

Maitre de stage : Frédéric Pitre  
Tutrice de stage : Vanessa Grenier

# RAPPORT DE STAGE

## Dégradation de contaminants émergents par le compostage

**BOUCHER Susan**  
**21707900**

*Du 13 mai au 9 aout 2019*



## Table des matières

<b>Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>I) Hypothèse .....</b>	<b>4</b>
<b>II) Les recherches de l'IRBV sur les processus de compostage.....</b>	<b>5</b>
1) L'IRBV .....	5
2) Le compost et ses contaminants .....	6
3) Les différents microorganismes présents dans le compost .....	7
<b>III) Matériel et méthode .....</b>	<b>8</b>
1) Élaboration et mise en place du dispositif expérimental.....	8
2) La conception de l'expérience : le matériel .....	8
3) L'essai préliminaire.....	12
4) Méthodologie .....	18
<b>IV) Résultats attendus et discussion .....</b>	<b>19</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>20</b>
<b>Remerciements .....</b>	<b>21</b>
<b>Références .....</b>	<b>22</b>

## Introduction

Modèle de développement durable, le compostage des déchets organiques est un processus naturel permettant de valoriser nos déchets organiques. Cette stratégie permet une meilleure gestion de nos ordures et surtout une diminution du tonnage de ces dernières.

Sous l'action des bactéries et des champignons, les déchets organiques sont transformés en composés riches en humus, qui pourront par la suite, être utilisés comme engrais. Les produits issus du compost ont un intérêt écologique important en agriculture. Riches en nutriments ils sont un excellent fertilisant et leurs propriétés physico-chimiques améliorent la qualité du sol et accroissent sa résistance à l'érosion.

Usés par l'agriculture intensive, les sols sont de plus en plus appauvris en nutriment et sensibles à l'érosion. La gestion des sols représente un enjeu actuel de plus en plus alarmant, puisqu'ils sont une ressource beaucoup plus précieuse que ce que l'on croit. Ils sont à la fois un support de vie pour la biodiversité, mais jouent également un rôle de régulateur climatique (entreposage de carbone).

La filière du compost à un enjeu double, elle peut servir à valoriser nos déchets, mais également à dégrader certains contaminants. En effet, le compost peut être un vecteur de substances toxiques (microplastiques, pesticides, métaux traces...) puisque nos déchets peuvent être contaminés. Il est donc primordial d'étudier le processus de compostage en détail afin de mieux comprendre les mécanismes biologiques de ce dernier et de déterminer sa capacité à dégrader certains contaminants.

Dans le cadre de sa thèse, Vanessa Grenier mène des recherches sur la dégradation de certains contaminants par le compostage et l'effet de cette contamination sur les communautés microbiennes. Mon rôle durant ces trois mois est de l'assister et de l'aider dans ses recherches ainsi que dans la mise en place d'expériences.

Le stage se déroule en trois phases :

- une phase de recherche bibliographique puis de design expérimental,
- une phase de mise en place des expériences ainsi qu'un suivi de la maturation du compost en échantillonnant ce dernier et
- pour finir une phase d'analyse des échantillons lorsque les expériences seront terminées.

Mon stage ne dure malheureusement pas assez longtemps pour assister à tous les résultats des expériences. De plus, ce rapport sera rendu avant même que les expériences principales débutent, ce qui ne me laisse que peu de certitudes quant aux résultats attendus. Néanmoins, je vais formuler quelques hypothèses et décrire les résultats attendus.

## I) Hypothèse

L'objectif général du projet de cet été est d'évaluer l'effet de la contamination sur la structure, la composition et la dynamique fonctionnelle des populations microbiennes impliquées dans les différentes étapes du compostage.

**Hypothèse 1**— Les populations microbiennes (bactéries et champignons) présentes dans le processus de compostage de biomasse contaminée seront plus diversifiées que les populations microbiennes impliquées dans le compostage de biomasse non contaminée.

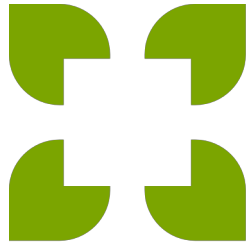
**Hypothèse 2**— Les conditions de contamination mèneront au recrutement d'espèces particulièrement tolérantes ou possédant la capacité de dégrader certains contaminants. Ces microorganismes coloniseront la matière organique au dépit des espèces communément retrouvées dans ces conditions.

**Hypothèse 3**- Les contaminants de type herbicide vont être dégradé en sous-produit non toxique avant d'être minéralisé

**Hypothèse 4**- Les métaux lourds vont être adsorbés par le compost ce qui va les stabiliser

## II) Les recherches de l'IRBV sur les processus de compostage

### 1) L'IRBV



**Institut de recherche  
en biologie végétale**

L'IRBV, Institut de Recherche en Biologie Végétale, est issu d'un partenariat entre la ville de Montréal et l'Université de Montréal. Ce centre de recherche et d'enseignement créé en 1990 se situe au cœur du jardin botanique de Montréal. De nombreux chercheurs travaillent dans cet institut et forment des étudiants, dont la plupart sont en maîtrise, en doctorat ou post doctorat. L'institut regroupe 21 chercheurs dont les thématiques de recherches couvrent de nombreuses disciplines comme la génomique, la biodiversité fonctionnelle, la phytotechnologie, la lutte biologique et l'aménagement écologique. Les études réalisées à l'IRBV sont autant fondamentales qu'appliquées.

Les missions de l'IRBV aujourd'hui :

- le développement constant d'un centre d'excellence pour la recherche en biologie végétale et en biodiversité, tant au point de vue fondamental qu'appliqué,
- la conservation des collections de recherche en biologie végétale, en entomologie et en mycologie,
- la formation de la relève scientifique en biologie végétale et en biodiversité, au baccalauréat, à la maîtrise, au doctorat et au niveau postdoctoral,
- le perfectionnement de la formation de ses chercheurs et de son personnel technique et
- le transfert technologique de ses résultats scientifiques vers la communauté.

Mon maître de stage, Frédéric Pitre, est un chercheur spécialisé en physiologie végétale et mène des travaux sur la décontamination des sols par la phytoremédiation, la séquestration du carbone... Il coordonne plusieurs étudiants, dont Vanessa Grenier, la doctorante qui me supervise. Vanessa a orienté ses recherches sur le processus de compostage et cet été elle mène des expériences sur la dégradation de contaminants grâce à ce processus.

Les pratiques de l'agriculture moderne et intensive nous poussent à utiliser de plus en plus de produits chimiques pour les cultures ou encore les élevages. En raison de cela, nos déchets résiduels se retrouvent contaminés à leur tour. Si le compostage est un moyen de valoriser nos déchets organiques, les produits de ce processus n'en sont pas moins contaminés eux aussi. Les recherches menées sur le compostage sont aujourd'hui importantes puisqu'elles permettent de mieux connaître la façon dont les communautés microbiennes réagissent face à ces contaminants et ainsi trouver des solutions durables pour réduire au maximum l'impact de ces substances (qui se retrouvent ensuite dans l'environnement).

## 2) Le compost et ses contaminants

### Source de contamination du compost

La provenance de la matière organique sur les sites de compostages est généralement très diversifiée, au même titre que les sources potentielles de contamination et les types de contaminants rencontrés. Les sources possibles de contamination comprennent entre autres : les eaux usées et les boues d'épuration, les herbicides et insecticides (organochlorés, organophosphates, etc.), le fumier provenant de l'élevage de tous les types d'animaux (source d'éléments traces provenant de l'alimentation du bétail) et différents types de biomasse (bois traité, bois issu de démolition et de la phytoremédiation).

### Les différents contaminants du compost

- Composants inorganiques :

L'arsenic (As), le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le nickel (Ni) et le zinc (Zn) sont des métaux traces (métaux lourds) qui se retrouvent bien souvent dans les composts. Ils proviennent généralement des lisiers, ou de plantes ayant absorbé des gaz d'échappement sur le bord des routes ou encore de boues d'épuration.

- Composants organiques :

Les composés organiques ont le potentiel d'être dégradés par les communautés microbiennes lors de leur compostage. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) puisqu'ils ont un faible poids moléculaire alors que d'autres sont très récalcitrants comme les biphényles polychlorés (BPC). La dégradation des composés organiques dépend de leur structure moléculaire.

### Les microorganismes : acteurs de la transformation de la matière organique

Les microorganismes sont les acteurs principaux de la décomposition et de la transformation de la matière organique. Il existe plusieurs types de microorganismes retrouvés lors de la dégradation de la matière organique.

Ces types varient en fonction de nombreux facteurs qui peuvent être :

- les matières premières utilisées,
- le mode de compostage employé,
- le niveau d'aération du compost,
- la disponibilité des nutriments.

Néanmoins, certains groupes de microorganismes sont présents de façon relativement constante puisqu'ils sont associés à des rôles essentiels impliqués dans la dégradation de la matière organique.

Notre étude a pour but de comprendre le comportement des microorganismes en présence de contaminants.

### 3) Les différents microorganismes présents dans le compost

#### Les bactéries

Les bactéries jouent un rôle dominant pendant les étapes du processus de compostage en raison de leur large gamme d'enzymes utilisées pour dégrader la matière organique. Ce sont elles qui sont responsables de la production de chaleur dans le compost.

Au début du processus de compostage, ce sont les bactéries dites mésophiles qui prédominent (*Lactobacillus*, *Acetobacter* et *Azotobacter*). Leur population augmente exponentiellement pendant les étapes initiales du processus, puisqu'elles consomment les composés simples et facilement disponibles tels que les sucres et l'amidon. Lorsque les températures dépassent 40 °C, les bactéries mésophiles cessent de se multiplier et les espèces thermophiles prennent le relais. Plus la température augmente, plus il y a de diversité dans les populations de bactérie. Finalement, les composés utilisables par les bactéries thermophiles s'épuisent ce qui induit la diminution de leur activité laissant les bactéries mésophiles dominer à nouveau. Le nombre et le type de microbes mésophiles dépendent des spores et des organismes qui sont présents dans le compost.

Finalement, le carbone disponible dans le compost devient limitant, ce qui provoque une diminution des populations microbiennes.

#### Les actinobactéries

Les actinobactéries sont des bactéries filamenteuses importantes dans du sol. En effet, ce sont elles qui sont responsables de l'odeur terreuse caractéristique du sol. Lors du compostage, ces bactéries vont dégrader des molécules organiques complexes telles que la cellulose, la lignine et la chitine. Les actinobactéries se développent plus lentement que la plupart des autres bactéries et champignons. Néanmoins, elles sont capables d'être en compétition avec d'autres organismes pour les nutriments et peuvent inhiber la croissance microbienne par la production d'antibiotiques. Ces bactéries vont donc consommer la matière la plus difficile à dégrader, elles passent généralement après les bactéries et champignons qui elles dégradent les fractions facilement dégradables. Certaines espèces d'actinobactéries apparaissent quand même pendant la phase thermophile, mais deviennent très présentes pendant la phase de maturation, quand seuls les composés les plus résistants sont disponibles.

#### Les champignons

Les champignons sont responsables de la dégradation de nombreux polymères végétaux. Dans le compost, les champignons sont importants puisqu'ils décomposent des molécules très résistantes, comme la cellulose et la lignine. C'est grâce à leur grand réseau d'hyphes, qu'ils peuvent attaquer des résidus organiques trop secs, trop acides ou trop peu azotés que les bactéries ne peuvent décomposer à elles seules. Lorsque les substances simples à dégrader (sucre, amidon...) sont épuisées, les champignons entrent en jeu pour dégrader la cellulose et la lignine. Pour leur croissance, les champignons exigent des conditions de température précises : la majorité sont mésophiles (5°C à 37°C), avec une température de croissance optimale de 25-30°C tandis que 40 à 55°C sont nécessaires pour les champignons thermophiles (ce qui correspond également à la température optimale pour la dégradation de la lignine). Au-delà de ces températures, la plupart des champignons meurent.

### III) Matériel et méthode

Notre environnement est pollué par de nombreuses molécules toxiques, de façon anthropique ou non. Ces contaminants se retrouvent généralement dans les chaînes trophiques et ont des effets néfastes sur les organismes, quels qu'ils soient. La flore microbienne du sol est très sensible à ces molécules toxiques puisqu'elles influent sur sa croissance et par conséquent sur le processus de dégradation aérobie.

Les expériences mises en place cet été vont permettre de mettre en évidence l'influence de certains contaminants sur les processus de compostage et d'évaluer leurs impacts sur les communautés microbiennes du compost.

#### 1) Élaboration et mise en place du dispositif expérimental

Le plan d'expériences est une étape très importante dans la mise en place d'une expérience. Il permet d'acquérir de nouvelles connaissances, de maîtriser les paramètres d'entrée pour optimiser l'expérience en limitant les essais « ratés » et obtenir des résultats concluants.

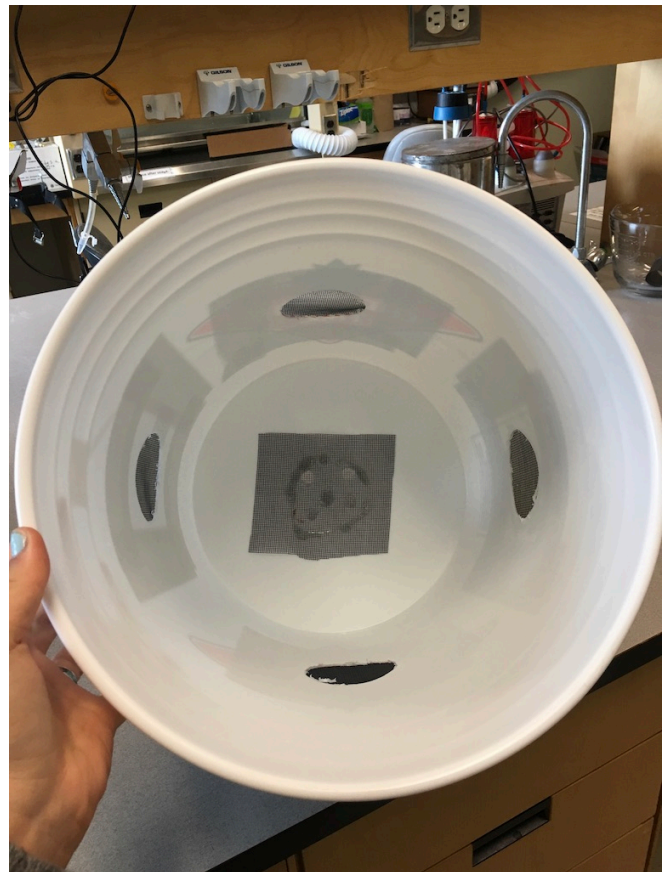
Ainsi, avant de réaliser l'expérience, nous avons eu quelques semaines de travail bibliographique. Nous avons lu de nombreux articles scientifiques sur le compost et sur des projets ressemblant à ce que l'on voulait faire. Le but de cette étape était de récolter le maximum d'informations afin de planifier du mieux possible l'expérience. Nous avons donc cherché des données nécessaires à la mise en place de l'expérience telles que le type de contaminant à appliquer, leur concentration, comment construire le composteur, etc.

À la suite de cela, Vanessa a élaboré un plan d'expérience qu'elle a présenté à Frédéric Pitre afin de le faire valider. L'expérience consiste donc à créer des composteurs (bioréacteurs) dont le contenu sera traité par différents contaminants. Ces bioréacteurs seront régulièrement brassés grâce à un dispositif que nous avons construit. La température et le taux d'humidité sont des facteurs que nous suivrons, ainsi que le rapport carbone/azote. Nous prélèverons des échantillons à un intervalle qui nous permet de voir ce qui se passe durant les différentes phases pour les analyser par la suite.

#### 2) La conception de l'expérience : le matériel

Pour la conception des bioréacteurs, nous avons utilisé des seaux de 20 litres que nous avons personnalisés. Les seaux ont été percés sur les côtés afin que le compost soit bien oxygéné et ainsi favoriser l'activité biologique des microorganismes (Figure 1). Un trou au fond du seau permet aussi l'écoulement du lixiviat (jus de compost) qui est récupéré dans un petit récipient. Un petit grillage a été collé au niveau des trous pour empêcher la matière organique de s'échapper par les trous.





*Figure 1: Le bioréacteur*

Pour homogénéiser au maximum notre compost, un brassage est indispensable. De cette façon nous évitons le tassement naturel du tas et donc son asphyxie. Ce brassage sert aussi à stimuler l'activité biologique au sein du compost en apportant de l'oxygène au mélange. Pour cela nous avons conçu un outil permettant de brasser nos sceaux à l'aide de quelques planches de bois et quatre roulettes (Figure 2).



*Figure 2: Dispositif de brassage des sceaux*

Nous devons brasser les sceaux de façon régulière (2 à 3 fois par semaine), cet appareil nous permet de gagner beaucoup de temps et de mélanger notre compost sans ouvrir le sceau. L'ouverture trop régulière des sceaux peut perturber l'activité biologique des microorganismes et entraîner un refroidissement du compost. De plus, nos sceaux sont contaminés avec des matières toxiques et dangereuses, nous devons faire attention en les manipulant et surtout avoir le moins de contact possible avec le compost.

Le compost va être réparti dans 45 sceaux et traité par 8 contaminants différents :

- Roundup à 300ppm
- Cadmium 3 ppm
- Glyphosate 99% pur à 147 ppm
- Atrazine 98% pur à 130,5 ppm
- Atrazine + glyphosate à 147 + 130,5 ppm
- AAtrex 300ppm
- AMPA 2,5 ppm
- Cuivre 400ppm

+ contrôle (litière + résidus verts)

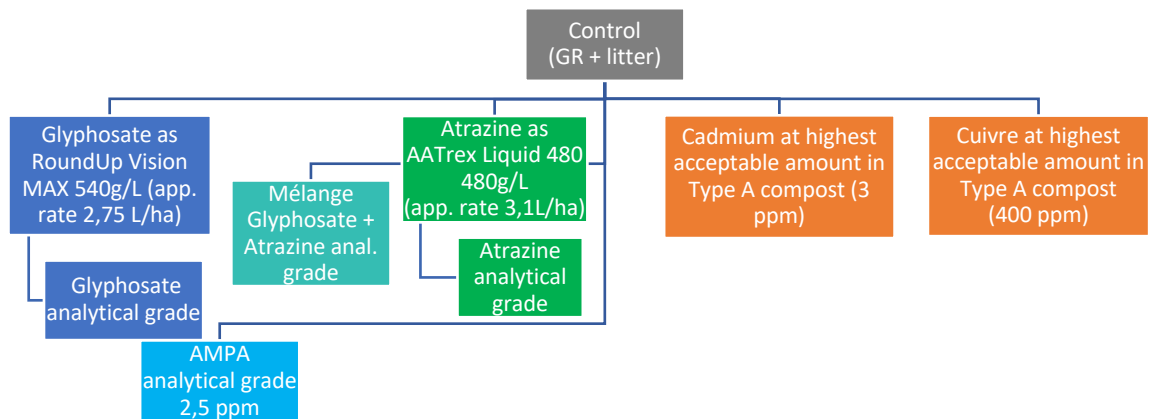


Figure 3: Design expérimental

Afin d'optimiser le processus, il est nécessaire de garder les sceaux à une bonne température. Pour cela, nous avons décidé de les isoler avec de la laine minérale. Les températures peuvent atteindre 50 à 70 degrés en phase thermophile. La laine isolante va permettre au compost d'atteindre plus rapidement cette phase et de garder la chaleur.



Figure 4: bioréacteur avec son isolant

### 3) L'essai préliminaire

L'essai préliminaire est un premier test qui permet d'ajuster certains paramètres de l'expérience dans le but d'obtenir des résultats concluants et de ne pas perdre de temps avec des échecs.

Nous avons donc rempli un seau, notre composteur, de litière (crottin de cheval) et de résidus verts pour tester notre dispositif (bioréacteur, isolant, brassage, etc.). Certains matériaux ont dû être ajustés et parfois même repensés. Ces premiers tests nous ont permis d'échantillonner notre premier compost et d'analyser quelques paramètres.

#### L'analyse du ratio C/N

Cette analyse est très importante puisqu'elle permet de déterminer les pourcentages de carbone (C) et d'azote (N) présents dans l'échantillon, donc dans le bioréacteur.

Ces deux éléments chimiques sont nécessaires au processus de maturation du compost puisqu'ils sont utilisés pour le métabolisme des microorganismes. Pour un compost en bon fonctionnement, le rapport C/N doit tourner autour de 25 voir 30. C'est donc un paramètre à analyser et à adapter pour garantir de meilleurs résultats. Pour cela, nous avons échantillonné notre seau test et utilisé un instrument qui mesure la quantité de micros éléments tels que le carbone ou l'azote.

Comme notre compost est composé à la fois de résidus verts et de crottin de cheval, nous avons échantillonné le contenu de notre seau, mais également le crottin seul. Le crottin est censé être plus riche en azote ; nous voulons connaître les proportions exactes. Pour analyser notre échantillon, il faut tout d'abord peser avec une balance ultra précise (au microgramme) un échantillon de 7mg. Suite à cela, il faut calibrer la machine avec des échantillons dont les proportions en C et N sont connues. La méthode d'analyse de l'azote est une méthode de combustion, qui est plus rapide et plus respectueuse de l'environnement qu'une méthode chimique. L'analyseur brûle les échantillons à plus de 900°C puis détermine leur composition. En quelques minutes les données sont directement envoyées à un ordinateur qui nous les retranscrit dans une table Excel.

Finalement, nos premières analyses nous ont apporté des résultats assez hétérogènes sur l'ensemble des échantillons. Cependant la tendance était un rapport C/N assez élevé, entre 30 et 45 ce qui nous indique un taux en azote trop faible. Notre seau test est donc globalement plus riche en éléments carbonés qu'azotés. Nous devons donc ajuster cela en ajoutant des résidus verts riches en azote (feuille verte, végétaux de type vigne, etc.).

- Résultats de l'analyse C/N :

Name	N [%]	C [%]	C/N ratio
Crottin 1	1,6221	40,7	25,0917
Crottin 2	1,5318	41,34	26,9888
Résidus Verts	1,0494	44,32	42,2294
RV	1,0542	44,42	42,1316
RV	1,3863	43,45	31,3444
RV	1,5764	43,43	27,5506

Figure 5: Résultats de l'analyse carbone/azote





*Figure 6: pesée des échantillons analyse C/N*

Notre premier essai n'a pas été très concluant. Malgré la laine de verre, le sceau n'a pas chauffé et est resté à environ 26°C alors que le processus de compostage est déjà engagé. Idéalement, la température devrait atteindre un minimum de 40°C.

Suite à cela, nous avons mis de côté le sceau test et réfléchi à un nouvel essai. Trois nouveaux mélanges ont été réalisés dans un total de neuf sceaux :

- **Mélange 1, sceaux 1, 2, 3** : fumier de cheval (crottin et litière), fleurs, herbe coupée, feuilles mortes, fumier de mouton, paille
- **Mélange 2, sceaux 4, 5, 6** : fumier de cheval (crottin et litière), fleurs, herbe coupée, feuilles mortes, fumier de mouton, paille + 1kg d'inoculum
- **Mélange 3, sceaux 7, 8, 9** : compost datant du début du printemps (âgé de 2-3 mois)

Nous avons essayé de faire des mélanges garantissant un bon apport en carbone et en azote, avec beaucoup de matière fraîche (fleur, herbe), mais également des matières plus fertilisantes comme les fumiers. Les proportions ont été faites à l'œil et le poids final du sceau était d'environ 3-4 kg. Pour les sceaux 4, 5 et 6, nous avons ajouté 1 kg d'inoculum en espérant que cela puisse aider le processus à démarrer. L'inoculum provient d'un tas de compost mature âgé de 9 mois, il contient des bactéries thermophiles pouvant stimuler l'activité microbienne et lancer le processus de dégradation s'il a du mal à démarrer. Pour les derniers sceaux, nous avons mis du compost âgé de 2-3 mois le but étant de voir comment celui-ci se comportait dans nos bioréacteurs et s'il continuait à chauffer (il était à environ 50°C lorsque nous l'avons prélevé).

### Les analyses au temps 0 (premiers échantillons)

Les neuf sceaux ont été échantillonnés au temps 0 afin de connaître le taux d'humidité et le ratio C/N en début de processus. De plus, nous avons mis dans tous les composteurs des thermomètres (iButton) qui permettent d'avoir un suivi des températures. L'analyse pour le rapport C/N est la même que celle expliquée précédemment et se fait à partir des échantillons séchés puis broyés finement.

Le taux d'humidité des premiers échantillons est d'environ 70%, ce qui est assez élevé par rapport à notre premier test où il était initialement de 30%. On suppose que le taux d'humidité et la nouvelle composition du mélange sont des facteurs responsables de la bonne activité des microorganismes.

### L'analyse du pH

Nous pourrions tenter de tester et comparer tous les paramètres dans le but de trouver les conditions parfaites du mélange organique et du bioréacteur, mais cela prendrait beaucoup de temps. Néanmoins, nous avons quand même réalisé des tests pour connaître le pH du mélange. Ces données nous permettent de connaître les caractéristiques du mélange et de les ajuster au besoin.

- Protocole de l'analyse pH :

Peser 2g d'échantillon

Ajouter 20mL d'eau milli Q (H<sub>2</sub>O pure)

Mélanger et attendre 10min

Prendre la mesure avec la sonde pH

- Résultats :

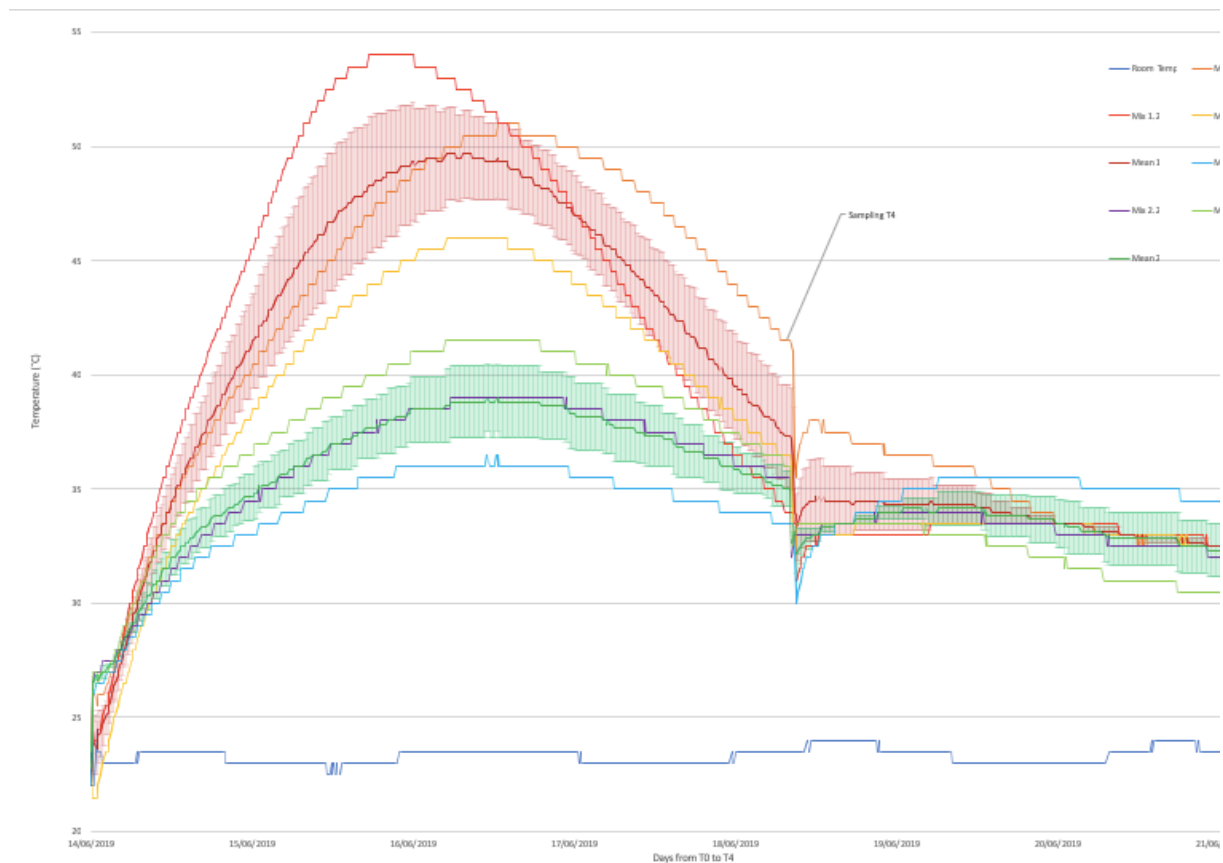
Échantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9
pH	7.64	7.93	7.42	6.94	6.22	6.84	7.80	7.19	7.53

L'acidité du compost varie avec le temps. D'une façon générale, un compost part d'un pH plutôt basique entre 7 et 8 puis va s'acidifier avec le temps. Cette acidification est provoquée par l'activité des microorganismes notamment avec la production d'acide tel que l'acide lactique. Cette phase acide dure plus ou moins longtemps, tout dépend des paramètres de base du compost (composition, humidité). Par la suite, le compost va redevenir neutre avec un pH de 7-8. Un compost mature n'est pas acide.

### L'analyse des températures

Après deux jours, nous avons relevé les données températures de nos bioréacteurs, témoins de l'activité des microorganismes. C'est le premier mélange (sceaux 1, 2 et 3) qui chauffe le plus, avec des températures allant jusqu'à 55°C. Les sceaux 4, 5, 6 ont légèrement chauffé tandis que les derniers ont refroidi. Pour le mélange 3, on suppose qu'une fois hors du tas, le compost s'est refroidi (la température du labo étant à 23°C), cela a provoqué une sorte de choc thermique pour les bactéries thermophiles qui ont du mal à se développer et à continuer leur activité avec des températures aussi basses. Les communautés microbiennes sont en sorte de dormance, de ce fait le mélange ne chauffe pas puisqu'il y a peu d'activité biologique.

Après avoir laissé les iButton pendant une semaine dans nos 9 bioréacteurs, nous les avons récupérés puis nous avons téléchargé les données de température. Ces dernières sont retranscrites sur le graphique ci-dessous. Seuls les mélanges 1 et 2 y sont représentés puisque le mélange 3 (sceaux 7, 8 et 9) n'a pas chauffé.



*Figure 7: températures des bioréacteurs en fonction du temps*

Les courbes rouge, orange et jaune modélisent les sceaux 1, 2 et 3 tandis que les courbes bleu ciel, violette et verte modélisent les sceaux 4, 5 et 6. La courbe bleue modélise la température ambiante du laboratoire où se trouvent les composteurs. Les courbes moyennes sont représentées avec leur écart type en hachure rouge et verte. On observe une différence d'environ 11°C entre les deux mélanges lors du pic de température. Cette différence pourrait être provoquée par l'ajout de l'inoculum qui, semblerait-il, a diminué l'activité biologique du mélange et donc diminué sa température.

On observe également une diminution brutale de température dans tous les sceaux au bout de quatre jours. Ce pic est en réalité provoqué par l'ouverture des bioréacteurs lors de l'échantillonnage T4. Une simple perturbation peut entraîner une baisse significative de la température, il est important d'en tenir compte pour la suite des expériences. Malgré cela, les températures remontent doucement après la perturbation. Si nous avions prolongé l'essai, nous aurions peut-être pu observer de nouveaux pics de températures (phase thermophile).



## L'analyse du taux d'humidité

Le taux d'humidité est calculé en faisant la différence entre la masse fraîche et la masse sèche sur la masse fraîche (les échantillons ont été séchés à 105°C à l'étuve pendant plus d'une journée).

Les prélèvements réalisés au temps 0, 4 et 7 (nombre de jours), nous ont permis de déterminer les taux d'humidité des sceaux. Ils sont représentés dans le tableau ci-dessous :

	T0	T4	T7
Mélange 1	70,13	73,07	72,07
Mélange 2	69,71	73,59	71,29
Mélange 3	66,21	61,60	63,43

Figure 8: taux d'humidité des 3 mélanges au temps 0, 4 et 7

Les taux d'humidité sont assez élevés, entre 60 et 73%. Ils augmentent de 3% pour le mélange 1 et 2 tandis qu'il diminue pour le mélange 3. Ceci est sans doute provoqué par l'activité biologique des deux premiers mélanges et l'absence d'activité dans le mélange 3. L'humidité diminue légèrement après le deuxième prélèvement, on peut imaginer que cette diminution est provoquée par cette perturbation. En effet, lors de ce prélèvement les bioréacteurs ont été ouverts et brassés, ce qui les a peut-être un petit peu asséchés.

Généralement, le taux d'humidité d'un compost varie entre 50 et 60%, si ce dernier est trop élevé cela entraîne une putréfaction du compost et de mauvaises odeurs. Si au contraire le compost est trop sec, la décomposition sera plus lente. Nos mélanges sont assez humides, mais les données de températures nous ont prouvées que les essais étaient concluants.

## Synthèse des essais préliminaires

Ces essais préliminaires ont été plutôt concluants puisqu'ils nous ont permis de déterminer la composition du mélange idéal pour que le processus de compostage puisse démarrer rapidement. Nos trois mélanges ont évolué de façon très différente, et le mélange 1 s'est révélé être le plus adapté en termes de composition pour la suite des recherches. Le mélange initial est très important pour démarrer un compost. Si ce dernier n'est pas assez bien proportionné, le processus de dégradation de la matière peut être plus long à démarrer ou bien peut nécessiter l'ajout d'un inoculum. Notre mélange 1 a bien fonctionné et l'ajout d'un inoculum n'a pas été fructueux puisque les sceaux du mélange 2 n'ont pas aussi bien chauffé que ceux contenant le mélange 1. L'ajout de l'inoculum n'a finalement pas été une bonne chose pour le compost. Cela semble surtout l'avoir perturbé puisqu'on lui a ajouté un compost comportant des bactéries habituées à des conditions précises (pH acide) qui sont entrées en compétition avec les bactéries présentes dans les résidus. Cette perturbation peut être à l'origine du retard dans le processus de dégradation et du refroidissement du mélange.

Les derniers échantillonnages nous ont permis de voir que le ratio C/N était plus faible que pour le premier test ; il passe de 35 à 25. Cela signifie que le mélange comporte plus d'azote, ce qui est mieux pour le fonctionnement du compost. Il est important d'avoir une source d'azote et de carbone facilement accessible par les bactéries. Dans le cas du mélange 1, la source principale de carbone se trouve dans la paille ou les feuilles mortes, qui sont plus faciles à dégrader que le bois. Cela explique possiblement pourquoi le mélange a été efficace et a chauffé rapidement.

Pour la suite de nos expériences, nous allons reprendre les mêmes composants que ceux du mélange 1, c'est à dire des résidus frais, des feuilles vertes, de l'herbe, riches en azote et également des résidus riches en carbone facilement décomposable comme la paille. Nous n'aurons jamais exactement la même composition puisque les résidus verts changent au court du temps (ce sont les résidus verts du Jardin botanique), mais nous allons essayer de nous en rapprocher au maximum.

#### 4) Méthodologie

##### Échantillonnage et premières analyses

Comme expliqué dans la partie « Conception de l'expérience », nous allons utiliser 45 sceaux, servant de bioréacteur. Nous allons traiter le compost avec 8 contaminants (1 contaminant pour 5 sceaux et nos 5 sceaux témoins). Les bioréacteurs seront brassés régulièrement ainsi qu'échantillonnés directement après le remplissage, puis après deux jours (durant la phase thermophile), sept jours et une fois par mois pendant quatre mois. Les échantillons vont suivre une batterie d'analyse comprenant entre autres :

- température.
- Humidité
- pH
- ratio C/N

Nous allons également suivre la dégradation des herbicides par chromatographie HPLC ( ce qui change entre la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en phase liquide c'est que la phase mobile qui sert à entrainer l'échantillon vers la colonne pour la séparation des molécules est un liquide. La phase mobile est un mélange d'eau et de solvant organique) et analyser la biodisponibilité des métaux. Cette analyse se fait par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS). Ce type de spectrométrie de masse est capable de détecter les métaux à des concentrations très faibles. L'ICP-MS est capable de mesurer les métaux totaux et les métaux bio disponibles, c'est à dire les métaux qui sont ne sont pas liés et donc qui sont solubles dans l'eau.

##### Extraction de l'ADN

Les échantillons sont récoltés dans des tubes de 1,5 ml et sont conservés à -80 °C. L'ADN génomique total sera extrait à l'aide kit PowerSoil® DNA Isolation Kit puis les concentrations d'ADN seront mesurées en utilisant un spectrophotomètre UV-visible pour assurer la bonne qualité de l'ADN extrait et finalement les échantillons seront conservés à -20°C.

L'identification des bactéries sera faite en ciblant des régions hypervariables du gène codant pour l'ARNr 16S .

Ces régions seront amplifiées par technique PCR en utilisant des amorces spécifiques. Les étapes de PCR et d'indexation seront faites à l'IRBV préalablement à l'envoi des échantillons chez Génome Québec Innovation Centre où la normalisation et le séquençage des séquences seront effectués en utilisant le système Illumina MiSeq PE250.

## IV) Résultats attendus et discussion

L'objectif final des expériences est de mesurer l'effet des différents contaminants sur les communautés microbiennes présentes dans notre compost. Nous voulons savoir comment les contaminants influencent les microorganismes et comment les microorganismes influencent les contaminants. Nous avons actuellement peu d'idées quant aux résultats attendus puisque peu d'études ont été réalisées à ce sujet.

Nous cherchons également à savoir si nous sommes capables de dégrader les herbicides par le biais du compost et s'il est possible de diminuer la biodisponibilité des métaux. En effet les métaux lourds présents dans les sols contaminés peuvent se lier aux molécules du compost. Ainsi, le compost est capable de stabiliser ces contaminants en diminuant leur biodisponibilité. Lors d'expériences passées, Vanessa a déjà testé la capacité du compost à diminuer la biodisponibilité du cadmium. Les résultats ont prouvé qu'au fur et à mesure du processus de compostage, la biodisponibilité du cadmium diminuait. En d'autres termes, le compost peut piéger les métaux lourds et les rendre indisponibles. On peut alors supposer que c'est également ce qui va se passer avec les bioréacteurs contenant du cuivre et du cadmium.

Des études qui ont été menées sur le glyphosate ont montré que les bactéries qui transforment l'ammonium en nitrate ne tolèrent pas du tout cet herbicide. Cela pose alors un gros problème puisque le glyphosate modifie le cycle de l'azote. Ce cycle est d'une importance primordiale pour le sol et la croissance des végétaux (ils ont besoin de nitrates). De plus il est entre autres responsable de la minéralisation de la matière organique qui est le principal mécanisme de régénération de l'azote nécessaire à la nutrition de vos végétaux.

Pour finir, nous nous attendons à observer des modifications au sein des populations de microorganismes comme des adaptations ou encore l'apparition de nouvelles populations. Il est difficile de connaître le résultat final, néanmoins les effets négatifs des contaminants sur le taux de dégradation de la matière sont à prévoir. En effet, il est très probable que les contaminants influencent la croissance de certains microorganismes responsables de la dégradation de la matière ralentissant ainsi le processus de décomposition de la matière. L'analyse des populations microbiennes présente pendant les différentes phases du processus permettra de confirmer nos hypothèses. Nous nous attendons à retrouver une vaste gamme de microorganismes tolérants ou spécialisés dans la dégradation des contaminants présents dans le compost.

## Conclusion

La filière du compost est en pleine expansion. Néanmoins, cette voie de valorisation des déchets est encore peu documentée et peu d'études portées sur l'effet des contaminants ont été réalisées jusqu'à présent. Il est essentiel de mieux connaître les différents processus impliqués dans la dégradation de la matière organique afin de trouver des solutions à des problèmes actuels tels que la contamination des sols agricoles ou encore la contamination de nos déchets.

La mise en place des expériences nous a donc pris du temps et a nécessité de nombreux essais qui n'ont pas toujours été concluants. Toutes les complications que nous avons rencontrées, les échecs et les réussites font partie de la recherche.

Ne sachant pas encore dans quel domaine je veux travailler, je pense qu'il est important de découvrir différents milieux de travail. Aujourd'hui, je ne pense pas vouloir travailler par la suite dans la recherche, mais je suis contente d'avoir découvert ce domaine que je trouve très intéressant et très lié avec l'ingénierie. Je considère que la recherche est à la base des métiers scientifique et qu'en tant que future ingénieur, il est essentiel que je connaisse ce milieu. J'ai beaucoup d'admiration pour tous les acteurs de la recherche puisque c'est un métier où l'on n'est sûr de rien, les chercheurs doivent surmonter de nombreuses difficultés sans se décourager. J'ai pu voir que les expériences ne sont pas toujours des réussites et qu'elles ne mènent parfois à rien, néanmoins lorsque l'on finit par obtenir quelque chose de concluant on oublie les échecs.

La recherche prend du temps et je ne peux malheureusement pas vous partager les résultats ; je ne pense pouvoir assister aux dernières analyses et aux résultats. De ce fait mon rapport ne contient pas les résultats des expériences finales, mais juste la description des étapes qui se sont déroulées jusqu'à maintenant. Finalement, le fait de ne pas avoir les résultats n'est pas si grave puisque dans le cadre de mon stage, c'est surtout le processus de recherche qu'il y a en amont qui m'intéresse.

## Remerciements

Je tenais à remercier, Mr Frédéric Pitre, sans qui je n'aurais jamais pu participer à ce stage.

Je remercie surtout Vanessa Grenier qui m'a eu dans ces pattes pendant trois mois. Elle m'a fait confiance tout au long du projet (ce projet faisant partie de ses recherches pour son doctorat) et a fait preuve de compréhension à mon égard. Elle m'a beaucoup appris et maîtrise très bien son sujet. Merci de m'avoir fait découvrir le monde de la recherche.

Je remercie également les autres chercheurs, doctorants et post doctorants pour leur gentillesse et leur accueil.

Mon stage n'est pas encore fini, mais j'en suis très contente jusqu'à présent.

## Références

Vanessa Grenier « Valorisation de biomasses contaminées issues de phytoremédiation comme source de carbone pour le compostage de résidus alimentaires » 13 mars 2018