

# TABLE DES MATIERES

## REMERCIEMENTS

AVANT-PROPOS.....	ii
-------------------	----

1

I- HISTORIQUE ET ORIGINE DU BIOGAZ [10; 14; 40; 71].....	3
II- GENERALITES SUR LE LISIER.....	4
II-1- Caractéristiques du lisier [5; 73; 76].....	4
II-2- La pollution associée au lisier .....	4
II-2-1- Charges polluantes du lisier [5; 73; 76].....	5
II-2-2- Facteurs de variation de la composition du lisier.....	5
II-2-2-1- Nature de l'aliment [5; 36 ; 44].	5
II-2-2-2- Technique d'élevage [45; 76].....	6
II-2-2-3- Stade physiologique [24; 76].....	7
II-3- Conséquences concomitantes sur l'environnement .....	7
II-3-1- Sur les eaux [5; 9].....	7
II-3-2- Sur le sol et la flore [5; 33].....	7
II-3-3- Sur la faune [48; 71].....	8
II-3-4- Sur l'homme [5; 48].....	8
II-4- Les ressources en lisier [12; 23].....	8
III- Aspects fondamentaux de la fermentation méthanique .....	9
III-1- Définition [12; 14; 74].....	9
III-2- Les principales phases de la fermentation méthanique [2; 14; 38].....	9
III-2-1- Hydrolyse .....	10
III-2-1-1- Métabolisme des composés glucidiques .....	10
III-2-1-2- Métabolisme des composés azotés .....	10
III-2-1-3- Métabolisme des composés lipidiques .....	11
III-2-2- Acidogénèse .....	11
III-2-3- Acétogénèse.....	12
III-2-4- Méthanogénèse .....	12
III-2-4-1- Réduction du gaz carbonique .....	13
III-2-4-2- Décarboxylation de l'acétate .....	13
III-3- Microbiologie de la fermentation méthanique [7; 10; 42; 55].....	13
III-3-1- Les microorganismes impliqués dans la phase d'hydrolyse .....	14
III-3-2- Les microorganismes impliqués dans la phase acidogène [53].....	14
III-3-3- Les microorganismes impliqués dans la phase acétogène [14].....	15
III-3-4- Les microorganismes impliqués dans la phase méthanogène [42; 55].....	15
III-4- Un exemple de la réaction méthanique : la conversion du glucose [5].....	16
III-5- Les principaux facteurs contrôlant la fermentation méthanique.....	17
III-5-1- La température [12].....	17
III-5-2- Le potentiel d'hydrogène (pH) [10; 12].....	17
III-5-3- L'anaérobiose et le potentiel redox [35; 40].....	17
III-5-4- L'humidité [12; 26].....	18
III-5-5- L'agitation [12; 26; 53].....	18
III-5-6- Le temps de rétention hydrauliques (TRH) [53].....	18

III-5-7- Les facteurs nutritionnels et le rapport C/N [40].....	18
III-5-8- Les matières en suspension (MES) [53].....	19
III-5-9- La production de biogaz .....	19
III-5-10- La teneur en méthane .....	19
III-5-11- Les facteurs biologiques [53].....	19
III-6- Les facteurs liés aux problèmes des matières premières .....	20
II-6-1- Les composés inhibiteurs contenus dans les substrats .....	20
III-6-1-1- La cellulose [6; 10].....	20
III-6-1-2- Les ions minéraux [40].....	20
III-6-1-3- Les métaux lourds [12; 32].....	21
III-6-1-4- Les autres substances toxiques [32; 41].....	21
III-6-2- Les facteurs d'inhibition par précurseur .....	21
III-6-2-1- L'ammoniac [12; 32].....	21
III-6-2-2- Les acides gras volatils [12].....	22
III-6-2-3- L'oxygène dissous [42].....	22
III-7- Les produits de la fermentation méthanique.....	22
III-7-1- Le biogaz .....	22
III-7-1-1-Définition [26; 53].....	22
III-7-1-2 -Composition chimique .....	22
.....	22
III-7-1-3- Principales caractéristiques [12].....	22
III-7- 1-4- Utilisations .....	23
III-7-2- L'effluent biologique [53].....	23
I- Matières premières .....	24
I-1- Les substrats utilisés .....	24
I-2- Classification des animaux, ressources en lisier .....	24
II- Caractérisation d'ES lisierS.....	26
II-1- Détermination de l'humidité et de la matière sèche du lisier [3; 29].....	26
III-1-1- Définition .....	26
III-1-2- Principe .....	26
III-1-3- Matériels .....	26
III-1-4-Mode opératoire.....	26
III-1-5- Mode de calcul .....	26
II-2- Détermination de la teneur en carbone total [22; 37].....	27
II-2-1- Définition.....	27
II-2-2- Principe .....	27
II-2-3- Réactifs .....	27
II-2-4- Mode opératoire.....	27
II-2-5- Mode de calcul .....	28
T : volume de FeSO <sub>4</sub> nécessaire pour la titration de l'échantillon.....	28
W : masse en mg de l'échantillon.....	28
b- Teneur en carbone total CT (%) : .....	28
II-3- Détermination de la teneur en azote total et en protéines totales [30].....	28
II-3-1- Définition.....	28
II-3-2- Principe .....	28
II-3-3-Réactifs .....	28
II-3-4- Mode opératoire .....	29
II-3-5- Mode de calcul .....	29

II-4- Détermination de la teneur en matières grasses [30].....	29
II-4-1- Principe .....	29
II-4-2- Matériels et réactifs .....	29
II-4-3- Mode opératoire .....	30
II-4-4- Mode de calcul .....	30
II-5- Etude des glucides .....	30
II-5-1- Détermination de la teneur en glucides totaux [30].....	30
II-5-2- Dosage de cellulose brute [30].....	31
II-5-2-1- Principe .....	31
II-5-2-2- Matériels et réactifs .....	31
II-5-2-3- Mode opératoire.....	31
II-5-2-4- Mode de calcul.....	31
II-6- Détermination de la teneur en cendres brutes et de la teneur en matière volatile (MV) [3; 33; 40].....	31
II-6-1- Principe .....	32
II-6-2- Matériels .....	32
II-6-3- Mode opératoire .....	32
II-6-4- Mode de calcul .....	32
II-7- Dosage des phosphates (P2O5) [5; 30; 64].....	33
II-7-1- Principe .....	33
II-7-2- Matériels et réactifs .....	33
II-7-3- Mode opératoire .....	33
II-7-4- Mode de calcul .....	34
II-8- Dosage de potassium (K2O) [5; 22; 30].....	34
II-8-1- Principe .....	34
II-8-2- Matériels et réactifs .....	34
II-8-3-Mode opératoire .....	34
II-8-4- Mode de calcul .....	35
II-9- Détermination des matières en suspension (MES) [5; 20; 53].....	35
II-9-1- Principe .....	35
II-9-2- Matériels .....	35
II-9-3- Mode opératoire .....	35
II-9-4- Expression des résultats .....	36
II-10- Dosage de la demande chimique en oxygène par la méthode au bichromate (DCO) [5; 20; 53].....	36
II-10-1- Définition .....	36
II-10-2- Principe .....	36
II-10-3- Préparation des réactifs .....	36
II-10-4- Mode opératoire.....	38
II-10-4-1- Prise d'essai.....	38
II-10-4-2- Essai à blanc.....	38
II-10-5- Expression des résultats.....	38
II-11- Dosage de la demande biochimique en oxygène par la méthode de dilution [5; 20; 53; 56].....	38
II-11-1- Définition .....	39
II-11-2- Principe.....	39
II-11-3- Préparation des réactifs.....	39
II-11-4 - Mode opératoire.....	40

II-11-4- Expression des résultats.....	40
III- Mise en fermentation .....	41
III-1- Matériels .....	41
III-1-1- Description des digesteurs en biométhanisation [2; 21; 40].....	41
III-1-2- Dispositif expérimental .....	42
III-1-2-1- Les digesteurs utilisés .....	42
III-1-2-2- Le système de chauffage .....	43
III-1-2-3- Le système d'agitation .....	43
III-1-3- Les substrats .....	43
III-1-4- Le pied de cuve .....	43
III-2- Méthode .....	44
III-2-1- Préculture .....	44
III-2-2- Procédé discontinu .....	44
III-2-3- Fermentation spontanée .....	44
III-2-3-1- Mode opératoire .....	44
III-2-4- Optimisation des paramètres.....	45
III-2-4-1- Optimisation de la proportion en lisier de porc et en bouse de vache pour la co-digestion.....	45
III-2-4-2- Optimisation de la température.....	45
III-2-4-3- Optimisation de l'ensemencement en pied de cuve.....	45
III-3- Mesure de paramètres de contrôle.....	46
III-3-1- Mesure du pH.....	46
III-3-2- Mesure du biogaz.....	46
III-3-2-1- Le système de mesure du volume de gaz formé .....	46
III-3-2-2- Productivité volumique du biogaz.....	46
III-3-2-3- Productivité massique du biogaz.....	46
III-3-2-4- Productivité en CH <sub>4</sub> .....	46
III-4- Etude de la qualité du biogaz [27; 30; 78].....	46
III-4-1- Définition générale de la CPG.....	47
III-4-2- Principe.....	47
III-4-3- Méthode.....	47
III-4-3- Mode de calcul.....	47
<b>48</b>	
I- CARACTERISATION DES LISIERS.....	48
I-1- Humidité et matière sèche.....	48
I-2- Teneur en matière volatile et en cendres .....	48
I-3- Teneur en carbone et en azote .....	50
I-4- Teneur en phosphore et en potassium.....	51
I-5- Teneur en protéines, en matières grasses, en glucides totaux et en cellulose.....	51
I-6- Teneur en MES, en DBO et en DCO.....	52
I-7- Conclusion sur les analyses physico-chimiques.....	53
II- fermentation méthanique.....	54
II-1- Exemple de chromatogramme obtenu par CPG.....	54
II-2- Résultat de la fermentation spontanée.....	55
II-3- Résultats de l'optimisation des proportions en lisier de porc et en bouse de vache du mélange pour la co-digestion.....	58
II-4- Résultats de l'optimisation de la température.....	62

II-5- Résultats de l'optimisation de l'ensemencement.....	65
II-6- Discussions.....	68
II-6-1- La fermentation spontanée.....	68
II-6-2- Optimisation de la proportion des deux substrats du mélange de co-digestion	69
II-6-3- Optimisation de la température .....	70
II-6-4- Optimisation de l'ensemencement en pieds de cuve.....	71
II-6-5. L'inflammabilité du gaz.....	72
73	
84	
<b>ABSTRACT</b>	<b>84</b>
<b>RESUME</b>	<b>86</b>

## GLOSSAIRE

**Biométhanisation** : Phénomène de dégradation des matières organiques en méthane par des microorganismes.

**Cellulolytique** : qui entraîne la désintégration de la cellulose.

**Charge polluante** : Quantité de pollution transitant pendant un temps défini généralement un jour, dans le réseau.

**Demande biochimique en oxygène** : C'est la concentration en masse d'oxygène dissous consommé dans des conditions définies par l'oxydation biologique des matières organiques et /ou inorganique contenues dans le lisier.

**Demande chimique en oxygène** : C'est la concentration en masse d'oxygène équivalente à la quantité de bichromate consommée par les matières dissoutes et en suspension lorsqu'on dose un échantillon de lisier avec cet oxydant dans des conditions définies.

**Effluent biologique** : lisier résiduel dilué et digéré après son utilisation dans un procédé de fermentation anaérobiose, pouvant être utilisé comme un amendement fertilisant du sol cultivé.

**Equivalent -porc** : Charge polluante d'un lisier, par comparaison avec celle d'un porc.

**Lipolytique** : qui entraîne la décomposition des lipides.

**Protéolytique** : qui entraîne la décomposition des protéines.

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I : Composition moyenne d'aliments de porcs (pour 1000 g d'aliments frais) [5; 65]</b>	<b>6</b>
<b>Tableau II : Valeur nutritive d'aliments de bovins (pour 1000 g d'aliments) [36].....</b>	<b>6</b>
<b>Tableau III : Recensement administratif du cheptel par Faritany en 2002 [23].....</b>	<b>9</b>
<b>Tableau IV : Classification de quelques bactéries méthanogènes [10; 81].....</b>	<b>16</b>
<b>Tableau V : Valeur stimulante et inhibitrice de quelques ions [21].....</b>	<b>21</b>
<b>Tableau VI : La composition chimique en biogaz [12].....</b>	<b>22</b>
<b>Tableau VII : Teneur en eau des substrats.....</b>	<b>48</b>
<b>Tableau VIII : Teneur en matière volatile et en cendres des substrats.....</b>	<b>49</b>
<b>Tableau IX : Teneur en carbone et en azote des substrats.....</b>	<b>50</b>
<b>Tableau X : Teneur en phosphates et en potassium des substrats.....</b>	<b>51</b>
<b>Tableau XI : Teneur en protéines, en matières grasses, en glucides totaux et en cellulose des substrats</b>	<b>52</b>
<b>Tableau XII : Teneur en MES, en DBO et en DCO des substrats.....</b>	<b>53</b>
<b>Tableau XIII : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH4, du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de deux types de substrat.....</b>	<b>58</b>
<b>Tableau XIV : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH4 pour différents mélanges de lisier de porc (LP) et de bouse de vache (BV).....</b>	<b>62</b>
<b>Tableau XV : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH4 de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différentes températures de fermentation. ....</b>	<b>65</b>
<b>Tableau XVI : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH4 de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différents ensemencements de fermentation.....</b>	<b>68</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 : Les étapes de la fermentation méthanique.....</b>	<b>11</b>
<b>Figure 2 : La réduction du gaz carbonique en méthane.....</b>	<b>13</b>
<b>Figure 3 : Schéma du digesteur utilisé.....</b>	<b>43</b>
<b>Figure 4 : Exemple de chromatogramme obtenu après injection de gaz dans le CPG</b>	<b>54</b>
<b>Figure 5 : Evolution de la production de biogaz pour les fermentations spontanées (Sp) du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de lisier de porc et de bouse de vache.....</b>	<b>55</b>
<b>Figure 6 : Evolution de la productivité en CH<sub>4</sub> pour les fermentations spontanées (Sp) du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de lisier de porc et de bouse de vache.....</b>	<b>56</b>
<b>Figure 7 : Evolution du pH, pour les fermentations spontanées (Sp) du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de lisier de porc et de bouse de vache</b>	<b>56</b>
<b>Figure 8 : Evolution de la production de biogaz pour différentes proportions en mélange de lisier de porc (LP) et de la bouse de vache (BV) en fonction du temps.....</b>	<b>59</b>
<b>Figure 9 : Evolution de la productivité en CH<sub>4</sub> pour différentes proportions en mélange de lisier de porc (LP) et de bouse de vache (BV) en fonction du temps.....</b>	<b>59</b>
<b>Figure 10 : Evolution du pH de la proportion optimale (50%LP/50%BV) en lisier de porc (LP) et en bouse de vache (BV) du mélange pour la co-digestion.....</b>	<b>60</b>
<b>Figure 11 : Evolution de la production de biogaz à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différentes températures en fonction du temps.....</b>	<b>62</b>
<b>Figure 12 : Evolution de la productivité en CH<sub>4</sub> à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différentes températures en fonction du temps.....</b>	<b>63</b>
<b>Figure 13 : Evolution du pH à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache pour la température optimale 37°C.....</b>	<b>63</b>

<b>Figure 14 : Evolution de la production de biogaz à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différents ensemencements en fonction du temps.....</b>	<b>65</b>
<b>Figure 15 : Evolution de la productivité en CH4 à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différents ensemencements en fonction du temps. ....</b>	<b>66</b>
<b>Figure 16 : Evolution du pH à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache pour l'ensemencement optimal (10%).....</b>	<b>66</b>

## **LISTE DES PHOTOS**

<b>Photo n° 1 : Truie de type « Landrace » avec ses petits .....</b>	<b>25</b>
<b>25</b>	
<b>Photo n° 2 : Vache laitière de type « Pie rouge » avec son petit.....</b>	<b>25</b>
<b>Photo n° 3 : Digesteur de laboratoire en batch.....</b>	<b>42</b>
<b>Photo n° 4 : Biogaz en train de s'enflammer lors de l'expérimentation.....</b>	<b>83</b>
<b>Photo n° 5 : Site de biogaz à Akany Avoko Ambohidratrimo, photo prise lors</b>	
<b>d'une visite d'étude.....</b>	<b>83</b>
<b>Name : RASOANDRAINY .....</b>	<b>84</b>
<b>First name : Christine.....</b>	<b>84</b>
<b>Memory of research for obtaining D.E.A « Diplôme d'Etudes Approfondies » of</b>	
<b>Biochemistry 84</b>	
<b>Option : Biotechnology-Microbiology.....</b>	<b>84</b>
<b>1</b>	

## **LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES**

BV	: bouse de vache
Cl	: classe
CNRIT	: Centre National de Recherche Industrielle et Technologique
CPG	: chromatographie en phase gazeuse
DBO	: demande biochimique en oxygène
DCO	: demande chimique en oxygène
E	: embranchement
E.O.C	: teneur en carbone facilement oxydable
e	: espèce
F	: famille
g	: genre
h	: Heure
Kcal	: kilocalorie
KTEP	: kilotonne équivalent pétrole
l/l/j	: litre par litre par jour
LP	: lisier de porc
m <sup>3</sup>	: mètre cube
MES	: matières en suspension
min	: minute
M.O	: matières organiques
mV	: millivolt
O	: ordre
PNUD	: Programme des Nations Unies pour le Développement
ppm	: partie par million
S/Cl	: sous classe
S/O	: sous ordre



# **INTRODUCTION GENERALE**



Selon la projection de l'UNICEF, la population tendant à doubler dans une génération, implique une forte croissance de la demande de consommation énergétique. A cet effet, les arbres destinés à devenir des bois de chauffe et de charbon de bois ne suffisent plus face aux besoins des ménages [61].

Le renchérissement du pétrole et la pénurie de bois sur le plan mondial, combinés avec les préoccupations environnementales, ont incité de nombreux pays à promouvoir les recherches sur les ressources énergétiques. La crise énergétique constitue donc une des préoccupations mondiales. Beaucoup de pays n'ont pas ménagé leurs efforts pour trouver une solution et cherchent à valoriser les énergies renouvelables et les autres sources d'énergie.

Depuis des années, Madagascar était connu sous l'appellation «Ile verte». Actuellement, elle est malheureusement surnommée « Ile rouge » par suite de la déforestation due aux effets néfastes conjoints de la pratique du « Tavy » ou brûlis, des feux de brousse et à l'usage excessif du bois comme source d'énergie.

Pour Madagascar, le renforcement de l'approvisionnement en énergie est inévitable pour permettre sa croissance économique et son développement. Sur la consommation énergétique globale de Madagascar en 2001, totalisée à 3149,41 KTEP, 71% sont constitués par le bois de chauffe, 13,8% par les énergies fossiles et 1,9% par l'électricité [68]. Le recours à d'autres sources d'énergie localement disponibles devient nécessaire, d'autant plus que l'utilisation du bois peut porter atteinte à l'environnement et que l'électricité et le pétrole n'arrivent pas encore à desservir l'étendue de Madagascar.

Ce mémoire est axé sur la biométhanisation, un moyen procurant de l'énergie renouvelable. Le biogaz constitue une opportunité intéressante. Il est d'usage multiple à savoir la production de chaleur, de lumière et de carburant. Le biogaz peut être un facteur de développement économique et social dans les zones rurales [7; 10]. En outre, il peut être produit à partir de nombreuses matières premières, tels que les déchets animaux, végétaux, agro-industriels ou eaux usées.

L'intégration de la biométhanisation dans des zones rurales enclavées et éloignées, où coexistent ces matières premières, contribuera directement à leur autonomie énergétique. Les nombreux sites de production de biogaz en Chine, sont des exemples concrets de la fiabilité et de l'intérêt de la biométhanisation [14].

Dans cette étude, nous avons choisi deux substrats: le lisier de porc et la bouse de vache. Des recherches ont déjà prouvé la possibilité de production de biogaz à partir de

déchets animaux [2]. La performance du lisier de porc sur la production de gaz a été déjà testée par THELIER en 1983 et par SOW en 1990 sur des types de réacteurs continus [71; 76]. A Madagascar, des essais de production de biogaz à partir du lisier de porc ont été déjà entrepris par RAZAFIMAHEFA en 1999 et par RAMIHONE en 1982 [57; 65]. Mais ces études ne comportaient aucune optimisation des facteurs physico-chimiques de la biométhanisation.

Des essais de production de biogaz riche en méthane, en culture discontinue et l'identification des bactéries méthanogènes, ont été déjà réalisés par RAZAFINANDRASANA à partir du lisier de porc et par RARIVOSOA à partir de la co-digestion de lisier de porc et de fiente de volaille, avec optimisation des facteurs physico-chimiques de la biométhanisation [62; 66].

Le choix de l'étude du lisier de porc avec de la bouse de vache a été orienté par leur teneur en matière organique élevée et par leur disponibilité dans toutes les régions. Aucune étude approfondie sur la co-digestion anaérobiose de lisier de porc et de bouse de vache n'a encore été faite.

Notre travail consiste à connaître les caractéristiques de ces deux substrats, avant et après fermentation méthanique en vue de prouver leur biodégradabilité et à optimiser les paramètres de fermentation méthanique du lisier de porc et de la bouse de vache en co-digestion dans la culture discontinue.

Le présent mémoire se répartira en trois volets: la première partie présentera une étude bibliographique sur le lisier, sur la microbiologie de la biométhanisation et sur la fermentation méthanique. Elle sera suivie de la partie expérimentale qui comportera l'analyse de la composition physico-chimique du lisier de porc et de la bouse de vache avant et après fermentation; la fermentation spontanée du lisier de porc, de la bouse de vache et du mélange de ces deux substrats; et l'optimisation des paramètres de la co-digestion anaérobiose. Enfin, la dernière partie discutera les résultats obtenus.

# **PREMIERE PARTIE**

# **RESUME BIBLIOGRAPHIQUE**



## **I- HISTORIQUE ET ORIGINE DU BIOGAZ [10; 14; 40; 71]**

L’existence d’un gaz inflammable, produit de la matière organique en putréfaction a été découverte par HELMONT vers 1630 [40]. C’est en 1776 que VOLTA a découvert pour la première fois du méthane dans le gaz résultant de la décomposition de déchets végétaux en atmosphère confinée [10; 14]. Trente ans après, DAVY trouva un mélange de gaz carbonique et de gaz riche en carbone dans les dégagements gazeux se produisant sur du fumier surnageant dans l’eau [71]. La première installation destinée à produire du gaz combustible a été construite en 1857 dans une léproserie en Inde. En 1868, l’académicien REISET a mis en évidence la présence de gaz combustible sur des fumiers en décomposition [71]. Beaucoup d’autres chercheurs, dans des conditions expérimentales différentes, ont confirmé des aspects supposés de la fermentation méthanique et ont montré que la matière organique en putréfaction dégage du gaz combustible. La fermentation anaérobiose d’un mélange de purin et d’eau à 37°C réalisée par GAYON a permis à Louis PASTEUR de conclure dès 1884 que cette fermentation pourrait devenir une source d’énergie utilisable pour le chauffage et l’éclairage [33; 71]. En 1894, en mélangeant du papier et du purin, OMELIANSKI a obtenu du méthane et de l’hydrogène [71]. La première industrialisation est apparue, en 1896 en Grande Bretagne. Il s’agit d’une grande fosse septique construite par DONALD, le gaz produit servait à l’éclairage de la rue de la ville et à l’usage domestique [71]. En 1920, IMHOFF a mis au point une méthode de production continue de méthane en introduisant périodiquement une quantité de substance organique dans une grande masse de fermentations anaérobies en activité [71]. Cette technologie a été rapidement utilisée pour le traitement des eaux usées des grandes villes. En 1942, DUCELLIER et ISMAN ont déposé un brevet d’installation d’unités de production de gaz biologique à partir de fumier dans des cuves hermétiques [14].

A Madagascar [17; 18] : La première réalisation en matière de biogaz est celle du Docteur METZEGER, Chef de la circonscription vétérinaire d’Antsirabe, en 1949 [63]. Il s’agissait de deux fosses en briques servant de cuve de fermentation et qui étaient alimentées avec du fumier de bœufs. Le gaz produit était utilisé pour la cuisine. Des réalisations d’autres pionniers citées par RASOLOFOARIMANANA, se construisaient plus tard, tels que le digesteur en tôle métallique de la ferme d’Etat de la Sakay en 1972, l’installation d’Antsahasoa près d’Iavoloha en 1980, l’unité de biogaz du Juvénat de Saint Gabriel à Mahajanga, les deux digesteurs en béton de Centre Notre Dame de Clairvaux à Ivato en 1984

et le digesteur à dôme métallique du Centre d'Apprentissage Rural de Bevalala en 1984 [63]. Beaucoup d'autres projets de construction de cuve de biogaz ont été aussi élaborés pour des fermes se trouvant à Mahajanga, à Sakay et Ambanja [79]. Certaines installations ont été suivies avec la collaboration de la FAO, du PNUD et du ministère chargé de l'Energie [47; 60]. Les objectifs étaient la maîtrise et l'extension de la technologie du biogaz. Le centre appelé « Cellule du biogaz » est né de cette coopération et a été installé au sein du département énergétique du CNRIT. Il est en étroite collaboration avec les paysans, et sert de centre de base et d'information sur le biogaz. Deux de ces réalisations sont le biodigesteur de l'Akany Avoko d'Ambohidratrimo et celui de la croix rouge d'Antsirabe [61].

Au niveau mondial : La production de biogaz est bien établie en Chine et en Inde, avec près de 7 millions de digesteurs en Chine à la fin de 1997 et 3 millions en Inde à la fin de 1999 [14; 57]. Peu de digesteurs sont installés chez les pays africains, une des raisons est l'inexistence de programme de soutien ou de promotion pour cette nouvelle source d'énergie [80]. Les pays européens et américains utilisent surtout la biométhanisation à des fins d'épuration de déchets et des eaux usées. Ces pays sont les détenteurs des technologies le plus avancées en matière de biométhanisation. Les plus grands digesteurs sont trouvés dans ces pays à savoir par exemple les digesteurs ovoïdes de DINSLAKEN en Allemagne avec un volume de 6000 m<sup>3</sup> [32].

## **II- GENERALITES SUR LE LISIER**

### **II-1- Caractéristiques du lisier [5; 73; 76]**

Les lisiers sont les déjections des animaux élevés avec ou sans litière. Le lisier représente l'ensemble urine-fèces plus ou moins dilué par les eaux de lavage (des étables) et auquel s'ajoutent les pertes d'aliments [43]. Les éléments non digérés (comme la lignocellulose) avec certains déchets des réactions métaboliques sont les principaux constituants du lisier. Un lisier non dilué est constitué pour environ 70% d'urine et 30% de fèces. Les urines sont essentiellement riches en azote résultant de la dégradation des composés protéiques (cas des lisiers de porc). Les fèces constituées par des solides agglomérés renferment surtout des produits non digérés et de minéraux (cas du lisier de bovin ou bouse de vache).

### **II-2- La pollution associée au lisier**

La pollution est l'apport ou l'introduction de substance ou d'énergie dans un milieu naturel. Cet apport peut se faire directement ou indirectement, provoquant ainsi des effets

polluants lesquels sont nuisibles aux milieux récepteurs: ressources hydrauliques, ressources biologiques... Les substances polluantes peuvent être gazeuses, liquides ou solides.

La pollution que peut provoquer un élevage de porcs et de bovins est, évidemment, liée au mode d'élimination des déjections liquides à très forte charge organique.

### **II-2-1- Charges polluantes du lisier [5; 73; 76]**

D'après THELIER, une charge polluante du lisier de porcherie peut être rapportée à l'équivalent-porc de 70 kgs, dont la définition est la suivante : il s'agit de la quantité de pollution sous forme de demande biochimique en oxygène durant cinq jours (DBO<sub>5</sub>) émise chaque jour par un porc de 70 kgs nourris aux farines [76]. Le lisier titre 10000 à 20000 mg/l de DBO<sub>5</sub> en moyenne. Il est également un liquide très chargé en matière en suspension (MES) de 40000 à 60000 mg/l. Nous pouvons définir quatre types de polluants :

- Les polluants microbiologiques : ils sont caractérisés par les bactéries, les virus et les parasites, qui se trouvent dans le lisier. En effet, le lisier est un lieu d'accumulation d'organismes vivants. Quel que soit l'état de santé de l'animal qui émet les déjections, le lisier constitue un produit très riche en microorganismes. Le contenu des déjections en microorganismes peut atteindre des valeurs considérables (plusieurs milliards de germes) mais il s'agit le plus souvent de germes banals tels que les Coliformes, les Streptocoques, *Clostridium* etc.... dont le rôle est essentiel pour la dégradation biologique des effluents. Un nombre élevé de germes pathogènes peut aussi apparaître et l'on compte une centaine de maladies qui peuvent être transmises à l'Homme et aux animaux.

-Les polluants organiques : Ce sont les matières organiques biodégradables ou non. On trouve ici des protides, des lipides, des celluloses et des lignocelluloses.

-Les polluants organoleptiques : c'est-à-dire les odeurs qui gênent la respiration des êtres vivants. Le lisier est une source d'odeurs nauséabondes.

-Les polluants physico-chimiques : ce sont les effluents solides (MES) et les éléments chimiques tels que nitrates, nitrites, cuivre etc....

Plusieurs paramètres peuvent varier la charge polluante du lisier puisque la composition du lisier peut aussi varier en fonction de certains facteurs.

### **II-2-2- Facteurs de variation de la composition du lisier**

#### **II-2-2-1- Nature de l'aliment [5; 36 ; 44]**

Le lisier de porc et de bovin ,qui est constitué essentiellement par les éléments non digérés,a une nature et une composition étroitement liée à celles de l'aliment lui-même. Alors,

la connaissance des aliments qui composent la ration alimentaire de porc et de bovin, permet de déterminer la composition du lisier. Les tableaux suivants indiquent la composition chimique de ses rations alimentaires.

**Tableau I : Composition moyenne d'aliments de porcs (pour 1000 g d'aliments frais)**

[5; 65]

Désignation des aliments	MS	MO	MM	MAT	MP	MG	MC
Graines	866	849	17	121	90	19	19
Issues de meunerie et farine d'herbe	908	823	85	132	18	124	101
Racines et tubercules	883	869	11	21	9	11	28
Sous-produits laitiers	70	62	8	10	9	2	-
Farines animales	910	630	260	513	500	103	-
Tourteaux	903	855	48	433	375	84	70

**Tableau II : Valeur nutritive d'aliments de bovins (pour 1000 g d'aliments) [36]**

Aliments	MS	MO	MM	MAT	MP	MG	MC
Fourrages verts	300	54	70	44	05	1,84	98
Fourrages ensilés	350	59	108	58	07	2,98	47
Fourrages secs	157	79	112	72	05	2,84	73
Céréales et sous-produits	910	899	101	105	30	2,46	69
Racines, tubercules et sous-produits	883	869	11	21	09	11	28
Graines et sous-produits	888	856	32	98	69	42	108
Sous-produits des fruits et légumes	890	844	46	78	29	-	198
Matières premières d'origine animale	910	600	310	503	433	93	-

D'après ces tableaux, nous remarquons que, dans une ration alimentaire de porc et de bovin, il existe des matières sèches (MS), organiques (MO), minérales (MM), azotées (MAT), protéiques (MP), grasses (MG) et cellulosiques (MC). Toutes ces matières citées précédemment se retrouvent dans le lisier parce qu'elles ne sont pas totalement digestibles.

#### **II-2-2-2- Technique d'élevage [45; 76]**

Un logement bien aéré diminue le taux d'ammoniaque dans le lisier. L'utilisation de la paille comme litière réduit considérablement la charge polluante du lisier de porc, mais cette technique n'est plus utilisée pour les élevages de grande taille. Les eaux de lavage augmentent le volume du rejet. Le système de distribution de l'aliment pouvant être

responsable de gaspillage et de perte d'aliments, est susceptible d'augmenter la charge polluante car la concentration de chaque matière se retrouvant dans le lisier serait élevée.

### **II-2-2-3- Stade physiologique [24; 76]**

La composition du lisier peut être influencée par les différents stades physiologiques de l'animal. Par exemple, le lisier de l'animal en gestation contient, en général, des quantités relativement importantes de particules de son. Au fur et à mesure du développement de l'animal (porcelet ou veau, porc ou bœuf en croissance, animal gestant jusqu'à la lactation : truites ou vaches laitières), la charge polluante est d'autant plus importante que la ration alimentaire sera aussi abondante.

## **II-3- Conséquences concomitantes sur l'environnement**

### **II-3-1- Sur les eaux [5; 9]**

En période pluviale, les lisiers peuvent pénétrer rapidement dans le sol puis dans les eaux souterraines. Alors, ils peuvent provoquer la pollution des eaux. En ce qui concerne les microbes, l'existence de quelques particules de lisier dans l'eau la rend non potable car les microbes peuvent y proliférer rapidement. Les matières organiques non biodégradables ne gênent que les bords des rivières et des lacs par leur envahissement. Quand elles sont biodégradables, leur décomposition par certains microbes peut consommer l'oxygène de l'eau provoquant un bouleversement écologique. L'existence de l'azote ammoniacal dans l'eau menace des animaux aquatiques. Puisque certains éléments minéraux sont très solubles dans l'eau, alors, les eaux riches en éléments minéraux tels que nitrates, nitrites, phosphates, ne seront pas potables.

### **II-3-2- Sur le sol et la flore [5; 33]**

L'épandage de lisier sur les terres cultivées doit avoir des limites. Les doses maximales de lisier qu'il est possible d'épandre sur les sols cultivés seront fixées, essentiellement, en fonction de la dose maximale d'azote capable d'être absorbée par les cultures. Au-delà, il peut résulter des inconvénients comme la verse des céréales, le retard de maturité, l'accumulation de nitrates dans les fourrages. A long terme, le lisier de porc qui est soumis à un régime fortement supplémenté en cuivre et en zinc, risque d'enrichir les sols en ces deux métaux jusqu'à un niveau毒ique pour les végétaux. Toute intensification azotée, qu'elle soit faite à partir d'engrais azotés minéraux ou à partir de déjections animales, entraîne des pertes supplémentaires de calcium et une acidification accrue des sols.

### **II-3-3- Sur la faune [48; 71]**

La vie des animaux aquatiques peut être perturbée par l'abondance de l'azote ammoniacal du lisier dans l'eau. Concernant le porc, l'ingestion éventuelle de certains lisiers peut provoquer différents types de maladies comme la diarrhée. Malgré sa faible quantité en cuivre, la pulvérisation du lisier peut avoir des inconvénients pour les animaux qui pâturent ultérieurement sur de telles surfaces. Des expériences britanniques ont montré un enrichissement notable en cuivre des herbes de prairie, en raison de dépôts de particules de lisier sur les feuilles [71]. Cet enrichissement aura des inconvénients pour les ovins et les bovins qui sont sensibles à la toxicité au cuivre.

### **II-3-4- Sur l'homme [5; 48]**

Les lisiers peuvent contaminer les aliments de l'homme, directement par les végétaux et par l'eau, indirectement à partir des mouches ou autres insectes qui vont souiller les aliments ou les ustensiles de cuisine. Tout ceci entraînerait certaines maladies microbiennes chez l'homme comme la diarrhée et le choléra. Les odeurs peuvent provoquer des maux de tête et des troubles graves de digestion, voire des maladies d'estomac. D'autres éléments minéraux nocifs du lisier, notamment les nitrates, peuvent arriver dans le corps humain par l'intermédiaire de l'eau et des végétaux. Ils ne présentent, par eux- mêmes, aucun danger, mais leur réduction peut s'opérer par des bactéries intestinales qui en font des nitrites beaucoup plus nocifs. En effet, ils pénètrent dans le sang et oxydent l'hémoglobine en méthémoglobine, laquelle sera inactive comme transporteur d'oxygène, entraînant la diminution de pouvoir d'absorption de l'oxygène dans le sang et se traduisant par des phénomènes d'asphyxie interne [5; 48]. Un autre effet dangereux issu de la pollution par les nitrates est la formation de nitrosamines. Ces composés réagissent facilement avec les acides nucléiques et sont fréquemment des agents mutagènes ou cancérogènes.

### **II-4- Les ressources en lisier [12; 23]**

Les lisiers sont d'origine animale et de ce fait, leur abondance est directement liée à la quantité de déjections produites. C'est à partir du cheptel d'élevage qu'on peut avoir une estimation globale des ressources en lisier. En matière d'élevage, Madagascar possède un cheptel non négligeable (Tableau III), qui pourrait fournir une quantité importante de lisier. Dans le cas d'un élevage extensif, un porc de 50 kg produit en moyenne 2,25 kg/j de lisier et

une vache de 600 kg en produit 27,5 kg/j [12 ; 40]. Les compositions en matières organiques dégradables sont respectivement de 80,7% et 77% [12].

**Tableau III : Recensement administratif du cheptel par Faritany en 2002 [23]**

<b>FARITANY</b>	<b>BOVINS</b>	<b>PORCINS</b>	<b>OVINS</b>	<b>CAPRINS</b>	<b>VOLAILLES</b>
Antsiranana	762020	93180	3010	60800	2929000
Mahajanga	2253882	66080	2900	143081	3194000
Toamasina	455346	58278	2090	387	5858000
Antananarivo	1095789	118863	7419	721	5089000
Fianarantsoa	1055227	164422	12390	2770	5354000
Toliaré	2254809	30069	626726	1012710	3636000
<b>TOTAUX</b>	<b>7877073</b>	<b>530892</b>	<b>654535</b>	<b>1220469</b>	<b>26060000</b>

### **III- ASPECTS FONDAMENTAUX DE LA FERMENTATION MÉTHANIQUE**

#### **III-1- Définition [12; 14; 74]**

La fermentation recouvre l'ensemble des processus biologiques transformant un substrat organique en un métabolite particulier avec libération d'énergie. Selon la nature du métabolite synthétisé par le microorganisme, on parle de fermentation alcoolique, lactique, acétique, ou méthanique.

La fermentation méthanique ou encore la biométhanisation est un processus microbiologique de dégradation de la matière organique en condition anaérobiose, dont les principaux produits terminaux sont d'une part du biogaz composé essentiellement de méthane et de gaz carbonique [61], et d'autre part de la boue composée essentiellement de biomasse bactérienne et de matière organique résiduelle. Le processus peut être résumé par l'équation :  $MO + Biomasse \rightarrow boue + biogaz$ . Elle se produit de manière naturelle dans de nombreux biotopes tels que le rumen [35], les sédiments marins [81] et les sources chaudes [4].

#### **III-2- Les principales phases de la fermentation méthanique [2; 14; 38]**

La fermentation méthanique est réalisée par un ensemble de populations bactériennes complexes qui, dans des conditions d'environnement bien précises, forment des associations interdépendantes stables. Les substrats utilisés par ces bactéries et les produits qu'elles

fabriquent, permettent de distinguer différentes phases dans la biosynthèse du méthane : l'hydrolyse du substrat, l'acidogénèse, l'accétogénèse et la méthanogénèse (figure 1).

### **III-2-1- Hydrolyse**

Les polymères biologiques insolubles, grosses molécules complexes du substrat, sont hydrolysés par des enzymes excrétés par les bactéries hydrolytiques qui sont généralement spécialisés dans l'utilisation d'un polymère précis. Il existe alors une action simultanée d'enzymes et de bactéries sur le substrat. C'est donc une phase longue surtout s'il n'y pas de préfermentation aérobie. Les principaux composés organiques rencontrés dans les bioréacteurs anaérobies sont les glucides, les protides et les lipides, qui seront ensuite dépolymérisés et transformés en molécules plus simples.

#### **III-2-1-1- Métabolisme des composés glucidiques**

Les glucides simples sont faciles à digérer et à transformer par l'action des bactéries hydrolytiques. Les glucides complexes sont difficiles à hydrolyser à cause des liaisons osidiques. Cependant, les composés cellulosiques constituent l'essentiel de la matière organique de fermentation méthanique.

Pour dégrader la cellulose, les bactéries excrètent essentiellement deux sortes de cellulases : endo- $\beta$ -1,4glucanases et exo- $\beta$ -1,4glucanases. Ces enzymes dépolymérisent la cellulose et la transforment en glucose, cellobiose et dextrine. Lorsque les produits d'hydrolyse de la cellulose s'accumulent, l'activité des cellulases est inhibée à cause de la variation brusque du pH du milieu fermentaire. Alors, pour un substrat riche en cellulose, l'étape hydrolytique constitue souvent le premier facteur limitant de la fermentation méthanique. La cellulose peut être protégée par la lignine, qui limite alors son accessibilité par les cellulases. Donc, plus un substrat est riche en lignine, moins elle est biodégradable. La faible performance des cellulases en anaérobiose et les températures basses peuvent aussi affecter significativement l'étape hydrolytique.

#### **III-2-1-2- Métabolisme des composés azotés**

Les protéines sont dégradés en peptides puis en acides aminés qui sont essentiellement utilisés pour la synthèse cellulaire. L'excédent d'aminoacides est métabolisé par désamination avec production d'acides organiques, de  $\text{CO}_2$  et de  $\text{NH}_3$  [71]. Lorsque la teneur en composés azotés est trop faible, la digestion anaérobie est limitée par l'insuffisance de la masse cellulaire et lorsque cette teneur est trop élevée, c'est la toxicité de l'ammoniac sur les bactéries qui inhibe la fermentation.

### III-2-1-3- Métabolisme des composés lipidiques

Les composés lipidiques dans les bioréacteurs sont le plus souvent sous forme de triglycérides. Sous l'action des lipases exocellulaires bactériennes, les lipides sont hydrolysés en acides gras à longues chaînes et glycérol. Les acides gras libérés par les lipases sont ainsi dégradés par voie acétogène couplée à la production obligée d'hydrogène [71]. L'activité optimale des lipases se situe autour du pH neutre. En milieu acide, l'activité lipolytique des bactéries anaérobies strictes ou facultatives disparaît.

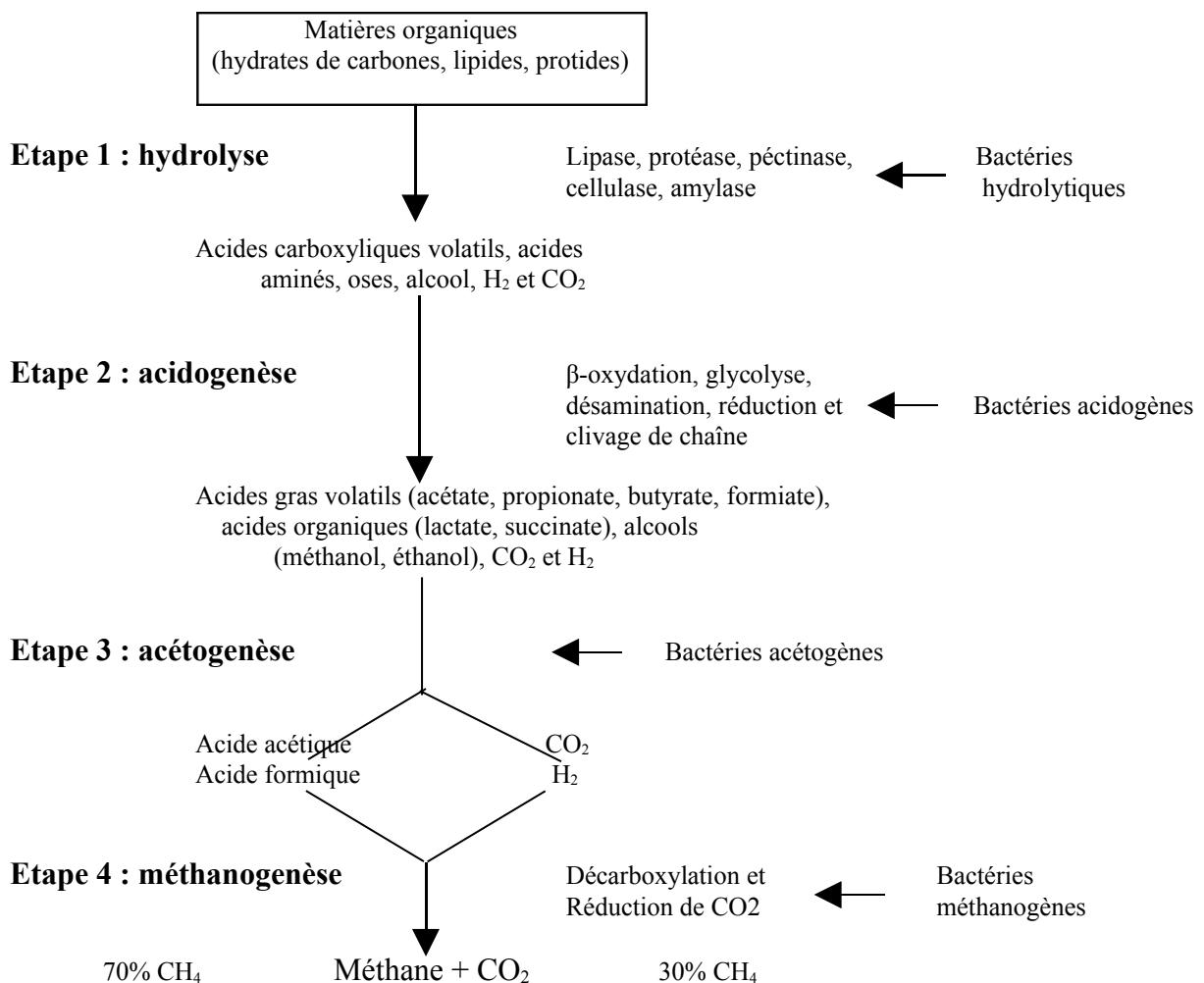


Figure 1 : Les étapes de la fermentation méthanique

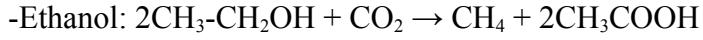
### III-2-2- Acidogénèse

Lors de cette phase, les bactéries fermentaires transforment les matières organiques simples (monomères) issues de l'étape hydrolytique en acides gras volatils (acétate, propionate, butyrate...), en acides organiques (lactate, succinate...), en alcools (méthanol, éthanol...), en gaz carbonique et hydrogène. L'acidogénèse est une étape rapide et peut être

réalisée en mésophilie ou en thermophilie. La production d'acides abaisse le pH du milieu fermentaire et elle est une source fréquente d'inhibition de la digestion anaérobique. En effet, les bactéries acidogènes ont un taux de croissance et un rendement d'assimilation élevé.

### **III-2-3- Acétogenèse**

Cette étape est primordiale dans le processus car elle transforme les produits de l'acidogenèse en précurseurs du méthane (acide acétique, acide formique, hydrogène et gaz carbonique). Cependant, l'acéate occupe une place importante dans la digestion anaérobique de la matière organique. Il est produit principalement par la fermentation des sucres tels que le fructose ou le glucose et aussi synthétisé à partir de l'H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> par les bactéries homoacétogènes. D'ailleurs, il y a aussi de l'acéate qui est synthétisé à partir des métabolites réduits (lactate, butyrate, propionate, éthanol....) des étapes précédentes par les bactéries acétogènes dites syntropiques. Voici les réactions de transformation de l'acéate à partir de :

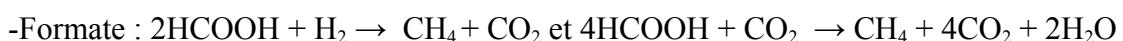


Toutes ces réactions permettent d'éviter une accumulation des acides gras volatiles, lesquels à des concentrations trop élevées deviennent des inhibiteurs de la méthanogénèse.

### **III-2-4- Méthanogénèse**

C'est la phase ultime de la biométhanisation mais elle est lente. Elle est réalisée par différentes espèces de bactéries mais possédant toutes, un métabolisme énergétique singulier, car elles n'utilisent que des composés extrêmement simples.

La synthèse du méthane à partir de la réduction d'hydrogène et de gaz carbonique est réalisée par la plupart des bactéries méthanogènes. Environ 30% du méthane produit par un digesteur provient de cette réduction. Certaines espèces sont incapables de réaliser cette réaction mais elles synthétisent du méthane à partir de l'acéate. Dans les digesteurs, 70% du méthane produit provient de l'acéate. Le formate est aussi un substrat important de la flore méthanogène. Environ 50% des microorganismes producteurs de méthane peuvent l'utiliser pour croître. Voici les réactions de synthèse de méthane à partir de :



### III-2-4-1- Réduction du gaz carbonique

La réduction du  $\text{CO}_2$  par l' $\text{H}_2$  implique un formyl-méthanofurane, un coenzyme M et un équipement enzymatique qui n'est pas parfaitement élucidé.

La première étape de la réduction du  $\text{CO}_2$  est la formation du méthyl-coenzyme M en présence d'ATP, de  $\text{Mg}^{++}$  et d' $\text{H}_2$  avec le cobalamine (vitamine  $\text{B}_{12}$ ). La réduction de ce complexe, catalysée par la méthyl-coenzyme M-réductase, produit une molécule de méthane.

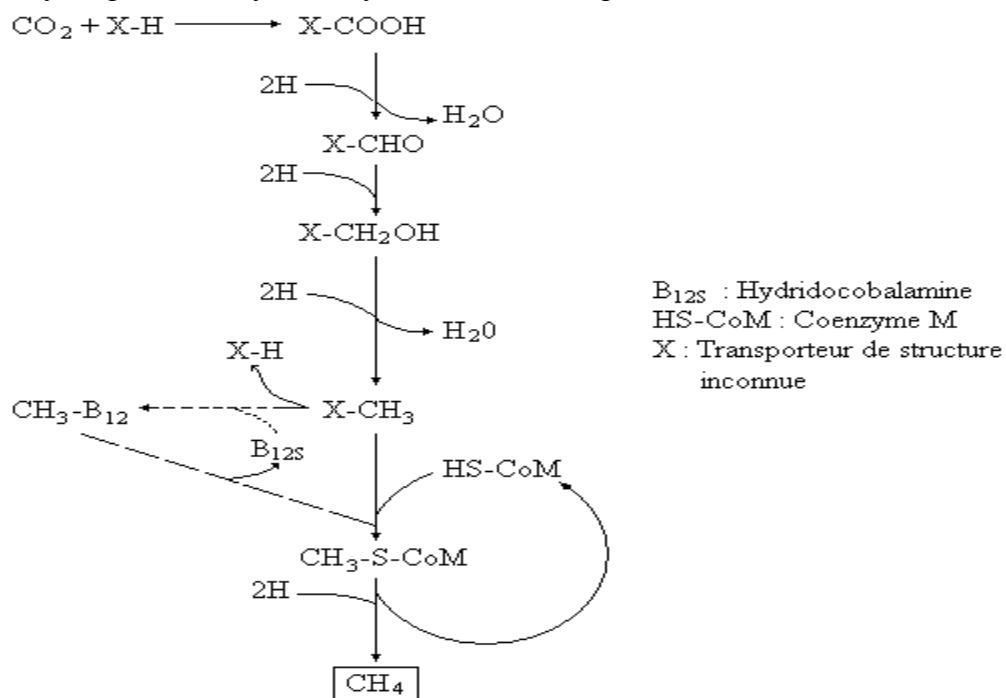


Figure 2 : La réduction du gaz carbonique en méthane

### III-2-4-2- Décarboxylation de l'acétate

Le méthane produit à partir de l'acétate provient exclusivement du groupe méthyl. La décarboxylation de l'acétate en méthane fait intervenir la CO-déshydrogénase, l'acétylcoenzyme A et le coenzyme M. La conversion de l'acétate en méthane nécessite une faible pression partielle d' $\text{H}_2$  et elle est stimulée par la présence de  $\text{CO}_2$  dans le milieu fermentaire. La réaction se résume ainsi :  $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$

## III-3- Microbiologie de la fermentation méthanique [7; 10; 42; 55]

La dégradation anaérobiose de la matière organique met en jeu différents groupes de microorganismes anaérobies facultatifs ou stricts qui préparent ou accomplissent la fermentation méthanique. Ainsi, le substrat utilisé tel que le lisier de porc et de bovin, est loin d'être stérile. En effet, 40% du poids frais de lisier est constitué de cellules bactériennes, soit environ  $10^{10}$  germes/gramme de lisier [76]. Des observations au microscope à fluorescence

ont montré la présence de bactéries méthaniques [76]. Les déjections animales sont donc naturellement ensemencées.

Nous allons voir les groupes de bactéries spécifiques, mais toutes interdépendantes, intervenant dans chaque étape biochimique de la biométhanisation.

### **III-3-1- Les microorganismes impliqués dans la phase d'hydrolyse**

Les bactéries impliquées dans la phase d'hydrolyse sont abondantes dans la nature mais elles ne constituent pas un groupe homogène. Les bactéries hydrolytiques telles que les bactéries cellulolytiques, protéolytiques, lipolytiques, peuvent être anaérobies stricts ou facultatifs et elles sont sensibles à la variation du pH du milieu fermentaire. Ce sont les bactéries qui peuvent excréter toutes les enzymes utilisées pendant le métabolisme réactionnel de l'étape hydrolytique. Le pH d'activité optimale de leurs enzymes se situe autour de 7,4 [21]. Elles peuvent être aussi thermophiles ou mésophiles et sont difficiles à isoler car elles perdent rapidement leur propriétés en culture pure, et morphologiquement, rien ne les différencie des autres microorganismes des bioréacteurs [53]. Dans les digesteurs anaérobies, les bactéries hydrolytiques sont moins nombreuses que les acidogènes [53]. Mais on peut citer *Bacteroides sp*, *Ruminococcus sp*, *Clostridium thermocellum*.

### **III-3-2- Les microorganismes impliqués dans la phase acidogène [53]**

Les bactéries impliquées dans l'acidogénèse sont les plus acidophiles des microorganismes de la digestion anaérobie pouvant se développer jusqu'à pH 5 [10].

Les bactéries acidogènes constituent des groupes physiologiques variés. Elles sont généralement anaérobies strictes surtout les genres *Clostridium* mais elles peuvent être aéro-anaérobies facultatives pour certaines, comme les Streptocoques et les Entérobactéries. Ce sont, de loin, les organismes les plus connus et les plus facilement isolables et identifiables en culture pure. Elles comprennent alors des formes en bâtonnets, Gram négatives, mobiles, sporulées (*Clostridium*) ou non sporulées (*bifido-bacterium*).

Les bactéries acidogènes appartiennent à des familles très différentes selon les niches écologiques où elles ont été isolées. Ainsi, les bactéries de la famille des entérobactéries sont dominantes dans les lisiers de porc [71], d'autres appartenant aux genres *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Micrococcus* et *Clostridium* sont couramment isolées dans les digesteurs. Ces bactéries acidifiantes se rencontrent dans les digesteurs anaérobies à une concentration de l'ordre de 10<sup>9</sup>/ml [76]. La majorité des recherches sur le métabolisme, la biochimie et la génétique des bactéries ont été réalisées en utilisant cette classe de bactérie acidogène.

### **III-3-3- Les microorganismes impliqués dans la phase acétogène [14]**

Les bactéries impliquées dans l'acétogénèse sont encore très mal connues. Mais on peut citer deux grands groupes de bactéries qui assurent la formation d'acétates.

D'une part, ce sont les bactéries homoacétogènes qui produisent de l'acétate par réduction du gaz carbonique par l'hydrogène moléculaire. Elles peuvent être aussi responsables de la production d'acétates à partir de sucres (fructose ou glucose). Les bactéries réalisant cette réaction sont : *Clostridium thermoaceticum*, *C.aceticum*, *C. formiaceticum*, *C.thermoautotrophicum*, *C.magnum*, *Acetobacterium wieringae*, *A.carbonilicum*, *Sporomusa sphaeroides*, *S.ovata*, *S.acidovorans*, *Acetoanaerobicum noterae*. Ces bactéries pourraient intervenir dans la digestion anaérobie soit comme compétitrices des bactéries méthanogènes hydrogénophiles, soit pour favoriser la croissance des bactéries méthanogènes acétolastes.

D'autre part, les bactéries acétogènes dites syntrophiques produisent de l'acétate à partir des métabolites réduits de l'acidogénèse. Ce sont de bactéries productrices obligées d'hydrogène mais elles ont un métabolisme optimal à très faible pression partielle en hydrogène (inférieur à  $10^{-5}$ atmosphère) [71]. Ces bactéries ne peuvent donc croître qu'en présence d'autres bactéries utilisatrices d'hydrogène telles que les bactéries méthanogènes ou les bactéries sulfatoréductrices. Ainsi, elles ont un taux de croissance très faible. Elles sont mésophiles et n'ont pas encore été isolées de souches thermophiles. Alors, elles constituent le groupe microbien des digesteurs anaérobies le moins représenté. Une bactérie syntrophique, *Methanobacillus omelianskii* peut transformer l'éthane en acétate. On connaît également *Syntrophobacter wolinii* capable de dégrader le propionate et le *Syntrophomonas wolfei* capable de dégrader le butyrate.

### **III-3-4- Les microorganismes impliqués dans la phase méthanogène [42; 55]**

Les bactéries méthanogènes sont des microorganismes anaérobies stricts. Elles assurent la production du méthane et nécessitent un potentiel d'oxydoréduction très bas pour croître (-330 mV). Leurs vitesses de croissance sont très lentes ce qui implique la nécessité d'un temps de séjour long dans le digesteur. Leurs temps de génération peuvent aller jusqu'à 49 heures. Plusieurs paramètres physico-chimiques peuvent ainsi influencer leur croissance. Les bactéries méthanogènes sont classées dans les Archéobacteria. Elles contiennent du coenzyme M (à fonction méthyltransférase), des transporteurs d'électron, le  $F_{420}$  et le  $F_{430}$ . Le facteur  $F_{420}$  a été isolé uniquement des bactéries méthanogènes [36]. Leurs parois ne semblent

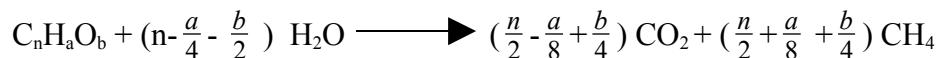
pas renfermer de peptidoglycane mais d'autres complexes polysaccharidiques mis en évidence chez *Méthanosarcina barkeri*. C'est en mésophilie que l'on trouve la plupart des bactéries méthanogènes. Mais il y a aussi certaines souches qui sont modérément thermophiles appartenant au genre *Methanosarcina*. Malgré ces analogies, les bactéries méthanogènes se présentent sous des formes très différentes (Tableau IV).

**Tableau IV : Classification de quelques bactéries méthanogènes [10; 81]**

Ordre	Famille	Genre liste non exhaustive	Forme	Substrat
Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	<i>Methanobacterium</i> <i>Methanobrevibacter</i> <i>Methanospaera</i>	Bâtonnet Gram -	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , formate
	Methanothermaceae	<i>Methanothermus</i>		
Méthanococcales	Methanococcaceae	<i>Methanococcus</i>	Coccoïdes mobiles Gram + instable	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , formate
Methanomicrobiales	Methanomicrobiaceae	<i>Methanogenium</i>	Bactéries Gram -	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> formate
	Methanocorpusculaceae	<i>Methanocorpusculum</i>	Bactéries plates flagellées Gram-	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , formate
	Methanosarcinaceae	<i>Methanosarcina</i>	Bactéries Gram +	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , méthanol
		<i>Methanococcoïdes</i>	Coccoïdes	Méthanol méthylamine

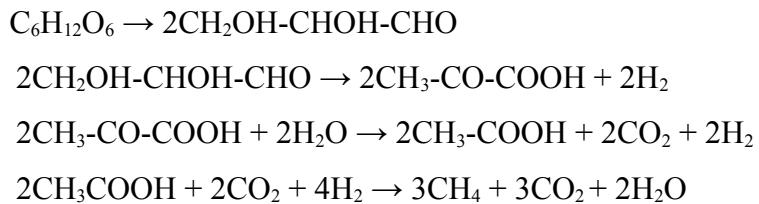
### **III-4- Un exemple de la réaction méthanique : la conversion du glucose [5]**

La transformation de la matière organique en produit gazeux par la voie méthanique suit généralement l'équation stoechiométrique de Buswell [21].



En ce qui concerne la conversion du glucose, l'hexose initial se décompose en deux molécules de triose (Glycéraldéhyde). La formation de l'hydrogène à la réduction du gaz carbonique est obtenue en partie lors du catabolisme de ces deux molécules. Les réactions biochimiques conduisant du glucose au méthane ne sont pas totalement identifiées. Cependant, à l'aide des marqueurs radioactifs, on a pu établir que le carbone du méthane provient pour environ 1/3 du gaz carbonique et pour 2/3 de l'acétate formé [21]. L'acétate est considéré comme le principal précurseur du méthane.

Les réactions se résument de la façon suivante :



### III-5- Les principaux facteurs contrôlant la fermentation méthanique

La maîtrise de la conduite d'une fermentation méthanique, nécessite le choix d'un certain nombre de paramètres physico-chimiques, permettant à la fois d'assurer globalement le métabolisme des différentes espèces bactériennes présentes dans le milieu et de constater le bon déroulement de la fermentation.

#### III-5-1- La température [12]

C'est un paramètre important car la température agit directement sur la cinétique de croissance bactérienne, donc sur la vitesse de dégradation de la matière organique et la production de gaz. L'activité enzymatique des bactéries dépend étroitement de la température [6 ; 38]. Vers 10°C, cette activité est faible, au dessus de 65°C les enzymes sont détruits par la chaleur [40]. Dans un digesteur coexistent des bactéries qui ont chacun leurs plages de température de croissance. Elles peuvent être psychrophiles montrant un optimum de croissance à 10°C, psychotrophes avec un optimum à 25°C, mésophiles avec une croissance optimale à une température comprise entre 30°C et 37°C ou thermophiles quand la température optimum de croissance est comprise entre 45°C et 70°C. La production de biogaz présente deux optimums correspondant à l'activité de deux microflores différentes : l'une vers 35-40°C (zone mésophile) et l'autre vers 55-60°C (zone thermophile).

#### III-5-2- Le potentiel d'hydrogène (pH) [10; 12]

Le pH idéal de fermentation méthanique est situé entre 6,6 et 7,6 avec un optimum entre 7 et 7,3 [14 ; 40]. La tolérance des microorganismes à une concentration en ion H<sup>+</sup> semble être liée à la composition de leurs membranes et à leur perméabilité sélective.

L'équilibre du pH est essentiellement assuré par les bicarbonates dissous, dont la concentration doit être au moins égale à 1500 mg/l et jusqu'à 5 g/l pour assurer la bonne marche de la digestion anaérobiose.

#### III-5-3- L'anaérobiose et le potentiel redox [35; 40]

D'après Hungate, la quantité d'oxygène létale pour les bactéries méthanogènes est estimée à 10 ppm [35]. Seul un milieu anaérobiose permet la production de méthane. Un

potentiel redox inférieur à  $-250$  mV semble nécessaire à une activité méthanique stable. Il faut ainsi limiter au minimum l'apport des substances oxydantes telles que les nitrates, les nitrites et surtout l'oxygène. L'élimination de l'oxygène présent au début de la fermentation est liée au métabolisme des bactéries anaérobies facultatives (hydrolytiques et acidogènes). Dans la pratique, il suffit de veiller à la bonne étanchéité du digesteur et l'immersion du substrat ou la saturation en eau est le meilleur garant de l'anaérobiose.

### **III-5-4- L'humidité [12; 26]**

La teneur en eau intervient dans la vitesse de la digestion anaérobiose. La matière organique imbibée d'eau présente une plus grande surface d'attaque des bactéries. Pour vivre et travailler, les bactéries méthanoliques ont besoin d'au minimum 50% d'humidité (eau liée ou eau libre) [5 ; 53]. Cela impose une bonne homogénéité du milieu et cette humidité minimale est alors maintenue partout. Dans la pratique, le taux d'humidité est imposé par le procédé de fermentation utilisé. Dans le cas de substrat sec, fientes de volaille par exemple, une humectation plus ou moins importante doit être effectuée [40].

### **III-5-5- L'agitation [12; 26; 53]**

L'agitation permet d'améliorer la productivité en assurant une meilleure homogénéité du contenu du digesteur et en favorisant les transferts thermiques, ioniques et métaboliques. Elle facilite un contact optimisé entre le substrat et les bactéries. Elle évite la formation de croûte et aussi la décantation de particules denses [76]. En effet, cette agitation peut se faire mécaniquement ou par simple circulation du gaz ou de l'effluent.

### **III-5-6- Le temps de rétention hydrauliques (TRH) [53]**

C'est le temps de séjour du substrat à méthaniser dans le digesteur. Il dépend de la composition même des substrats (biodégradabilité), des objectifs à atteindre (pourcentage de dépollution, niveau de désodorisation, de l'énergie à produire), de la température, du fonctionnement du digesteur et du procédé utilisé.

### **III-5-7- Les facteurs nutritionnels et le rapport C/N [40]**

La biodégradabilité du lisier et la durée nécessaire à sa conversion en biogaz par fermentation méthanique, dépendent de sa composition biochimique et des pourcentages respectifs des glucides, lipides et protides. Un facteur important pour déterminer la bonne fermentescibilité d'un substrat est la proportion carbone sur azote ou rapport C/N. Un rapport C/N élevé témoigne de la présence de substance difficilement dégradable par les

microorganismes. Tandis qu'un rapport C/N très faible témoigne d'une accumulation de l'ammoniac et qui pourrait être toxique à une teneur élevée. Un rapport C/N compris entre 25 et 35 donne un meilleur rendement de fermentation [12]. En effet, le carbone est une source d'énergie et l'azote est un élément de l'édification des structures cellulaires.

### **III-5-8- Les matières en suspension (MES) [53]**

Ce paramètre peu utilisable pour connaître l'état du processus fermentaire, a cependant deux rôles : il permet de contrôler la teneur en MES (insoluble) de l'alimentation. Il permet de choisir la technologie la plus appropriée : un dépassement d'une certaine teneur en MES peu dégradable, est une mise en garde au risque de colmatage (fermenteur à biomasse fixée) et d'obstruction des chemins préférentiels au sein du digesteur. Il permet également l'estimation de la production de biomasse lors de la dégradation de la matière organique, notamment par la mesure des matières volatiles en suspension (MVES).

### **III-5-9- La production de biogaz**

Le volume de biogaz produit est une indication de la bonne marche de la fermentation et de la fiabilité de la technologie utilisée.

### **III-5-10- La teneur en méthane**

La teneur en méthane du biogaz, permet d'évaluer l'activité des bactéries méthanogènes. En outre, la phase méthanogène est le responsable final de l'élimination des composés intermédiaires du métabolisme fermentaire. C'est en général l'étape limitante du processus. Une perturbation au sein du réacteur se traduit le plus souvent par l'inhibition de la méthanogenèse [61].

### **III-5-11- Les facteurs biologiques [53]**

Les déchets animaux contiennent déjà toutes les bactéries nécessaires à la biométhanisation, provenant de la flore digestive. Toutefois, elles n'y sont pas toujours en quantité suffisante. Alors, le démarrage de la fermentation se trouve facilité si l'on ensemence le substrat avec un liquide en pleine phase de fermentation. Cela permet d'accélérer la production de méthane. La quantité nécessaire est d'environ 10 à 20% du substrat à fermenter [12]. Cet ensemencement permet de réduire le temps de latence du départ qui sinon, peut durer plusieurs semaines. Il peut se faire de différentes manières : avec des boues de mare ou de station d'épuration, avec le jus ou le pied de cuve d'une précédente fermentation, en préparant un ferment à partir de chyme stomacal comme le jus de panse de bovins et de

bouse. Le contenu du rumen est le meilleur inoculum d'ensemencement du milieu fermentaire anaérobie [71].

### **III-6- Les facteurs liés aux problèmes des matières premières**

On distingue deux catégories de facteurs inhibiteurs liés à la fermentation méthanique : les composés inhibiteurs contenus dans les substrats et les facteurs d'inhibition par précurseur.

#### **II-6-1- Les composés inhibiteurs contenus dans les substrats**

La quantité et la composition de gaz produit au cours de la fermentation anaérobie sont fonction de la qualité de la matière première.

##### **III-6-1-1- La cellulose [6; 10]**

Les fumiers et les autres matières utilisées pour la production de biogaz ont très souvent une quantité importante en cellulose. Sa fermentation, par les bactéries cellulolytiques, aboutit à la formation de monomère tel que le glucose. Elle est toutefois difficile à fermenter à cause de sa structure naturelle.

La cellulose est un polymère linéaire, constitué d'unités de D-glucoses liés en  $\beta$ -(1-4), ces unités forment des chaînes linéaires disposées parallèlement (fibrilles) et liées les unes aux autres par des liaisons hydrogènes intramoléculaires. Cette disposition confère à la cellulose une formation de région cristalline dans les fibrilles. A l'état natif, la cellulose est associée avec la lignine qui est un polymère de nature phénylpropane, c'est un matériau de remplissage et qui contribue à créer au complexe ligno-cellulosique, un système fermé, protégé et peu accessible aux enzymes. L'hydrolyse de cette structure ligno-cellulosique requiert la présence de plusieurs enzymes (cellulase, xylanase, endoglucanases et autres). Peu de microorganismes possède les enzymes capables de provoquer la lyse initiale de la cellulose native et bien que cela ait fait l'objet de nombreuses études, toutes les étapes de leurs modes d'action ne sont pas élucidées [7; 10]. Par contre, l'hydrolyse de la cellulose partiellement dégradée est commune à de nombreuses souches bactériennes.

##### **III-6-1-2- Les ions minéraux [40]**

Ils sont indispensables au métabolisme des cellules microbiennes. Ils sont bénéfiques à petites concentrations. Par contre à forte concentration, les ions ayant toujours tendance à aller du milieu le plus concentré vers le milieu moins concentré, traversent les membranes des

bactéries et les inhibent. Les concentrations seuils tolérées par les bactéries méthanogènes sont présentées dans le tableau V suivant :

**Tableau V : Valeur stimulante et inhibitrice de quelques ions [21]**

Ions	Concentration en mg/l	
	stimulante	inhibitrice
Sodium Na <sup>+</sup>	100	3500
Potassium K <sup>+</sup>	200	2500
Calcium Ca <sup>2+</sup>	100	2500
Ammonium NH <sup>4+</sup>	75	1500
Sulfure S <sup>2-</sup>	-	Moins de 200

### **III-6-1-3- Les métaux lourds [12; 32]**

Théoriquement, les métaux lourds sont toxiques à des concentrations supérieures à 1 ppm. Cependant il y a des cas où l'inhibition ne se produit qu'à des concentrations largement supérieures après adaptation progressive des microorganismes.

Dans un digesteur où l'alcalinité carbonatée est importante, la précipitation par les carbonates limite la teneur en métaux solubles. Carbonates et sulfures précipitent la plupart des ions métalliques courants sauf le chrome.

### **III-6-1-4- Les autres substances toxiques [32; 41]**

Les hydrocarbures chlorés comme le chloroforme, le tétrachlorure de carbone, chlorure de méthylène sont inhibiteurs de la méthanogenèse, même à l'état de traces (concentration inférieure à 10 µM/l). Les matières organiques comme les organo-chlorés, les solvants, les antibiotiques [41] et les détergents anioniques sont également toxiques et provoquent un arrêt de la digestion. Les résines des arbres, les tannins et les chlorophénols sont aussi réputés comme inhibiteurs de la fermentation des effluents des industries du bois.

## **III-6-2- Les facteurs d'inhibition par précurseur**

La lenteur d'une digestion anaérobiose peut provenir d'un changement physico-chimique du milieu et entraînant ainsi une rupture d'équilibre entre les différentes étapes biochimiques dans le réacteur.

### **III-6-2-1- L'ammoniac [12; 32]**

A faible concentration, l'ammoniac est parmi les facteurs stimulateurs. Par contre à forte concentration, il devient toxique et même inhibiteur de la méthanogénèse.

### **III-6-2-2- Les acides gras volatils [12]**

Leur accumulation dans le digesteur tend à diminuer le pH, et inhibe ainsi la méthanogenèse à un pH inférieur à 6,6.

### **III-6-2-3- L'oxygène dissous [42]**

Les bactéries méthanogènes sont particulièrement sensibles à l'oxygène dissous. Une entrée d'air dans le digesteur leur est fatale, (en partie par l'oxydation de certains cofacteurs nécessaires à leur métabolisme) et conduit à l'arrêt de la méthanisation.

## **III-7- Les produits de la fermentation méthanique**

La biométhanisation conduit à l'obtention de deux produits principaux : le biogaz et l'effluent biologique

### **III-7-1- Le biogaz**

#### **III-7-1-1-Définition [26; 53]**

C'est un gaz inflammable, produit au cours de la fermentation méthanique des matières organiques, dont la valeur énergétique dépend de sa teneur en méthane. C'est un gaz mélange de plusieurs gaz, dont les proportions varient beaucoup d'un substrat à l'autre, d'un bioréacteur à l'autre et même d'un jour à l'autre pour la même fermentation.

#### **III-7-1-2 -Composition chimique**

Le biogaz est théoriquement composé d'un certain nombre d'autres gaz dont la composition moyenne est donnée par le tableau ci-dessous.

**Tableau VI : La composition chimique en biogaz [12]**

Méthane CH <sub>4</sub>	50 à 85%
Gaz carbonique CO <sub>2</sub>	20 à 40%
Hydrogène H <sub>2</sub>	1 à 3%
Oxygène O <sub>2</sub>	0,1 à 1%
Azote N <sub>2</sub>	0,5 à 3%
Monoxyde de carbone CO	0,0 à 0,1%
Hydrogène sulfuré H <sub>2</sub> S	0,1 à 0,5%
Vapeur d'eau H <sub>2</sub> O	Traces

#### **III-7-1-3- Principales caractéristiques [12]**

Le biogaz est caractérisé, le plus souvent, par son pouvoir calorifique pour une utilisation à des fins énergétiques. Le pouvoir calorifique du biogaz est compris entre 5300 et 6250 Kcal/m<sup>3</sup> lorsque sa teneur en CH<sub>4</sub> est située entre 60 à 70% [46]. Le gaz naturel a un pouvoir calorifique de 4000 Kcal/m<sup>3</sup> et celui du propane est de 22000 Kcal/m<sup>3</sup>.

Le biogaz est incolore et combustible à partir de 25% de méthane. La solubilité du méthane dans l'eau est très faible, c'est pourquoi l'eau ou l'eau salée est utilisée comme facteur d'étanchéité pour pouvoir récupérer le biogaz. Il brûle avec une flamme bleue ou rouge sans noircir les casseroles. Il est plus léger que l'air. Même s'il est parfois très odorant par la richesse en hydrogène sulfuré (odeur d'œuf pourri), il ne dégage pas de mauvaise odeur lorsqu'il brûle.

### **III-7- 1-4- Utilisations**

Le biogaz est destiné à différentes utilisations : il peut être utilisé soit à l'usage domestique tels que la cuisson ménagère, l'éclairage, la réfrigération des appareils frigorifiques à absorption ; soit à l'usage communautaire tel que l'électrification rurale ; soit à l'usage industriel. Il peut être aussi utilisé comme carburant dans les moteurs [12; 14].

### **III-7-2- L'effluent biologique [53]**

L'aspect d'utilisation des effluents est aussi important pour le propriétaire d'un digesteur. Lors de la fermentation méthanique, les éléments minéraux comme l'azote, le phosphore et le potassium sont stabilisés et conservés dans des effluents qui constituent, de ce fait, un excellent amendement de sol. Ce résidu est parfois appelé méthacompost pour le distinguer de celui résultant d'une fermentation aérobique. Par rapport au produit de départ, une partie de la matière sèche a disparu, la charge polluante est fortement réduite, le digestat est donc désodorisé, et dépourvu de microorganismes pathogènes ; ainsi les autres éléments nutritifs pour l'agriculture sont plus facilement assimilables.

# **DEUXIEME PARTIE**

# **MATERIELS ET METHODES**



## I- MATIÈRES PREMIÈRES

### I-1- Les substrats utilisés

Les substrats utilisés pour nos expériences sont les lisiers de porc et les lisiers de bovin. Les collectes ont été effectuées dès le début de la matinée, auprès des éleveurs à Avaratr'Ankatso pour les lisiers de porc et à Antsobolo/Ambatomaro pour les bouses de vache. Le prélèvement de lisiers frais et leur transport ont été donc effectués juste avant chaque manipulation au laboratoire, pour éviter toute éventuelle transformation des matières fermentescibles pendant le trajet. Toutes les précautions doivent être prises pour qu'ils ne subissent aucune modification entre l'instant du prélèvement et celui de l'analyse ou de la fermentation. Durant notre travail, nous avons choisi, de ne pas utiliser les lisiers plus âgés c'est-à-dire les lisiers qui ne sont pas utilisés tout de suite mais laissés pendant un certain temps, afin d'obtenir des résultats précis. Nous avons utilisé les lisiers de porc comme substrats de base et ceux de bovin comme substrats supplémentaires.

### I-2- Classification des animaux, ressources en lisier

Le porc et le bovin ont respectivement leur propre classification scientifique.

<u>Porc</u>	<u>Bovin</u>
E : VERTEBRES	E : VERTEBRES
C1 : MAMMIFERES	C1 : MAMMIFERES
S/C1 : EUTHERIENS	S/C1 : EUTHERIENS
O : ARTIODACTYLES	O : ARTIODACTYLES
S/O : ONGULES	S/O : ONGULES
F : SUIDAE	F : BOVIDAE
S/F : SUIFORMES	S/ F : BOVINAES
g : <i>Sus</i>	g : <i>Bos</i>
e : <i>scrofa</i>	e : <i>taurus</i>
race : Landrace	race : Pie rouge

L'élevage de ces animaux est en mode de stabulation. Leurs habitations sont faites en mur de brique ou de bois et les sols sont en dallage de ciment ou en bois (photo n°1 et n°2).

Les lisiers repandus dans l'étable sont raclés tous les matins et sont ensuite entassés à l'extérieur. Un lavage du sol est donc effectué chaque matin.

Les porcs sont de race «Landrace» (photo n° 1). Les bovins sont de race «Pie rouge» (photo n° 2). Leurs âges sont différents allant de 2 à 26 mois.



**Photo n° 1 : Truie de type « Landrace » avec ses petits**



**Photo n° 2 : Vache laitière de type « Pie rouge » avec son petit**

## II- CARACTÉRISATION DES LISIERS

La caractérisation des lisiers consiste à les analyser physico-chimiquement pour connaître les indicateurs polluants présents puis pour voir les qualités et les quantités de la matière organique fermentescible. Elle pourrait fournir des données à partir desquelles seront rapportés les résultats des fermentations méthaniques. Elle est aussi effectuée avant et après la fermentation méthanique dans la condition spontanée, enfin de prouver le degré de la biodégradabilité des lisiers de porc et de bovin.

### II-1- Détermination de l'humidité et de la matière sèche du lisier [3; 29]

#### III-1-1- Définition

D'après la définition de GUILBOT, la teneur en eau est la quantité d'eau perdue par la substance lorsqu'on l'amène en équilibre vrai, avec une pression de vapeur d'eau nulle (humidité relative HR= 0%) dans des conditions telles que les réactions perturbatrices éventuelles soient évitées [29].

#### II-1-2- Principe

Le principe est fondé sur la dessiccation de la prise d'essai dans une étuve à  $103\pm2^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante.

#### II-1-3- Matériels

Les matériels employés sont les suivants : lisier de porc et de bouse de vache, balance de précision, boite à tare, dessiccateur, étuve.

#### II-1-4-Mode opératoire

10 g d'échantillon sont introduits dans une boite à tare préalablement séchée et tarée. Soient  $m_1$  la masse de la boite tarée et  $m_2$  la masse de la boite avec l'échantillon. La boite avec son contenu sans couvercle est mise dans l'étuve à  $103\pm2^{\circ}\text{C}$  jusqu'à ce que la masse obtenue après étuvage soit stable. A la sortie de l'étuve, elle est immédiatement placée dans un dessiccateur pour être refroidie, soit  $m_3$  la masse de la boite après étuvage.

#### II-1-5- Mode de calcul

La teneur en eau ou humidité (H%) est donnée par la formule :

$$H\% = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1} \times 100$$

Avec  $m_1$  : masse de la boite à tare (en g)

$m_2$  : masse de la boîte à tare avec la prise d'essai, avant dessiccation (en g)

$m_3$  : masse de la boîte à tare avec la prise d'essai, après dessiccation (en g)

Le taux de la matière sèche (MS%) est déduit par la relation :

$$MS\% = 100\% - H\%$$

## II-2- Détermination de la teneur en carbone total [22; 37]

Nous avons utilisé la méthode de WALKEY et BLACK pour la détermination du carbone total.

### II-2-1- Définition

La teneur en carbone total représente la somme de carbone organique et minéral d'une matière définie.

### II-2-2- Principe

La matière organique est oxydée à froid par le bichromate de potassium en présence d'acide sulfurique selon la réaction :



La connaissance du taux de bichromate, qui a réagi pour la réaction, permet d'évaluer le taux de la teneur en carbone d'un échantillon. La solution de dichromate de potassium est titrée avec une solution de sulfate de fer (II) de concentration connue, d'après la réaction :  $Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6Fe^{2+} \rightarrow 6Fe^{3+} + 2Cr^{3+} + 7H_2O$

### II-2-3- Réactifs

Les réactifs utilisés sont : bichromate de potassium ( $Cr_2O_7K_2$ ) 1N ; diphénylamine : 0,5 g de diphénylamine est mis dans 100 ml de  $H_2SO_4$  pur; le tout est versé dans 20 ml d'eau distillée ; acide sulfurique concentré ( $H_2SO_4$ ); acide orthophosphorique ; sulfate de fer ( $FeSO_4$ ).

### II-2-4- Mode opératoire

L'échantillon séché est broyé avec un mortier jusqu'à avoir un grain de 0,425 mm. 0,25 g d'échantillon est ensuite mis dans un flacon de 250 ml, auquel est ensuite ajouté 10 ml de  $Cr_2O_7K_2$  (1N). Un témoin ne contenant que le bichromate de potassium est aussi préparé dans un autre flacon. A chaque tube est ajouté 20 ml d'acide sulfurique concentré, puis les contenus sont agités pendant 30 min sur un agitateur magnétique. Ensuite, 10 ml d'acide orthophosphorique et 150 ml d'eau distillée sont versés dans chaque flacon. Quelques gouttes de diphénylamine y sont ajoutées pour servir d'indicateur, chaque flacon est ensuite porté

successivement sous une burette contenant une solution de sulfate de fer (N/2). L'ajout de  $\text{FeSO}_4$  est arrêté quand la couleur du contenu vire du violet au vert. Lors du passage de cette coloration, 0,5 ml de bichromate de potassium est encore ajouté.

### **II-2-5- Mode de calcul**

$$\text{Calcul de la normalité du sulfate de fer (II)} : \quad N(\text{Fe}) = \frac{10,5}{B}$$

B : volume de  $\text{FeSO}_4$  nécessaire pour l'essai à blanc

Calcul de la teneur en carbone :

$$\text{a- Teneur en carbone facilement oxydable} : \quad \% \text{E.O.C} = \frac{300 \times N(\text{Fe}) \times (B - T)}{W}$$

T : volume de  $\text{FeSO}_4$  nécessaire pour la titration de l'échantillon

W : masse en mg de l'échantillon

$$\text{b- Teneur en carbone total CT (\%)} : \quad CT(\%) = \% \text{E.O.C} \times 1,3$$

### **II-3- Détermination de la teneur en azote total et en protéines totales [30]**

La méthode utilisée est celle de KJELDHAL, qui est une méthode standard pour la détermination de la teneur en azote total à partir de laquelle le taux de protéines totales est évalué en utilisant le coefficient de conversion 6,25.

#### **II-3-1- Définition**

La teneur en azote total est définie comme la somme de l'azote sous forme ammoniaque et celui sous forme organique qui a été convertie en sulfate d'ammonium, selon le procédé de minéralisation à l'acide sulfurique à ébullition.

#### **II-3-2- Principe**

L'acide sulfurique concentré et à ébullition, agit comme un oxydant et réduit les matières organiques azotées. L'azote est minéralisé sous forme de  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ . L'ammoniac libéré entraîné à la vapeur d'eau dans le distillateur est retenu par l'acide sulfurique faible (0,1). La quantité d'azote total est déterminée par titration avec de la soude  $\text{NaOH}$  (N/10) en présence d'indicateur de Tashiro.

#### **II-3-3-Réactifs**

Les réactifs utilisés sont les suivants : solution d'acide sulfurique concentrée ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) à 98% ( $d=1,84$ ), catalyseur pour la minéralisation : sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ) et sulfate de

potassium (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) dans une proportion 1/10 (P/P), solution de soude (0,1N), solution titrée d'acide sulfurique (0,1N), indicateur coloré : réactif de Tashiro, eau distillée.

#### **II-3-4- Mode opératoire**

Un échantillon sec d'une masse de 0,5 g est minéralisé à chaud pendant 3 heures jusqu'à l'obtention d'un liquide limpide dans un matras de PARNAS et WAGNER, en présence d'une pincée de catalyseur et 10 ml d'acide sulfurique concentré. Après refroidissement, le minéralisat est porté dans le distillateur pendant 10 min pour la libération de l'ammoniac. Le distillat recueilli dans un erlenmeyer contenant 15 ml d'acide sulfurique (0,1N), 34,5 ml d'eau distillée et 1 ml de réactif de Tashiro est ensuite titré par une solution de NaOH (0,1N) jusqu'au virage du contenu en vert clair.

#### **II-3-5- Mode de calcul**

La teneur en azote total (N<sub>t</sub> %) est donnée par la formule suivante :

$$N_t \% = \frac{(V_0 - V_1) \times N \times 0,014}{m} \times 100$$

Où V<sub>0</sub> : volume de NaOH utilisé pour l'essai à blanc (en ml)

V<sub>1</sub> : volume de NaOH utilisé pour le dosage de l'échantillon

N : normalité de la solution de NaOH versé lors de la titration (0,1N)

m : masse de la prise d'essai (en g)

La teneur en protéines totales (Pt%) est obtenue en multipliant la teneur en azote total par le facteur de conversion 6,25.

$$Pt\% = N_t \% \times 6,25$$

### **II-4- Détermination de la teneur en matières grasses [30]**

La méthode que nous avons utilisé est celle de SAUVANT. C'est la méthode de dosage gravimétrique.

#### **II-4-1- Principe**

Le principe consiste au dosage de la matière grasse brute par le n-hexane car les lipides sont solubles dans les solvants organiques

#### **II-4-2- Matériels et réactifs**

Lisier de porc et bouse de vache ; solvant d'extraction : n-hexane ; balance de précision de SARTORIUS, cartouche d'extraction, coton, Soxhlet avec système réfrigérant

ascendant, ballon rodé, chauffe-ballon, évaporateur rotatif HEIDOLF avec bain thermostaté et étuve.

#### **II-4-3- Mode opératoire**

Un ballon contenant deux billes de verre est taré avec une balance de précision. Une quantité nécessaire de n-hexane est versée dans ce ballon, l'ensemble est adapté à l'appareil Soxhlet contenant une cartouche renfermant 10 g de lisier bien séché. Le chauffage est réalisé à 45°C pendant 12 heures. La vapeur d'hexane est condensée par un tube réfrigérant. Ce sont les condensats qui interviennent alors dans l'extraction des lipides et les billes de verre assurent l'homogénéisation de l'ébullition.

Après l'extraction, l'hexane est évaporée à l'évaporateur rotatif à 65°C. Le ballon d'extraction est ensuite mis pendant 3 heures dans l'étuve pour éliminer l'hexane résiduel, puis refroidi et pesé. La quantité de lipides dans la prise d'essai est obtenue par la différence entre le poids du ballon après extraction et le poids du ballon vide avec les billes de verre.

#### **II-4-4- Mode de calcul**

La teneur en matières grasses brutes (MG%) est obtenue à partir de la formule suivante :

$$MG\% = \frac{m_3 - m_2}{m_1} \times 100$$

$m_1$  : masse de la prise d'essai (en g)

$m_2$  : masse du ballon avec deux billes de verre avant extraction (en g)

$m_3$  : masse du ballon avec deux billes de verre après extraction (en g)

#### **II-5- Etude des glucides**

##### **II-5-1- Détermination de la teneur en glucides totaux [30]**

Connaissant la teneur en matières sèches, en protéines totales, en lipides totaux et en cendres brutes, la teneur en glucides totaux (G%) a été calculée selon la formule :

$$G\% = 100\%MS - (Pt\% + MG\% + Cd\%)$$

G% : teneur en glucides totaux de l'échantillon en g pour 100 g de la MS

Pt% : teneur en protéines totales de l'échantillon en g pour 100 g de la MS

MG% : teneur en matières grasses brutes de l'échantillon en g pour 100 g de la MS

Cd% : teneur en cendres brutes de l'échantillon en g pour 100 g de la MS

### **II-5-2- Dosage de cellulose brute [30]**

La méthode utilisée est celle de WENDEE qui permet de déterminer l'indice cellulosique.

#### **II-5-2-1- Principe**

Le principe consiste en l'élimination des matières organiques par traitement acide puis basique, laissant intacte la cellulose. La teneur en cellulose est déterminée après calcination du produit traité.

#### **II-5-2-2- Matériels et réactifs**

Lisier de porc et bouse de vache, balance de précision, réfrigérant, ballon à col rodé, bain de sable, papier filtre, capsule en silice, étuve, four à moufle, acide chlorhydrique HCl 0,1N, hydroxyde de sodium NaOH 0,1N, eau distillée.

#### **II-5-2-3- Mode opératoire**

2 g d'échantillon bien séché et 100 ml de HCl 0,1N sont mélangés soigneusement dans un ballon à col rodé. Un réfrigérant à reflux est ajusté au ballon et le système est plongé dans un bain de sable. Durant le chauffage, l'eau évaporée est remplacée de temps en temps par l'eau distillée. Après 3 h, le contenu du ballon est refroidi puis filtré. Plusieurs rinçages sont effectués pour récupérer le maximum de résidu. Le résidu est ensuite traité avec 100 ml de NaOH 0,1N. Après filtration, le résidu mis dans une capsule en silice est séché une nuit dans l'étuve à  $103\pm2^{\circ}\text{C}$ . La masse  $m_1$  est notée après pesage. Enfin, une incinération dans le four à moufle pendant 3 h termine la manipulation. La masse  $m_2$  est notée après pesage.

#### **II-5-2-4- Mode de calcul**

La teneur en cellulose brute (Cb%) est obtenue en utilisant la relation :

$$Cb\% = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100$$

$m_0$  : masse de la prise d'essai (en g)

$m_1$  : masse du résidu après séchage à l'étuve (en g)

$m_2$  : masse de la cendre (en g)

### **II-6- Détermination de la teneur en cendres brutes et de la teneur en matière volatile (MV) [3; 33; 40]**

Les cendres brutes sont des résidus minéraux obtenus après incinération des substances organiques à  $550^{\circ}\text{C}$ . La teneur en MV représente la fraction organique de la MS.

### **II-6-1- Principe**

L'obtention des cendres consiste à la destruction des matières organiques par incinération à 550°C pendant 3 h 30 min dans un four à moufle. Les substances organiques subissent une combustion complète et sont transformées en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O. Il suffit alors de peser les restes de la combustion pour avoir la quantité totale des cendres brutes. Les cendres obtenues sont constituées par les sels minéraux et la matière volatile forme la matière organique.

### **II-6-2- Matériels**

Les matériels utilisés sont les suivants : lisier de porc et bouse de vache, balance de précision SARTORIUS, capsules en silice, étuve, plaque chauffante, four à moufle.

### **II-6-3- Mode opératoire**

10 g de la prise d'essai sont introduits dans une capsule en silice puis portés à l'étuve à 103±2°C pendant 3 h. Ce traitement thermique permet de sécher les échantillons. Ensuite, la capsule contenant l'échantillon est préincinérée sur une plaque chauffante à 100°C. La préincinération se trouve terminée lorsque l'échantillon est totalement carbonisé c'est-à-dire la fumée dégagée est épuisée. Puis, la capsule est introduite dans le four à moufle réglé de la manière suivante : 250°C pendant 30 min, 350°C pendant 30min, 450°C pendant 30 min et 550°C durant 2 h. Le chauffage se fait par palier pour éviter les projections que provoquerait un dégagement trop rapide des gaz résultant de la décomposition de la matière organique. Après incinération, la capsule munie de son échantillon est refroidie dans un dessicateur pendant 30 min, puis elle est pesée.

### **II-6-4- Mode de calcul**

La teneur en cendres brutes (Cd%) est calculée à partir de la relation :

$$Cd\% = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

m<sub>1</sub> : masse en g de la capsule vide

m<sub>2</sub> : masse en g de la capsule munie de son échantillon avant incinération

m<sub>3</sub> : masse en g de la capsule contenant des cendres

Le teneur en matière volatile (MV) en gramme (g) pour 100 g de matières sèches (MS) est déduit en utilisant la relation suivante :

$$MV\% = 100\%MS - Cd\%$$

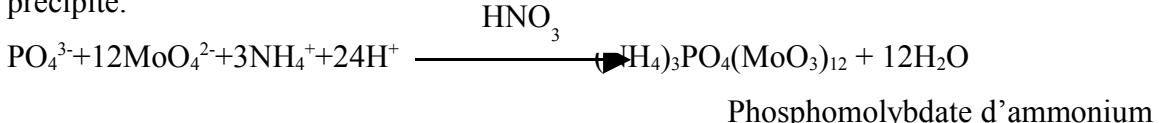
## **II-7- Dosage des phosphates (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) [5; 30; 64]**

Les phosphates ont été dosés colorimétriquement selon la méthode de FISKE et SUBAROW.

### **II-7-1- Principe**

Le phosphore sous forme minérale donne, en présence de molybdate d'ammonium, un précipité. Ce dernier est réduit par le métavanadate d'ammonium avec formation d'oxyde bleu de molybdène. On peut récapituler les réactions impliquées comme suit :

- Minéralisation du phosphore : matière organique phosphorée en sels de phosphore
- Formation du complexe de molybdate : les ions phosphates réagissent ensuite avec les ions molybdates, en milieu acide, pour former un complexe phosphomolybdique qui précipite.



-Réduction du phosphomolybdate d'ammonium: le phosphomolybdate d'ammonium forme un précipité jaune qui est facilement réductible en composé bleu de molybdène par un réducteur comme le métavanadate d'ammonium (NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>).

### **II-7-2- Matériels et réactifs**

Lisier de porc et bouse de vache, flacon, erlen, becher, burette, agitateur magnétique, papier filtre, bain de sable, acide nitrique pur (HNO<sub>3</sub>), acide chlorhydrique pur (HCl), molybdate d'ammonium à 10%, métavanadate d'ammonium à 34%, nitrate de potassium à 1%, soude NaOH N/10, phénolphtaléine, acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N/10, eau distillée.

### **II-7-3- Mode opératoire**

2 g d'échantillon sont introduits dans un flacon. 100 ml d'eau distillée avec 20 ml d'HNO<sub>3</sub> sont ajoutés. Le flacon est bien bouché et fixé sur l'agitateur mécanique en faisant tourner pendant 3 heures. Ensuite, le mélange est transvasé dans un erlen de 500 ml avec l'eau distillée. Après filtration, 400 ml du filtrat sont prélevés puis concentrés, de façon à avoir 50 ml, en ajoutant un peu de HCl et en évaporant à sec au bain de sable. Le résidu est repris par l'eau distillée chaude avec un peu de HNO<sub>3</sub> puis bouilli sur le bain de sable. Il est filtré en recueillant 25 ml du filtrat. Après chauffage, 40 ml de molybdate d'ammonium à 10% sont versés dans le filtrat. Le précipité obtenu se forme avec une coloration bleue due à l'oxyde de molybdène, par 30 ml de métavanadate d'ammonium à 34%.

Le précipité est bouilli et laissé reposer jusqu'au lendemain. Après filtration, le précipité est lavé avec une solution de  $\text{HNO}_3$  à 1% jusqu'à décoloration puis avec une solution de nitrate de potassium à 1% jusqu'à neutralité, et transvasé dans un becher. En agitant, la solution de la soude N/10 est versée, au moyen d'une burette, jusqu'à dissolution complète du précipité. Le volume  $V_1$  de la solution de  $\text{NaOH}$  nécessaire pour le premier dosage est noté. 10 gouttes de phénolphtaléine sont rajoutées dans le précipité puis la solution de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  N/10 est encore versée jusqu'à décoloration. On note alors le volume  $V_2$  de la solution de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  nécessaire lors de la deuxième titration.

#### **II-7-4- Mode de calcul**

La teneur en phosphates ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) est obtenue à partir de la formule suivante :

$$\text{P}_2\text{O}_5\% = \frac{(V_1 - V_2) \times 0,000257}{m} \times 100$$

m : masse en g de la prise d'essai

$V_1$  : volume en ml de la soude nécessaire lors du premier dosage

$V_2$  : volume en ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  nécessaire lors de la deuxième titration

#### **II-8- Dosage de potassium ( $\text{K}_2\text{O}$ ) [5; 22; 30]**

Le potassium a été dosé par précipitation au cobaltinitrite de sodium.

#### **II-8-1- Principe**

Les ions  $\text{K}^+$  sont précipités sous forme de complexe nitrocobaltique. Le précipité de cobaltinitrite de sodium et de potassium, placé en solution aqueuse, est dosé en utilisant la coloration bleue donnée par le cobalt en présence de sulfocyanure.

#### **II-8-2- Matériels et réactifs**

Lisier de porc et bouse de vache, flacon, erlen, becher, agitateur mécanique, papier filtre, bain de sable, acide nitrique  $\text{HNO}_3$  à 13,6%, carbonate de sodium  $\text{CO}_3\text{Na}_2$ , cobaltinitrite, sulfocyanure, acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  à 10%, alcool, eau distillée, étuve.

#### **II-8-3-Mode opératoire**

2 g de l'échantillon pour essai sont introduits dans un flacon et y sont versés 1000 ml d'eau distillée contenant 10 ml de  $\text{HNO}_3$  à 13,6%. Le flacon avec son mélange est bouché et fixé sur l'agitateur mécanique en faisant tourner pendant 1h. Ensuite, le mélange est filtré. 800 ml du filtrat sont prélevés dans un erlen, puis concentrés, de façon à avoir 50 ml en chauffant dans un bain de sable. Le mélange concentré est repris avec de l'eau distillée chaude en

filtrant sur le papier filtre. Une pincée de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$  est ajoutée dans le filtrat. Il est réchauffé dans un bain de sable jusqu'à ce qu'il soit bien concentré. Après filtration, le mélange concentré est laissé refroidir. Puis, 20 ml de cobaltinitrite sont versés dans un becher contenant le mélange. Alors, le précipité bleu de cobaltinitrite de sodium et de potassium se forme. En agitant, le sulfocyanure est versé goutte à goutte dans le précipité jusqu'à cessation d'effervescence. Il est ensuite laissé reposer pendant 12 heures et filtré sur filtre taré. Le récipient ayant contenu l'échantillon est rincé avec du  $\text{CH}_3\text{COOH}$  à 10% puis avec de l'alcool. La solution de lavage est aussi filtrée. Enfin, le filtre taré muni de l'échantillon est séché à l'étuve  $103\pm 2^\circ\text{C}$  pendant 30 min puis refroidi dans un dessiccateur durant 20 minutes, et il est pesé.

#### **II-8-4- Mode de calcul**

La teneur en potassium ( $\text{K}_2\text{O}\%$ ) est donnée par la formule suivante :

$$\text{K}_2\text{O}\% = \frac{m_2 \times 0,2075}{m_1} \times 100$$

$m_1$  : masse en g de l'échantillon avant le dosage

$m_2$  : masse en g de l'échantillon avant le dosage et le séchage

#### **II-9- Détermination des matières en suspension (MES) [5; 20; 53]**

Les matières en suspension (MES) sont des particules solides indésirables existantes dans le lisier. Elles sont obtenues par centrifugation et par pesage des résidus retenus dans le tube à centrifuger. Les teneurs en matières colloïdales sont incluses dans les résultats obtenus lors du dosage des MES.

##### **II-9-1- Principe**

L'échantillon est centrifugé à 3000 tours par minute pendant 15 minutes. Les matières recueillies sont séchées à  $103^\circ\text{C}\pm 2$  pendant 3 heures puis pesé.

##### **II-9-2- Matériels**

Lisier de porc et bouse de vache, balance de précision, tubes à centrifuger, centrifugeuse, étuve, dessiccateur.

##### **II-9-3- Mode opératoire**

Lors de la détermination des MES, les lisiers sont dilués 10 fois. 10 ml de l'échantillon dilué sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 min. Une grande partie du liquide surnageant est éliminée par siphonage sans perturbation du dépôt. Le liquide restant

est éliminé par une évaporation au bain-marie suivie d'un séchage à l'étuve 103°C±2 pendant 3 heures. Le tube contenant le culot est ensuite refroidi dans un dessiccateur durant 30 min puis pesé.

#### **II-9-4- Expression des résultats**

Le taux des MES (mg.l<sup>-1</sup>) est donné par l'expression suivante :

$$MES = \frac{(m_1 - m_0) \times 1000}{V}$$

V : volume de la prise d'essai (en ml)

m<sub>0</sub> : masse du tube vide avant la centrifugation (en mg)

m<sub>1</sub> : masse du tube contenant le culot après la centrifugation et le séchage (en mg)

### **II-10- Dosage de la demande chimique en oxygène par la méthode au bichromate (DCO) [5; 20; 53]**

La mesure de la demande chimique en oxygène (DCO) des lisiers permet l'estimation de la presque totalité des matières organiques, biodégradables ou non. Cette mesure a recours à l'oxydation par voie chimique.

#### **II-10-1- Définition**

La DCO est la concentration, exprimée en mg.l<sup>-1</sup> d'oxygène, équivalente à la quantité de bichromate consommée par les matières organiques, dissoutes et en suspension, lorsqu'un échantillon est traité avec cet oxydant dans des conditions définies. Les échantillons sont conservés à 2°C à 5°C et à l'obscurité. L'analyse est effectuée le plus tôt possible.

#### **II-10-2- Principe**

Une prise d'essai de l'échantillon est mise en ébullition à reflux, dans des conditions définies. L'échantillon se trouve en milieu acide et à chaud, en présence d'une quantité connue de bichromate de potassium et de sulfate d'argent jouant le rôle du catalyseur d'oxydation. L'excès de bichromate est déterminé avec une solution titrée de sulfate de fer II et d'ammonium. La valeur de la DCO est calculée à partir de la quantité de bichromate réduite.

#### **II-10-3- Préparation des réactifs**

Les réactifs utilisés sont les solutions suivantes :

Solution 1 : Acide sulfurique concentré (p=1,83 mg.l<sup>-1</sup>)

Solution 2 : Acide sulfurique avec une concentration C(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 4 mol.l<sup>-1</sup>

Dans environ 500 ml d'eau, 220 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Solution 1) sont ajoutés avec précaution et par portion. Après refroidissement, la solution est diluée jusqu'à 1000 ml.

Solution 3 : Acide sulfurique- sulfate d'argent

- 10 g de sulfate d'argent ( $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ) sont mis dans 40ml d'eau. Ensuite, 960ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Solution1) sont versés avec précaution et par portion dans la solution. Le mélange obtenu est agité et laissé se reposer pendant un ou deux jours.

Solution 4 : Sulfate de fer II et d'ammonium .Solution titrée avec une concentration C  $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2, 6\text{H}_2\text{O}] = 0,12 \text{ mol.l}^{-1}$ . 47,0 g de sulfate de fer II et d'ammonium hexahydraté sont dissous dans l'eau et 20 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Solution1) y sont ajoutés. Après refroidissement, la solution est diluée jusqu'à 1000 ml.

Cette solution est étalonnée tous les jours de la manière suivante :

- 5,0 ml de la solution étalon de bichromate de potassium (Solution 5) sont additionnés de 100 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 4  $\text{mol.l}^{-1}$  (Solution 2)
- Cette solution sera titrée avec la solution de sulfate de fer II et d'ammonium (Solution 4) en présence de deux gouttes de la solution d'indicateur ferroïne (Solution 6)
- La concentration C, exprime en  $\text{mol.l}^{-1}$  de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium est obtenue par la formule :

$$C = \frac{5,0 \times 0,040 \times 6}{V}$$

V : Volume de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium consommé (en ml)

Solution 5 : Bichromate de potassium, solution étalon avec une concentration C,  $C(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = 0,040 \text{ mol.l}^{-1}$ : 100 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Solution 1) sont ajoutés dans 800 ml d'eau. Après refroidissement, 11,67 g de bichromate de potassium sont ajoutés, préalablement séché à  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 2 heures. La solution obtenue est transvasée quantitativement dans une fiole jaugée de 1000 ml où le volume sera complété. La solution est stable pendant un mois.

Solution 6 : Ferroïne (indicateur coloré). 0,7 g de sulfate de fer II ( $\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ ) sont dissous dans l'eau puis ; 1,5 g de phénanthroline-1, 10 monohydraté sont ajoutés

La solution est agitée jusqu'à dissolution complète puis le mélange est dilué jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée.

## **II-10-4- Mode opératoire**

### **II-10-4-1- Prise d'essai**

10 ml de l'échantillon sont introduits dans l'appareil à reflux. 5 ml de la solution de bichromate de potassium (Solution 5) y sont versés et mélangés. 15 ml d'acide sulfurique – sulfate d'argent (Solution 3) sont ajoutés lentement et avec précaution dans la solution.

### **II-10-4-2- Essai à blanc**

Dans l'une des fioles, l'échantillon est remplacé par 10 ml d'eau distillée, en suivant la même manipulation que pour la prise d'essai. Chaque fiole est reliée à un réfrigérant et portée à ébullition à reflux pendant 2 heures. Le mélange réactionnel doit bouillir doucement et sans soubresauts. Après refroidissement, la paroi interne du réfrigérant est lavée avec de l'eau distillée en recueillant les eaux de lavage dans la fiole. Chaque fiole est débranchée du réfrigérant. Le volume de la solution est complété à 75 ml avec de l'eau distillée.

A l'aide d'une burette, la solution est titrée avec la solution de sulfate de fer II et d'ammonium (Solution 4) pour doser l'excès de bichromate en présence de deux gouttes de la solution de ferroïne (Solution 6). Le dosage est arrêté au virage brusque de la couleur de la solution bleu-vert au brun rouge.

## **II-10-5- Expression des résultats**

La valeur de la DCO (mg.l<sup>-1</sup>) est donnée par la formule suivante :

$$DCO = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 8000}{V_0}$$

C : Concentration de la solution du (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>), calculée selon la formule dans la solution 4 (mol.l<sup>-1</sup>).

V : Volume de la solution du (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>) consommé (en ml)

V<sub>0</sub> : Volume de la prise d'essai (en ml)

V<sub>1</sub> : Volume de la solution du (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>), utilisé pour l'essai à blanc (en ml)

V<sub>2</sub> : Volume de la solution du (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>), utilisé pour la prise d'essai (en ml)

## **II-11- Dosage de la demande biochimique en oxygène par la méthode de dilution [5; 20; 53; 56]**

La demande biochimique en oxygène (DBO) sert à évaluer la quantité de matières organiques biodégradables dans les lisiers. Elle est évaluée par la quantité d'oxygène

consommée, pour décomposer par oxydation, toutes ou une partie des matières organiques avec l'aide des microorganismes.

### **II-11-1- Définition**

En fait, il s'agit de la mesure de la concentration en masse de l'oxygène dissous, consommé dans des conditions bien définies par l'oxydation biologique des matières organiques et/ou inorganiques contenues dans le lisier. La valeur de la DBO est en fonction du temps.

Nous avons considéré la mesure de la DBO en incubation durant cinq jours, à 20°C et à l'obscurité, dénommée la  $DBO_5$  (mesure de la DBO couramment utilisée). La valeur de la  $DBO_5$  est le bilan des réactions d'oxydation chimique de la demande biologique en oxygène se produisant pendant cinq jours. Les échantillons sont conservés entre 2°C à 5°C et la mesure de la  $DBO_5$  est effectuée le plus vite possible.

### **II-11-2- Principe**

Les matières organiques consommées par l'oxygène dissous sont apportées par le mélange de l'échantillon et l'eau de dilution. La quantité de l'oxygène dissous est notée. Après une incubation des solutions à l'obscurité et dans une enceinte à  $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  durant cinq jours, la quantité de l'oxygène dissous restant est mesurée.

Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque la perte d'oxygène au cours de l'essai est située entre 35% et 60% de la teneur initiale.

### **II-11-3- Préparation des réactifs**

Tous les réactifs utilisés pour la préparation de ces solutions doivent être d'une pureté analytique reconnue :

Solution 1 : L'eau de dilution est l'eau distillée,

Solution 2 : Solutions salines,

Solution 3 : Solution de phosphates, dissolution séparée dans l'eau de : 17,0 g de monohydrogénophosphate de sodium dodecahydraté ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) et 2,8 g de dihydrogénophosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Le volume est complété à 1000 ml et homogénéisé.

Solution 4 : Dissolution dans une fiole jaugée de 500 ml : 5,5 ml d'une solution de chlorure de fer III à 28 %, 5 ml d'une solution d'acide chlorhydrique environ 1N et 200 ml

environ d'eau distillée. Le volume est complété à 1000 ml avec de l'eau distillée et homogénéisée. Soit la solution 4<sub>1</sub>.

Dissolution dans 500 ml environ d'eau distillée de : 2,0 g de sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O), 2,5 g de chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) et 0,2 g de chlorure d'ammonium (NH<sub>4</sub>Cl). Soit la solution 4<sub>2</sub>.

La solution 4 est obtenue par le mélange de la solution 4<sub>1</sub> (50 ml) et la solution 4<sub>2</sub> (500 ml). Le volume est complété avec de l'eau distillée et homogénéisé.

#### **II-11-4 - Mode opératoire**

**Préparation de l'eau de dilution :** Dans un litre d'eau distillée stérile, nous avons ajouté 5 ml de solution de phosphates (Solution 3) et 10 ml de solution (Solution 4).

L'aération de la solution doit être au moins 8 mg.l<sup>-1</sup>, la solution est amenée et maintenue à 20°C. La solution est laissée au repos environ 12 heures.

**Préparation de l'échantillon :** Un volume (V<sub>e</sub>) d'échantillon (10 ml) est introduit dans une fiole jaugée. Le volume est ramené à 330 ml (V<sub>t</sub>) avec l'eau de dilution (V<sub>d</sub>). Après son homogénéisation, la solution est transvasée très doucement dans le flacon d'incubation à bouchon rodé, tout en évitant la formation de bulles d'air. L'oxygène dissous de la solution est ensuite dosé (X<sub>0</sub>).

Le flacon est bouché hermétiquement en veillant à ce qu'il ne reste aucune bulle d'air à l'intérieur. Il est placé dans l'enceinte à 20°C±1°C, à l'abri de la lumière et pendant 120 heures. Après cinq jours, l'oxygène dissous subsistant dans le flacon est mesuré (X<sub>5</sub>).

#### **II-11-4- Expression des résultats**

La DBO<sub>5</sub> (mg.l<sup>-1</sup>), est donnée par la formule suivante :

$$(X_0 - X_5) = [F(T_0 - T_5)] - [(F-1)(D_0 - D_5)]$$

X<sub>0</sub> : Teneur en oxygène de l'échantillon au début de l'essai (mg.l<sup>-1</sup>)

X<sub>5</sub> : Teneur en oxygène de l'échantillon au bout de cinq jours (mg.l<sup>-1</sup>)

F: Facteur de dilution, donné par l'expression suivante :  $F = \frac{V_t}{V_e}$

T<sub>0</sub> : Teneur en oxygène de la dilution au moment du remplissage du flacon (mg.l<sup>-1</sup>)

T<sub>5</sub> : Teneur en oxygène de la dilution considérée au bout de cinq jours d'incubation (mg.l<sup>-1</sup>)

D<sub>0</sub> : Teneur en oxygène de l'eau de dilution au moment du remplissage du flacon (mg.l<sup>-1</sup>)

D<sub>5</sub> : Teneur en oxygène de l'eau de dilution au bout de cinq jours d'incubation (mg.l<sup>-1</sup>)

### **III- MISE EN FERMENTATION**

#### **III-1- Matériels**

##### **III-1-1- Description des digesteurs en biométhanisation [2; 21; 40]**

L’élément primordial nécessaire à la biométhanisation après les microorganismes est le digesteur, appelé aussi bioréacteur ou méthaniseur ou fermenteur. C’est une simple cuve fermée et étanche, isolée thermiquement et équipée de dispositifs plus ou moins élaborés d’agitation et de suivi, dans laquelle les différentes espèces bactériennes se relaient pour dégrader les composés organiques.

Un digesteur peut traiter des substrats homogènes ou des mélanges (co-digestion). Divers types de digesteur sont actuellement utilisés pour la biométhanisation. Ils sont initialement nés de deux procédés :

-Procédé discontinu ou en batch : C'est un système clos fonctionnant en continu. Son principe est de charger, en une seule fois, en substrat et en levain, le volume utile du fermenteur. On laisse la réaction se faire, et elle n'est arrêtée que dans les cas suivants : une consommation totale du substrat, une consommation optimale atteinte ou un arrêt spontané de la réaction. Cette technologie s'applique surtout pour les déchets organiques pour lesquels il y a impossibilité de pompage (taux de matières sèches supérieurs à 30%).

-Procédé continu ou en chemostat : C'est un système à fonctionnement ininterrompu. L'épuisement en substrat nutritif, lié à la croissance des microorganismes et la formation de produit, est récompensée par un apport régulier et continu en milieu neuf dans le réacteur. Simultanément, on récolte la même quantité de milieu de fermentation contenant de la biomasse et des métabolites, de telle sorte que le volume de la culture reste constant. Le temps de rétention hydraulique doit être supérieur au temps de renouvellement des bactéries, sous peine de lessivage. Ce procédé est utilisé pour les déchets fluides contenant au maximum 10% de matières sèches.

### III-1-2- Dispositif expérimental

#### III-1-2-1- Les digesteurs utilisés

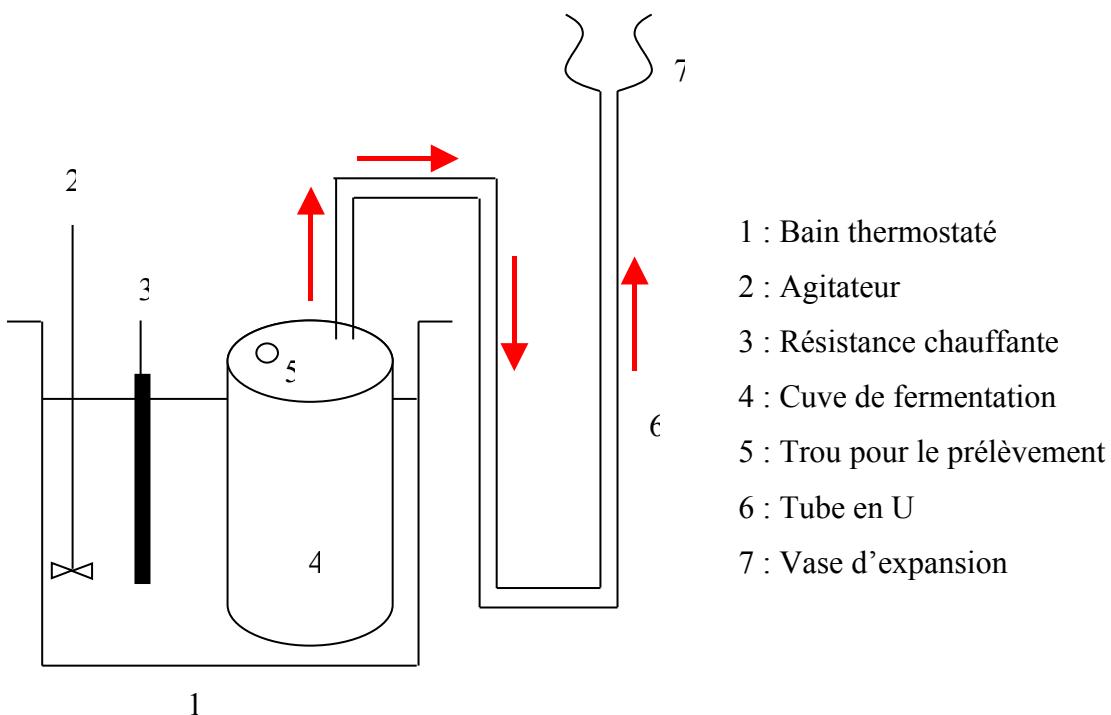
Les digesteurs en batch utilisés lors de cette étude ont été conçus et réalisés au laboratoire. Il s'agit de bouteilles hermétiques de 3000 cc. Sur le couvercle, il y a deux sorties qui sont aménagées. L'une sert à la récupération du biogaz produit et l'autre au prélèvement d'échantillons liquides pour analyse. La sortie du biogaz est reliée par un tuyau souple à un tube cylindrique gradué retourné dans une solution saline.

Le choix de cette cuve réside dans son rapport surface volume et surtout dans son herméticité qui est assurée par un couvercle en caoutchouc. En outre sa surface d'ouverture facilite l'introduction initiale de la matière première et sa paroi en verre permet une observation de son contenu.

Les digesteurs utilisés sont constitués de 6 bouteilles contenant les matières premières, d'un bassin de stockage rempli d'eau salée et de 6 tubes cylindriques servant de gazomètre (photo n° 3). Ces trois types d'outils sont reliés entre eux à l'aide de tuyaux



**Photo n° 3 : Digesteur de laboratoire en batch**



**Figure 3 : Schéma du digesteur utilisé**

### III-1-2-2- Le système de chauffage

Les cuves sont plongées dans un bain marie thermostaté, qui leur fournit une température constante.

### III-1-2-3- Le système d'agitation

L'agitation manuelle est réalisée journalièrement avant chaque mesure du pH ou prélèvement de gaz ou de liquide.

### III-1-3- Les substrats

Nous avons utilisé deux types de substrats : le lisier de porc (LP) et la bouse de vache (BV). Aucune préparation préalable n'a été effectuée sur les substrats, nous les avons utilisés directement tels quels.

### III-1-4- Le pied de cuve

Ce sont des jus de fermentations précédentes renfermant de bactéries méthanogènes et servant à ensemencer le milieu de culture pour accélérer la production de méthane. Nous avons utilisé le pied de cuve qui a été fourni par l'école centrale de Paris. Il s'agit d'une boue obtenue après une fermentation de lisier de porcs engrangés à partir de lactosérum. Ce pied de

cuve contient de nombreux types de bactéries essentielles à la fermentation méthanique et est utilisé de ce fait pour l'ensemencement initial des milieux à fermenter.

### **III-2- Méthode**

#### **III-2-1- Préculture**

La préculture a été effectuée à 30°C pendant 48 heures, sur une fermentation de mélange de lisier de porc, de bouse de vache et du pied de cuve 50 ml provenant de l'école centrale de Paris, avec une proportion de 50% en lisier de porc et de 50% en bouse de vache et avec une concentration en substrat de 500 g/l. Elle a pour but de revivifier, de produire de la biomasse et de l'adapter à ces substrats de méthanisation.

Cette préfermentation aérobie permet une élévation de la température qui facilite la pasteurisation du substrat et assure un bon démarrage de la fermentation anaérobie. Elle permet aussi une première dégradation du substrat et son réchauffage. En plus, elle permet surtout de diminuer les risques d'acidification de la masse en digestion.

#### **III-2-2- Procédé discontinu**

Le but de l'unité de fermentation méthanique est de transformer les matières organiques en méthane par les bactéries méthanogènes. Le système de culture utilisé est le système de culture en continu, permettant d'étudier les paramètres optimaux contrôlant la fermentation méthanique. Cette optimisation a pour objectif l'obtention d'un rendement optimal en gaz et en méthane.

#### **III-2-3- Fermentation spontanée**

La fermentation spontanée a été conduite sur le lisier de porc, sur la bouse de vache et sur le mélange du lisier de porc et de la bouse de vache. Le but a été de noter les variations des paramètres de la fermentation, lorsqu'elle est conduite dans une condition naturelle sans aucune intervention ni régulations externes.

##### **III-2-3-1- Mode opératoire**

Les lisiers ont été introduits dans les cuves, puis laissés ensuite à la température ambiante du laboratoire pendant 60 jours. Les concentrations en substrat ont été de 500 g/l. Le pH, le volume de gaz produit et la composition du gaz ont été mesurés journalièrement.

### **III-2-4- Optimisation des paramètres**

La recherche sur l'optimisation des paramètres a concerné la proportion en lisier de porc (LP) et en bouse de vache (BV) pour la co-digestion, la température et l'ensemencement en pied de cuve provenant de notre précédente fermentation. Toutes les optimisations ont été menées sur la fermentation du mélange de lisier de porc et de bouse de vache. Les fermentations ont été maintenues pendant 35 jours.

L'optimisation a été réalisée en variant l'un des paramètres, tout en maintenant les autres constants.

#### **III-2-4-1- Optimisation de la proportion en lisier de porc et en bouse de vache pour la co-digestion**

Les effets des mélanges de substrats pour les rapports suivants : 90%LP/10%BV, 80%LP/20%BV, 70%LP/30%BV, 60%LP/40%BV et 50%LP/50%BV ont été analysés. Les autres conditions ont été comme suit :

- La température a été maintenue constante à 30°C, grâce au thermostat du bain ;
- La concentration initiale en substrat a été de 500 g/l ;
- Chaque fermentation a été ensemencée avec 150 ml d'effluent tamisé provenant de la préculture ;
- L'agitation a été manuelle et journalière.

#### **III-2-4-2- Optimisation de la température**

Les effets de quelques températures de la zone mésophile ont été suivis. Ces températures sont : 35°C, 37°C, 39°C.

La proportion pour la co-digestion a été maintenue à la valeur trouvée optimale. La concentration en substrat, l'agitation et l'ensemencement par la préculture ont été identiques à ceux utilisés lors de l'optimisation de la proportion en lisier de porc et en bouse de vache.

#### **III-2-4-3- Optimisation de l'ensemencement en pied de cuve**

Les effets des ensemencements en pied de cuve provenant de nos fermentations précédentes ont été étudiés. Les concentrations en pied de cuve sont 5%, 10% et 15% de substrats bruts à fermenter sans diluer.

La température et la proportion des mélanges ont été maintenues aux valeurs optimales. L'agitation et la concentration en substrat ont été pareilles à celles employées lors de l'optimisation de la proportion pour la co-digestion. Les autres conditions ont été similaires aux précédentes.

### **III-3- Mesure de paramètres de contrôle**

#### **III-3-1- Mesure du pH**

Le potentiel d'hydrogène a été mesuré avec un pH-mètre marque HI 8014 HANNA Instruments.

#### **III-3-2- Mesure du biogaz**

##### **III-3-2-1- Le système de mesure du volume de gaz formé**

Le volume de biogaz formé est mesuré par la technique de déplacement d'eau. Un tuyau faisant office de tube en U contient de l'eau saturée en sel et est relié au digesteur. Le volume de gaz formé dans la cuve déplace la même quantité d'eau du tube cylindrique. En connaissant le diamètre (13 cm) du tube ainsi que la valeur du changement de niveau de l'eau, on peut en déduire facilement le volume recherché :

$$V(m^3) = 1,33 \cdot 10^{-2} H \text{ avec } H \text{ (cm) la mesure lue dans le gazomètre.}$$

##### **III-3-2-2- Productivité volumique du biogaz**

C'est la quantité en litre de biogaz produit par litre de réacteur et par jour, exprimée en l/l/j.

##### **III-3-2-3- Productivité massique du biogaz**

C'est la quantité en litre de biogaz produit par kilogramme de matière organique ou de matière sèche, exprimée en l/kg M.O.

La mesure de la teneur en matière volatile est donc nécessaire avant et après la fermentation. Elle permet aussi d'estimer la performance de digestion de la matière organique introduite.

##### **III-3-2-4- Productivité en CH<sub>4</sub>**

La productivité en CH<sub>4</sub> est le pourcentage de méthane par rapport au volume journalier de biogaz produit.

### **III-4- Etude de la qualité du biogaz [27; 30; 78]**

La qualité d'un biogaz formé au cours de la fermentation méthanique pourra être analysée en chromatographie en phase gazeuse (CPG).

### III-4-1- Définition générale de la CPG

C'est un ensemble de procédés applicables à des mélanges moléculaires ou ioniques, basés sur des différences de distribution des solutés entre une phase stationnaire, généralement dispersée et une phase mobile continue, les deux phases étant mises en contact intime et à contre courant.

Cas de la chromatographie en phase gazeuse :

- La phase stationnaire est un liquide à haut point d'ébullition.
- La phase mobile est un gaz inerte (N<sub>2</sub>, He, Ar, ....)
- Les solutés à analyser sont injectées à l'état pur ou en solution
- Les quantités de produits injectés sont de l'ordre de quelques microlitre (2 à 3 µl)

### III-4-2- Principe

Ce sont les teneurs en CH<sub>4</sub>, en CO<sub>2</sub> et en N<sub>2</sub> du biogaz qui ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse dans le cas de la fermentation méthanique. Elle est basée sur la migration différentielle des composants du biogaz, sous l'influence du déplacement d'un gaz vecteur (phase mobile) à travers une colonne (phase stationnaire). La colonne utilisée sépare les gaz constitutifs du biogaz.

### III-4-3- Méthode

Le chromatographe utilisé est de marque INTERSMAT IGC 120 avec les caractéristiques suivantes :

- détecteur: catharomètre ;
- colonne: Porapack ;
- gaz vecteur : hydrogène avec un débit de 30 ml/min ;
- température du four: 70°C ;
- température du détecteur: 100°C ;
- température de l'injecteur : 100°C.

### III-4-3- Mode de calcul

Le chromatographe est directement relié à un intégrateur calculateur SP 4400. Cet intégrateur traite automatiquement les données, et inscrit ensuite sur le chromatogramme, les différents pics des constituants du gaz injecté, leurs temps de rétention et le pourcentage de chaque élément constitutif du gaz.

# **TROISIÈME PARTIE**

# **RESULTATS ET DISCUSSIONS**



## I- CARACTERISATION DES LISIERS

### I-1- Humidité et matière sèche

Les résultats sur la mesure de la teneur en eau du lisier de porc et de la bouse de vache avant et après fermentation sont montrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau VII : Teneur en eau des substrats**

	Avant fermentation		Après fermentation	
	LP	BV	LP	BV
Substrats				
Teneur en eau (H%)	65,80	80,17	78,42	90,80
Teneur en matières sèches (MS%)	34,20	19,83	21,58	9,20

D'où, LP : lisier de porc et BV : bouse de vache

La détermination de l'humidité est indispensable pour toutes les transformations effectuées.

Le lisier de porc et le lisier de bovin présentent à la fois une teneur en eau élevée, de 80,17% pour le lisier de bovin et de 65,8% pour le lisier de porc. L'urine et l'eau de lavage journalier de l'étable prennent part dans l'humidification de ces substrats. Cette forte humidité accélère les processus de dégradation du lisier. Le lisier de porc présente une forte teneur en matières sèches par rapport au lisier de bovin, qui pourrait s'expliquer par le fait de son entreposage en dehors de l'étable, à l'air libre et sous le soleil. Les teneurs en matières sèches de 34,2% pour le lisier de porc et 19,83% pour le lisier de bovin et qui sont supérieurs à 15%, permettent le classement de ces substrats parmi les déchets solides [2; 12; 22]

Cette teneur en eau augmente de 12,62% pour le lisier de porc et 10,63% pour le lisier de bovin à la fin de la fermentation, due en partie à l'eau ajoutée pendant la dilution du substrat au début de la fermentation et à l'eau produite par le métabolisme réactionnel. Les teneurs en matières sèches diminuent également de 12,62% pour le lisier de porc et 10,63% pour le lisier de bovin après la fermentation, grâce à la consommation excessive du substrat par les bactéries fermentaires pour les transformer en d'autres produits.

### I-2- Teneur en matière volatile et en cendres

Les teneurs en matière volatile et en cendres ont été obtenues après calcination de la matière sèche. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII : Teneur en matière volatile et en cendres des substrats**

Substrats	Avant fermentation		Après fermentation	
	LP	BV	LP	BV
Teneur en matière volatile (MV) en (%MS)	75,21	85,82	66,27	72,82
Teneur en cendre (Cd) en (%MS)	24,79	14,18	33,92	27,17

Avec, LP : lisier de porc et BV : bouse de vache

Les valeurs des teneurs en matières volatiles de deux substrats permettent une évaluation de leurs matières organiques qui sont respectivement de 75,21% et 85,82%. Ces résultats définissent ces substrats en déchets méthanisables. A titre de comparaison aux résultats rapportés pour des substrats analysés aux Philippines, qui sont de l'ordre de 80,7% pour le lisier de porc et de 77% pour la bouse de vache, la teneur en matière volatile de 75,21% pour le lisier de porc est faible et celle du lisier de bovin est plus élevée [12]. Ces différences s'expliqueraient par les aliments mélangés avec de la litière pour le porc et avec de tourteaux ou de son de riz pour le bovin, ainsi que, par l'état physiologique de l'animal source en lisier tel que truie gestante et vache laitière. Après fermentation méthanique, cette teneur diminue de 8,94% pour le lisier de porc et 13% pour la bouse de vache, par le processus de la biodégradation. Cette diminution signifie la biodégradabilité de ces deux substrats au cours de la méthanisation. Ces pertes ne s'écartent pas de celles trouvées par GERES avec des pertes en matières organiques de 10 à 25% selon l'intensité de la fermentation [12]. Malgré ces pertes, la valeur fertilisante est aussi améliorée.

Selon le tableau VIII, la teneur en cendres du lisier de porc qui est de 24,79% est supérieure à celle du lisier de bovin qui est de 14,18%. Les valeurs des teneurs en cendres de ces deux substrats permettent une évaluation de leurs matières minérales. Ces valeurs augmentent normalement à la fin de la fermentation. Elle est de 33,92% pour le lisier de porc et 27,17% pour la bouse de vache. L'augmentation respective de 9,13% et 12,99% montre qu'il y a minéralisation importante du substrat durant le processus métabolique de la fermentation méthanique. Ce sont des valeurs résiduelles fertilisantes du lisier de porc et de la bouse de vache [76]. C'est pourquoi le lisier digéré, surtout le lisier de bovin, est un excellent amendement du sol cultivé.

### **I-3- Teneur en carbone et en azote**

La teneur en azote a été déterminée par la méthode de KJELDHAL et la teneur en carbone a été déterminée par la méthode de WALKEY et BLACK. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IX.

**Tableau IX : Teneur en carbone et en azote des substrats**

Substrats	Avant fermentation		Après fermentation	
	LP	BV	LP	BV
Teneur en carbone totale (CT) en (%MS)	48,67	64,06	30,71	29,72
Teneur en azote (N <sub>i</sub> ) en (%MS)	2,26	2	2,85	3,83
C/N	21,53	32,03	10,77	7,75

Mais, LP : lisier de porc et BV : bouse de vache

Une forte teneur en carbone est observée chez le lisier de bovin mais les teneurs en azote de ces substrats sont faibles et relativement semblables. Le lisier de porc utilisé contient 48,67% de carbone et 2,26% d'azote, celui de bovin de 64,06% et de 2% respectivement. Ces teneurs sont en relation avec les types d'alimentation des animaux [2; 28]. Le C/N du lisier de porc d'une valeur de 21,53 et celui de bovin de 32,03 attestent une haute teneur en carbone, due en partie au rejet alimentaire qui s'est mélangé avec le lisier. Ces rapports C/N obtenus ne s'éloignent pas des 20 et 30 qui ont été rapportés respectivement pour le lisier de porc et pour la bouse de vache par LAGRANGE [40]. Les teneurs en azote de 2,26% pour le lisier de porc et de 2% pour la bouse de vache sont comparables aux résultats rapportés pour des substrats analysés aux Philippines, qui sont de l'ordre de 2,8% pour le lisier de porc et de 1,8% pour le lisier de bovin [12].

Une perte de 17,96% de la teneur en carbone du lisier de porc et 34,33% de celle du lisier de bovin, sont constatées à la fin de la fermentation, dues à la dégradation massive de matières carbonées par les bactéries fermentaires, en produits simples. Les teneurs en azote du substrat digéré augmentent de 0,59% pour le lisier de porc et de 1,83% pour la bouse de vache. Cette augmentation résulterait de la transformation de l'azote organique en azote ammoniacal, en ammoniac, en nitrites, en nitrates, en azote libre, en amines primaires, en oxyde d'azote, en hyponitrite et en hydroxylamine [5; 21]. Le rapport C/N diminue alors de 10,76% pour le lisier de porc et de 24,80% pour la bouse de vache.

#### **I-4- Teneur en phosphore et en potassium**

La teneur en phosphore du lisier de porc (LP) et de la bouse de vache (BV) a été déterminée par la méthode de FISKE et SUBAROW, et celle de potassium par la précipitation au cobaltinitrite de sodium. Les résultats obtenus sont décrits dans le tableau X.

**Tableau X : Teneur en phosphates et en potassium des substrats**

Substrat	Avant fermentation		Après fermentation	
	LP	BV	LP	BV
Teneur en phosphates (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %) en (%MS)	10,81	8,21	13,64	15,73
Teneur en potassium (K <sub>2</sub> O%) en (%MS)	9,78	7,43	12,34	14,23

Il ressort de ces résultats que le lisier de porc est riche en phosphore et en potassium par rapport au lisier de bovin. La teneur en phosphate est de 10,81% pour le lisier de porc et 8,21% pour le lisier de bovin. La teneur en potassium est de 9,78% pour le lisier de porc et de 7,43% pour le lisier de bovin. La différence de ces teneurs proviendrait des types d'alimentation et de l'état général des animaux. Une augmentation de ces teneurs d'environ 2,69% pour le lisier de porc et 7,16% pour la bouse de vache, sont constatées à la fin de la fermentation. En effet, la méthanisation peut transformer certaines matières organiques en d'autres matières minérales comme le phosphore et le potassium par l'intervention de bactéries méthaniques qui se trouvent considérablement dans la bouse de vache [71]. Le lisier digéré contenant les valeurs résiduelles élevées de ces deux matières minérales (phosphore et potassium) est susceptible d'être utilisé comme un excellent fertilisant [28; 76]. La valeur fertilisante de 7,16% que nous avons obtenue après la fermentation, concorde avec la valeur fertilisante de 9,13% trouvée par FRANCHET [26; 28].

#### **I-5- Teneur en protéines, en matières grasses, en glucides totaux et en cellulose**

La teneur en protéines du lisier a été déterminée par la méthode de KJELDHAL, elle a été calculée à partir de la quantité d'azote totale multipliée par le facteur 6,25. La teneur en matières grasses a été déterminée par la méthode de SAUVANT et celle de cellulose par la méthode de WENDEE. Ainsi, la teneur en glucides totaux du lisier a été calculée selon le mode de calcul cité dans la partie matériels et méthodes. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XI ci-dessous.

**Tableau XI : Teneur en protéines, en matières grasses, en glucides totaux et en cellulose des substrats**

	Avant fermentation		Après fermentation	
	LP	BV	LP	BV
Substrat				
Teneur en protéines (Pt) en (% MS)	14,12	12,50	8,90	5,79
Teneur en matières grasses (MG) en (%MS)	17,60	15,40	11,10	7,14
Teneur en glucides totaux (G) en (%MS)	33,49	57,92	21,13	26,87
Teneur en cellulose (Cb) en (%MS)	15,50	27	9,78	12,52

Avec, LP : lisier de porc et BV : bouse de vache

Ces résultats montrent que le lisier de porc est riche en protéines et en matières grasses. Les teneurs en protéines sont de 14,12% pour le lisier de porc et 12,50% pour la bouse de vache; celles des matières grasses sont respectivement de 17,60% et de 15,40%, dues à l'alimentation fondamentale de porcs à base de son de riz. Par contre, les teneurs en glucides totaux et en cellulose des lisiers de bovin sont très importantes, dues à la nourriture de l'animal très riche en végétaux.

Une perte de 5,22% de la teneur en protéines, de 6,5% de la teneur en matières grasses, de 12,36% de la teneur en glucides totaux et de 5,72% de la teneur en cellulose pour le lisier de porc, sont constatées à la fin de la fermentation. De même, ces teneurs présentent respectivement une diminution de 6,71%, de 8,26%, de 31,05% et de 14,48% pour la bouse de vache à la fin de la fermentation. En effet, le but de la méthanisation est de provoquer la conversion des matières organiques complexes en produits plus simples souhaités surtout en méthane. Ainsi, un substrat plus riche en protéines produira moins de biogaz qu'une molécule de lipide mais ce gaz sera plus riche en méthane. A partir de ces équations de base, un produit organique ne pourra pas fournir plus de biogaz que sa composition ne le permet [32].

#### **I-6- Teneur en MES, en DBO et en DCO**

Les teneurs en MES, en DBO et en DCO ont été déterminés par les méthodes décrites dans la partie matériels et méthodes. Le tableau XII résume les résultats obtenus.

**Tableau XII : Teneur en MES, en DBO et en DCO des substrats**

	<b>Avant fermentation</b>		<b>Après fermentation</b>	
Substrat	LP	BV	LP	BV
MES en (g/l)	36,4	15,30	84	32
DBO en (mg/l)	55000	32000	19000	8000
DCO en (mg/l)	201000	116000	103000	44000

D'où, LP : lisier de porc et BV : bouse de vache

Les valeurs des MES, de la DBO et de la DCO des deux substrats permettent une évaluation de leurs charges polluantes (ou indicateurs polluants). Une forte teneur en charge polluante est observée chez le lisier de porc. Elle représente 36,4 g/l de MES, 55000 mg/l de DBO et 201000 mg/l. Tandis que chez le lisier de bovin, cette teneur est de 15,3 g/l en MES, de 32000 mg/l en DBO et de 116000 mg/l en DCO. Ces teneurs sont en relation avec les types d'alimentation. Après fermentation méthanique, cette charge polluante apportée par le lisier est réduite d'environ 75% pour la DBO et 50% pour la DCO. Ceci confirme bien l'utilisation, par les microorganismes, de l'oxygène dissous du substrat pendant la fermentation anaérobiose ainsi que le phénomène de dénitrification [65]. En effet, la méthanisation permet une action de dépollution très importante du lisier, c'est pourquoi le substrat digéré a une bonne odeur de terre cultivée [26 ; 76].

Ces valeurs résiduelles ne s'éloignent pas de celles obtenues par GERES montrant une réduction de 70 à 90% pour la DBO et une réduction de 50 à 70% pour la DCO [12]. La DBO ou la DCO soluble est due aux molécules solubles présentes dans le lisier [76]. Les teneurs en MES se trouvent augmentées après la fermentation, dues en partie à l'ensemencement microbien à l'aide de pied de cuve ou de jus de la fermentation précédente, au début de la fermentation.

### **I-7- Conclusion sur les analyses physico-chimiques**

Le lisier de porc et la bouse de vache ne présentent pas les mêmes caractéristiques. Les différences sont en relation avec les types d'alimentation. Pour les analyses physico-chimiques, il existe de grandes variations de taux des paramètres entre le lisier brut et le lisier digéré, dues à la présence de différentes bactéries dans le lisier. L'analyse du lisier brut prouve que le lisier de porc et la bouse de vache sont de substrats fermentescibles et méthanisables. Ainsi, leur composition détermine le potentiel méthanogène d'un substrat [32].

L'analyse du lisier digéré permet de dire que, d'une part, la charge polluante apportée par le lisier brut est diminuée jusqu'à environ 75% alors les mauvaises odeurs des lisiers ont disparu. D'autre part, le substrat digéré a une concentration plus forte qu'au départ en éléments minéraux provenant de la minéralisation importante de certaines matières organiques durant la biométhanisation du lisier. Le lisier digéré peut donc être utilisé comme un excellent fertilisant [26; 28].

## II- FERMENTATION MÉTHANIQUE

### II-1- Exemple de chromatogramme obtenu par CPG

Les gaz formés journalièrement au cours de la fermentation ont été injectés au CPG pour constater la qualité du biogaz. Les résultats des injections permettent ensuite d'établir pour cette fermentation, une courbe révélant la productivité en  $\text{CH}_4$  en fonction du temps.

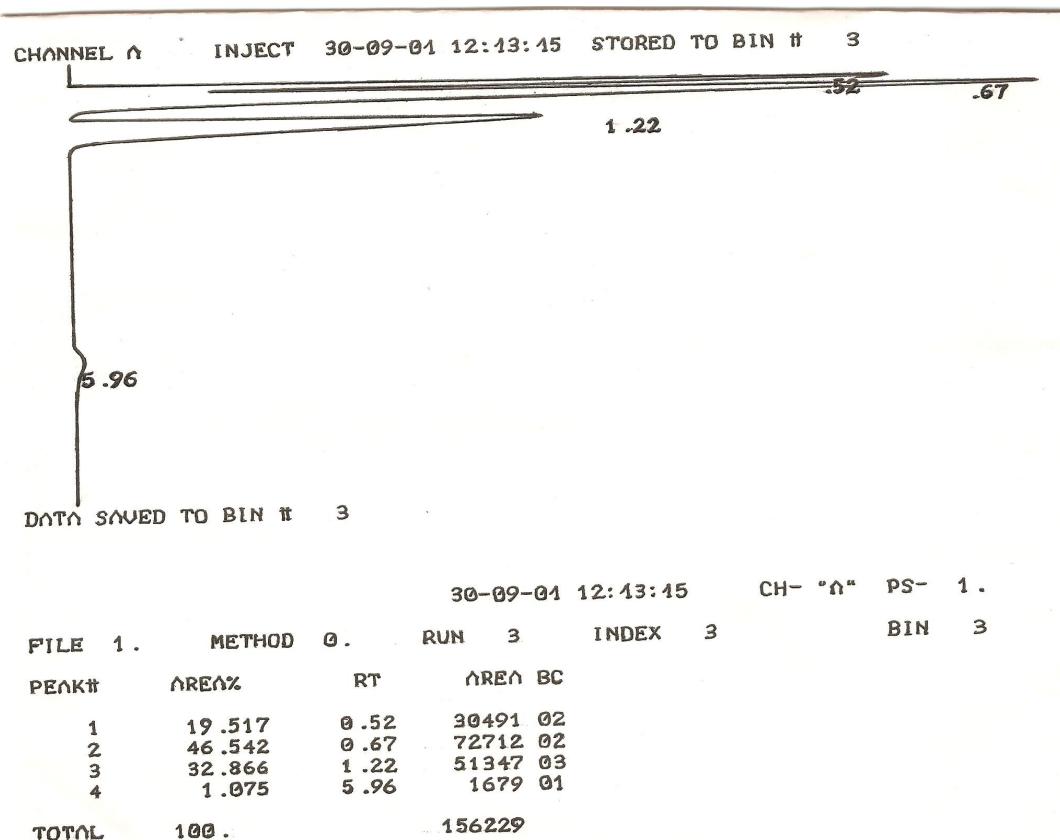
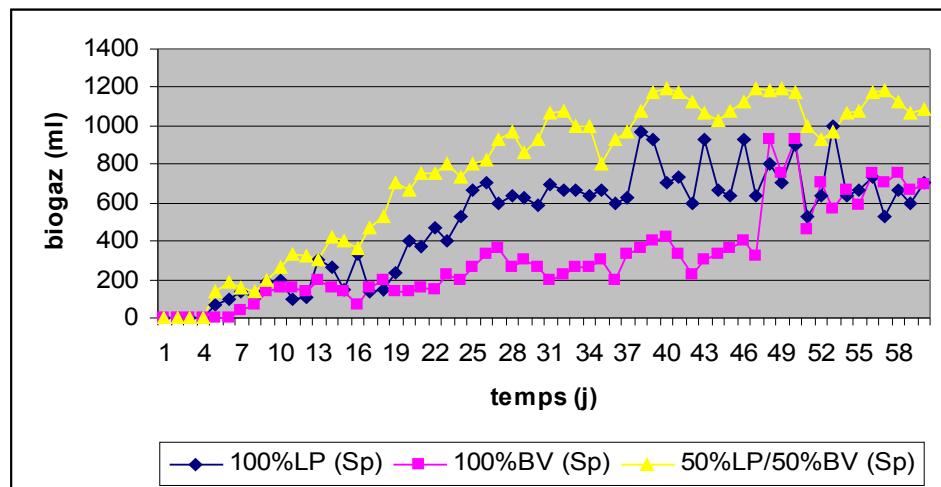


Figure 4 : Exemple de chromatogramme obtenu après injection de gaz dans le CPG

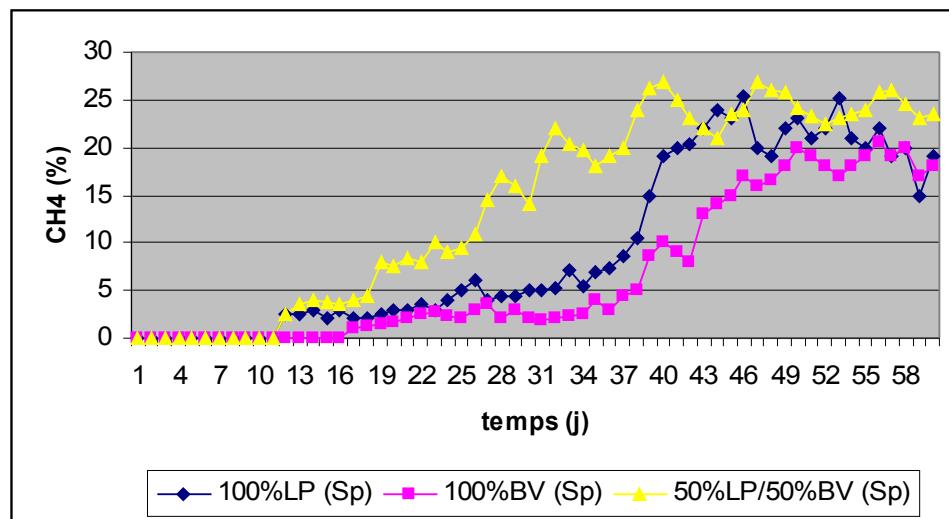
Un exemple des chromatogrammes obtenus est montré ci-dessus. Le chromatogramme représenté par la figure 4 présente 4 pics : le premier pic correspond à celui de l'azote ( $N_2$ ) avec un temps de rétention (TR) de 0,52. Le deuxième pic est celui du gaz carbonique ( $CO_2$ ) avec un TR de 0,67, suivi ensuite par le pic du méthane avec un TR de 1,22 et enfin le pic de l'eau à un TR de 5,96. L'aire de chaque pic est représentative de la quantité relative d'un élément. L'intégrateur calcule automatiquement ces surfaces et les convertit en valeur de pourcentage. Pour ce chromatogramme, le pourcentage de méthane affiché est de 32,86%.

## II-2- Résultat de la fermentation spontanée

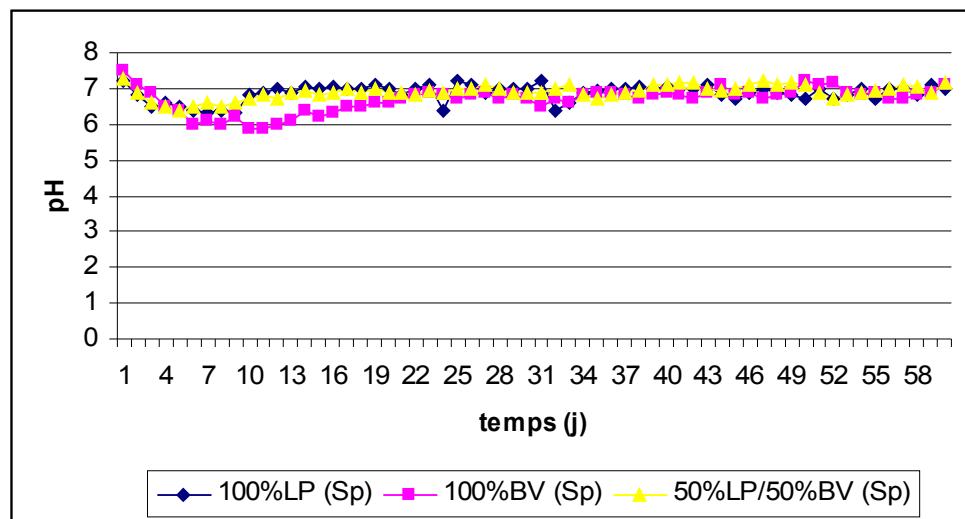
Une fermentation spontanée sur le lisier de porc, une autre sur la bouse de vache et une dernière sur le mélange de lisier de porc et de bouse de vache pour la co-digestion ont été effectuées. Les résultats après 60 jours de fermentation sont montrés sur les figures 5, 6, 7 et par le tableau XIII.



**Figure 5 : Evolution de la production de biogaz pour les fermentations spontanées (Sp) du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de lisier de porc et de bouse de vache.**



**Figure 6 : Evolution de la productivité en  $\text{CH}_4$  pour les fermentations spontanées (Sp) du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de lisier de porc et de bouse de vache.**



**Figure 7 : Evolution du pH, pour les fermentations spontanées (Sp) du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de lisier de porc et de bouse de vache**

Durant les fermentations, les températures minimale et maximale de la salle de laboratoire, mesurée à partir d'un thermomètre MINIMA/MAXIMA, ont été de 15°C et de 25°C.

Pour la fermentation du lisier de porc, le temps de latence de la production de biogaz est de 5 jours (figure 5). Le gaz produit contient initialement beaucoup de CO<sub>2</sub> (95,7%) et une proportion non négligeable en N<sub>2</sub> (4,3%). Cette proportion tend vers une diminution de la teneur en N<sub>2</sub> et une augmentation de la teneur en CO<sub>2</sub> jusqu'au 11<sup>ème</sup> jour. Le méthane n'est produit qu'au 12<sup>ème</sup> jour de la fermentation (figure 6) avec une faible concentration (2,5%). La production de méthane augmente à l'inverse de celle du CO<sub>2</sub>. La production du gaz est irrégulière, ce qui est montré par la courbe en dents de scie. Cette irrégularité est due aux changements incessants et non contrôlés des conditions physico-chimiques du milieu fermentaire. Le pH initial du milieu a été de 7,20. Ce pH change constamment (figure 7) jusqu'à descendre à 6,30.

La productivité maximale atteinte en biogaz est de 0,17 l/l/j, avec une productivité maximale en CH<sub>4</sub> de 25,4%. Le volume total de biogaz obtenu en 60 jours de fermentation est de 29,94 l avec un volume total de méthane de 20,21 l. De la croûte s'était formée dans le digesteur. Le gaz obtenu est inflammable au 46<sup>ème</sup> jour de fermentation avec 25,4% de CH<sub>4</sub> et au 53<sup>ème</sup> jour avec 25,1% de CH<sub>4</sub>.

Pour la bouse de vache, le temps de latence de la production de biogaz est de 7 jours pour la fermentation spontanée (figure 5). Le gaz initialement obtenu est essentiellement composé de N<sub>2</sub> (19,42%) et de CO<sub>2</sub> (80,48%). La teneur en N<sub>2</sub> diminue et celle en CO<sub>2</sub> augmente jusqu'au 16<sup>ème</sup> jour (figure 5). Le méthane a été détecté par CPG à partir de 17<sup>ème</sup> jour de fermentation (figure 6) avec une très faible concentration (1,1%). La production de méthane augmente aussi à l'inverse de celle du CO<sub>2</sub>. L'allure de la courbe de la production du gaz a été constatée comme celle présentée de la fermentation spontanée du lisier de porc (figure 5). Le pH initial du milieu réactionnel a été de 7,5, il est ensuite descendu à 6,13 (figure 7).

La productivité maximale atteinte en biogaz est de 0,11 l/l/j, avec une productivité maximale en CH<sub>4</sub> de 20,6%. Le volume total de biogaz obtenu en 60 jours de fermentation est de 18,84 l avec un volume total de méthane de 12,72 l. De la croûte s'était formée dans le digesteur. Le gaz obtenu n'est pas inflammable.

Pour la co-digestion de lisier de porc et de bouse de vache, le temps de latence de la production de biogaz est de 5 jours (figure 5). Le gaz produit contient initialement beaucoup de CO<sub>2</sub> (97%) avec une faible quantité de N<sub>2</sub> (3%). Cette proportion tend vers une diminution de la teneur en N<sub>2</sub> et une augmentation de la teneur en CO<sub>2</sub> jusqu'au 11<sup>ème</sup> jour. Le méthane n'a été détecté qu'au 12<sup>ème</sup> jour de la fermentation (figure 6) avec une faible concentration de 2,6%. La production de méthane augmente à l'inverse de celle du CO<sub>2</sub>. L'irrégularité de la production du gaz se traduit par les variations incessantes et non contrôlées des conditions physico-chimiques du milieu réactionnel. Le pH initial du milieu a été de 7,3. Ce pH varie constamment (figure 7) jusqu'à descendre à 6,40.

La productivité maximale atteinte en biogaz est de 0,25 l/l/j, avec une productivité maximale en CH<sub>4</sub> de 26,8%, qui est supérieure comparée à celles des fermentations spontanées précédentes du lisier de porc (25,4%) et de la bouse de vache (20,6%). Le volume total de biogaz obtenu en 60 jours de fermentation est de 46,26 l avec un volume total de méthane de 31,23 l. Le gaz obtenu est presque inflammable à partir de 39<sup>ème</sup> jour de fermentation avec 26,2% de CH<sub>4</sub> même si la croûte s'était formée dans le digesteur.

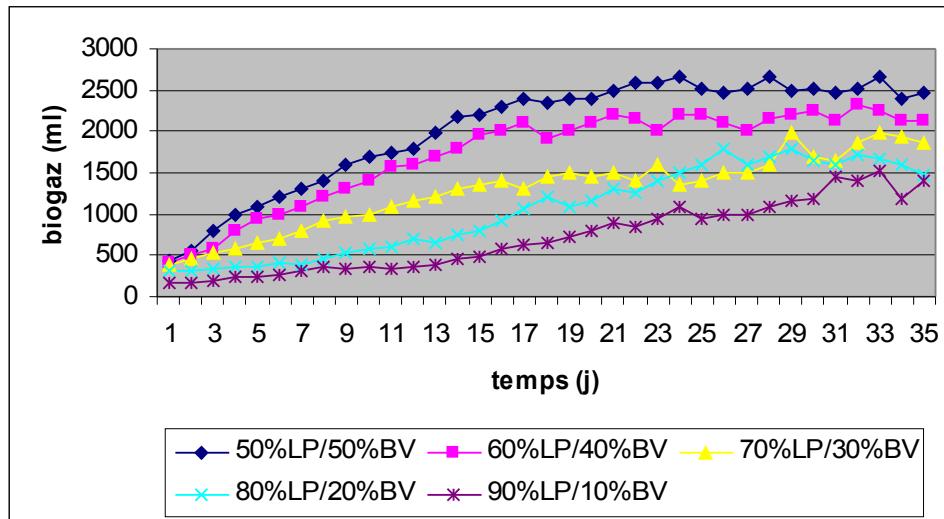
**Tableau XIII : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH<sub>4</sub>, du lisier de porc (LP), de la bouse de vache (BV) et du mélange de deux types de substrat.**

Substrat	100%LP	100%BV	50%LP/50%BV
Volume total de biogaz produit (l)	29,94	18,84	46,26
Productivité volumique maximale de biogaz (l/l/j)	0,17	0,11	0,25
Volume total de méthane (l)	20,21	12,72	31,23
Productivité maximale en méthane (%)	25,4	20,6	26,8
Biogaz (l/kg M.O)	107,40	88,57	314,16

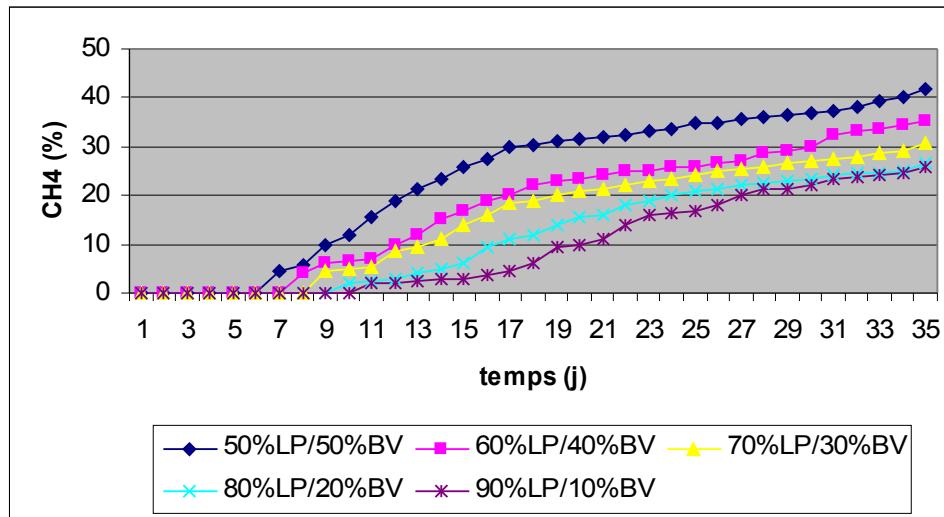
### **II-3- Résultats de l'optimisation des proportions en lisier de porc et en bouse de vache du mélange pour la co-digestion**

En fixant les concentrations respectives de chaque substrat à 500 g/l, l'effluent tamisé provenant de la préculture de 150 ml et la température de fermentation à 30°C, différents mélanges de différentes proportions ont été composés : 90%LP/10%BV, 80%LP/20%BV, 70%LP/30%BV, 60%LP/40%BV, 50%LP/50%BV. Le pH du milieu a été mesuré journalièrement. L'agitation a été effectuée manuellement et deux fois par jour. Les

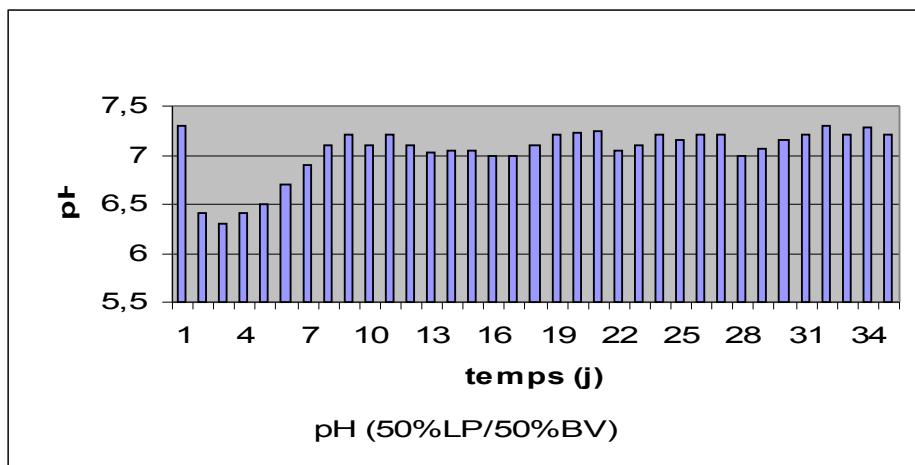
Résultats obtenus après 35 jours de fermentation sont présentés sur les figures 8, 9 et 10. Les valeurs maximales sont présentées dans le tableau XIV.



**Figure 8 : Evolution de la production de biogaz pour différentes proportions en mélange de lisier de porc (LP) et de la bouse de vache (BV) en fonction du temps.**



**Figure 9 : Evolution de la productivité en CH<sub>4</sub> pour différentes proportions en mélange de lisier de porc (LP) et de bouse de vache (BV) en fonction du temps.**



**Figure 10 : Evolution du pH de la proportion optimale (50%LP/50%BV) en lisier de porc (LP) et en bouse de vache (BV) du mélange pour la co-digestion**

Les courbes obtenues ont à peu près les mêmes allures, soit pour la production de biogaz (figure 8), soit pour la productivité en méthane (figure 9). La production de biogaz ne présente plus de phase de latence.

A la proportion de 50%LP/50%BV, la production de biogaz et la productivité en méthane sont maximales (tableau XIV). A cette proportion, les temps de latence pour la production de méthane sont plus courts, 7 jours (figure 9). La productivité volumique en biogaz est élevée par rapport à celle des autres proportions, surtout durant la phase de production du méthane à partir du 7<sup>ème</sup> jour (figures 8 et 9). Au-dessous et au-dessus de cette proportion, les productivités en gaz et en méthane diminuent.

La vitesse de production de biogaz augmente avec un rapport tendant à la hausse de la teneur en bouse de vache et à la baisse de la teneur en lisier de porc (figure 8). En effet, la vitesse maximale est obtenue avec le rapport 50%LP/50%BV (tableau XIV). Cette proportion est le rapport optimal donnant le maximum de rendement en gaz et en méthane en comparant aux rendements des autres proportions (figures 8 et 9). La productivité volumique maximale en biogaz est de 0,67 l/l/j avec un rendement de 481,56 l biogaz/kg M.O après 35 jours de co-digestion (tableau XIV). La productivité maximale atteinte en méthane est de 42%. Toutes les fermentations ont produit des gaz inflammables, mais à la proportion de 50%LP/50%BV, le gaz est inflammable au 15<sup>ème</sup> jour de fermentation avec 26% de CH<sub>4</sub>. De la croûte ne s'était pas formée dans le digesteur.

Le pH journalier mesuré (figure 10) pour la fermentation de cette proportion optimale 50%LP/50%BV a été proche du pH idéal de la fermentation méthanique cité par LAGRANGE [40] qui est entre 7 et 7,3, notamment durant la phase de production du CH<sub>4</sub> à partir du 7<sup>ème</sup> jour (figures 9 et 10). La baisse du pH (figure 8 et 10) accentuée au début de la fermentation, traduit l'intensité de la phase non méthanogène à savoir l'hydrolyse et l'acidogénèse.

A la proportion de 60%LP/40%BV, le temps de latence pour la production de méthane est de 8 jours (figure 9). Le rendement en gaz est plus faible par rapport au rendement de la proportion 50%LP/50%BV, sauf au début des fermentations pendant la phase non méthanogène. Ce qui signifie que cette proportion 60%LP/40%BV est plus favorable aux deux premières étapes de la fermentation, à savoir l'hydrolyse et l'acidogénèse. Néanmoins, la productivité en CH<sub>4</sub> est plus intense par rapport à celle de la proportion de 70%LP/30%BV, de 80%LP/20%BV, et de 90%LP/10%BV (figure 9).

La productivité volumique maximale atteinte en biogaz est de 0,57 l/l/j avec une productivité maximale en CH<sub>4</sub> de 35,4% et avec un rendement de 399,45 l biogaz/kg M.O après 35 jours de co-digestion.

Le gaz obtenu de la fermentation à proportion 60%LP/40%BV est inflammable à partir du 23<sup>ème</sup> jour avec 25,5% de CH<sub>4</sub>. La croûte ne s'était pas formée dans le digesteur.

Au-delà de la valeur optimale, à proportions 70%LP/30%BV, 80%LP/20%BV et 90%LP/10%BV, les productivités en biogaz et en CH<sub>4</sub> diminuent, traduisant une baisse de l'activité des bactéries méthanogènes. A ces proportions, l'hydrolyse et l'acidogénèse sont moins actives, ce qui est montré par les figures 8 et 9 avec la plus faible production de biogaz. Les temps de latence de production de méthane sont plus longs.

Les productivités volumiques maximales en biogaz, atteintes en 35 jours de fermentation sont de 0,43 l/l/j pour la proportion 70%LP/30%BV, de 0,35 l/l/j pour la proportion 80%LP/20%BV et de 0,24 l/l/j pour la proportion 90%LP/10%BV. Les rendements par rapport aux matières organiques sont respectivement de 344,60 l biogaz/kg M.O, de 218,82 l biogaz/kg M.O et de 177,23 l biogaz/kg M.O avec des productivités maximales respectives en méthane de 30,9%, de 26,5% et de 25,7%.

Les gaz obtenus des fermentations à proportions 70%LP/30%BV, 80%LP/20%BV et 90%LP/10%BV pour la co-digestion sont respectivement inflammables à partir du 26<sup>ème</sup> jour

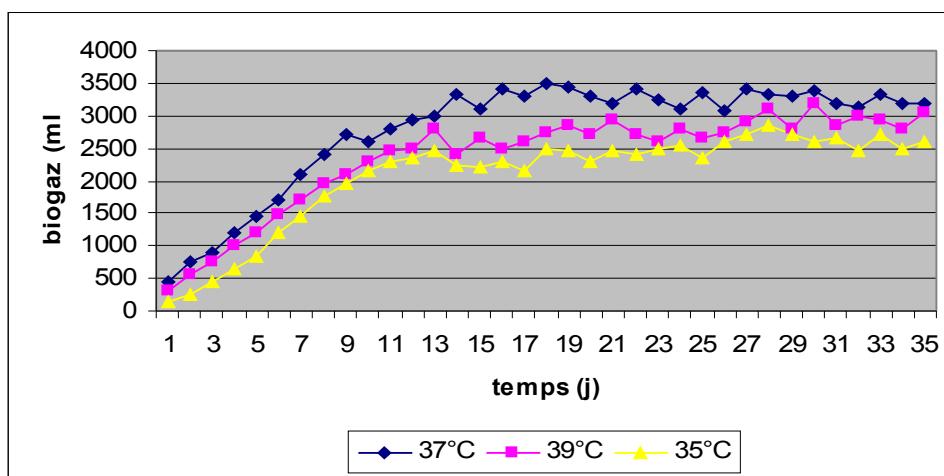
avec 25,1% de CH<sub>4</sub>, du 34<sup>ème</sup> jour avec 25% de CH<sub>4</sub> et au 35<sup>ème</sup> jour avec 25,7% de CH<sub>4</sub>. La croûte ne s'était plus formée dans le digesteur.

**Tableau XIV : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH<sub>4</sub> pour différents mélanges de lisier de porc (LP) et de bouse de vache (BV).**

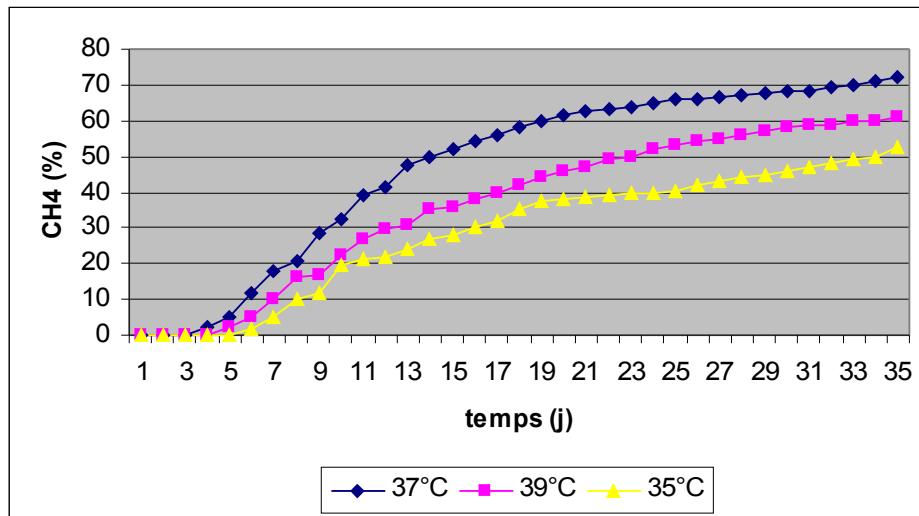
Proportion	50%LP 50%BV	60%LP 40%BV	70%LP 30%BV	80%LP 20%BV	90%LP 10%BV
Volume total en biogaz (l)	70,91	60,39	45,05	36,67	25,25
Vitesse de production de biogaz (l/l/j)	0,67	0,57	0,43	0,35	0,24
Volume total en méthane (l)	47,86	40,76	30,41	24,75	17,04
Productivité maximale en CH <sub>4</sub> (%)	42	35,4	30,9	26,5	25,7
Biogaz (l/kg M.O)	481,56	399,45	344,60	218,82	177,23

#### II-4- Résultats de l'optimisation de la température

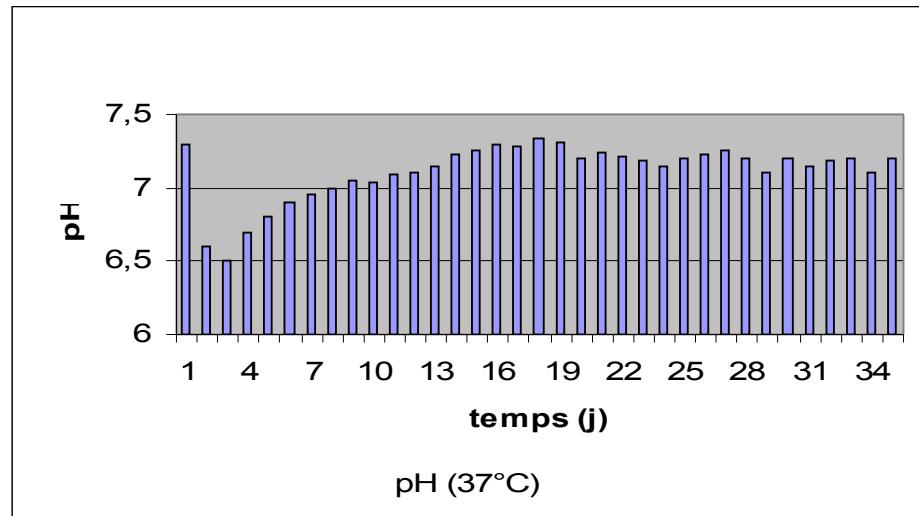
Trois fermentations sur la proportion optimale en lisier de porc et en bouse de vache du mélange (50%LP/50%BV) ont été réalisées pour l'étude des effets des valeurs de températures suivantes : 35°C, 37°C, 39°C. Le pH du milieu réactionnel a été mesuré journalièrement, l'agitation manuelle a été effectuée deux fois par jour et les concentrations initiales en substrat ont été de 500 g/l avec 150ml de préculture tamisée. Les résultats après 35 jours de fermentation sont présentés sur les figures 11, 12, 13 et dans le tableau XV.



**Figure 11 : Evolution de la production de biogaz à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différentes températures en fonction du temps.**



**Figure 12 : Evolution de la productivité en  $\text{CH}_4$  à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différentes températures en fonction du temps.**



**Figure 13 : Evolution du pH à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache pour la température optimale 37°C.**

Les courbes présentant les résultats des effets de température présentent la même allure. Pour les courbes présentant la production de biogaz, aucune phase de latence n'a été observée.

A 37°C, la production de biogaz et la productivité en CH<sub>4</sub> pour la co-digestion de lisier de porc et de bouse de vache atteignent des valeurs maximales (tableau XV). A cette température, la production de biogaz est élevée, néanmoins au début des fermentations, la production est plus faible. Par contre pour la productivité en CH<sub>4</sub>, une intense activité méthanogène est obtenue à 37°C, montrée par la courbe de productivité en CH<sub>4</sub> du mélange de lisier de porc et de bouse de vache (figure 12). Les temps de latence de production de méthane sont courts, de 3 jours.

A 35°C, les rendements en biogaz et en méthane sont faibles. De même à 39°C, les mêmes effets apparaissent, mais les productivités en gaz et en méthane sont plus intenses que celles obtenues à 35°C (figures 11,12).

En comparant les volumes totaux de biogaz obtenus pour chaque fermentation, après 35 jours, l'augmentation de température de 35°C à 37°C conduit à une hausse de 33,75% de gaz pour le mélange de lisier de porc et de bouse de vache à la proportion optimale (50%LP/50%BV). De 37°C à 39°C, une perte de 15,05% du volume de gaz est observée chez cette co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache. Il semblerait que l'augmentation de la température a un effet activateur sur la production de biogaz [56].

Les productivités volumiques maximales atteintes en 35 jours de co-digestion optimale en lisier de porc et en bouse de vache, sont de 0,92 l/l/j à la température optimale de 37°C, de 0,78 l/l/j à la température de 39°C et de 0,69 l/l/j à la température de 35°C. Rapportés à la masse de matières organiques, les rendements sont respectivement de 660,37 l biogaz/kg M.O, de 560,95 l biogaz/kg M.O et de 493,72 l biogaz/kg M.O.

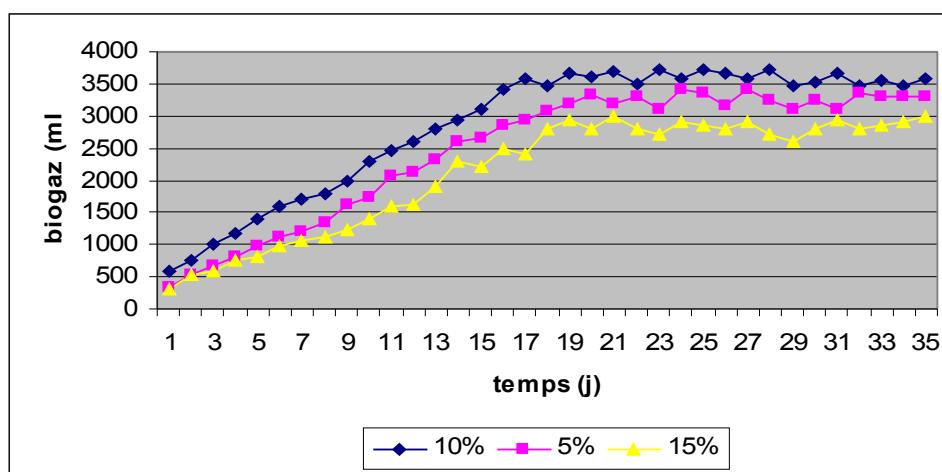
Toutes les fermentations ont produit des gaz inflammables. Pour la température à 37°C, la co-digestion optimale en lisier de porc et en bouse de vache (50%LP/50%BV) produit un gaz inflammable à partir du 9<sup>ème</sup> jour avec 28,4% de CH<sub>4</sub> tandis que celui de la température à 39°C est inflammable à partir du 12<sup>ème</sup> jour avec 29,8% de CH<sub>4</sub> et celui de la température à 35°C est inflammable à partir du 15<sup>ème</sup> jour de co-digestion avec 26,6% de CH<sub>4</sub>.

**Tableau XV : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH<sub>4</sub> de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différentes températures de fermentation.**

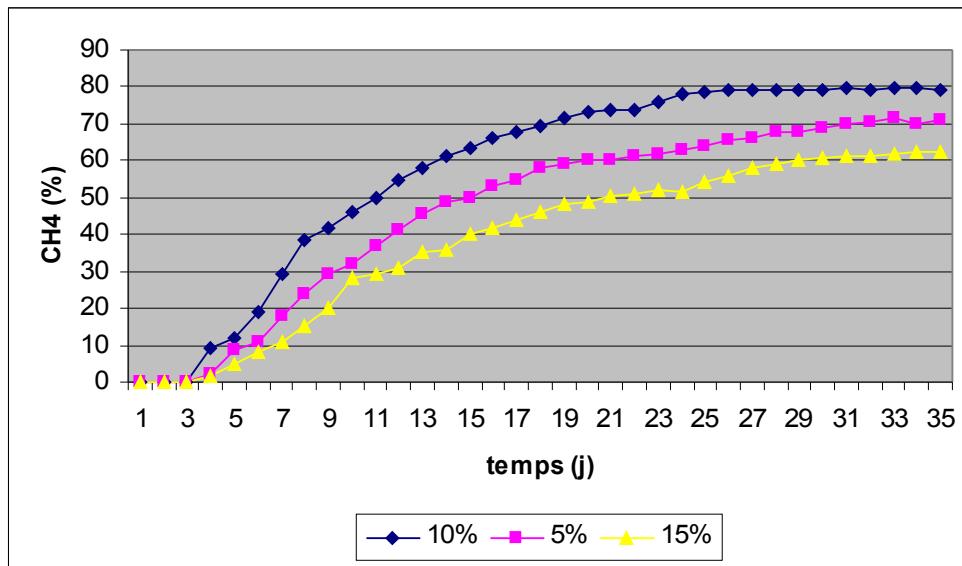
Température (°C)	35	37	39
Volume total en biogaz (l)	72,70	97,24	82,60
Productivité volumique maximale de biogaz (l/l/j)	0,69	0,92	0,78
Volume total de méthane (l)	49,07	65,64	55,75
Productivité maximale en méthane (%)	52,4	72,1	60,9
Biogaz (l/kg M.O)	493,72	660,37	560,95

### II-5- Résultats de l'optimisation de l'ensemencement

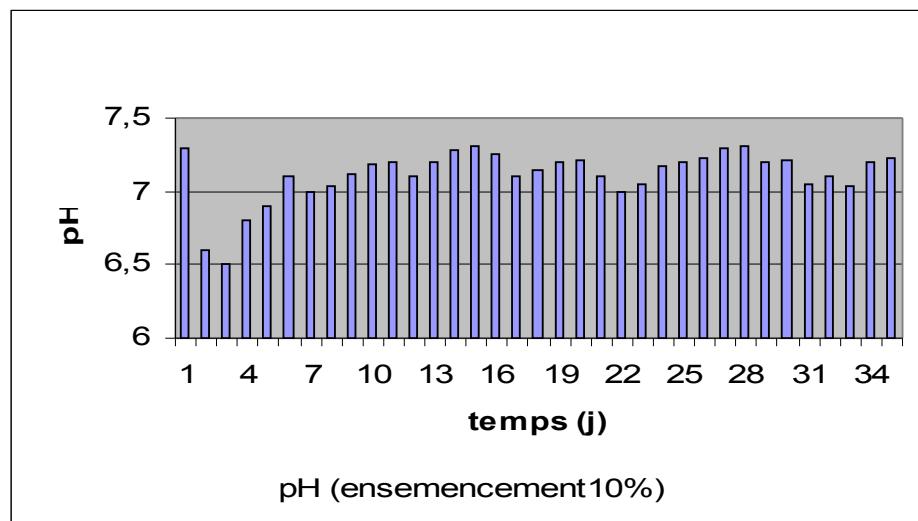
Trois fermentation sur la proportion optimale en lisier de porc (LP) et en bouse de vache (BV) du mélange pour la co-digestion (50%LP/50%BV) ont été effectuées pour l'étude des effets des pourcentages d'ensemencement en pieds de cuve suivants : 5%, 10%, 15%, provenant du jus de nos fermentations précédentes, en phase de fermentation intense. Le pH du milieu fermentaire a été mesuré journalièrement, l'agitation manuelle deux fois par jour a été faite, les concentrations initiales en substrat ont été fixées à 500 g/l avec 150 ml de préculture tamisée et la température optimale de 37°C a été maintenue. Les résultats obtenus après 35 jours de co-digestion sont montrés sur les figures 14, 15, 16 et dans le tableau XVI.



**Figure 14 : Evolution de la production de biogaz à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différents ensemencements en fonction du temps.**



**Figure 15 : Evolution de la productivité en CH<sub>4</sub> à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différents ensemencements en fonction du temps.**



**Figure 16 : Evolution du pH à partir de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache pour l'ensemencement optimal (10%).**

Les courbes obtenues ont les mêmes allures, soit pour la production de biogaz (figure 14), soit pour la productivité en CH<sub>4</sub> (figure 15). Pour les courbes présentant la production de biogaz, aucune phase de latence n'a été observée.

Pour l'ensemencement en pieds de cuve de 10%, la production de biogaz et la productivité en CH<sub>4</sub> pour la fermentation du mélange de lisier de porc et de bouse de vache atteignent des valeurs maximales (tableau XVI). A cet ensemencement, la production de biogaz est élevée, néanmoins en début de fermentation, la production est faible. Pour la productivité en CH<sub>4</sub>, une intense activité méthanogène est obtenue à la l'ensemencement de 10%, montrée par la courbe de productivité en CH<sub>4</sub> du mélange de lisier de porc et de bouse de vache (figure 15). Les temps de latence de production de méthane sont très courts, de 2 jours.

Pour l'ensemencement en pieds de cuve de 15%, les rendements en biogaz et en méthane sont faibles. De même, à l'ensemencement de 5%, les mêmes effets apparaissent, mais les productivités en gaz et en méthane sont plus intenses que celles obtenues à l'ensemencement de 15% (figures 14, 15).

En comparant les totaux de biogaz obtenus pour chaque fermentation, après 35 jours, l'augmentation de l'ensemencement en pieds de cuve de 5% à 10% conduit à une hausse de 15,64% de gaz pour la co-digestion de lisier de porc et de bouse de vache. De l'ensemencement de 10% à 15%, une perte de 25,45% du volume de gaz est observée chez le lisier de porc et la bouse de vache du mélange pour la co-digestion. L'ensemencement par les pieds de cuve accélère la production et favorise les qualités du gaz obtenu.

Les productivités volumiques maximales atteintes en 35 jours de co-digestion optimale (50%LP/50%BV) sont de 0,95 l/l/j à l'ensemencement optimal de 10%, de 0,82 l/l/j à l'ensemencement de 5% et de 0,72 l/l/j à l'ensemencement de 15%. Rapportés à la masse de matières organiques, les rendements sont respectivement de 677,89 l biogaz/kg M.O, de 586,21 l biogaz/kg M.O et de 505,33 l biogaz/kg M.O.

Toutes les fermentations ont produit des gaz inflammables. Pour l'ensemencement de 10%, la co-digestion optimale en lisier de porc et en bouse de vache (50%LP/50%BV) produit un gaz inflammable à partir du 7<sup>ème</sup> jour avec 29,5% de CH<sub>4</sub> tandis que celui de l'ensemencement de 15% est inflammable à partir du 10<sup>ème</sup> jour avec 28,2% de CH<sub>4</sub> et celui de l'ensemencement de 5% est inflammable à partir du 9<sup>ème</sup> jour avec 29,3% de CH<sub>4</sub>.

**Tableau XVI : Récapitulation des productivités en biogaz et en CH<sub>4</sub> de la co-digestion optimale de lisier de porc et de bouse de vache, pour différents ensemencements de fermentation.**

Ensemencement en pieds de cuve (%)	5	10	15
Volume total de biogaz produit (l)	86,32	99,82	74,41
Vitesse de production de biogaz (l/l/j)	0,82	0,95	0,72
Volume total de CH <sub>4</sub> (l)	58,27	67,38	50,23
Productivité maximale en CH <sub>4</sub> (%)	71	79,4	62,5
Biogaz (l/kg M.O)	586,21	677,89	505,33

## II-6- Discussions

### II-6-1- La fermentation spontanée

Aussi bien pour la production de biogaz que pour la production de méthane, le long temps de latence observé chez les fermentations spontanées, correspond à une longue durée d'adaptation des populations bactériennes responsables de la fermentation. Cette phase est caractérisée par un très faible débit de gaz (figure 5). Au cours de cette phase, la proportion du gaz carbonique dans le mélange gazeux est très élevée (2 / 3 environ) par rapport à celle du méthane (1/3) [10].

Dans les mêmes conditions de fermentation spontanée, le lisier de porc donne des rendements plus élevés en gaz et en méthane, par rapport aux rendements de la bouse de vache.

En comparant les volumes totaux de biogaz obtenu pour chaque fermentation spontanée précédente, après 60 jours, le mélange de lisier de porc et de bouse de vache pour la co-digestion, même dans les conditions spontanées, conduit à une augmentation de 35,28% de gaz par rapport au gaz du lisier de porc et une hausse de 59,27% par rapport au gaz de la bouse de vache. En effet, la complémentarité des substrats, l'hétérogénéité du substrat et la communauté bactérienne de ces deux types de substrat, sont des facteurs de succès pour le démarrage des différentes étapes de la méthanisation. La bouse de vache est très riche en bactérie méthanogène bien qu'elle est composée d'une teneur élevée en cellulose [71].

La production irrégulière de gaz est l'effet des conditions physico-chimiques instables, qui perturbent la réaction biochimique au sein du digesteur. En effet, les fermentations ont été conduites spontanément, la température et le pH ont montré

constamment de grandes fluctuations. La variation journalière de la température de la salle de 15°C à 25°C a pour conséquence, une irrégulière et faible production de biogaz. Les changements incessants de la température diminuent les potentialités des bactéries mésophiles et thermophiles jusqu'à en détériorer leur performance [4].

L'instabilité du pH observé à la figure 8 est la conséquence de deux faits simultanés. La baisse du pH est l'effet des bactéries fermentaires, qui produisent des acides gras volatils tendant à acidifier le milieu [15; 40]. Cette acidité est ensuite résorbée par les bactéries méthanogènes et de ce fait leurs activités tendent à faire augmenter le pH.

Les mesures journalières effectuées au CPG ont permis de détecter une quantité élevée de gaz sous forme d'azote, surtout pour la bouse de vache. Le cycle de l'azote a été probablement perturbé par la condition spontanée et a abouti à une formation de dérivé azoté gazeux. D'après PRATS, une faible température inhibe la phase de minéralisation de l'azote par les bactéries nitrifiantes [54]. C'est une hypothèse à ne pas écarter étant donné que la fermentation spontanée a été conduite dans une salle où la température minimale mesurée atteignait 15°C.

La présence de gaz carbonique ainsi que sa teneur élevée dans le biogaz, est issue de l'activité normale des bactéries hydrolytiques et acidogènes (cf. partie I, III-3-1 et III-3-2).

La présence de croûte chez les trois fermentations spontanées est due à l'accumulation de particules cellulosiques, flottantes, peu dégradables [51; 72]. Aucune agitation n'a été effectuée avec les fermentations spontanées, ce qui a favorisé la formation de croûte.

## **II-6-2- Optimisation de la proportion des deux substrats du mélange de co-digestion**

Les proportions en lisier de porc et en bouse de vache du mélange pour la co-digestion influent sur la production générale de biogaz et sur l'activité des bactéries méthanogènes.

L'absence de phase de latence chez les productions de biogaz des cinq fermentations est due à la préculture effectuée avant la fermentation, traduisant ainsi une adaptation rapide des bactéries responsables de la fermentation. Ceci permet aussi une première dégradation du substrat surtout les matières difficiles à dégrader, et son réchauffage.

La proportion trouvée optimale à la co-digestion est un rapport de 50%LP/50%BV. La productivité en méthane a atteint 42% (tableau XIV). Elle est très élevée comparée à celles

des fermentations de la proportion 60%LP/40%BV (35,4%), de la proportion 70%LP/30%BV (30,9%), de la proportion 80%LP/20BV (26,5%) et de la proportion 90%LP/10%BV (25,7%) menées dans les mêmes conditions. Cette intense activité méthanogène signifie que, grâce à la co-digestion, certaines conditions physico-chimiques ont été améliorées en faveur des bactéries méthanogènes. Le mélange des deux substrats a pour effet l'amélioration de l'équilibre nutritif du milieu de fermentation et de diminuer la concentration en éléments toxiques qui pourraient être présents dans l'un des substrats, ce qui conduit à créer un effet synergique [70]. Le lisier de bovin apporte du substrat carboné et pourrait aussi enrichir éventuellement le milieu en azote ou en phosphore nécessaires à la fermentation tandis que le lisier de porc apporte l'azote et ainsi le carbone. La bouse de vache s'est révélée d'autant plus efficace comme inoculum que la nourriture de l'animal est riche en cellulose [71]. En effet, le rumen de bovin constitue un digesteur ouvert qui assure la digestion des aliments fortement cellulosiques du ruminant [10]. Le tube digestif des ruminants est un milieu anaérobiose contenant l'ensemble de la flore bactérienne impliquée dans la digestion méthanique [71]. La bouse de vache est donc le meilleur inoculum d'ensemencement des réacteurs anaérobies.

L'agitation manuelle effectuée deux fois par jour a empêché la formation de croûte à la surface de la masse en fermentation, liée à la remontée de particules solides sous l'influence de la migration des bulles de gaz vers le haut. Le débit de biogaz est quatre fois plus important pendant ces périodes que pendant les périodes sans agitation [76]. L'agitation est d'autant plus nécessaire que la production journalière est élevée. Celle-ci doit permettre la libération de bulles de biogaz déjà formées dans la masse en fermentation.

### **II-6-3- Optimisation de la température**

La température de 37°C est la température optimale de la fermentation du mélange de lisier de porc et de bouse de vache pour la co-digestion. Elle a permis des productivités optimales en gaz et en CH<sub>4</sub> (Tableau XV). La fermentation méthanique présente deux plages de température optimale, l'une où est située la température de 37°C est entre 30°C à 40°C de la zone mésophile, l'autre entre 45 et 70°C de la zone thermophile [21].

L'inexistence d'une phase de latence pour la production de biogaz (figure 11) a été la conséquence de l'ensemencement provenant de la préculture. Les bactéries déjà familiarisées et adaptées au mélange de lisier de porc et de bouse de vache, ont été directement actives sur ces substrats lors de la fermentation. Par contre, le temps de latence de la production de méthane, observée à chaque courbe révélant la productivité en CH<sub>4</sub> (figure 12), est à attribuer

à une condition défavorable aux bactéries méthanogènes. En effet, la présence d'oxygène dissous au début de fermentation n'est pas à exclure. L'oxygène a été apporté par le substrat et par l'eau de dilution. Or sa présence n'est pas tolérée par les bactéries méthanogènes (cf. partie I, III-3-4.). L'élimination de l'oxygène par les bactéries anaérobies hydrolytiques et acidogènes a ensuite permis aux bactéries méthanogènes de reprendre leur activité.

Le pH journalier mesuré (figure 13) pour la co-digestion de lisier de porc et de bouse de vache à la température optimale (37°C) a été très proche du pH idéal de la fermentation méthanique révélé par LAGRANGE qui est entre 7 et 7,3, notamment pendant la phase de production du méthane à partir du 8<sup>ème</sup> jour [40]. La baisse du pH au début de la fermentation montrerait la phase d'hydrolyse et d'acidogénèse, les deux premières étapes de la fermentation méthanique.

#### **II-6-4- Optimisation de l'ensemencement en pieds de cuve**

L'ensemencement en pieds de cuve influe beaucoup sur la production générale de biogaz. Le pied de cuve utilisé est prélevé de notre fermentation précédente en phase de fermentation intense. Celle-ci avait elle-même été mélangée de lisier de porc et de bouse de vache, ainsi ensemencée par la préculture.

L'ensemencement à 10% de pieds de cuve est l'ensemencement optimal de la co-digestion de lisier de porc et de bouse de vache. Il a permis des productivités optimales en gaz et en méthane (tableau XVI). Il faut au moins un ensemencement de 5% pour avoir une vitesse importante de fermentation, par contre, un ensemencement à partir de 20% n'améliore pratiquement plus la cinétique de fermentation [12]. Il apparaît que l'ensemencement par un pieds de cuve réduit considérablement le temps de latence [53].

L'inexistence d'une phase de latence pour la production de biogaz (figure 14) a été la conséquence de l'ensemencement provenant de la préculture et provenant du pied de cuve à optimiser. Ce dernier a pour conséquence d'enrichir le milieu en souches bactériennes d'une part et d'autre part de modifier le rapport des concentrations en espèces présentes, tout particulièrement en ce qui concerne les rapports azote-carbone et phosphore-carbone [10]. Le lisier de bovin présent dans cet ensemencement est un substrat dont l'apport a pour effet l'enrichissement du milieu en populations de microorganismes méthanogènes et éventuellement en azote ou en phosphore nécessaires à la fermentation [7; 10].

Le pH journalier mesuré (figure 16) pour la co-digestion de lisier de porc et de bouse de vache à l'ensemencement optimal en pieds de cuve, de 10%, a été similaire à ceux trouvés

auparavant. Cette stabilité du pH est la conséquence de la compatibilité de mélange des deux substrats (lisier de porc et bouse de vache). Il y a eu autorégulation naturelle du pH dans le milieu.

Avec les effets conjugués de la proportion, de la température et de l'ensemencement en pieds de cuve optimaux, le rendement en gaz du mélange de lisier de porc et de bouse de vache, après 35 jours de co-digestion, est de 677,89 l biogaz/kg M.O avec une productivité maximale en méthane de 79,4%. Ces valeurs sont très élevées et fiables comparées à celles citées par LAGRANGE, avec 280 l biogaz/kg M.O en 20 jours de fermentation pour le lisier de porc et 160 l biogaz/kg MO en 20 jours de fermentation pour la bouse de vache, ainsi que, à celles obtenues par RAZAFINANDRASANA avec 299,08 l biogaz/kg M.O en 36 jours de fermentation pour le lisier de porc et par RARIVOSOA, avec 246,48 l biogaz/kg M.O en 35 jours de co-digestion de lisier de porc et de fiente de volaille [40; 62; 66].

Cette différence proviendrait de la nature des substrats utilisés et de la quantité de matières organiques qui les composent. C'est une condition à ne pas oublier aussi que, toute optimisation durant notre étude a été conduite à partir de la co-digestion optimale obtenue de lisier de porc et de bouse de vache (50%LP/50%BV).

Le bon rendement s'explique à la fois par la complémentarité de la composition physico-chimique du mélange des deux types de substrats (lisier de porc et bouse de vache) et par la présence dans le milieu réactionnel des associations des microorganismes capables d'accélérer le processus de la fermentation méthanique.

#### **II-6-5. L'inflammabilité du gaz**

Les gaz obtenus pendant les optimisations du mélange lisier de porc-bouse de vache, de la température ou de l'ensemencement en pieds de cuve, sont inflammables quand la teneur en méthane dans le biogaz dépasse 25%. Ceci pourrait être utilisé directement ou indirectement, par exemple dans les cuisines pour faire cuire les aliments et pour l'éclairage. Il a été aussi utilisé directement au moteur d'un groupe électrogène à essence pour alimenter des ampoules, l'essence est substituée par le biogaz, ceci a été adapté par notre collègue au laboratoire de mécanique physique et environnement.

# **CONCLUSION GENERALE**



Ce travail a permis de montrer la possibilité de produire du biogaz à partir de déjections animales tels que le lisier de porc, la bouse de vache et surtout leur mélange, par la fermentation méthanique.

Au regard des résultats de la caractérisation du lisier de porc et de la bouse de vache, ces deux types de déjection sont de substrats fermentescibles voire méthanisables et les valeurs respectives des matières organiques convertibles en gaz sont de 75,21% et de 85,82%. Les autres caractéristiques qui différencient ces deux substrats font que leurs vitesses de dégradation en biogaz sont aussi différentes.

Les analyses physico-chimiques du lisier digéré ont permis de prouver que les matières organiques et minérales présentes dans le substrat de départ se retrouvent dans le résidu de digestion. La fermentation méthanique a transformé essentiellement 17,96% des substances carbonées complexes pour le lisier de porc et 34,33% pour la bouse de vache, en biogaz. Certaines matières organiques peuvent être transformées en matières minérales. La minéralisation a alors augmenté légèrement dans le lisier digéré. Le lisier méthanisé conserve en grande partie les éléments fertilisants que sont l'azote, la potasse et le phosphore. Le résidu de digestion possède une valeur certaine d'amendement organique et minéral.

Les charges polluantes (DCO et DBO) apportées initialement par le lisier se trouvent diminuées respectivement de 50% et 75% dans le résidu de fermentation. La biométhanisation pourrait donc permettre d'atteindre un objectif particulièrement intéressant, c'est de dépolluer le lisier en réduisant le volume des déchets organiques et en les stabilisant.

La fermentation spontanée du lisier de porc ou de la bouse de vache produit de faibles quantités de gaz avec un faible pourcentage en méthane. Par contre, la fermentation spontanée du mélange de lisier de porc et de bouse de vache en co-digestion produit de gaz en quantité relativement élevée avec un fort pourcentage en méthane par rapport à ceux produit par la fermentation du lisier de porc ou de la bouse de vache.

Les expériences d'optimisation effectuées sur la proportion en lisier de porc et en bouse de vache pour le mélange de co-digestion, sur la température et sur l'ensemencement en pieds de cuve, ont permis de trouver les valeurs auxquelles les rendements en gaz et en méthane sont maximaux et fiables. La proportion optimale en lisier de porc et en bouse de vache pour le mélange de co-digestion, est de 50%LP/50%BV, la valeur optimale de la température est de 37°C et celle de l'ensemencement en pieds de cuve est de 10%. Avec ces

conditions, la fermentation présente une grande réduction du temps de latence de réaction et une augmentation de la vitesse de méthanisation, le biogaz obtenu est de meilleure qualité.

La co-digestion dans les conditions optimales obtenues permet de traiter les deux substrats (lisier de porc et bouse de vache) et d'obtenir du gaz plus riche en méthane. Le rendement obtenu après 35 jours de fermentation a été de 677 l biogaz/kg M.O et la productivité maximale en méthane a été de 79,4%.

Bien que les résultats soient encore préliminaires, ils prouvent que la fermentation méthanique du mélange des déjections animales en co-digestion, sont faisables et optimisables.

Nous envisageons dans l'avenir :

- d'étudier d'autres paramètres tels que le prétraitement des substrats, la granulométrie, la vitesse d'agitation et le pH ;
- d'améliorer les qualités des boues obtenues pour leurs utilisations en amendement ;
- d'étudier en système continu la fermentation, avec les paramètres optimisés en système discontinu ;
- de purifier le gaz obtenu pour augmenter son rendement calorifique ;
- d'isoler et d'identifier les bactéries responsables de la fermentation méthanique ;
- de rechercher des souches méthanogènes performantes ;
- d'élaborer à partir de ces bases de données un digesteur pilote avec lequel on étudiera la possibilité de cogénération d'énergie ;
- d'étudier d'autres substrats en fermentation méthanique.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. ADVISORY COMITEE ON TECHNOLOGY INNOVATION, 1981. Supplement energy for rural development. Washington D.C.: National Academy Press, 306 p.
2. AFME, 1984. La méthanisation des déjections animales. Paris : AFME, 23 p.
3. AFNOR, 1988. Contrôle de la qualité des produits alimentaires. Paris: AFNOR, 222 p.
4. AHN J.H., FOSTER C.F., 2002. The effect of temperature variations on the performance of mesophilic and thermophilic anaerobic filters treating a simulated papermill wastewater. *Process Biochemistry* 37, 589-594.
5. ANDRIANAIVOARIMASY E. F., 1999. Effets dommageables et essais de valorisation du lisier provenant d'élevage de porc. [Mémoire de DEA Chimie et Environnement]. Antananarivo : Université d'Antananarivo.
6. AUDIGIE C., DUPONT G., 1982. Principes des méthodes d'analyse biochimique. Paris : Doin, 1, 190 p.
7. BACHMAN J. S., PROST C., 1981. Fermentation méthanique de déchets lignocellulosiques: influence de la granulométrie du substrat. (2è colloque international de technologie, Lomé 14-20 janvier 1981). Valorisation énergétique des végétaux et des sous produits animaux dans les zones rurales africaines ; 103-107.
8. BALCH E.W., WOLFE R.S., 1979. Methanogens: reevaluation of unique biological group. *Microbiological reviews*, june 1979: 260-296.
9. BALLAY D., STAMBOULI N., 1974. Comment choisir un système d'élimination du lisier. Paris : INRA ITP Ed., 117-124
10. BELAICH J.P., 1981. Aspects fondamentaux de la fermentation de la cellulose. (2è colloque international de technologie, Lomé, 14-20 janvier 1981). Valorisation énergétique des végétaux et des sous produits animaux dans les zones rurales africaines. 41-46.
11. BHATTACHARYA S.C., ABDUL SALAM P., 2002. Low greenhouse gas biomass options in the developing countries. *Biomasse & Bioenergy* 22, 305-317.
12. BILLAUD V., VARAGNAT F., 1983. La fermentation méthanique. Paris : GRET ; Dossier A, 71 p. (Les dossiers du biogaz).
13. BRUNETON J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris : Lavoisier Technique et Documentation, 2, 915 p.
14. BUGNICOURT J., 1981. Manuel de biogaz chinois. Paris : GRET, 125 p.
15. BUGNICOURT M., 1995. Dictionnaire de microbiologie générale. Paris : Ellipses, 991 p.

16. CHEFTEL J., CUQ J. L., LORIENT D., 1985. Protéines alimentaires : biochimie, propriétés fonctionnelles, valeurs nutritionnelles, modifications chimiques. Paris : Lavoisier Technique et Documentation. 309 p.
17. CNRIT, DUEN, 1990. Recherche et développement en énergies nouvelles et renouvelables. Symposium international sur les énergies nouvelles et renouvelables, 5-10 novembre 1990. Antananarivo, 400 p.
18. COMISSION NATIONALE MALGACHE DU BIOGAZ, 1988. Séminaire national sur la technologie du biogaz, 4-8 juillet 1988. Antananarivo : Min Recherche scientifique et technologique pour le développement. Antananarivo : CIDST, 4 p.
19. COSSE-MANIERE C., 1981. Le pétrole vert. Apogée : Ed., 38-52.
20. DEGREMONT, 1989. Mémonto technique de l'eau, 9<sup>o</sup> éd. Paris: DEGREMONT, Tome 1, 559 p.
21. DEMEYER A., FRANÇOIS J., MAURICE J., 1981. La bioconversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies. Paris : Lavoisier Technique et Documentation, 311 p.
22. DEPARTEMENT OF GEOGRAPHY, 2003. Laboratory manual and methods. Exeter: University of Exeter, 95 p.
23. DIRECTION DES SERVICES VETERINAIRES, 2002. Statistiques sur la santé animale, l'hygiène alimentaire et le laboratoire. Rapport d'activités sanitaires, np.
24. DUEE P. H., ETENNE M., 1974. Influence de l'alimentation pendant la croissance de la truie sur la maturité sexuelle et les performances de production. Paris : INRA ITP Ed., 43-47.
25. FAO, 1995. Biogas process for sustainable development. Rome : FAO, 280p.
26. FRANCHET A., 1977. Le gaz de fumier. Paris : ITAVI, 19 p.
27. GARDAIS J. F., HUBERT J., 1982. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Paris : Masson, 503 p.
28. GARRAUD J., 1955. Les engrais. Paris : DUNOD, (2), 252 p.
29. GUILBOT A., 1964. Les méthodes biologiques de contrôle analytique dans les industries des céréales : mise au point de chimie analytique. Paris : Masson, 240 p.
30. GUTHMANN J. F., 1991. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Paris: Lavoisier Technique et Documentation, 2, 520 p.

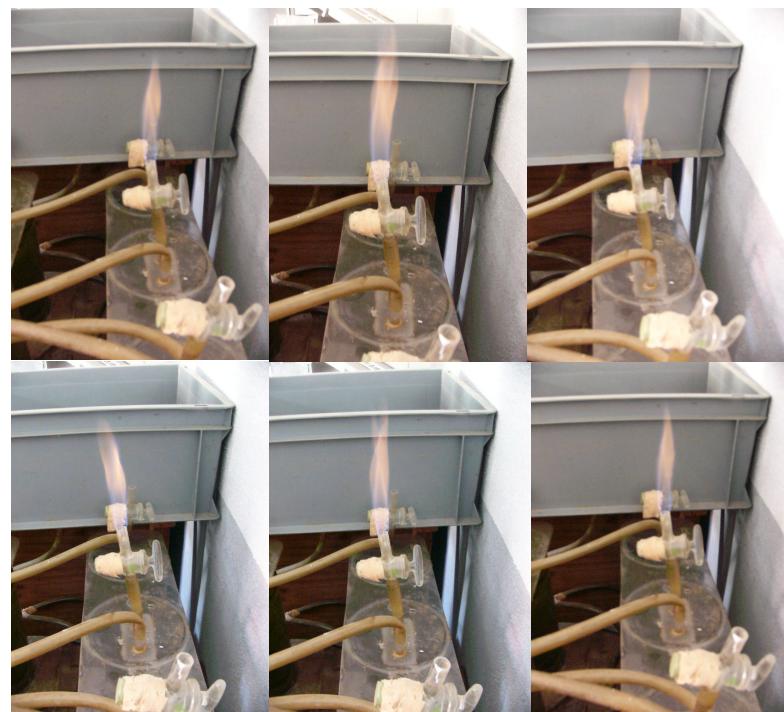
31. HALL I. C., 1928. A review of the development and application of physical and chemical principles in the cultivation of obligately anaerobic bacteria. *Journal of bacteriology*, vol XVII, 4; 255-301.
32. HEDUIT M., 1983. La filière biogaz dans les pays en développement : collection, études et filières. Paris : IEPF, 133 p.
33. HELLER R., 1969. Biologie végétale II, nutrition et métabolisme. Paris : Masson et Cie, 630 p.
34. HUNGATE R. E., 1968. A roll tube method for the cultivation of strict anaerobes. In: NORRIS R., RIBBONS D. W., *Methods in microbiology*, vol 3B. London: Academic Press Inc, 117-132.
35. HUNGATE R. E., 1966. The rumen and its microbes; New york: Academic Press, 533p.
36. INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE, 1988. Tables de l'alimentation des bovins, ovins et caprins. Paris : INRA, 192 p.
37. KAOURITCHEV I., 1983. Manuel pratique de pédologie. Moscou : MIR, 277 p.
38. KASHYAP D. R., DADHICH K. S., SHARMA S. K., 2003. Biomathanisation under psychrophilic conditions: a review, *Bioresource Technology*, 87, 147-153.
39. KRZYSTEK L., 2002. Degradation of household biowaste in reactors. *Journal of Biotechnology*, 92, 103-112.
40. LAGRANGE B., 1979. BIOMETHANE: principes, techniques, utilisations. Aix-en-Provence : EDISUD, 2, 245 p.
41. LALLAI A., MURA G., ONNIS N., 2002. The effects of certain antibiotics on biogas production in anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresource Technology*, 82, 205-208.
42. LARPENT J. P., LARPENT-GOURGAUD M., 1997. Mémento technique de microbiologie. Paris : Lavoisier Technique et Documentation, 3, 1039 p.
43. LASBLEIZ, ROBIN, 1993. Le lisier. Fiche technique. Paris : Val'Epure, 1 p.
44. LEGAGNEUR S. E., BERNARD C. R., 1975. Composition minérale des lisiers de porc, valeur agronomique. Paris : INRA ITP Ed., 323-335.
45. LEGAGNEUR S. E., GAYRAL J. P., 1973. Etude de quelques paramètres de variation de la composition des effluents de porcherie. Paris: INRA ITP Ed., 285-306.

46. LOEHR C., RAYMOND, 1980. La production de méthane à partir des déchets humains, animaux et agricoles. In : BROWN L., les énergies renouvelables : techniques d'utilisation dans le tiers monde rural. Paris : Masson, 121-141.
47. LOUVEL R., 1990. L'énergie de la biomasse dans les pays en voie de développement. In : Symposium international sur les énergies nouvelles et renouvelables (Antananarivo, 5-10 nov 1990). Antananarivo: CITE, 163-181.
48. MARA D. D., 1974. Bacteriology for sanitary Engineers. 145-146.
49. MOUSSA M. A., 2003. Contribution à la justification de la valorisation énergétique et agronomique des ordures ménagères. [Mémoire de DEA Mécanique et Physique de l'environnement]. Antananarivo : Université d'Antananarivo.
50. OMER A. M., FADALLA Y., 2003. Biogas energy technology in Sudan. Renewable energy, 28, 499-507.
51. ONUAA, 1984. Le biogaz (qu'est ce que le biogaz, comment le fabriquer, comment l'utiliser). Paris : FAO, 52 p.
52. PELMONT J., 1980. Bactéries et Environnement, adaptations physiologiques. Grenoble : Presses Universitaires, 230 p.
53. PETITCLERC A., 1985. Contribution à la valorisation des déchets d'abattoirs au Sénégal par fermentation méthanique. [Thèse de génie chimique et génie des procédés]. Paris : Ecoles Centrales des Arts et Manufactures
54. PRATS J., 1995. La fertilisation raisonnée. Paris : Imprimerie Nationale, 84 p.
55. PREVOT A., 1977. Biosynthèse bactérienne du méthane et des pétroles pour l'an 2000. Paris: MALOINE, 103 p.
56. PROLABO GROUPE RHONE-POULENC, 1987. Technique générale de la mesure manométrique de la demande biochimique en oxygène, 5<sup>e</sup> éd. Paris : Prolabo groupe Rhone-Poulenc, 10 p.
57. PUROHIT P., KUMAR A., RANA S., 2002. Using renewable energy technologies for domestic cooking in India: a methodology for potential estimation. Renewable energy, 26, 235-246.
58. RABEZANDRINA R. Le biogaz en Afrique. Séminaire national sur la technologie du biogaz, 4-8 juillet 1988. Antananarivo : Min Recherche Scientifique et Technologique pour le Développement. Antananarivo : CITE 1980, 85-89.
59. RAMIHONE B. R., 1982. Considérations théoriques et essais de production de biogaz à partir de fumier de porc. [Mémoire d'ingénierat en élevage, EESSA]. Antananarivo : Université d'Antananarivo.

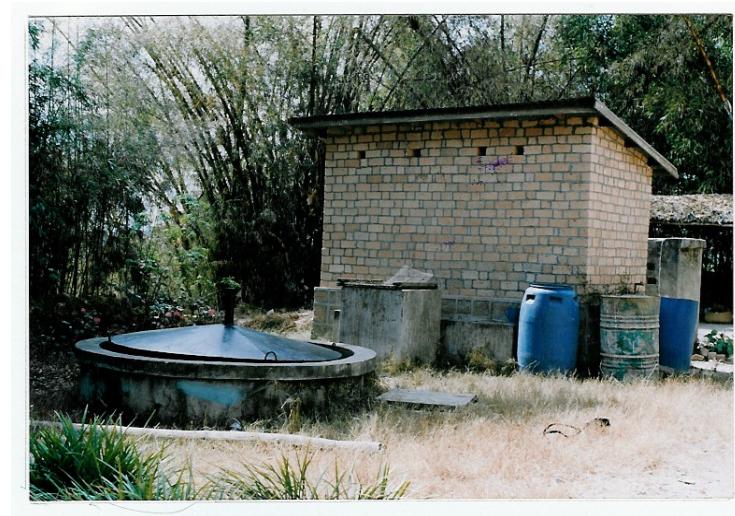
60. RANAIVOSOLOARIMALALA A., ANDRIANTAHIANA T., 1990. Les expériences du Centre National de Recherches Industrielles et Technologiques en matière de biogaz. In : Symposium international sur les énergies nouvelles et renouvelles (Antananarivo, 5-10 nov 1990). Antananarivo : CITE, 182-190.
61. RANDRIAMBOLOLONA S., 2004. Approches méthodologiques et technologiques pour la diffusion et la vulgarisation de la technique du biogaz à Madagascar. [Thèse de génie chimique, ingénierie de projets industriels]. Antananarivo : Université d'Antananarivo.
62. RARIVOSOA A., 2005. Essais de production de biogaz par co-digestion anaérobie du lisier de porc et de la fiente de volaille en culture discontinue. [Mémoire de DEA Biotechnologie-Microbiologie]. Antananarivo : Université d'Antananarivo.
63. RASOLOFOARIMANANA R., 1987. Le biogaz à Madagascar. [Mémoire d'ingénierat en agriculture, EESSA]. Antananarivo : Université d'Antananarivo.
64. RAYMOND C., 1980. La production de méthane à partir des déchets humains, animaux et agricoles. In : BROWN L., les énergies renouvelables : techniques d'utilisation dans le tiers monde rural. Paris : Masson, 159 p.
65. RAZAFIMAHEFA M. R., 1999. Valorisation des lisiers de porc en éléments fertilisants par fermentation méthanique. [Mémoire de DEA Chimie et Environnement]. Antananarivo : Université d'Antananarivo.
66. RAZAFINANDRASANA Y. S., 2007. Essai de production de biogaz en culture discontinue par digestion anaérobie de lisier de porc. [Mémoire de DEA Biotechnologie-Microbiologie]. Université d'Antananarivo.
67. RODIER J., GEOFFROY C., KOVARSKI G., LAPORTE J., PLISSER M., VERNEAUX J., VIAL J., 1978. L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. Chimie, physico-chimie, bactériologie, biologie, 6° Ed., 930p.
68. SERVICE PLANIFICATION ENERGETIQUE, 2001. Bilan énergétique de l'année 2001 et 2002. Antananarivo : MEM direction de l'énergie, np.
69. SINGLETON P., 1999. Bactériologie. Paris : Dunod, 4, 415 p.
70. SOSNOWSKI P., WIECZOREK A., LEDAKOWICZ S., 2002. Anaerobic co-digestion of sewage sluge and organic fraction of municipal solid wastes. Advances in Environmental Research, 3, 609-616.
71. SOW A., 1990. Contribution à la conduite de la méthanisation dans les bioréacteurs à film fixe fonctionnant à fort taux de charge. [Thèse de génie chimique et génie des procédés]. Paris : Ecoles Centrales des Arts et Manufactures.
72. SPEYER P., 1981. Le biogaz à la ferme aux U.S.A. Paris : GRET, 1981, 162 p.

73. STAMBOULI N., BALLAY D., 1974. Répartition de la charge polluante du lisier de porcherie en fonction de ses différents constituants physiques. Paris : INRA ITP Ed., 93-100.
74. TANAKA Y., 2002. A dual purpose packed-bed reactor for biogas scrubbing and methane-dependent water quality improvement applying to a wastewater treatment system consisting of UASB reactor and trickling filter. *Bioresource Technology*, 84, 21-28.
75. TERRY L., MILLER, WOLIN M. J., 1974. A serum bottle modification of the hungate technique of cultivating obligate anaerobes. *Applied Microbiology*, may 1974, 985-987.
76. THELIER Y., 1983. Contribution à l'étude de la méthanisation en réacteurs performants ; applications aux lisiers de porcs. [Thèse de chimie appliquée]. Paris : Ecole Centrale des Arts et Manufactures.
77. THRESSA C., STADTMAN, BARKER H. A., 1950. The origin of methane in the acetate and methanol fermentation by *Methanosarcina*. California: Division of Plant Biochemistry, University of California Berkley, 81-86.
78. TSP, Manuel d'utilisation, intégrateur calculateur SP 4400. Paris: Thermo separation products, 205 p.
79. VALETTE L., RAUSCH E., 1980. Les projets recensés et leurs évaluations technico-économique. In : Possibilité d'implantation de microcentrales utilisant les énergies renouvelables à Madagascar, nov 1980.
80. VARAGNAT F., 1984. Maîtrise de l'énergie et développement. Paris: GRET, 313 p.
81. ZEIKUS J. G., 1977. The biology of methanogenic bacteria. *Bacteriological Reviews*, june 1977, 514-541.

# **ANNEXES**



**Photo n° 4 : Biogaz en train de s'enflammer lors de l'expérimentation**



**Photo n° 5 : Site de biogaz à Akany Avoko Ambohidratrimo, photo prise lors d'une visite d'étude**

Name : RASOANDRAINY

First name : Christine

**Memory of research for obtaining D.E.A « Diplôme d'Etudes Approfondies » of Biochemistry**

Option : Biotechnology-Microbiology

Title : Biogas production trial by anaerobic co-digestion of the pig and cow manures in discontinuous system

---

## *ABSTRACT*

**Pig and cow manures are substrates used to produce biogas.**

**Our work consists of the characterisation of pig and cow manures after and before biomethanation; the methanation of pig and cow manures and of they mixed in co-fermentation with spontaneous conditions; and the optimisation of the co-digestion parameters.**

**Pig and cow manures have high content in digestible organic matter, 75,21% and 85,82% of the dry matter. The organic matter diminishes to 8,94% for the pig manures and 13% for the cow manures in the digested manures, that is showing high production. The mineral substances arise to 9,13% for the pig manures and 12,99% for the cow manures after methanation. The polluting charge manures decreases to 50% for the DCO and 75% for the DBO in the methanation residue, therefore depolluting the environnement.**

**The biomethanation experimented in laboratory digesters with discontinuous system provides an optimal value of the pig and cow manures mixture a co-fermentation of 50%PM/50%CM, the temperature 37°C and the sowing with preceding juice fermentation of 10%. With all these conditions, biogas yield in 35 days fermentation is 677 l per kg of organic matter and the maximal methane productivity is 79,4%.**

**Key words: Biomethanation / Methanogenic bacteria / Manures / Co-digestion / Discontinuous system / Spontaneous fermentation / Optimisation / Biogas / Methane.**

---

**Advisor : Professor RAHERIMANDIMDY Marson**

**Nom : RASOANDRAINY**

**Prénom : Christine**

**Mémoire de recherche pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) de Biochimie**

**Option : Biotechnologie - Microbiologie**

**Titre : Essais de production de biogaz par co-digestion anaérobiose de lisier de porc et de bouse de vache en culture discontinue**

## ***RESUME***

**Le lisier de porc et la bouse de vache constituent des substrats pour la production de biogaz.**

**Ce travail a porté sur la caractérisation du lisier de porc et de la bouse de vache avant et après la biométhanisation; sur la méthanisation du lisier de porc, de la bouse de vache et du mélange de ces substrats dans la condition spontanée ainsi que sur l'optimisation des paramètres de co-digestion.**

**Le lisier de porc et la bouse de vache contiennent des teneurs élevées en matières organiques digestibles, de 75,21% et 85,82% de la matière sèche. Les matières organiques diminuent de 8,94% pour le lisier de porc et de 13% pour la bouse de vache dans le lisier digéré, cela est traduit par la production de biogaz. Les substances minérales sont augmentées de 9,13% pour le lisier de porc et de 12,99% pour la bouse de vache dans le lisier méthanisé. Les charges polluantes apportées par le lisier baissent de 50% pour la DCO et de 75% pour la DBO dans le résidu de digestion, dépolluant ainsi l'environnement.**

**La fermentation méthanique de ces déjections animales, optimisée dans les digesteurs de laboratoire, en système discontinue, a donné une composition d'un mélange lisier de porc-bouse de vache de 50%LP/50%BV, une température de 37°C et un ensemencement en pieds de cuve de 10%. Dans ces conditions, le rendement en biogaz, après 35 jours de fermentation, est de 677 l biogaz/kg M.O avec une productivité maximale en CH<sub>4</sub> de 79,4%.**

**Mots clés : Fermentation méthanique / Bactéries méthanogènes / Lisier / Co-digestion / Culture discontinue / Fermentation spontanée / Optimisation / Biogaz / Méthane.**

**Encadreur** : Professeur RAHERIMANDIMBY Marson