobies et avant l'introduction des déjections animales pour alimenter le digesteur. Le pH a été mesuré sur les déjections animales ainsi que sur le digestat. Les solides volatils ont été mesurés sur des échantillons représentatifs du liquide du rumen, des déjections et du digestat au début et à la fin de l'expérience. La DCO (soluble et totale) a été mesurée à sept reprises (jours 4, 21, 28, 34, 55, 62, 174 après le début de l'expérience) alors que les AGV ont été mesurés à quatorze reprises (jours 4, 21, 28, 34, 41, 48, 55, 62, 69, 83, 97, 104, 161, 174 après

le début de l'expérience) sur les fumiers et sur le digestat. Les bactéries ont été dénombrées par la méthode décrite par Larney *et al.* (2003) sur les déjections et sur le digestat à six reprises pendant la période d'alimentation (jours 28, 34, 41, 55, 62, 69 après le début de l'expérience) des digesteurs anaérobies ainsi qu'à la fin de l'expérience. Les échantillons ont été conservés au réfrigérateur et dans une glacière à 4 °C jusqu'au moment de l'analyse. La période maximale de conservation avant analyse a été de 48 heures. La détermination du taux de matières sèches a été réalisée par chauffage à l'étuve (105 °C) jusqu'à obtention d'une masse constante. Le volume de biogaz produit a été mesuré tout au long de l'expérience à un intervalle de cinq minutes. Des échantillons de gaz ont été prélevés afin de connaître la composition chimique du biogaz produit à deux reprises (jours 154 et 161) durant l'expérience afin de connaître le contenu en méthane à cette période.

Les analyses chimiques (N total, NH₄-N, P, K, Ca, Mg) ont été réalisées à la fin de l'expérience sur des échantillons congelés. Les solides volatils ont été mesurés sur des échantillons de liquide du rumen, des déjections de bovin et du digestat au début et à la fin de l'expérience. La DCO a été réalisée dans un délai de 24 heures sur des échantillons réfrigérés à 4 °C après l'extraction selon la méthodologie décrite ci-dessous (section 2.4.4). Les dénombrements microbiens ont été réalisés dans un délai de 24 heures après l'échantillonnage des fumiers et des digestats, conservés réfrigérés à 4 °C. Les fibres ont été mesurées sur les déjections lors de chaque prélèvement et sur le digestat à la fin de l'expérience.

2.4.3 Essai 2 : Effet du gel (-20 °C) sur les microorganismes pathogènes dans les déjections de bovin de boucherie

Afin de vérifier l'effet du gel sur la composition microbienne des déjections animales, des bouteilles en Pyrex (1000 mL) muni d'un bouchon étanche ont été remplies de 620 g (base humide) de fumier de bovin congelé dans des capsules à -20 °C pendant une période de quatre mois alors qu'une série d'échantillons prélevés le même jour dans les mêmes conditions ont été conservés au réfrigérateur à 4 °C. Les déjections ont été décongelées en les plaçant dans un réfrigérateur maintenu à une température de 4 °C pendant une période de 24 heures et ont ensuite été placées dans 6 bouteilles (réplicas), le gaz présent a été remplacé par un gaz inerte (N₂) et les bouteilles ont été scellées à l'aide d'un bouchon hermétique vissé muni d'une valve à bille et elles ont été incubées à une température de 4 °C dans un incubateur (Innova® 44, New Brunswick Scientific, USA). Les valves à bille installées sur le couvercle des bouteilles permettaient de mesurer la pression des gaz produits à l'intérieur et d'avoir un accès de faible ouverture pour ainsi minimiser l'introduction d'oxygène lors des prélèvements. Les prélèvements ont été effectués en suivant le calendrier d'échantillonnage apparaissant au tableau 2.2. Au début de l'essai, toutes les bouteilles (6) ont été échantillonnées. Ensuite à chaque semaine, la moitié des bouteilles a été échantillonnée (3) et à la fin de l'expérience, les échantillons ont été prélevés à nouveau sur les 6 bouteilles. Le comptage cellulaire des bactéries pathogènes a été comparé à celui du fumier réfrigéré à 4 °C. La température a été maintenue à 4 °C pendant une période d'une semaine et ensuite augmentée de 4 °C chaque semaine. Cette séquence d'augmentation de la température a été répétée jusqu'à ce que la température d'incubation atteigne 20 °C. Avant chaque augmentation de la température, un échantillon de 50 g de fumier était prélevé sur trois bouteilles sélectionnées au début de l'expérience de façon aléatoire. Avant

chaque étape d'augmentation de température, différents indicateurs des premières phases du procédé de dégradation anaérobie ont été mesurés. Ces indicateurs étaient la pression des gaz et la concentration des principaux acides gras volatiles. Les organismes pathogènes ont également été dénombrés chaque semaine selon la méthode décrite en 2.4.4. Les bouteilles ont ensuite été laissées à la température de 20 °C jusqu'à ce que la pression soit suffisamment élevée (103.4 kPa) pour effectuer un prélèvement des gaz et procéder à leur analyse à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse. La pression des gaz a été mesurée à l'aide d'un manomètre digital (Omega, Canada, DPG100B-05G). Les biogaz produits ont été prélevés sur trois des six bouteilles qui avaient été choisies de façon aléatoire. Le biogaz produit a été analysé 36, 92 et 107 jours après le début de la période de réchauffement.

Tableau 2.2 Échantillonnage des bouteilles (expérience 2) à partir de l'introduction du substrat (jour 0)

		80	133	148	149	68	135
Température	Jour	Bouteilles échantillonnées pour les analyses de bactéries pathogènes					
4 °C	0	√	√	√	√	√	√
4 °C	8	√	√	√			
8 °C	15	√	√	√			
12 °C	22	√	√	√			
16 °C	29	√	√	√			
20 °C	36	√	√	√	√	√	√
		Bouteilles échantillonnées pour les analyses des biogaz					
20 °C	36				√	√	√
20 °C	92				√	√	√
20 °C	107				√	√	√

2.4.4 Analyses des substrats

Les éléments N total, NH_4^+ , P, K, Ca, Mg et les SV ont été mesurés sur des échantillons composites de liquide du rumen et sur les déjections alimentées dans les digesteurs anaérobies tout au long de l'expérience. Trois échantillons composites étaient réalisés à partir d'un prélèvement de 100 g réalisé dans chacun des cylindres qui ont servi à alimenter les digesteurs anaérobies. Ces échantillons ont été analysés par un laboratoire certifié (Agri-Direct, Canada). Les ST et le pH ont été mesurés sur un volume de 50 mL du digestat, prélevé à partir d'un échantillon homogène de 500 mL. Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre sur les échantillons de 500 mL fraîchement prélevés (Denver Instrument, modèle UB -10). Les ST ont été mesurés sur le liquide du rumen, les déjections et le digestat, après séchage à l'étuve à une température de 105 °C jusqu'à l'obtention d'une masse stabilisée et en suivant la méthode standard numéro 2540G (Eaton *et al.*, 2005). Le poids perdu a servi à établir la teneur en eau des échantillons de substrats. La DCO a été évaluée selon la méthode standard numéro 5220D par oxydoréduction au dichromate de potassium et colorimétrie (Eaton *et al.*, 2005) pendant une période de deux heures d'incubation à une température de 150 °C. La DCO est exprimée en $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ de digestat. Le contenu des substrats en cellulose, hémicellulose et en lignine a été évalué par la méthode d'extraction des fibres par un détergent neutre (hémicellulose) et acide (cellulose et lignine) développée par Van Soest, Robertson et Lewis (1991) et adaptée pour les matériaux à fibres structurales (Ankom Technologies inc., 2009a, 2009c, 2009 b).

Les AGV (acide acétique, acide iso butyrique, acide n butyrique, acide propionique et acide n valérique) ont été analysés pour le digestat prélevé chaque semaine. Les AGV ont été déterminés à partir d'un échantillon de 50 g centrifugé (Beckman Coulter inc., Allegra 21R) pendant 30 minutes à une vitesse de 13 000 tours par minutes et une

température de 15 °C. Cinq grammes de surnageant a été prélevé et traité à l'acide sulfurique (H₂SO₄, 0,5M). Les échantillons traités ont été ensuite centrifugés pendant 15 minutes à 15 °C et 13 000 rpm. Un standard interne (acide 2-éthyle butyrique) a été ajouté à 0,5 mL du surnageant et filtré (0,45 µm) avant analyse par chromatographie gazeuse sur un appareil Varian CP-3800 équipé d'une colonne capillaire de 30 mètres (ID 0,53 mm, film 1 µm, Varian) et d'un détecteur à ionisation par flamme (FID) configuré pour fonctionner à une température de 250 °C avec un mélange de gaz porteur (He/H₂ : ratio 1/9) et une température constante du four à 230 °C.

Pour le dénombrement de bactéries CT, EC, ainsi que de SF, les échantillons de fumier et de digestat représentatifs ont d'abord été homogénéisés suite à l'addition de tampon peptone (0,5 %) à un ratio de 1/9 à l'aide d'un broyeur alimentaire (Stomacher) pendant 2 minutes. Un millilitre de l'homogénat a ensuite été réparti dans des tubes contenant 9 mL de tampon peptone et une dilution en série a été effectuée. Un aliquote (0,1 mL) de chaque série de dilution a été déposé dans des plaques multi-puits contenant du milieu Fluorocult LMX (EMD, Canada) (coliformes totaux et *Escherichia coli*) ou Streptococcus KF (Oxoid) (streptocoques) afin de réaliser un dénombrement par la technique du nombre le plus probable (NPP). Le dénombrement a été effectué après une incubation de 24 et 48 heures à 37 °C. L'interprétation et l'analyse étaient basées sur la méthode décrite par Larney *et al.* (2003).

2.4.5 Rendement en biogaz des digesteurs anaérobies

La production spécifique de méthane (L CH₄ kg⁻¹ de SV) est le critère le plus représentatif pour mesurer la performance de la digestion anaérobie. La production

spécifique de méthane de façon générale, vise à mesurer la production de méthane de l'inoculum en présence du substrat à dégrader et de comparer cette production sans le substrat ou avec un substrat de référence (Angelidaki *et al.*, 2009). Les variations de pression ont été mesurées et enregistrées à toutes les cinq minutes pendant toute la durée de l'expérience. La composition des échantillons de gaz a été déterminée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Micro-GC, Agilent 3000) équipé de deux colonnes de référence Molsieve 5A (O₂, N₂, CH₄) et PLOT U (CO₂, H₂S), d'un détecteur thermique (TCD), d'un filtre d'entrée de 10 µm et d'un gaz porteur (He) à une pression de 552 ± 14 kPa (80 ± 2 psig). Les courbes de calibration du chromatographe ont été réalisées à l'aide d'un mélange de gaz standard contenant du 70,718 % de CH₄, 27,7 % de CO₂, 0,532 % de H₂S et 1,05 % de N₂ (Linde, Canada Ltd). Les échantillons ont été analysés moins de 12 heures après l'échantillonnage. Les gaz mesurés lors de l'expérience ont été le CH₄, le CO₂ et le H₂S. Le nombre de moles de gaz a été calculé et ramené à la pression de 101,3 kPa et à la température de 0 °C. En se basant sur la loi de Dalton, la pression totale a été calculée par la sommation des pressions partielles exercées par les gaz présents dans la phase gazeuse du digesteur anaérobie. La pression partielle de ces gaz a été calculée à partir de la pression totale mesurée dans chacun des digesteurs anaérobies et la fraction volumique des gaz CH₄, CO₂ et H₂S mesurée par chromatographie gazeuse. L'azote élémentaire a été mesuré par chromatographie gazeuse, mais n'a pas été ajouté au bilan des gaz produits puisque ce gaz n'est pas produit dans les digesteurs en absence d'oxygène. Le débit des gaz produits a été obtenu par la mesure en continu de la pression en fonction du volume des gaz occupé et de la température du milieu. La quantité de molécules de méthane gazeux s'obtient par la loi des gaz parfaits. Le CH₄ est peu soluble dans l'eau et ne forme pas d'autre type d'élément une fois absorbé (Weber-Shirk, Lion et Bisogni, 2003).

$$\frac{d(n_{\text{CH}_4})}{dt} = \frac{d(p_{\text{CH}_4}) V_g}{RT} \quad \text{Éq. 2.1}$$

n_{CH_4} : Quantité de molécules de CH_4 gazeux

p_{CH_4} : Pression partielle du CH_4

V_g : Volume de gaz

R : Constante universelle des gaz parfaits

T : Température

$$p_{\text{CH}_4} = x_{\text{CH}_4} \cdot P_T \quad \text{Éq. 2.2}$$

p_{CH_4} : pression partielle du gaz CH_4

x_{CH_4} : fraction occupée par le gaz CH_4

P_T : pression totale mesurée des gaz

2.4.6 Statistique

La moyenne, la variance et le coefficient de variation ont été calculés pour les analyses réalisées sur le liquide du rumen, les déjections et le digestat prélevé tout au long des expériences. Sauf indication contraire, dans cette étude, les analyses statistiques ont tous été réalisées à partir d'une probabilité $P < 0,05$. Des tests de Student (test de t) ont été réalisés sur les moyennes géométriques des résultats obtenus pour le dénombrement des bactéries afin de comparer le NPP contenu dans les déjections et celui du digestat pour l'expérience 1 et comparer le NPP contenu dans les déjections congelées et les déjections incubées aux différentes températures testées pour l'expérience 2. Le dénombrement des bactéries pathogènes contenues dans les déjections animales pendant la période de réchauffement a été réalisé par

comparaison des moyennes géométriques en mesures répétées dans le temps et les résultats à la fin de l'expérience ont été comparés entre les bouteilles prélevées et ceux qui n'ont pas fait l'objet de prélèvements sauf au début et à la fin de l'expérience, ceci afin de vérifier l'effet du prélèvement. Des analyses de la variance (ANOVA) et des tests de Tukey ont été réalisés afin d'analyser les effets du pH, des AGV et de la température sur la production quotidienne de biogaz. Les variations occasionnées par l'inoculum de départ et la quantité d'azote total contenu dans les digesteurs ont également été vérifiées à l'aide d'analyses de la variance (ANOVA). La plupart des tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel de programmation et langage statistique R (R Development Core Team, version 2.11.1, 2008), une partie des tests de Student ont été réalisés à l'aide du chiffrier Excel®.

2.5 Résultats et discussion

2.5.1 Les paramètres physico-chimiques (essai 1)

Les paramètres physico-chimiques mesurés dans les deux types de liquide de rumen ont révélé des concentrations différentes pour la plupart des paramètres (tableau 2.3). La concentration de la plupart des éléments contenus dans le liquide du rumen d'original (RO) était supérieure à celle mesurée sur le liquide du rumen de bovin (RB). Le P total contenu dans le RO était supérieur à celui mesuré dans le liquide du RB. Les SV du RO étaient moins élevés que ceux mesurés dans le RB. Le rapport carbone azote était supérieur dans le RB par rapport au RO (test de t, $P < 0,05$). Les paramètres physico-chimiques mesurés dans le liquide du rumen ont également été mesurés sur 13 échantillons de déjections animales qui ont servi à alimenter les digesteurs anaérobies

Tableau 2.3 Caractéristiques physico-chimiques du liquide de rumen utilisé en tant qu'inoculum pour les digesteurs (6 échantillons)

Analyse	Liquide du rumen bovin		Liquide du rumen original		P(test de t)
	Moyenne ^a	b	Moyenne ^a	b	
pH eau	6,37	± 1,34	5,35	± 0,07	n.s. ^c
ST	14,90	± 0,26	12,43	± 0,81	n.s.
SV (% ST)	91,17	± 0,71	87,50	± 0,53	0,00053
N total (% ST)	2,15	± 0,07	3,86	± 0,56	n.s.
NH4+ (% ST)	0,09	± 0,00	0,31	± 0,35	n.s.
P (% ST)	0,36	± 0,05	1,94	± 0,07	0,02127
K (% ST)	1,03	± 0,19	1,61	± 0,02	n.s.
Ca (% ST)	2,68	± 0,18	3,09	± 0,23	n.s.
Mg (% ST)	0,34	± 0,02	0,39	± 0,03	n.s.
Rapport C:N	21,33	± 1,17	11,43	± 1,07	0,00508

^a Moyenne géométrique de six répétitions

^b Écart-type sur la moyenne

^c différence non significative au test de Student

et sur 18 échantillons de digestat à la fin de l'expérience (tableau 2.4).

Le contenu en fibres (ADF, NDF, ADF_L) a été mesuré sur les déjections animales et sur le digestat, mais n'a cependant pas été mesuré sur l'inoculum. Les déjections utilisées pour l'expérience contenaient une proportion importante de fibres (71,08 ± 1,31 % ST de fibres NDF).

Tableau 2.4 Caractéristiques physico-chimiques des déjections animales utilisées et du digestat à la fin de l'expérience

Analyse	Fumier		Digestat RB		Digestat RO	
ST	17,15	± 1,09	11,56	± 4,59	11,83	± 3,44
SV (% ST)	92,81	± 0,43	91,72	± 1,22	91,93	± 1,57
N total (% ST)	1,72	± 0,21	2,05	± 0,69	2,01	± 0,66

NH ₄ ⁺ (% ST)	0,11	±	0,03	0,23	±	0,06	0,31	±	0,05
P (% ST)	0,30	±	0,03	0,36	±	0,08	0,60	±	0,29
K (% ST)	0,77	±	0,13	0,99	±	0,18	1,09	±	0,27
Ca (% ST)	0,82	±	0,08	0,99	±	0,24	1,02	±	0,16
Mg (% ST)	0,22	±	0,02	0,26	±	0,07	0,27	±	0,04
Rapport C:N	27,19	±	2,98	25,75	±	4,19	28,10	±	6,56
DCOs (mg L ⁻¹)	19 797	±	787	12 597	±	2 375	12 931	±	2 188
DCOt (mg L ⁻¹)	170 265	±	33 486	59 268	±	12 377	56 955	±	13 882
ADF (% ST)	55,62	±	1,30	51,04	±	1,26	52,75	±	1,31
NDF (% ST)	71,08	±	1,31	63,18	±	2,77	67,31	±	1,80
ADFL (% ST)	24,32	±	1,50	25,77	±	1,36	27,78	±	1,97
CT (Log ₁₀)	5,50	±	5,60	5,65	±	5,36	5,63	±	5,42
EC (Log ₁₀)	5,30	±	5,40	5,32	±	5,36	5,36	±	5,42
SF (Log ₁₀)	5,80	±	5,90	3,31	±	2,75	2,70	±	2,12

Les déjections animales utilisées pour cette expérience contenaient l'équivalent en lignine de 24,32 % SV en moyenne ce qui est considéré comme élevé pour du fumier en comparaison aux données scientifiques publiées qui ont été consultées.

Chandler, Jewell et Gossett (1980) ont mesuré des niveaux de lignine entre 2,2 et 10,1 % SV pour du fumier de porc, de vache laitière et de poulet et le contenu le plus élevé en lignine qu'ils ont analysé a été sur du papier journal avec 20,9 % SV alors que Lübken *et al.*, (2007) ont mesuré un niveau de lignine jusqu'à 18,65 % SV sur du lisier de bovin analysé avec la même méthodologie que Chandler, Jewell et Gossett (1980). Un bilan massique a été calculé pour chaque digesteur anaérobie. La contribution en azote total au départ a eu une influence sur le contenu en azote total des digesteurs anaérobies à la fin de la période d'alimentation. Le bilan de masse réalisé sur l'alimentation des digesteurs anaérobies révèle une différence significative pour le contenu total en N total et en P total pour les traitements RB et RO. En effet

les digesteurs anaérobies du traitement RO contenaient en moyenne 5,46 % plus de N total que le traitement RB et 41,2 % de plus de P total (test de t, $P < 0,05$).

Le contenu en SV variait de seulement 0,8 % entre les deux traitements et cette différence n'était pas significative. Plusieurs auteurs sont d'avis que l'azote joue un rôle important dans la biodégradabilité du carbone (Barrington, 1994; Kayhanian, 1999; Yadvika *et al.*, 2004). Dans cet essai, ce paramètre n'a pas été contrôlé et un bilan de masse a été réalisé à partir des quantités d'éléments contenus dans les déjections animales et des besoins en azote pour le traitement des matières organiques. Le bilan des besoins en azote réalisé ne tenait pas compte de l'apport du liquide du rumen puisque la caractérisation de l'inoculum était insuffisante pour réaliser ce bilan. Sans tenir compte de l'apport et des besoins en azote de la partie inoculum, selon ce bilan, l'azote contenu dans les digesteurs anaérobies ne serait pas limitatif (0,639 mole en excès), ce qui est habituellement le cas avec les déjections animales (Massé, communication personnelle 2014).

2.5.2 La production de biogaz

La performance des digesteurs anaérobies est exprimée de plusieurs façons différentes, le rendement en biogaz produit exprimé par rapport à sa vitesse de réaction biologique prendra la formulation d'un volume de biogaz produit par volume de digesteur par jour, ce rendement en biogaz est davantage utilisé dans l'industrie afin de comparer différents traitements. Il est préférable en recherche d'utiliser la production de biogaz par rapport au taux de chargement sur une base de g DCO ou de g SV et comme la quantité de biogaz produite peut contenir une teneur élevée en CO_2 qui n'a aucune valeur énergétique beaucoup de chercheurs préfèrent exprimer cette performance en rendement méthanier (CH_4) produit par rapport au taux de

chargement en SV ou DCO (Møller, Sommer et Ahring, 2004; Tomei *et al.*, 2009; Moletta, 2011).

La production cumulée de biogaz a été de $55,8 \pm 8,9$ L biogaz kg^{-1} DCOt pour les digesteurs anaérobies inoculés à l'aide de RB et de $62,1 \pm 17,33$ L biogaz kg^{-1} DCOt pour ceux inoculés à l'aide du liquide du RO. En terme de SV, la production cumulée de biogaz a été de $61,9 \pm 9,5$ L biogaz kg^{-1} SV pour les digesteurs anaérobies inoculés à l'aide de RB et de $70,2 \pm 17,6$ L biogaz kg^{-1} SV pour ceux inoculés à l'aide du liquide du RO (figure 2.3). La production cumulée de biogaz a été supérieure de 13,5 % avec le RO en comparaison au liquide du RB, mais il est impossible de conclure à une tendance puisque les deux types de liquide du rumen n'ont pas été conservés aux mêmes conditions. De plus, la différence n'est pas significative, le nombre d'échantillons de RO (2) était insuffisant. La proportion de méthane comprise dans le biogaz a été mesurée en moyenne à $61,7 \pm 2,3$ % pour le RB et à $62,9 \pm 1,29$ % pour le RO. Cette moyenne a été calculée à partir de deux prélèvements de biogaz et ne peut permettre de faire un bilan du méthane produit sur l'ensemble de l'expérience. En réponse à l'utilisation de RO, le faible nombre de digesteurs anaérobies inoculés à l'aide de ce dernier (2) n'a pas permis de faire une comparaison statistique valable et l'écart dans la production de biogaz entre les deux types de liquide de rumen utilisés n'est pas significatif avec un test de t ($P < 0,05$).

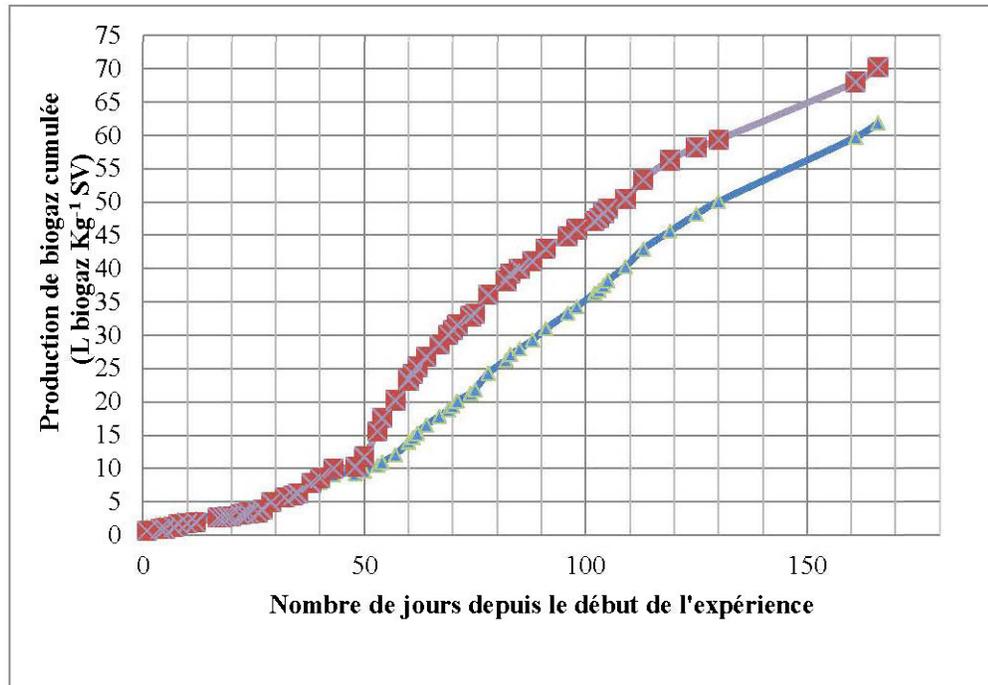


Figure 2.3 Moyenne de la production cumulée de biogaz en fonction de l'inoculum de liquide du rumen utilisé (-▲- rumen bovin, -■- rumen orignal)

De plus, les deux types de liquide du rumen n'ont pas fait l'objet du même traitement, le liquide de rumen de bovin a été introduit frais dans les digesteurs anaérobies alors que le liquide de rumen d'original a été conservé pendant 4 mois à une température de 4 °C ce qui a pu modifier la population bactérienne et l'activité de ces derniers. Le niveau d'activité aurait dû être testé avant et après l'entreposage du liquide du rumen.

Bien qu'il y ait eu une production supérieure de biogaz pour les digesteurs anaérobies inoculés avec le RO, la production cumulée pour les deux traitements est inférieure à ce qui est attendu pour ce type de substrat. Dans la littérature, les recherches sur la digestion anaérobie solide du fumier de bovin à des températures thermophiles et mésophiles démontrent des rendements entre 28 et 268 L CH₄ kg SV⁻¹ (Møller, Sommer et Ahring, 2004; Amon *et al.*, 2006b; Lehtomaki, Huttunen et Rintala, 2006; Ahn *et al.*, 2010). Il n'est pas possible de comparer les rendements obtenus dans cet essai avec ceux obtenus dans la littérature pour plusieurs raisons : le volume de méthane produit dans le biogaz à partir du début de l'expérience n'a pas été mesuré, de plus les températures utilisées (35 à 55 °C) dans les expériences de la littérature scientifique étaient plus élevées que les températures utilisées dans la présente étude.

D'autres recherches ont utilisé le volume de biogaz produit comme unité de base et ceci permet de faire de meilleures comparaisons. McDonald, Achari et Abiola (2008) ont obtenu un rendement de 438 ± 48 L biogaz kg⁻¹ SV avec du fumier provenant de parc d'engraissement de bovin de boucherie à l'aide d'essai en laboratoire, par lot séquentiel à une température de 37 °C. Les auteurs ne précisent pas l'âge du fumier ni le contenu en litière qui peuvent modifier le rendement en biogaz. Lehtomaki, Huttunen et Rintala, (2006) ont mesuré 310 L biogaz kg⁻¹ SV pour du fumier de vache traité par digestion anaérobie à une température de 35 °C pendant 20 jours. Ahn *et al.* (2010) ont obtenu des rendements en biogaz de 179 L biogaz kg⁻¹ SV avec

du fumier de vache laitière à 55 °C et la concentration en méthane n'a jamais dépassé 24,5 % après 64 jours de traitement. Selon les auteurs les rendements auraient dû être plus élevés, les AGVt se sont accumulés de façon anormale et les digesteurs anaérobies ont fonctionné pendant la majorité de l'expérience à un pH près de 5,5, deux indices qui laissent croire que les bactéries n'étaient pas adaptées aux conditions de traitement.

En 1933, Symons et Buswell (1933) ont développé une équation théorique afin de calculer le potentiel biométhanier à partir de l'équation stœchiométrique basée sur la composition chimique (C, O, H, N) des matières organiques à dégrader. Et le méthane produit est calculé en faisant la sommation du méthane produit par chaque catégorie de SV biodégradable. Les équations développées par Symons et Buswell (1933) ont été reprises par McCarty (1972) et reproduit dans Pavlostathis et Giraldo-Gomez (1991) afin de tenir compte de la production de la biomasse pendant le procédé de digestion anaérobie (voir tableau 1.7). À l'aide des équations de Pavlostathis et Giraldo-Gomez, (1991) un bilan de masse a été réalisé et la quantité de méthane théorique que les déjections de bovin utilisées dans cette étude pouvaient produire a été calculée. La quantité de biométhane théorique calculée à partir de ces équations dans cette expérience est de 428 L CH₄ kg⁻¹ SV. Comme des analyses complètes sur l'inoculum n'ont pas été réalisées, il est difficile d'avoir une idée précise de la biodégradabilité du contenu total des digesteurs anaérobies puisque le liquide du rumen pouvait contenir des quantités importantes de SV biodégradables. Ce bilan de masse est donc incomplet et la production théorique serait plus élevée si l'apport contenu dans l'inoculum avait été pris en compte.

Ce type de calcul par contre ne tient pas compte du caractère biodégradable des matières organiques à traiter. Chandler, Jewell et Gossett (1980) ont développé un

modèle afin d'évaluer la biodégradabilité de différents substrats à partir d'essais de biométhanisation.

$$B = -0,028X + 0.830 \quad \text{Éq. 2.3}$$

B = Fraction biodégradable des solides volatils

X = Contenu en lignine (% SV)

Les déjections animales utilisées contenaient 24,32 % de lignine (tableau 2.4). Si le contenu en lignine est appliqué à l'équation 2.3, il résulte une fraction biodégradable applicable aux solides volatils de 14,9 % de SV biodégradable. Si l'on tient compte seulement de la fraction biodégradable des déjections animales, et qu'un nouveau bilan du méthane produit est fait, on obtient une production théorique de 60,0 L biogaz kg^{-1} SV. Cette valeur théorique est plus près (entre 57,7 et 62,7 %) des résultats obtenus dans cette étude, mais ne tient pas compte de la partie que représente l'inoculum qui contribue à une partie non négligeable de biogaz produits. Cette observation permet de supposer que la population microbienne ne s'est pas adaptée à la digestion anaérobie des déjections de bovin de boucherie à des conditions de température psychrotrophe à 20 °C durant la période de l'expérience.

2.5.3 Évolution du pH et des AGV dans les digesteurs anaérobies

Le tableau 2.5 permet d'observer la variation du pH des digesteurs anaérobies pendant toute l'expérience. Il a fallu 21 jours à partir du début de la fermentation anaérobie à la température de 37 °C avant d'observer une production faible, mais continue de biogaz. La production continue de biogaz était évaluée chaque jour en vérifiant le volume de biogaz produit de façon quotidienne par les digesteurs anaérobies. La température a été abaissée après une production continue d'au moins 6

jours de biogaz. Lors de cet essai, deux digesteurs ont pris moins de 55 jours pour passer à un pH au-dessus de 6,2. Après 75 jours du début de l'expérience, 7 des 11 digesteurs avaient dépassé un pH de 6,4. Au 119^{ième} jour, tous les digesteurs anaérobies avaient un pH de 6,5 et plus. Tous les digesteurs produisaient du méthane à une proportion moyenne mesurée de $61,9 \pm 2,0$ % du biogaz produit à la fin de l'expérience et la production de biogaz cumulée représentait une valeur entre 0,37 et 0,42 L kg⁻¹ SV j⁻¹ entre les différents digesteurs.

Le tableau 2.5 permet de visualiser à quel moment de l'expérience les digesteurs anaérobies ont atteint un pH qui selon la littérature, serait plus favorable à la méthanisation. La production quotidienne de biogaz a été mesurée supérieure de 34,0 % (base de SV) lorsque le pH était de plus de 6,2 avec un niveau d'AGV plus élevé que 5000 mg L⁻¹ (test de t, $P < 0,05$). Le pH n'est pas le seul élément important dans le suivi du procédé de digestion anaérobie et la plupart du temps il n'est qu'un indicateur de la bonne marche du procédé. Les variations de pH auraient dû être plus constantes entre les digesteurs, cette variation a pu être causée par la composition de l'inoculum. Chaque digesteur a été inoculé par la même quantité sur une base massique de liquide provenant du rumen de bovin et d'orignal. Cependant, la quantité de microorganismes ainsi que les quantités de solides volatils, solides totaux et biomasse n'ont pas fait l'objet d'un contrôle particulier. Il se peut par exemple que la présence d'AGV ait été plus importante dans un digesteur par rapport à un autre. Ceci pourrait avoir eu un effet sur le pH et sur le métabolisme des populations de bactéries présentes (Liu *et al.*, 2008).

Tableau 2.5 Suivi du pH du digestat pendant toute la durée de l'adaptation microbienne

pH des échantillons liquides dans les digesteurs anaérobies												
Jour	DAS 1	DAS 2	DAS 3	DAS 4	DAS 5	DAS 6	DAS 7	DAS 8	DAS 10	DAS 11	DAS 12	
	RB	RB	RB	RB	RB	RB	RO	RO	RB	RB	RB	
0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	5,6	5,6	6,1	6,1	6,1	
18	5,1	5,2	5,1	5,2	5,1	5,1	5,4	5,4	5,1	5,2	5,2	
27	5,2	5,2	5,1	5,2	5,2	5,1	5,4	5,5	5,2	5,3	5,2	Période Alimentation
40	5,3	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,4	5,4	5,3	5,3	5,2	
48	5,3	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,5	5,7	5,6	5,3	5,3	
55	5,6	5,2	5,2	5,2	5,2	5,3	5,6	6,3	6,2	5,5	5,3	
61	6,6	5,2	5,2	5,2	5,2	5,3	6,2	6,4	6,6	6,4	5,4	
69	6,6	5,6	5,3	5,2	5,2	5,8	6,4	6,5	6,6	6,5	5,9	
75	6,7	5,4	5,4	5,2	5,3	6,4	6,5	6,6	6,6	6,6	6,6	
82	6,7	5,8	5,8	5,4	5,6	6,6	6,4	6,5	6,6	6,6	6,5	
89	6,7	6,2	6,4	5,4	5,8	6,6	6,6	6,5	6,6	6,7	6,7	
97	6,5	6,4	6,5	5,5	6,5	6,6	6,5	6,5	6,5	6,6	6,6	
104	6,5	6,5	6,6	5,7	6,5	6,6	6,5	6,5	6,5	6,5	6,6	
119	6,5	6,5	6,6	6,6	6,6	6,6	6,5	6,6	6,6	6,6	6,6	
153	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,7	6,6	6,9	6,7	6,8	6,7	
161	6,7	6,6	6,7	6,5	6,5	6,6	6,7	6,9	6,7	6,8	6,7	
173	6,8	6,7	6,7	6,6	6,6	6,7	6,8	6,9	6,7	6,9	6,7	
174	6,8	6,8	6,7	6,8	6,6	6,7	6,8	6,7	6,7	6,7	6,7	
	pH inférieur à 6,2 où la production de méthane est faible (Gérardi, 2003)											
	pH entre 6,2 et 6,8											
	pH entre 6,8 et 7,2, gamme idéale pour la méthanisation (Gérardi, 2003)											

Le tableau 2.6 montre l'évolution des AGV qui ont été mesurés au cours de l'expérience. Ce tableau n'indique pas de différence significative entre les deux traitements. La variation entre les différentes concentrations observées peut être expliquée par une activité microbiologique à des temps différents dans les digesteurs

anaérobies comme il a également été constaté sur le tableau 2.5 pour le pH qui a évolué de façon différente pour chaque digesteur anaérobie. Afin de mieux comprendre le processus, il a été placé sur un graphique certains AGV (acide acétique et propionique) et la DCOs en parallèle avec la production de biogaz (figure 2.4). Cette figure contribue à une meilleure compréhension de l'évolution du procédé observée pendant la durée de l'expérience. Elle a été préparée afin de placer en parallèle les variations de la production de biogaz ($\text{mL kg SV}^{-1} \text{ j}^{-1}$), la DCOs (mg L^{-1}) ainsi que l'acide acétique (Ac) et l'acide propionique (Ap) mesurés pendant la durée de l'expérience. Après le début de l'alimentation des digesteurs anaérobies (jour 20, température $37\text{ }^{\circ}\text{C}$), et pendant l'abaissement de la température à 33 et ensuite à $29\text{ }^{\circ}\text{C}$, la production de biogaz a légèrement augmenté passant par des maxima de $0,31$ à $0,51\text{ mL kg}^{-1} \text{ SV j}^{-1}$. Pendant cette période la DCOs a augmenté de façon graduelle et les Ac et Ap sont demeurés bas. L'augmentation de la DCOs est un indice qu'il y a hydrolyse des particules solides (polymères) et qu'une partie de ces particules se désintègre pour devenir soluble et disponible pour les autres étapes (acidogénèse, acétogénèse et méthanogénèse). Comme les biogaz n'étaient pas analysés à cette période, il est impossible de vérifier si l'étape de méthanisation avait débuté. Cependant le faible niveau Ac et Ap permet de croire que les bactéries méthanogènes présentes étaient en activité. À partir de la fin de la période d'adaptation à la température de $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ et le début de la période d'adaptation à $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, il y a eu une plus forte progression de la production quotidienne du biogaz produit dans les digesteurs anaérobies inoculés à l'aide du RO. Pendant cette période, la concentration de la DCOs a continué de s'enrichir et les Ac et Ap ont également augmenté pour les deux types d'inoculum. Habituellement lorsque la DCOs augmente, l'augmentation est en partie causée par une augmentation des AGVs. Dans cet essai, cette augmentation pourrait aussi être attribuable à d'autres éléments issus de l'hydrolyse des particules solides. Une variation importante des AGVs a été

observée aux jours 69 et 83 alors que la production de biogaz n'a pas suivi la même tendance ce qui aurait dû être le cas. Ce phénomène peut être expliqué en partie par la transformation rapide des AGVs en méthane. Par exemple Nozhevnikova *et al.* (2007) ont mesuré une transformation de l'acétate, à de faibles concentrations, en méthane aussi rapidement que 6 à 9 jours à des températures respectives de 30 et 15 °C. Il se peut alors que la fréquence d'échantillonnage ait été trop longue lors des essais et que certaines variations importantes au niveau des AGVs n'aient pas été mesurées. La production quotidienne de biogaz s'est stabilisée à 20 °C pour diminuer entre le jour 120 et le jour 166 d'environ 24 %. Pendant la période de digestion anaérobie à la température de 20 °C, l'Ac a diminué rapidement pour se maintenir à une faible concentration à la fin de l'expérience, alors que l'Ap a légèrement augmenté près du jour 80 pour ensuite diminuer jusqu'à la fin de l'expérience.

Tableau 2.6 Suivi des AGV pour les digesteurs anaérobies démarrés à l'aide du liquide de rumen de bovin et d'original

Temps jour	Température ° C	Acide acétique mg L ⁻¹		Acide propionique mg L ⁻¹		Acide iso butyrique mg L ⁻¹	
		rumen bovin	rumen original	rumen bovin	rumen original	rumen bovin	rumen original
21	33	6187,4 ± 1396,1	10578,4 ± 123,0	2430,4 ± 444,0	4986,4 ± 150,7	254,8 ± 57,0	855,4 ± 855,4
28	29	15,9 ± 0,7	19,1 ± 0,1	11,3 ± 0,3	15,9 ± 0,9	1,8 ± 0,3	3,9 ± 3,9
34	29	13,9 ± 3,6	19,0 ± 0,1	9,6 ± 2,5	15,3 ± 1,0	1,7 ± 0,5	3,6 ± 3,6
41	24	282,6 ± 298,7	ND	118,4 ± 119,3	ND	ND	ND
48	24	19,3 ± 2,4	21,6 ± 0,9	13,4 ± 1,5	16,5 ± 0,7	2,4 ± 0,2	3,5 ± 0,2
55	20	22,6 ± 5,3	21,6 ± 4,9	16,3 ± 0,9	18,8 ± 1,1	2,5 ± 0,4	3,9 ± 3,9
62	20	19,2 ± 9,4	18,6 ± 4,7	17,3 ± 1,7	20,7 ± 2,4	3,0 ± 0,8	4,9 ± 4,9
69	20	6900,3 ± 5269,5	4158,7 ± 1508,2	3645,4 ± 1346,6	3155,9 ± 257,3	513,3 ± 130,8	640,9 ± 640,9
83	20	3001,7 ± 3233,3	1714,4 ± 287,8	4290,4 ± 1118,0	3675,9 ± 486,3	376,6 ± 203,2	323,3 ± 91,4
97	20	949,1 ± 1013,2	516,7 ± 695,2	2883,3 ± 1956,1	1881,4 ± 2331,4	220,6 ± 166,5	212,8 ± 43,0
104	20	ND	ND	1474,9 ± 417,7	1956,7 ± 202,4	196,9 ± 162,9	121,1 ± 48,8
174	20	16,9 ± 5,5	18,2 ± 6,0	610,2 ± 364,0	554,5 ± 323,8	9,7 ± 7,7	4,9 ± 4,9
Temps jour	Température ° C	Acide n butyrique mg L ⁻¹		Acide n valérique mg L ⁻¹		AGV totale mg L ⁻¹	
		rumen bovin	rumen original	rumen bovin	rumen original	rumen bovin	rumen original
21	33	3698,3 ± 817,9	6239,4 ± 343,5	680,5 ± 145,9	1259,8 ± 111,0	13251,5 ± 2831,9	23919,3 ± 406,0
28	29	21,1 ± 1,2	21,5 ± 1,1	4,9 ± 0,2	5,7 ± 0,5	55,0 ± 2,4	66,0 ± 0,4
34	29	16,9 ± 4,9	22,5 ± 0,1	4,7 ± 1,2	7,1 ± 0,0	46,8 ± 12,5	67,5 ± 1,3
55	24	23,2 ± 1,2	21,8 ± 0,6	7,3 ± 0,6	7,8 ± 0,1	71,9 ± 3,7	73,9 ± 4,0
62	24	23,2 ± 2,7	21,2 ± 2,3	7,8 ± 0,8	8,4 ± 0,4	70,4 ± 7,0	73,9 ± 3,3
69	20	3313,2 ± 1906,4	2343,6 ± 971,9	1109,5 ± 422,1	915,0 ± 130,0	15481,7 ± 8799,7	11214,1 ± 2891,6
174	20	1,4 ± 1,0	2,5 ± 1,4	76,6 ± 44,0	62,6 ± 37,9	714,8 ± 418,4	642,7 ± 372,7

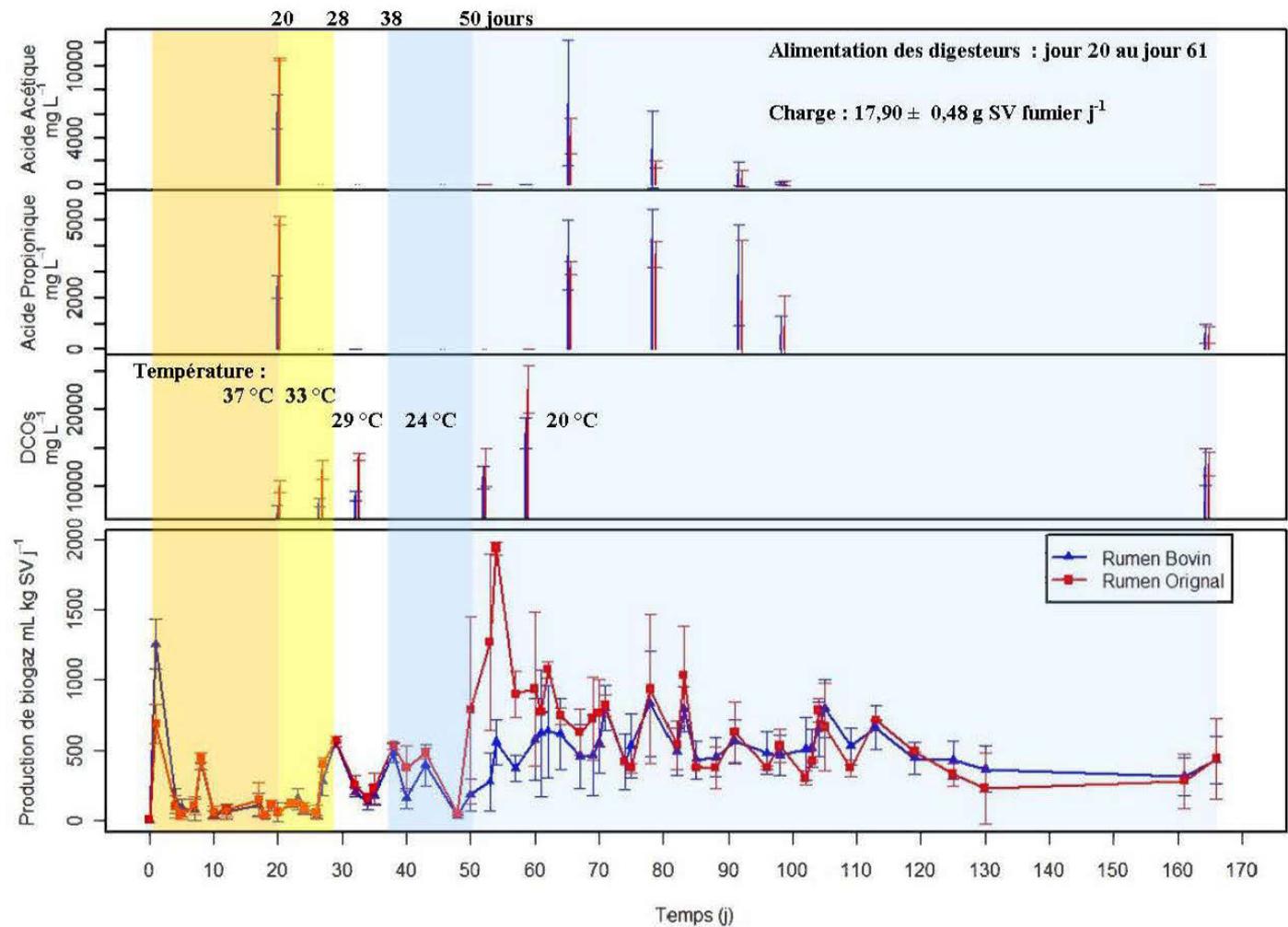


Figure 2.4 Évolution du pH, des AGV, de la DCOs et de la production quotidienne de biogaz pour les deux types de liquide du rumen. Les écarts-types sont représentés par les bâtons maxima et minima

La DCOs mesurée à la fin de l'expérience était plus basse que la mesure prise près du jour 60. Une augmentation de la production de biogaz a été observée pour le RO entre les jours 50 et 60 (figure 2.4). Cette augmentation n'a pas été observée pour le RB pendant la même période. Cette augmentation de près de 4 fois la production observée pour les deux types de liquide du rumen 10 à 20 jours avant cette période ne peut s'expliquer puisque les conditions de départ de l'expérience avec les deux inoculums étaient différentes. Comme le RO a été conservé à 4 °C pendant près de 4 mois, il se peut que les bactéries psychrotrophes présentes aient eu davantage de temps pour s'adapter aux températures plus froides alors que le RB a été placé dans les digesteurs anaérobies sans période d'adaptation au préalable.

Les deux types d'inoculum auraient dû faire l'objet d'une attention spéciale afin qu'ils aient les mêmes conditions et leur activité microbienne aurait dû être vérifiée avant le début de l'expérience. Normalement, la température aurait dû avoir une influence sur la production de biogaz, cependant le déroulement de l'expérience ne permettait pas aux bactéries d'avoir suffisamment de temps pour s'adapter aux nouvelles conditions. La production de biogaz a été supérieure pour le RO par rapport au RB seulement pendant environ 20 jours correspondant aux températures de 24 °C et au début de la période d'acclimatation à 20 °C. Le reste du temps, la production quotidienne des deux traitements était comparable. Cette observation permet de penser que la période d'adaptation plus longue que le liquide du RO a reçue à une température froide par rapport au RB a pu être un facteur déterminant pour expliquer cette différence.

Selon Kim *et al.* (2003), le pH optimal pour initier l'étape d'hydrolyse et d'acétogénèse se situe entre 5,5 et 6,5. Le niveau d'activité physiologique est satisfaisant lorsque le pH est inférieur à 5,0 pour les bactéries acidogènes alors que la production de méthane est très faible pour les bactéries méthanogènes lorsque le pH

est inférieur à 6,2 (Gerardi, 2003). Des essais réalisés sur des digesteurs anaérobies thermophiles et mésophiles soumis à différentes conditions de stress introduites par l'acidification et la neutralisation des digesteurs anaérobies ont permis d'observer que les communautés méthanogènes dans les procédés de digestion anaérobie étaient significativement affectées par la concentration en AGV (Narihiro et Sekiguchi, 2007). Mais les auteurs n'expliquent pas de façon exhaustive les variations et leurs effets. Les bactéries possèdent un pouvoir d'adaptation qui varie d'une espèce à l'autre. D'ailleurs, Vavilin *et al.* (2008) soulèvent les contradictions importantes qu'ils ont découvertes dans la littérature concernant l'inhibition causée par les AGV. Ils concluent qu'il est difficile de distinguer les effets inhibiteurs causés par le pH et les AGV. Avec les résultats observés dans cet essai, il est impossible de confirmer ou d'infirmer les informations retrouvées dans la littérature.

L'absence d'informations sur les caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum et des déjections animales empêche de calculer avec précision le potentiel biométhanier du contenu des digesteurs anaérobies. Les rendements obtenus dans la présente étude laissent croire que les objectifs de démarrage de la digestion anaérobie n'ont pas été atteints pour le substrat de bovin de boucherie à traiter. Les rendements en biogaz auraient dû être beaucoup plus élevés que ce qui a été mesuré. Bien que l'acide acétique et l'acide propionique aient diminué de façon importante démontrant ainsi une utilisation constante de ces substrats par les organismes acétogènes et méthanogènes acétotrophes, il se peut qu'à des températures aussi basses les microorganismes du rumen responsables de l'hydrolyse des polymères ne soient pas adaptés et que leur nombre ait diminué de façon importante diminuant du même coup le rendement du procédé.

2.5.4 Les microorganismes pathogènes (essai 1)

La figure 2.5 représente la production de biogaz cumulée pour la période de l'expérimentation et le résultat du dénombrement des différents microorganismes pathogènes mesurés pendant l'expérience 1. La période d'alimentation s'échelonne du jour 21 au jour 63. Au jour zéro, les résultats (moyenne géométrique) du dénombrement des microorganismes pathogènes mesurés sur les échantillons de déjections animales ont été placés sur le graphique. Les déjections de bovin ont servi de substrat pour alimenter les digesteurs anaérobies pendant l'essai. Les microorganismes pathogènes n'ont pas été dénombrés dans les différents liquides du rumen étudiés. On peut observer que les CT et EC fluctuent rapidement pour la période associée à l'alimentation des digesteurs anaérobies et aux températures de 33 et 29 °C. Pendant la période de 24 et 20 °C le nombre de CT et EC dans le digestat a été plus élevé que le nombre qui avait été observé dans les déjections de bovin au départ. La période d'alimentation peut expliquer en partie cette augmentation puisque l'ajout du substrat s'accompagne d'un ajout constant de microorganismes pathogènes contenus dans celui-ci. Le nombre de SF s'est maintenu au même niveau ou légèrement supérieur pendant la même période. À la fin de l'expérience, les CT et EC dénombrés étaient légèrement supérieurs à ceux contenus dans les déjections animales au départ et le nombre de SF était réduit de 99,3 % (tableau 2.4). Afin de vérifier si certains éléments ont fait varier les pathogènes dans les digesteurs anaérobies, il a été vérifié dans la littérature les facteurs qui peuvent expliquer la réduction des bactéries pathogènes en milieu anaérobie. L'étude la plus proche des conditions de température de la présente étude est celle réalisée sur des digesteurs anaérobies, à l'échelle de la ferme en lot discontinu et alimentés par du lisier de porc, à des températures psychrophiles (20 à 26,5 °C).

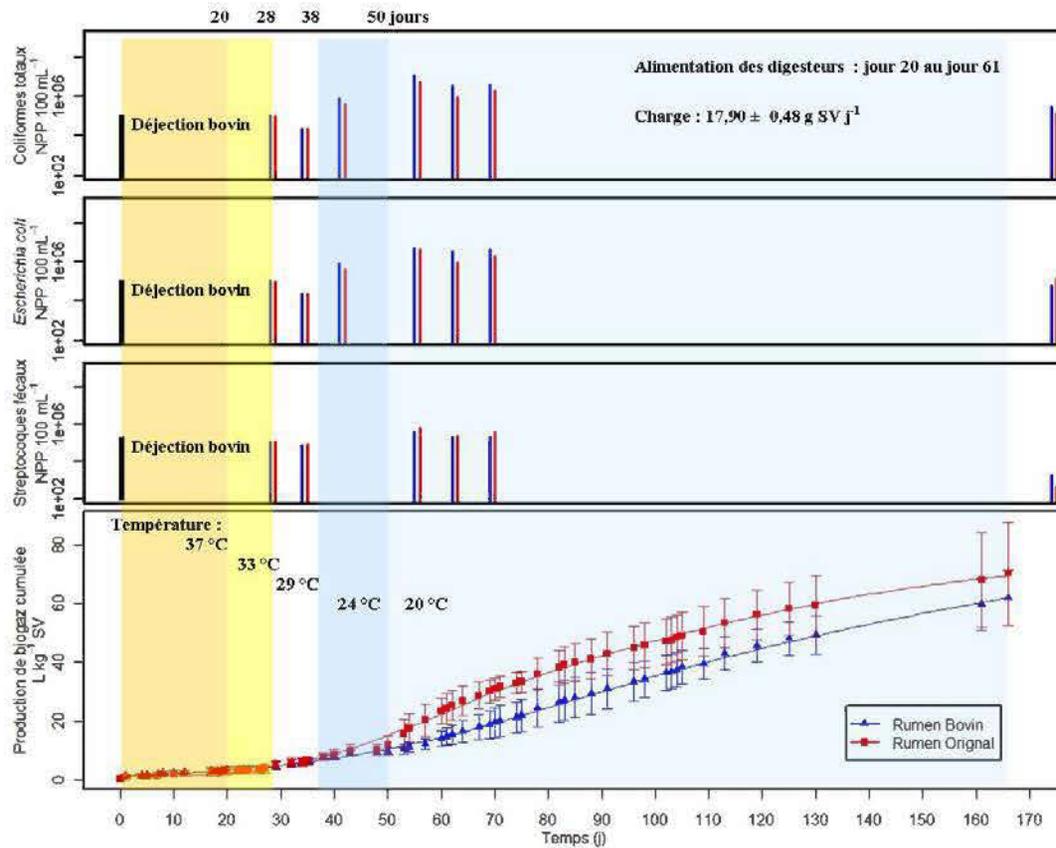


Figure 2.5 Évolution des bactéries pathogènes mesurées dans les déjections animales (jour zéro) et le digestat et la production de biogaz cumulé pour les deux types de liquide du rumen

Cette étude a mesuré une réduction des coliformes fécaux et totaux, *Salmonella*, *Campylobacter* spp. et *Yersinia enterocolitica* à des niveaux indétectables sur la plupart des échantillons (Massé, Gilbert et Topp, 2011).

Une étude réalisée sur des digesteurs anaérobies de 500 et 1000 m³, fonctionnant à une température mésophile (40 °C) avec un temps de rétention hydraulique de 25 jours, a mesuré une réduction des pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* spp.) de 70 à 95% dans les échantillons de digestats en comparaison aux échantillons de lisier de bovin laitier non traité (Crolla *et al.*, 2010).

Selon McGarvey *et al.* (2007), le traitement du fumier de bovins par la digestion anaérobie (20 jours de traitement à 37 °C) et l'entreposage du digestat dans un réservoir étanche (154 jours) a permis de diminuer les bactéries coliformes de plus de 99 %. Les articles concernant la digestion anaérobie soutiennent que la température est le facteur le plus important selon Sahlstrom (2003) afin de réduire les populations de bactéries pathogènes. Les autres paramètres relevés par l'auteur sont : le temps de rétention (TR), le pH, les AGV, le type de traitement, les espèces de bactéries et la disponibilité des nutriments.

Afin de vérifier si les variations observées dans la population de bactéries pathogènes mesurées dans les digesteurs anaérobies pouvaient s'expliquer par le TR, le niveau d'AGV total (AGV_t), ou encore le pH au moment du prélèvement des échantillons lors du comptage cellulaire, le comptage des bactéries a été comparé avec ces paramètres (TR, pH, AGV_t). Deux groupes ont d'abord été formés : un premier groupe où le décompte des pathogènes était supérieur au comptage qui a été observé dans les déjections animales ayant servi à l'alimentation des digesteurs anaérobies et l'autre groupe où le décompte des pathogènes était inférieur à ce dernier. Ensuite à

l'aide de test de Student ($P < 0,05$) la moyenne de chaque groupe a été comparée. Cette analyse statistique a permis d'observer que la moyenne du temps de séjour était significativement plus élevée (81,3 jours) pour un comptage cellulaire bas des SF alors que le TR et le nombre de bactéries n'était pas significativement différent pour les autres types de bactéries pathogènes (CT et EC). La diminution des bactéries pathogènes observée pour les SF dans cette étude pourrait être influencée par le TR, mais comme les observations ne s'appliquent pas à l'ensemble des bactéries pathogènes, il est difficile de soustraire plus d'informations de cette observation.

Le pH et les AGVt n'ont pas été contrôlés de façon artificielle puisque l'objectif de l'étude concernait l'adaptation des microorganismes du rumen à fonctionner dans un digesteur anaérobie à des températures psychrotrophes. Ces analyses ont permis de constater que le pH des digesteurs anaérobies était en moyenne à 5,93 lorsque le nombre de CT était plus élevé que ceux contenus en moyenne dans les déjections de bovin et en moyenne à 5,48 lorsque ces derniers étaient plus bas (test de t, $P < 0,05$). Le pH n'était pas significativement différent lorsqu'il a été comparé aux autres types de bactéries pathogènes (EC et SF). Les AGVt étaient en moyenne de 3937 mg L⁻¹ lorsque le nombre de CT était élevé et en moyenne à 161 mg L⁻¹ lorsque ces derniers étaient bas et les AGVt étaient en moyenne de 3900 mg L⁻¹ lorsque le nombre d'EC était plus élevé et en moyenne à 257 mg L⁻¹ lorsque ces derniers étaient plus bas. Le niveau des AGVt dans les digesteurs anaérobies n'était pas significativement différent pour le comptage des SF (test de t, $P < 0,05$). Ces observations sur les relations entre le dénombrement des bactéries pathogènes avec le pH et les AGVt sont des observations qui pourraient être utiles pour des recherches futures. Les résultats obtenus par le dénombrement des bactéries pathogènes indiquent que ces dernières ne sont pas tous affectées de la même façon par les variations de pH et d'AGV rencontrées dans un digesteur anaérobie. Par contre l'activité ou les

populations microbiennes peuvent chuter et augmenter rapidement selon les conditions, des recherches pourraient permettre de mieux connaître la dynamique de ses populations et de leur niveau d'activité en fonction des paramètres comme le pH et les AGV sous des conditions de digestion anaérobie. Les analyses statistiques réalisées sur l'effet du pH et des AGVt sur les bactéries pathogènes ont été réalisées en tenant compte des décomptes réalisés pendant toute la durée de l'expérience.

La température a été modifiée de façon graduelle pour tous les digesteurs en même temps. L'effet de la température sur le dénombrement des bactéries pathogènes a été analysé. Aucune différence significative n'a été observée entre les différentes températures (33, 29, 24 et 20 °C) où le dénombrement des microorganismes pathogènes a été réalisé. Cet essai n'avait pas pour but de comparer différentes températures de traitement, ces comparaisons ne peuvent en aucun cas se comparer aux conclusions soumises dans la littérature scientifique puisque la période d'adaptation microbienne n'a pas été satisfaite.

Le type d'alimentation peut aussi être un paramètre pouvant influencer la réduction des bactéries pathogènes (Sahlstrom, 2003). Kearney, Larkin et Levett (1993) ont observé un plus grand déclin des bactéries vivantes *Escherichia coli* et *Yersinia enterocolitica* dans les digesteurs anaérobies en discontinu plutôt qu'en continu. Peu importe le mode d'opération, la période d'alimentation correspond à un apport continu de nouvelles bactéries. Cet essai n'avait pas pour but de vérifier ces paramètres et l'alimentation des digesteurs anaérobies a été réalisée en mode discontinu à une fréquence d'une fois par semaine pendant 7 semaines. Le prélèvement des échantillons de digestat se réalisait à chaque semaine avant l'alimentation des digesteurs anaérobies. Les observations réalisées pendant et après la période d'alimentation ne permettent pas de conclure à une différence entre ces deux périodes.

Les grandes variations sur les résultats de dénombrement des pathogènes élevé après 166 jours de traitement pour deux des trois types de bactéries pathogènes amènent à croire que la digestion anaérobie n'a pas été complètement adaptée aux conditions de traitement psychrotrophe. Il aurait dû y avoir une compétition entre les populations de bactéries responsables de la digestion anaérobie et les bactéries pathogènes présentes dans le digesteur. Comme la digestion anaérobie a été réalisée avec des bactéries non adaptées, il est impossible de comparer ces résultats avec ceux de la littérature. Cette observation ajoutée à la faible production de biogaz est un des éléments qui contribuent à alimenter l'hypothèse d'un procédé non adapté, inapte à dégrader les matières organiques présentes avec efficacité et ainsi offrir une compétition aux bactéries pathogènes contenues dans les digesteurs anaérobies.

2.5.5 Les microorganismes pathogènes (essai 2)

Les paramètres physico-chimiques réalisés sur les déjections de bovin utilisées lors de l'expérience 2 apparaissent au tableau 2.7. Les déjections de bovin utilisées provenaient de la même source que ceux utilisés dans l'expérience 1. Les essais de dénombrement des pathogènes après incubation des déjections animales quatre mois à une température de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ n'ont pas démontré de variations significatives des quantités de bactéries pathogènes comparativement à un entreposage à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (tableau 2.8). Il n'y a pas eu de variations significatives du nombre de bactéries pathogènes présentes aux différentes températures de l'essai (4, 8, 12, 16 et $20\text{ }^{\circ}\text{C}$) dans les échantillons testés (test de t, $P < 0,05$). Les bactéries pathogènes dénombrées dans les déjections animales sont peu affectées par l'augmentation des températures suite à leur décongélation, sur une période de 36 jours, en milieu anaérobie. Après 35 jours d'incubation après le dégel, des mesures effectuées sur le gaz présent à

l'intérieur des bouteilles hermétiques, ont indiqué la présence du méthane à une concentration de $43,3 \% \pm 4,3 \%$, la quantité de biogaz produit n'a pas été mesurée.

Tableau 2.7 Caractéristiques physico-chimiques des déjections de bovin utilisées pour l'essai 2

Analyse	Déjections bovin essai 2
ST	16,34 \pm 1,05
SV (% ST)	93,00 \pm 0,51
N total (% ST)	1,70 \pm 0,29
NH ₄ ⁺ (% ST)	0,09 \pm 0,00
P (% ST)	0,28 \pm 0,03
K (% ST)	0,96 \pm 0,18
Ca (% ST)	0,79 \pm 0,06
Mg (% ST)	0,20 \pm 0,05
Rapport C:N	27,94 \pm 4,59
DCOs (mg L ⁻¹)	21809 \pm 826
DCOt (mg L ⁻¹)	113078 \pm 20683
CT Log ₁₀ (NPP 100 mL ⁻¹)	5,65 \pm 5,76
EC Log ₁₀ (NPP 100 mL ⁻¹)	4,97 \pm 5,04
SF Log ₁₀ (NPP 100 mL ⁻¹)	5,01 \pm 5,07

La présence du méthane permet de déduire la présence de bactéries méthanogènes résistant à la congélation (-20 °C) à l'intérieur des déjections animales de bovin et suggère que ces microorganismes méthanogènes sont suffisamment psychrotolérants pour produire du méthane de façon marginale après quelques semaines d'incubation en milieu anaérobie sans ajout d'inoculum contenant ce type de bactéries.

Tableau 2.8 Résultats des dénombrements bactériens et de la concentration de méthane mesurée dans les bouteilles contenant les déjections de bovin utilisées pour l'essai 2

		Bouteilles No					
		80	133	148	149	68	135
Température	Temps	Coliformes totaux Log ₁₀ (NPP 100 ml ⁻¹)					
4 °C	0	6,0	5,1	6,1	5,0	4,3	5,0
4 °C	8	3,4	3,4	3,4			
8 °C	15	4,4	4,4	4,4			
12 °C	22	5,1	3,1	5,1			
16 °C	29	6,5	4,3	8,2			
20 °C	36	3,9	3,8	3,9	4,1	4,4	4,4
		Escherichia coli Log ₁₀ (NPP 100 ml ⁻¹)					
4 °C	0	4,4	5,4	5,4	4,4	4,2	4,4
4 °C	8	4,4	4,4	4,6			
8 °C	15	3,6	2,4	4,0			
12 °C	22	4,6	3,1	4,5			
16 °C	29	4,4	4,4	5,4			
		Streptocoques fécaux Log ₁₀ (NPP 100 ml ⁻¹)					
4 °C		4,4	4,4	5,5	4,8	5,3	4,1
4 °C	0	4,0	4,3	4,6			
8 °C	8	4,1	4,6	3,6			
12 °C	15	4,4	4,4	4,4			
16 °C	22	4,8	4,3	5,9			
20 °C	29	4,3	3,8	5,2	4,4	3,9	3,8
Date		CH ₄ (%)					
30-sept	36				0,0%	0,0%	0,0%
25-nov	92				54,6%	62,9%	52,3%
10-déc	107				64,2%	62,1%	64,7%

Vavilin *et al.* (1998) notent des observations réalisées sur des populations microbiennes méthanogènes acétotrophes (*Methanosarcina* et *Methanosaeta*) provenant de fumier de bovin digéré et actives à une température aussi basse que

6 °C. Les expériences réalisées amènent à croire que certaines bactéries méthanogènes contenues dans les déjections animales supportent la congélation à – 20 °C et peuvent devenir actives après une période de réchauffement de leur environnement à 20 °C.

2.6 Conclusion du chapitre II

La population de bactéries contenue dans le liquide du rumen de deux types d'animaux ruminants (bovin et orignal) n'a pas permis le démarrage du procédé de digestion anaérobie à une température de 20 °C. Ces digesteurs étaient alimentés à l'aide de déjections de bovin de boucherie riche en fibre lignocellulosique. La production cumulée de biogaz a été de $55,8 \pm 8,9$ L biogaz kg^{-1} DCOt pour les digesteurs anaérobies inoculés à l'aide de RB et de $62,1 \pm 17,33$ L biogaz kg^{-1} DCOt pour ceux inoculés à l'aide du liquide du RO après 166 jours de traitement. À des températures mésophiles respectivement de 39 et 35 °C, les rendements obtenus pour la digestion anaérobie de cellulose en utilisant comme inoculum du liquide prélevé dans le rumen de mouton et dans celui d'un orignal ont été de 6 à 8 fois plus élevés que dans cet essai. La fraction biodégradable (14,9 % SV) des déjections animales contenait un potentiel biométhanier théorique de 60,0 L biogaz kg^{-1} SV. Il aurait fallu ajouter à ce potentiel la partie dégradable provenant du liquide du rumen ayant servi d'inoculum. Cette observation permet de penser que la population microbienne ne s'est pas adaptée à la digestion anaérobie des déjections de bovin de boucherie à des conditions de température psychrotrophe à 20 °C.

Le dénombrement des microorganismes pathogènes n'indique pas de différences significatives entre les déjections animales fraîches entreposées à 4 °C et les

déjections animales préalablement congelées puis testées durant l'augmentation des températures entre 4 et 20 °C.

La quantité de CT et de EC a été significativement plus basse dans le digestat lorsque les AGV étaient inférieurs à 300 mg l⁻¹. Les grandes variations sur les résultats de comptage cellulaire et le comptage cellulaire élevé après 166 jours de traitement pour deux des trois types de bactéries pathogènes amènent à croire que la digestion anaérobie n'a pas été complètement adaptée aux conditions de traitement psychrotrophe. Il aurait dû y avoir une compétition entre les populations de bactéries responsables de la digestion anaérobie et les bactéries pathogènes présentes dans le digesteur. Cette observation ajoutée à la faible production de biogaz sont des éléments qui contribuent à alimenter l'hypothèse d'un procédé non adapté, inapte à dégrader les matières organiques présentes avec efficacité et ainsi offrir une compétition aux bactéries pathogènes contenues dans les digesteurs anaérobies.

Des stratégies différentes de démarrage pourraient être essayées afin de favoriser une adaptation des microorganismes du rumen sous de meilleures conditions. Plusieurs températures d'adaptation devraient également être testées et comparées pour des recherches futures. Les populations de microorganismes peuvent s'adapter à certains changements de conditions environnementales pourvu que ces changements respectent les limites métaboliques des différents individus de population microbienne. Dans cet essai, les limites métaboliques semblent avoir été dépassées.

CHAPITRE III

ESSAIS DE DIGESTION ANAÉROBIE À UNE TEMPÉRATURE PSYCHROTROPHE EN PROCÉDÉ DISCONTINU À DEUX ÉTAPES COMME STRATÉGIE DE DÉMARRAGE

3.1 Résumé

La digestion anaérobie de déjections de bovin de boucherie à une température de 20 °C en une et deux étapes a été comparée pendant 100 jours avec un inoculum non adapté. Douze digesteurs anaérobies ont été alimentés, à une fréquence hebdomadaire, de fumier de bovin de boucherie riche en fibres lignocellulosiques ($76,53 \pm 2,02$ % SV). Cette charge organique quotidienne moyenne équivalait à $0,58 \pm 0,02$ g SV L⁻¹ pour une durée de 50 jours. À partir du 16^{ième} jour du traitement, les digesteurs anaérobies ont été disposés selon deux configurations, soit selon un fonctionnement en une ou en deux étapes, afin de comparer l'incidence de ce mode de traitement sur le rendement méthanier. La séparation de la digestion anaérobie en procédé discontinu en deux étapes a permis de mesurer une augmentation de la production de méthane de 27,2 % en moyenne pour la durée de l'essai, et une augmentation de la production quotidienne moyenne de méthane de 18,7 % ($\text{L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}_{\text{Alimenté}}$) pendant une période de 100 jours (test de t). Les digesteurs anaérobies à une et deux étapes ont produit respectivement $6,50 \pm 0,65$ et $8,26 \pm 0,80$ L CH₄ kg⁻¹ SV_{Alimenté} en moyenne cumulée après 100 jours de traitement. Cette production est inférieure à la production théorique du matériel biodégradable de 42

L CH₄ kg⁻¹ SV calculée pour le substrat de déjection de bovin et l'inoculum utilisé. L'inoculum non adapté utilisé n'a pas été amélioré par la séparation des phases et les rendements méthaniers ne semblent pas avoir été améliorés de façon notable par rapport à l'essai 1. Les bactéries coliformes totaux ainsi que les streptocoques fécaux contenus dans le fumier solide de bovin de boucherie ont été réduits dans le digestat de façon significative de 92,3 et 98,5 % respectivement.

3.2 Introduction

La digestion anaérobie est réalisée à travers une combinaison d'actions biochimiques divisées en quatre étapes : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse (voir chapitre I). Les performances d'un digesteur anaérobie sont étroitement liées à la structure de la communauté microbienne présente. Chacune des étapes est réalisée par des populations de microorganismes complexes qui, dans des conditions d'environnement et d'apport en substrat spécifique et régulier, forment des communautés stables (Degremont, 1989; Massé, 1995). Normalement en digestion anaérobie, l'ensemble des étapes du procédé se réalise dans un même digesteur. De nombreux auteurs ont fait la démonstration des avantages reliés à la digestion anaérobie en deux étapes en comparaison à la digestion anaérobie conventionnelle en une seule étape (Raynal, Delgenks et Moletta, 1998; Blumensaat et Keller, 2005; Mohan et Bindhu, 2008; Cysneiros *et al.*, 2011). En divisant la digestion anaérobie en deux étapes, on favorise des conditions et un environnement propice à des microorganismes spécialisés pour chacune des étapes de la digestion anaérobie (Demirer et Chen, 2005).

Une partie des avantages est expliquée par la présence de niches spatiales qui protègent certaines bactéries sensibles au pouvoir inhibiteur de substances spécifiques

présentes à des concentrations trop élevées dans les digesteurs anaérobies (Svensson, 2005). Moletta (2011) décrit l'approche en deux étapes dont le but est de réaliser dans un premier réacteur la phase d'hydrolyse et d'acidogénèse où la matière organique sera transformée en monomère, AGV, H₂ et CO₂. Dans une seconde étape, les matières organiques solubilisées se transportent ensuite dans un second réacteur, dans lequel se réalisent l'acétogénèse et la méthanogénèse. Cette approche a d'abord été proposée par Ghosh et Klass (1978 b) et vise à contrôler les étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse dans le premier digesteur. Ce contrôle est exercé par le temps de rétention des liquides pour chacun des réacteurs. Afin d'imposer l'hydrolyse et l'acidogénèse dans le premier digesteur, il faut un temps de séjour court et un abaissement du pH à des valeurs variant entre 5,5 et 6,0. Ce type d'approche fonctionne bien pour le traitement de substrats facilement hydrolysables tels les déchets de fruits et de légumes (Bouallagui *et al.*, 2005). Comment expliquer l'utilisation ou la justification d'une telle approche dans le cas d'une digestion anaérobie de substrats difficiles à hydrolyser tels que du matériel lignocellulosique? Certains auteurs sont arrivés à traiter des boues usées municipales avec des performances supérieures en méthane produit, en efficacité et capacité de traitement en transformant leur traitement conventionnel de concentration des solides et de filtration en séparant ces étapes en deux avec une recirculation entre les deux. Ces auteurs expliquent ces phénomènes par la présence d'une population plus nombreuse et efficace des bactéries méthanogènes diffusées dans l'étape d'hydrolyse. De plus, certains nutriments spécifiques et microorganismes utiles à la méthanisation sont présents dans la phase méthanogène et transférés à la phase d'hydrolyse. Leur diffusion rapide dans la phase hydrolyse offre un résultat immédiat sur les performances de dégradation des solides (Walker, Banks et Heaven, 2009). D'autres auteurs ont conclu qu'une concentration plus élevée en AGV inhibe l'étape

d'hydrolyse (Narihiro et Sekiguchi, 2007). Mais les auteurs n'expliquent pas de façon exhaustive les variations et leurs effets.

Walker, Banks et Heaven (2009) suggèrent pour le traitement des solides tels que les déchets municipaux, une étape d'hydrolyse avec une longue période de rétention des solides combinée à un retrait rapide des AGV inhibiteurs. Le taux de diffusion des AGV est plus important dans les systèmes où le liquide est libre en comparaison aux systèmes où la matrice est solide ou semi-liquide. Le retrait rapide des AGV inhibiteurs des DAS devrait améliorer la production de méthane et transférer une partie de la production de méthane dans les DAL. L'efficacité du traitement devrait permettre un rendement en méthane plus élevé et une réduction de la DCO et des bactéries pathogènes contenues dans les déjections animales et transférées dans les DAS lors de leur alimentation.

Le but de cet essai était de comparer le rendement méthanier de la digestion anaérobie de déjections de bovin riches en fibre lignocellulosique en une et deux étapes. L'inoculum utilisé est celui de l'essai qui a été discuté au chapitre II de cette thèse. Ces essais ont donc été réalisés à l'aide d'un inoculum non adapté à la digestion anaérobie psychrotrophe. Les travaux avaient aussi pour but de mesurer l'efficacité du traitement à réduire les bactéries pathogènes et de comparer les deux types de traitement sur le plan sanitaire. Ce chapitre vise à communiquer et discuter des résultats obtenus.

3.3 Objectifs spécifiques

L'objectif de cette expérience était d'étudier les performances de la digestion anaérobie à deux phases comme stratégie de démarrage de la biométhanisation, à des températures psychrotrophes de 20 °C. La dégradation des substrats demande une

grande proportion de microorganismes spécialisés afin d'optimiser les performances du digesteur anaérobie. En divisant la digestion anaérobie en deux phases, il a été tenté de favoriser des conditions et un environnement propices à ces microorganismes spécialisés. La recirculation des liquides et le mélange des digesteurs anaérobies sont des éléments qui pourraient favoriser la performance des étapes de dégradations anaérobies prises individuellement et, de façon générale avoir un effet positif sur la performance du digesteur anaérobie. Les travaux visaient aussi à comparer la digestion anaérobie à une étape et la digestion anaérobie à deux étapes en alimentant ces derniers à l'aide de déjections de bovin de boucherie riches en fibres lignocellulosiques et de suivre le procédé de traitement en mesurant différents paramètres sur le digestat produit. L'adaptation des populations bactériennes à produire du méthane était également visée, les indicateurs d'adaptation étant la production de méthane, le pH, les AGV et la réduction des bactéries pathogènes.

3.4 Matériel et méthodes

3.4.1 Description des digesteurs

Afin de mesurer les bénéfices d'une séparation de la digestion anaérobie en deux étapes, deux types de digesteurs anaérobies ont été conçus, fabriqués et testés en laboratoire (voir chapitre II). Ces digesteurs anaérobies ont une capacité volumique moyenne de 18,3 L et un volume utile de 15,0 L. Ces digesteurs verticaux ont été construits en polychlorure de vinyle (PVC) clair. Les digesteurs sont munis de trois valves à bille de diamètres différents dont une valve d'entrée des substrats (diamètre de 50 mm). Cette valve d'entrée des solides est située sur le dessus des DAS. Une valve de sortie des digestats d'un diamètre de 12,7 mm et deux valves de sortie des biogaz (manuel et automatique) d'un diamètre de 12,7 mm sont installées au bas des

digesteurs anaérobies. Les DAS sont munis de deux tamis (ouvertures de 5 mm et de 1 mm de diamètre) placés au bas du cylindre afin de permettre le passage du liquide ayant percolé au travers des solides, soit de façon gravitaire ou encore en augmentant la pression des gaz dans le haut du cylindre. Les DAL sont identiques aux DAS à l'exception des tamis et de la valve d'entrée des substrats solides (haut du digesteur) qui sont absents.

Le procédé testé n'existe pas d'une façon industrielle et commerciale et fait l'objet d'une demande de brevet au Canada et aux USA ((N/Réf. Canada : 23469-P44061CA00, N/Réf. USA : 13882890). Ce procédé implique de séparer en deux étapes la digestion anaérobie avec une première étape où les solides sont concentrés dans un digesteur anaérobie et une seconde étape où seulement les liquides et les particules plus fines que 1 mm de diamètre se retrouvent. Le procédé consiste à introduire les solides à traiter dans une première étape de digestion et par un procédé de lixiviation, inonder de digestat liquide la masse de substrat solide à traiter quelques secondes et de laisser ensuite le liquide se retirer par gravité ou avec une faible pression positive (< 50 kPa) des gaz. Ces liquides s'accumulent dans une section dont la capacité volumique est de 2,5 L et située sous les tamis au bas du digesteur. Le liquide peut ensuite être transféré dans un second digesteur anaérobie. Les deux types de digesteurs étaient raccordés par le tuyau de sortie du digestat situé au bas des digesteurs anaérobies. Le liquide était transféré des DAS vers les DAL ou l'inverse par des tuyaux de 20 mm de diamètre. Afin d'assurer l'étanchéité des digesteurs anaérobies, chaque digesteur a été pressurisé avant l'essai sans présence de matériel organique afin de mesurer une pression constante des gaz contenus à différentes pressions internes. La pression des digesteurs anaérobies a été maintenue à une pression inférieure aux pressions maximales mesurées. L'accumulation de la pression à l'intérieur des digesteurs anaérobies a été contrôlée à 2900 ± 290 Pa. Afin de

maintenir cette faible pression des gaz à l'intérieur des digesteurs anaérobies, un interrupteur à pression (Omega, Canada, PSW21) et une valve solénoïde (Omega, Canada, SV -1200) ont été installés sur le tuyau d'évacuation des biogaz de chacun des digesteurs. Chaque DAS installé pour fonctionner à deux étapes a été apparié avec un DAL. Les biogaz produits étaient évacués par différentiel de pression interne et étaient acheminés vers un sac en Tedlar® installé à la sortie de la valve de contrôle de la pression des digesteurs anaérobies. Afin de mesurer le volume de gaz produit, un capteur à pression (Omega, Canada, PX26-001GV) a été installé sur chacun des digesteurs, et l'ensemble des capteurs a été raccordé à un acquiiseur de données (Omega, Canada, DAQ-55). Un ordinateur a enregistré avec le logiciel Personal Daqview Plus v.2.0.10 (Omega Engineering inc., Canada) les variations du potentiel électrique mesuré par chaque capteur à pression installé sur les digesteurs anaérobies à des intervalles de cinq minutes pendant toute la durée de l'essai. Les capteurs à pression ont été calibrés à des températures variant entre 18 et 22 °C en faisant varier la pression entre 0 et 6895 Pa \pm 1 % (linéaire). Les résultats de pressions relatives obtenus ont ensuite été corrigés à l'aide des paramètres calculés par régression linéaire à partir de la tension mesurée (V) à chacune des mesures de pression avec une précision de \pm 1,0 % (linéaire) et \pm 0,2 % (répétabilité et hystérésis). Cet essai a débuté après avoir tenté d'adapter des microorganismes provenant du rumen d'un bœuf et d'un orignal à la digestion anaérobie psychrotrophe des déchets solides de fumier de bovin (essai 1, chapitre II). L'inoculum a été mélangé de façon uniforme avant d'être introduit en quantité égale ($1100,2 \pm 0,2$ g base humide) dans chacun des DAS.

3.4.2 Digestion anaérobie à une et deux étapes

L'alimentation des digesteurs anaérobies a été réalisée en discontinu avec une période d'alimentation de huit semaines et une période de réaction de dix semaines. À partir du 16^{ème} jour de l'alimentation, les digesteurs anaérobies ont été disposés selon deux configurations, soit selon un fonctionnement en une ou en deux étapes. Les digesteurs ont été divisés en deux groupes de six répétitions (figure 3.1). La température moyenne de traitement anaérobie a été de $20,8 \pm 1,0$ °C. Les digesteurs anaérobies ont été alimentés en moyenne de $619,7 \pm 67,7$ g base humide de déjections solides de bovin de boucherie à chaque semaine (tableau 3.1). Au début de l'expérience 4,5 L d'eau a été ajouté dans tous les digesteurs afin de faciliter l'écoulement du liquide des DAS aux DAL, ensuite de l'eau a été ajoutée à chaque digesteur lors de la prise d'échantillon, la quantité d'eau équivalait au prélèvement de l'échantillon (100 mL). Les digesteurs anaérobies ont reçu les mêmes quantités d'eau, peu importe le traitement.

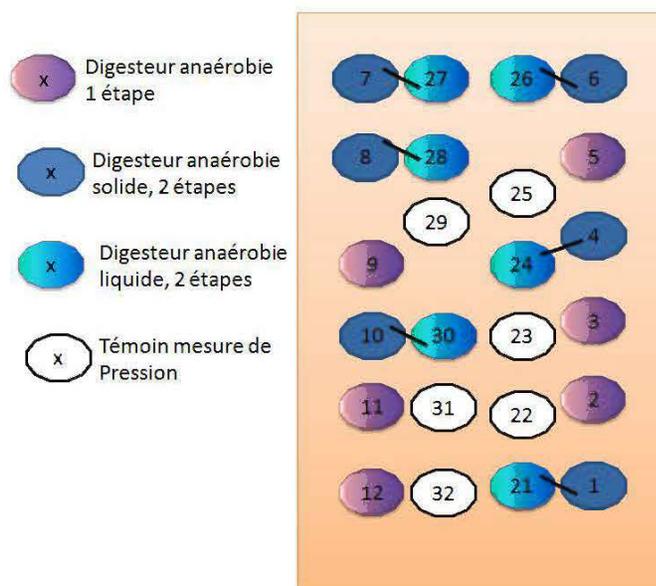


Figure 3.1 Dispositif expérimental de l'expérience de digestion anaérobie à deux étapes.

Tableau 3.1 Masse de fumier utilisée pour l'alimentation des digesteurs anaérobies sur une base hebdomadaire

Digesteur anaérobie	Inoculum	Fumier (g base humide)								
	Semaine									
No	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Total
DAS1-2étapes	1100,2	564,9	533,8	544,6	647,5	619,6	704,9	515,7	733,1	5964,3
DAS2-1étape	1100,4	583,1	633,8	589,8	691,3	696,4	668,1	478,2	670,1	6111,3
DAS3-1étape	1100,1	564,1	567,2	565,3	671,0	637,4	571,5	696,6	634,1	6007,3
DAS4-2étapes	1100,1	585,6	617,3	433,2	652,5	701,4	743,3	698,5	630,4	6162,2
DAS5-1étape	1100,1	529,7	455,8	548,0	634,2	708,5	635,1	729,5	574,0	5914,9
DAS6-2étapes	1100,2	582,0	659,8	634,9	689,8	709,4	687,3	583,2	572,9	6219,5
DAS7-2étapes	1100,2	618,0	596,5	527,9	683,1	540,3	615,2	713,4	529,3	5924,0
DAS8-2étapes	1100,0	553,3	503,9	608,4	705,7	586,4	700,5	709,9	656,0	6124,1
DAS9-1étape	1100,1	637,1	552,1	618,8	496,0	709,5	579,0	597,1	620,7	5910,3
DAS10-2étapes	1100,0	554,1	565,7	608,9	678,8	717,3	625,9	679,8	645,5	6175,9
DAS11-1étape	1100,8	638,6	542,2	634,9	604,1	640,9	569,8	717,3	577,8	6026,5
DAS12-1étape	1100,3	683,1	551,1	617,7	673,2	663,2	564,6	693,9	609,9	6156,8
Moyenne	1100,2	591,1	564,9	577,7	652,3	660,9	638,8	651,1	621,2	6058,1
Écart-Type	0,2	44,4	56,4	58,3	56,7	57,1	61,4	85,6	53,9	113,0
C.V.	0,0%	7,5%	10,0%	10,1%	8,7%	8,6%	9,6%	13,1%	8,7%	1,9%

Après chaque introduction du substrat, les matières présentes dans le digesteur anaérobie étaient inondées pendant quelques minutes par les liquides provenant du DAL ou à l'aide du liquide ayant percolé au bas des digesteurs pour les digesteurs à une étape. Cette opération a été réalisée une fois par semaine en introduisant des gaz (N_2) à une pression de 34,5 kPa à la base des digesteurs anaérobies pendant 10 secondes. Une fois cette opération complétée, le liquide libre était transféré à nouveau dans le digesteur en phase liquide associé ou percolait lentement au bas du digesteur (digesteur à une étape). Chaque semaine, trois échantillons composites étaient réalisés à partir d'un prélèvement de 100 g réalisé dans chacun des cylindres qui ont servi à alimenter les digesteurs anaérobies.

Un échantillon de digestat a été prélevé pour chaque digesteur anaérobie après avoir mélangé le contenu des digesteurs à l'aide d'un gaz (N_2) pendant 10 secondes. Un volume de 500 mL de digestat était d'abord prélevé et homogénéisé, puis un échantillon de 50 mL représentatif du mélange était prélevé et transféré dans des contenants stériles pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques.

Le pH a été mesuré sur chaque échantillon avant de remettre les surplus (450 ml) à l'intérieur du DAS auquel l'échantillon avait été prélevé. La DCO (tableau 3.2) a été réalisée dans un délai de 24 heures après l'échantillonnage selon la méthodologie décrite plus bas. Les analyses chimiques (N total, NH_4-N , P, K, Ca, Mg) ont été réalisées à la fin de l'expérience sur des échantillons prélevés tout au long de l'expérience et maintenus congelés à $-20\text{ }^\circ\text{C}$ jusqu'au moment de l'analyse. Les solides volatils ont été mesurés sur des échantillons représentatifs de l'inoculum, des déjections et du digestat (solide et liquide) au début et à la fin de l'expérience. La DCO a été mesurée sur les fumiers, et les digestats liquides chaque semaine tout au long de l'expérience ainsi que sur l'inoculum et les digestats solides au début et à la

fin de l'expérience. Les AGV ont été mesurés chaque semaine tout au long de l'expérience.

Les AGV ont été analysés pour tous les échantillons de fumier et les digestats prélevés chaque semaine. Les bactéries ont été dénombrées dans un délai de 24 heures après le prélèvement de l'échantillon sur le fumier et le digestat au début de l'expérience et chaque mois jusqu'à la fin de l'expérience. Les échantillons de gaz ont été mesurés au début de l'expérience et une fois par semaine tout au long de la digestion anaérobie en une et deux étapes. Les fibres ont été mesurées sur le fumier lors de chaque prélèvement et sur le digestat à la fin de l'expérience.

3.4.3 Analyses des substrats

Les éléments N total, NH₄-N, P, K, Ca, Mg et les SV ont été analysés tel que décrit au chapitre précédent. La mesure des principaux acides gras volatils (AGV; acide acétique, acide iso butyrique, acide n butyrique, acide propionique et acide n valérique) ont été déterminés à partir des échantillons de 50 mL de digestat centrifugé pendant 30 minutes à l'aide d'une centrifugeuse (Beckman Coulter inc., Allegra 21R) à une vitesse de 7500 rpm et une température de 35 °C. Le surnageant a été prélevé et filtré à l'aide d'une seringue munie d'un filtre (0,45 µm) puis injecté dans des bouteilles (2 mL) munies d'un bouchon septum pour être analysé par chromatographie gazeuse (Varian CP-3800) sur un appareil équipé d'une colonne capillaire de 30 mètres (ID 0,53 mm, film 1 µm, Varian) et d'un détecteur par ionisation à la flamme (FID) configuré pour fonctionner à une température de 250 °C avec un mélange de gaz porteur (He/H₂ : ratio 1/9) et une température constante du four à 230 °C lors du passage de l'échantillon dans la colonne.

Les échantillons utilisés pour le dénombrement des bactéries CT, EC, ainsi que les SF, ont d'abord été homogénéisés au broyeur alimentaire (Stomacher) pendant 2 minutes après addition de tampon peptone (0,5 %) à un ratio de 1 : 9. L'homogénéat (1 mL) a ensuite été réparti dans des tubes contenant 9 mL de tampon peptone et une dilution en série a été effectuée. Un aliquote (0,1 mL) de chaque série de dilution a été déposé dans des plaques multi-puits contenant du milieu Fluorocult LMX (EMD, Canada) (coliformes et *Eschericia coli*) ou Streptococcus KF (Oxoid Microbiology Products, Canada) (streptocoques) afin de réaliser un dénombrement par la technique du nombre le plus probable (NPP). Le dénombrement a été effectué après une incubation de 24 et 48 heures à 37 °C. L'interprétation et l'analyse des observations microbiologiques sont basées sur la méthode décrite par Larney *et al.* (2003).

3.4.4 Production de biogaz et de méthane

La production de biogaz est le critère le plus représentatif pour mesurer la qualité de la digestion anaérobie. La quantité de gaz produite a été déterminée par la mesure de la pression des gaz et à l'aide de la loi des gaz parfaits : $PV = nRT$ et décrite au chapitre II. Le nombre de mole de gaz a été calculé et ramené à la pression de 101,3 kPa et à la température de 0 °C. Les variations de pression ont été mesurées et enregistrées toutes les cinq minutes pendant toute la durée de l'expérience. La quantité de biogaz produite peut être occupée par une partie importante de CO₂ qui n'a aucune valeur énergétique, c'est pourquoi plusieurs auteurs préfèrent exprimer cette performance en rendement méthanier par rapport au volume du digesteur anaérobie. Parallèlement à ces mesures, des échantillons de biogaz ont été prélevés dans des sacs en Tedlar® de 3 L de capacité. La composition de ces échantillons de gaz a ensuite été déterminée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Micro-

GC, Agilent 3000) équipé de deux colonnes de référence Molsieve 5A (O₂, N₂, CH₄) et PLOT U (CO₂, H₂S) et d'un détecteur thermique (TCD). Les courbes de calibration du chromatographe ont été réalisées à l'aide d'un mélange de gaz standard contenant du CH₄, CO₂, H₂S et du N₂ (Linde, Canada Ltd). Les sacs d'échantillons étaient réutilisés et purgés à trois reprises à l'aide de N₂ avant chaque échantillonnage. Les échantillons ont été analysés moins de 12 heures après l'échantillonnage de gaz.

3.4.5 Statistique

La moyenne, la variance et le coefficient de variation ont été calculés pour les analyses réalisées sur les déjections animales, l'inoculum et le digestat. L'homogénéité de l'alimentation des digesteurs anaérobies a été comparée à l'aide d'analyses sur les variances (ANOVA) à un facteur entre les traitements avec un intervalle de confiance de 95% ($P \leq 0,05$). La normalité des résultats a été vérifiée graphiquement sur les résidus à partir des ANOVA (Graphique Q-Q normal).

Des tests de Student (test de t, $P=0,05$) ont été réalisés afin de comparer l'effet des propriétés physico-chimiques des déjections et du digestat sur le rendement en méthane pour le traitement à une étape avec celui à deux étapes à l'aide d'analyses des mesures répétées dans le temps à deux intervalles pendant l'expérience (58 et 101 jours). Des ANOVA à un facteur ont été réalisées à dix intervalles de temps. Les paramètres explicatifs vérifiés étaient la production de méthane quotidienne et cumulée pour tous les intervalles de temps. La période d'alimentation et la période de réaction ont été comparées à l'aide d'ANOVA à un facteur et multifactorielle.

Des tests de Student (test de t , $P \leq 0,10$) ont été réalisés sur les moyennes géométriques des résultats obtenus pour le dénombrement des bactéries contenues dans le fumier et le digestat (liquide et solide).

La plupart des tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel de programmation et langage statistique R (R Development Core Team, version 2.11.1, 2008), alors que les tests de Student ont été réalisés à l'aide du chiffrier Excel®.

3.5 Résultats et discussion

3.5.1 Les paramètres physico-chimiques

Les paramètres de l'inoculum ainsi que les déjections animales et les digestats recueillis sous texture solide et liquide sont présentés au tableau 3.2. De façon générale, les différents échantillons de digestat ont révélé une variation importante au niveau du contenu en élément minéral (N total, $\text{NH}_4\text{-N}$, P, K, Ca et Mg) entre les différents digestats solides, alors que ces paramètres étaient plus homogènes dans le digestat liquide et le fumier. L'azote total, l'azote ammoniacal exprimé sur une base de solides totaux et le rapport carbone : azote n'étaient significativement pas différents entre le digestat solide et liquide. Le ratio $\text{NH}_4^+ : \text{N total}$ a été de 51,6 % supérieur dans le digestat liquide par rapport au digestat solide (test de t , $P=0,024$). Pour ce qui est des autres minéraux, les contenus en phosphore et en potassium étaient supérieurs dans les digestats solides, soit respectivement de 51,7 % et 59,5 % sur une base de solides totaux (phase solide), alors que le calcium et le magnésium étaient d'avantages présents dans la phase liquide, soient respectivement 50,8 % et 116,9 % (test de t , $P \leq 0,05$). Les observations réalisées entre autres sur l'azote et le phosphore ont été similaires à celles observées par Moletta (2011) pour du digestat

séparé en deux étapes après le traitement anaérobie. Cet auteur souligne que la séparation des phases permet d'obtenir une fraction solide riche en matières organiques stables et en phosphore et une fraction liquide riche en ammoniac.

Massé *et al.* (2007) ont mesuré, sur des digesteurs anaérobies psychrotrophes par lot séquentiel, une augmentation du ratio de NH_4^+ : N total de 40 % dans le digestat en comparaison au lisier de porc avant le traitement. Ces auteurs ont mesuré une rétention de 62,3 % du phosphore dans les boues de l'effluent décanté du digesteur.

Tableau 3.2 Principaux paramètres de l'inoculum, du substrat (fumier) et des digestats

Paramètres	Inoculum	Fumier	Digestat Solide	Digestat Liquide	
	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne	
ST (%)	13,70 ± 1,50	16,80 ± 1,10	16,70 ± 1,40	8,40 ± 0,50	
SV (% ST)	89,30 ± 2,10	92,90 ± 0,50	93,24 ± 0,35	90,80 ± 0,40	
NTK (% ST)	3,00 ± 0,97	1,72 ± 0,23	1,66 ± 0,14	1,89 ± 0,34	
NH_4^+ (% ST)	<0,12 ± nd	0,16 ± 0,04	0,09 ± 0,01	0,2 ± 0,04	
P (% ST)	1,57 ± 0,78	0,29 ± 0,03	0,32 ± 0,18	0,15 ± 0,03	
K (% ST)	1,33 ± 0,36	0,84 ± 0,16	0,69 ± 0,18	0,28 ± 0,07	
Ca (% ST)	<2,80 ± nd	0,81 ± 0,06	0,72 ± 0,13	1,09 ± 0,06	
Mg (% ST)	<0,30 ± nd	0,21 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,41 ± 0,04	
Rapport C:N	16,38 ± 5,51	27,48 ± 3,51	28,39 ± 2,48	24,93 ± 5,36	
Rapport NH_4^+ : NTK (%)	nd	4,88%	2,42%	10,06%	4,05%
				15,25%	
				%	
DCOs (mg L ⁻¹)	12597 ± 2188	17 163 ± 2 876	11 940 ± 3885	8 427 ± 1 846	
DCOt (mg L ⁻¹)	59268 ± 13882	88 862 ± 15 221	62 162 ± 12 472	nd	
Éthanol (mg L ⁻¹)	10,2 ± 1,6	6,30 ± 10,19	2,98 ± 3,97	1,38 ± 0,80	
Acide acétique (mg L ⁻¹)	17,2 ± 5,3	137,60 ± 103,26	13,17 ± 16,59	6,80 ± 2,81	
Acide propionique (mg L ⁻¹)	600,1 ± 342,0	94,82 ± 67,75	99,18 ± 203,09	27,82 ± 23,27	
A. iso butyrique (mg L ⁻¹)	8,8 ± 7,2	13,10 ± 11,08	3,66 ± 4,16	1,97 ± 1,69	
A. n-butyrique (mg L ⁻¹)	1,6 ± 1,1	14,95 ± 13,18	2,06 ± 2,46	0,46 ± 0,20	
Acide valérique (mg L ⁻¹)	74,0 ± 41,5	5,54 ± 5,18	9,16 ± 27,22	0,28 ± 0,21	
ADF (% ST)		55,62 ± 1,30	52,27 ± 1,31	51,01 ± 1,31	
NDF (% ST)		71,08 ± 1,31	67,83 ± 1,55	62,20 ± 1,58	

	ADFL (% ST)		24,32 ± 1,50	26,58 ± 2,11	25,93 ± 1,01
	Microorganismes pathogènes Log10 (NPP 100 mL ⁻¹)				
	CT	5,62 ± 5,69	5,53 ± 5,75	4,41 ± 5,24	3,95 ± 4,02
	EC	5,4 ± 5,38	4,96 ± 5,25	5,24 ± 5,66	5,39 ± 5,53
	SF	3,26 ± 2,98	6,71 ± 7,37	3,88 ± 4,29	4,37 ± 4,77

Le contenu en fibres mesurées dans les déjections animales ayant servi pour l'alimentation des digesteurs anaérobies de l'expérience semble élevé par rapport à d'autres types de déjections animales retrouvées en agriculture. De plus, les fibres présentes dans le fumier animal ont déjà passé par un processus de dégradation et peuvent s'avérer plus difficiles à dégrader en comparaison aux fibres qui pourraient être contenues dans du matériel végétal frais ou ensilé. Par exemple Chandler, Jewell et Gossett (1980) ont mesuré des niveaux de lignine entre 2,2 et 10,1 % SV pour du fumier de porc, de vache laitière et de poulet et le contenu le plus élevé en lignine qu'ils ont analysé a été avec du papier journal (20,9 % SV). Ces auteurs sont d'avis que le contenu en lignine est un paramètre important pour mesurer le caractère biodégradable des matières organiques traitées selon un procédé de digestion anaérobie. Ils ont développé, à partir de leurs résultats d'analyse une équation pour mesurer la quantité de SV dégradable (équation 2.3). D'autres chercheurs arrivent aux mêmes conclusions, la lignine contient des anneaux aromatiques stables et ne possède pas de structure régulière, ce qui rend le travail des enzymes peu efficace (Sierra-Alvarez et Lettinga, 1991).

La teneur en solides totaux du mélange de substrats est demeurée entre 14,7 % et 18,3% de ST (base humide) dans le digesteur solide pour les digesteurs à deux étapes, alors que la teneur en solides totaux des digesteurs à une étape s'est maintenue entre 7,0 % et 7,8 %.

Les déjections animales utilisées pour l'essai contenaient l'équivalent en fibres lignocellulosiques de $71,08 \pm 1,31$ % ST dont une partie importante de lignine ($24,32 \pm 1,50$ % ST). Les fibres mesurées dans le digestat révèlent une diminution moyenne de 27,91 % SV du contenu en hémicellulose, 20,22 % SV du contenu en cellulose et une augmentation de 6,25 % SV du contenu moyen en lignine comparativement aux fumiers utilisés comme substrat. L'enrichissement du digestat en lignine s'explique par l'absence de dégradation de ce type de fibres en milieu anaérobie. L'alimentation des digesteurs anaérobies était homogène et il n'y avait pas de différence significative entre les traitements. Des ANOVA sur les fibres n'ont pas démontré d'effet par rapport au contenu en cellulose, hémicellulose et lignine sur la production quotidienne et cumulée de méthane.

3.5.2 La production de méthane

La production quotidienne de méthane a été supérieure pendant la période d'alimentation par rapport à la période de réaction (figure 3.2). Les digesteurs anaérobies ont produit en moyenne $20,56 \pm 2,29$ et $26,14 \pm 2,63$ L CH₄ kg⁻¹ DCO_t respectivement pour les digesteurs à une et deux étapes pour la même période de 100 jours de traitement. Cette production calculée en unité de poids de SV alimenté dans les digesteurs anaérobies représente respectivement $6,50 \pm 0,65$ et $8,26 \pm 0,80$ L CH₄ kg⁻¹ SV_{Alimenté} en moyenne cumulée après 100 jours de traitement. Dans la littérature, les recherches sur la digestion anaérobie solide du fumier de bovin à des températures thermophiles et mésophiles démontrent des rendements entre 28 et 268 L CH₄ kg SV⁻¹ (Møller, Sommer et Ahring, 2004; Amon *et al.*, 2006b; Lehtomaki, Huttunen et Rintala, 2006; Ahn *et al.*, 2010). McDonald, Achari et Abiola (2008) ont obtenu un rendement de 282 ± 34 L biogaz kg⁻¹ SV avec du fumier provenant de parc d'engraissement de bovin de boucherie à l'aide d'essai en laboratoire, par lot séquentiel à une température de 37 °C. Les auteurs ne précisent pas l'âge du fumier ni

le contenu en litière qui peuvent modifier le rendement en biogaz. Lehtomaki, Huttunen et Rintala, (2006) ont mesuré $204 \pm 16 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ pour du fumier de vache traité par digestion anaérobie à une température de $35 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 20 jours. Un bilan massique a été réalisé à l'aide des équations de McCarty (1972) et reproduit dans Pavlostathis et Giraldo-Gomez (1991) (voir équations au tableau 1.7). Il a été appliqué, aux solides volatils, un facteur de biodégradabilité pour tenir compte seulement de la fraction dégradable (voir équation 2.3), et donne une production théorique de $42 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$. Cette valeur théorique est largement supérieure aux résultats obtenus. Cette observation permet de penser que la population microbienne ne s'est pas adaptée à la digestion anaérobie des déjections de bovin de boucherie à des conditions de température psychrotrophe à $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

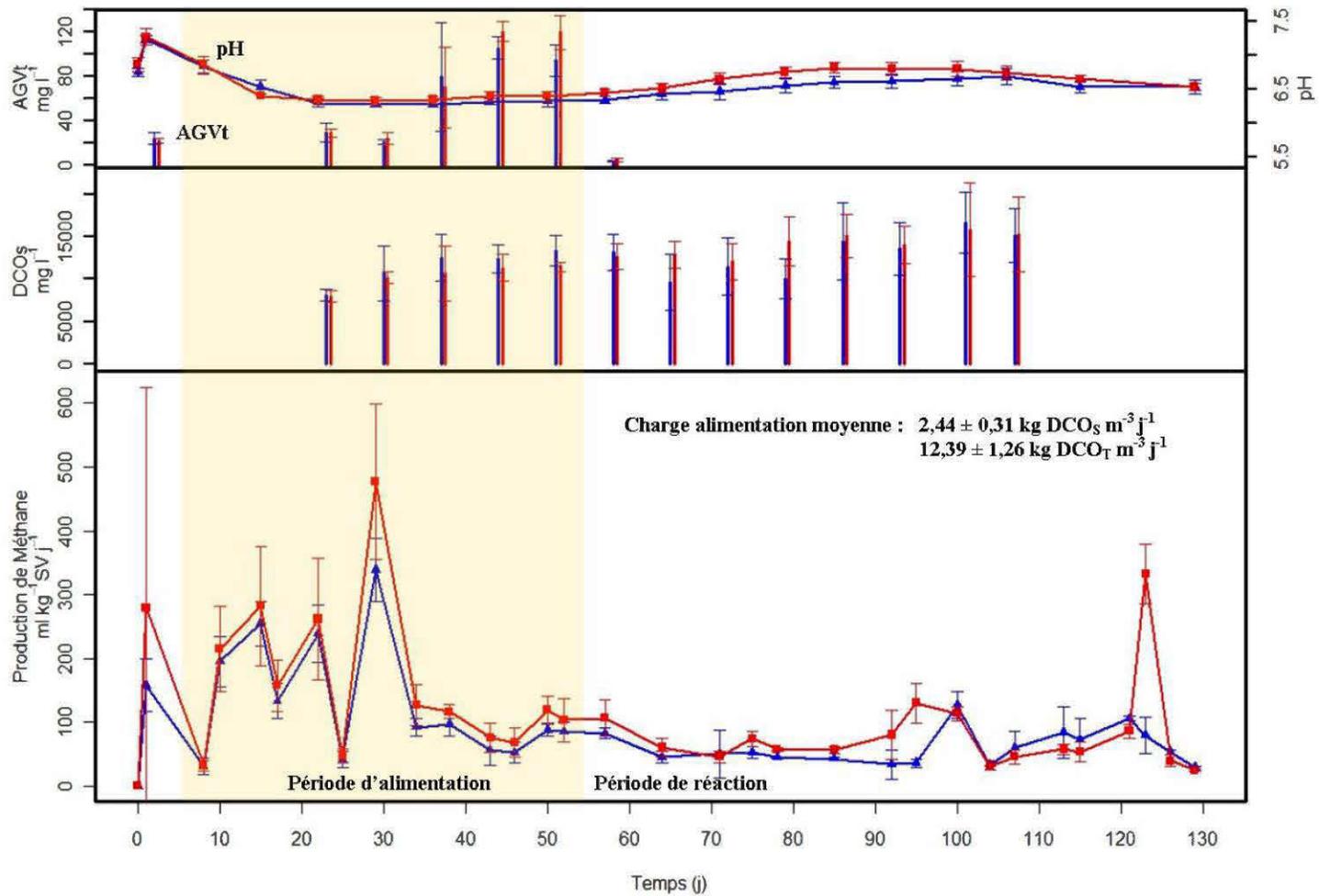


Figure 3.2 Graphiques de la production quotidienne de méthane, de la DCOs, des AGVt et du pH pour chaque traitement (-▲- 1 étape et -■- 2 étapes)

La production quotidienne de méthane a été significativement supérieure (52,4 %) pendant la période d'alimentation par rapport à la période de réaction (figure 3.2) pour tous les digesteurs anaérobies (ANOVA, $P \leq 0,05$). Après 35 jours de traitement, la production quotidienne de méthane a diminué de façon notable (1/3 environ). Le contenu en méthane du biogaz produit a été stable peu importe le traitement. La moyenne a été de $59,32\% \pm 3,62\%$ de CH_4 , $40,67\% \pm 3,633\%$ de CO_2 et $0,005\% \pm 0,036\%$ de H_2S . Le biogaz produit dans les digesteurs anaérobies liquides pour les digesteurs en deux étapes avait une teneur en CH_4 de $49,3 \pm 8,23\%$. Les digesteurs anaérobies à deux étapes ont produit significativement plus de méthane ($5,41 \pm 0,47 \text{ mL CH}_4 \text{ L}^{-1} \text{ digesteur j}^{-1}$) que les digesteurs à une étape ($4,55 \pm 0,46 \text{ mL CH}_4 \text{ L}^{-1} \text{ digesteur j}^{-1}$) après 100 jours de traitement (test de t, $P < 0,05$). Les rendements en méthane de l'essai sur le démarrage à l'aide du liquide du rumen ont été comparés avec ceux de l'essai sur le démarrage en une et deux étapes afin d'évaluer l'évolution de la production de biométhane entre les types de traitement. La production cumulée de biométhane pour l'essai sur le démarrage à l'aide du liquide du rumen a été estimée en moyenne à $36,4 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ DCO}_t$ peu importe le traitement. Cette production est approximative puisque le méthane n'a pas été mesuré pendant toute la durée de l'essai. Les valeurs obtenues pour l'essai sur le démarrage en une et deux étapes sont en moyenne de $23,35 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ DCO}_t$ pour les deux traitements (1 et 2 étapes). La différence entre la production de biométhane de l'essai sur le démarrage à l'aide du liquide du rumen et celle de l'essai sur le démarrage en une et deux étapes peut s'expliquer en partie par le temps de traitement qui a été de respectivement 166 et 110 jours pour l'essai sur le démarrage à l'aide du liquide du rumen et celle sur le démarrage en une et deux étapes respectivement. Les concentrations de solides volatils contenus dans les digesteurs anaérobies étaient de respectivement 141,5 et 69,2 g SV L^{-1} pour l'essai sur le démarrage à l'aide du liquide du rumen et celle sur le démarrage en une et deux étapes. Ces rendements laissent croire que la production

obtenue à l'essai sur le démarrage à l'aide du liquide du rumen ne s'est pas améliorée en séparant les étapes de la digestion anaérobie. Les rendements en deux étapes ont amélioré le rendement méthanier, mais les résultats sont loin des résultats théoriques. La séparation de la digestion anaérobie en deux étapes ne semble pas améliorer de façon évidente l'adaptation de l'inoculum à la digestion anaérobie de déjection de bovin. Sans l'apport de nouvelles souches de bactéries adaptées à la digestion anaérobie à température psychrotrophe, les conditions de digestion anaérobie n'ont pas évolué par rapport à l'essai précédent.

Il n'y a pas de comparaison dans la littérature puisque la digestion anaérobie, dans cette expérience, a été réalisée à l'aide d'un inoculum non adapté, à une température basse, avec peu de brassage et avec un substrat riche en fibres lignocellulosiques. Des conditions qui ressemblent davantage aux conditions retrouvées sur du fumier laissé dans un réservoir étanche sans interventions. Massé *et al.* (2003) ont mesuré le méthane produit par du lisier de vache laitière en milieu anaérobie, en laboratoire pendant 180 jours à une température de 15 °C. Les émissions mesurées ont été de 3,64 et 11,53 L CH₄ kg⁻¹ SV pour des teneurs en ST respectivement de 4,2 et 9,2 %. Cette étude avait pour but de simuler les émissions de méthane dans les systèmes d'entreposage des fumiers et ne permettent pas de connaître les détails sur l'alimentation des bovins et ne donnent pas d'informations sur certains facteurs qui peuvent influencer la qualité biodégradable des déchets produits tels que le contenu en fibres et la proportion de lignine.

3.5.3 La demande chimique en oxygène

Les ANOVA réalisées sur la charge organique mesurée à l'aide de la DCOs et la DCOt sur les déjections animales ont permis d'observer que la charge organique des

déjections animales était homogène entre les différents traitements et n'a pas fait varier la production de méthane quotidienne ou cumulée de façon significative entre les traitements (ANOVA, $P \leq 0,05$). La DCOs du digestat a varié avec des maxima et minima entre 6765 et 23 101 mg DCOs L⁻¹. La DCOs a évolué selon des cycles différents allant d'un cycle de 14 à 36 jours (figure 3.2). Ces cycles peuvent représenter différentes vitesses de dégradation des substrats organiques transformés lors des étapes de la digestion anaérobie (hydrolyse, acidogénèse, acétogénèse et méthanogénèse) et réalisés par la chaîne trophique présente dans les digesteurs anaérobies. L'amplitude des cycles n'a pas démontré de différences significatives entre les deux traitements, et les résultats n'ont pas permis de relever d'indices sur les raisons précises de la variation des cycles. Ces cycles s'expliquent par le comportement des microorganismes et des différentes étapes de la digestion anaérobie qui évoluent à la vitesse de la chaîne trophique, des éléments disponibles donc du type d'alimentation des digesteurs anaérobies. Lorsqu'on observe la figure 3.2, on s'aperçoit que la DCOs a eu tendance à augmenter en moyenne de 106,5 % en 110 jours de traitement pour tous les traitements confondus. Cette accumulation de la DCOs peu importe le traitement démontre que les bactéries n'arrivent pas à maintenir une DCOs stable ou à la réduire avec le temps. Cette observation s'ajoute à l'information sur la faible productivité des digesteurs anaérobies de façon générale et confirme que les microorganismes ne se sont pas adaptés aux conditions de traitement. Tchobanoglous, Burton et Stensel (2003) décrivent bien le procédé de digestion anaérobie et des effets observés pendant la dégradation des matières organiques. Ils expliquent que lors de la solubilisation des particules solides, les substrats solubles viennent enrichir la phase liquide d'éléments (AGV, nutriments, etc.) et augmente la DCOs jusqu'à ce que les populations de microorganismes réduisent ces éléments ce qui a un effet réducteur sur la DCOs. Cette réduction est causée par la transformation des matières organiques solubles en

CH₄, CO₂ et autres gaz présents en de plus faibles proportions. La DCOs résiduelle sera en partie causée par les microorganismes inactifs ou morts et les substrats non dégradés. Elle ne semble pas être causée par les AGVt puisque ceux-ci demeurent bas dans cet essai du jour 23 au jour 58 et la DCOs continue d'augmenter suivant une tendance générale. D'autres phénomènes comme la vitesse de dégradation des différentes matières organiques rencontrées et les effets inhibiteurs de certains éléments présents (H₂, NH₃, acides) peuvent apparaître en cours de procédé et avoir une influence importante sur la cinétique du procédé. La vitesse d'élimination d'un substrat soluble (composé utilisé par les microorganismes) est fonction du taux de croissance des microorganismes et ce taux de croissance des microorganismes sera fonction de la concentration du substrat. La concentration de cellules mortes sera fonction de la concentration des microorganismes présents dans l'environnement (Tchobanoglous, Burton et Stensel, 2003).

La demande chimique en oxygène soluble (DCOs) et totale (DCOt) mesurées sur les digestats solides pendant toute la durée de l'expérience a été en moyenne 39,9 % et 35,3 % respectivement inférieure par rapport aux échantillons de fumier ayant servi à l'alimentation des digesteurs anaérobies (test de t, $P \leq 0,05$). La DCOs de la partie liquide des digesteurs anaérobies à deux étapes a été 53,0 % inférieure à la DCOs des déjections animales. Le traitement anaérobie a été faible comparativement à ce qui est attendu d'un traitement de digestion anaérobie, ces réductions sont donc dû en partie au traitement, mais également en partie par l'effet de dilution causé par un apport d'eau dans les digesteurs (6,2 L par digesteur, un ratio déjection : eau de 1,025 : 1,0) lors de l'expérience afin de faciliter le transfert de liquide entre les DAS et les DAL. Au début de l'expérience 4,5 L d'eau a été ajouté dans tous les digesteurs afin de faciliter l'écoulement du liquide des DAS aux DAL, ensuite de l'eau a été ajoutée à chaque digesteur lors de la prise d'échantillon, la quantité d'eau équivalait au

prélèvement de l'échantillon (100 mL). Les digesteurs anaérobies ont reçu les mêmes quantités d'eau, peu importe le traitement. La dilution seule apporte une réduction théorique de la DCOs de 52,1 % en moyenne. La méthode utilisée pour mesurer la DCOt par oxydoréduction au dichromate de potassium a été utilisée en préparant le matériel selon les dilutions recommandées. Cependant des écarts importants sur les résultats ont été observés avec un coefficient de variations entre 18,3 et 23,4 % pour les mesures de DCOt réalisées sur le fumier. Yadvika *et al.* (2006) ont proposé une méthode dérivée de la méthode standard numéro 5220D (Eaton *et al.*, 2005). Cette méthode est recommandée pour les échantillons qui contiennent plus de 14.0 g L⁻¹ et donne des valeurs de DCO plus élevées et une plus grande constance dans les résultats par rapport à la méthode standard. Cette méthode n'a pas été utilisée dans cet essai.

3.5.4 Évolution des AGV et du pH

Un problème est survenu avec le chromatographe et les analyses des AGV réalisées à partir du 53^{ième} jour n'étaient pas valides. Leurs résultats n'ont pas été traités ou analysés statistiquement à partir de cette période (figure 3.2). Les AGV mesurés sur les liquides se sont maintenus bas (AGVt < 140 mg L⁻¹) pendant la période d'alimentation. Pour la période mesurée (période d'alimentation), l'acide acétique et l'acide n butyrique mesurés sur les digesteurs anaérobies à deux étapes ont été en moyenne 39% et 75% moins élevés par rapport aux digesteurs anaérobies à une étape (test de t, $P \leq 0,05$). Des analyses réalisées sur des échantillons de la phase liquide des deux types de traitement ont permis d'observer que l'acide acétique, propionique, isobutyrique et n-butyrique ont été généralement plus faibles (55 %, 75 %, 46 %, 80 %) dans la phase liquide de la digestion anaérobie à deux étapes par rapport à la

phase liquide à une seule étape. Ces observations ainsi que la production plus élevée de méthane dans les digesteurs anaérobies en deux étapes permet de croire que les bactéries méthanogènes acétotrophes étaient supérieures soient en nombre ou en efficacité à transformer l'acétate en méthane dans les digesteurs anaérobies à deux étapes.

Le pH des digestats (phase solide et liquide) a été mesuré chaque semaine pendant l'expérience. Une baisse du pH au début de la période d'alimentation (20 premiers jours) a été suivie par une stabilisation pour ensuite augmenter de façon quasi constante pendant le reste de la période d'essai (figure 3.3). Après la deuxième semaine d'alimentation des digesteurs anaérobies, une diminution du pH des digesteurs anaérobies à une étape a été observée pendant 7 à 10 jours supplémentaires. Pendant cette période, une stabilisation du pH dans les digesteurs anaérobies en phase solide a été observée. Le pH des digesteurs anaérobies en phase liquide a augmenté légèrement (+ 0,2) pour se stabiliser à un pH moyen entre 6,5 et 6,6 pour une période de 7 semaines. Le pH est demeuré au-dessus de 6,2 pour toute la durée de l'expérience pour tous les traitements. Le pH des digesteurs anaérobies à une étape est demeuré inférieur en comparaison aux autres digesteurs à partir du début de la séparation des solides et des liquides dans les digesteurs. La phase liquide de la méthanisation en deux étapes a conservé un pH supérieur aux mesures pour la phase solide.

Selon Tchobanoglous, Burton et Stensel (2003), la méthanisation commence à être inhibée lorsque le pH descend sous 6,8. Pour Gerardi (2003), le pH optimal pour l'étape méthanogène se situe entre 6,8 et 7,2. La figure 3.3 montre que les digesteurs anaérobies ont eu un pH favorable ($> 6,8$) à partir du jour 85 pour les digesteurs anaérobies à deux étapes alors que les digesteurs anaérobies à une étape n'ont jamais atteint cette valeur. Ils sont demeurés pendant une longue période de temps (du

jour 15 au jour 60 après le début de l'expérience) en dessous d'un pH de 6,4. Les observations sur la production plus élevée de méthane observée dans les digesteurs anaérobies à deux étapes pourraient être expliquées par une plus grande efficacité des méthanogènes acétotrophes dans un milieu récepteur où le pH est plus près de la neutralité, phénomène observé dans l'environnement liquide du digesteur anaérobie en deux étapes et dans une moindre mesure sur le digesteur anaérobie solide.

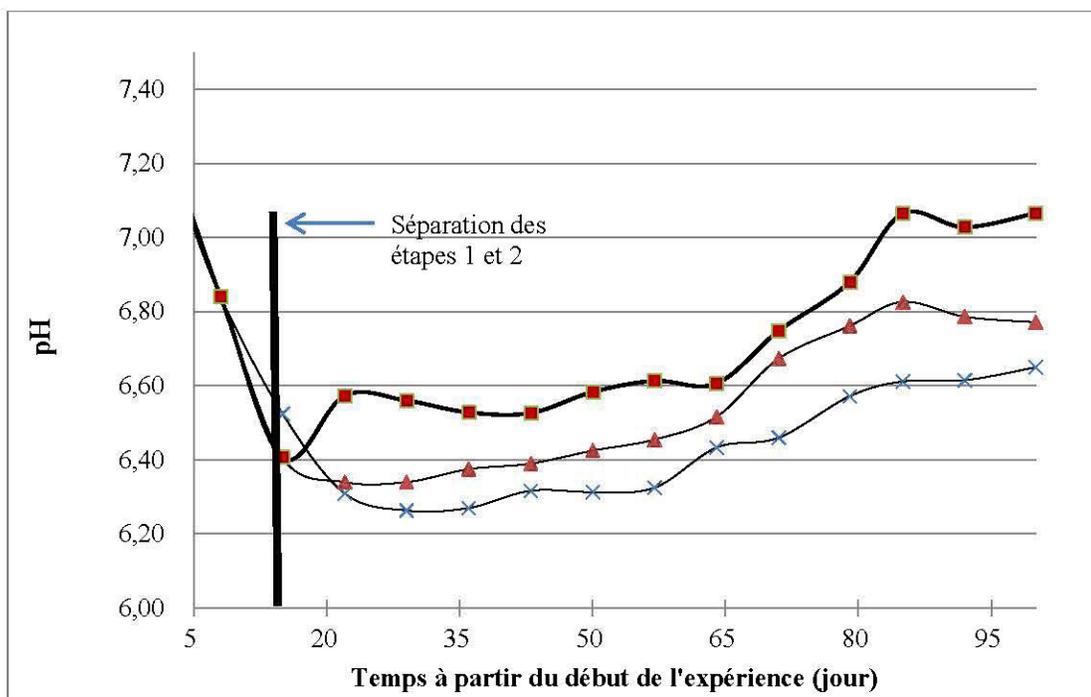


Figure 3.3 Graphique de l'évolution du pH pour chaque traitement et pour les phases solides et liquides du traitement en deux phases (-X- 1 étape, -▲- 2 étapes, phase solide, -■- 2 étapes, phase liquide)

Ce phénomène peut expliquer en partie la production plus élevée de méthane observée dans les digesteurs anaérobies à deux étapes en comparaison à celui à une étape. À l'aide des analyses ANOVA, on peut constater une différence significative du pH entre le digestat solide prélevé chaque semaine pour les deux types de traitement. En effet le pH sur les digesteurs anaérobies à deux étapes a été supérieur en moyenne de 0,12 au digestat à une étape pour les intervalles de temps analysés. Un lien entre la production cumulée de méthane et le pH mesuré sur le digestat a été observé tout au long de l'expérience (ANOVA, $P=0,0037$). Les analyses à l'aide de test ANOVA a permis d'observer une production de méthane quotidienne et cumulée supérieure dans la période d'alimentation lorsque le pH était inférieur à 6,5 alors que dans la période de réaction, les digesteurs avec un pH supérieur à 6,5 ont produit une quantité de méthane cumulée significativement supérieure aux digesteurs avec un pH inférieur à 6,5 (ANOVA, $P \leq 0,05$). Un pH plus faible pendant la période d'alimentation a pu être provoqué par l'apport hebdomadaire de substrat contenant des concentrations plus importantes d'AGVt, favorisant du même coup la production de méthane. Pendant la période de réaction, les particules solides, plus difficiles à dégrader, ont continué à se dégrader à une vitesse lente et relativement constante comme le démontre la production quotidienne de biométhane à la figure 3.2 et le pH aura été un indicateur d'une diminution des apports en éléments acidifiant et des conditions plus proches des conditions idéales pour l'étape méthanogène pendant cette période. L'absence de données sur les AGV pendant la période de réaction ne permet pas de commenter davantage ou de faire un constat sur les inhibitions possibles du procédé. Le pH n'est qu'un indicateur de la bonne marche du procédé et sans les autres mesures importantes comme les AGV, les informations sur le procédé sont très limitées.

Ahn *et al.* (2010) ont obtenu des rendements de $28 \pm 22 \text{ LCH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ avec du fumier de vache laitière à $55 \text{ }^\circ\text{C}$ après 64 jours de traitement. Selon les auteurs, les rendements auraient dû être plus élevés, les AGVt se sont accumulés de façon anormale et les digesteurs anaérobies ont fonctionné pendant la majorité de l'expérience à un pH près de 5,5, deux indices qui laissent croire que les bactéries n'étaient pas adaptées aux conditions de traitement. Les bactéries possèdent un pouvoir d'adaptation qui varie d'une espèce à l'autre. Vavilin *et al.* (2008) soulèvent les contradictions importantes qu'ils ont découvertes dans la littérature concernant l'inhibition causée par les AGV. Ils concluent qu'il est difficile de distinguer les effets inhibiteurs causés par le pH et les AGV. L'accumulation des AGV induit une diminution du pH, ce qui a un effet sur la vitesse de l'hydrolyse et le facteur inhibiteur dans ce cas est le pH. Selon ces auteurs, un gradient de pH autour des particules solides fausserait les mesures réalisées sur la masse du substrat et pourrait expliquer les contradictions retrouvées dans la littérature. Le mélange et l'homogénéisation des concentrations ainsi que la présence de biomasse méthanogène acétotrophe, même localisée dans des niches d'un même lot, seraient des facteurs qui affecteraient le taux d'hydrolyse selon les auteurs. Veeken *et al.*, (2000) ont découvert que le taux d'hydrolyse des particules dépendait du pH et moins des AGV totaux ou pris individuellement pour des concentrations de 3 à 30 gDCO L^{-1} de substrat. Les AGV ne permettent pas d'obtenir beaucoup d'informations sur le suivi du procédé de digestion anaérobie. Les mesures des AGVt prises pendant la période d'alimentation démontrent une faible concentration de façon générale ($<130 \text{ mg L}^{-1}$). Cette faible concentration d'AGV de façon générale peut être causée par un facteur limitant à l'étape de l'hydrolyse et une faible activité à l'étape acidogénèse réduisant du même coup les apports en acétate et en méthane.

Hobson (1983) décrivait la dégradation bactérienne des fibres dans le rumen des animaux d'abord par une colonisation des fibres par les microorganismes et ensuite par une dégradation des fibres à partir des surfaces endommagées et des fractures observées sur la fibre. Vavilin *et al.* (2008) justifient ce phénomène par la forme sigmoïde de la dégradation des matières organiques dans l'étape d'hydrolyse et suggèrent deux étapes pour ce processus distinct : une première étape de colonisation des particules où les bactéries coloniseront les matières organiques et produiront des enzymes permettant de libérer des monomères qui seront utilisés par les bactéries hydrolytiques et une seconde étape où la dégradation et la diffusion des substrats suivent une nouvelle vitesse d'hydrolyse et sont accompagnées d'une colonisation moins intensive des particules. Ce phénomène semble approprié pour décrire les observations réalisées dans cet essai. Veeken et Hamelers (1999) ont mesuré une énergie d'activation enzymatique 68,9 % inférieure lors de la diffusion des enzymes de la solution aux particules solides en comparaison à l'énergie d'activation de l'hydrolyse de ces solides. Cette période de colonisation pourrait expliquer la lenteur observée à cette étape importante de la digestion anaérobie des déchets solides et est en accord avec les observations faites par Pavlostathis et Giraldo-Gomez (1991) qui considèrent l'hydrolyse comme l'étape cinétique déterminante durant le procédé de digestion anaérobie de matières organiques solides.

Dans la présente étude, bien qu'il ait pu y avoir une inhibition par le pH, cette inhibition n'a pas été mesurée. Aucune accumulation d'AGV n'a été observée pendant les 58 premiers jours et la mesure du pH ne donne pas d'indices de changements évidents entre le jour 20 et le jour 65 (figure 3.3). Après le jour 65, le pH a progressé pour tous les traitements, cette observation ne peut s'expliquer sans d'autres mesures comme celles sur les AGV et le pouvoir tampon du substrat qui ont pu avoir une influence sur le pH (ex. bactéries hydrogénotrophes). Ces observations

amènent à croire que les AGV se dégradent suffisamment rapidement pour être bien contrôlés par les bactéries méthanogènes acétotrophes et les bactéries acétogènes. Les AGV peuvent être réduits rapidement, Sans *et al.* (1995) ont mesuré un temps de rétention de 6 jours pour dégrader les AGV dans un digesteur anaérobie mésophile sans recirculation des liquides alors que Rebac *et al.* (1997) ont mesuré la dégradation des AGV entre 5 et 10 jours dans un digesteur anaérobie psychrotrophe avec une recirculation des liquides. Il est probable que la fréquence d'échantillonnage (à chaque semaine) a été trop longue pour observer la dynamique des AGV et qu'il aurait fallu prendre des échantillons à une fréquence plus courte. Une accumulation de l' H_2 aurait dû avoir un effet sur le pH, mais le pouvoir tampon du milieu étant inconnu, il est impossible d'avoir un indice clair de son accumulation dans le système. Si l' H_2 contenu dans le biogaz avait été mesuré, il aurait été possible de vérifier un indice potentiel de son accumulation et ainsi obtenir un bilan de l'accumulation des substrats intermédiaires (AGV et H_2). En l'absence de ces informations, il est difficile de conclure sur la présence d'accumulation des substrats intermédiaire, les observations réalisées (AGV bas et $pH > 6,2$) portent à considérer davantage l'hydrolyse comme l'étape cinétique déterminante durant le procédé observé en présence d'un inoculum non adapté.

Il est difficile de prévoir la dynamique d'un digesteur anaérobie et plusieurs auteurs ont tenté de développer des modèles afin de mieux prédire et décrire les différents phénomènes qui se produisent dans les digesteurs anaérobies. Plusieurs modèles ont été décrits dans cette thèse. Le modèle réalisé par Pavlostathis et Gossett (1986) a été utilisé et expliqué dans la thèse de Massé (1995). Ce modèle suppose que le traitement de la digestion anaérobie est limité par deux procédés, la mort et la solubilisation des cellules et l'hydrolyse des composés organiques. La solubilisation des cellules est une étape moins limitative que l'hydrolyse ou encore les mécanismes

de conversion primaires parmi les étapes de dégradation des matières organiques. Ce modèle est basé sur des réactions en régime hydraulique constant. Le modèle tient compte d'un système dynamique basé sur un bilan de masse simple à partir de particules solides et solubles contenues dans le substrat et des interactions entre des populations microbiennes acidogènes et méthanogènes et leurs produits et substrats respectifs. C'est un modèle de diagnostic descriptif des phénomènes de dégradation des matières organiques par la digestion anaérobie. Le modèle a été développé pour prédire de façon simple, avec peu de paramètres cinétiques, le bilan de masse d'un procédé de digestion anaérobie par lot séquentiel. La simplification du modèle limite la précision des résultats et donne une description imprécise des différents phénomènes réactionnels rencontrés dans un digesteur anaérobie. Elle permet cependant de visualiser de façon simple les transformations biologiques des particules solides et solubles, des AGV et la production du méthane et des bactéries associées. Ce modèle réalise un bilan de masse pour les substrats particuliers, les produits intermédiaires (AGV) et le produit final et comme il n'y a pas de sortie de matériel digéré (lot séquentiel), le bilan peut s'écrire ainsi : $Accumulation = Entrée + Production - Utilisation$. Les équations ont été bien décrites dans les chapitres précédents. Cette section examine la précision que le modèle peut avoir à décrire la digestion anaérobie des déjections de bovin de boucherie utilisé. Les données expérimentales proviennent des résultats obtenus en faisant la moyenne de tous les digesteurs anaérobies pendant la durée de l'expérience. Les conditions du procédé sont décrites dans ce chapitre et les paramètres évalués ont été : la production de méthane quotidienne et cumulative, les AGV totaux et la DCOs. Le modèle a été écrit en langage Stella (isee systems, V.10.0.5). L'échelle des paramètres qui a été utilisée est décrite au tableau 3.3 et les paramètres utilisés par Massé (1995) ont été utilisés au départ pour la simulation. Les constantes dynamiques ont été modifiées jusqu'à l'obtention de la plus faible différence entre les paramètres

modélisés et les paramètres simulés. La plus faible différence a été réalisée d'abord de façon visuelle à l'aide des graphiques produits par les résultats mesurés et les résultats simulés et ensuite par calcul à partir de la racine de la moyenne des carrés sur l'erreur (équation 5.1) où la valeur la plus faible obtenue par itération a été retenue. La simulation d'une alimentation en continu équivalant à l'alimentation des digesteurs anaérobies pendant l'expérience a d'abord été utilisée. Ceci afin de se rapprocher le plus près possible des résultats de l'expérience.

Tableau 3.3 Échelle des paramètres utilisés pour vérifier le modèle de Massé(1995)

Constantes	Échelle de paramétrisation		unité
	Acidogènes	Méthanogènes	
$V_{\max i}$	0,001 - 0,8	0,1 - 5,0	$\text{mg mg}^{-1} \text{ j}^{-1}$
K_s	100 - 2500	500 - 5000	mg L^{-1}
Y_i	0,01 - 0,25	0,01 - 0,20	mg mg^{-1}
k_{di}	0,0005 - 0,04	0,0005 - 0,04	j^{-1}
K_p	0,001 - 0,012		j^{-1}

$$\sigma = \sqrt{\frac{(\text{Valeurs simulées} - \text{Valeurs mesurées})^2}{n}} \quad \text{Éq. 3.1}$$

σ = erreur sur l'estimation

n = nombre de valeurs estimées

Le modèle a permis de trouver les constantes qui se rapprochaient le plus des résultats mesurés pendant l'essai. Comme l'alimentation des digesteurs anaérobies était sur

une base hebdomadaire, le modèle a ensuite été modifié en utilisant ces constantes et en introduisant une alimentation des déjections animales au modèle à une fréquence de 7 jours. La figure 3.4 montre les résultats de la modélisation avec les paramètres ayant donné les meilleurs résultats. Les valeurs les plus sensibles mesurées sont le taux d'utilisation du substrat (V_{maxm}) par les bactéries méthanogènes et le taux de solubilisation du substrat (K_p). Comme les déjections animales contiennent des quantités plus ou moins importantes de bactéries acidogènes et méthanogènes, leurs quantités ont été modifiées afin de vérifier la sensibilité de ces facteurs sur les résultats obtenus. Le modèle est moins sensible aux quantités de bactéries acidogènes contenues dans les déjections animales par rapport aux quantités de bactéries méthanogènes.

3.5.5 Les microorganismes pathogènes

Au cours de la digestion anaérobie les CT et les SF présents dans le fumier de bovin ont été significativement différents des comptages réalisés dans le digestat solide entre le début de l'essai et le 100^{ième} jour de l'essai (figure 3.5). La diminution a été de respectivement 92,3 % et 98,5 % sur une période de 100 jours (test de t, $P \leq 0,10$). Les CT ont également inférieur de 95,0 % dans les digestats liquides alors que la population de bactéries du genre EC était 47,3 % supérieure dans ces digestats (liquide) par rapport au fumier (test de t, $P < 0,05$). Le comptage se basait sur leur quantité en nombre le plus probable par 100 mL de substrat (NPP 100 mL⁻¹). La période de traitement et le temps de traitement sont les deux facteurs qui expliquent la diminution des bactéries pathogènes. À l'aide d'analyses sur les variances, une diminution significative (6 log) entre la période d'alimentation et la période de réaction pour ce qui est du NPP de CT dénombré pendant ces deux périodes

(ANOVA, $P=0,01195$) a été évaluée. Les autres paramètres évalués lors de cette expérience (traitement et pH) n'ont pas permis d'observer de relation.

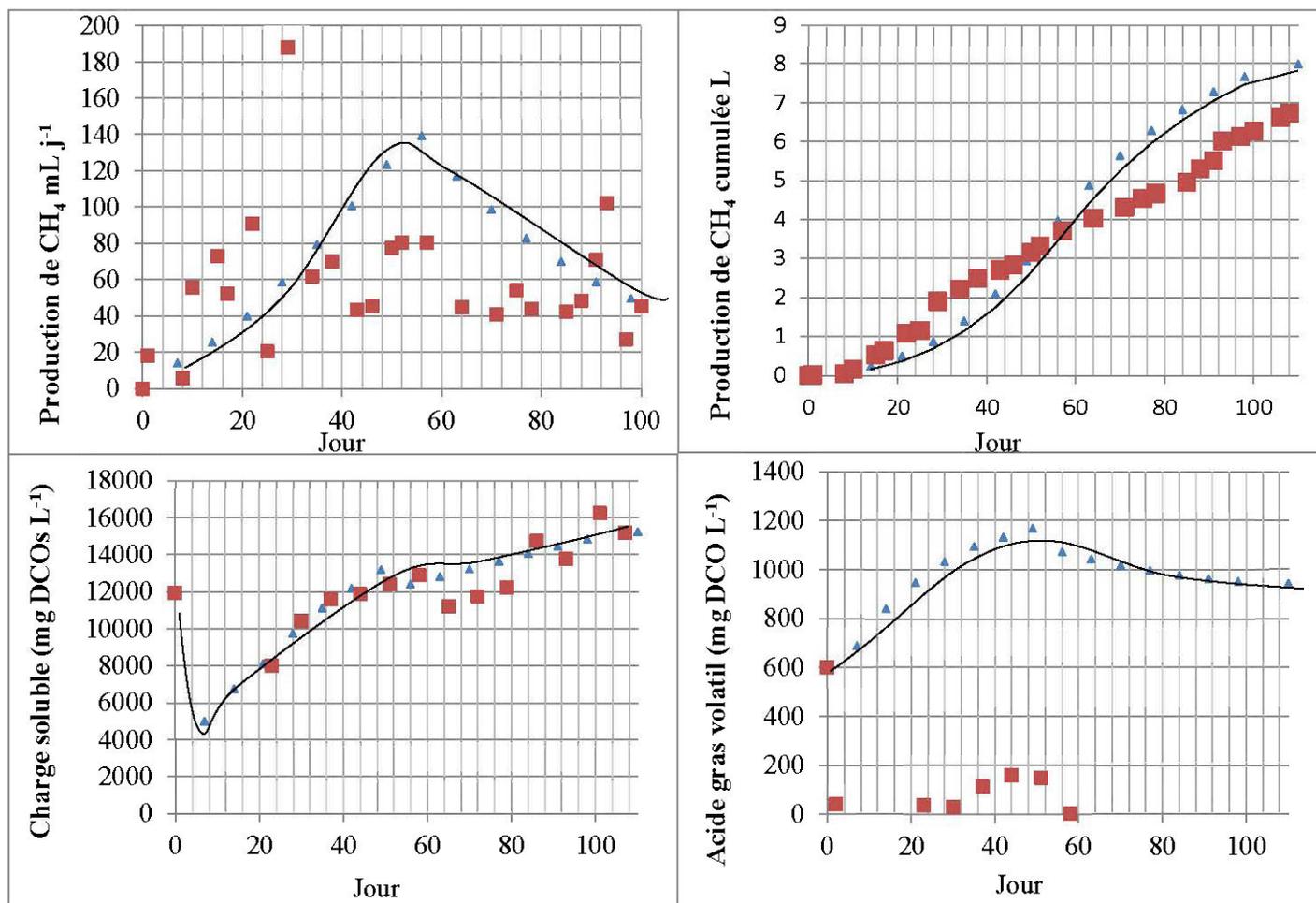


Figure 3.4 Graphiques de la production de méthane, de la DCOs et des AGVt (-▲- simulé, -■-mesuré)

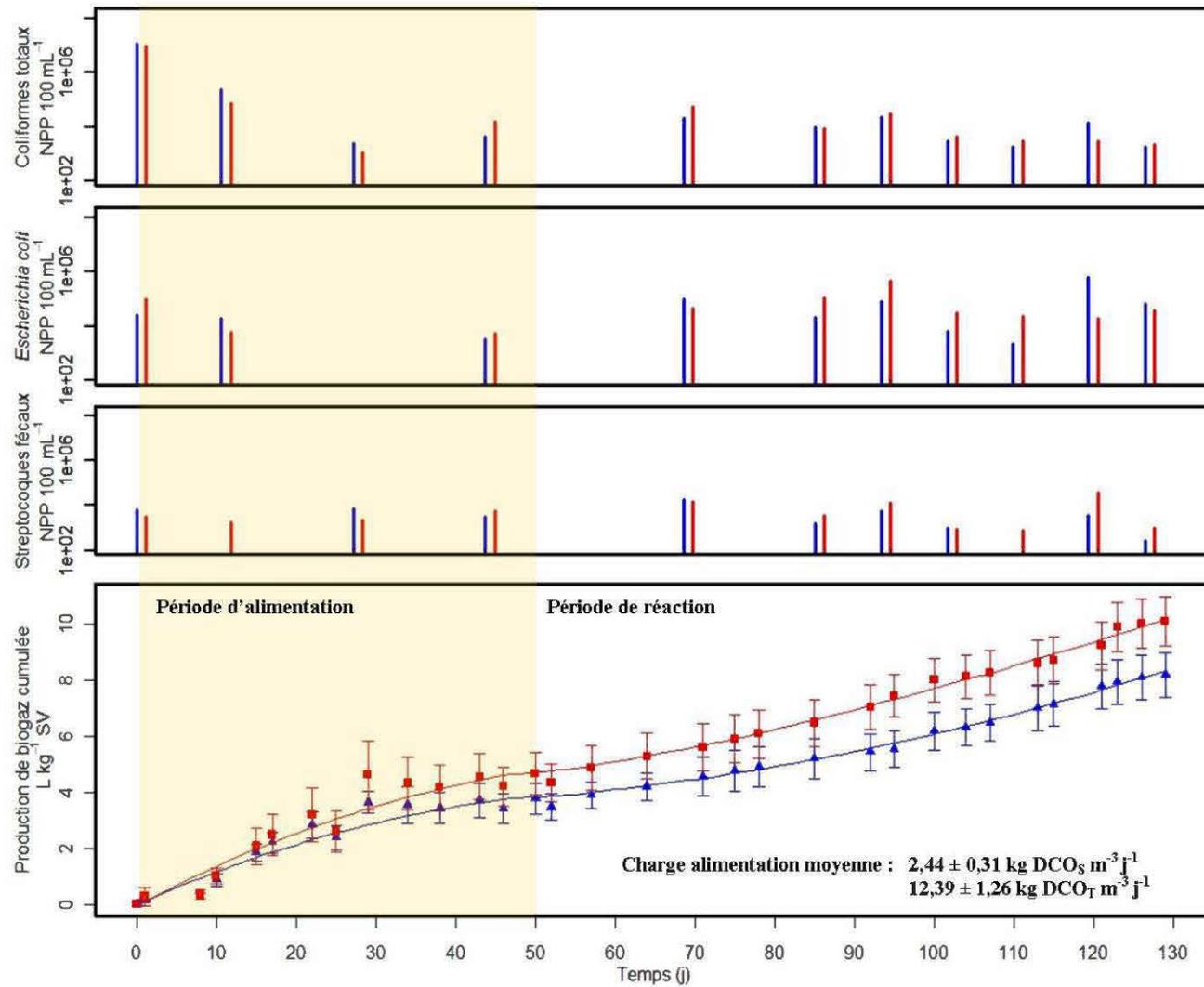


Figure 3.5 Production cumulée du biogaz (-▲- 1 étape et -■- 2 étapes) et dénombrement des bactéries pathogènes

Le type d'alimentation peut être un paramètre explicatif de la réduction des bactéries pathogènes (Sahlstrom, 2003). Kearney, Larkin et Levett (1993) ont observé un plus grand déclin des bactéries vivantes *Escherichia coli* et *Yersinia enterocolitica* dans les digesteurs anaérobies en discontinu plutôt qu'en continu. Peu importe le mode d'opération, la période d'alimentation correspond à un apport continu de nouvelles bactéries. L'expérience n'avait pas pour but de vérifier l'influence du type d'alimentation et ce paramètre n'a pas fait l'objet d'un contrôle particulier. L'alimentation des digesteurs anaérobies a été réalisée en mode discontinu à une fréquence d'une fois par semaine pendant 8 semaines. Le prélèvement des échantillons de digestat se réalisait à chaque semaine avant l'alimentation des digesteurs anaérobies. Dans les travaux de Rivard *et al.* (1993), le dénombrement des bactéries totales contenues dans un DAS (21,5 % ST à l'effluent) était inférieur à celui d'un DAL (7,3 % ST à l'effluent) opérant avec le même substrat à une température de 37 °C. Les chercheurs n'avaient pas d'explication pour justifier ce phénomène. Dans une autre recherche sur la digestion anaérobie, les chercheurs ont dénombré cinq espèces de bactéries (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* et *Campylobacter jejuni*) dans le digestat après avoir séparé ce dernier en une phase solide et une phase liquide. Les résultats révélaient que les écarts entre les dénombrements des mêmes espèces entre les deux phases variaient en fonction des espèces et que l'écart-type était élevé pour tous les résultats (Kearney, Larkin et Levett, 1993).

La température est un paramètre expliquant la réduction des pathogènes dans les digesteurs anaérobies (Sahlstrom, 2003). Le taux de diminution des bactéries pathogènes peut être accéléré par la température du traitement. Il a été démontré dans un digesteur anaérobie thermophile (55 °C), que le temps requis pour diminuer la population de microorganismes pathogènes de 90% (T90) est atteint en 24 heures (Plym-Forsshell, 1995) alors qu'un digesteur anaérobie mésophile prendra quelques

semaines, voire quelques mois, pour diminuer les bactéries pathogènes d'une unité logarithmique (Olsen, Jorgensen et Nansen, 1985; Plym-Forshell, 1995).

Rosso *et al.* (1995) expliquent la variation de la croissance des bactéries par une forte corrélation de l'effet combiné de la température et du pH. Le modèle développé par ces chercheurs a été validé pour la bactérie EC à partir des conditions de croissance optimale et minimale de cette bactérie. Les résultats de leur modèle permettent de croire que le gradient de pH mesuré tout au long de l'essai entre les deux types de digestion (1 étape et 2 étapes) pourrait avoir favorisé la croissance de EC surtout dans la phase liquide où le pH s'est approché plus rapidement du pH optimal (7,2) pour cette bactérie. Ces informations permettent difficilement de tirer des conclusions sur les résultats obtenus et même si le pH a pu favoriser la croissance de EC dans la phase liquide des digesteurs anaérobies à 2 étapes d'autres recherches seraient nécessaires afin de confirmer cette observation puisque les conditions de croissance dans les digesteurs anaérobies sont altérées par d'autres facteurs (inhibition, compétition entre les espèces, disponibilité des nutriments). D'ailleurs peu d'articles font état d'un dénombrement microbien à partir du substrat et de l'inoculum dans les études. Par exemple, dans l'étude de Le Hyaric *et al.* (2011), les auteurs n'ont pas tenu compte de la quantité de microorganismes présents dans les digesteurs anaérobies pendant les expériences. Le traitement utilisé par les auteurs pour réduire la teneur en eau (déshydratation à 105 °C sur une partie de l'inoculum) a pu avoir une influence sur la quantité de biogaz produite pendant le cycle en éliminant une partie des microorganismes présents dans l'inoculum. D'autres chercheurs ont repris ce genre d'étude en portant une attention particulière à la quantité de microorganismes présents. Par exemple Abbassi-Guendouz *et al.* (2012) fixent le ratio substrat : inoculum à 20 dans leur étude et font varier la quantité d'eau distillée afin de contrôler les quantités de microorganismes apportées par chacune des composantes.

Ce type de contrôle permet d'assurer une plus grande homogénéité au démarrage des traitements et conséquemment une diminution du risque de biais pendant les expériences en laboratoire.

3.6 Conclusion du chapitre III

La séparation de la digestion anaérobie en deux étapes n'a pas permis un démarrage complet de la digestion anaérobie des déjections de bovin riches en fibre lignocellulosique qui ont servi pour l'expérience. La séparation de la digestion anaérobie en deux étapes de procédé a permis de mesurer une augmentation de la production de méthane de 27,2 % en moyenne pour la durée de l'expérience et une production quotidienne de biogaz en moyenne 18,7% plus élevée sur une base volumique.

Les digesteurs anaérobies ont produit en moyenne 6,50 et 8,26 L CH₄ kg⁻¹ SV_{Alimenté} respectivement pour les digesteurs à une et deux étapes sur cent jours. Les digesteurs anaérobies à deux étapes ont conservé un pH plus favorable pour la méthanisation en comparaison aux digesteurs anaérobies à une étape puisque l'étape hydrolyse-acétogénèse a eu un pH inférieur à l'étape méthanogénèse pour toute la durée de la séparation des phases. En divisant la digestion anaérobie en deux étapes, on a ainsi pu favoriser des conditions et un environnement propice à des microorganismes spécialisés pour chacune des étapes de la digestion anaérobie.

La production de méthane est faible en comparaison au potentiel méthanier des déjections de bovin mesuré dans des recherches précédentes. Aucune donnée publiée à notre connaissance n'a été répertoriée avec un fumier traité à des températures psychrotrophes et contenant une quantité de fibres lignocellulosiques aussi élevée

(71,08 % ST). La teneur en solides totaux du mélange de substrats est demeurée entre 14,7 % et 18,3% de ST (base humide) dans le digesteur solide pour les digesteurs à deux étapes, alors que la teneur en solides totaux des digesteurs à une étape s'est maintenue entre 7,0 % et 7,8 %. Des chercheurs ont mesuré une diminution de la production de méthane alors que la teneur en ST devenait supérieure à 9,9%. D'autres études à l'aide d'inoculum adapté seraient intéressantes. La lignine n'est pas dégradée en milieu anaérobie alors que les autres fibres (cellulose et hémicellulose) le sont. Des recherches sur la vitesse de leur dégradation à l'aide de fibre pure et naturelle pourraient offrir de précieux renseignements sur le potentiel à dégrader ce matériel récalcitrant en milieu anaérobie psychrotrophe et l'efficacité des bactéries à dégrader ces types de fibres en fonction de leur nature ou origine. La production cumulée de méthane suggère que la dégradation du substrat de fumier solide de bovin de boucherie n'était pas complétée après 100 jours de traitement puisque le volume de biogaz cumulé aurait alors atteint un plateau.

Le ratio $\text{NH}_4^+ : \text{N}$ a été de 51,6 % supérieure dans le digestat liquide par rapport au digestat solide alors que la teneur en azote total n'était pas différente entre les deux phases étudiées. Le contenu en phosphore et en potassium était supérieur dans le digestat solide par rapport au digestat liquide de respectivement 51,7% et 59,5% (phase solide) sur une base de solides totaux, alors que le calcium et le magnésium étaient supérieurs de respectivement 50,8 % et 116,9 % dans la phase liquide sur la base des solides totaux contenus dans le liquide. Il serait ainsi possible d'obtenir deux fertilisants : un premier amendement contenant une importante quantité de matières organiques stables et riche en phosphore et un second amendement plus riche en azote ammoniacal. Ces deux types de fertilisants peuvent être appliqués à des périodes où les besoins des plantes sont adaptés aux formes d'azote contenues dans le fertilisant (azote minéral ou organique). Cependant ces données devraient être

validées par un procédé avec un inoculum adapté à la digestion anaérobie des substrats solides à traiter.

La digestion anaérobie a permis de réduire de façon significative les bactéries coliformes totaux (-92,3 %) ainsi que le nombre de streptocoques fécaux (-98,5 %) contenus dans le fumier solide de bovin de boucherie. Elle n'a pas permis de conclure à des différences entre les deux traitements de l'expérience. La période de traitement (alimentation, réaction) et le temps de traitement sont des facteurs qui peuvent expliquer la diminution des bactéries pathogènes. À l'aide d'analyses sur les variances, une diminution significative (6 log) entre la période d'alimentation et la période de réaction pour ce qui est du NPP de CT dénombré pendant ces deux périodes (ANOVA, $P=0,0120$) a été observée. La période d'alimentation est une période à laquelle on ajoute à une fréquence hebdomadaire des microorganismes pathogènes aux digesteurs anaérobies. Les autres paramètres évalués lors de cet essai (traitement et pH) n'ont pas permis d'observer de relation.

CHAPITRE IV

LE POTENTIEL BIOMÉTHANIER DE TROIS TYPES DE LITIÈRES AVEC UN INOCULUM NON ADAPTÉ : INFLUENCE DES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES À UNE TEMPÉRATURE PSYCHROTROPHE DE 20 °C

4.1 Résumé

Dans le domaine agricole, la technologie de la DAS est peu présente à l'échelle commerciale, seuls quelques prototypes à l'échelle de la ferme ont été testés en Europe et en Asie (Schäfer, Lehto et Teye, 2006; Muller, 2007). Les élevages sur litières et l'introduction de déchets de culture favoriseraient un intérêt plus grand de la part des fermes d'élevage et de grandes cultures pour cette technologie comme type de traitement afin d'améliorer leur bilan environnemental et produire de l'énergie renouvelable. Les essais réalisés sur la DAS sont faits avec parcimonie en milieu agricole et les faisabilités techniques et économiques n'ont pas été démontrées à des températures ambiantes ($\approx 20\text{ °C}$). Afin de mieux connaître la digestion anaérobie psychrotrophe de matériel récalcitrant (difficile à dégrader, tel que les matières lignocellulosiques) à la digestion anaérobie en milieu agricole, trois mélanges de litière (bois, paille d'avoine et mousse de sphaigne) ont été testés à l'aide de digesteurs anaérobies sous condition de température psychrotrophe. L'essai a été réalisé en mélangeant les litières selon un ratio pondéral de 1:1 pour les mélanges de deux litières et de 1:1:1 pour le mélange de trois litières à un inoculum non adapté à dégrader ces substrats. Les digesteurs anaérobies ont été alimentés de façon hebdomadaire par l'équivalent quotidiennement de $1,12 \pm 0,12\text{ g SV L}^{-1}$ pendant une période de 14 jours. La température ainsi que la production de biogaz ont été

mesurées en continu tout au long de l'expérience. Les quantités de gaz CH₄ et CO₂ dans le biogaz, ainsi que les acides gras volatils et le pH ont été mesurés à chaque semaine sur l'inoculum, le substrat et le digestat. Le contenu en fibres (cellulose, hémicellulose et lignine), l'azote total, l'azote ammoniacal, le phosphore, le potassium, le calcium et le magnésium ont été mesurés sur des échantillons représentatifs à différentes périodes de l'expérience sur l'inoculum, le fumier et le digestat (solide et liquide). Le potentiel biométhanier calculé après 100 jours de traitement à partir des courbes de méthane cumulé produites a été de 15,15 L CH₄ kg⁻¹ SV pour le fumier sans litière, 41,27 L CH₄ kg⁻¹ SV pour le mélange paille-mousse de sphaigne et 11,04 L CH₄ kg⁻¹ SV pour le mélange de litière bois : mousse de sphaigne. Les autres mélanges n'ont pas permis de calculer ce potentiel. Après 51 jours de traitement, les digesteurs anaérobies contenant plus de 12 mg de N total g⁻¹ SV ont produit 34,80% plus de méthane que les digesteurs anaérobies en contenant moins.

4.2 Introduction

Les litières ont comme rôle principal d'assurer le confort et un environnement propre et sain pour les animaux. Leur principale propriété est d'absorber différents liquides qui peuvent s'écouler du fumier. Les quantités de litière utilisées pour permettre une manutention (solide, semi-liquide, liquide) influencent la texture du mélange de déjections animales. Les litières les plus fréquemment utilisées au Canada sont les pailles de céréales, les résidus de bois (sciure, copeaux ou écorce) et la mousse de sphaigne. La paille de céréale est en majorité utilisée par les éleveurs pour des raisons de disponibilité (produite souvent à la ferme) et d'économie. Les résidus de bois ont été utilisés de façon plus importante dans le passé, mais depuis l'avènement d'usines de cogénération dans l'industrie de la transformation du bois et d'une plus grande exportation des résidus du bois sous forme de granules et de bûches, l'utilisation de

ce type de litière est en diminution dans plusieurs régions du Canada. La mousse de sphaigne est utilisée chez certains éleveurs situés à proximité de tourbières, mais son utilisation est plus rare au Canada.

Certains substrats d'intérêt pour la digestion anaérobie diffèrent grandement par rapport à leur composition. Un substrat tel que le lisier de porc contient de grandes quantités de matières facilement dégradables alors que d'autres (ex. la paille de blé) sont composés principalement de matières organiques structurales (cellulose, hémicellulose et lignine) plus difficiles à dégrader (Chandler, Jewell et Gossett, 1980). En digestion anaérobie, on s'intéresse depuis peu aux matières organiques plus difficiles à dégrader. Cet intérêt vient principalement de l'industrie qui envisage de plus en plus la codigestion des fumiers avec d'autres produits issus de l'agriculture (pailles de céréales, ensilage d'herbe, etc.) ou encore des déchets industriels et municipaux contenant des niveaux importants de matériaux lignocellulosiques (Klimiuk *et al.*, 2010) ce qui réduit le taux de dégradation par les microorganismes.

L'utilisation de litière influence les caractéristiques physico-chimiques du fumier (mélange litière-déjection animale). La plupart des litières utilisées en agriculture contiennent de grandes quantités de fibres (cellulose, hémicellulose et lignine). La cellulose est un polymère de glucose ($C_6H_{10}O_5$). L'hémicellulose ($C_5H_8O_4$) est un polymère composé de différents types de sucres et fait le pont entre les chaînes de cellulose. La lignine est également un polymère, mais de composés d'origine phénolique, dont la structure chimique exacte est mal connue, seuls des études sur la réactivité et les sous-produits de sa dégradation ont révélé, par spectroscopie, la composition chimique de certains de ses sous-produits (Triolo *et al.*, 2011). Le contenu en fibres et plus spécifiquement le contenu en lignine des substrats dégradés par la digestion anaérobie semblent être un facteur déterminant sur la production de méthane (Chandler, Jewell et Gossett, 1980; Triolo *et al.*, 2011).

La DAS comporte certains avantages lorsqu'elle est comparée à la digestion anaérobie liquide, elle exige par exemple des volumes de réservoir plus faibles, moins d'énergie pour contrôler la température du traitement, des coûts de manutention des substrats et digestats réduits et peu d'énergie requise pour mélanger les substrats. La DAS est réputée offrir un procédé stable, fiable, sans problèmes de production de mousse, de sédimentation, économique par rapport aux investissements pour la construction (Schäfer, Lehto et Teye, 2006). De plus, elle permet l'utilisation des mêmes équipements de ferme utilisés normalement pour l'alimentation et la reprise, une réduction des émissions d'odeur et une réduction des émissions de nutriment dans l'environnement par ruissellement principalement lors de l'entreposage et de l'épandage. Elle peut ainsi être utilisée sur des fermes d'élevage sur litière (Schäfer, Lehto et Teye, 2006).

La paille est considérée comme un matériel lignocellulosique qui peut être avantageusement utilisé dans les digesteurs anaérobies afin de produire du méthane. Son rendement méthanier se situe entre 175 et 195 L CH₄ kg⁻¹ SV (Møller, Sommer et Ahring, 2004; Chandra, Takeuchi et Hasegawa, 2012) à une température mésophile. Différentes recherches ont étudié la biométhanisation de matériel lignocellulosique dont certains types de bois. Ils ont obtenu des rendements méthaniers spécifiques à des températures mésophiles entre 42 et 320 L CH₄ kg⁻¹ SV respectivement pour le sapin du Colorado et le peuplier hybride (Chynoweth, Jerger et Srivastava, 1985; Tong, Smith et McCarty, 1990; Turick *et al.*, 1991). La mousse de sphaigne a fait l'objet de peu de recherches en digestion anaérobie dans le but d'évaluer son potentiel biométhanier (Ghosh et Klass, 1978a; Hartung, 1992). Chen, Chang et Ye, (2011) ont découvert que l'ajout de mousse de sphaigne entre 25 et 55 % sur une base massique à la paille de riz augmentait la production de méthane de 12,15 % à 5,19 % respectivement avec une production maximale avec 40 % d'ajout de mousse de sphaigne (13,29 % d'augmentation de biogaz produit). La digestion anaérobie était réalisée à une température mésophile de 35 °C avec une charge en

solides totaux contrôlée à 8% dans de substrat ajouté. Selon ces auteurs, l'amélioration de la production de biogaz peut-être le résultat d'un échange synergétique entre la mousse de sphaigne et la paille de riz durant le procédé de codigestion, en apportant une partie des nutriments essentiels et en diluant les effets inhibiteurs de certains composés présents dans les substrats.

Peu de recherches existent sur la DAS à des températures psychrotrophes ($\approx 20\text{ }^{\circ}\text{C}$) pour les trois types de litières testés. Les différentes litières utilisées en agriculture peuvent influencer la production de biogaz dans les digesteurs anaérobies (Banks, 2004; Triolo *et al.*, 2011). La modification des propriétés physico-chimiques de la litière modifie la vitesse de dégradation des matières organiques et peut influencer la production du méthane dans un digesteur anaérobie.

4.3 Objectifs spécifiques

L'objectif de cette recherche était d'augmenter nos connaissances sur la DAS, à des températures psychrotrophes, de litières utilisées en agriculture. Trois mélanges de litière ont été testés à l'aide de digesteurs anaérobies et alimentés par lot séquentiel en mode discontinu, en deux étapes, à une température de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Les trois types de litières ont été mélangés à différents ratios et ont été comparés. L'inoculum utilisé avait d'abord servi à traiter des déjections de bovin de boucherie et n'a pas été adapté pour traiter les différents substrats de litières. Les paramètres physico-chimiques mesurés ont été analysés afin de tenter d'expliquer les variations dans la production quotidienne et cumulée du méthane observées pendant les 100 jours de traitement. Cet essai visait aussi à améliorer nos connaissances sur la digestion anaérobie en deux étapes distinctes ou les matières solides et liquides sont traitées dans deux réservoirs séparés.

4.4 Matériel et méthodes

4.4.1 Description du dispositif expérimental

L'expérience sur les litières a été réalisée à l'aide de digesteurs anaérobies en deux étapes (solide, liquide), en mode intermittent par lot successif. Ces digesteurs anaérobies ont une capacité volumique moyenne de 18,3 L et un volume utile de 15,0 L. Ces digesteurs sont décrits au chapitre II.

L'inoculum utilisé pour cet essai provient du liquide du rumen d'un bœuf et d'un orignal qui a fait l'objet d'essai d'adaptation à la digestion anaérobie psychrotrophe des déchets solides de déjections de bovin (essai 1, chapitre II). L'inoculum a été cultivé initialement à une température de 37 °C et ensuite adapté en abaissant la température par strate de 4 °C jusqu'à la température de 20 °C. L'inoculum a été mélangé de façon uniforme avant d'être introduit en quantité égale ($1100,2 \pm 0,2$ g base humide) dans chacun des DAS. Les digesteurs ont ensuite dégradé des déjections de bovin de boucherie riches en fibres lignocellulosiques ($71,08 \pm 1,31$ % de fibre NDF sur une base de ST).

Les douze (12) digesteurs anaérobies ont été alimentés à l'aide de quatre mélanges de litière sans ajout de fumier : bois, mousse de sphaigne (BM), bois, paille (BP), paille, mousse de sphaigne (PM), et bois, mousse de sphaigne, paille (BMP) et mélangés à des intervalles de 7 à 22 jours (figure 4.1).

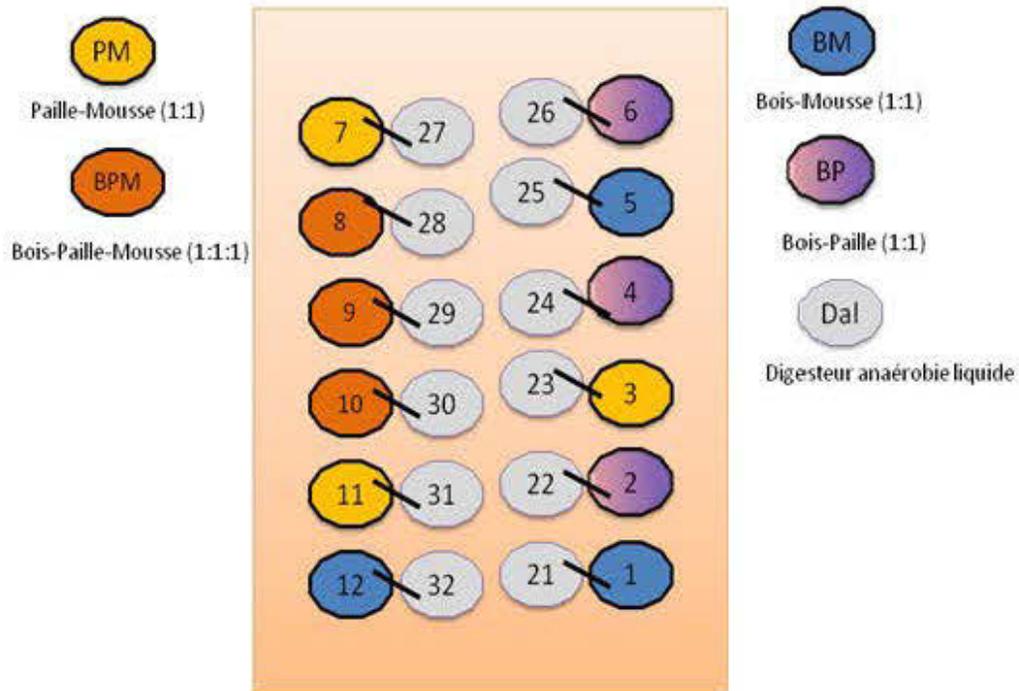


Figure 4.1 Dispositif expérimental de l'essai

Cette opération de mélange du substrat était réalisée en introduisant de l'azote (Linde, Canada) à la base des digesteurs anaérobies à une pression de 34,5 kPa (5 psig) pendant une période de dix secondes. Une fois cette opération complétée dans le DAS, le liquide libre était transféré dans le digesteur DAL associé à chacun des DAS par inversion de la pression des gaz à l'aide d'azote en maintenant la valve de sortie de digestat ouverte. Le reste du liquide percolait lentement au bas du digesteur. Les digesteurs anaérobies ont été maintenus à une température de $20,1 \pm 0,4$ °C pendant toute la période de l'expérience. Les essais ont été réalisés en triplicata. Les digesteurs anaérobies ont été alimentés à deux reprises à un intervalle de 14 jours avec des quantités entre 753,5 g et 1229,1 g de litières au total (base anhydre) selon le mélange utilisé. Après introduction du substrat, ceux-ci étaient inondés pendant

quelques minutes par les liquides du digesteur DAL. La digestion anaérobie a été suivie pendant 100 jours. Les ratios massiques (base humide) qui ont été utilisés pour le mélange de litière sont : ratio 1:1 pour les mélanges de deux litières et ratio 1:1:1 pour le traitement constitué du mélange des trois litières (tableau 4.1). Les litières ont été broyées à l'aide d'un broyeur à couteaux (Thomas-Wiley, Model 4) et réduites à 2 mm de diamètre maximal. Les litières ont été utilisées à leur teneur en eau naturelle (Bois : 8,0 %, mousse de sphaigne : 41,8 %, paille : 16,9 %). La litière de bois utilisée est une litière commercialisée sous forme de granules (Granules LG inc.) constituée à partir de deux sources ligneuses, soit l'épinette noire et le pin gris. La mousse de sphaigne provient d'un distributeur horticole commercial (Fafard et Frères Ltée). La paille est une paille d'avoine prélevée directement chez un producteur de cultures mixtes (Ferme du Centaure sep) à partir d'une balle pressée de 12 kg.

4.4.2 Échantillonnage et analyse chimique

La période d'alimentation à l'aide du mélange de litières s'est échelonnée sur 14 jours, soit au jour 0 et au jour 14, et la période de réaction sur 86 jours (figure 4.2). Chaque jour où les digesteurs anaérobies étaient alimentés ou mélangés, un échantillon de digestat était prélevé pour chacun des digesteurs anaérobies après avoir réalisé l'opération de mélange. Un échantillon de digestat a été prélevé avant et pendant la période d'alimentation et de réaction des digesteurs anaérobies. Les digesteurs anaérobies ont été mélangés et échantillonnés à trois reprises pendant la période d'alimentation (jours 12, 19 et 26) et à quatre reprises pendant la période de réaction (jours 43, 55, 68 et 107). Lors des prélèvements, un volume de 500 mL à 1000 mL de digestat était d'abord prélevé et homogénéisé, puis un échantillon de 50 mL représentatif du mélange était alors prélevé pour les analyses.

Tableau 4.1 Alimentation des DAS pour les différents mélanges de litières

Digesteur anaérobie	Alimentation g (base humide)					
	Date	Bois	Mousse de sphaigne	Paille d'avoine	Sous-total	Total
1	2010-07-12	221,1	271,3		492,4	
	2010-07-26	246,1	293,3		539,5	1031,8
2	2010-07-12	229,6		270,4	500,0	
	2010-07-26	244,7		297,3	542,0	1042,0
3	2010-07-12		284,9	272,1	557,0	
	2010-07-26		294,4	292,2	586,5	1143,5
4	2010-07-12	233,6		285,1	518,7	
	2010-07-26	245,5		294,7	540,2	1059,0
5	2010-07-12	215,2	273,9		489,1	
	2010-07-26	247,2	290,2		537,4	1026,5
6	2010-07-12	229,7		284,4	514,1	
	2010-07-26	243,6		289,0	532,6	1046,7
7	2010-07-12		277,9	281,9	559,8	
	2010-07-26		295,1	294,1	589,2	1149,0
8	2010-07-12	233,9	276,5	279,4	789,7	
	2010-07-26	246,8	293,7	293,1	833,6	1623,3
9	2010-07-12	240,1	281,2	271,3	792,6	
	2010-07-26	243,1	290,2	286,1	819,3	1612,0
10	2010-07-12	238,8	281,7	269,5	790,0	
	2010-07-26	241,7	298,9	284,4	824,9	1614,9
11	2010-07-12		278,0	276,3	554,4	
	2010-07-26		296,6	290,4	587,0	1141,4
12	2010-07-12	234,8	282,1		516,9	
	2010-07-26	240,8	293,2		534,0	1050,9

Les caractéristiques chimiques des litières et des digestats (solide et liquide) ont été analysées (tableau 4.2). Les solides totaux ont été mesurés, sur des échantillons représentatifs de l'inoculum, des litières et des digestats, par séchage à l'étuve à une température de 105 °C jusqu'à un poids stabilisé et suivant la méthode standard

numéro 2540B (Eaton *et al.*, 2005). Le poids perdu a servi à établir la teneur en eau des échantillons de substrats et des matières organiques dégradées.

Les solides volatils ont été mesurés sur des échantillons représentatifs de l'inoculum, des litières et des digestats (solide et liquide) au jour 0 et après 100 jours de traitement à la fin de l'essai. Les analyses de solides volatils ont été réalisées par un laboratoire certifié du Québec (Agri-direct).

La demande chimique en oxygène (DCO) a été évaluée par la méthode d'oxydoréduction au dichromate de potassium et colorimétrie décrite au chapitre II.

Le pH a été mesuré sur le digestat liquide, après chaque mélange des digesteurs anaérobies. Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Denver Instrument, modèle UB-10). Le pH était mesuré avant de remettre les surplus de l'échantillon, par la valve d'entrée des substrats, à l'intérieur du digesteur anaérobie. Les échantillons étaient conservés dans des contenants de 50 mL et mis au congélateur à -20°C . Les analyses des quantités de matières sèches étaient réalisées immédiatement après les prélèvements, les analyses de la DCO étaient réalisées 24 heures plus tard alors que les autres analyses chimiques ont été réalisées à la fin de l'essai à partir des échantillons congelés.

Les AGV (acide acétique, acide isobutyrique, acide n butyrique, acide propionique et acide n valérique) ont été analysés pour tous les digestats prélevés chaque semaine. Les AGV ont été déterminés à partir d'un échantillon de 50 g centrifugé (Beckman Coulter inc., Allegra 21R) pendant 30 minutes à une vitesse de 13 000 rpm et une température de 15°C . Cinq grammes de surnageant a été prélevé et traité à l'acide sulfurique (H_2SO_4 , 0,5M). Les échantillons traités à l'acide ont été ensuite centrifugés pendant 15 minutes à 15°C et 13 000 rpm, puis 0,5 mL du surnageant a été récupéré. Un standard interne (acide 2-éthyle butyrique) a été ajouté au surnageant avant filtration (0,45 μm). L'analyse des AGV a été réalisée par chromatographie gazeuse

sur un appareil Varian CP-3800 équipé d'une colonne capillaire de 30 mètres (ID 0,53 mm, film 1 µm, Varian) et d'un détecteur de type ionisation à la flamme (FID) configuré pour fonctionner à une température de 250 °C avec un mélange de gaz porteur (He/H₂ : ratio 1/9) et une température constante du four à 230 °C lors du passage de l'échantillon dans la colonne.

Le contenu en N total, NH₄⁺, en P total, en K, en Ca et en Mg et les SV ont été mesurés sur les digestats avant et après le traitement de digestion anaérobie et sur les substrats de litières sur des échantillons représentatifs par un laboratoire certifié (Agri-Direct, Canada).

Le contenu en fibres (cellulose, hémicellulose et lignine) a été mesuré sur les litières de façon individuelle ainsi que sur l'inoculum et le digestat avant et après le traitement. La méthode d'extraction des fibres par la méthode des détergents neutres (extraction des hémicelluloses) et des détergents acides (extraction de la cellulose et de la lignine) développée par Van Soest, Robertson et Lewis (1991) et adaptée par ANKOM (Ankom Technologies inc., 2009a, 2009c, 2009 b) pour les matériaux à fibres structurales a été utilisée. La quantité de gaz produite a été mesurée selon la variation de la pression des gaz à l'intérieur des digesteurs anaérobies d'après la méthode décrite au chapitre II.

Des échantillons de gaz ont été prélevés sur chacun des DAS et DAL à l'aide de sacs en Tedlar® (SKC, USA) et les échantillons ont été analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (GC), tel que décrit précédemment. Pour nos essais, le rendement méthanier a été exprimé en litre de CH₄ produit par kg de SV. Les quantités de biogaz et de méthane produits pour chaque traitement ont été comparées à différents intervalles du procédé (avant la période d'alimentation, pendant l'alimentation et pendant la période de réaction). La production de biogaz a été suivie pendant 100 jours et le volume de biogaz a été mesuré en continu par mesure du différentiel de pression. Les biogaz produits ont été caractérisés à cinq

reprises à partir de la fin de l'alimentation des digesteurs anaérobies et les proportions des principaux gaz produits, contenues dans le biogaz, ont été mesurées. Le calcul du méthane cumulé a été évalué à partir des résultats obtenus sur les analyses de méthane. Ces résultats ont été appliqués au biogaz mesuré en continu jusqu'à l'analyse suivante des proportions de méthane mesurées dans chaque digesteur anaérobie. Suivant cette logique, pour les jours 81 à 100, c'est la quantité de méthane mesurée au jour 81 qui a servi à calculer le biométhane produit entre le jour 81 et le jour 100.

4.4.3 Statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées sur les résultats chimiques et sur la production de méthane cumulée et quotidienne. La variable réponse (expliquée) était la production de méthane cumulée par kg de SV à différentes périodes de l'expérience. Les paramètres chimiques mesurés sur les différentes litières, ainsi que les quantités de fibres et les ratios entre les fibres dégradables (cellulose et hémicellulose) et non dégradables (lignine) ont été pris individuellement afin d'analyser l'influence de chacun sur la production totale de méthane cumulé. Des tests de Student (test de t, $P \leq 0,05$) ont été réalisés à différentes périodes de l'expérience en comparant les traitements de façon appariée et par l'analyse des paramètres physico-chimiques mesurés avant, pendant et après l'expérience. La vérification de l'homoscédasticité a été réalisée à l'aide de tests de Fligner-Killeen pour chaque traitement à différentes périodes de temps avant l'alimentation, pendant l'alimentation et pendant la période de réaction. Les périodes de temps ont été comparées entre elles et quatre périodes ont été choisies pour les analyses statistiques (-4, 9, 51 et 100 jours). Les traitements ont été comparés à l'aide de l'analyse de la variance (ANOVA). La distribution selon une courbe normale a été vérifiée graphiquement sur les résultats et sur les erreurs (graphique Q-Q normal). Des tests

de régression linéaire ont été réalisés sur les volumes de méthane produits et sur les quantités de litière pour chaque traitement (bois, mousse de sphaigne et paille), sur les différentes quantités des composantes de fibre (cellulose, hémicellulose et lignine), ainsi que le contenu en azote total ajouté et présent dans les digesteurs. Le rendement en méthane pour les différents traitements a été évalué à l'aide d'une méthode de régression non linéaire afin d'établir les courbes de production de méthane cumulé à partir des résultats mesurés en laboratoire. Les résultats ont permis de comparer les différents traitements entre eux et comparer la digestion anaérobie des mélanges de litières à la production obtenue à l'expérience sur la digestion anaérobie de déjections de bovin de boucherie décrite au chapitre II. Des analyses en composante principale (ACP) et des analyses de variance à l'aide de contrastes orthogonaux ont été réalisées dans le but de découvrir les combinaisons de variables qui pourraient expliquer les différences observées dans la production de méthane pour chacun des mélanges. Les tests statistiques et les régressions ont été réalisés à l'aide du logiciel de programmation et langage statistique R (R Development Core Team, version 2.11.1, 2008), alors que les tests de Student ont été réalisés à l'aide du chiffrier Excel®.

4.5 Résultats et discussions

4.5.1 Les paramètres physico-chimiques

Les différents paramètres qui ont été mesurés apparaissent au tableau 4.2. Les concentrations en AGV mesurées ont été faibles tout au long de l'essai ($< 5 \text{ mg L}^{-1}$) et ne permettent pas de vérifier leurs influences lors de cette expérience (résultats non présentés). De faibles niveaux d'AGV indiquent une digestion anaérobie limitée par l'étape de l'hydrolyse (Saady et Massé, 2013).

4.5.2 La production de méthane

La proportion de méthane contenu dans les digesteurs anaérobies a continuellement progressé pendant l'expérience pour atteindre des niveaux situés entre 56,5 % et 61,6 % après 80 jours de traitement. L'indisponibilité du chromatographe en phase gazeuse a empêché de réaliser les analyses après 80 jours de traitement. Les premières mesures du contenu en méthane ont été réalisées au 17^{ième} jour après le début de l'expérience, 3 jours après la fin de la période d'alimentation. On peut observer à la figure 4.2 que les variations du contenu en méthane entre les différents traitements sont élevées au début de l'expérience. Cette variation s'atténue ensuite pendant la période de réaction. Ce phénomène peut s'expliquer par les différentes vitesses de réaction qui ont été observées pour chaque traitement. Le contact solide-liquide semble avoir été plus lent dans certains traitements. Une analyse approfondie a permis d'observer une variation importante entre les traitements par rapport au contenu en méthane dans la phase solide. Cette variation peut s'expliquer en partie par la quantité de ST pour chaque traitement, les traitements qui ont reçu plus de 1000 g ST de litière avaient un contenu en méthane inférieur de façon significative (ANOVA, $P \leq 0,05$). Les traitements qui contenaient de la paille ont observé également une réduction significative du contenu en méthane par rapport au traitement contenant seulement du bois et de la mousse de sphaigne (BM) (ANOVA, $P \leq 0,05$) et cela entre les jours 10 et 43. Cette période correspond à la fin de la période d'alimentation et au début de la période de réaction. Cette différence dans la production de méthane peut s'expliquer par la différence de densité des litières testées. La densité des trois types de litières varie avec un ratio pour le bois, la mousse et la paille (B : M : P) de 3,0 : 1,7 : 1,0 g mL⁻¹. La densité et la teneur en eau des différentes litières modifient le volume occupé et la vitesse à laquelle la litière absorbera les liquides du digesteur anaérobie lors de l'inondation des DAS par le digestat liquide. Dans la littérature scientifique, les principaux paramètres retenus qui peuvent influencer la production de méthane des déchets solides sont : le rapport C/N,

Tableau 4.2 Paramètres chimiques de l'inoculum, du digestat solide à la fin de l'essai et des substrats

Paramètres	Inoculum	Digestat	Paille	Bois	Mousse de Sphaigne
ST (%)	8,39 ± 0,50(*)	9,09 ± 1,39	82,23 ± 0,40	91,67 ± 0,12	58,23 ± 0,81
SV (% ST)	90,83 ± 0,36	93,54 ± 1,29	99,27 ± 0,06	99,27 ± 0,06	97,97 ± 0,15
N-Total (% ST)	1,18 ± 0,58	1,45 ± 0,28	0,08 ± 0,00	0,76 ± 0,01	1,82 ± 0,09
NH4+ (% ST)	0,08 ± 0,04	0,12 ± 0,03	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,11 ± 0,02
P (% ST)	0,16 ± 0,03	0,10 ± 0,03	0,06 ± 0,00	0,08 ± 0,00	0,09 ± 0,01
K (% ST)	0,65 ± 0,23	0,17 ± 0,01	0,11 ± 0,00	1,88 ± 0,04	0,18 ± 0,01
Ca (% ST)	0,24 ± 0,09	1,12 ± 0,07	0,44 ± 0,02	0,52 ± 0,01	0,72 ± 0,04
Mg (% ST)	0,67 ± 0,25	0,61 ± 0,05	0,06 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,09 ± 0,01
Rapport C:N	24,93 ± 5,36	35,91 ± 7,98	200,00 ± 0,00	60,90 ± 0,56	26,97 ± 1,36
DCOs (mg L ⁻¹)	6191,2 ± 1413,8	7106,9 ± 768,1	ND	ND	ND
DCOt (mg L ⁻¹)	22186,4 ± 7209,5	29557,1 ± 7862,6	ND	ND	ND
ADF (% ST)	49,36 ± 2,74	60,04 ± 2,79	48,72 ± 0,45	69,67 ± 1,05	51,14 ± 1,50
NDF (% ST)	58,19 ± 5,12	77,41 ± 2,47	75,01 ± 0,86	86,73 ± 0,72	70,15 ± 0,77
ADFL (% ST)	29,19 ± 0,92	30,82 ± 2,64	8,74 ± 0,36	26,17 ± 0,95	31,82 ± 1,19
Cellulose (% ST)	20,17 ± 2,58	29,21 ± 2,97	39,98 ± 0,27	43,50 ± 0,57	19,32 ± 0,91
Hémicellulose (% ST)	8,83 ± 2,38	17,38 ± 0,33	26,28 ± 0,41	17,05 ± 0,33	19,01 ± 0,73
Lignine (% ST)	29,19 ± 0,92	30,82 ± 2,64	8,74 ± 0,36	26,17 ± 0,95	31,82 ± 1,19
Ratio (Cellulose/Lignine)	0,691 ± 0,11	0,948 ± 0,18	4,573 ± 0,22	1,662 ± 0,08	0,607 ± 0,05
Ratio (Hémicellulose/Lignine)	0,302 ± 0,09	0,564 ± 0,06	3,006 ± 0,12	0,652 ± 0,04	0,598 ± 0,05

(*) : les valeurs représentent l'écart-type

le contenu en solides volatiles, en solides totaux, la température et l'inoculation des substrats (Li, Park et Zhu, 2011). On peut séparer le procédé de digestion anaérobie en lot discontinu en cinq périodes : la période de l'alimentation des digesteurs, la période de réaction, la période de sédimentation, la période d'extraction du matériel traité et la période d'extraction des boues. Ces différentes périodes associées à une digestion anaérobie par lot discontinu sont bien décrites par Tchobanoglous, Burton et Stensel, (2003). L'alimentation se réalise sur des périodes plus ou moins longues en fonction des substrats à traiter et des techniques utilisées. Seulement les deux premières étapes sont rencontrées dans un digesteur anaérobie en phase solide avec une inondation du digestat liquide par le bas. Il n'y a pas eu de sédimentation dans la phase liquide même après plusieurs semaines sans brassage. Pour tous les traitements de l'expérience, la production de méthane cumulée suit une forme sigmoïde (figure 4.3). Les courbes de production de méthane sigmoïde sont décrites comme étant des courbes divisées en deux étapes pour un rendement méthanier ultime et une constante de production de méthane différente pour chacune des étapes. La digestion anaérobie de matériel contenant de grandes proportions de fibres n'a pas fait l'objet de beaucoup d'études et les raisons qui expliquent le phénomène où les vitesses de dégradation entre la première étape et la seconde étape typique de la dégradation de ce type de substrat ne sont pas bien connues actuellement (Turick *et al.*, 1991). Dans cette étude, la production de méthane calculé à l'aide de la seconde courbe de production représente le rendement méthanier global (la somme de la première et de la deuxième étape de production de méthane). Vavilin *et al.* (2008) expliquent cette forme sigmoïde par la dégradation des matières organiques en deux étapes : une première étape où les bactéries colonisent les matières organiques et produisent des exoenzymes qui contribuent à la libération de monomères ultimement utilisés par les bactéries hydrolytiques ; la seconde étape est accompagnée d'une colonisation moins intensive des particules et permet la dégradation et la diffusion des substrats, celle-ci aura une vitesse d'hydrolyse différente. Turick *et al.* (1991) suggèrent une hypothèse

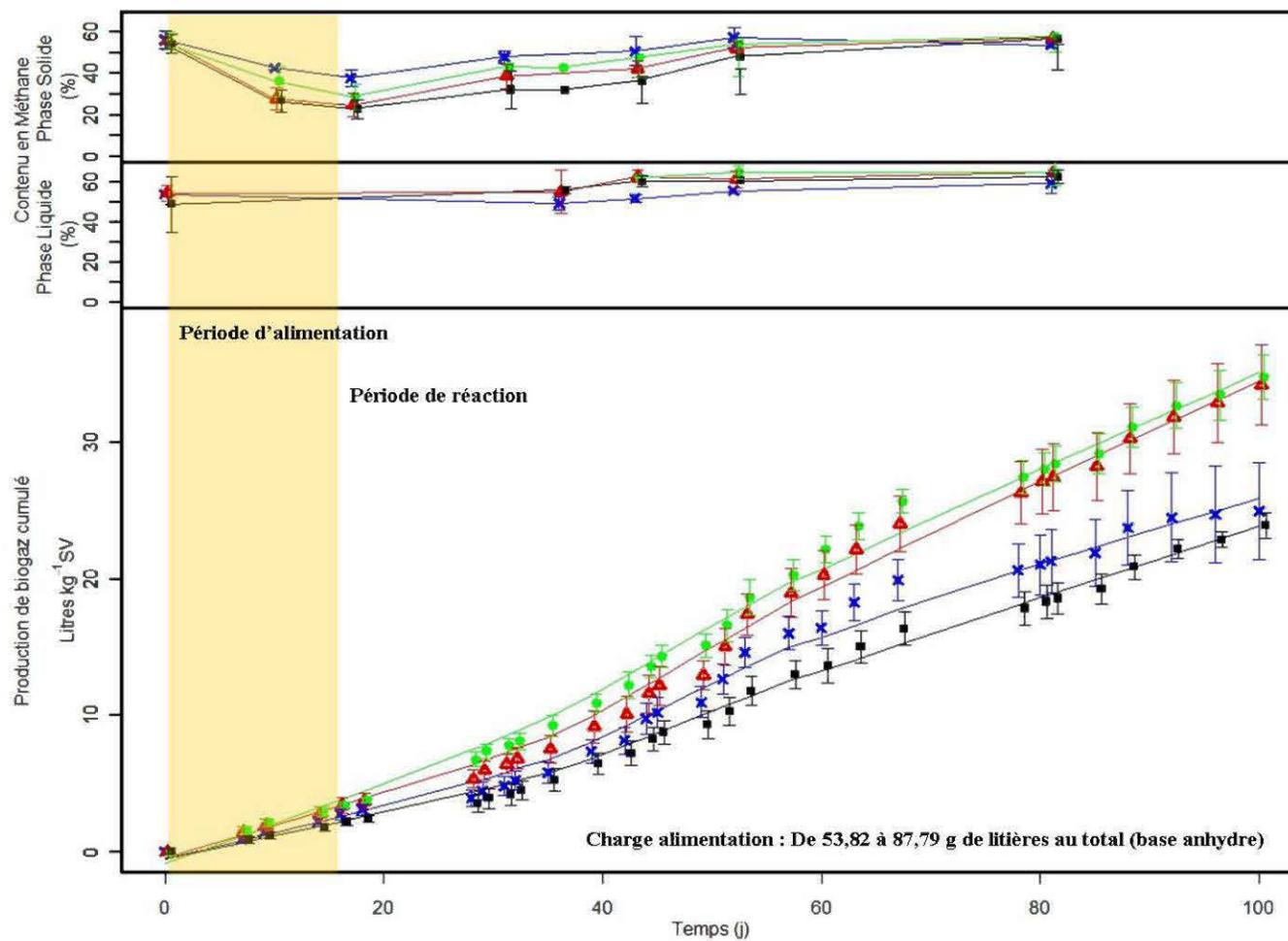


Figure 4.2. Quantité de biogaz cumulée et contenu en méthane dans le biogaz produit pour chacune des phases solides et liquides et pour les quatre mélanges de litières traitées par digestion anaérobie (-x- BM, -△- BP, -●- PM, -■- BPM)

différente de celle de Vavilin *et al.* (2008) et supposent que la dégradation des hydrates de carbone et des autres composés facilement biodégradables peut expliquer une première phase rapide de production de méthane et que ce changement de la vitesse de production de méthane serait induit par un changement important de la population microbienne, ainsi mieux adaptée pour dégrader les particules récalcitrantes, telles que les polysaccharides structuraux moins accessibles aux microorganismes. À partir des mesures de la production cumulée de méthane des différentes litières, ainsi que les essais sur la comparaison entre la digestion anaérobie en une et deux étapes présentés au chapitre précédent, le rendement méthanier ultime (B_0) (L CH₄ kg⁻¹ SV) et la constante du taux de production de méthane (k) (L CH₄ j⁻¹) ont été calculés pour les deux phases de chaque traitement en utilisant la méthode de régression non linéaire. L'équation dynamique de premier ordre suivante a été utilisée (Turick *et al.*, 1991; Gunaseelan, 2004) :

$$B = B_0 \cdot (1 - e^{-kt}) \quad \text{Éq. 4.1}$$

B = Production de méthane (L CH₄ kg⁻¹ SV)

B_0 = Rendement méthanier ultime (L CH₄ kg⁻¹ SV)

K = Constante du taux de production de méthane (L CH₄ j⁻¹)

T = Temps (j)

Les courbes ont été divisées en deux périodes comme ce qu'ont observé Turick *et al.* (1991). Le calcul d'une courbe sigmoïde oblige de trouver un point d'inflexion. Ensuite les courbes sont calculées par régression non linéaire de chaque côté du temps trouvé au point d'inflexion. Finalement les deux courbes sont alors jointes pour n'en former qu'une (figure 4.3 et 4.4). Ce type de courbe a aussi été observé sur des digesteurs anaérobies mésophiles à 35 °C et alimentés par de la paille de blé (Møller, Sommer et Ahring, 2004) ou encore des résidus de brasseries à 37 °C (Vavilin *et al.*, 2008) et des digesteurs anaérobies à 20 °C alimentés par du xylane, un mélange xylane/cellulose, du fumier de vache et de la paille de blé (Saady et Massé, 2013).

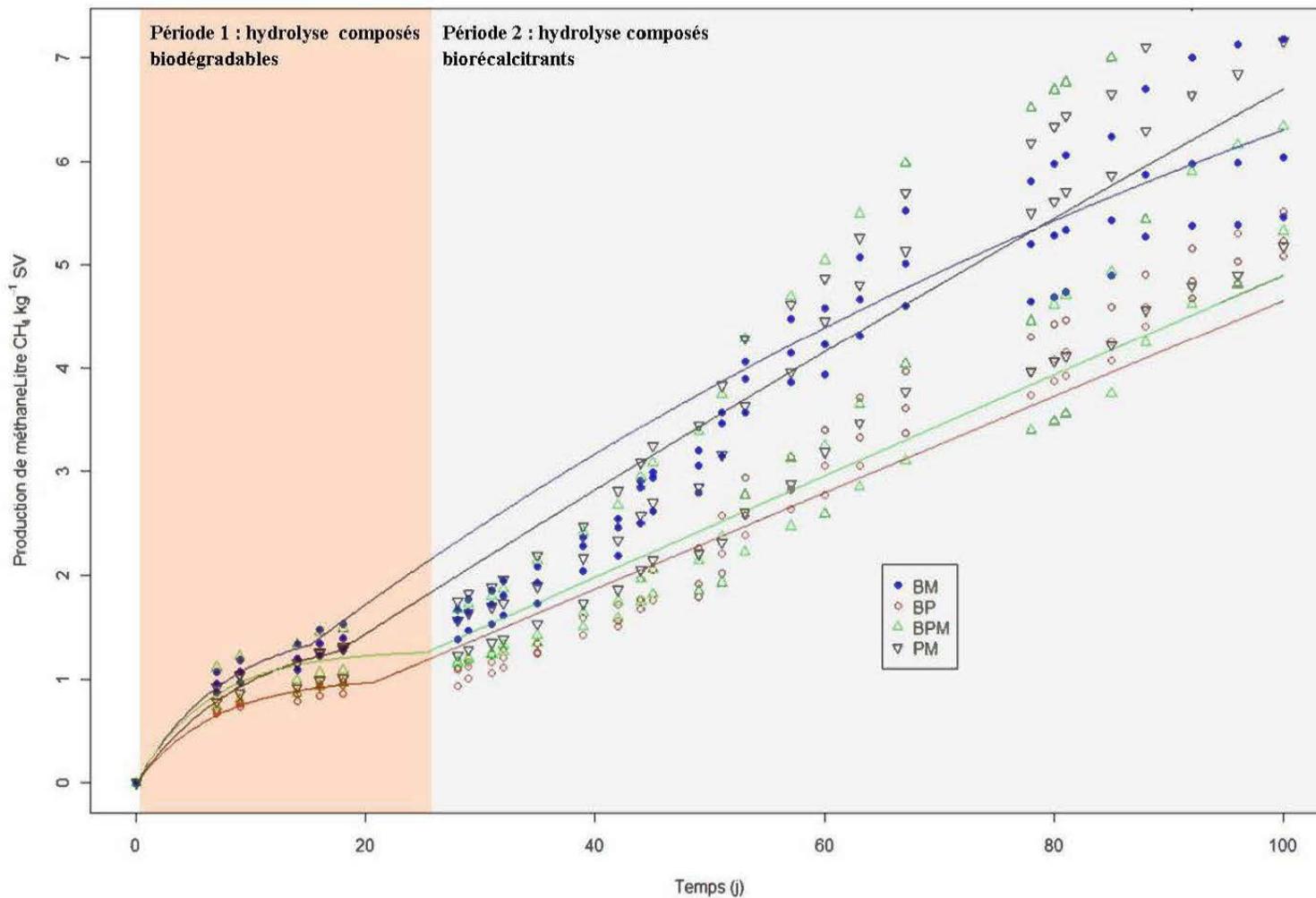


Figure 4.3 Graphique des courbes de production de méthane cumulée pour tous les traitements à partir de la régression non linéaire suivant une équation dynamique de premier ordre $B = B_0 \cdot (1 - e^{-kt})$

Les litières ont produit en moyenne $1,55 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ pour une même période d'incubation. Les courbes pour la seconde étape de production de méthane ont permis de calculer une production ultime de $15,15 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ pour les déjections de bovin et une production de $11,04 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ pour le mélange BM. La production de méthane a par contre atteint $41,27 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ pour le mélange PM. Les autres traitements de litières combinées auraient eu besoin de plus de 100 jours afin d'obtenir une courbe asymptotique. Les résultats du calcul pour les deux étapes sont présentés au tableau 4.3. Sur le même prototype de digesteur et à la même température de traitement, la digestion de déjection de bovin de boucherie a permis une production de $6,23 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ (chapitre III). Les courbes de production de méthane pour la première étape, pour les différents traitements de litières, ont trouvé un point d'inflexion après 15 à 22 jours alors que les essais sur les déjections de bovin de boucherie (chapitre II) ont duré entre 25 et 50 jours. La période d'alimentation pour ces deux expériences était différente, 14 et 50 jours respectivement pour l'essai sur les litières et celle avec les déjections de bovin de boucherie. Cette observation amène à croire que le matériel facilement dégradable régit la vitesse du processus pendant la période d'alimentation alors que la vitesse de dégradation pendant la période de réaction serait déterminée par la dégradation plus lente du matériel récalcitrant tel que suggéré par (Tong, Smith et McCarty, 1990).

Tableau 4.3 Paramètres de rendement et constante de production de méthane

Traitements	Rendement méthanier ultime (B ₀)		Constante de production de méthane (k)	
	(L CH ₄ kg ⁻¹ SV)		(L CH ₄ j ⁻¹)	
	Période 1	Période 2	Période 1	Période 2
Fumier 2 Étapes (Chapitre III)	6,2387	15,153	0,0417	0,0089
Bois-Mousse de sphaigne	1,5501	11,0438	0,128	0,0085
Bois-Paille	1,0199	n.c.*	0,1436	n.c.
Bois-Mousse-Paille	1,282	n.c.	0,1544	n.c.
Paille-Mousse de sphaigne	1,4964	41,2681	0,1063	0,00177

n.c.* : non convergent

4.5.3 Le contenu en fibre lignocellulosique

L'évaluation du taux de biodégradation des substrats à l'aide de la mesure de la lignine est une technique efficace et utilisée depuis longtemps dans le domaine de l'alimentation animale (Van Soest, Robertson et Lewis, 1991). C'est une technique rapide qui peut être utilisée afin de prédire la digestibilité des aliments pour les animaux. Elle a d'abord été utilisée par (Chandler, Jewell et Gossett, 1980) en digestion anaérobie et repris depuis pour plusieurs études sur la digestion anaérobie (Chynoweth, Jerger et Srivastava, 1985 ; Labatut *et al.*, 2010 ; Klimiuk *et al.*, 2010). Tong, Smith et McCarty (1990) ont utilisé une approche intéressante afin d'expliquer les différences de production de méthane observées à partir de substrat soluble et de matériel lignocellulosique. Ils ont observé une augmentation de la production de méthane avec le temps en suivant la dégradation anaérobie de différents substrats

solubles. Selon les auteurs, cette augmentation peut être expliquée par l'augmentation de la population microbienne durant cette même période. Dans leurs expériences, des essais similaires sur du matériel lignocellulosique ont permis de mesurer un taux de production de méthane constant dans le temps. Les auteurs suggèrent une population microbienne constante ou une vitesse de dégradation du substrat indépendante de la taille de la population microbienne. L'absence du dénombrement des bactéries empêchait les auteurs de conclure sur ces hypothèses. Toujours selon ces auteurs, l'étape limitative à la dégradation de matériel lignocellulosique serait liée au taux d'activité limité des enzymes participants à la dégradation de la lignine afin de permettre la libération, puis la dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose. Les microorganismes se multiplient à la surface des particules et amorcent l'opération d'hydrolyse. La présence de microorganismes supplémentaires ne permet pas à ces derniers d'atteindre les particules déjà occupées par les microorganismes colonisateurs, ce qui crée un problème d'encombrement pour l'accès au substrat.

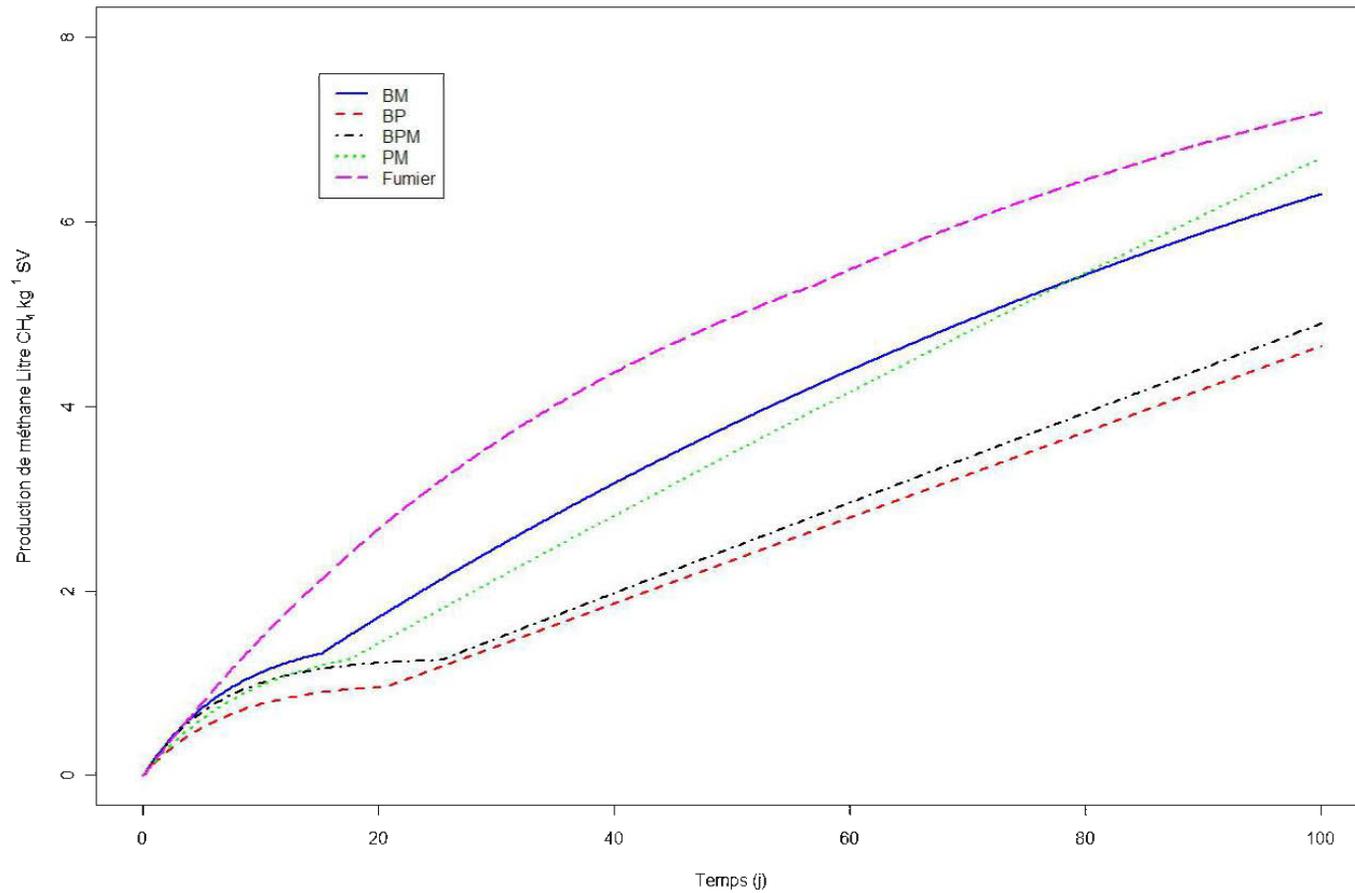


Figure 4.4 Production de méthane cumulée (déjections de bœuf et litières) obtenue à partir des modèles de régression non linéaire établis sur deux périodes

Ce phénomène ne s'applique pas aux substrats solubles qui se dégraderaient de façon proportionnelle à la concentration des microorganismes présents. Les courbes de production de méthane obtenues et le lien observé avec les périodes d'alimentation des digesteurs anaérobies semblent corroborer ces hypothèses. La lignine ne se dégrade pas en milieu anaérobie (Tong, Smith et McCarty, 1990; Turick *et al.*, 1991). Dans les essais de cette étude, le contenu en lignine des substrats était significativement différent entre les traitements (test ANOVA, $P = 2,2 \times 10^{-16}$). Un enrichissement des digestats en fibres (cellulose, hémicellulose, lignine) a été observé pendant l'expérience, et ce pour tous les traitements (tableau 4.2). Cet enrichissement vient de la dégradation incomplète des fibres ajoutées aux digesteurs anaérobies. Le contenu en fibres totales n'a pas démontré, de façon significative, une influence sur la production de méthane lorsqu'il a été comparé pour les différents traitements. Ces analyses démontrent que l'inoculum ne s'est pas adapté à dégrader les fibres à une température psychrotrophe. Le contenu en lignine et en hémicellulose a eu un effet significatif ($P = 0.0002$) sur la production de méthane pour tous les traitements étudiés. La présence de lignine en forte proportion est défavorable à la méthanisation alors que la présence d'hémicellulose en plus forte proportion est favorable à la production de méthane. Une analyse en composantes principales a permis d'observer une corrélation entre les différentes fibres présentes. Les ratios cellulose : lignine et hémicellulose : lignine ont été analysés afin de déterminer si ces paramètres expliquaient d'avantage les variations dans la production de méthane. De ces analyses le ratio hémicellulose : lignine a démontré une importance plus élevée que les autres. Trois paramètres, soient la concentration en lignine, celle de l'hémicellulose, ainsi que le ratio hémicellulose : lignine permettent d'expliquer le plus les variations dans la production de méthane à partir de la digestion anaérobie des litières étudiées avec un inoculum non adapté. Les résultats ne permettent cependant pas de supporter une corrélation évidente entre la production de méthane et ces paramètres. D'autres analyses sur les variances ont permis de découvrir une corrélation significative

($P = 0,0006$) entre la présence de mousse de sphaigne et d'azote total contenu dans les digesteurs anaérobies. La mousse de sphaigne utilisée dans cet essai contenait des quantités plus élevées d'azote total comparativement aux autres litières et comme l'azote est un élément important pour la croissance bactérienne, sa présence peut avoir influencé la production de méthane. Le contenu en N total, en NH_4^- et comme l'azote total est composé d'azote organique et d'azote ammoniacal, on considère que l'azote organique étaient plus élevé dans les digesteurs anaérobies contenant de la mousse de sphaigne. L'azote organique est un composé complexe contenant, entre autre, des acides aminés, des hydrates de carbone et des protéines (Tchobanoglous, Burton et Stensel, 2003). Ces éléments contenus dans l'azote organique peuvent être dégradés en condition anaérobie lorsque les conditions le permettent, tel que vu précédemment au chapitre I de cette thèse. Afin de vérifier l'effet du contenu en N-total dans les digesteurs sur la production de méthane, ce paramètre a été évalué et une production de 22,4 % supérieure en méthane a été observée après 9 jours du début du traitement sur les digesteurs anaérobies contenant plus de 13 mg de N-total g^{-1} SV ($P=0,0314$). La production de méthane cumulée est supérieure pour les digesteurs anaérobies avec un contenu en azote supérieur à 13 mg de N-total g^{-1} SV pour les autres jours de l'essai, cependant les différences ne sont plus significatives pour ces périodes.

Triolo *et al.* (2011) ont réalisé une étude exhaustive sur le potentiel de biométhanisation de 65 séries de données répertoriées dans la littérature et ils ont évalué que le contenu en lignine des solides volatils représente le paramètre le plus robuste pour prédire la production de méthane pour le fumier animal, ainsi que pour différentes cultures énergétiques. La validité de la prédiction du taux de production de méthane est améliorée suite à l'inclusion de la concentration en cellulose à celle de la lignine. Les résultats publiés par ces auteurs sont cependant difficiles à reprendre puisqu'ils incluent seulement des résultats partiels sur les contenus en ADF et NDF, et que leurs essais ont été réalisés à 37 °C. Ces auteurs ont également inclus des

comparaisons de production de méthane à différents ratios cellulose/lignine et hémicellulose/lignine, mais donnent peu de détails sur les résultats statistiques de la production de méthane qu'ils ont observés. Lübken, Gehring et Wichern (2009) soulèvent de nombreuses critiques dans leur revue de littérature au sujet des modèles de digestion anaérobie développés afin de prédire la production de méthane. Un nombre important de ces modèles ne tiennent pas compte de l'influence de l'accessibilité des particules aux microorganismes responsables de l'hydrolyse en présence de particules solides. D'autres chercheurs ont étudié et simulé la dégradation de solides organiques et arrivent à la conclusion que les seuls modèles mathématiques qui arrivent à bien décrire la dynamique de l'hydrolyse des particules organiques solides sont ceux qui tiennent compte de la surface de contact des substrats accessible aux microorganismes (Vavilin, Vasiliev et Rytov, 1996; Vavilin *et al.*, 2004). Les résultats observés par ces chercheurs décrivent l'étape d'hydrolyse comme l'étape limitative à la dégradation des particules solides et appuient leurs observations sur des résultats de recherches réalisés par plusieurs équipes de chercheurs différents. L'influence des différentes litières et leurs caractéristiques chimiques prises de façon individuelle sur la production de méthane ont été analysées à partir de nos résultats à l'aide d'analyses en composante principale. Les résultats obtenus ont été analysés en composant la quantité de N-total aux ratios de fibres cellulose/lignine et hémicellulose/lignine. À partir de ces analyses (figure 4.5), le contenu en lignine (composantes principales 1) semble davantage expliquer une diminution de la production de méthane alors que l'hémicellulose et l'azote total (composantes principales 2) pourraient expliquer davantage les augmentations de la production de méthane. La production de méthane et les composantes principales 1 et 2 expliqueraient 94,5 % des variations des différents paramètres mesurés.

Klimiuk *et al.* (2010) et Turick *et al.* (1991) ont observé des résultats semblables. Les travaux de Klimiuk *et al.* (2010) concernaient quatre espèces de plantes cultivées contenant de grandes quantités de fibres (NDF > 75%, ADF > 47%). Dans une autre

étude sur la production de méthane à partir de la digestion anaérobie de biomasse forestière, Turick *et al.* (1991) énumèrent d'autres paramètres importants (disponibilité des nutriments, volume des pores, type de liaison entre la lignine et les hydrates de carbone, dimension des particules, ainsi que les composés extractibles et toxiques) qui peuvent influencer la biodégradabilité anaérobie de matériel lignocellulosique. Aucun de ces paramètres n'a été analysé dans cet essai et des recherches sur ces sujets pourraient faire l'objet de recherches futures.

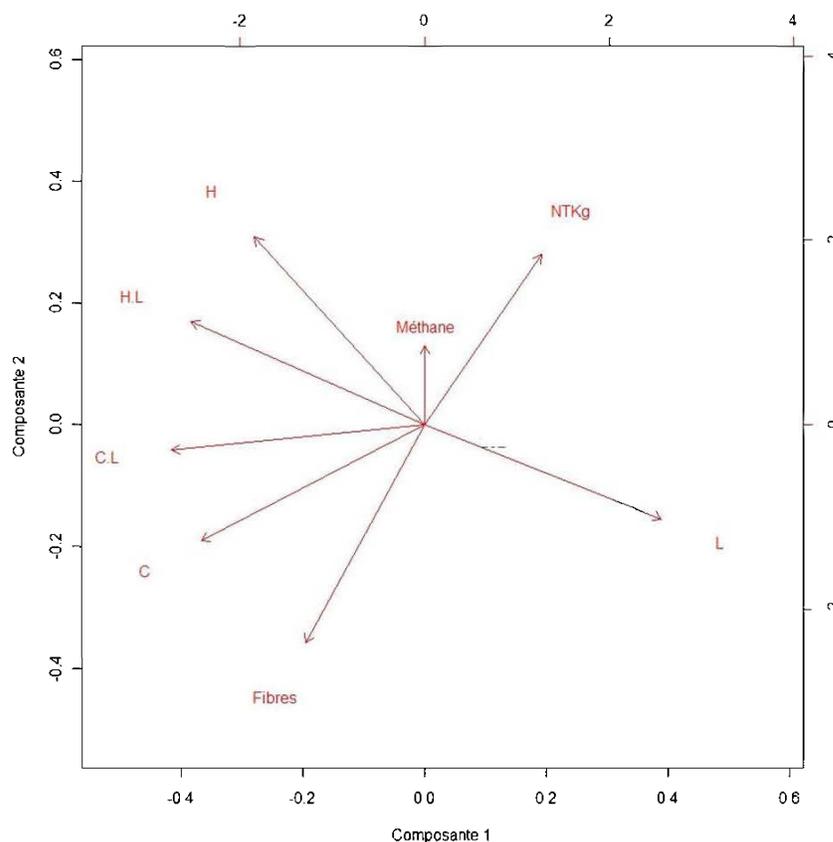


Figure 4.5 Analyse en composantes principales sur les fibres contenues dans chacun des mélanges de litières utilisés comme substrat : L(lignine), H (hémicellulose), C (cellulose), NTKg (N-Total), H.L (hémicellulose : lignine), C.L (cellulose : lignine)

4.6 Conclusion

La mousse de sphaigne dans la litière a contribué à enrichir le contenu en N-total des digesteurs anaérobies. La production de méthane cumulée par kg de SV était supérieure pour les différents mélanges de litières contenant de la mousse de sphaigne. Le contenu riche en azote total de la mousse de sphaigne pourrait être un des facteurs qui expliquent ce phénomène. L'azote est un élément important pour la croissance bactérienne et la présence de ce nutriment dans la mousse de sphaigne pourrait avoir favorisé la dégradation des matières organiques en milieu anaérobie et la production de méthane. Après 9 jours de traitement, les digesteurs anaérobies contenant plus de 13 mg de N-total g⁻¹ SV ont produit 22,4 % plus de méthane que les digesteurs anaérobies en contenant moins. La production de méthane cumulée était supérieure pour les digesteurs anaérobies avec un contenu en azote supérieur à 13 mg de N-total g⁻¹ SV pour les autres jours de l'essai, cependant les différences ne sont plus significatives pour ces périodes.

Les litières utilisées en agriculture (bois, paille et mousse de sphaigne) se dégradent lentement par digestion anaérobie en lot discontinu inoculé à partir d'un inoculum non adapté, et ce, à une température ambiante (20 °C). À cette température, le ratio cellulose/lignine semble être un bon indicateur du potentiel de production de méthane cumulé pour les matériaux lignocellulosiques par rapport aux autres paramètres physico-chimiques mesurés dans cette expérience. Le contenu en lignine a influencé, à un certain degré, la production moyenne de méthane cumulée. La production de méthane a été significativement plus élevée à 51 jours de 31,9 % et à 100 jours de 39,9 % pour les substrats contenant un niveau de lignine inférieur à 22 % ST. Des rendements méthaniers supérieurs de 10 % à 51 et 19,2 % à 100 jours respectivement ont été mesurés dans les digesteurs anaérobies contenant un ratio hémicellulose/lignine supérieur à 1,07. La production de méthane, le contenu en lignine, en hémicellulose et en azote total expliquent 94,5 % des variations des différents paramètres mesurés.

Cette étude de nature exploratoire pourrait être reprise en utilisant un inoculum adapté et une définition plus précise des différents traitements en comparant des substances pures de litières et de fibres de nature différente et différents mélanges.

CHAPITRE V

CONCLUSION GÉNÉRALE DE LA THÈSE ET RETOUR SUR LES QUATRE EXPÉRIENCES

Les activités agricoles représentent une source importante d'éléments nutritifs pouvant être dispersé dans l'environnement. Les installations avec une gestion des fumiers sous forme solide ou semi-solide représentaient 93,9 % des cheptels bovins en 2001. Entre 1976 et 2006, les entreprises de grande dimension déclarants avoir 273 têtes et plus est passé respectivement de 20,5 % à 52,3 % des animaux possédés au Canada. L'augmentation de la production de fumier peut accroître les risques de contamination de l'eau par des nutriments, des contaminants biologiques, des contaminants inorganiques et organiques, en plus d'émettre dans l'atmosphère des odeurs et des GES. Ces émissions dans l'atmosphère ont lieu soit lors de l'entreposage, pendant le brassage et le compostage des fumiers ou après l'épandage. Les émissions de GES totales au Canada étaient de 747 MtCO₂éq et l'agriculture était responsable de 57 MtCO₂éq de ces émissions, ce qui représente 7,63% des émissions totales.

Les marges de profit des producteurs de bœuf de boucherie limitent leurs investissements en environnement particulièrement dans une région comme l'Abitibi-Témiscamingue. Il serait plus intéressant pour ces producteurs de développer des projets de traitement de leurs déchets dans une perspective d'augmentation de leurs revenus à la ferme soit par la production de ressources renouvelables comme la

production de biométhane à partir du fumier des animaux. Ces nouvelles approches environnementales permettraient de traiter les différents déchets agricoles sans pertes d'éléments nutritifs comme le ferait le compostage qui perd lors du procédé des quantités importantes d'éléments nutritifs tel que l'azote dans l'atmosphère. La biométhanisation permet de produire du méthane, un gaz qui peut être utilisé pour le chauffage ou faire fonctionner un moteur à combustion et une génératrice afin de produire de l'électricité. Cette technologie, permet de stabiliser des matières organiques avec un bilan énergétique positif.

La digestion anaérobie de matières organiques solides en agriculture n'est pas rentable selon les différentes publications scientifiques et économiques qui ont été consultées dans le cadre de cette thèse. Cependant plusieurs auteurs considèrent que les avantages environnementaux et agronomiques devraient faire l'objet de nouvelles analyses et être soutenus sous différentes formes afin d'encourager les développements de la digestion anaérobie sur les fermes agricoles au Canada et dans le monde. Le retour au sol de plus grande quantité de matières organiques fertilisantes contenant des proportions élevées de fibres lignocellulosiques est bénéfique pour les sols en améliorant le bilan humique de ces derniers. La diminution de la teneur en matière organique affecte plus de 50% des sols sous monoculture au Québec, ce qui représentait plus de 252 000 ha de terre agricole.

La digestion anaérobie est gouvernée principalement par quatre groupes de microorganismes (bactéries hydrolytiques acidogènes, bactéries acétogènes et productrices d'hydrogène, *Archaea* méthanogènes hydrogénotrophes et *Archaea* méthanogènes acétotrophes). Les réactions biochimiques de la digestion anaérobie se réalisent à un pH voisin de la neutralité lorsque la matière organique est à une concentration suffisamment élevée et qu'elle est maintenue en anaérobiose. En général, les bactéries sont incapables d'utiliser les matières organiques particulières à moins qu'elles soient d'abord brisées en polymères ou monomères solubles. Les

protéines et les lipides sont riches en énergie et produisent une quantité importante de méthane alors que les fibres sont plus difficiles à dégrader en grande partie à cause de la présence de la lignine qui ne se dégrade pas en milieu anaérobie et qui limite de façon importante l'accès aux bactéries des autres types de fibres (hémicellulose et cellulose). La méthanisation est réalisée par plusieurs types d'organismes méthanogènes. Ces organismes méthanogènes sont parmi les plus anciens que l'on retrouve sur la terre et font partie d'un groupe des procaryotes distinct des bactéries et nommé *Archaea*. Il existe environ 50 espèces d'*Archaea* méthanogènes que l'on retrouve dans le phylum des *Euryarchaeota*. La méthanisation est réalisée selon deux voies : la première utilise le couple $H_2 - CO_2$ et l'autre à partir de l'acide acétique par décarboxylation de l'acétate. La dégradation des acétates est responsable de 67 à 80 % de la production totale en biogaz, il est normal que ce soit généralement les populations de bactéries acétotrophes qui soient dominantes dans un digesteur anaérobie. Les performances d'un digesteur anaérobie sont influencées de façon importante par la température et il existe plusieurs procédés de digestion anaérobie à travers le monde, mais la majeure partie des procédés fonctionnent à des températures mésophiles et thermophiles.

Le principal élément de comparaison retenu pour évaluer l'utilisation de la digestion anaérobie sur les fermes agricoles jusqu'à maintenant concerne la production d'énergie alors que des analyses par rapport à la réduction des odeurs, la pollution diffuse, les pertes d'azote ou encore la réduction de l'utilisation d'eau de procédé et par extension la réduction de la production d'eaux usées sembleraient favoriser la DAS. À l'échelle de la ferme, la technologie de la DAS est peu présente à l'échelle commerciale, seuls quelques prototypes à l'échelle de la ferme ont été testés en Europe et en Asie. Dans le but de contribuer à développer ce type de traitement destiné à des déchets solides agricoles, un nouveau procédé a été développé et testé dans le cadre de ce doctorat. Ce procédé fonctionne en deux étapes et la digestion anaérobie se répartit dans deux réservoirs cylindriques reliés dont l'un est destiné à

être alimenté par les solides et l'autre à recevoir les surplus de liquide du premier. Les substrats sont introduits par le haut des réservoirs et l'inoculation est réalisée par inondation des substrats en transférant une partie du liquide du deuxième réservoir vers le premier. Les essais dans ce doctorat ont été réalisés en mode d'alimentation par lot séquentiel. La configuration des digesteurs anaérobies à l'échelle laboratoire a permis de réaliser une digestion anaérobie à une étape et une digestion anaérobie à deux étapes.

Le chapitre I de cette thèse a servi à décrire des modèles qui ont été développés par plusieurs auteurs sur une échelle de temps d'une trentaine d'années d'études. Plusieurs modèles développés tentent de simuler les interactions entre les différents microorganismes présents aux étapes importantes de la digestion anaérobie et les équations dynamiques qui les mettent en relation avec les différents substrats présents à ces étapes. Par des équations stœchiométriques, par différents modèles et par des équations basées sur les étapes de la digestion anaérobie les chercheurs ont tenté de développer et de valider leurs modèles à partir d'essais en laboratoire ou à échelle réelle. La dynamique des procédés de digestion anaérobie joue un rôle central dans le développement et les opérations des systèmes de traitement anaérobie. Les premiers modèles utilisés en digestion anaérobie visaient à décrire l'utilisation de différents substrats par des bactéries dans différents milieux naturels ou artificiels. Une procédure basée sur la thermodynamique et les principes bioénergétiques qui permettent de dériver les équations stœchiométriques et les rendements des microorganismes et leur taux d'utilisation des substrats a été présenté dans cette thèse. Le potentiel biométhanier des différents substrats peut aujourd'hui être évalué de façon théorique avec précision à partir de la composition chimique du substrat à dégrader. Les modèles définissent les substrats complexes et intermédiaires importants et permettent d'estimer la génération des différents composés et peuvent servir aussi à estimer les besoins en nutriments. La DAS a fait l'objet de moins d'études de simulation, mais suscite dernièrement l'intérêt de plusieurs chercheurs à

travers le monde. Un groupe de chercheurs de l'université Wageningen aux Pays-Bas ont modifié le modèle ADM1 développé par l'International Wastewater Association afin de simuler la digestion anaérobie de cultures énergétiques et de déchets agricoles. Le modèle a permis de simuler de façon satisfaisante la digestion anaérobie à des concentrations élevées de trois types de substrats contenant des proportions importantes de fibres lignocellulosiques dans un digesteur anaérobie complètement mélangé a démontré de bons résultats sur la simulation pour les variations des AGV, du pH et de la DCO. La production de méthane n'a cependant pas été prédite avec suffisamment de précision. Dans le cadre de cette étude, le potentiel biométhanier des substrats utilisés a été évalué en utilisant les formules stœchiométriques développées par McCarty (1972) et en utilisant le facteur de biodégradabilité tel que décrit par Chandler *et al.* (1980). Le modèle développé par Massé (1995) a également été utilisé afin de simuler le procédé qui a été utilisé. Les paramètres mesurés à l'affluent et à l'effluent des composantes des digesteurs anaérobies à deux étapes ont été utilisés pour la simulation. La dégradation des litières n'a pas été simulée avec ce modèle. Le modèle a simulé la production d'AGV, de méthane et la variation de la DCOs. La simulation a été traitée comme si les deux réservoirs étaient des digesteurs anaérobies séparés, et un TRS et un TRL ont été appliqués comme égaux. Les résultats du modèle ont offert de bonnes précisions pour les paramètres de la production de méthane quotidienne et cumulée ainsi que pour la DCOs mesurée. Les quantités d'AGV n'ont pas été simulées avec une bonne précision par le modèle cependant et les quantités d'AGV mesurées dans les essais étaient de beaucoup inférieures aux AGV simulés. Le peu d'articles scientifiques relevés avant 2005 et la publication récente de plusieurs articles sur la modélisation de matériel récalcitrant à la dégradation anaérobie incitent à penser qu'une accélération des développements est attendue à court et moyen terme dans le domaine de la digestion anaérobie solide.

La population de bactéries contenue dans le liquide du rumen de deux types d'animaux ruminants (bovin et orignal) n'a pas permis le démarrage du procédé de

digestion anaérobie à une température de 20 °C. Ces digesteurs étaient alimentés à l'aide de déjections de bovin de boucherie riche en fibre lignocellulosique. La production cumulée de biogaz a été de $55,8 \pm 8,9$ L biogaz kg^{-1} DCOt pour les digesteurs anaérobies inoculés à l'aide de RB et de $62,1 \pm 17,33$ L biogaz kg^{-1} DCOt pour ceux inoculés à l'aide du liquide du RO après 166 jours de traitement. La quantité de CT et de EC a été significativement basse dans le digestat lorsque les AGV étaient inférieurs à 300 mg l^{-1} . Les grandes variations sur les résultats de comptage cellulaire et le comptage cellulaire élevé après 166 jours de traitement pour deux des trois types de bactéries pathogènes amènent à croire que la digestion anaérobie n'a pas été adaptée aux conditions de traitement psychrotrophe. Il aurait dû y avoir une compétition entre les populations de bactéries responsables de la digestion anaérobie et les bactéries pathogènes présentes dans le digesteur. Cette observation ajoutée à la faible production de biogaz sont des éléments qui contribuent à alimenter l'hypothèse d'un procédé non adapté, inapte à dégrader les matières organiques présentes avec efficacité et ainsi offrir une compétition aux bactéries pathogènes contenues dans les digesteurs anaérobies.

Le gel des fumiers entraîne une modification de sa population microbienne sans modifier de façon significative la composition chimique des matières organiques et minérales contenues dans ce dernier. L'amorce de la phase hydrolyse acidogène en milieu anaérobie des déjections de bœuf, congelées pendant plusieurs mois, a été suivie à l'intérieur d'incubateur afin de simuler l'effet de l'entreposage au champ. Le dénombrement des microorganismes pathogènes n'indique pas de différences significatives entre les déjections animales fraîches entreposées à 4 °C et les déjections animales préalablement congelées puis testées durant l'augmentation des températures entre 4 et 20 °C dans un milieu anaérobie.

La séparation de la digestion anaérobie en deux étapes n'a pas permis un démarrage complet de la digestion anaérobie des déjections de bovin riches en fibres

lignocellulosiques qui ont servi pour l'expérience. La séparation de la digestion anaérobie en deux étapes de procédé a permis de mesurer une augmentation de la production de méthane de 27,2 % en moyenne pour la durée de l'expérience et une production quotidienne de biogaz en moyenne 18,7 % plus élevée sur une base volumique. La production de méthane est faible en comparaison au potentiel méthanier des déjections de bovin mesuré dans des recherches précédentes. Aucune donnée publiée à notre connaissance n'a été répertoriée avec un fumier traité à des températures psychrotrophes et contenant une quantité de fibres lignocellulosiques aussi élevée (71,08 % ST). La teneur en solides totaux du mélange de substrats est demeurée entre 14,7 % et 18,3% de ST (base humide) dans le digesteur solide pour les digesteurs à deux étapes, alors que la teneur en solides totaux des digesteurs à une étape s'est maintenue entre 7,0 % et 7,8 %. La digestion anaérobie a permis de réduire de façon significative les bactéries coliformes totaux (-92,3 %) ainsi que les streptocoques fécaux (-98,5 %) contenus dans le fumier solide de bovin de boucherie. Elle n'a pas permis de conclure à des différences entre les deux traitements de l'essai. La période de traitement (alimentation, réaction) et le temps de traitement sont des facteurs qui peuvent expliquer la diminution des bactéries pathogènes.

Les essais réalisés sur la DAS sont réalisés avec parcimonie en milieu agricole et la faisabilité technique et économique n'ont pas été démontrées à des températures ambiantes ($\approx 20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Le potentiel biométhanier calculé après 100 jours de traitement à partir des courbes de méthane cumulé produites a été de $15,15\text{ L CH}_4\text{ kg}^{-1}\text{ SV}$ pour le fumier sans litière, $41,27\text{ L CH}_4\text{ kg}^{-1}\text{ SV}$ pour le mélange paille-mousse de sphaigne et $11,04\text{ L CH}_4\text{ kg}^{-1}\text{ SV}$ pour le mélange de litière bois : mousse de sphaigne. Les autres mélanges n'ont pas permis de calculer ce potentiel. Le contenu en lignine et en hémicellulose du substrat à traiter, le ratio hémicellulose/lignine et la production de méthane semblent être les paramètres qui expliquent davantage les différentes variations obtenues parmi tous les paramètres mesurés et pour les traitements étudiés. Les litières utilisées en agriculture (bois, paille et mousse de

sphaigne) se dégradent lentement par digestion anaérobie en lot discontinu inoculé à partir d'un inoculum non adapté, et cela, à une température psychrotrophe (20 °C). La production de méthane, le contenu en lignine, en hémicellulose et azote totale expliquent 94,5 % des variations des différents paramètres mesurés.

Cette étude pourrait être reprise en utilisant un inoculum adapté. Une analyse avec les litières pures serait également instructive. Des recherches plus approfondies sur les populations de microorganismes présents dans les litières utilisées ainsi que dans les digesteurs anaérobies et l'influence qu'ils peuvent amorcer sur la production de méthane à différentes teneurs en azote permettraient de mieux connaître les effets sur la dynamique microbienne responsable de la dégradation de matériaux organiques riches en fibres lignocellulosiques en milieu anaérobie. Des stratégies différentes de démarrage pourraient être essayées afin de favoriser une adaptation des microorganismes du rumen sous de meilleures conditions. Plusieurs températures d'adaptation devraient également être testées et comparées pour des recherches futures. Les populations de microorganismes peuvent s'adapter à certains changements des conditions environnementales pourvu que ces changements respectent les limites métaboliques des différents individus de population microbienne. Dans cet essai, les limites métaboliques semblent avoir été dépassées. D'autres essais avec des substances pures de cellulose, d'hémicellulose et de lignine ainsi que différentes sources de matières organiques dotées d'un contenu en fibres structurales variables en quantité et en types permettraient d'améliorer l'étude par l'observation de résultats sur une dispersion plus grande et des contrastes plus importants. Ces éléments permettraient d'améliorer la précision des caractéristiques physico-chimiques des substrats et leur apport prédictif sur le rendement méthanier. La recherche de microorganismes anaérobies qui s'attaquent à la lignine ou encore des méthodes de prétraitement qui permettraient de délier les fibres entre elles pourraient permettre d'améliorer la technique de la digestion anaérobie à des températures psychrotrophes puisque la cellulose et l'hémicellulose se dégradent à

ces conditions. Plusieurs procédés mécaniques, chimiques, thermochimiques ou enzymatiques existent et pourraient faire l'objet d'essais et de comparaisons avec ce type de matériel.

BIBLIOGRAPHIE

- Abbassi-Guendouz, A., D. Brockmann, E. Trably, C. Dumas, J.-P. Delgenès, J.-P. Steyer et R. Escudé. 2012. " Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation ". *Bioresource Technology*, no 111, p. 55-61.
- Agriculture et agroalimentaire Canada. 2011. Canada:perspectives des céréales et oléagineux http://www.agr.gc.ca/pol/mad-dam/index_f.php?s1=pubs&s2=go-co&s3=php&page=go-co_2011-01-28, Accédé (2012/2012-08-09).
- AgStar. 2007. " Anaerobic Digesters Continue Growth in U.S. Livestock Market ". *Agstar Digest*, no November, 2 pages.
- Ahn, H. K., M. C. Smith, S. L. Kondrad et J. W. White. 2010. " Evaluation of Biogas Production Potential by Dry Anaerobic Digestion of Switchgrass-Animal Manure Mixtures ". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 160, no 4, p. 965-975.
- Aldin, S., F. Tu, G. Nakhla et M. B. Ray. 2011. " Simulating the degradation of odor precursors in primary and waste-activated sludge during anaerobic digestion ". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 164, no 8, p. 1292-1304.
- Amon, B., V. Kryvoruchko, T. Amon et S. Zechmeister-Boltenstern. 2006a. "Methane, nitrous oxide and ammonia emissions during storage and after application of dairy cattle slurry and influence of slurry treatment". *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 112, no 2-3, p. 153-162.
- Amon, T., B. Amon, V. Kryvoruchko, V. Bodiroza, E. Potech et W. Zollitsch. 2006 b. " Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation ". *International Congress Series*, vol. 1293, p. 217-220.
- Angelidaki, I. et B. K. Ahring. 1993. " Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia ". *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 38, p. 560-564.

- Angelidaki, I., M. Alves, D. Bolzonella, L. Borzacconi, J. L. Campos, A. J. Guwy, S. Kalyuzhnyi, P. Jenicek et J. B. Van Lier. 2009. " Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays ". vol. 59, no, p. 927-934.
- Angelidaki, I., L. Ellegaard et B. K. Ahring. 1999. " A comprehensive model of anaerobic bioconversion of complex substrates to biogas ". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 63, no 3, p. 363-372.
- Ankom Technologies inc. 2009a. *Acid detergent fiber in feeds filter bag technique*.
- . 2009b. *Method for determining acid detergent lignin in beakers*.
- . 2009c. *Neutral detergent fiber in feeds filter bag technique*.
- Aquadiagnostic. 2010. PeCODtm COD analysers: Mandel Scientific Canada. 8 pages.
- Aranowski, R., J. Hupka et C. Jungnickel. 2010. " Changes in rheological properties during anaerobic digestion of activated sludge ". *Physicochemical problems of mineral processing*, vol. 44, p. 13-22.
- ASAE. 2002. Standards engineering practices data, St-Joseph, Michigan, USA: American Society for agricultural engineering. 1041 pages.
- Ayalon, O., Y. Avnimelech et M. Shechter. 2000. " Alternative MSW treatment options to reduce global greenhouse gases emissions ± the Israeli example ". *Waste Management & Research*, vol. 18, p. 538-544.
- Bailey, J. A., P. Amyotte et F. I. Khan. 2010. " Agricultural application of life cycle iNdeX (LInX) for effective decision making ". *Journal of Cleaner Production*, vol. 18, no 16-17, p. 1703-1713.
- Banks, C. J. c. 2004a. *Mathematical description of the AD process with high solids feedstock for design purposes*. Sustainable Energy System. Cropgen, Wageningen University. 23 pages.
- . 2004 b. *Standardised test procedures for assessing kinetic constants and evaluating reaction rates*. Southampton, UK: University of Southampton, Wageningen University. 27 pages.

- Barrington, S. 1994. " La gestion des engrais de ferme ". *Plan global de fertilisation intégrée : Guide de l'étudiant*, Québec : Université Laval et Université McGill. p. 50-60.
- Batool, S. A. et M. N. Chuadhry. 2009. " The impact of municipal solid waste treatment methods on greenhouse gas emissions in Lahore, Pakistan ". *Waste Management*, vol. 29, p. 63-69.
- Batstone, D. J., J. L. A. Hernandez et J. E. Schmidt. 2005. " Hydraulics of laboratory and full-scale upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors ". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 91, no 3, p. 387-391.
- Batstone, D. J., J. Keller, I. Angelidaki, S. V. Kalyuzhnyi, S. G. Pavlostathis, A. Rozzi, W. T. Sanders, H. Siegrist et V. A. Vavilin. 2002. " The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1) ". *Water Science and Technology*, vol. 45, no 10, p. 65-73.
- Beaudin, I. 2006. *Revue de littérature : La mobilité du phosphore*. Québec, Canada: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec. 143 pages.
- Berglund, M. et P. Borjesson. 2006. " Assessment of energy performance in the life-cycle of biogas production ". *Biomass & Bioenergy*, vol. 30, p. 254-266.
- Blumensaat, F. et J. Keller. 2005. " Modelling of two-stage anaerobic digestion using the IWA Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) ". *Water Research*, vol. 39, no 1, p. 171-183.
- Bogner, J., M. Abdelrafie Ahmed, C. Diaz, A. Faaij, Q. Gao, S. Hashimoto, K. Mareckova, R. Pipatti et T. Zhang. 2007. *Mitigation of global greenhouse gas emissions from waste: conclusions and strategies from the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) Fourth Assessment Report. Working Group III (Mitigation)*. Cambridge University Press, Cambridge, (United Kingdom) and New York, (USA). p. 11-32.
- Bollon, J., R. Le-hyarc, H. Benbelkacem et P. Buffiere. 2011. " Development of a kinetic model for anaerobic dry digestion processes: Focus on acetate degradation and moisture content ". *Biochemical Engineering Journal*, vol. 56, no 3, p. 212-218.
- Bolzonella, D., P. Pavan, S. Mace et F. Cecchi. 2006. " Dry anaerobic digestion of differently sorted organic municipal solid waste: a full-scale experience ". *Water Science and Technology*, vol. 53, no 8, p. 23-32.

- Bouallagui, H., Y. Touhami, R. Ben Cheikh et M. Hamdi. 2005. " Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes ". *Process Biochemistry*, vol. 40, no 3-4, p. 989-995.
- BPR. 2008. *Suivi 2007 du Portrait agroenvironnemental des fermes du Québec*. Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), Union des producteurs agricoles (UPA), Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC). 72 pages.
- Braun, R. 2007. " Anaerobic digestion: a multi-faceted process for energy, environmental management and rural development " *Improvement of Crop Plants for Industrial End Uses* , P. Ranalli, Springer, Netherlands, Chapter 13, p. 335-416
- Buswell, A. M. et H. F. Mueller. 1952. " Mechanism of Methane Fermentation ". *Industrial & Engineering Chemistry*, vol. 44, no 3, p. 550-552.
- C.P.V.Q. 2000. " Gestion de la matière organique ". In *Guide des bonnes pratiques de conservation en grandes cultures*, 12 pages.
- CDAQ. 2007. " Les pratiques agricoles et les gaz à effet de serre ". vol. Fiches Agricoles, 2 pages.
- Chambers, P., C. DeKimpe, N. Foster, M. Goss, J. Miller et E. Prepas. 2008. Effets de l'utilisation des terres pour l'agriculture et l'exploitation forestière <http://www.ec.gc.ca/inre-nwri/default.asp?lang=Fr&n=235D11EB-1&offset=14&toc=show#eta>, Accédé (/2010-01-15).
- Chandler, J. A., W. J. Jewell et J. M. Gossett. 1980. " Predicting methane fermentation biodegradability ". *Biotechnology Bioengineering Symposium*, vol. no 10, p. 93-107.
- Chandra, R., H. Takeuchi et T. Hasegawa. 2012. " Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production ". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 16, no 3, p. 1462-1476.
- Chantigny, M. H., P. Rochette, D. A. Angers, S. Bittman, K. Buckley, D. I. Massé, G. Bélanger, N. Eriksen-Hamel et M.-O. Gasser. 2010. " Soil nitrous oxide emissions following band-incorporation of fertilizer nitrogen and swine manure ". *Journal of Environmental Quality*, vol. 39, p. 1545-1553.

- Chen, G., Z. Chang et X. Ye. 2011. " Feasibility of anaerobic batch co-digestion of peat and rice straw for biogas production ". *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 20, no 10 A, p. 2776-2784.
- Chen, Y., J. J. Cheng et K. S. Creamer. 2008. " Inhibition of anaerobic digestion process: A review ". *Bioresource Technology*, vol. 99, no 10, p. 4044-4064.
- Chynoweth, D. P., D. E. Jerger et V. J. Srivastava. 1985. Biological gasification of woody biomass. Society of Automotive Engineers Inc., p. 573-579.
- Clemens, J. et A. Huschka. 2001. " The effect of biological oxygen demand of cattle slurry and soil moisture on nitrous oxide emissions ". *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, vol. 59, p. 193-198.
- Clément, M. F. et A. N'Dayegamiye. 2009. Rotations dans la culture de pomme de terre: bilans humiques et logiciel de calcul. *Colloque sur la pomme de terre : une production à protéger* : CRAAQ, p. 1-6.
- Clements, R. P. L. 1983. "Sludge hygienization by means of pasteurisation prior to digestion". *Bruce, A.M., Havelaar, A.H., L'Hermite, P.L. Editions, Disinfection of Sewage Sludge: Technical, Economic and Microbiological Aspects*, p. 37-52.
- Collins, G., A. Woods, S. McHugh, M. W. Carton et V. O'Flaherty. 2003. " Microbial community structure and methanogenic activity during start-up of psychrophilic anaerobic digesters treating synthetic industrial wastewaters ". *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 46, no 2, p. 159-170.
- Connaughton, S., G. Collins et V. O'Flaherty. 2006. " Development of microbial community structure and activity in a high-rate anaerobic bioreactor at 18 °C ". *Water Research*, vol. 40, no 5, p. 1009-1017.
- Conseil de la Science et de la Technologie. 2008. *Défi Énergies nouvelles et renouvelables - Plan stratégique d'innovation en efficacité énergétique et en nouvelles technologies de l'énergie*. Québec, Gouvernement du Québec. 82 pages.
- Cornejo, C. et A. C. Wilkie. 2010. " Greenhouse gas emissions and biogas potential from livestock in Ecuador ". *Energy for Sustainable Development*, vol. 14, no 4, p. 256-266.

- Côté, C., D. I. Massé et S. Quessy. 2006. " Reduction of indicator and pathogenic microorganisms by psychrophilic anaerobic digestion in swine slurries ". *Bioresource Technology*, vol. 97, no 4, p. 686-691.
- Côté, D. 2005. *Guide de conception des amas de fumier au champ*. Institut de recherche et de développement en agroenvironnement, Québec, 58 pages.
- Crolla, A., C. Kinsley, É. Désilets, E. Pattey, R. Desjardins, B. Ball-Coelho et T. Sahota. 2008. Anaerobic digestion of liquid dairy manure at medium size farms in Ontario. In *Growing the Margins Conference*, London, Ontario, Canada. p. 1-25.
- Crolla, A., C. Kinsley, D. Joy, R. Montpellier, C. Leduc et J. Irvén. 2010. Environmental impacts from on-farm digesters and land application of raw vs digested dairy manure. *Growing the margins: green energy and economy for the farm and food sectors*, London, Ontario, Canada. p. 1-20.
- Crolla, A., C. Kinsley et K. Kennedy. 2004. Anaerobic digestion in Canada, Alfred, Canada. 44 pages.
- Cysneiros, D., C. J. Banks, S. Heaven et K. A. G. Karatzas. 2011. " The role of phase separation and feed cycle length in leach beds coupled to methanogenic reactors for digestion of a solid substrate (Part 2): Hydrolysis, acidification and methanogenesis in a two-phase system ". *Bioresource Technology*, vol. 102, no 16, p. 7393-7400.
- De Baere, I. et B. Mattheeuws. 2010. " Expériences de digestion anaérobie sèche à taux élevée de plantes énergétiques ". *L'eau, L'industrie, Les nuisances*, vol. 334, p. 94-98.
- De Baere, L. A., M. Devocht, P. Van Assche et W. Verstraete. 1984. " Influence of high NaCl and NH₄Cl salt levels on methanogenic associations ". *Water Research*, vol. 18, no 5, p. 543-548.
- De Luca, G., F. Zanetti, P. Fateh-Moghadm et S. Stampi. 1998. " Occurrence of *Listeria monocytogenes* in sewage sludge ". *Zentralbl Hyg Umweltmed.*, vol.201, p. 269-277.
- Degrémont. 1989. Memento technique de l'eau, Paris : Lavoisier - Technique et Documentation. 9^{ième} édition, 1450 pages.

- . 2005. *Memento technique de l'eau*, Paris : Lavoisier - Technique et Documentation. 10^{ième} édition, 1450 pages.
- Demirel, B. et P. Scherer. 2008. " The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review ". *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, vol. 7, no 2, p. 173-190.
- Demirer, G. N. et S. Chen. 2005. " Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure ". *Process Biochemistry*, vol. 40, p. 3542-3549.
- Donoso-Bravo, A., C. Retamal, M. Carballa, G. Ruiz-Filippi et R. Chamy. 2009. " Influence of temperature on the hydrolysis, acidogenesis and methanogenesis in mesophilic anaerobic digestion: parameter identification and modeling application ". *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, vol. 60, no 1, p. 9-17.
- Doyon, M., M. Mondon et S. Mondor. 2011. *Impacts du développement des biocarburants de seconde génération sur le marché des matières résiduelles*. Montréal: CIRANO. 17 pages.
- Eastman, J. A. et J. F. Ferguson. 1981. " Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion ". *Journal of the Water Pollution Control Federation*, vol. 53, no 3 I, p. 352-366.
- Eaton, A. D., L. S. Clesceri, E. W. Rice et A. E. Greenberg. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*. Washington, DC, USA. American Public Health Association. 1496 pages.
- Environnement Canada. 2001. Menaces pour les sources d'eau potable et les écosystèmes aquatiques au Canada <http://www.ec.gc.ca/inrenwri/default.asp?lang=Fr&n=235D11EB-1&offset=1&toc=show>, Accédé (2008/2008-11-22).
- . 2011. *National inventory report - Greenhouse gas sources and sinks in Canada*. ISSN : 1706-3353. Ottawa, 20 pages.
- Escudié, R., R. Cresson, J. P. Delgenès et N. Bernet. 2011. " Control of start-up and operation of anaerobic biofilm reactors: An overview of 15 years of research ". *Water Research*, vol. 45, no 1, p. 1-10.

- Fairchild, G. L., D. A. J. Barry, M. J. Goss, A. S. Hamill, P. Lafrance, P. H. Milburn, R. R. Simard et B. J. Zebarth. 2000. *La qualité de l'eau souterraine*. no 2020/F. Ottawa, Canada: Agriculture et Agroalimentaire Canada. 185 pages.
- Fay, J. P. et R. N. Farias. 1979. " Different responses of *Escherichia coli* strains to the inhibition by fatty acids ". *Journal of General and Applied Microbiology*, vol. 25, no 1, p. 59-62.
- Flesch, T. K., R. L. Desjardins et D. Worth. 2011. " Fugitive methane emissions from an agricultural biodigester ". *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no 9, p. 3927-3935.
- Forster-Carneiro, T., M. Pérez et L. I. Romero. 2008. " Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste ". *Bioresource Technology*, vol. 99, no 15, p. 6994-7002.
- Fujishima, S., T. Miyahara et T. Noike. 1999. " Effect of moisture content on anaerobic digestion of dewatered sludge: Ammonia inhibition to carbohydrate removal and methane production ". *Proceedings of the Second International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes*, vol. 1, p. 348-355.
- Gadre, R. V., D. R. Ranade et S. H. Godbole. 1986. " A note on survival of *Salmonellas* during anaerobic digestion of cattle dung ". *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 60, p. 93-96.
- Gan, J., L. Chen, B. Li, W. Jiang et Y. Kitamura. 2008. " A rotational drum fermentation system with water flushing for enhancing hydrolysis and acidification of solid organic wastes ". *Bioresource Technology*, vol. 99, no 7, p. 2571-2577.
- Gerardi, M. H. 2003. *The Microbiology of anaerobic digesters, Wastewater microbiology series*. USA & Canada, Wiley-Interscience, 175 pages.
- Ghosh, S. et D. L. Klass. 1978a. Methane production from peat by anaerobic digestion. In *Symposium Papers: Energy from Biomass and Wastes*: Institute of Gas Technology, p. 645-676.
- Ghosh, S. et D. L. Klass. 1978 b. "Two-phase anaerobic digestion". *Process Biochemistry*, no April, p. 15-24.

- Gijzen, H. J., K. B. Zwart, F. J. M. Verhagen et G. D. Vogels. 1988. " High-rate two-phase process for the anaerobic degradation of cellulose, employing rumen microorganisms for an efficient acidogenesis ". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 31, no 5, p. 418-425.
- Girault, R., G. Bridoux, F. Nauleau, C. Poullain, J. Buffet, J. P. Steyer, A. G. Sadowski et F. Béline. 2012. " A waste characterisation procedure for ADM1 implementation based on degradation kinetics ". *Water Research*, vol. 46, no 13, p. 4099-4110.
- Godbout, S., F. Pelletier et S. Fournel. 2011. *Mesure et évaluation des émissions de gaz et d'odeurs issues de différentes stratégies de gestion des déjections en production d'œufs de consommation : Rapport final*. No 100034. Québec. 88 pages.
- Gouvernement du Québec, ministère du développement durable de l'environnement et des parcs et direction des politiques de l'eau service des eaux industrielles. 2007. *Bilan annuel de conformité environnementale : secteur des pâtes et papiers*. Québec, Canada, 222 pages.
- , MDDEP. 2008. *Rapport final - Comité amas au champ et enclos d'hivernage*. ISBN : 978-2-550-54654-2. Québec, 82 pages.
- Griffin, M. E., McMahon, K.D., Mackie, R. I., Raskin L. . 1998. " Methanogenic Population Dynamics during Start-Up of Anaerobic Digesters Treating Municipal Solid Waste and Biosolids ". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 57, no 3, p. 342-355.
- Gujer, W. et A. J. B. Zehnder. 1983. " Conversion processes in anaerobic digestion ". *Water Science and Technology*, vol. 15, no 8-9, p. 127-167.
- Gunaseelan, V. N. 2004. "Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks". *Biomass and Bioenergy*, vol. 26, no 4, p. 389-399.
- Hansen, K. H., Angelinaki I, Ahring B. K. 1998. "Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia ". *Water Research*, vol. 32, No. 1, p. 5-12.
- Hansen, M. N., K. Henriksen et S. G. Sommer. 2006. " Observations of production and emission of greenhouse gases and ammonia during storage of solids separated from pig slurry: Effects of covering ". *Atmospheric Environment*, vol. 40, p. 4172-4181.

- Hartung, H. A. 1992. "Stimulation of anaerobic digestion with peat humic substance". *Science of the Total Environment*, vol. 113, no 1-2, p. 17-33.
- He, P. 2010. "Anaerobic digestion: An intriguing long history in China". *Waste Management*, vol. 30, p. 549-550.
- Hilborn, D. 2010. *Biogas, going forward*, London: OMAFRA. 16 pages.
- Himedia. 2011. "KF Streptococcus Hiveg Broth Base w/BCP: Technical Data ", 2 pages.
- Hishinuma, T., H. Kurishima, C. Yang et Y. Genchi. 2008. " Using a life cycle assessment method to determine the environmental impacts of manure utilisation: Biogas plant and composting systems ". *Australian Journal of Experimental Agriculture*, vol. 48, no 1-2, p. 89-92.
- Hobson, P. N. 1983. "The kinetics of anaerobic digestion of farm wastes". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 33 B, no 1, p. 1-20.
- Hoffmann, R. A., M. L. Garcia, M. Veskivar, K. Karim, M. H. Al-Dahhan et L. T. Angenent. 2008. " Effect of shear on performance and microbial ecology of continuously stirred anaerobic digesters treating animal manure ". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 100, no 1, p. 38-48.
- Houghton, J. T. 1997. " Lignes directrices du GIEC pour les inventaires nationaux de gaz à effet de serre—, ". *Groupe Intergouvernemental sur l'Évolution du Climat*, no Version révisée 1996. 44 pages.
- Houle, G., C. Chhem et R. Bougie. 2002. *Inventaire québécois des gaz à effet de serre 1990-2000*. Québec, Canada: Ministère de l'Environnement du Québec. 93 pages.
- Huang, Q., O. Wohlgemut, N. Cicek, J. France et E. Kebreab. 2010. " A mechanistic model for simulating methane emissions from unstirred liquid manure storages ". *Canadian journal of Soil Science*, vol. 90, no 3, p. 507-516.
- Hutchinson, N. J., B. P. Neary et P. J. Dillon. 1991. " Validation and use of Ontario trophic status model for establishing lake development guidelines ". *Lake and reservoir management*, vol. 7, no 1, p. 13-23.

- Hydro-Québec. 2009a. *Liste des soumissions retenues*. 1 page.
- . 2009b. *Rapport sur le développement durable 2009*. 44 pages.
- Hyenstrand, P., P. Blomqvist et A. Petterson. 1998. " Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems - a literature review ". *Archiv für Hydrobiologie, Special Issues in Advanced Limnology*, vol. 51, p. 41-62.
- Jolliet, O., M. Saadé et P. Crettaz. 2005. *Analyse du cycle de vie, comprendre et réaliser un écobilan* no. 23, *Collection gérer l'environnement*. Lausanne, (Suisse), École polytechnique fédérale de Lausanne. 242 pages.
- Jury, C., E. Benetto, D. Koster, B. Schmitt et J. Weltring. 2010. " Life Cycle Assessment of biogas production by monofermentation of energy crops and injection into the natural gas grid ". *Biomass and Bioenergy*, vol. 34, no 1, p. 54-66.
- Kalyuzhnyi, S., A. Veeken et B. Hamelers. 2000. Two-particle model of anaerobic solid state fermentation. In *Water Science and Technology*, Barcelona, Spain: Int Water Assoc. p. 43-50.
- Kayhanian, M. 1999. "Ammonia inhibition in high-solids biogasification: An overview and practical solutions". *Environmental Technology*, vol. 20, no 4, p. 355-365.
- Kayhanian, M., G. Tchobanoglous et J. Mata-Alvarez. 1996. "Development of a mathematical model for the simulation of the biodegradation of organic substrates in a high-solids anaerobic digestion process". *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 66, no 3, p. 312-322.
- Kearney, T. E., M. J. Larkin et P. N. Levett. 1993. "The effect of slurry storage and anaerobic digestion on survival of pathogenic bacteria". *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 74, p. 86-93.
- Kebreab, E., K. Clark, C. Wagner-Riddle et J. France. 2006. " Methane and nitrous oxide emissions from Canadian animal agriculture: A review ". *Canadian Journal of Animal Science*, vol. 86, p. 135-158.
- Keller, U. 1983. "Experiences and development of sludge pasteurization in Altenrhein". *P.L Edition, Disinfection of Sewage Sludge: Technical, Economic and Microbiological Aspects*, p. 53-67.

- Kim, J., C. Park, T. H. Kim, M. Lee, S. Kim, S. W. Kim et J. Lee. 2003. " Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge ". *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 95, no 3, p. 271-275.
- King, S. M., S. Barrington et S. R. Guiot. 2011. "In-storage psychrophilic anaerobic digestion of swine manure: Acclimation of the microbial community". *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no 8, p. 3719-3726.
- Kinsley, C., K. Kennedy et A. Crolla. 2012. "Modelling and application of an uncovered freezing bed technology for septage treatment". *Canadian Journal of Civil Engineering*, vol. 39, no 10, p. 1136-1144.
- Klimiuk, E., T. Pokój, W. Budzyński et B. Dubis. 2010. "Theoretical and observed biogas production from plant biomass of different fibre contents". *Bioresource Technology*, vol. 101, no 24, p. 9527-9535.
- Koch, K., M. Lübken, T. Gehring, M. Wichern et H. Horn. 2010. " Biogas from grass silage - Measurements and modeling with ADM1 ". *Bioresource Technology*, vol. 101, no 21, p. 8158-8165.
- Kristoufek, L., K. Janda et D. Zilberman. 2012. " Correlations between biofuels and related commodities before and during the food crisis: A taxonomy perspective ". *Energy Economics*, vol. 34, no 5, p. 1380-1391.
- Kunte, D. P., T. Y. Yeole, S. A. Chiplonkar et D. R. Ranade. 1998. "Inactivation of Salmonella typhi by high levels of volatile fatty acids during anaerobic digestion". *Journal of Applied Microbiology*, vol. 84, no 1, p. 138-142.
- Kunte, D. P., T. Y. Yeole et D. R. Ranade. 2000a. "Effect of volatile fatty acids on Shigella dysenteriae during anaerobic digestion of human night soil". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 16, no 6, p. 519-522.
- . 2000b. "Inactivation of Vibrio cholerae during anaerobic digestion of human night soil ". *Bioresource Technology*, vol. 75, no 2, p. 149-151.
- Labatut, R. A., L. T. Angenent et N. R. Scott. 2011. " Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates ". *Bioresource Technology*, vol. 102, No.3, p. 2255-2264.

- Labelle, M. et H. Fournier, D. d. l. a. d. l. faune. 2001. *Prédiction de la concentration de phosphore total dans l'eau du lac Saint-Pierre en fonction des apports de son bassin versant*. Outaouais: Société de la faune et des parcs du Québec, 48 pages.
- Lacourt, M. 2011. " Enrichment of methanogenic microcosms on recalcitrant lignocellulosic biomass ". Dissertation Master of Applied Science, Toronto, Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, University of Toronto, 139 pages.
- Laflamme, C. B. 2007. Production électrique à partir du biogaz de ferme. In *Journée sur la méthanisation des engrais de ferme Ste-Julie*. p.74-87.
- Lanez, G. 2005. *Les cyanobactéries ou les algues bleues*. Eaux et rivières de Bretagne. 4 pages.
- Larney, F. J., L. J. Yanke, J. J. Miller et T. A. McAllister. 2003. " Fate of coliform bacteria in composted beef cattle feedlot manure ". *Journal of Environmental Quality*, vol. 32, no 4, p. 1508-1515.
- Larsen, H. E., B. Munch et J. Schlundt. 1994. "Use of indicators for monitoring the reduction of pathogens in animal waste treated in BGPs.". *Zentralbl. Hyg. Umweltmed*, vol. 195, p. 544-555.
- Lavoie, I., I. Laurion et W. F. Vincent. 2007. *Les fleurs d'eau de cyanobactéries, document d'information vulgarisée*. No iii, 27 pages.
- Le Hyaric, R., C. Chardin, H. Benbelkacem, J. Bollon, R. Bayard, R. Escudié et P. Buffière. 2011. " Influence of substrate concentration and moisture content on the specific methanogenic activity of dry mesophilic municipal solid waste digestate spiked with propionate ". *Bioresource Technology*, vol. 102, no 2, p. 822-827.
- Legrand, R. et W. J. Jewell. 1987. Continuous anaerobic digestion of high solids biomass: modelling and experiments. *Symposium Papers - Energy from Biomass and Wastes*, Energy from Biomass and Wastes X. Washington, DC, USA: Institute of Gas Technology. p. 1077-1095.
- Lehtomaki, A., S. Huttunen et J. A. Rintala. 2006. " Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio ". *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 51, p. 591-609.

- Lesteur, M., E. Latrille, V. B. Maurel, J. M. Roger, C. Gonzalez, G. Junqua et J. P. Steyer. 2011. " First step towards a fast analytical method for the determination of Biochemical Methane Potential of solid wastes by near infrared spectroscopy ". *Bioresource Technology*, vol. 102, no 3, p. 2280-2288.
- Li, Y., S. Y. Park et J. Zhu. 2011. " Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste ". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 15, no 1, p. 821-826.
- Lissens, G., P. Vandevivere, L. De Baere, E. M. Biey et W. Verstraete. 2001. " Solid waste digestors: Process performance and practice for municipal solid waste digestion ". vol. 44, no, p. 91-102.
- Liu, C. f., X. z. Yuan, G. m. Zeng, W. w. Li et J. Li. 2008. "Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste". *Bioresource Technology*, vol. 99, no 4, p. 882-888.
- Lübken, M., T. Gehring et M. Wichern. 2009. "Microbiological fermentation of lignocellulosic biomass: current state and prospects of mathematical modeling". *Applied Microbiology and Biotechnology*, p. 1-10.
- Lübken, M., M. Wichern, M. Schlattmann, A. Gronauer et H. Horn. 2007. "Modelling the energy balance of an anaerobic digester fed with cattle manure and renewable energy crops". *Water Research*, vol. 41, no 18, p. 4085-4096.
- MAPAQ, 1999. *Guide de bonnes pratiques agroenvironnementales pour la gestion des fumiers des bovins de boucherie*. Longueuil: Fédération des producteurs de bovins du Québec, 45 pages.
- Massé, D., Y. Gilbert et E. Topp. 2011. "Pathogen removal in farm-scale psychrophilic anaerobic digesters processing swine manure". *Bioresource Technology*, vol. 102, no 2, p. 641-646.
- Massé, D. I. 1995. " Psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry intermittently fed sequencing batch reactor ". PhD. Thesis, Ottawa, (Canada), Civil Engineering, University of Ottawa, 180 pages.
- Massé, D. I., F. Croteau et L. Masse. 2007. " The fate of crop nutrients during digestion of swine manure in psychrophilic anaerobic sequencing batch reactors ". *Bioresource Technology*, vol. 98, p. 2819-2823.

- Massé, D. I., F. Croteau, N. K. Patni et L. Masse. 2003. " Methane emissions from dairy cow and swine manure slurries stored at 10°C and 15°C ". *Canadian Biosystems Engineering / Le Genie des biosystèmes au Canada*, vol. 45, p. 6.1-6.6.
- Massé, D. I., D. Lu, L. Masse et R. L. Droste. 2000. " Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors ". *Bioresource Technology*, vol. 75, no 3, p. 205-211.
- Massé, D. I., G. Talbot et Y. Gilbert. 2011. " On farm biogas production: A method to reduce GHG emissions and develop more sustainable livestock operations ". *Animal Feed Science and Technology*, vol. 166-167, p. 436-445.
- Mata-Alvarez, J. 1987. "A Dynamic simulation of a two-phase anaerobic digestion system for solid wastes". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 30, no 7, p. 844-851.
- Mata-Alvarez, J., S. Macé et P. Llabrés. 2000. "Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives". *Bioresource Technology*, vol. 74, no 2000, p. 3-16.
- Matsuda, J. 2012. Biogas production from cattle manure in Japan: the present situation and future prospects. *Student presentation* Hokkaido University. 1 page.
- McCarty, P. L. 1972. *Energetics of organic matter degradation, Water Pollution Microbiology*. New York: R. Mitchell Wiley-Interscience. 91 pages.
- . 1991. " Modelling of anaerobic digestion processes (a discussion of concepts) ". *Water Science and Technology*, vol. 24, no 8, p. 17-33.
- McGarvey, J. A., W. G. Miller, R. Zhang, Y. Ma et F. Mitloehner. 2007. "Bacterial Population Dynamics in Dairy Waste during Aerobic and Anaerobic Treatment and Subsequent Storage". *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, no 1, p. 193-202.
- McGinn, S. M. et S. G. Sommer. 2007. "Ammonia emissions from land-applied beef cattle manure". *Canadian journal of Soil Science*, vol. 87, p. 345-352.
- Minnes, G. 2012. Industrie des pâtes et papiers <http://www.thecanadianencyclopedia.com/articles/fr/industrie-des-pates-et-papiers>, Accédé (2012/2012-08-22).

- Mohan, S. et B. K. Bindhu. 2008. " Effect of phase separation on anaerobic digestion of kitchen waste ". *Journal of Environmental Engineering and Science*, vol. 7, no 2, p. 91-103.
- Moletta, R. et F. Cansell. 2003. *Méthanisation des déchets organiques*. No 01-0408/1A. France: Réseau coopératif de recherche sur les déchets. 194 pages.
- Moletta, R. (coordonnateur). 2011. *La méthanisation*. 2ième éd. Paris:É. TEC&DOC Lavoisier. 552 pages.
- Møller, H. B., S. G. Sommer et B. K. Ahring. 2004. " Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure ". *Biomass and Bioenergy*, vol. 26, no 5, p. 485-495.
- Monteny, G. J., A. Bannink et D. Chadwick. 2006. " Greenhouse gas abatement strategies for animal husbandry ". *Agriculture, Ecosystems and Environment*, vol. 112, no 2-3, p. 163-170.
- Montusiewicz, A., M. Lebiocka, A. Rozej, E. Zacharska et L. Pawłowski. 2010. " Freezing/thawing effects on anaerobic digestion of mixed sewage sludge ". *Bioresource Technology*, vol. 101, no 10, p. 3466-3473.
- Morin, P., B. Marcos, C. Moresoli et C. B. Laflamme. 2010. " Economic and environmental assessment on the energetic valorization of organic material for a municipality in Quebec, Canada ". *Applied Energy*, vol. 87, no 1, p. 275-283.
- 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 and Technology*, vol. 15, no 8-9, p. 209-232.
- MSSS. 2007. Liste régionale des mises en garde et des avis de santé publique reliés aux lacs et rivières affectés par les algues bleu-vert en 2007 http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/environnement/index.php?repertoire_lacs_rivieres, Accédé (2014/11/01).
- Muller, C. 2007. *Anaerobic Digestion of Biodegradable Solid Waste in Low- and Middle-Income Countries*. Dubendorf, Schweizurland: Eawag. 63 pages.

- Nair, S., Y. Kuang et P. Pullammanappallil. 2005. " Enhanced degradation of waste grass clippings in one and two stage anaerobic systems ". *Environmental Technology*, vol. 26, p. 1003-1101.
- Narihiro, T. et Y. Sekiguchi. 2007. " Microbial communities in anaerobic digestion processes for waste and wastewater treatment: a microbiological update ". *Current opinion in biotechnology*, vol. 18, p. 273-278.
- Nayono, S. E., J. Winter et C. Gallert. 2010. " Anaerobic digestion of pressed off leachate from the organic fraction of municipal solid waste ". *Waste Management*, vol. 30, no 10, p. 1828-1833.
- Nopharatana, A., P. C. Pullammanappallil et W. P. Clarke. 2007. "Kinetics and dynamic modelling of batch anaerobic digestion of municipal solid waste in a stirred reactor". *Waste Management*, vol. 27, no 5, p. 595-603.
- Novak, S. M. et J. L. Fiorelli. 2010. " Greenhouse gases and ammonia emissions from organic mixed crop-dairy systems: a critical review of mitigation options ". *Agronomy for sustainable development*, vol. 30, p. 215-236.
- Nozhevnikova, A. N., V. Nekrasova, A. Ammann, A. J. B. Zehnder, B. Wehrli et C. Holliger. 2007. "Influence of temperature and high acetate concentrations on methanogenesis in lake sediment slurries ". *Federation of European Microbiological Societies, Published by Blackwell Publishing Ltd. All rights reserved*, vol. 62, p. 336-344.
- Nozhevnikova, A. N., M. V. Simankova, S. N. Parshina et O. R. Kotsyurbenko. 2001. " Temperature characteristics of methanogenic archaea and acetogenic bacteria isolated from cold environments ". *Water Science and Technology*, vol. 44, no 8, p. 41-48.
- O'Flaherty, V., G. Collins et T. Mahony. 2006. " The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment ". *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, vol. 5, p. 39-55.
- Observ'ER. 2010. *État des énergies renouvelables en Europe 2010*. 203 pages.
- Olsen, J. E., J. B. Jorgensen et P. Nansen. 1985. " On the reduction of Mycobacterium aratuberculosis in bovine slurry subjected to batch mesophilic or thermophilic anaerobic digestion ". *Agricultural Wastes*, vol. 13, p. 273-280.

- Örmeci, B. et P. Aarne Vesilind. 2001. "Effect of dissolved organic material and cations on freeze-thaw conditioning of activated and alum sludges". *Water Research*, vol. 35, no 18, p. 4299-4306.
- Pandey, P. K., P. M. Ndegwa, M. L. Soupir, J. R. Alldredge et M. J. Pitts. 2011. "Efficacies of inocula on the startup of anaerobic reactors treating dairy manure under stirred and unstirred conditions ". *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no 7, p. 2705-2720.
- Pavlostathis, S. G. et E. Giraldo-Gomez. 1991. " Kinetics of anaerobic treatment: A critical review ". *Critical Reviews in Environmental Control*, vol. 21, no 5-6, p. 411-490.
- Pavlostathis, S. G. et J. M. Gossett. 1986. " A Kinetic model for anaerobic digestion of biological sludge ". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 28, no 10, p. 1519-1530.
- Perez, M., J. Fernandez et L. I. Romero. 2008. " Effect of substrate concentration on dry mesophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) ". *Bioresource Technology*, vol. 99, no 14, p. 6075-6080.
- Pevere, A. 2006." Apport des mesures rhéologiques à l'étude des biomasses épuratoires granulaires anaérobies ". Docteur ès Philosophie, Limoges, France, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Limoges, 157 pages.
- Plym-Forsshell, L. 1995. "Survival of Salmonellas and Ascaris suum eggs in a termophilic BGP". *Department of Animal Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Skara*, vol. 36, no 1, p. 79-85.
- Pohland, F. G. et S. Ghosh. 1971. " Development in anaerobic stabilization of organic wastes. The two- phase concept ". *Environ Lett*, vol. 1, no 4, p. 255-266.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing, Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. 942 pages.
- Rapport, J., R. Zhang, B. M. Jenkins et R. B. Williams. 2008. *Current anaerobic digestion technologies used for treatment of municipal organic solid waste*. Davis. 90 pages.

- Raynal, J., J. P. Delgenks et R. Moletta. 1998. " Two-phase anaerobic digestion of solid wastes by a multiple liquefaction reactors process ". *Bioresource Technology*, vol. 65, p. 97-103.
- Rebac, S., J. van Lier, P. Lens, AJM. Stams, F. Dekkers, KThM Swinkels & G Lettinga. 1999. " Psychrophilic anaerobic treatment of low-strength wastewaters ". *Water Science and Technology*, vol. 39, p. 203-210.
- Revéret, J.-P., C. Brodeur et C. Michaud. 2006. *Profil de consommation d'énergie à la ferme dans six des principaux secteurs de production agricole du Québec*. Rapport no.1. Québec: Groupe AGÉCO. 86 pages.
- Richards, B. K., R. J. Cummings, T. E. White et W. J. Jewell. 1991. " Methods for kinetic analysis of methane fermentation in high solids biomass digesters ". *Biomass and Bioenergy*, vol. 1, no 2, p. 65-73.
- Rivard, C. J., N. J. Nagle, W. S. Adney et M. E. Himmel. 1993. " Anaerobic bioconversion of municipal solid wastes - Effects of total solids levels on microbial numbers and hydrolytic enzyme activities ". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 39-40, no 1, p. 107-117.
- Rosso, L., J. R. Lobry, S. Bajard et J. P. Flandrois. 1995. "Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth". *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 61, no 2, p. 610-616.
- Rouse, J. D., C. A. Bishop et e. J. Struger. 1999. "Nitrogen pollution: An assessment of its threat to amphibian survival". *Environmental Health Perspectives*, vol. 107, p. 799-803.
- Saady, N. M. C. et D. I. Massé. 2013. "Psychrophilic anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: A characterization study". *Bioresource Technology*, vol. 142, no 0, p. 663-671.
- Sahlstrom, L. 2003. "A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants". *Bioresource Technology*, vol. 87, no 2, p. 161-166.
- Sanders, W. T. M. 2001."Anaerobic hydrolysis during digestion of complex substrates". Thèse de doctorat, Proefschrift Wageningen, 106 pages.

- Sans, C., J. Mata-Alvarez, F. Cecchi, P. Pavan et A. Bassetti. 1995. " Volatile fatty acids production by mesophilic fermentation of mechanically-sorted urban organic wastes in a plug-flow reactor ". *Bioresource Technology*, vol. 51, no 1, p. 89-96.
- Sarrazin, A. 2007. " Communication personnelle ".
- Schäfer, W., M. Lehto et F. Teye. 2006. "Dry anaerobic digestion of organic residues on farm - a feasibility study". *Agrifood Research Reports*, vol. 77, no MTT Agrifood Research Finland, 80 pages.
- Schievano, A., G. D'Imporzano et F. Adani. 2009. " Substituting energy crops with organic wastes and agro-industrial residues for biogas production ". *Journal of Environmental Management*, vol. 90, no 8, p. 2537-2541.
- Schnürer, A. et Å. Jarvis. 2010. *Microbiological Handbook for biogas plants, Swedish waste management, Swedish gas centre report*. Victoria, British Columbia, Canada: Branch Ministry of Agriculture and Lands. 142 pages.
- Schnürer, A. et Å. Nordberg. 2008. " Ammonia, a selective agent for methane production by syntrophic acetate oxidation at mesophilic temperature ". *Water Science and Technology*. IWA Publishing. vol. 57, no, p. 735-740.
- Schwartzkopf-Genswien, K., J. M. Stookey, J. Berg, J. Campbell, D. B. Haley, E. Pajor et I. Mckillop. 2012. *Code of practice for the care and handling of beef cattle: a review of scientific research on priority issues*. Agriculture and Agrifood Canada. 69 pages.
- Shäfer, W., M. Lehto et F. Teye. 2006. "Dry anaerobic digestion of organic residues on farm - a feasibility study.". *Agrifood Research Reports*, vol. 77, no MTT Agrifood Research Finland, 80 pages.
- Sheeran, J., 2007. *Alimentation : l'OPNU s'inquiète du développement des biocarburants*. Programme alimentaire mondial, ONU, 28 pages.
- Siegrist, H., D. Vogt, J. L. Garcia-Heras et W. Gujer. 2002. " Mathematical model for meso- and thermophilic anaerobic sewage sludge digestion ". *Environmental Science and Technology*, vol. 36, no 5, p. 1113-1123.
- Sierra-Alvarez, R. et G. Lettinga. 1991. " The methanogenic toxicity of wastewater lignins and lignin related compounds ". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 50, no 4, p. 443-455.

- Simmons, S. 2010. Developing a biogas facility under Ontario's feed-in-tariff program. *2nd Annual Canadian Farm and Food Biogas Conference* (March 8-12, 2010). London, Ontario: First Stage Enterprises Inc. 13 pages.
- Small, J. A. et W. P. McCaughey. 1999. "Beef cattle management in Manitoba". *Canadian Journal of Animal Science*, vol. 79, p. 539-544.
- Smet, E., H. Van Langenhove et I. De Bo. 1999. "The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste". *Atmospheric Environment*, vol. 33, no 8, p. 1295-1303.
- Sneath, R., F. Beline et M. Hilhorst. 2006. "Monitoring GHG from manure stores on organic and conventional dairy farms". *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 112, p. 122-128.
- Sommer, S. G. 2001. "Effect of composting on nutrient loss and nitrogen availability of cattle deep litter". *European Journal of Agronomy*, vol. 14, p. 123-133.
- Sommer, S. G., S. M. McGinn, X. Hao et F. J. Larney. 2004. " Techniques for measuring gas emissions from a composting stockpile of cattle manure ". *Atmospheric Environment*, vol. 38, p. 4643-4652.
- Stabnikova, O., X. Y. Liu et J. Y. Wang. 2008. " Digestion of frozen/thawed food waste in the hybrid anaerobic solid-liquid system ". *Waste Management*, vol. 28, no 9, p. 1654-1659.
- Statistique Canada. 2003. *Profil géographique des animaux de ferme au Canada, 1991-2001*. Ottawa, Canada: Gouvernement du Canada. 33 pages.
- . 2008a. *L'activité humaine et l'environnement : Statistiques annuelles*. Statistique Canada. 168 pages.
- . 2008b. *L'activité humaine et l'environnement : statistiques annuelles 1986 à 2008*. 175 pages.
- , 2011. *L'enquête sur la gestion environnementale*. 21-023-X: Ministre de l'industrie Division des comptes et de la statistique de l'environnement, 6 pages.

- . 2012. Grandes cultures et cultures spéciales (Superficie ensemencée) http://www.agr.gc.ca/pol/mad-dam/index_f.php?s1=pubs&s2=go-co&s3=php&page=go-co_2011-01-28, Accédé (2012/2012-08-30).
- . 2013. Certaines données chronologiques du Recensement de l'agriculture, Section 2- Une vision agricole de sept recensements, Canada et provinces : années de recensement 1976 à 2006 <http://www.statcan.gc.ca/pub/95-632-x/2007000/t/4185573-fra.htm>, Accédé (/2014-07-24).
- , 2014. *Enquête sur les expéditions d'engrais*. 21-022-X. Ottawa, 1 page.
- Steed, J. et G. Hashimoto. 1994. " Methane emissions from typical manure management systems ". *Bioresource Technology*, vol. 50, p. 123-130.
- Svensson, M. 2005." The technology and economy of farm-scale, high-solids anaerobic digestion of plant biomass ". Doctor of Philosophy in engineering, Lund, Finland, Department of biotechnology, Lund University, 80 pages.
- Symons, G. E. et A. M. Buswell. 1933. " The methane fermentation of carbohydrates ". *Journal of the American Chemical Society*, vol. 55, no 5, p. 2028-2036.
- Tabi, M., L. Tardif, D. Carrier, G. Laflamme et M. Rompré. 1990. *Inventaire des problèmes de dégradation des sols agricoles du Québec*. Québec, Canada, 71 pages.
- Takashima, M. et R. E. Speece. 1989. " Mineral nutrient requirements for high-rate methane fermentation of acetate at low SRT ". *Journal of Water Pollution Control Fed.*, vol. 61, p. 1645-1650.
- Tampier, M., D. Smith, E. Bibeau et P. A. Beauchemin. 2004. *Identifying environmentally preferable uses for biomass resources*. Vancouver, Canada. 132 pages.
- Tchobanoglous, G., F. L. Burton et H. D. Stensel. 2003. *Wastewater engineering treatment and reuse*. Metcalf and Eddy, inc. Fourth edition, McGraw Hill, 1819 pages.
- Thamsiroj, T., A. S. Nizami et J. D. Murphy. 2012. "Why does mono-digestion of grass silage fail in long term operation?". *Applied Energy*, article in press, 13 pages.

- Thomashow, M. F. 1998. "Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance". *Plant Physiology*, vol. 118, no 1, p. 1-7.
- Tomei, M. C., C. M. Braguglia, G. Cento et G. Mininni. 2009. " Modeling of Anaerobic digestion of sludge ". *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 39, no 12, p. 1003-1051.
- Tong, X., L. H. Smith et P. L. McCarty. 1990. " Methane fermentation of selected lignocellulosic materials ". *Biomass*, vol. 21, no 4, p. 239-255.
- Triolo, J. M., S. G. Sommer, H. B. Møller, M. R. Weisbjerg et X. Y. Jiang. 2011. " A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: Influence of lignin concentration on methane production potential ". *Bioresource Technology*, vol. 102, no 20, p. 9395-9402.
- Trzcinski, A. P. et D. C. Stuckey. 2009. " Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste in a two-stage membrane process ". *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, vol. 60, no 8, p. 1965-1978.
- Turick, C. E., M. W. Peck, D. P. Chynoweth, D. E. Jerger, E. H. White, L. Zsuffa et W. A. Kenney. 1991. " Methane fermentation of woody biomass ". *Bioresource Technology*, vol. 37, no 2, p. 141-147.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson et B. A. Lewis. 1991. " Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition ". *Journal of Dairy Science*, vol. 74, no 10, p. 3583-3597.
- Varel, V. H. et A. G. Hashimoto. 1981. "Effect of dietary monensin or chlortetracycline on methane production from cattle waste.". *Applied And Environnemental Microbiology*, vol. 1, p. 29-34.
- Vavilin, V. A., B. Fernandez, J. Palatsi et X. Flotats. 2008. " Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview ". *Waste Management*, vol. 28, no 6, p. 939-951.
- Vavilin, V. A., L. Y. Lokshina, J. P. Y. Jokela et J. A. Rintala. 2004. " Modeling solid waste decomposition ". *Bioresource Technology*, vol. 94, no 1, p. 69-81.

- Vavilin, V. A., L. Y. Lokshina, S. V. Rytov, O. R. Kotsyurbenko et A. N. Nozhevnikova. 1998. " Modelling low-temperature methane production from cattle manure by an acclimated microbial community ". *Bioresource Technology*, vol. 63, no 2, p. 159-171.
- Vavilin, V. A., S. V. Rytov, L. Y. Lokshina, S. G. Pavlostathis et M. A. Barlaz. 2003. " Distributed model of solid waste anaerobic digestion: Effects of leachate recirculation and pH adjustment ". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 81, no 1, p. 66-73.
- Vavilin, V. A., V. B. Vasiliev et S. V. Rytov. 1996. " Simulation of constituent processes of anaerobic degradation of organic matter by the METHANE model ". *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, vol. 69, no 1, p. 15-23.
- Veeken, A. et B. Hamelers. 1999. " Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowaste components ". *Bioresource Technology*, vol. 69, no 3, p. 249-254.
- Viau, E., F. Levi-Schaffer et J. Peccia. 2010. " Respiratory toxicity and inflammatory response in human bronchial epithelial cells exposed to biosolids, animal manure, and agricultural soil particulate matter ". *Environmental Science and Technology*, vol. 44, no 8, p. 3142-3148.
- Viéitez, E. R., J. Mosquera et S. Ghosh. 2000. Kinetics of accelerated solid-state fermentation of organic-rich municipal solid waste. In *Water Science and Technology*, Barcelona, Spain. 231-238 pages.
- Walker, M., C. J. Banks et S. Heaven. 2009. " Use of a hydraulic flush reactor in a two-stage anaerobic digestion process for biodegradable municipal waste ". *Environmental Engineering Science*, vol. 26, no 11, p. 1599-1606.
- Wang, J. Y., H. L. Xu et J. H. Tay. 2002. " A hybrid two-phase system for anaerobic digestion of food waste ". *Water Science and Technology*, vol. 45, no 12, p. 159-165.
- Wawrzyniak, V. et N. Viard. 2007. *Synthèse de l'étude bibliographique sur la méthanisation en voie sèche*. Paris: Ministère de l'agriculture et de la pêche. 32 pages.

- Weber-Shirk, M. L., L. W. Lion et J. J. J. Bisogni. 2003. *Laboratory Research in Environmental Engineering: Methane production from municipal solid waste*. Ithaca, (NY): Cornell University.. p. 47-65.
- Weiland, P. 2006. " Biomass Digestion in Agriculture: A Successful Pathway for the Energy Production and Waste Treatment in Germany ". *Engineering Life Science*. vol. 6, no No. 3, p. 302-309.
- Weiland, P. 2009. "Biogas production: Current state and perspectives ". *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 85, no 4, p. 849-860.
- Weimer, P. J., J. B. Russell et R. E. Muck. 2009. " Lessons from the cow: What the ruminant animal can teach us about consolidated bioprocessing of cellulosic biomass ". *Bioresource Technology*, vol. 100, no 21, p. 5323-5331.
- Wellinger, A., U. Baserga et K. Egger. 1992. " New systems for the digestion of solid wastes ". *Water Science and Technology*, vol. 25, no 7, p. 319-326.
- White, A. J., D. W. Kirk et J. W. Graydon. 2011. " Analysis of small-scale biogas utilization systems on Ontario cattle farms ". *Renewable Energy*, vol. 36, no 3, p. 1019-1025.
- Wiegant, W. M. et G. Zeeman. 1986. " The mechanism of ammonia inhibition in the thermophilic digestion of livestock wastes ". *Agricultural Wastes*, vol. 16, no 4, p. 243-253.
- Wikipédia. 2013. Normo mètre cube <http://fr.wikipedia.org/wiki/Nm3>, Accédé (/2013-09-30).
- Williamson, K. et P. L. McCarty. 1976. " A model of substrate utilization by bacterial films ". *Journal of the Water Pollution Control Federation*, vol. 48, no 1, p. 9-24.
- Yadvika, Santosh, T. R. Sreekrishnan, S. Kohli et V. Rana. 2004. " Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques--a review ". *Bioresource Technology*, vol. 95, no 1, p. 1-10.
- Yadvika, A. K. Yadav, T. R. Sreekrishnan, S. Satya et S. Kohli. 2006. "A modified method for estimation of chemical oxygen demand for samples having high suspended solids". *Bioresource Technology*, vol. 97, no 5, p. 721-726.

- Yiridoe, E. K., R. Gordon et B. B. Brown. 2009. " Nonmarket cobenefits and economic feasibility of on-farm biogas energy production ". *Energy Policy*, vol. 37, no 3, p. 1170-1179.
- Zhou, H., D. Löffler et M. Kranert. 2011. " Model-based predictions of anaerobic digestion of agricultural substrates for biogas production ". *Bioresource Technology*. Vol. 102, (2011), p. 10819-10828.