

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC  
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
INRS-EAU

Thèse  
présentée  
comme exigence partielle  
pour l'obtention  
du grade de Philosophiae Doctor (Ph. D.)

par  
ERIC van BOCHOVE

**L'ÉTUDE DU CYCLE DE L'AZOTE  
DANS LE PROCESSUS DE COMPOSTAGE :  
LE CAS DU FUMIER DE BOVIN**

MAI 1993



***À mes enfants Fanny et Rémi  
en espérant que cette recherche  
pourra contribuer à leur avenir...***

## RÉSUMÉ

L'agriculture québécoise évolue depuis plusieurs décennies vers une spécialisation des élevages, une augmentation de la grosseur des troupeaux, et des élevages sans sol. Cette tendance à la rationalisation de la production animale, au profit des grands établissements, s'accompagne d'un problème important de gestion des volumes de fumier produits, surtout dans l'industrie laitière. C'est, principalement, du mode de gestion des fumiers de bovin que dépendent les pertes d'éléments nutritifs vers l'atmosphère et l'eau, ou la reprise de ces éléments par les plantes et les micro-organismes du sol. Or, la tendance actuelle de gérer les fumiers de bovin de façon semi-liquide ou liquide contribue à augmenter les dommages causés à l'environnement par la pollution agricole diffuse et par la pollution atmosphérique. L'azote est le principal élément nutritif mis en cause. Le compostage des fumiers de bovin, en plus de s'inscrire dans un modèle d'agriculture plus écologique que l'agriculture conventionnelle, est une technologie alternative très intéressante au mode actuel de gestion des fumiers. Cependant, le cycle de l'azote et principalement la réorganisation des formes organiques par le processus de compostage sont très mal connus. Cette thèse s'inscrit dans cette problématique et l'objectif général est de connaître la dynamique de réorganisation de l'azote en des formes organiques plus complexes et stables au cours des différentes phases du processus de compostage.

Les expériences de compostage ont été réalisées dans des composteurs de laboratoire de type adiabatique munis de dispositifs d'aération forcée et de récupération des gaz produits. L'échantillonnage dans quatre composteurs, au cours de plusieurs expériences, a montré le bon fonctionnement des dispositifs expérimentaux. L'approche écologique utilisée pour analyser le processus de compostage est nouvelle. Elle consiste à caractériser de façon multivariée, par la superposition d'une analyse en composantes principales et d'un groupement à liens simples, les phases microbiennes du processus de compostage à l'aide d'une matrice de variables physico-chimiques et biologiques mesurées à intervalles réguliers sur les échantillons de compost. Cette approche permet ensuite d'interpréter la dynamique de réorganisation de l'azote en relation avec l'évolution du processus de compostage dans son ensemble. L'azote du fumier de bovin, qui est à plus de 90% sous forme organique (surtout protéique), est rapidement minéralisé au début du processus de compostage au laboratoire. Par la suite, lorsqu'il y a augmentation des populations microbiennes au cours des phases mésophiles et thermophiles, l'azote est immobilisé sous forme de protéines dans les membranes cellulaires. Plus tard, et au fur et à mesure de l'évolution du processus vers les phases de refroidissement et de maturation, il y a augmentation des formes d'azote organique plus difficilement hydrolysables : l'azote hexosamine, caractéristique du matériel pariétal des champignons, et l'azote hydrolysable inconnu.

L'azote inconnu constitue environ 40% de l'azote organique du compost de fumier obtenu au laboratoire. Les méthodes d'hydrolyse acide utilisées habituellement pour le fractionnement de l'azote organique des sols n'ont pas permis de

diminuer de façon significative la proportion de l'azote inconnu du fumier de bovin, au profit de formes d'azote organique identifiables (protéines, hexosamines, et amines). Malgré le fait que certains auteurs semblent affirmer dans la littérature que les hydrolyses successives puissent y parvenir, il est démontré dans cette thèse qu'une hydrolyse continue de courte durée est préférable pour fractionner l'azote organique d'un fumier.

L'hypothèse qu'une partie de l'azote inconnu soit constitué de formes d'azote de structures moléculaires plus complexes, probablement associées à la structure des substances humiques, est vérifiée par l'analyse des échantillons de compost à l'aide d'une nouvelle technique : spectrométrie de masse à champ ionisé (Py-FIMS). Cette technique analytique de pointe a permis l'identification d'un certain nombre de composés azotés hétérocycliques, dont la forme indole. En plus de livrer des données très complètes sur la dynamique des composants carbonés durant le processus de compostage, les analyses de spectrométrie de masse ont révélé pour la première fois dans un compost, et en grandes concentrations, plusieurs formes de stéroïdes.

## REMERCIEMENTS

Je désire exprimer ma gratitude envers mon directeur de thèse, le Professeur Denis Couillard, pour son soutien et les moyens mis à ma disposition afin de compléter mes études de doctorat.

Je tiens à remercier tout particulièrement le Dr Morris Schnitzer, chercheur scientifique émérite au Centre de recherche sur les terres et les ressources biologiques d'Agriculture Canada à Ottawa, qui grâce à sa merveilleuse expérience de quarante années de recherches au plus haut niveau et à son désir d'aider les jeunes chercheurs, a pu me prodiguer en toute simplicité de judicieux conseils et me donner confiance dans la qualité de ma recherche.

Je remercie également le Professeur Michel Penninckx, Directeur de l'Unité de physiologie et d'écologie microbienne de l'Université Libre de Bruxelles, pour l'accueil qu'il m'a réservé à chacune de mes visites dans son laboratoire et pour ses commentaires critiques. Merci aussi au Dr Bernard Godden, chercheur dans le même laboratoire, pour son amitié et pour m'avoir fait partager son expérience de la recherche sur le compostage.

Je remercie Messieurs Norman Bertrand et Gilles Pelletier de l'Université Laval pour leur aide précieuse et sympathique au laboratoire, lors de leur stage d'été à l'INRS-EAU, ainsi que Madame Claire Tincelin du MCBBA (Metz) pour sa contribution à la mise au point de méthodes lors de son stage de maîtrise réalisé sous ma direction.

J'exprime ma reconnaissance à Messieurs Denis Potvin du Centre de Recherche Industrielle du Québec, Denis Côté du Ministère de l'Agriculture des

Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, et Denis Angers chercheur à la station d'Agriculture Canada à Sainte-Foy pour leurs conseils et recommandations au début de ce travail, ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire de l'INRS-EAU, François, Michelle, Sylvie, Pauline, Bernard, Paul, Bertrand, et Stéphane pour leur aide à l'occasion.

J'adresse un merci spécial à tous mes confrères étudiants et amis pour leur soutien moral au cours de ces années de labeur.

Et finalement, ma plus grande reconnaissance va à mon épouse, Denise, et à mes parents qui, en toute sincérité, ont mis tellement d'espoir et d'encouragement dans ma vie d'étudiant que cela m'a permis de mener à terme cette entreprise.

Cette étude fut réalisée grâce au support financier du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (subvention CRSNG OGP0003711).

## TABLE DES MATIÈRES

<b>RÉSUMÉ</b> .....	i
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	iii
<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	v
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	xi
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	xiii
<b>GLOSSAIRE</b> .....	xxi
<b>CHAPITRE 1 : CADRE DE L'ÉTUDE - SYNOPSIS</b> .....	1
1.1 Les fumiers de bovin et l'environnement .....	3
Le cas du Québec .....	3
1.2 La gestion des fumiers par le procédé de compostage .....	6
1.3 Le cadre expérimental .....	6
1.4 Les objectifs généraux .....	7
1.5 Les principaux résultats .....	8
<b>CHAPITRE 2 : LE PROCESSUS DE COMPOSTAGE ET LE CYCLE DE L'AZOTE</b> .....	11
2.1 Introduction .....	11
2.1.1 Définition du processus de compostage .....	13
2.1.2 Le processus de compostage .....	14
Les phases caractéristiques .....	15
2.2 L'azote dans le processus de compostage .....	16
2.2.1 La production d'ammoniac .....	18
2.2.2 Équilibre ammonium-ammoniac .....	21
2.2.3 Concentrations relatives en ammonium et en ammoniac .....	22
2.2.3.1 Adsorption et fixation de l'ammonium et de l'ammoniac .....	22
2.2.3.2 Diffusion et volatilisation de l'ammoniac dans le compost .....	23
Diffusion de l'ammoniac .....	23
Volatilisation de l'ammoniac .....	23



2.2.4 La nitrification et la réduction des nitrates .....	24
2.2.5 La dénitrification .....	25
<b>CHAPITRE 3 : MATÉRIEL ET MÉTHODES EXPÉRIMENTALES .....</b>	<b>29</b>
3.1 Méthodes expérimentales .....	29
3.1.1 Expériences de compostage à l'échelle du laboratoire .....	29
3.1.1.1 Description des composteurs de laboratoire .....	29
3.1.1.2 Contrôle du processus de compostage .....	33
3.1.1.3 Caractéristiques du fumier utilisé .....	33
3.1.1.4 Échantillonnage et conditionnement du compost .....	35
3.1.1.5 Échantillonnage des gaz .....	37
3.1.1.6 Reproductibilité des expériences et analyses statistiques .....	37
Analyse multidimensionnelle .....	41
Plan à mesures répétées .....	43
3.1.2 Étude comparative de deux méthodes d'hydrolyse acide .....	45
3.2 Méthodes analytiques .....	50
3.2.1 Analyse des gaz à la sortie des composteurs .....	50
3.2.1.1 Ammoniac .....	50
3.2.1.2 CO <sub>2</sub> .....	51
3.2.2 Analyses physiques et chimiques des échantillons de fumier	51
3.2.2.1 Pourcentage d'eau et de matière sèche .....	51
3.2.2.2 Pertes en eau et en solides secs .....	52
3.2.2.3 Pourcentage en cendres et en solides volatiles .....	52
3.2.2.4 Taux de dégradation .....	52
3.2.2.5 Mesure de pH .....	52
3.2.2.6 Carbone total .....	53
3.2.2.7 Rapport C/N .....	53
3.2.2.8 Les formes d'azote .....	53
Azote total .....	55
Ammonium échangeable .....	55
Nitrate et nitrite .....	55
3.2.2.9 Fractionnement de l'azote organique .....	55
Azote total hydrolysable .....	57
Azote acides aminés .....	57

Azote ammonium, amides et hexosamines .....	57
Azote ammonium et amides .....	59
Azote hexosamines .....	59
Azote inconnu hydrolysable .....	59
Azote non-hydrolysable .....	59
3.2.2.10 Analyses spectroscopiques - PyFIMS .....	60

#### **CHAPITRE 4 : LA DYNAMIQUE DE RÉORGANISATION DE L'AZOTE DURANT LE COMPOSTAGE DE FUMIER DE BOVIN ... 63**

4.1 Introduction .....	63
4.2 Résultats et discussion .....	67
4.2.1 Évolution du processus de compostage .....	67
4.2.1.1 Dégagement de dioxyde de carbone .....	67
4.2.1.2 Dégagement d'ammoniac .....	70
4.2.1.3 Carbone total .....	72
4.2.1.4 L'azote .....	74
4.2.1.5 Rapport carbone - azote .....	78
4.2.1.6 Décomposition de la matière organique .....	79
Pertes en solides secs .....	81
Pourcentage en cendres et taux de dégradation .....	82
4.2.2 Dynamique de réorganisation de l'azote .....	85
4.2.2.1 Représentativité des résultats .....	85
4.2.2.2 Dynamique des formes d'azote .....	89
4.2.2.3 Caractérisation multivariée des phases du processus de compostage .....	93
4.2.2.4 Dynamique de l'azote en fonction des phases du processus de compostage .....	98
4.3 Conclusions .....	99

#### **CHAPITRE 5 : ANALYSES DE SPECTROSCOPIE À CHAMP IONISÉ (Py-FIMS) - L'AZOTE INCONNU ET LES STÉROLS .... 101**

5.1 Introduction .....	101
L'azote et les composés humiques .....	102
Les méthodes d'identification de l'azote inconnu .....	104
La méthode Py-FIMS .....	105

Les stérols .....	108
5.2 Objectifs de l'étude .....	108
5.3 Résultats .....	109
5.4 Discussion .....	116
5.4.1 L'azote inconnu .....	120
5.4.2 Les stérols .....	121
5.5 Conclusions .....	123
<b>CHAPITRE 6 : LE FRACTIONNEMENT DE L'AZOTE ORGANIQUE</b>	
<b>DES FUMIERS</b> .....	125
6.1 Introduction .....	125
6.1.1 L'évolution des méthodes d'hydrolyse .....	126
6.2 Objectifs de l'étude .....	138
6.3 Résultats et discussion .....	139
6.3.1 Méthode par hydrolyse continue .....	139
6.3.2 Méthode par hydrolyses successives .....	143
6.3.3 Comparaison des deux méthodes d'hydrolyse .....	143
Statistiques .....	143
Hydrolyse des formes d'azote .....	145
6.4 Conclusions .....	146
<b>CONCLUSIONS GÉNÉRALES</b> .....	149
1. La situation actuelle .....	149
2. L'approche analytique dans l'étude du processus de compostage .....	150
3. Le cycle de l'azote dans le processus de compostage .....	152
4. Autres résultats importants .....	153
5. L'avenir de la recherche .....	153
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	157
<b>ANNEXE A : EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES</b> .....	173
A.1 Introduction .....	173
A.2 Méthodes expérimentales .....	174
A.2.1 Tas de compost .....	174
A.2.2 Contrôle du processus de compostage .....	175
A.2.3 Caractéristiques du fumier utilisé .....	177

A.2.4 Échantillonnage et conditionnement du compost .....	178
A.2.5 Analyses physiques et chimiques des échantillons .....	180
A.3 Résultats .....	180
<b>ANNEXE B : DONNÉES DE TEMPÉRATURE .....</b>	<b>185</b>
B.1 Évolution du processus de compostage .....	185
Température .....	185
<b>ANNEXE C : GROUPEMENT À LIENS SIMPLES .....</b>	<b>189</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1 :	Caractéristiques physico-chimiques du fumier utilisé pour les expériences au laboratoire .....	34
Tableau 3.2 :	Liste des descripteurs utilisés pour l'ordination en espace réduit et le groupement .....	42
Tableau 3.3 :	Regroupement des jours d'échantillonnage consécutifs en trois phases distinctes. ....	44
Tableau 3.4 :	Caractéristiques physico-chimiques du fumier utilisé pour la comparaison des méthodes d'hydrolyse acide .....	46
Tableau 3.5 :	Plan de l'analyse de profil réalisée pour comparer les méthodes d'hydrolyse continue et successives. ....	47
Tableau 4.1 :	Rapport C/N* dans les 4 composteurs aux jours initial (85) et final (100) .....	78
Tableau 4.2 :	Résultats de l'analyse de profil* pour l'évolution des différentes formes d'azote dans les composteurs C2 et C4 au cours du compostage .....	85
Tableau 4.3 :	Corrélations de Pearson entre les 19 descripteurs physico-chimiques et les trois premières composantes principales .....	95
Tableau 5.1 :	Composants organiques majeurs et mineurs identifiés dans les échantillons de compost C4-85, C4-88, C4-94, C4-100 par la technique Py-FIMS .....	109
Tableau 5.2 :	Ions moléculaires de type stérols identifiés dans les échantillons de compost C4-85, C4-88, C4-94, C4-100 par la technique Py-FIMS .....	114

Tableau 6.1 :	Comparaison des méthodes d'hydrolyse de Bremner et de Yonebayashi et Hattori. Distribution des formes d'azote organique dans un groupe de sols tropicaux* .....	132
Tableau 6.2 :	Distribution des formes d'azote organique dans quatre types de fumiers* .....	135
Tableau 6.3 :	Statistiques de l'analyse de profil réalisée pour comparer les méthodes d'hydrolyses continue et successives. ....	144
Tableau A.1 :	Caractéristiques physico-chimiques du fumier utilisé pour les expériences à la ferme .....	177
Tableau A.2 :	Résultats complets de l'expérience préliminaire de compostage à la ferme .....	183

## LISTE DES FIGURES

Fig. 2.1.	Courbe idéalisée de l'évolution des températures et phases caractéristiques du processus de compostage, *échelle unitaire de temps à titre d'illustration. ....	14
Fig. 2.2.	Principales réactions biologiques et chimiques intervenant dans le cycle de l'ammoniac, au cours du compostage de fumier de bovin. Les doubles lignes représentent les pertes d'azote (figure adaptée et modifiée de Freney <i>et al.</i> , 1983). ....	19
Fig. 2.3.	Les principaux phénomènes de la dénitrification autour d'un microsite anaérobie dans le compost - (1) la dégradation de la matière organique dans le compost- (2) la minéralisation- (3) la nitrification- (4) le flux de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> vers la zone anaérobie- (5) la dénitrification, (figure adaptée et modifiée de Rice <i>et al.</i> , 1988). ....	26
Fig. 3.1.	Montage des composteurs au laboratoire (photo). ....	30
Fig. 3.2.	Schéma des composteurs au laboratoire. ....	32
Fig. 3.3.	Compostage au laboratoire : séquence de dosages sur les échantillons prélevés dans le temps. ....	36
Fig. 3.4.	Compostage au laboratoire, schéma général de l'expérience A. ....	39
Fig. 3.5.	Compostage au laboratoire, schéma général de l'expérience B. ....	40
Fig. 3.6.	Méthode d'hydrolyse acide continue, étapes de durées comparables à celles de l'hydrolyse acide successive : 1, 2, 4, 8, 15, et 24 heures. ....	48
Fig. 3.7.	Méthode d'hydrolyses acides successives, étapes successives de 1, 2, 4, 8, 15, et 24 heures. ....	49

Fig. 3.8.	Corrélation entre le dosage de l'ammonium par l'électrode sélective et par le titrage à l'acide sulfurique. ....	54
Fig. 3.9.	Méthode d'hydrolyse continue en deux étapes de 4 heures, avec une hydrolyse douce séparée pour doser la forme N- (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , amide). ....	56
Fig. 3.10.	Hydrolyse acide continue, et dilutions successives (*1 = comparaison des méthodes d'hydrolyse et *2 = compostage au laboratoire). ....	58
Fig. 4.1.	Quantités cumulatives de C-CO <sub>2</sub> dégagées par composteur. ....	67
Fig. 4.2.	Quantités de C-CO <sub>2</sub> dégagées par composteur par période de 24 heures. ....	68
Fig. 4.3.	Quantités cumulatives de N-NH <sub>3</sub> dégagées par composteur. ....	70
Fig. 4.4.	Quantités de N-NH <sub>3</sub> dégagées par composteur par période de 24 heures. Les quatre profils sont égaux (test d'égalité des profils non-significatif). ....	71
Fig. 4.5.	Pourcentage de carbone total du fumier au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (c.v.= 0,7%), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres (voir 4.2.1.6). ....	73
Fig. 4.6.	Régressions linéaires entre le pourcentage de diminution en carbone total du compost et les quantités cumulatives de C-CO <sub>2</sub> dégagées, au cours des 13 jours d'échantillonnage, dans les composteurs (C2 et C4). ....	73



- Fig. 4.7. Formes d'azote (N) total Kjeldahl, d'azote total hydrolysable et d'azote non-hydrolysable (N total des résidus) au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (en  $\mu\text{g} / \text{g}$  de matière sèche), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres (voir 4.2.1.6). ..... 74
- Fig. 4.8. Formes d'azote minéral au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (en  $\mu\text{g} / \text{g}$  de matière sèche), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres. .... 76
- Fig. 4.9. Formes d'azote organique au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (en % de N total hydrolysable), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres. HUN = azote hydrolysable inconnu. .... 78
- Fig. 4.10. Illustration du principe de la perte de matière sèche (M.S.) au cours du compostage sous forme de  $\text{CO}_2$  et  $\text{CH}_4$ . Le schéma de gauche représente l'approche erronée. P.F.= poids frais. .... 80
- Fig. 4.11. Pertes en solides secs des échantillons, dans les composteurs C2 et C4, au cours du compostage. .... 81
- Fig. 4.12. Pourcentage en cendres des échantillons, dans les composteurs C2 et C4, au cours du compostage. .... 82
- Fig. 4.13. Comparaison des facteurs de correction établis à partir de la mesure de la perte en solides secs par la méthode de pesée et du calcul du taux de dégradation à partir du pourcentage en cendres, dans les composteurs C2 et C4. .... 83

Fig. 4.14.	Évolution de l'azote acide aminé dans les composteurs C2 et C4 durant l'expérience de compostage. ....	86
Fig. 4.15.	Évolution de l'azote total hydrolysable dans les composteurs C2 et C4 durant l'expérience de compostage. ....	87
Fig. 4.16.	Évolution de l'azote hydrolysable inconnu (HUN) dans les composteurs C2 et C4 durant l'expérience de compostage. ....	88
Fig. 4.17.	Dynamique des formes d'azote minéral (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ,NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )) dans le composteur C4. ....	89
Fig. 4.18.	Dynamique des formes d'azote total Kjeldahl, d'azote total hydrolysable, d'azote non-hydrolysable (N total des résidus), et des différentes formes d'azote hydrolysable - acide aminé, hexosamine, ammonium et amide, et inconnu (HUN) dans le composteur C4. ....	90
Fig. 4.19.	Dynamique de l'azote minéral et de l'azote acide aminé dans le composteur C4. ....	91
Fig. 4.20.	Dynamique de l'azote hexosamine dans le composteur C4. ....	92
Fig. 4.21.	Analyse en composantes principales des 26 échantillons des composteurs C2 et C4, projection vectorielle des 19 descripteurs (voir Tableau 3.2) dans l'espace des trois premières composantes principales. ....	94
Fig. 4.22.	Superposition de l'analyse en composantes principales et du groupement à liens simples, projection des jours d'échantillonnage dans l'espace des deux premières composantes principales (37,3% et 18,8% de la variance totale). M.O. = matière organique. ....	96

Fig. 4.23.	Superposition de l'analyse en composantes principales et du groupement à liens simples, projection des jours d'échantillonnage dans l'espace des premières et troisième composantes principales (37,3% et 15% de la variance totale). N (a.a.) = azote acide aminé. ....	97
Fig. 4.24.	Distribution des formes d'azote organique (% N total hydrolysable) en fonction des phases caractéristiques du processus de compostage, composteur C4. ....	98
Fig. 5.1.	Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-85. ....	110
Fig. 5.2.	Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-88. ....	110
Fig. 5.3.	Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-94. ....	111
Fig. 5.4.	Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-100. ....	111
Fig. 6.1.	Organigramme des méthodes d'hydrolyse. Figure adaptée de Janel <i>et al.</i> (1979). ....	130
Fig. 6.2.	Schéma de l'identification des formes fractionnées d'azote organique. Figure adaptée de Yonebayashi et Hattori (1980). ....	132
Fig. 6.3.	Diagramme de la méthode par hydrolyses successives, adapté de Gonzales-Prieto et Carballas (1984a). ....	134
Fig. 6.4.	Diagramme de la méthode modifiée par hydrolyses successives, adapté de Gonzales-Prieto et Carballas (1988). ....	137

Fig. 6.5.	Formes d'azote organique hydrolysées par la méthode d'hydrolyse continue, moyennes de triplicatas par heure et erreur-types représentées par des bâtonnets. ....	140
Fig. 6.6.	Formes d'azote organique hydrolysées par la méthode d'hydrolyses successives, moyennes de triplicatas par heure et erreur-types représentées par des bâtonnets. ....	141
Fig. 6.7a,b.	Formes d'azote organique sur base d'azote total hydrolysable : a = hydrolyse continue, b = hydrolyses successives; HUN, N-(NH <sub>4</sub> , amide), N-hexosamine, N-acide aminé. ....	142
Fig. A.1.	Plate-forme de compostage, tas de compost et instruments (photo). ....	174
Fig. A.2.	Schéma de la plate-forme de compostage, coupe transversale. ....	175
Fig. A.3.	Schéma de la ventilation par aération forcée dans le tas de compost. ....	176
Fig. A.4.	Position des thermistors et des sondes à oxygène dans le tas de compost- T1 et T5= 0,50 m - T2 et T4 = 1,00 m - T3 = 1,40 m. ....	177
Fig. A.5.	Expérience de compostage à la ferme, séquences de dosage sur les échantillons de fumier. ....	179
Fig. A.6.	Températures journalières moyennes internes (T1 à T5) et extérieure (T ext.) du tas de compost à la ferme, du 14 juillet (J= 195) au 5 octobre 1989 (J= 278). ....	181
Fig. A.7.	Évolution de l'azote total Kjeldahl (NTK), en pourcentage de matière sèche, du tas de compost à la ferme, du 14 juillet (J= 195) au 5 octobre 1989 (J= 278). ....	182

Fig. B.1.	Températures journalières moyennes dans les composteurs C1 à C4 durant l'expérience de compostage "A" au laboratoire. ....	186
Fig. B.2.	Températures journalières moyennes dans les composteurs C1 à C4 durant l'expérience de compostage "B" au laboratoire. ....	187
Fig. C.1.	Dendrogramme du groupement à liens simples effectué à partir de la matrice des distances euclidiennes des 19 descripteurs physico-chimiques et des 26 temps d'échantillonnage dans les composteurs C2 et C4, durant l'expérience "B" au laboratoire. Cinq groupes sont formés pour un niveau de distance arbitraire .....	190

## GLOSSAIRE

Aération :	Action de mettre en contact l'air et la matière organique solide en compostage par retournement physique du tas de compost ou en forçant de l'air par ventilation dans le but d'assurer le métabolisme aérobie des micro-organismes (bio-oxydation).
Bio-oxydation :	Métabolisme aérobie microbien qui entraîne l'oxydation des composés organiques et inorganiques, dans le but d'apporter l'énergie et les précurseurs pour la synthèse biologique du matériel cellulaire.
Compost :	(1) Produit stabilisé et hygiénique du compostage, utile à la croissance des plantes, qui est en cours d'humification après avoir subi une phase de décomposition initiale.  (2) (Échantillon de ...) Échantillon prélevé en cours d'expérience de compostage dans un composteur de laboratoire ou dans un tas de compost.
Fumier :	Mélange de déjections animales solides et liquides avec une litière, soumis à l'action des micro-organismes qui amorcent sa décomposition.
Lisier :	Mélange de déjections animales solides et liquides, produites par des animaux maintenus sur des aires non paillées ou sur des caillebotis.
Phytotoxine :	Toxine (origine biologique) qui peut occasionner des altérations durables ou passagères aux végétaux.
Procédé :	Méthode technique employée pour parvenir à un certain résultat.
Processus :	Ensemble des phénomènes conçus comme une chaîne causale progressive.

# CHAPITRE 1

## CADRE DE L'ÉTUDE : SYNOPSIS

L'agriculture conventionnelle est en crise. Au cours de l'évolution de la recherche et des pratiques agricoles conventionnelles, qui remonte à l'ère de l'industrialisation des engrais chimiques (Liebig, 1842), il y a eu une accumulation d'erreurs qui n'ont pas été résolues et qui se traduisent, aujourd'hui, par les phénomènes de pollution des eaux par les engrais et les biocides (herbicides, insecticides et fongicides), d'érosion et de compactage des sols, d'appauvrissement de la diversité génétique, d'épuisement des ressources naturelles non renouvelables, et de pollution atmosphérique. Ces phénomènes, dont les effets se font sentir sur l'écosystème agricole depuis le début des années cinquante, sont interprétés par Reveret et al. (1980), selon un schéma d'analyse kuhmien (Kuhn, 1972), comme une accumulation effarante d'anomalies dont les

conséquences sont des limites pour le maintien de l'agriculture conventionnelle. Selon ces auteurs, la situation du début des années quatre-vingt était favorable à une révolution scientifique qui conduirait l'agriculture d'un modèle de production linéaire et industrielle, où la plante est nourrie par des engrais chimiques solubles directement assimilables et le sol est considéré comme un support, à un modèle de production circulaire faisant partie intégrante de l'écosystème.

L'agriculture écologique, au sens de Reveret et al. (1980), répond à la conception d'une structure de production circulaire : "Elle est axée sur le développement optimal de l'activité biologique des sols car l'alimentation de la plante se fait par l'intermédiaire d'éléments peu solubles qui ont subi une série de transformations successives par les micro-organismes et autres êtres vivants du sol pour être rendus assimilables... la polyculture-élevage est favorisée... l'agriculture écologique ne produit pas de déchets qui soient considérés comme tels, d'où la notion de recyclage est fondamentale."

Le compostage est l'instrument par excellence de ce modèle d'agriculture, puisqu'il s'agit d'un procédé naturel de biodégradation des résidus végétaux et animaux qui vise à réintégrer de la matière organique dans le sol, tout en y assurant une partie de la fertilisation.

Cette thèse s'inscrit donc dans le courant de la "révolution scientifique" qui est probablement en marche, en permettant l'avancement des connaissances sur le cycle de l'azote dans le compostage des fumiers. L'azote est sans aucun doute l'élément nutritif le plus critique, tant au point de vue de la pollution environnementale que du point de vue de l'utilisation agronomique des fumiers.



### 1.1 Les fumiers de bovin et l'environnement

C'est essentiellement du mode de gestion des fumiers de bovin, de l'étable jusqu'à leur disposition sur les sols, que dépendent quantitativement et qualitativement les pertes d'azote vers l'atmosphère et l'eau, ou la reprise de l'azote par les plantes et les micro-organismes du sol. Kirchmann (1985) a fait une excellente revue de littérature sur le sujet, par laquelle il démontre les relations entre les différents modes de gestion des fumiers, soit l'entreposage (semi-liquide et solide) ou la transformation (aérobie et anaérobie), et le devenir de l'azote. Il faut retenir que des 80 kg d'azote excrétés en moyenne par un bovin en une année, 40 kg se retrouvent dans le fumier solide et le reste est présent sous forme d'urine. De ces 40 kg d'azote sous forme de fumier, entre 0,8 et 1,6 kg sont perdus à l'étable, entre 3,1 et 15,7 kg sont perdus pendant l'entreposage, entre 1,8 et 9,4 kg sont perdus sur les sols durant la saison de croissance, entre 0,5 et 10,8 kg sont utilisés par les plantes, et entre 10,1 et 32,1 kg restent dans le sol au bout d'une saison.

#### Le cas du Québec

L'élevage de bovins laitiers est implanté depuis longtemps dans le paysage rural québécois. De mémoire d'homme, les animaux païssaient au pré l'été et rentraient à l'étable l'hiver. Le fumier produit durant l'hiver était alors sorti de l'étable manuellement et entreposé, pour la plupart des fermes, dans un petit bâtiment appelé "shed à fumier". Ce bâtiment protégeait le tas de fumier du froid et des précipitations, il n'y avait alors aucune dilution du fumier et une certaine décomposition pouvait avoir lieu. Par rapport à aujourd'hui, l'emploi d'une plus grande quantité de paille absorbait une bonne partie des purins à l'étable et

assurait une structure plus aérée du tas, ce qui devait favoriser l'action des micro-organismes aérobies. L'agriculteur transportait son fumier au champ l'hiver en l'absence de gel et principalement au printemps. L'épandage se faisait à l'aide de petits épandeurs à chevaux et le fumier était la seule source d'engrais apporté au sol avant les semis. Les déjections animales produites l'été au pré subissaient aussi une décomposition microbienne et par l'entremise des décomposeurs secondaires faisaient partie de l'écosystème "saltus" (Duvigneaud, 1980) et du cycle de renouvellement des éléments nutritifs et de la matière organique.

L'activité de la ferme ancienne était partagée entre des cultures diversifiées, dont une partie importante était consacrée à l'alimentation animale, et des élevages mixtes. Chaque espèce animale était représentée par un petit nombre de bêtes et, par conséquent, le volume des déjections était assez faible par rapport aux terres disponibles pour l'épandage.

Les bilans écologique et énergétique de cette agriculture d'élevage ancienne n'étaient certes pas entièrement positifs. Duvigneaud (1980) a discuté de la piètre conversion de la matière végétale par un bœuf au pré. Selon lui, il faut 1 ha de prairie pour nourrir 1,2 bœuf par an, sur une période de 200 jours au pâturage. Ce bœuf ne consommera que 29% de la matière végétale produite et n'en transformera que 4% pour sa productivité nette. Le reste est perdu sous forme d'excréments et par respiration intense. Les mêmes prés utilisés pour des cultures vivrières auraient une productivité nette très supérieure.

Depuis près de quarante ans l'agriculture québécoise évolue vers une spécialisation des élevages, une augmentation de la grosseur des troupeaux, et des élevages sans sol (Reveret et al., 1980) . Il s'agit d'une tendance à la

rationalisation de la production agricole qui s'est faite au profit des grands établissements. Selon le GREPA (1992), le Québec comptait 65 000 fermes en 1966, en 1985 il y en avait 17 916, et en 1991 il n'en restait que 14 043. Entre 1984 et 1988, plus de la moitié des fermes produisant moins de 1000 hectolitres et 16,5 pour cent des fermes produisant entre 1000 et 2000 hectolitres ont disparu, alors que le nombre de fermes produisant de 2000 à 3000 hectolitres a augmenté de 13 pour cent et celui des fermes produisant plus de 3000 hectolitres a augmenté de 30 pour cent. Et cette tendance paraît irréversible à mesure que le marché agricole sera placé en situation de plus grande concurrence internationale.

L'accélération de la concentration animale provoquée par la recherche de coûts de production moins élevés, a entraîné de nouveaux problèmes de gestion des déchets des élevages de bovins laitiers. Traditionnellement orientés vers la gestion du fumier solide, les producteurs optent de plus en plus pour le mode de gestion liquide (Sasseville *et al.*, 1991). Ce mode de gestion amène, dans une moindre mesure, des problèmes analogues à la gestion des rejets d'élevages de porcs (Cluis et Couture, 1987), cependant le volume total des fumiers de bovin produits dans la province de Québec est au premier rang des élevages et, à ce titre, est loin d'être négligeable. Le bovin laitier contribue pour 63 pour cent du volume total de fumier produit au Québec, soit environ 25 millions de mètres cubes par an (Émond, 1988).

Il est maintenant généralement admis que les dommages causés à l'environnement par la pollution agricole diffuse sont très importants et qu'ils peuvent même compromettre l'atteinte des objectifs du programme d'assainissement des eaux du Québec (Cluis et Couture, 1987).

## 1.2 La gestion des fumiers par le procédé de compostage

En regard d'une situation très préoccupante au point de vue agronomique et environnemental, le compostage des fumiers de bovin à la ferme s'avère être une solution technologique alternative au mode actuel de gestion des fumiers. En effet, le compostage des fumiers permet :

- de contrôler la dynamique de transformation des éléments nutritifs, dont celle de l'azote (minéralisation-immobilisation), et de diminuer ainsi les pertes environnementales par volatilisation ( $\text{NH}_3$ ), lessivage ( $\text{NO}_3^-$ ) et dénitrification ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2$ ) ;

- d'entreposer à la ferme et de transporter économiquement le compost produit vers les lieux d'épandage sans nuisances environnementales (odeurs, matière organique stabilisée, pertes liquides, densité du produit);

- d'augmenter la valeur agronomique des fumiers (matière organique stabilisée, humus, azote organique).

## 1.3 Le cadre expérimental

Quelques expériences préliminaires de compostage ont été menées à l'échelle de la ferme laitière québécoise, au début de la partie expérimentale de cette thèse. Ces expériences ont été réalisées sur une plate-forme de compostage couverte, dans les conditions réelles de gestion du fumier. Le fumier, qui est évacué de l'étable par un système de piston hydraulique souterrain, a été récupéré par chargeur frontal sur la plate-forme de la ferme, sans addition supplémentaire de paille à la quantité de foin ajoutée initialement à l'étable (1,5 kg par animal et par jour), et a ensuite été mis en tas pour le compostage.

---

Malgré l'utilisation d'un système d'aération forcée, les résultats de ces expériences n'ont pas été concluants (voir à l'annexe A), en raison de la trop petite quantité de paille et de la trop grande compacité du fumier de bovin. D'autre part, il a été conclu que les conditions d'hétérogénéité du tas de fumier en compostage était trop grandes, et les coûts expérimentaux trop élevés, pour pouvoir y étudier en détail la dynamique de réorganisation de l'azote tout en maintenant les autres facteurs constants. Ces conclusions rejoignent celles de Strom *et al.* (1983), et nous ont amenés à poursuivre les expériences en composteurs de laboratoire de type adiabatique. Ces composteurs de laboratoire ont permis de contrôler de façon optimale les conditions expérimentales, d'homogénéiser le fumier par addition de quantités optimales de paille hachée (6 kg par animal et par jour), de prélever les gaz issus du compostage, et finalement de répéter et de dupliquer économiquement les expériences.

#### 1.4 Les objectifs généraux

Les objectifs de cette thèse sont :

- L'étude de la dynamique de réorganisation de l'azote d'un fumier de bovin pailleux pendant le processus de compostage. Il s'agit de comprendre, en relation avec l'évolution du processus, par la succession dans le temps des populations de micro-organismes responsables de la dégradation de la matière organique, sous quelles formes organiques se réorganise l'azote d'un fumier.

- L'identification de la structure chimique complexe de l'azote organique du compost, en raison de la transformation d'une grande partie de l'azote initial des fumiers en azote organique inconnu et non-protéique.

- L'utilisation pour les fumiers et la comparaison des méthodes de fractionnement de l'azote organique par hydrolyse acide continue et par hydrolyses acides successives, utilisées habituellement pour l'analyse des sols.

### 1.5 Les principaux résultats

Il a été possible, lors des expériences de compostage au laboratoire dans des conditions expérimentales très satisfaisantes, d'étudier la dynamique de réorganisation de l'azote organique d'un fumier de bovin par les micro-organismes. Les résultats présentés au chapitre 4 sont obtenus par l'utilisation d'une approche écologique et multivariée, nouvelle dans l'étude des processus du compostage.

Le chapitre 5 présente les résultats de l'utilisation d'une technique analytique récente et prometteuse, la spectrométrie de masse à champ ionisé couplée à une pyrolyse (Py-FIMS) (Schulten *et al.*, 1987), qui a permis d'identifier, sans ruptures des molécules originales, les principales composantes organiques d'échantillons de compost. Deux informations primordiales se dégagent de ces résultats; l'identification de certaines molécules d'azote complexe, constituantes de l'azote inconnu, et l'identification pour la première fois dans un compost de stéroïdes présents en grande quantité, ce qui permet d'envisager l'hypothèse de leur biodégradabilité dans les composts.

Par la comparaison des deux méthodes de fractionnement de l'azote organique, habituellement discutées et utilisées pour l'analyse des sols, il a été possible de clarifier la cinétique d'hydrolyse spécifique d'un fumier de bovin. La méthode par hydrolyse continue, à laquelle quelques modifications sont

---

apportées, convient le mieux au fractionnement de l'azote organique du fumier de bovin. Les résultats de cette étude comparative sont présentés au chapitre 6.

# CHAPITRE 2

## LE PROCESSUS DE COMPOSTAGE ET LE CYCLE DE L'AZOTE

### 2.1 Introduction

Le compostage est un procédé de stabilisation de la matière organique connu, depuis des siècles, des fermiers du monde entier. Il se produit lors de la mise en tas des déchets animaux et végétaux, dans le but de les stocker avant de les épandre aux champs. Il y a de fortes présomptions que le compostage ait trouvé son origine en Extrême-Orient, en particulier en Chine, d'où il a été introduit à l'Ouest par un professeur américain, F.H. King (King, 1926), au début du siècle. Sir Albert Howard, un britannique, a été l'un des premiers à mettre au point un procédé "industriel" de compostage dans les années trente aux Indes, le procédé "Indore" (Witter, 1986). L'objectif de Howard était de résoudre des problèmes d'hygiène publique posés par les déjections animales et humaines.



Depuis, surtout à partir des années cinquante, il y a eu une multiplication des procédés de compostage concernant essentiellement le traitement des ordures ménagères, et plus tard celui des boues d'épuration. Puisque plusieurs publications décrivent ces procédés de compostage, ce chapitre ne reprendra pas ces travaux. Les lecteurs intéressés à se documenter sur ce point pourront consulter Mousty (1984) qui, dans sa thèse de doctorat, donne un excellent aperçu historique des technologies de compostage, ainsi qu'une classification des procédés les plus récents.

Au Québec, l'intérêt pour l'utilisation du compostage comme technologie environnementale date des cinq dernières années, de sorte que les développements de procédés et la recherche sont trop récents pour pouvoir les évoquer dans cette thèse.

Plusieurs auteurs ont fait, ces dernières années, la revue des principes généraux ainsi que la description du processus de compostage. L'ouvrage le plus général au sujet de la gestion de la matière organique et du compostage est celui de Mustin (1987). D'autres ouvrages sont des revues de littérature plus spécialisées, soit en ingénierie (Haug, 1979), ou en microbiologie et biochimie (Gray et Biddlestone, 1981 ; Crawford, 1983 ; Biddlestone *et al.*, 1987). Plusieurs thèses de doctorat ont également contribué à l'avancement des connaissances de la science du compostage dont celle de Anid (1983) sur la caractérisation des composts de déchets urbains, avec une revue intéressante sur la microbiologie du compostage; celle de Godden (1986) sur l'étude du processus de compostage de fumier de bovin, dont les principaux aspects sont la dynamique de la microflore cellulolytique et les critères de maturité du compost; celle de Witter (1986) au sujet du devenir de l'azote dans le compostage de boues d'épuration; et celle de

---

Ott (1990) sur le compostage de fumiers avec des additifs minéraux et sous régime d'aération forcée, ainsi que sur l'utilisation de composts en agriculture.

### 2.1.1 Définition du processus de compostage

Il est particulièrement difficile et délicat de définir le compostage, parce que la plupart des termes qui lui sont consacrés peuvent avoir un sens ambigu, et que les processus de dégradation de la matière organique très complexes peuvent facilement s'apparenter à des dégradations d'autres natures. Beaucoup d'auteurs donnent leur propre définition du compostage, il y en a des dizaines, dont une bonne partie d'entre elles sont à notre avis trop générales, ce qui introduit une certaine confusion dans l'industrie (Denis Potvin, communication personnelle 1993) et le monde de la recherche sur le compostage. Nous n'avons pas la prétention d'y ajouter notre propre définition, mais plutôt de référer le lecteur à la publication de Zucconi et de Bertoldi (1987) qui est à notre connaissance le travail le plus exhaustif sur la définition du procédé et des termes relatifs au compostage.

Le processus de compostage se définit, de façon générale, comme un processus biologique assurant la décomposition des constituants organiques des sous-produits et déchets en un produit organique stable et riche en composés humiques (Mustin, 1987). Mais il faut y ajouter les restrictions suivantes (Witter, 1986) : il s'agit d'un processus aérobie et ayant une phase thermophile caractéristique, pour éliminer de la définition le vermi-compostage, la décomposition de la matière organique à la surface des sols ainsi que les processus de dégradation anaérobies. Encore plus restrictive, la définition de Zucconi et de Bertoldi (1987) précise que le compostage est un processus; (i) ayant lieu sous des conditions de bio-oxydation strictement contrôlées; (ii)

impliquant un substrat organique hétérogène à l'état solide; (iii) accompagné par une phase thermophile et la production temporaire de phytotoxines; (iv) produisant du dioxyde de carbone, de l'eau, des minéraux et de la matière organique stabilisée.

### 2.1.2 Le processus de compostage

Le processus de compostage est habituellement caractérisé par la succession de quatre phases, attribuables à l'action des micro-organismes qui dégradent la matière organique, lesquelles sont généralement représentées par l'évolution de la courbe de température dans le temps (figure 2.1). La durée de ces différentes phases et l'amplitude des variations de température sont très variables d'un substrat à l'autre ou d'un procédé de compostage à l'autre.

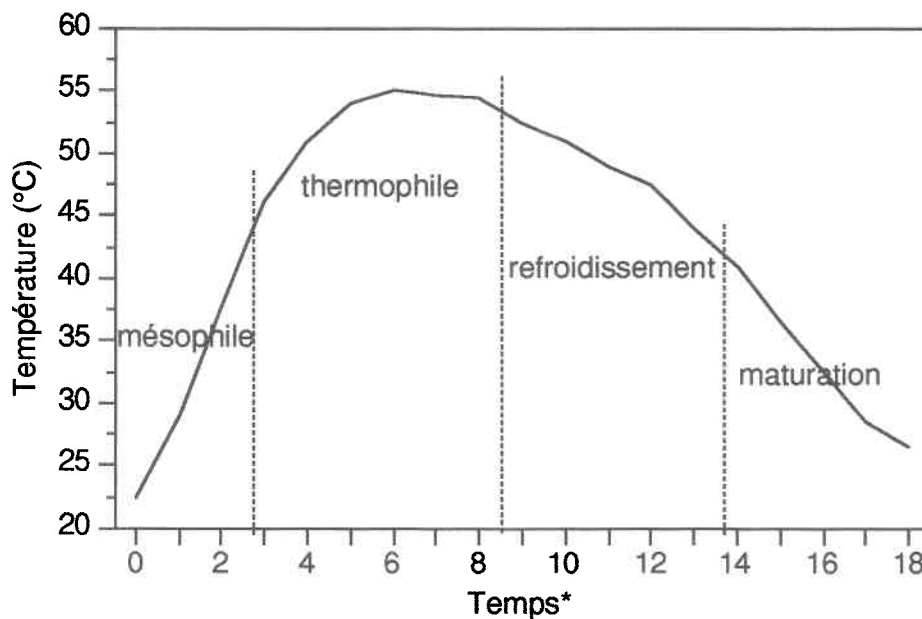


Fig. 2.1 : Courbe idéalisée de l'évolution des températures et phases caractéristiques du processus de compostage; \*échelle unitaire de temps à titre d'illustration.

### Les phases caractéristiques

Le début du compostage se caractérise par une augmentation rapide de la température à l'intérieur du substrat, résultant de la quantité de chaleur dégagée par le haut niveau d'activité métabolique d'une biomasse indigène en pleine croissance. Il s'agit de la "*phase mésophile*". Le haut niveau d'activité métabolique provient de la décomposition de composés organiques simples comme les sucres, l'amidon et les acides aminés principalement par des bactéries (Nakasaki et al., 1985a, b), et dans une moindre mesure par des champignons (Godden et al., 1983). À partir de 45 degrés Celsius (Zucconi et de Bertoldi, 1987), un mécanisme de contrôle de croissance des micro-organismes mésophiles, par rétroaction positive, amène l'augmentation de la population des micro-organismes thermophiles (Witter, 1986). Durant la "*phase thermophile*", les températures atteignent un maximum et des composés plus complexes sont dégradés, comme les lignines, les celluloses et hémicelluloses. La phase thermophile est caractérisée par la présence de bactéries thermophiles, et par la croissance des populations de champignons et d'actinomycètes thermophiles (Nakasaki et al., 1985b). À partir du moment où la température commence à baisser, on qualifie la nouvelle phase de "*phase de refroidissement*", durant laquelle les actinomycètes semblent jouer un rôle majeur (Godden et al., 1983). Lorsque la température redescend jusqu'à la température ambiante, le processus de compostage entre dans la "*phase de maturation*". Pendant cette phase, la plus longue du processus, la matière organique se stabilise et ressemble de plus en plus à de l'humus, l'activité microbiologique y est réduite, et de petits invertébrés jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique (Witter, 1986).

## 2.2 L'azote dans le processus de compostage

Le cycle de l'azote est très complexe, de nombreux chercheurs l'ont étudié en détail dans les sols et dans d'autres écosystèmes depuis le début du siècle. Le concept du cycle de l'azote a été formulé par Löhnis (1913). Malgré cela, plusieurs aspects du cycle demeurent obscures ou inconnus (Paul, 1987 ; Schnitzer, 1985). Le but de ce chapitre n'est pas d'effectuer une revue de littérature exhaustive sur les différentes parties du cycle de l'azote, mais plutôt de faire la synthèse des aspects importants du cycle, relatifs au compostage des fumiers, qui permettront de comprendre les hypothèses et les résultats présentés dans les chapitres suivants.

Les principaux aspects du cycle de l'azote, qui ont été couverts jusqu'à présent dans le processus de compostage, concernent principalement les pertes d'azote vers l'extérieur du système. Witter et Lopez-Real (1987) rapportent que durant le compostage de déchets organiques riches en azote, comme les boues d'épuration, les pertes d'azote peuvent facilement atteindre 50 pour cent. Ces mêmes auteurs présentent un tableau résumé des principales études rapportant les pertes d'azote durant le compostage de différents matériaux organiques. Le compostage à des températures élevées (75-80°C) de fumier de porc (lisier + paille) provoque des pertes d'azote considérables par volatilisation, et l'augmentation relativement faible de l'azote sous forme organique, due probablement à l'augmentation de la biomasse (van Fassen et van Dijk, 1979). Cependant, contrairement au compostage des boues d'épuration, le compostage de fumier de bovin provoque des pertes d'azote minimales, pour autant que la température ne dépasse pas 55 degrés Celsius, et que le substrat de départ

---

présente un rapport C/N suffisamment élevé (forte proportion de paille) (Hümbelin *et al.*, 1980).

Les pertes d'azote durant le compostage peuvent se produire par deux voies différentes;

- par volatilisation de l'ammoniac et de composés azotés volatiles d'origine organique, comme les amines volatiles;

- par le lessivage des nitrates, provenant du processus de nitrification, et par la volatilisation des produits de la dénitrification (NO, N<sub>2</sub>O, et N<sub>2</sub>), subséquente à la nitrification.

Ces pertes d'azote par les deux voies semblent se produire à des moments distincts du processus de compostage. La volatilisation a lieu lors de la phase la plus active du compostage, lorsque les micro-organismes se multiplient en grand nombre et dégradent rapidement la matière organique facilement disponible. Il en résulte une accumulation rapide d'ammonium qui, conjuguée à l'augmentation des températures et du pH, provoque la volatilisation sous forme d'azote ammoniacal (Witter, 1986). La perte d'azote par volatilisation de l'ammoniac est, selon de nombreux auteurs (Willson et Hummel, 1975; Vogtman et Besson, 1978; Witter, 1986), la plus importante lors du compostage. Les processus de nitrification et de dénitrification ont lieu vers la fin du compostage, lors de la phase de maturation. En général, la nitrification n'apparaît pas avant le vingtième jour de compostage (Bishop et Godfrey, 1983). Les chercheurs attribuent cette absence à l'inhibition de la croissance des micro-organismes nitrificateurs par les hautes températures et la forte concentration en ammoniac durant la première phase du compostage. Les nitrates produits durant la phase de maturation vont essentiellement contribuer aux pertes d'azote, lors du compostage, par le lessivage résultant du

passage de l'eau de pluie à travers un tas de compost non couvert (Kirchmann, 1985; Christensen, 1983). La dénitrification, contribuant aux pertes d'azote à un degré moindre que le lessivage, se produit lorsqu'il y a des conditions anaérobies et accumulation de nitrates (Firestone, 1982). Pour diminuer les facteurs de perte d'azote par dénitrification, il faut donc maintenir des conditions d'aération suffisantes dans le compost (Witter et Lopez-Real, 1987). En pratique cependant, il est difficile d'éliminer la présence de microsites anaérobies qui sont le siège de la dénitrification (Rice et al., 1988).

Durant la phase de refroidissement du processus de compostage de fumier de bovin, il y a une fixation assez importante de l'azote, comme l'ont démontré Hübeline *et al.* (1980) par la méthode de réduction à l'acétylène. De plus, dans le compost mûr, la presque totalité de l'azote se présente sous forme organique. Ces facteurs, particuliers au compostage de fumier de bovin, tendent à minimiser l'importance des pertes d'azote par lessivage et dénitrification.

Les différents aspects apportés par cette revue de littérature nous amènent à présenter les principaux processus du cycle de l'azote, dans le compostage de fumier de bovin, selon un schéma centré sur la "voie de l'ammoniac" (figure 2.2).

### 2.2.1 La production d'ammoniac

La production nette d'ammonium, et conséquemment d'ammoniac, est déterminée par le rapport entre la minéralisation de l'azote organique par les micro-organismes, aussi appelée ammonification, et l'immobilisation de l'ammonium sous forme d'azote microbien, principalement sous forme d'acides aminés (Witter, 1986). Ce rapport dépend des quantités de carbone et d'azote biodisponibles, en général exprimées dans la littérature par le rapport C/N.

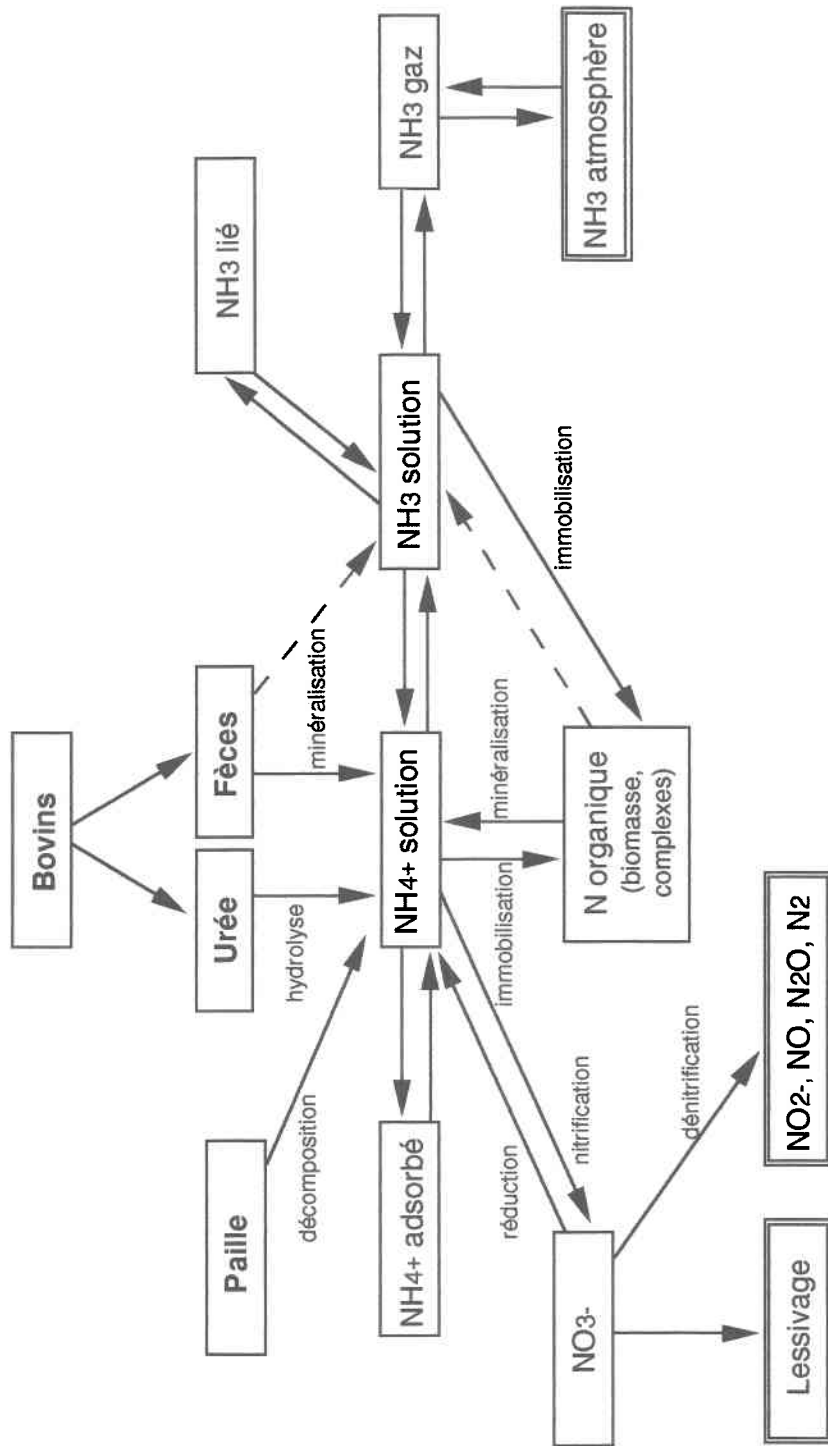


Fig. 2.2 : Principales réactions biologiques et chimiques intervenant dans le cycle de l'ammoniac, au cours du compostage de fumier de bovin. Les doubles lignes représentent les pertes d'azote (figure adaptée et modifiée de Freney *et al.*, 1983).



Quoique la mesure du rapport C/N ne soit pas une bonne mesure des quantités de carbone et d'azote disponibles pour les micro-organismes (Witter, 1986; Witter et Lopez-Real, 1987), elle est utilisée dans presque toutes les études sur le compostage. Certains auteurs semblent avoir des difficultés à interpréter leurs résultats à partir du rapport C/N (Willson et Hummel, 1975; Meyer et Sticker, 1983), ce qui s'explique par les difficultés de la chimie analytique à identifier une grande partie des formes d'azote organique, et ainsi à en mesurer la proportion minéralisable. Les chapitres 5 et 6 de cette thèse couvrent ces questions d'identification des formes d'azote organique en détail.

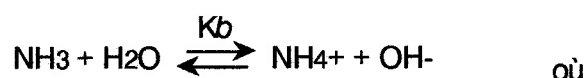
La minéralisation de l'azote fait référence à la dégradation des protéines, des sucres aminés, des acides nucléiques, et des formes azotées rattachées à des composés phénoliques (qui ne sont pas de source biologique connue) en ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) (Paul et Clark, 1989). Elle s'effectue de façon optimale durant le compostage lorsque la source d'énergie (le carbone) n'est pas trop abondante, ce qui provoquerait une carence en azote, et lorsqu'il n'y a pas trop d'azote, ce qui amènerait des pertes excessives de cet élément nutritif (Witter, 1986).

L'immobilisation de l'azote est l'incorporation de  $\text{NH}_4^+$  dans des acides aminés par des micro-organismes. La proportion de  $\text{NH}_4^+$  immobilisé par rapport au  $\text{NH}_4^+$  accumulé dans le compost dépend des besoins en azote des micro-organismes pour leur croissance. Ces besoins en azote varient selon le type de micro-organisme; les champignons ont un rapport C/N compris entre 15 et 4,5, alors que les bactéries ont un rapport C/N compris entre 3 et 5 (Paul et Clark, 1989). Les besoins en azote des bactéries sont donc supérieurs à ceux des champignons. Il faut également noter que le  $\text{NH}_4^+$  est préféré au  $\text{NO}_3^-$  par les micro-organismes pour leur croissance, à cause de l'état déjà réduit de cette

molécule. Même en situation de carence en  $\text{NH}_4^+$ , il y aurait souvent inhibition de l'enzyme nécessaire à la réduction du  $\text{NO}_3^-$ .

### 2.2.2 Équilibre ammonium-ammoniac

L'équilibre entre l'ammonium et l'ammoniac en solution est décrit en détail par Freney *et al.*, 1983. Cet équilibre peut être résumé par l'équation :



$$K_b = \frac{[\text{NH}_4^+] \cdot [\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]}$$

L'équilibre ammonium-ammoniac est très fortement influencé par le pH, et indirectement par tous les facteurs qui influencent le pH de la solution. La constante de dissociation  $K_b$  est liée aux constantes de dissociation de l'eau ( $K_w$ ) et de l'équilibre ammoniac-ammonium ( $K_a$ ), ces constantes ont pu être calculées expérimentalement par Bates et Pinching (1950), et varient chacune différemment de façon importante avec la température.

$$K_w = [\text{OH}^-] \cdot [\text{H}^+]$$

$$K_a = \frac{[\text{NH}_3] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{NH}_4^+]}$$

En conséquence, plus la température augmente, plus le pH auquel on trouve une proportion égale des formes  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NH}_3$  baisse. À titre d'exemple, on peut calculer graphiquement qu'à 60°C, l'azote est à 50% sous forme  $\text{NH}_3$  pour une valeur de pH comprise entre 9 et 10 (Witter, 1986). Lorsque le pH augmente à la même température de 60°C, plus de la moitié de l'azote est alors sous forme ammoniacale ( $\text{NH}_3$ ).

### 2.2.3 Concentrations relatives en ammonium et en ammoniac

Le pH et la température influencent l'équilibre ammonium-ammoniac, mais cet équilibre est également fonction des concentrations relatives en ammonium et en ammoniac. Deux processus peuvent influencer les concentrations relatives en ammonium et en ammoniac dans le compost; il s'agit d'une part de la fixation ou de la rétention de ces molécules sur la matière organique ou minérale du compost, et d'autre part de la volatilisation de l'ammoniac vers l'extérieur du compost.

#### 2.2.3.1 Adsorption et fixation de l'ammonium et de l'ammoniac

Nommik et Vahtras (1982) font une excellente revue de littérature au sujet de la fixation et de la rétention de l'ammonium et de l'ammoniac dans les sols, et Witter (1986) en fait un résumé. L'ion ammonium, chargé positivement, peut être adsorbé et retenu sur des charges négatives, telles que celles des feuillets argileux ou de certains minéraux, et celles des substances humiques. En ce qui concerne le procédé de compostage, les charges négatives des argiles sont plutôt utilisées par l'entremise de techniques de couverture des tas de compost, qui permettent de diminuer les pertes azotées. Les charges négatives des substances humiques jouent un rôle plus direct dans la fixation de l'ammonium dans le compost, en raison de la nature organique des matériaux en présence. Dans la matière organique, les charges négatives proviennent de la dissociation des groupes fonctionnels carboxylique (COOH) et phénolique OH, et sont fonction du pH.

Certaines réactions physiques et chimiques peuvent intervenir dans la rétention de l'ammoniac dans le compost. Elles vont de l'adsorption physique

faible de type "lien hydrogène", puisque la molécule d'ammoniac est assez similaire à celle de l'eau (molécule polaire), à l'incorporation irréversible de l'ammoniac dans la matière organique. Les complexes  $\text{NH}_3$  - matière organique sont chimiquement très stables et très résistants à la dégradation par les micro-organismes (Freney et al., 1983 ; Nommik et Vahtras, 1982).

### 2.2.3.2 Diffusion et volatilisation de l'ammoniac dans le compost

#### Diffusion de l'ammoniac

Le  $\text{NH}_3$  adsorbé physiquement est en équilibre dynamique avec la phase gazeuse et est sujet au mouvement par diffusion à travers la masse de compost. L'adsorption physique a lieu seulement lorsque la pression partielle en ammoniac dans l'atmosphère du compost est positive. Lorsque la pression partielle en ammoniac diminue, l'équilibre est déplacé et l'ammoniac lié retourne à la phase gazeuse, d'où il peut y avoir diffusion à travers le compost et volatilisation vers l'extérieur. Il est donc favorable d'avoir une pression partielle en ammoniac élevée dans le compost, pour en diminuer les pertes azotées. De plus, de fortes concentrations en  $\text{CO}_2$  dans le compost peuvent réduire le pH et augmenter ainsi la formation de complexes ammonium - carbonate (Witter, 1986).

#### Volatilisation de l'ammoniac

Freney et al. (1983) ont fait une revue de littérature très complète au sujet des facteurs responsables de la volatilisation de l'ammoniac dans les sols. L'étude de cette partie du cycle de l'azote est moins essentielle dans le procédé de compostage, parce qu'au stade de la volatilisation tous les aspects technologiques possibles ont déjà été considérés pour en diminuer l'impact. Dans

les sols agricoles par contre, la volatilisation de l'ammoniac est un phénomène de pollution atmosphérique majeur (Paul et Clark, 1989).

#### 2.2.4 La nitrification et la réduction des nitrates

La nitrification est le processus qui convertit le  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NO}_2^-$  (nitrite), et ensuite en  $\text{NO}_3^-$  (nitrate), il est l'œuvre des bactéries chimioautotrophes. Les bactéries chimioautotrophes sont des bactéries aérobies obligatoires qui utilisent le  $\text{CO}_2$  ou les carbonates comme source de carbone, et tirent leur énergie de l'oxydation du  $\text{NH}_4^+$  ou du  $\text{NO}_2^-$  (Paul et Clark, 1989). Les facteurs qui influencent la nitrification sont le pH, l'aération, l'humidité, la température, et la matière organique.

La nitrification est optimum pour des valeurs de pH comprises entre 6,6 et 8. En dessous de ces valeurs, la nitrification est considérée comme négligeable, cependant le compost de fumier de bovin n'atteint jamais de telles valeurs de pH. Au-dessus de pH 8, l'ammonium inhibe la transformation de  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NO}_3^-$ . À la fin du processus de compostage, lorsque le pH commence à redescendre vers la neutralité, les conditions sont donc favorables à la nitrification.

L'oxygène est obligatoire pour les bactéries impliquées dans la nitrification. En fin de processus de compostage, dès lors que le compost est déshydraté, les conditions d'aération s'améliorent, et les surplus d'oxygène favorisent l'action des bactéries nitrifiantes.

Un excès d'humidité dans le compost limite la diffusion de l'oxygène, et supprime par conséquent la nitrification. Cependant, l'eau est indispensable pour satisfaire les besoins physiologiques des bactéries. Les bactéries nitrifiantes sont

plus sensibles aux conditions environnementales d'humidité et de température que les bactéries responsables de la minéralisation. L'optimum de température pour la nitrification se situe entre 30 et 35°C. Au-dessus de 40°C le processus de nitrification est très lent.

La matière organique n'est une cause directe de l'inhibition de la nitrification, comme les scientifiques l'ont longtemps pensé. Cependant, la décomposition de la matière organique demande de l'azote minéral et de l'oxygène, ce qui diminue d'autant les quantités de  $\text{NH}_4^+$  et d' $\text{O}_2$  nécessaires aux nitrificateurs (Paul et Clark, 1989). Durant la phase de maturation du compostage, le  $\text{NH}_4^+$  et l' $\text{O}_2$  sont plus disponibles pour les bactéries nitrifiantes, puisque la matière organique est stabilisée.

Certains micro-organismes hétérotrophes, dont des bactéries et des actinomycètes, sont capables de produire du  $\text{NO}_2^-$  à partir de  $\text{NH}_4^+$ ; et d'autres, des champignons, peuvent également produire du  $\text{NO}_2^-$  à partir de  $\text{NH}_4^+$ .

Les nitrates peuvent également être réduits en  $\text{NO}_2^-$  et ensuite en  $\text{NH}_4^+$  par des bactéries et des champignons qui les utilisent pour faire la synthèse d'acides aminés et de protéines. Ce processus, appelé "assimilatory nitrate reduction", n'est pas inhibé par la présence d' $\text{O}_2$ , mais bien par la présence de  $\text{NH}_4^+$  ou de métabolites organiques azotés de forme réduite.

#### 2.2.5 La dénitrification

La dénitrification est le processus par lequel les oxydes d'azote, principalement les nitrite et nitrate, sont réduits en gaz azotés, l'oxyde nitreux ( $\text{N}_2\text{O}$ ) et l'azote atmosphérique ( $\text{N}_2$ ) (NRC, 1978). Récemment, Tiedje (1988) a

passé en revue l'écologie de la dénitrification, aussi appelée dénitrification enzymatique (Paul et Clark, 1989).

Dans les composts, la dénitrification a lieu vers la fin du processus, lors de la phase de maturation (Witter, 1986). Il est fort probable que les nombreux microsites anaérobies du fumier de bovin sont le siège du processus de dénitrification (figure 2.3) (Ott, 1990). Guenzi (1978) a déjà démontré, en laboratoire, que la dénitrification pouvait avoir lieu dans les microsites anaérobies d'un mélange de fumier de bovin et de sol parfaitement aéré.

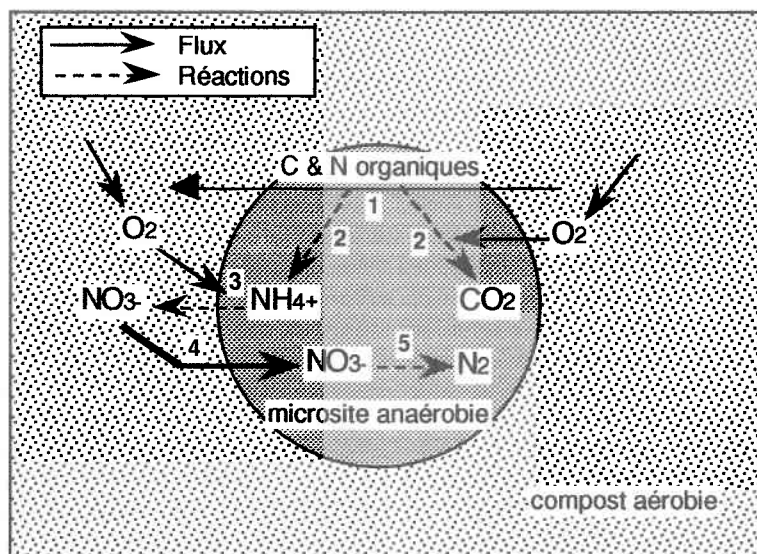


Fig. 2.3 : Les principaux phénomènes de la dénitrification autour d'un microsite anaérobie dans le compost : (1) la dégradation de la matière organique dans le compost; (2) la minéralisation; (3) la nitrification; (4) le flux de  $\text{NO}_3^-$  vers la zone anaérobie; (5) la dénitrification. (figure adaptée et modifiée de Rice *et al.*, 1988)

Les produits de la dénitrification sont formés selon la séquence  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ . Il est probable que dans le compost, comme c'est le cas dans

---

les sols (Paul et Clark, 1989), tous ces produits gazeux intermédiaires ne soient pas transformés en azote atmosphérique par leur enzyme réductase spécifique; une partie d'entre eux seulement s'échappe vers l'atmosphère.

Les facteurs qui influencent la dénitrification, et leurs caractéristiques sont : une concentration suffisante en  $\text{NO}_3^-$ , une source de carbone facilement disponible puisque le processus implique des bactéries hétérotrophes, une humidité suffisante pour diminuer la disponibilité de l' $\text{O}_2$ , un pH compris entre 6 et 8, ainsi qu'une température comprise entre 5 et 75°C. L'influence quantitative de chacun de ces facteurs sur le processus de dénitrification dans les sols est assez bien connue, mais leurs interactions semblent compliquer actuellement les prédictions des flux d'azote gazeux des sols (Firestone, 1982; Paul et Clark, 1989). Par analogie avec les sols, les flux d'azote gazeux issus des composts, qui n'ont pas encore été étudiés, devraient être aussi difficiles à prédire. Il faut toutefois noter, que dans un compost mûr où la matière organique est stabilisée, les sources de carbone disponibles pour les bactéries dénitrifiantes ne doivent pas être très nombreuses.



# CHAPITRE 3

## MATÉRIEL ET MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

### 3.1 Méthodes expérimentales

#### 3.1.1 Expériences de compostage à l'échelle du laboratoire

##### 3.1.1.1 Description des composteurs de laboratoire

Les composteurs conçus et utilisés au laboratoire sont de type adiabatique, et ont été adaptés des modèles de Witter (1986), Godden et al. (1983), Sikora et al. (1983) et de Mote et Griffis (1979). Le principe général des composteurs adiabatiques vise à permettre la succession caractéristique des micro-organismes responsables des processus de décomposition de la matière organique, en limitant les échanges de chaleur avec l'extérieur au minimum, et sans apport de source de chaleur extérieure au compost.

Le montage est composé de trois sous-systèmes : la circulation de l'air, le contrôle des échanges de chaleur, et les composteurs eux-mêmes (figure 3.1).



Fig. 3.1 : Montage des composteurs au laboratoire.

Les quatre composteurs sont identiques et constitués d'un cylindre de CPV (chlorure de polyvinyle) de 12,78 mm d'épaisseur, de 21 cm de diamètre, et de 30,5 cm de hauteur (volume = 10,56 litres), soudé dans un cylindre extérieur de 29,5 cm de diamètre et de 26 cm de hauteur, aussi en CPV. Le cylindre intérieur est fermé par un couvercle amovible, en acrylique de 1,9 cm d'épaisseur, muni d'un joint d'étanchéité. Un trou percé dans le fond du cylindre intérieur permet l'entrée de l'air par un tube en verre, et deux trous dans le couvercle permettent le passage d'une part du thermistor et de la sonde d'humidité, et d'autre part d'un tube en verre de sortie des gaz.

L'isolation thermique des composteurs est réalisée par un bain d'eau chaude circulant entre les deux cylindres de CPV (figure 3.2). L'eau est chauffée et amenée à chaque composteur par une pompe chauffante de marque "Haake" immergée dans un récipient d'eau, l'eau revient ensuite à la pompe par gravité. Le débit de la pompe est de 5 l / min.. Le contrôle de la résistance chauffante de la pompe permet d'ajuster manuellement la température de l'eau par facteur de 1°C en 30 secondes. Les pertes de chaleur par conduction à travers le couvercle d'acrylique ont été calculées comme négligeables en fonction du coefficient de conductivité thermique de ce matériau, ainsi que de l'écart maximum de température pouvant se produire entre le compost en phase thermophile et la température ambiante du laboratoire relativement constante (Bird et al., 1960). Le volume initial de fumier placé dans le composteur est de huit litres et ne dépasse pas le niveau du bain d'eau à l'extérieur.

Le compost est aéré par de l'air sous pression provenant d'un compresseur de laboratoire. L'air est d'abord réchauffé à la même température que l'eau en circulant dans un tuyau de cuivre hélicoïdal de 7,6 m de longueur placé dans le bain d'eau chaude d'un des composteurs, et est ensuite humidifié à saturation par barbotage. Le réchauffement et l'humidification de l'air ont pour but de ne pas créer de chocs thermique ou hydrique à l'entrée, dans le compost. Finalement, avant d'être réparti entre les quatre composteurs, l'air est débarrassé de l'ammoniac présent, par barbotage dans une solution acide de HCl 2N (erlenmeyer de 3 litres), et ensuite du CO<sub>2</sub> présent, par barbotage dans une solution alcaline de NaOH 2N (erlenmeyer de 3 litres). Il a été vérifié, en plaçant

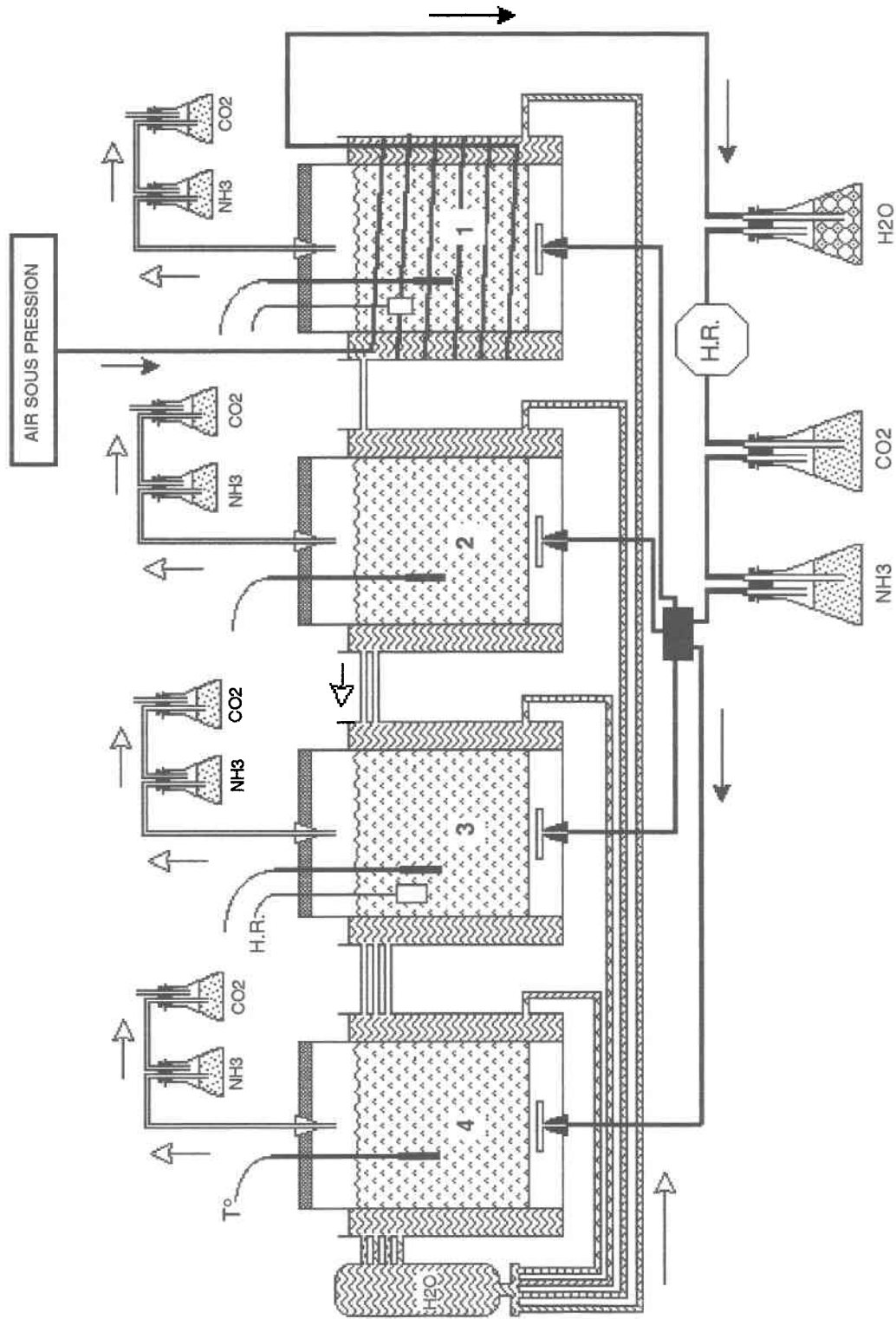


Fig. 3.2 : Schéma des composeurs de laboratoire.

d'autres trappes à ammoniac et à CO<sub>2</sub> en série après les précédentes, qu'il n'y avait plus de traces de ces gaz dans l'air. L'air est diffusé par une pierre poreuse d'aquarium de 15 cm de longueur, immédiatement à son entrée dans le composteur, ce qui assure une distribution homogène 2 cm en dessous de la surface du compost qui repose sur un grillage métallique galvanisé. Tout au long du circuit, l'air est acheminé aux composteurs par des tuyaux "Tygon", de 3,5 mm de diamètre, à un taux d'aération pouvant varier de 0,5 à 2 l / min. / composteur (débit mètre "Gilmont modèle K486"). Ce taux d'aération correspond à des taux de 16 à 50 m<sup>3</sup> / h / tonne de matière sèche (MacGregor *et al.*, 1981).

#### 3.1.1.2 Contrôle du processus de compostage

La température du bain d'eau chaude est demeurée, durant toute la durée de l'expérience, inférieure de 1° à 5° C à celle du compost, afin de maintenir les pertes de chaleur par conduction à un niveau minimal. Les ajustements de température se font manuellement. La température de l'eau est mesurée par thermomètre au mercure, alors que la température interne du compost est mesurée par quatre thermistors placés au centre du compost et reliés à un système d'acquisition de données "CR-10" de marque "Campbell Scientific". Les températures sont mesurées toutes les minutes, et enregistrées sous forme de moyennes horaire et journalière.

#### 3.1.1.3 Caractéristiques du fumier utilisé

Le fumier, utilisé pour les expériences de compostage, provient d'une ferme laitière de vaches de race Holstein, caractéristique de la région de Québec où la stabulation entravée est annuelle. Le fumier a été prélevé directement dans

l'étable en recueillant les fèces et l'urine de deux vaches adultes durant 12 heures, sur une feuille de plastique de 3 x 1,20 m placée dans le dalot avec 5,8 kg de paille de blé hachée. Le dispositif utilisé a pour but de simuler des conditions d'apport optimales de paille, généralement estimées à 6 kg / animal / jour (Soltner, 1980), tout en récupérant toutes les déjections avec absorption rapide de l'urée par la paille. La paille hachée en sections de deux centimètres de longueur permet d'homogénéiser le fumier au moment du prélèvement dans l'étable pour les besoins de compostage en laboratoire. Le fumier est transporté dans un récipient fermé, à la température de 4°C. L'expérience de compostage a débuté dans les heures suivant l'échantillonnage. Les principales caractéristiques physico-chimiques du fumier sont présentées au tableau 3.1.

Tableau 3.1

Caractéristiques physico-chimiques du fumier  
utilisé pour les expériences au laboratoire

Matière sèche (% M.F.)	19,89
Cendres (% M.S.)	9,20
Carbone total (% M.S.)	43,92
Azote Kjeldahl (% M.S.)	2,09
pH	8,39
rapport C / N	21,06

M.F. = matière fraîche ; M.S. = matière sèche

#### 3.1.1.4 Échantillonnage et conditionnement du compost

L'expérience de compostage s'est déroulée sur une période de 15 jours, entre les jours juliens 85 et 100 de l'année 1991. Le suivi du processus de compostage est assuré par la prise d'échantillons à des intervalles réguliers dans deux des quatre composteurs. Le fumier a été échantillonné en triplicata au début de l'expérience, juste avant de remplir les composteurs, et en triplicata à la fin de l'expérience dans chacun des quatre composteurs.

En cours d'expérience, il y a eu prélèvement de onze échantillons, en plus des échantillons initial et final, dans deux composteurs (jours juliens 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, et 98). Ces échantillons, de poids frais variant entre 55 et 75 g, ont été placés au début de l'expérience dans des filets, pesés, et numérotés. Les filets sont constitués par une toile moustiquaire de dimensions 17 x 14 cm, et fermés par des agrafes métalliques; ils sont disposés verticalement et de façon aléatoire dans le centre des composteurs. La disposition aléatoire des filets est effectuée selon les rayons d'un cercle dont l'ordre a été tiré au sort. Lors de l'échantillonnage, les filets sont retirés par une ficelle et pesés immédiatement afin de déterminer la perte de poids par perte de solides secs d'une part, et par perte d'eau d'autre part.

Dans tous les cas, les échantillons sont divisés en deux fractions. La première fraction est directement congelée à -40°C, lyophilisée, moulue, et ensuite conservée à la température de la pièce pour analyses subséquentes. La deuxième fraction est utilisée fraîche pour d'autres analyses (figure 3.3).



Fig. 3.3 : Compostage au laboratoire : séquence de dosages sur les échantillons prélevés dans le temps.



### 3.1.1.5 Échantillonnage des gaz

Les deux gaz échantillonnés à la sortie des composteurs sont l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ).

L'échantillonnage est réalisé en faisant barboter les gaz à la sortie des composteurs dans deux erlenmeyers de 500 ml, placés en série. Le premier erlenmeyer est une trappe à ammoniac contenant une solution acide de 350 ml d'HCl 2N, le deuxième erlenmeyer est une trappe à  $\text{CO}_2$  contenant une solution alcaline de 350 ml de NaOH 2N. Les trappes sont changées toutes les 24 heures et conservées hermétiquement à 4°C jusqu'au dosage. Le volume des solutions d'HCl et de NaOH est mesuré, à l'aide d'une éprouvette graduée, avant le dosage des gaz pour déterminer la quantité d'eau sous forme de vapeur, issue des composteurs et ayant condensé lors du barbotage. La dilution ainsi produite rentre en compte dans le calcul de la concentration en  $\text{NH}_3$  et  $\text{CO}_2$  au moment du dosage.

### 3.1.1.6 Reproductibilité des expériences et analyses statistiques

Il a été nécessaire de modifier plusieurs fois le montage des composteurs de laboratoire avant de pouvoir réaliser des expériences à répétition, sans avoir de problèmes techniques particuliers. La mise au point du système a été assez longue avant de conclure qu'un processus similaire de compostage avait lieu entre les quatre composteurs et d'une expérience à l'autre. Au moment où cet objectif a été atteint, deux expériences de compostage complètes ont été effectuées au laboratoire. Le temps imparti à cette étude, en raison de la très grande

quantité d'analyses que demande chaque expérience, a donc été le facteur limitant le nombre d'expériences.

Les deux expériences ont eu quatre répétitions chacune (composteurs). L'expérience "A" (figure 3.4) a été réalisée sans analyses physico-chimiques sur les échantillons solides, puisque l'objectif essentiel de cette première expérience était de vérifier l'impact de l'échantillonnage sur le déroulement de processus de compostage. L'expérience "B" (figure 3.5) est une reproduction de l'expérience "A" mais avec en plus des analyses physico-chimiques sur les échantillons de compost initial et final des quatre composteurs, ainsi que sur les échantillons prélevés quotidiennement dans les composteurs n° 2 et n° 4.

L'analyse statistique des données obtenues lors des expériences comprend deux volets. Le premier volet est une analyse multidimensionnelle, appliquée aux variables dégagées dans le temps pour les composteurs n° 2 et n° 4 lors de l'expérience "B". Le deuxième volet est une analyse de variance particulière, appelée Profile Analysis ou plan à mesures répétées (Morrison, 1976; Carter et Srivastava, 1983), appliquée sur les variables communes aux quatre composteurs dans le temps pour les expériences "A et B", et ainsi que sur toutes les variables communes aux composteurs n° 2 et n° 4 dans le temps pour l'expérience "B".

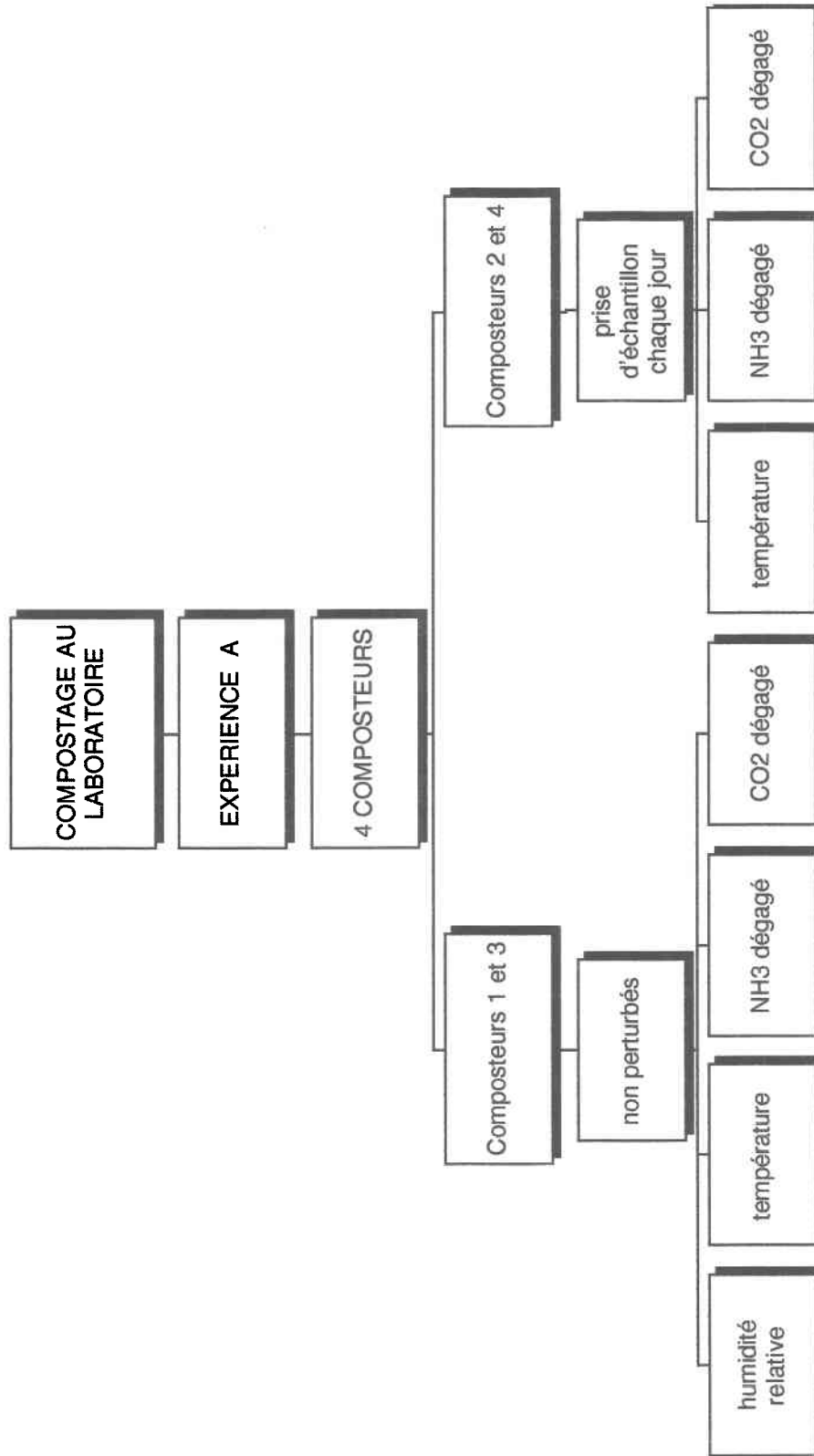


Fig. 3.4 : Compostage au laboratoire, schéma général de l'expérience A.

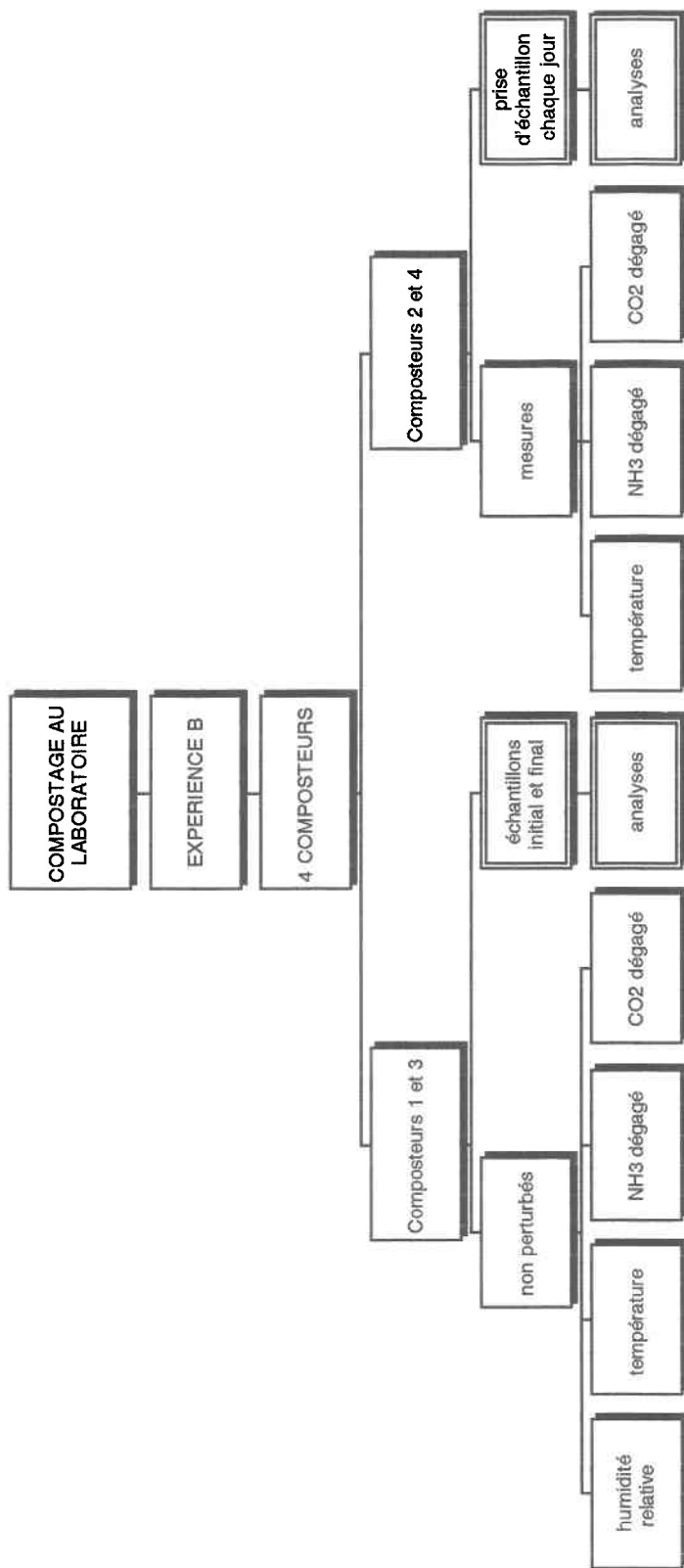


Fig. 3.5 : Compostage au laboratoire, schéma général de l'expérience B.

---

### Analyse multidimensionnelle

Cette partie de l'analyse statistique des données est une interprétation écologique de la structure de la matrice multivariable des données brutes obtenue suite à l'échantillonnage durant le processus de compostage, dans les composteurs n° 2 et n° 4. L'interprétation écologique est effectuée selon un schéma asymétrique (Legendre et Legendre, 1982), c'est-à-dire que la structure est établie pour l'ensemble des données par une ordination et par un groupement, puis elle est interprétée au moyen des descripteurs qui lui ont donné naissance.

La matrice de départ se compose de 19 descripteurs et de 26 temps d'échantillonnage, 13 pour chaque composteur (Tableau 3.2). Les résultats de l'analyse multidimensionnelle sont présentés sous forme de superposition d'un groupement à une ordination en espace réduit, cette procédure est maintenant routinière en écologie (Legendre et Legendre, 1984). L'ordination, produite dans cette étude, est une analyse en composantes principales (ACP), puisque les descripteurs sont quantitatifs (Hotteling, 1933). L'ACP est calculée à partir de la matrice des corrélations, sans rotation des axes (SYSTAT version 5.0, 1990). Le groupement à liens simples (Sneath, 1957) est produit à partir de la matrice des distances (SYSTAT *op. cit.*).

Tableau 3.2

Liste des descripteurs utilisés pour  
l'ordination en espace réduit et le groupement

DESCRIPTEUR	numéro du descripteur
pH	3
Pertes en eau / compostage (%)*	4
Pertes en solides secs / compostage (%)	5
Taux de dégradation (contenu en cendres) %	8
diminution solides volatiles (%)	10
NH <sub>3</sub> dégagé par 24 H (mg)	11
CO <sub>2</sub> dégagé par 24 H (mg)	12
Azote total CNS** (%* M.S.***)	14
Carbone total CNS (% M.S.)	15
Azote total Kjeldahl (% M.S.)	17
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> échangeable (µg/g de M.S.)	18
N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ,NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) (µg/g de M.S.)	19
N total hydrolysable (µg/g de M.S.)	25
N acides aminés (µg/g de M.S.)	26
N hexosamines (µg/g de M.S.)	27
N (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et Amide) (µg/g de M.S.)	28
N hydrolysable inconnu (HUN) (µg/g de M.S.)	29
N non-hydrolysable (NHN) (µg/g de M.S.)	30
pertes N durant l'hydrolyse (µg/g de M.S.)	32

\* % = pourcentage en poids; \*\* CNS = analyseur carbone-azote-soufre; \*\*\* M.S. = matière sèche.

### Plan à mesures répétées

Une méthode d'analyse de variance multivariée, l'analyse de profil ou Profile Analysis (op. cit.), a été développée pour traiter certains types d'études où:

(i) l'hypothèse d'indépendance des termes d'erreurs, sous-jacente à l'analyse de variance, n'est pas respectée; et,

(ii) lorsque les corrélations ne sont pas les mêmes entre tous les couples de deux modalités de la variable de comparaison.

C'est le cas d'une expérience réalisée avec plusieurs groupes suivis dans le temps, où il est évident que les erreurs ne sont pas indépendantes, d'une modalité à l'autre, du facteur de comparaison. De plus si les intervalles de temps sont différents, il serait très hasardeux de supposer l'égalité de la corrélation entre des couples de modalités.

L'analyse de profil utilise le profil moyen d'un groupe comme une observation d'une variable aléatoire continue suivant une distribution multivariée (le temps).

Pour pouvoir analyser statistiquement les résultats obtenus lors des expériences de compostage au laboratoire par cette méthode d'analyse des profils, il est nécessaire de regrouper les résultats obtenus lors de treize échantillonnages consécutifs dans le temps en trois phases distinctes caractéristiques du processus de compostage. Cette opération artificielle sur la structure des données permet de passer d'un groupe par variable temps à quatre groupes par phase. Il aurait été impossible lors d'une telle expérience de créer plusieurs groupes par

composteur et par jour d'échantillonnage à cause d'une part des coûts que cela aurait engendré, et d'autre part la prise de plusieurs échantillons simultanément dans un même composteur n'aurait pas constitué, au sens statistique, plusieurs groupes différents.

Par conséquent, sur la base des résultats de l'analyse statistique précédente, consistant à superposer une analyse en composantes principales à un groupement à liens simples, il apparaît opportun de séparer les treize jours d'échantillonnage, dans les deux composteurs, de la façon suivante (tableau 3.3) :

Tableau 3.3  
Regroupement des jours d'échantillonnage consécutifs  
en trois phases distinctes.

Composteurs	Phase 1	Phase 2	Phase 3
1, 2, 3 et 4			
jour julien	86, 87, 88, 89*	90, 91, 92, 93	94, 95, 98, 100
Sujets	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4

\* Il faut noter que le premier jour (J 85) a été supprimé de cette analyse puisqu'il s'agit de la même donnée pour chacun des composteurs.

Les trois tests permis par cette analyse de profil ne sont pas les mêmes suivant les auteurs qui utilisent, pour les faire, de nombreux critères différents. Il n'y a pas encore de consensus théorique à ce sujet, mais on remarque, en général, des résultats semblables d'un critère à l'autre. Ces trois tests sont



accessibles dans le progiciel de statistique SAS (SAS, 1990), sous la procédure GLM option "repeated" et transformation "profile", et doivent répondre à trois questions :

1. Les profils moyens des populations sont-ils semblables? Autrement dit, les segments formés à partir de deux tests adjacents ou de deux points successifs dans le temps sont-ils parallèles?
2. Si les profils sont parallèles, alors, sont-ils au même niveau? Autrement dit, les groupes présentent-ils des résultats équivalents?
3. Si les profils sont parallèles, alors, est-ce que les résultats sont équivalents d'un test à l'autre ou encore d'un point à l'autre dans le temps?

### 3.1.2 Etude comparative de deux méthodes d'hydrolyse acide

Deux méthodes différentes de fractionnement de l'azote organique par hydrolyse acide sont comparées, spécifiquement pour un échantillon de fumier pailleux dont les caractéristiques physico-chimiques sont résumées au tableau 3.4. La première méthode est l'hydrolyse acide continue (Bremner, 1965 et Yonebayashi et Hattori, 1979) à l'HCl 6 N, à 100°C pendant 24 heures (figure 3.6). La deuxième méthode est celle des hydrolyses acides successives à l'HCl 6 N, à 100°C pendant 24 heures (Janel *et al.*, 1979). Le principe de la méthode par hydrolyses successives diffère de celui par hydrolyse continue en cela que le produit de l'hydrolyse est régulièrement retiré du milieu réactionnel; l'hydrolyse est reprise ensuite dans les mêmes conditions avec les résidus. Les différentes

étapes des hydrolyses successives sont 1, 2, 4, 8, 15 et 24 heures (figure 3.7). Les mêmes durées d'hydrolyse ont été utilisées pour l'hydrolyse continue afin de pouvoir comparer la cinétique des deux méthodes entre elles. Cependant, en ce qui concerne la méthode par hydrolyse continue, les étapes de durée variable constituent chaque fois des hydrolyses séparées. Les détails concernant les centrifugations, les dilutions et les dosages spécifiques seront vus dans la section suivante.

Tableau 3.4  
Caractéristiques physico-chimiques du fumier  
utilisé pour la comparaison des méthodes d'hydrolyse acide

Matière sèche (% M.F.)	9,23
Cendres (% M.S.)	15,59
Carbone total (% M.S.)	45,55
Azote Kjeldahl (% M.S.)	3,30
pH	6,65
rapport C / N	19,44

M.F. = matière fraîche ; M.S. = matière sèche

Les deux méthodes ont été comparées en triplicata, i.e. que chaque méthode d'hydrolyse a été répétée trois fois simultanément dans des ballons distincts. L'approche statistique utilisée pour comparer les résultats des deux méthodes d'hydrolyse en triplicata est une analyse de variance particulière, appelée Profile Analysis ou plan à mesures répétées (Morrison, 1976; Carter et

Srivastava, 1983). Cette approche statistique est identique à celle effectuée au chapitre 3.1.1.6. et ce pour les mêmes raisons. Le plan de l'analyse statistique est présenté au tableau 3.5 :

Tableau 3.5

Plan de l'analyse de profil réalisée pour comparer les méthodes d'hydrolyse continue et successives.

Sujets	Méthodes	Phases	Variables
Ballon de gauche	Hydr. continue	1, 2, 4, 8, 15, 24 heures	N-hyd., N-a.a., N-hexo, N-NH <sub>4</sub> ,-amide, HUN
Ballon du milieu	Hydr. continue	1, 2, 4, 8, 15, 24 heures	N-hyd., N-a.a., N-hexo, N-NH <sub>4</sub> ,-amide, HUN
Ballon de droite	Hydr. continue	1, 2, 4, 8, 15, 24 heures	N-hyd., N-a.a., N-hexo, N-NH <sub>4</sub> ,-amide, HUN
Ballon de gauche	Hydr. successives	1, 2, 4, 8, 15, 24 heures	N-hyd., N-a.a., N-hexo, N-NH <sub>4</sub> ,-amide, HUN
Ballon du milieu	Hydr. successives	1, 2, 4, 8, 15, 24 heures	N-hyd., N-a.a., N-hexo, N-NH <sub>4</sub> ,-amide, HUN
Ballon de droite	Hydr. successives	1, 2, 4, 8, 15, 24 heures	N-hyd., N-a.a., N-hexo, N-NH <sub>4</sub> ,-amide, HUN

Il faut noter que l'analyse de profil porte sur la variance entre les différentes phases, ainsi qu'entre les deux méthodes d'hydrolyse.

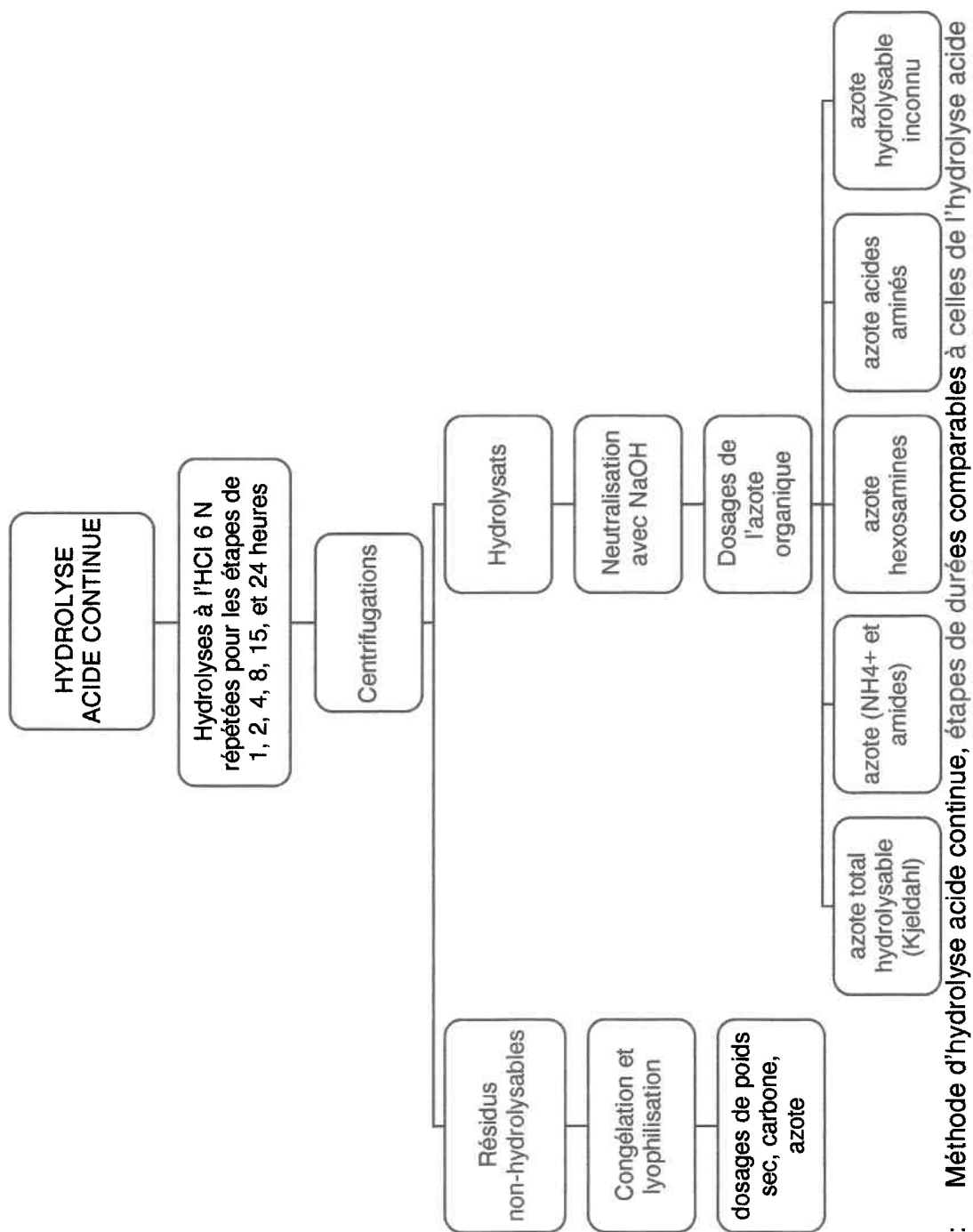


Fig. 3.6 : Méthode d'hydrolyse acide continue, étapes de durées comparables à celles de l'hydrolyse acide successive : 1, 2, 4, 8, 15, et 24 heures.

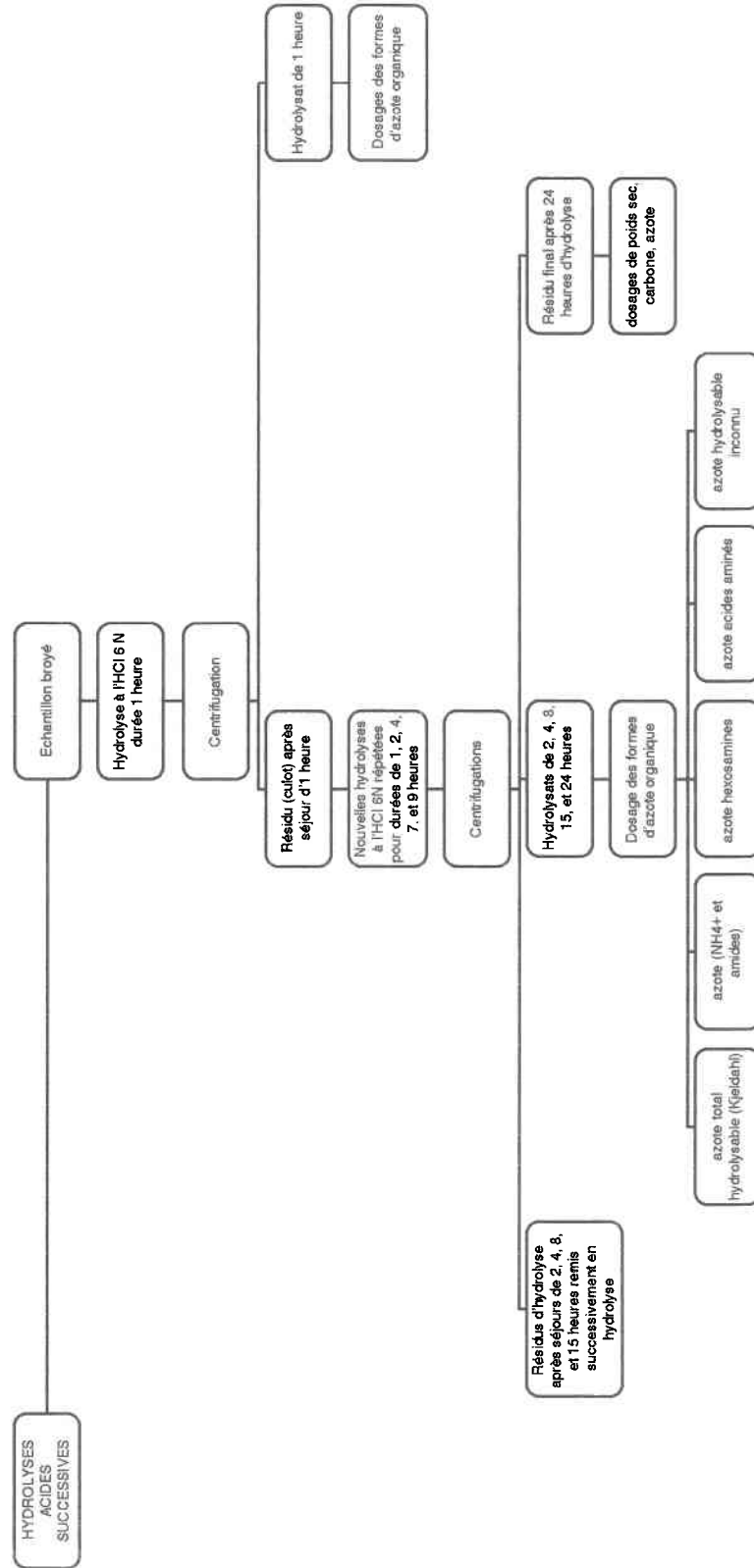


Fig. 3.7 : Méthode d'hydrolyses acides successives, étapes successives de 1, 2, 4, 8, 15, et 24 heures.

### 3.2 Méthodes analytiques

#### 3.2.1 Analyse des gaz à la sortie des composteurs

Il a été vérifié en plaçant deux erlenmeyers de chaque type en série, lors de la mise au point de l'expérience, que la quantité d'acide, d'une part pour la trappe à l'ammoniac, et que la quantité de base, d'autre part pour la trappe à CO<sub>2</sub>, étaient suffisantes pour capturer tous les gaz produits par période de 24 heures. Toutefois, pour s'assurer qu'il n'y aurait pas de dissolution du CO<sub>2</sub> dans la première trappe à ammoniac en cours d'expérience, il a été ajouté un indicateur coloré, du méthyl orange, dont le point de virage s'effectue à un pH inférieur à 6,3 qui équivaut au pK de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. En effet, lorsque l'ammoniac s'accumule dans la trappe acide, il y a formation de NH<sub>4</sub>Cl et le pH augmente progressivement.

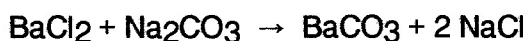
##### 3.2.1.1 Ammoniac

L'ammoniac, capturé dans la solution d'HCl 2N, est dosé par une électrode sélective à l'ammoniac de marque "ORION 95-10", reliée à un pH-mètre digital de la même marque. Après avoir mesuré le volume de liquide dans la trappe, une aliquote de 20 ml est prélevée pour le dosage. On ajoute quatre ml d'une solution de NaOH 10 N pour élever rapidement le pH de l'échantillon à 11-12, ce qui fait passer le NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sous forme NH<sub>3</sub> pour être mesuré par l'électrode sélective. La lecture est effectuée en millivolts au moment où la réponse de l'électrode est maximum; ensuite on note une baisse rapide de la concentration en NH<sub>3</sub> en raison de la perte de ce gaz par volatilisation. Le temps de réponse varie avec la concentration en NH<sub>3</sub>. La concentration en ammoniac est établie à partir d'une régression de six solutions standards de 10<sup>-6</sup> à 10<sup>-1</sup> molaire de NH<sub>4</sub>Cl, dont le

volume de l'aliquote servant à la mesure est identique à celui de l'échantillon. La quantité de NaOH ajoutée au standard est également la même, en raison de la forte réaction exothermique qui a lieu. On évite ainsi de devoir faire une correction du pH pour la température.

### 3.2.1.2 CO<sub>2</sub>

Le CO<sub>2</sub> capturé dans la solution alcaline de NaOH 2N est dosé selon une méthode adaptée d'Anderson (1982). Une quantité aliquote de 10 ml est prélevée dans la trappe après en avoir mesuré le volume total. Il y a ensuite précipitation des carbonates à l'aide d'une solution de BaCl<sub>2</sub> 3 N selon l'équation :



Le NaOH en excès est ensuite titré avec de l'HCl 1 N. La solution de NaOH 2 N est préparée tous les jours et une aliquote du blanc de 10 ml est titrée avec de l'HCl 1 N selon la même méthode que précédemment. Les titrages ont été effectués par une autoburette de marque "Radiometer Copenhagen ABU 91", le point d'équivalence est à pH 7.

## 3.2.2 Analyses physiques et chimiques des échantillons de fumier

### 3.2.2.1 Pourcentage d'eau et de matière sèche

Le pourcentage d'eau est déterminé après séchage de l'échantillon à l'étuve à 105°C, pendant 24 heures ou jusqu'à poids constant. La fraction restant après évaporation de l'eau est définie comme "matière sèche (M.S.)" ou "solides secs".

### 3.2.2.2 Pertes en eau et en solides secs

Les pertes en eau et en solides secs sont estimées par différence en mesurant la perte totale de poids sur l'échantillon frais entre le jour initial de l'expérience et le jour du prélèvement de l'échantillon de compost. Les proportions relatives d'eau et de M.S. sont connues après séchage à l'étuve.

### 3.2.2.3 Pourcentage en cendres et en solides volatiles

Le pourcentage en cendre est déterminé après perte au feu de l'échantillon sec, à 550°C au four à mouffles pendant 16 heures. Le pourcentage en solides volatiles est la quantité de matière perdue pendant la combustion.

### 3.2.2.4 Taux de dégradation

La perte de poids sous forme de solides secs durant le compostage d'un échantillon est essentiellement due à la dégradation de la matière organique, principalement le carbone, en CO<sub>2</sub>. Le contenu minéral ne doit donc pas varier durant le compostage, si l'on pose l'hypothèse qu'il n'y a pas de pertes préférentielles, par migration par exemple. On peut donc calculer un taux de dégradation basé sur le contenu en cendre de la M.S. de la manière suivante :

$$\text{Taux de dégradation (\%)} = \frac{\% \text{ cendre initial}}{\% \text{ cendre final}} \times 100$$

### 3.2.2.5 Mesure de pH

Le pH est mesuré par électrode combinée en verre "Fisher", en prélevant un volume de 20 ml d'échantillon frais et en l'homogénéisant dans un volume égal d'eau (v/v).



### 3.2.2.6 Carbone total

Le carbone total est analysé sur l'échantillon broyé par un auto-analyseur carbone-azote (NCS) de la marque "Carlo-Erba".

### 3.2.2.7 Rapport C/N

Le rapport carbone-azote est établi par le carbone total obtenu au NCS, sur l'azote total obtenu par la méthode Kjeldahl (NTK).

### 3.2.2.8 Les formes d'azote

La description des méthodes qui suivent a trait au dosage des différentes formes d'azote minérales et organiques présentes dans les échantillons de compost. Les méthodes utilisées sont extraites de la littérature et pour la plupart adaptées de différents auteurs. Ces méthodes ont en commun la transformation des formes spécifiques d'azote en ammonium; celui-ci est ensuite distillé, recueilli dans une solution d'acide borique, et finalement mesuré. La mesure de la quantité d'ammonium a été effectuée, lors des expériences au laboratoire, par une électrode sélective à l'ammonium de marque "Orion 95-12" reliée à un pH-mètre digital du même fabricant. Cette méthode remplace le titrage classique à l'acide sulfurique demandant plus de manipulation et donnant une moins bonne précision.

Il a été vérifié, au laboratoire, que la mesure de l'ammonium par l'électrode sélective remplace de façon adéquate le titrage à l'acide sulfurique. Il y a une bonne corrélation entre les deux méthodes (figure 3.8). Les standards de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (voir 3.2.1.1 dosage des gaz) sont distillés comme les échantillons et capturés

dans la même quantité de 5 ml d'acide borique ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ). Ils subissent ainsi la même dilution par la vapeur, lors de la distillation, que les échantillons. Les ajouts de plusieurs réactifs aux échantillons, dans des volumes très variables pour les méthodes spécifiques, ne sont pas à prendre en compte pour la fabrication des standards car, ces réactifs ne seront pas distillés avec l'ammonium d'une part, et d'autre part ils dégraderaient directement l'ammonium des standards ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ). Lors de la mesure, il y a prélèvement d'une aliquote de 20 ml de distillat ou de standard; ensuite on ajuste le  $\text{pH} > 12$  par un ajout de 0,75 ml d'une solution de  $\text{NaOH}$  5 N avec indicateur coloré "ammonia pH-adjusting ISA d'Orion".

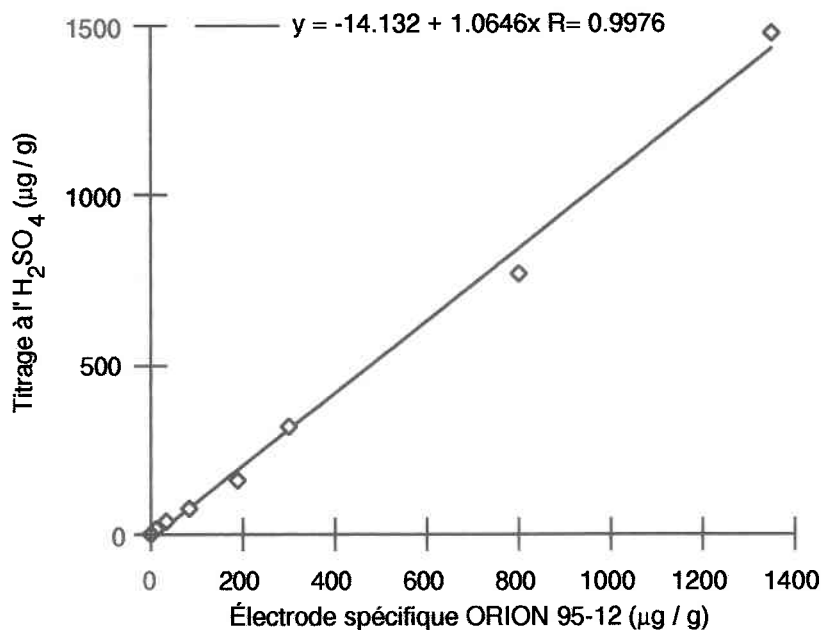


Fig. 3.8 : Corrélation entre le dosage de l'ammonium par l'électrode sélective et par le titrage à l'acide sulfurique.

### Azote total

Le contenu en azote total est analysé par une digestion Kjeldahl. La concentration en ammonium dans le digestat est mesurée après distillation par électrode sélective.

### Ammonium échangeable

L'ammonium échangeable est dosé, après extraction au KCl 2M, par distillation avec ajout de MgO lourd, selon la méthode de Bremner (1965) cité par Keeney et Nelson (1982).

### Nitrate et nitrite

Les formes nitrate et nitrite sont dosées conjointement par distillation, à la suite de la distillation de l'ammonium échangeable (*op. cit.*), avec du Devarda.

#### 3.2.2.9 Fractionnement de l'azote organique

La méthode de fractionnement de l'azote organique a été adaptée et mise au point lors de ces travaux de recherche, cette démarche fera l'objet d'une description détaillée au chapitre 6. Il s'agit d'une hydrolyse continue en deux étapes de 4 heures par ébullition à reflux avec de l'HCl 6 N. La première étape constitue une véritable hydrolyse continue de 4 heures à la suite de laquelle on dose les formes d'azote : total hydrolysable, acides aminés, hexosamines, et inconnu. La deuxième étape de 4 heures permet d'aller chercher une quantité supplémentaire d'azote hexosamines. La forme d'azote ( $\text{NH}_4^+$ , -amides) qui est plus facilement dégradable que les autres, fait l'objet d'une hydrolyse séparée, beaucoup plus douce à l'HCl 1 N pendant 3 heures (figure 3.9).

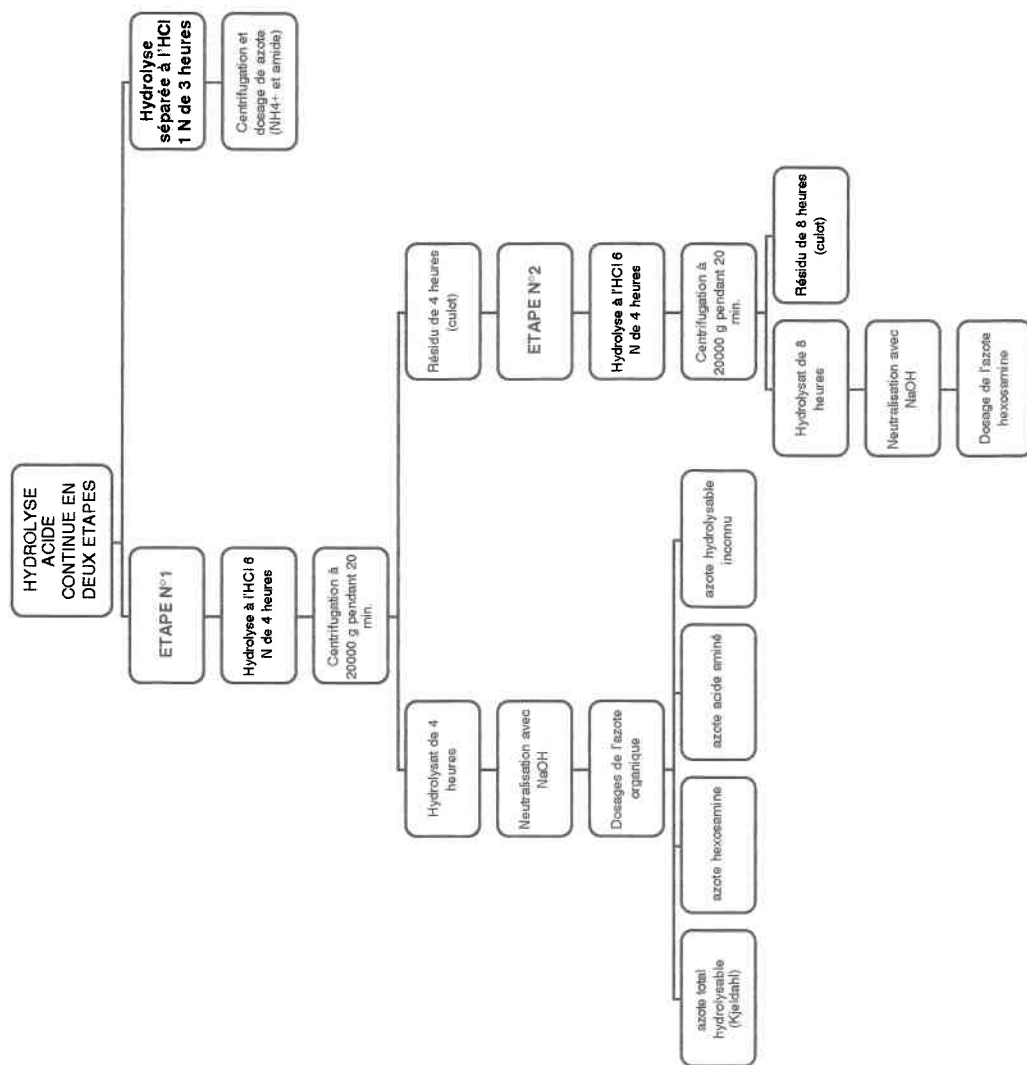


Fig. 3.9 : Méthode d'hydrolyse continue en deux étapes de 4 heures, avec une hydrolyse douce séparée pour doser la forme  $N-(NH_4^+, \text{amide})$

---

Les hydrolyses acides sont effectuées sur des échantillons lyophilisés d'environ 0,8 g , dans 25 ml d'HCl 6 N. Les opérations successives d'hydrolyse, de centrifugation, et de dilution sont présentées à la figure 3.10. Il faut noter que le facteur total de dilution est différent selon qu'il s'agit des hydrolyses opérées sur les échantillons provenant de la comparaison des méthodes d'hydrolyse, ou encore des expériences de laboratoire. Les échantillons, après centrifugation, sont gardés à pH 0 et à la température de la pièce, jusqu'au moment de la neutralisation pour le dosage.

#### Azote total hydrolysable

L'azote total hydrolysable est dosé par la méthode Kjeldahl.

#### Azote acides aminés

Les formes d'azote acides aminés sont dosées par la méthode de Bremner (1965), modifiée selon Yonebayashi et Hattori (1980). La quantité de ninhydrine servant à oxyder les acides aminés est augmentée de 100 à 200 mg afin de s'assurer la récupération complète de ceux-ci, et le temps de déamination est augmenté à une demi-heure minimum.

#### Azote ammonium, amides et hexosamines

Ces formes d'azote sont dosées conjointement selon la méthode de Bremner (1965), i.e. une distillation en présence de tampon PB (Phosphate-Borate) en maintenant le pH inférieur à 12 (Yonebayashi et Hattori, 1980).

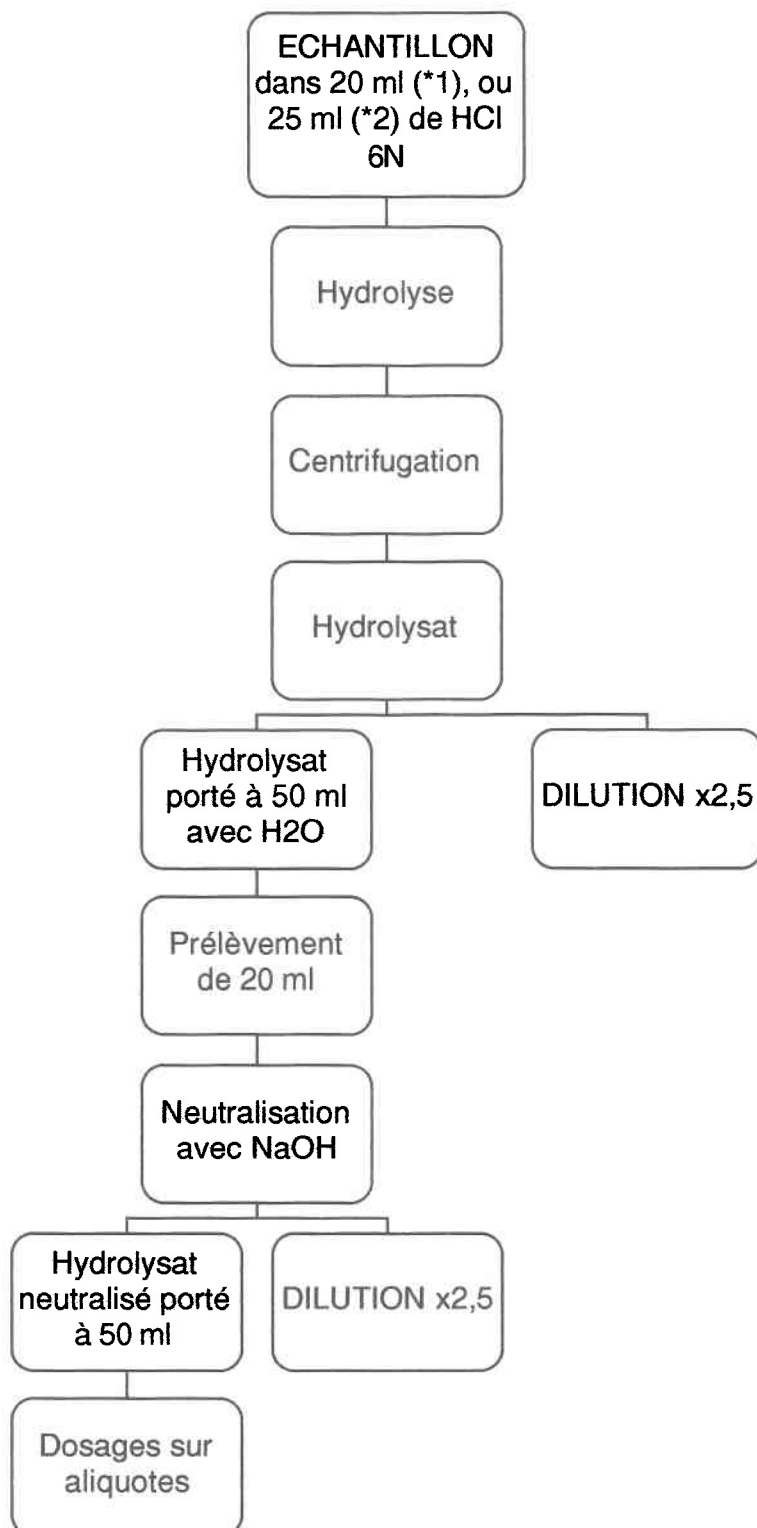


Fig. 3.10 : Hydrolyse acide continue et dilutions successives (\*1 = comparaison des méthodes d'hydrolyse et \*2 = compostage au laboratoire).

### Azote ammonium et amides

L'azote sous forme N-(ammonium, Amides) est dosé selon Yonebayashi et Hattori (1980), après une hydrolyse acide séparée, à l'HCl 1N à 100°C, pendant 3 heures. On prélève une quantité aliquote d'hydrolysate neutralisé de 10 ml à laquelle on ajoute  $0,7 \pm 0,1$  g de MgO au moment de la distillation.

### Azote hexosamines

L'azote hexosaminé est calculé par différence entre les formes N-(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, amides, hexosamines) dosées globalement, et les formes N-(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, amides), selon les méthodes décrites plus haut.

### Azote inconnu hydrolysable

L'azote inconnu hydrolysable, communément appelé HUN (Hydrolysable Unknown Nitrogen) dans la littérature, est obtenu en calculant la différence entre la quantité d'azote total hydrolysable moins l'azote acides aminés, moins l'azote (ammonium, amides, hexosamines).

### Azote non-hydrolysable

L'azote non-hydrolysable est l'azote total qui reste dans le résidu d'hydrolyse après centrifugation et séparation de l'hydrolysate. Cette forme d'azote est dosée par un auto-analyseur carbone-azote (NCS) de la marque "Carlo-Erba".

#### 3.2.2.10 Analyses spectroscopiques - PyFIMS

Quatre échantillons de compost, prélevés dans le composteur n°4 au cours de l'expérience #B au laboratoire, sont analysés par spectroscopie de masse. Les échantillons sont lyophilisés et broyés après prélèvement, sans autre séparation ou purification (Schnitzer et Schulten, 1992), et sont cryo-broyés à nouveau à l'azote liquide avant l'analyse, pour obtenir une meilleure homogénéisation. Les quatre spectres obtenus sont des moyennes de trois analyses différentes, calculées par ordinateur.

La méthode utilisée consiste à effectuer une pyrolyse au point-curie (Bühler et Simon, 1970) couplée à une spectroscopie de masse à champ ionisé, plus communément appelée en anglais "PyFIMS" pour Pyrolysis Field Ionization Mass Spectrometry (Schnitzer et al., 1991 ; Schulten et al., 1987).

Pour les analyses "PyFIMS", approximativement 100 µg de chaque échantillon ont été transférés à un four micro-onde au quartz et chauffés linéairement dans le système d'injection directe du spectromètre de masse, de 50 à 750°C à un taux de 1°C / s. Le spectromètre de masse utilisé est un spectromètre à double convergence Finnigan MAT 731 (Finnigan MAT, Bremen, Germany) (Schulten et al., 1987). La source ionique a été captée à une pression inférieure à 1 mPa et à une température de 250°C. Afin d'éviter la condensation de produits volatilisés durant l'enregistrement des spectres de masse FI, l'émetteur a été chauffé instantanément à 1500°C entre les balayages magnétiques. Environ 40 spectres dans l'intervalle des masses m/z 50 à m/z 750 ont été enregistrés. Les signaux FI de chaque spectre ont été intégrés et tracés pour



---

produire des spectres cumulatifs à l'aide d'un système de traitement de données Finnigan SS200. Le coefficient de variation des signaux de masse supérieurs à 0,2 % d'abondance relative des spectres cumulatifs est de 6 % ( $n = 5$ ). L'identification des produits de la pyrolyse a été basée sur la détermination de propriétés thermales (Schulten, 1987 ; Leinweber et al., 1992), des mesures de masse précises (Hempfling et al., 1988 ; Hempfling et Schulten, 1990), de point-Curie GC/MS (Hempfling et Schulten, 1991 ; Schulten et Schnitzer, 1990), de recherches approfondies dans les banques NIST et Wiley, et de recherches Py-MS de modèles de polymères.

# CHAPITRE 4

## LA DYNAMIQUE DE RÉORGANISATION DE L'AZOTE DURANT LE COMPOSTAGE DE FUMIER DE BOVIN : EXPÉRIENCES EN COMPOSTEURS DE LABORATOIRE

### 4.1 Introduction

Le cycle de l'azote est en général très bien documenté. On retrouve dans la littérature plusieurs travaux traitant des aspects particuliers de la fixation de l'azote (Nommik et Vahtras, 1982), des pertes d'azote par lessivage (White, 1987; Kirchmann, 1985) et par volatilisation (Freney et Black, 1987 ; Freney et al., 1983; Adriano et al., 1974), de la nitrification (Flowers et O'Callaghan, 1983) et de la dénitrification (Parsons et al., 1991 ; Tiedje, 1988 ; Fillery, 1983 ; Focht et Verstraete, 1977), ainsi que de la minéralisation et de l'immobilisation de l'azote (Jansson et Persson, 1982) soit en écologie microbienne, dans la gestion des fumiers, ou encore dans l'étude de systèmes sol-plantes.

Cependant, le cycle de l'azote est beaucoup moins connu lors de la transformation d'un substrat organique par le procédé de compostage; la synthèse des aspects connus et importants du cycle de l'azote, relatifs au compostage des fumiers, a été présentée au chapitre 2 de cette thèse.

La présente série d'expériences réalisées en laboratoire a pour objectif d'étudier la dynamique de réorganisation de l'azote pendant le processus de compostage. Le but de cette étude est de mieux comprendre en quoi les formes d'azote organiques et minérales présentes dans le fumier frais sont transformées dans le compost. On pose l'hypothèse que les successions écologiques caractéristiques des micro-organismes durant le processus de compostage auront pour effet d'augmenter la teneur en azote organique sous des formes chimiques plus complexes et plus stables.

La succession écologique des micro-organismes responsables de la dégradation de la matière organique durant le processus de compostage ainsi que les conditions générales du compostage sont habituellement caractérisées dans la littérature par l'évolution de la courbe des températures (Biddelstone *et al.*, 1987 ; Crawford, 1983 ; Brakel, 1982 ; Gray et Biddlestone, 1981 ; Poincelot, 1974). Cependant, l'utilisation de la température comme mesure de l'activité microbienne dans les composts comporte plusieurs problèmes; certains d'entre eux ont été observés dans la présente étude (annexe B). D'autres travaux rapportent également des problèmes à l'utilisation de la température comme paramètre principal (Ott, 1990 ; Lau et Wu, 1987), sans proposer d'approche alternative. Il semble que malgré un matériau de départ identique, certains facteurs ne sont pas constants entre les répétitions expérimentales et peuvent

---

influencer, de façon significative, les mesures de température; il s'agit de la proportion relative des chemins préférentiels de diffusion de l'air à travers la masse du compost, ce qui influence l'activité microbienne, ou encore de la variation des caractéristiques du fumier en compostage qui diffère d'une expérience à l'autre, telle la teneur en humidité par exemple (Ott, 1990). La température interne d'un tas de compost n'est en fait qu'une mesure indirecte du flux de chaleur produit par les micro-organismes, qui est un facteur témoin direct de la dégradation aérobie de la matière organique. Cette température est fonction de la chaleur massique des substrats utilisés pour le compostage et de l'isolation de la masse (Mustin, 1987).

La mesure de la température lors du compostage est importante, car il a été déterminé expérimentalement qu'il faut : (i) limiter la montée des températures entre 50°C et 60°C lors de la phase thermophile pour optimiser le processus de compostage (Finstein *et al.*, 1980 ; MacGregor *et al.*, 1981), et (ii) passer par des températures supérieures à 45°C (phase thermophile) pour détruire les pathogènes du substrat en compostage (Zucconi et de Bertoldi, 1987).

L'utilisation de la température, conjointement avec la teneur en oxygène dans l'air et le taux d'humidité du compost, pour contrôler le procédé de compostage par l'entremise de l'aération, n'est donc pas remise en question. Cependant, lorsqu'il s'agit d'interpréter la dynamique de réorganisation de l'azote au cours des phases du compostage, la température ne peut être utilisée comme variable indépendante de façon satisfaisante.

En conséquence, la caractérisation des phases du compostage est effectuée par une approche multivariée, plutôt que par l'évolution des

températures, à partir des échantillons prélevés dans deux composteurs de laboratoire. Elle est obtenue par l'analyse numérique d'une matrice multidimensionnelle de données, composée de 19 descripteurs physico-chimiques mesurés à 13 reprises dans le temps, dans chaque composteur.

## 4.2 Résultats et discussion

### 4.2.1 Évolution du processus de compostage

#### 4.2.1.1 Dégagement de dioxyde de carbone

Le niveau général de l'activité microbienne dans les quatre composteurs de laboratoire est représenté par les quantités cumulatives de C-CO<sub>2</sub> dégagées par 24 heures (figure 4.1).

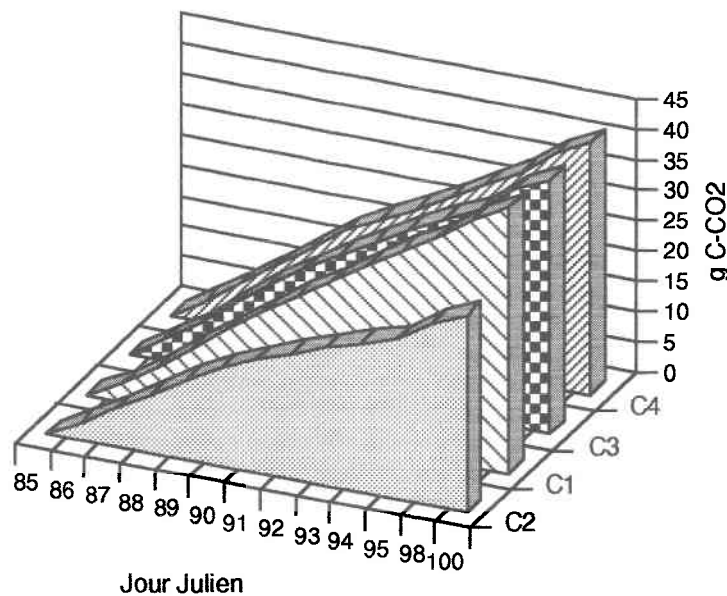


Fig. 4.1 : Quantités cumulatives de C-CO<sub>2</sub> dégagées par composteur.

On observe que les quantités totales de C-CO<sub>2</sub> dégagées à la fin de l'expérience sont du même ordre pour trois des quatre composteurs. Les quantités de C-CO<sub>2</sub> dégagées varient de façon significative (analyse de profil, test d'égalité des modalités du facteur de comparaison,  $\alpha = 0,001$ ) au cours du temps pour les quatre composteurs (C1 à C4), mais les quatre profils ne sont pas

parallèles (test de parallélisme des profils significatif,  $\alpha = 0,001$ ). La quantité totale de C-CO<sub>2</sub> issue du deuxième composteur (C2) est environ 75% de celle provenant des autres composteurs (C1, C3 et C4). Cette différence provient d'une diminution de l'activité microbienne au cinquième jour, qui pourrait être imputée à une condition expérimentale, probablement une déshydratation plus rapide provoquée par les conditions d'aération forcée. La quantité totale de C-CO<sub>2</sub> produite par kilogramme de matière sèche sur base initiale dans les composteurs n°1, 3, 4 est approximativement de 25 à 28 g de C-CO<sub>2</sub> / kg de M.S.. Ces taux de C-CO<sub>2</sub> sont du même ordre que les taux de 24 à 31 g de C-CO<sub>2</sub> / kg de M.S. que Sikora et Sowers (1985) rapportent pour une durée d'expérience de compostage équivalente (10 à 15 jours) avec des boues d'épuration, mais nettement moindres que les taux de 126 à 206 g de C-CO<sub>2</sub> / kg de M.S. mesurés par Witter (1986), également avec des boues d'épuration.

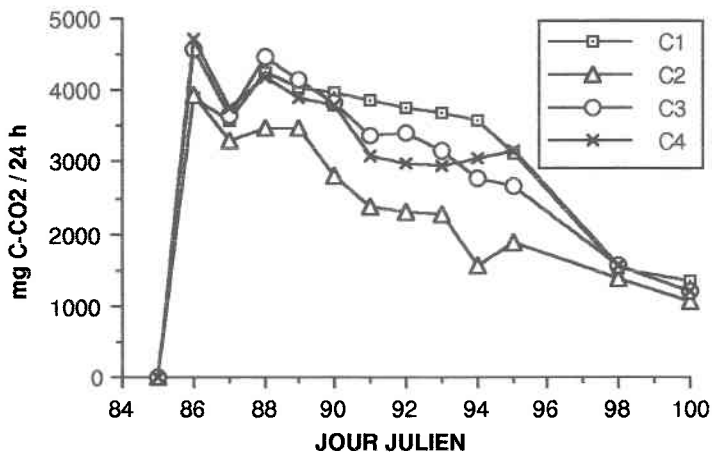
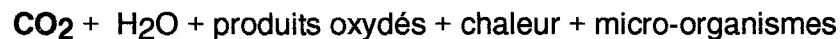


Fig. 4.2 : Quantités de C-CO<sub>2</sub> dégagées par composteur par période de 24 heures.

Les courbes de production de C-CO<sub>2</sub> par période de 24 heures (figure 4.2) indiquent un maximum au début du processus de compostage, et ensuite une diminution régulière jusqu'à la fin de l'expérience.

La consommation d'oxygène par une masse organique est un paramètre direct de l'activité des micro-organismes aérobies qui permet de situer le stade d'évolution atteint par un compost (Mustin, 1987). Il y a une relation inverse et proportionnelle entre la diminution d'oxygène par consommation et l'augmentation de gaz carbonique produit lors du compostage selon l'équation suivante :



Cette relation demeure valable tant que le taux d'oxygène dans l'air, circulant dans les espaces lacunaires, du compost reste compris entre 5% et 21% (Mustin, 1987).

Lors des présentes expériences en composteurs de laboratoire, il n'a pas été possible de mesurer ni la consommation d'oxygène, ni le taux d'oxygène dans l'air, mais il a été possible de constater que la diffusion de l'air forcé se faisait de façon optimale et que l'air barbotait dans les trappes à la sortie des composteurs. Par conséquent, on peut poser l'hypothèse qu'il n'y a pas eu d'anaérobiose dans les composteurs, laquelle est corroborée par la diminution rapide de production d'ammoniac (voir la figure 4.4 au paragraphe 4.2.1.2), et on considère que les quantités de C-CO<sub>2</sub> produites lors du compostage au laboratoire sont une assez bonne indication du niveau de l'activité microbienne. Par ailleurs, la mesure de



l'oxygène dans l'air devrait apporter moins d'information qu'il n'y paraît à première vue et pour trois raisons : (i) la présence d'oxygène est une condition nécessaire mais pas suffisante pour une décomposition aérobique rapide ; (ii) toute mesure d'O<sub>2</sub> n'offre qu'une représentation limitée des différents micro-environnements présents dans la masse en compostage ; (iii) la solubilité de l'O<sub>2</sub> varie inversement à l'élévation de température et sa disponibilité diminue en conséquence pour les micro-organismes (Finstein *et al.*, 1987).

#### 4.2.1.2 Dégagement d'ammoniac

Les quantités cumulatives de N-NH<sub>3</sub> dégagées par période de 24 heures (figure 4.3) ont tendance à être globalement de même niveau pour les composteurs n° 2 et 4 (C2 et C4), mais inférieures aux quantités dégagées par les composteurs n° 1 et 3 (C1 et C3).

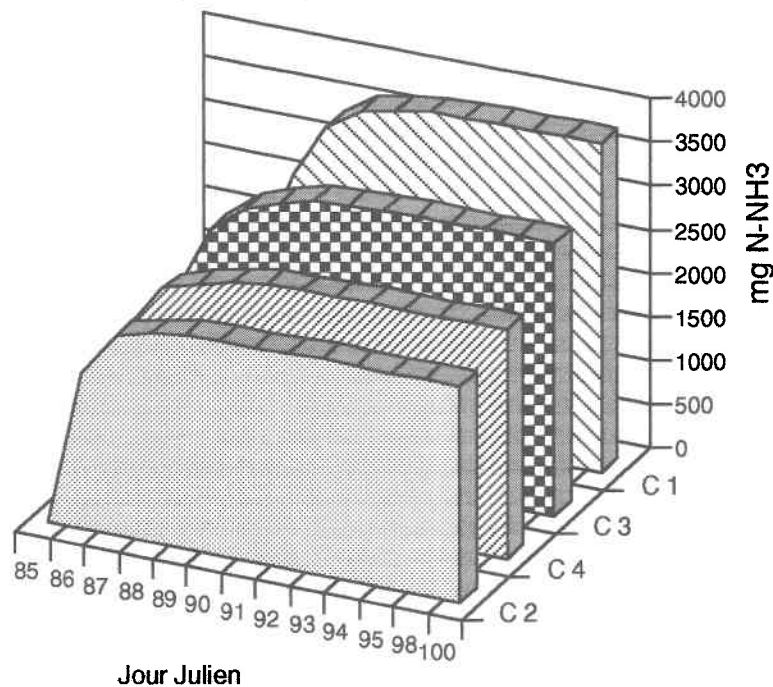


Fig. 4.3 : Quantités cumulatives de N-NH<sub>3</sub> dégagées par composteur.

Les tendances observées, i.e. les quantités totales moindres de N-NH<sub>3</sub> dégagées par les composteurs n°2 et 4 pourraient s'expliquer par le prélèvement quotidien d'un échantillon de compost dans ces composteurs. Ceci aurait pour effet de diminuer la masse de substrat pouvant produire de l'ammoniac, et d'autre part de permettre la fuite d'ammoniac lors de l'ouverture des composteurs.

Les quantités quotidiennes de N-NH<sub>3</sub> dégagées (figure 4.4) diminuent de façon significative (test d'égalité des modalités du facteur de comparaison,  $\alpha = 0,01$ ) et parallèle (test de parallélisme des profils non significatif), au cours du temps, pour les quatre composteurs (C1 à C4).

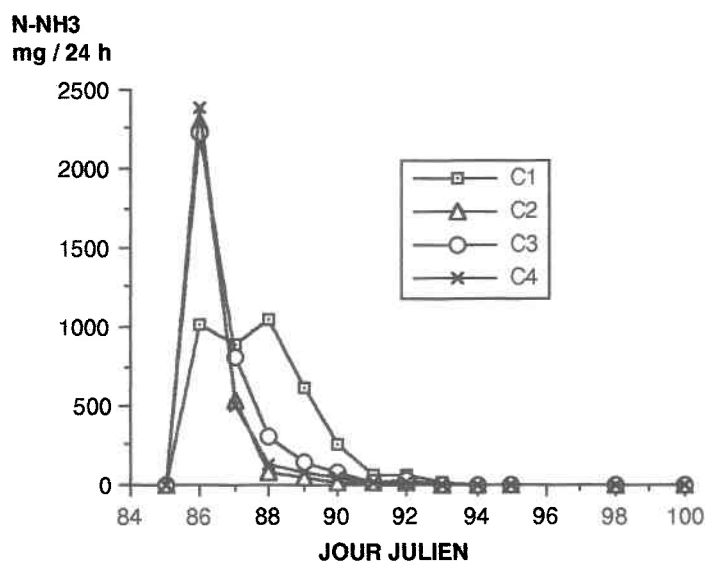


Fig. 4.4 : Quantités de N-NH<sub>3</sub> dégagées par composteur par période de 24 heures. Les quatre profils sont égaux (test d'égalité des profils non-significatif).

La diminution très rapide du niveau d'ammoniac produit et dégagé, lors des trois premiers jours de compostage, indique probablement que l'azote organique, contenu dans le fumier au départ, a été rapidement minéralisé. Si tel est le cas, on peut conclure que les processus sont de nature oxydative et qu'il devrait y avoir soit une nitrification rapide de l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) produit par la minéralisation de l'azote organique, soit une adsorption du  $\text{NH}_4^+$  au niveau des charges négatives de la matière organique, ou encore une immobilisation rapide du  $\text{NH}_4^+$  échangeable par les micro-organismes en croissance. Cette dernière hypothèse tend à être confirmée par le niveau élevé de production de C-CO<sub>2</sub> (figure 4.2) lors des trois premiers jours de compostage. La voie d'une nitrification rapide du  $\text{NH}_4^+$  au début du processus de compostage doit être éliminée en raison de l'inhibition de la nitrification par les hautes températures et la forte concentration en  $\text{NH}_4^+$  (Bishop et Godfrey, 1983).

#### 4.2.1.3 Carbone total

La diminution de la teneur en carbone total du fumier a été globalement de même niveau dans les quatre composteurs (C1 à C4), au cours de la durée de l'expérience (jour 85 au jour 100). La teneur en carbone total est passée de 44 % à moins de 30 % de la matière sèche au moment de la fin de l'expérience (figure 4.5).

On remarque, par ailleurs à la figure 4.6, que la diminution de la teneur en carbone total au cours de l'expérience de compostage dans les deux composteurs échantillonnés tous les jours (test d'égalité des modalités du facteur de comparaison significatif,  $\alpha = 0,001$ ) est très bien corrélée aux quantités cumulatives de C-CO<sub>2</sub> dégagées par ces mêmes composteurs.

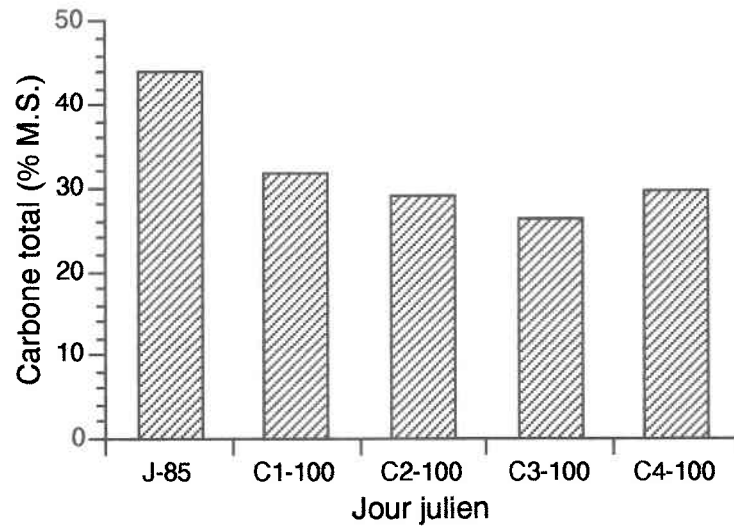


Fig. 4.5 : Pourcentage de carbone total du fumier au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (c.v.= 0,7%), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres (voir 4.2.1.6).

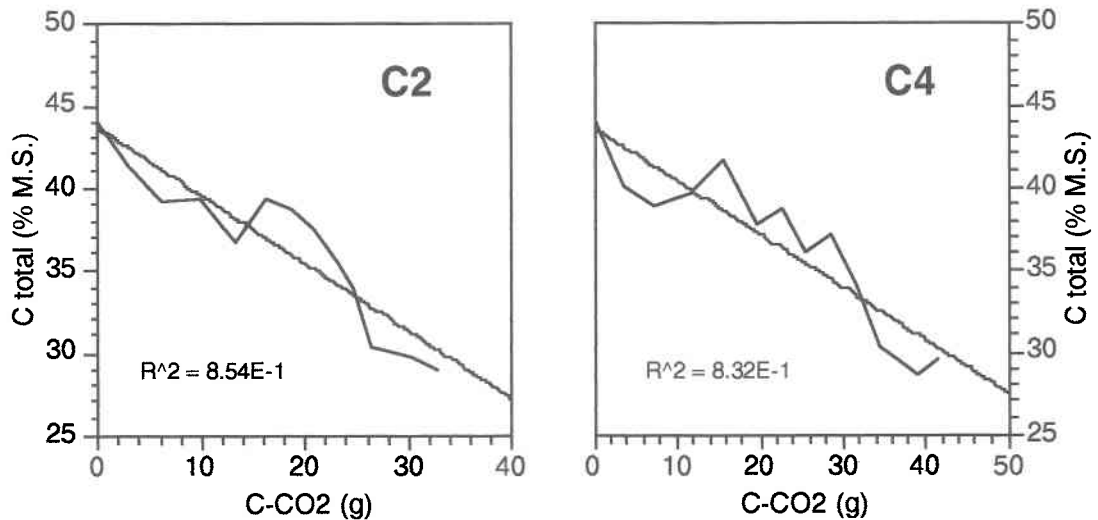


Fig. 4.6 : Régressions linéaires entre le pourcentage de diminution en carbone total du compost et les quantités cumulatives de C-CO<sub>2</sub> dégagées, au cours des 13 jours d'échantillonnage, dans les composteurs (C2 et C4).

#### 4.2.1.4 L'azote

Les pertes d'azote dans les quatre composteurs (C1 à C4), au cours du processus de compostage entre les jours initial (J-85) et final (J-100), sont représentées à la figure 4.7 sous les différentes formes d'azote total mesurables : l'azote total Kjeldahl, l'azote total hydrolysable et l'azote non-hydrolysable.

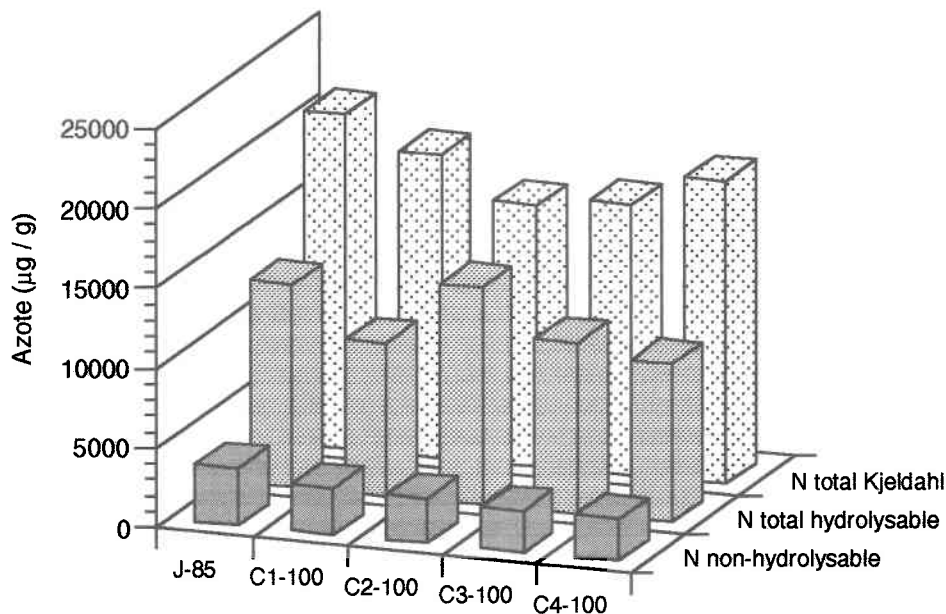


Fig. 4.7 : Formes d'azote (N) total Kjeldahl, d'azote total hydrolysable et d'azote non-hydrolysable (N total des résidus) au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (en  $\mu\text{g} / \text{g}$  de matière sèche), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres (voir 4.2.1.6).

Normalement, le contenu d'un compost en azote total sur base de matière sèche augmente au cours du compostage. Mais si on considère la perte de poids sous forme de solides secs, par volatilisation de  $\text{CO}_2$  pendant le processus, on

observe des pertes d'azote variant de 0% à 25% selon les procédés utilisés (Ott, 1990).

La perte d'azote total Kjeldahl (NTK en  $\mu\text{g} / \text{g}$  de matière sèche corrigée), qui est l'azote organique total contenu dans les échantillons de fumier et de compost, n'est pas de même niveau dans les quatre composteurs (figure 4.7). En effet, la perte de NTK est plus importante dans les composteurs C2 et C3 (22% et 20%) que dans les composteurs C1 et C4 (10%). Cette perte plus importante dans le composteur C2 pourrait être en relation avec le ralentissement de l'activité microbienne observé à la figure 4.1. Cette affirmation est valable dans l'hypothèse où les conditions expérimentales qui sont à l'origine de ce ralentissement, par déshydratation du substrat, ont amené des conditions favorables à la nitrification, et subséquentement à la dénitrification dans les microsites anaérobies (Ott, 1990), et donc à la perte d'azote sous forme de  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}$ , et  $\text{N}_2$ . En effet, lorsque l'activité microbienne diminue il y a ralentissement de la minéralisation de la matière organique et diminution de la concentration en  $\text{NH}_4^+$ . La diminution de la concentration en  $\text{NH}_4^+$ , conjuguée à la chute des températures et aux meilleures conditions d'aération, permet le processus de nitrification (Bishop et Godfrey, 1983). Le processus de nitrification effectué par les bactéries autotrophes des genres Nitrosomonas et Nitrobacter consomme du  $\text{CO}_2$  (Martin, 1979), ce qui peut également expliquer la diminution relative du dégagement de  $\text{CO}_2$  à la sortie du composteur C2 (figure 4.1). Il n'y a pas d'interprétation équivalente aux pertes de NTK plus fortes dans le troisième composteur (C3) dans l'intervalle de temps de l'expérience. Cependant, une nitrification et une dénitrification sont probablement en cours vers la fin de l'expérience dans le composteur C3 puisqu'on y observe, en comparaison des

autres composteurs, une plus forte proportion de nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) et une plus faible proportion de  $\text{NH}_4^+$  au jour final (figure 4.8, C3-100).

L'hypothèse de la perte d'azote total par le processus de dénitrification s'appuie sur celle de Broadbent et Clark (1965), qui disent que : "Les pertes d'azote qui ne sont pas mesurées dans les phases solide ou liquide, ou encore qui ne peuvent pas être piégées dans la phase gazeuse, ne peuvent résulter que sous forme d'azote moléculaire ( $\text{N}_2$ ) par la dénitrification.". Les pertes d'azote sous forme gazeuse, produites par le processus de dénitrification, n'ont pas été mesurées durant les expériences de compostage au laboratoire.

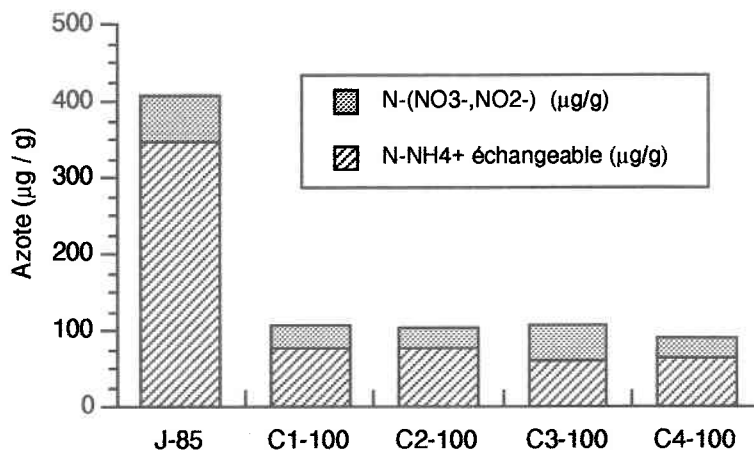


Fig. 4.8 : Formes d'azote minéral au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (en  $\mu\text{g} / \text{g}$  de matière sèche), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres.

Les pertes d'azote minéral (figure 4.8) ont été globalement de 75% entre le premier jour (J-85) et le dernier jour de compostage (J-100) dans les quatre composteurs (C1 à C4). La composition de l'azote minéral en ses formes ammonium échangeable ( $\text{NH}_4^+$ ) et nitrate-nitrite ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) est similaire pour

les composts C1-100, C2-100 et C4-100; la diminution en  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  y a été de 50% en moyenne et la diminution en  $\text{NH}_4^+$  échangeable de 80% en moyenne. Dans le compost C3-100, la diminution de la teneur en  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  (20%) a été inférieure à celle subie dans les autres composteurs. Les pertes en ammonium échangeable ont été drastiques durant ces expériences de compostage au laboratoire (80%), mais peuvent même aller dans certains cas jusqu'à 95% de leur valeur initiale dans le fumier (Ott, 1990). Cependant, ces pertes en ammonium échangeable ne constituent que 8% environ des pertes en azote total (NTK) par composteur, contre les pertes en ammoniac ( $\text{NH}_3$ , voir 4.2.1.2) qui constituent environ 60% des pertes en azote total (NTK) par composteur. L'estimation des pertes totales (en % de NTK) a été calculée à partir des résultats de  $\text{NH}_4^+$  et de  $\text{NH}_3$  en  $\mu\text{g} / \text{g}$  de matière sèche multipliés par une moyenne de 1600 g de fumier sec par composteur au jour initial (teneur en M.S.= 20%).

À la fin de l'expérience, le compost C2-100 contient plus d'azote total hydrolysable, en valeur absolue, qu'au départ dans le fumier (figure 4.7). Cette observation atteste que la transformation de l'azote dans le composteur C2 a pu être différente de celle des autres composteurs. La composition de l'azote total hydrolysable du compost C2-100 est également différente (figure 4.9), ce compost contient proportionnellement plus d'azote hydrolysable inconnu (HUN) et moins d'azote acide aminé que les autres composts.

Finalement, l'azote non-hydrolysable (figure 4.7), qui est l'azote total des résidus d'hydrolyse (voir chapitre 3, figure 3.14), accuse une diminution variant de 20% à 29% dans les quatre composteurs à la fin de l'expérience. Cette forme d'azote n'est pas identifiable au point de vue de ses structures chimiques.



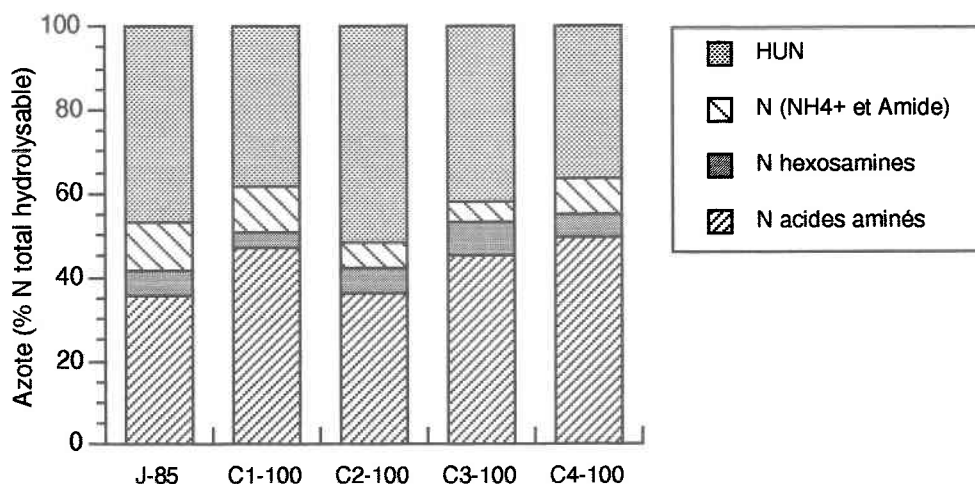


Fig. 4.9 : Formes d'azote organique au jour initial (J-85), et au jour final pour les quatre composteurs (C1-100 à C4-100). Résultats = moyennes de 3 échantillons (en % de N total hydrolysable), corrigées par la perte de poids sur base du contenu en cendres. HUN = azote hydrolysable inconnu.

#### 4.2.1.5 Rapport carbone - azote

Le rapport carbone-azote (C/N) du fumier pailleux, au début du compostage, ainsi que sa valeur à la fin de l'expérience dans les quatre composteurs sont donnés à titre indicatif au tableau 4.1.

Tableau 4.1

Rapport C/N\*  
dans les 4 composteurs aux jours initial (85) et final (100)

J-85	C1-100	C2-100	C3-100	C4-100
21,06	16,83	17,77	15,55	15,60

\* Carbone total (analyseur NCS) et azote total Kjeldahl (NTK).

Bien que la valeur du rapport C/N soit abondamment utilisée dans la littérature pour caractériser le potentiel de décomposition de la matière organique (voir la revue de littérature de Witter, 1986), son utilisation brute est à remettre en question. En effet, la décomposition de la matière organique dépend de la biodisponibilité du carbone et de l'azote qui ne sont pas exprimées dans ce rapport. La biodisponibilité du carbone varie avec la nature des substrats en compostage, mais aussi avec la taille des particules de substrat (Biddlestone et Gray, 1987). Meyer et Sticher (1983) ont montré que le taux d'azote organique augmente dans un compost proportionnellement à la diminution de la taille des brins de paille hachée, alors que Willson et Hummel (1975) n'ont pu démontrer que l'addition de paille avait pour effet de diminuer les pertes en azote, attribuant ceci à la faible biodisponibilité du carbone dans la paille. Durant les expériences de compostage au laboratoire, il a été observé qu'en essayant de corriger le rapport C/N du fumier par l'addition de paille directement dans le dalot (à l'étable), on augmentait non seulement la teneur en carbone mais également la teneur en azote, en raison du pouvoir d'absorption de l'urine (urée) par la paille.

#### 4.2.1.6 Décomposition de la matière organique

La décomposition de la matière organique est le processus essentiel du compostage. Au sens strict de la définition du compostage (Zucconi et de Bertoldi, 1987), il s'agit d'une oxydation de la M.O. par les micro-organismes qui s'accompagne d'une production de CO<sub>2</sub>. Cette production résulte en une réduction significative de la matière sèche et en une réduction de poids du compost. La perte de poids atteint dans certains cas de 10% à 30% du poids

initial en M.S. (Ott, 1990), mais peut aller jusqu'à 40% à 50% du poids initial en M.S. lors du compostage de fumier (Meyer, 1979 et Ott, 1980 cités par Ott, 1990).

Dans la littérature, plusieurs auteurs n'ont pas tenu compte de la perte en matière sèche au cours du temps pour estimer les pertes d'azote (DeBertoldi *et al.*, 1984 ; Bishop et Godfrey, 1983 ; Hong *et al.*, 1983). Ces auteurs ont mesuré les pertes en terme de différence en teneur d'azote, ce qui amène des erreurs importantes (Witter, 1986). Il faut donc tenir compte des pertes en solides secs dans le temps, lors des expériences de compostage au laboratoire, selon le principe illustré à la figure 4.10.

Les pertes de solides secs peuvent être estimées de deux manières; soit en mesurant directement la perte de poids sec lors de la prise de l'échantillon, soit en mesurant l'évolution du contenu en cendres des échantillons en assumant que la partie minérale demeure constante.

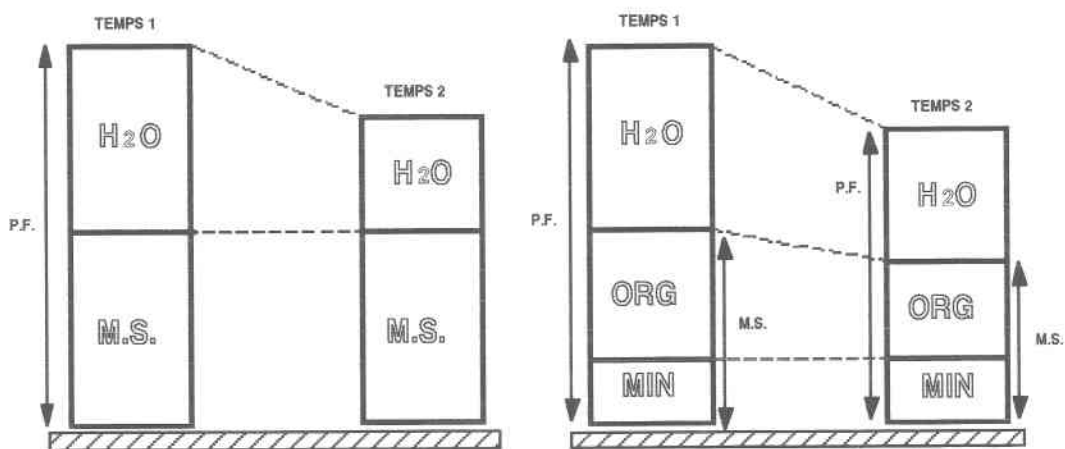


Fig. 4.10 : Illustration du principe de la perte de matière sèche (M.S.) au cours du compostage sous forme de CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>. Le schéma de gauche représente l'approche erronée. P.F.= poids frais.

### Pertes en solides secs

La perte en solides secs, mesurée dans les composteurs C2 et C4 à chaque échantillonnage, augmente dans le temps de façon significative (test d'égalité des modalités du facteur de comparaison,  $\alpha = 0,05$ ) et son évolution est parallèle entre les deux composteurs (test de parallélisme des profils non significatif). Cependant, si on observe les valeurs de ce paramètre (figure 4.11) vers la fin de l'expérience elles semblent anormalement élevées en comparaison des pertes de solides secs habituellement retrouvées dans la littérature. De plus, l'évolution de la perte en solides secs dans les deux composteurs n'est pas constante dans le temps. On peut attribuer l'évolution, en "dent de scie", de ce paramètre au manque de précision de la méthode de pesée des filets (voir chapitre 3, § 3.1.1.4) au moment de l'échantillonnage. En effet, lors de la sortie de l'échantillon chaud du composteur, une évaporation en eau supplémentaire peut se produire et introduire ainsi une erreur dans le calcul de la perte de poids.

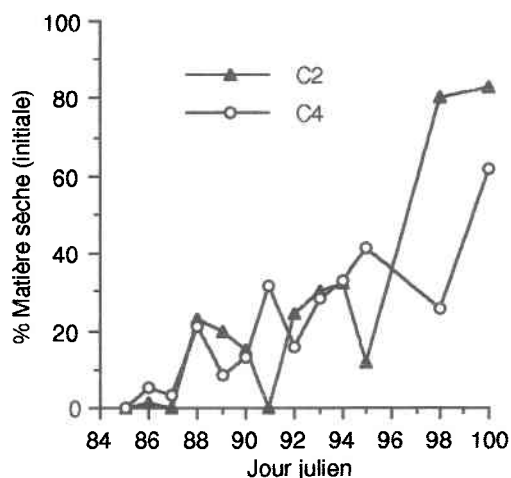


Fig. 4.11 : Pertes en solides secs des échantillons, dans les composteurs C2 et C4, au cours du compostage.

### Pourcentage en cendres et taux de dégradation

Si on assume que, dans les expériences en composteur de laboratoire, la fraction minérale (cendres) du fumier demeure constante au cours du compostage, c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'entraînement des éléments minéraux par lessivage, on peut expliquer que le pourcentage en cendres augmente, relativement à la matière sèche qui diminue (pertes de solides secs). On observe à la figure 4.12 que le pourcentage en cendres des échantillons, prélevés dans les composteurs C2 et C4 au cours du compostage, augmente dans le temps de façon significative (test d'égalité des modalités du facteur de comparaison,  $\alpha = 0,001$ ) et son évolution est parallèle entre les deux composteurs (test de parallélisme des profils non significatif).

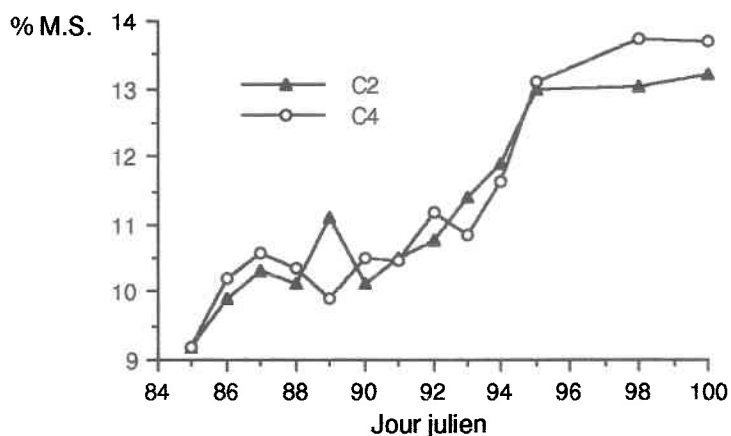


Fig. 4.12 : Pourcentage en cendres des échantillons, dans les composteurs C2 et C4, au cours du compostage.

L'augmentation dans le temps de ce paramètre est plus constante que l'évolution des pertes en solides secs (figure 4.11). De plus, vers la fin de l'expérience, l'augmentation du pourcentage en cendres s'infléchit, ce qui indique une diminution des pertes de matière sèche. Le ralentissement des pertes de

M.S. est naturel vers la fin du processus de compostage, puisqu'à ce stade l'activité microbienne est plus faible et que la M.O. a tendance à se stabiliser.

L'utilisation du pourcentage en cendres, sous forme de taux de dégradation, paraît donc plus précise que la mesure des pertes en solides secs par différence de poids, pour estimer les pertes de matière sèche sous forme gazeuse, et corriger les valeurs de toutes les autres variables mesurées sur les échantillons (figure 4.13).

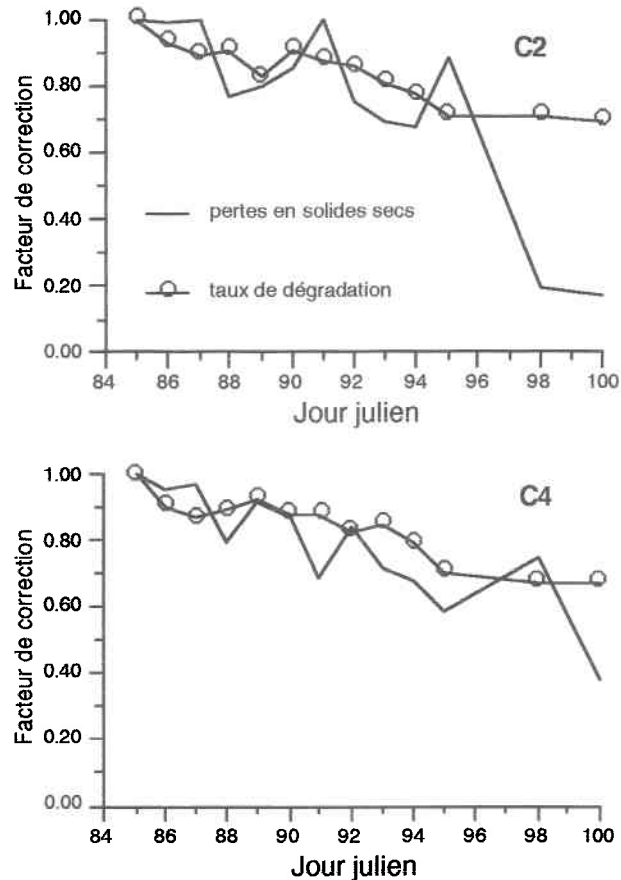


Fig. 4.13 : Comparaison des facteurs de correction établis à partir de la mesure de la perte en solides secs par la méthode de pesée et du calcul du taux de dégradation à partir du pourcentage en cendres, dans les composteurs C2 et C4.

Le taux de dégradation basé sur le pourcentage en cendres de la matière sèche est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de dégradation (\%)} = \frac{\text{contenu en cendres (temps initial)}}{\text{contenu en cendres (temps d'échantillonnage)}} \times 100$$

Le facteur de correction (figure 4.13) pour la perte de matière sèche est établi à partir du taux de dégradation selon la formule :

$$\text{Facteur de correction} = \frac{\text{taux de dégradation}}{100}$$

#### 4.2.2 Dynamique de réorganisation de l'azote

##### 4.2.2.1 Représentativité des résultats

Les résultats de l'analyse de variance, ou analyse de profil, effectuée sur les différentes variables caractérisant l'évolution de l'azote dans le temps, pour les composteurs C2 et C4 échantillonnés tous les jours, sont résumés au tableau 4.2.

Tableau 4.2

Résultats de l'analyse de profil\*  
pour l'évolution des différentes formes d'azote  
dans les composteurs C2 et C4 au cours du compostage

VARIABLES	TEST 1	TEST 2	TEST 3
	Comparaison de moyennes	parallélisme	Égalité des 2 profils
	erreur $\alpha$	erreur $\alpha$	erreur $\alpha$
Azote total Kjeldahl (% M.S.)	0,05	N.S.	N.S.
Azote total hydrolysable ( $\mu\text{g/g}$ )	0,05	0,05	*
Azote non-hydrolysable ( $\mu\text{g/g}$ )	N.S. (anova = 0,05)	N.S.	N.S.
Ammonium échangeable ( $\mu\text{g/g}$ )	0,05	N.S.	N.S.
Nitrates et nitrites ( $\mu\text{g/g}$ )	0,01	N.S.	N.S.
Azote acides aminés ( $\mu\text{g/g}$ )	N.S.	N.S.	0,001
Azote hexosamines ( $\mu\text{g/g}$ )	0,05	N.S.	N.S.
Azote ( $\text{NH}_4^+$ et Amide) ( $\mu\text{g/g}$ )	0,05	0,05 (anova = N.S.)	N.S.
Azote hydr. inconnu ( $\mu\text{g/g}$ ) (HUN)	0,01	0,01	N.S.

\*voir "Plan à mesures répétées", chapitre 3, § 3.1.1.6. N.S. = non significatif.

On remarque par les résultats du test de comparaison de moyennes, ou test d'égalité des modalités du facteur de comparaison, que presque toutes les formes



d'azote varie de façon significative dans le temps et dans les deux composteurs, sauf pour l'azote non-hydrolysable et l'azote acide aminé. Dans le cas de l'azote non-hydrolysable, les différents critères du test de comparaison de moyennes sont non-significatifs à l'inverse du test d'anova qui est significatif, on peut donc conclure à une variation significative de ce paramètre dans le temps pour au moins un critère. La variable azote acide aminé ne varie pas de façon significative dans le temps, à cause de son évolution dans le composteur C2 (figure 4.14). La concentration d'azote acide aminé est en effet significativement inférieure dans le composteur C2 par rapport au composteur C4 (de 10% à 20%), comme le montre le test d'égalité des profils (test 3).

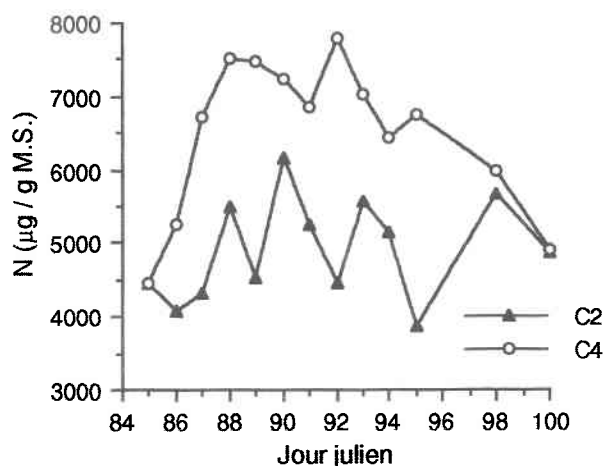


Fig. 4.14 : Évolution de l'azote acide aminé dans les composteurs C2 et C4 durant l'expérience de compostage.

Les résultats du test de parallélisme des profils (tableau 4.2) indiquent que toutes les formes d'azote analysées dans les composteurs C2 et C4 évoluent parallèlement dans le temps, sauf pour l'azote total hydrolysable, l'azote

hydrolysable inconnu (HUN), et l'azote ( $\text{NH}_4^+$ , et amide) pour l'ensemble des critères hormis le test d'anova. C'est à partir du neuvième jour de compostage (J-94) que le profil de l'azote total hydrolysable du composteur C2 diffère, de façon significative, du profil correspondant du composteur C4 (figure 4.15).

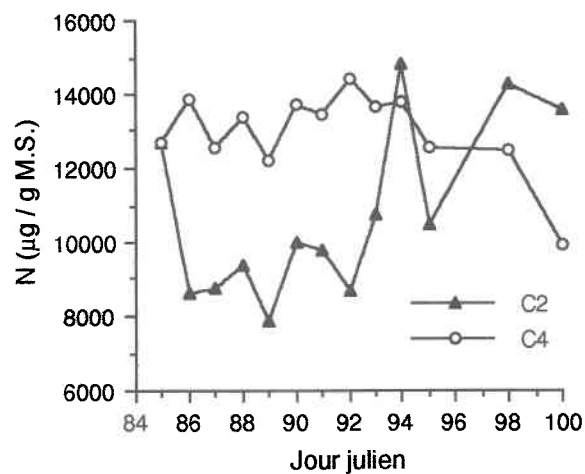


Fig. 4.15 : Évolution de l'azote total hydrolysable dans les composteurs C2 et C4 durant l'expérience de compostage.

Les courbes d'évolution de l'azote total hydrolysable dans les composteurs (figure 4.15) peuvent être mises en relation directe avec celles de l'azote hydrolysable inconnu, qui constitue de 30% à 50% de l'azote total hydrolysable (figure 4.16).

À la figure 4.15, on observe également que le niveau de l'azote total hydrolysable produit dans le composteur C2 semble inférieur à celui produit dans le composteur C4. Cependant, en raison du test de parallélisme significatif pour

la variable azote total hydrolysable, il n'est pas possible d'interpréter statistiquement le test d'égalité des deux profils.

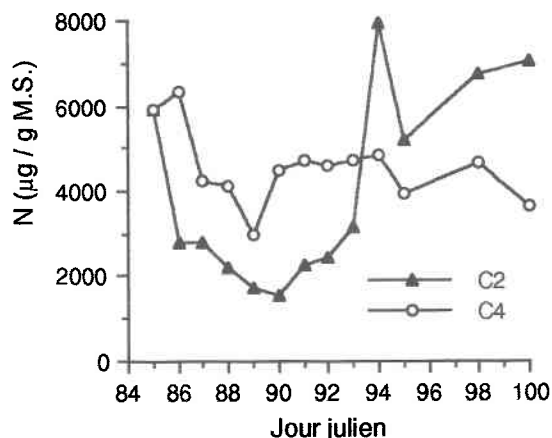


Fig. 4.16 : Évolution de l'azote hydrolysable inconnu (HUN) dans les composteurs C2 et C4 durant l'expérience de compostage.

En résumé, l'analyse de profil démontre que, dans les composteurs C2 et C4, les différentes formes d'azote varient parallèlement dans le temps et sont de même niveau. Cependant, les conditions expérimentales dans le composteur C2 (voir 4.2.1.1) ont pu affecter l'activité microbienne, et ainsi causer la synthèse d'une plus petite quantité d'acides aminés que dans le composteur C4. Ces conditions expérimentales ont pu également avoir une influence sur l'évolution de l'azote hydrolysable inconnu.

À la lumière de l'analyse statistique, et dans le but d'alléger la présentation et la discussion des résultats, la dynamique de réorganisation de l'azote pendant les expériences de compostage au laboratoire sera interprétée à partir des données du composteur C4.

#### 4.2.2.2 Dynamique des formes d'azote

On observe au cours des 15 jours de compostage une diminution très rapide des formes d'azote minéral (ammonium échangeable et nitrate-nitrite) dans le temps, avec une tendance à deux nouvelles augmentations après six et neuf jours de compostage (figure 4.17). Ces augmentations sont endogènes et pourraient être attribuées à la fin de la phase thermophile, lorsque la lyse d'une grande quantité de bactéries provoque la remise en circulation de l'azote, qui était immobilisé dans les membranes cellulaires.

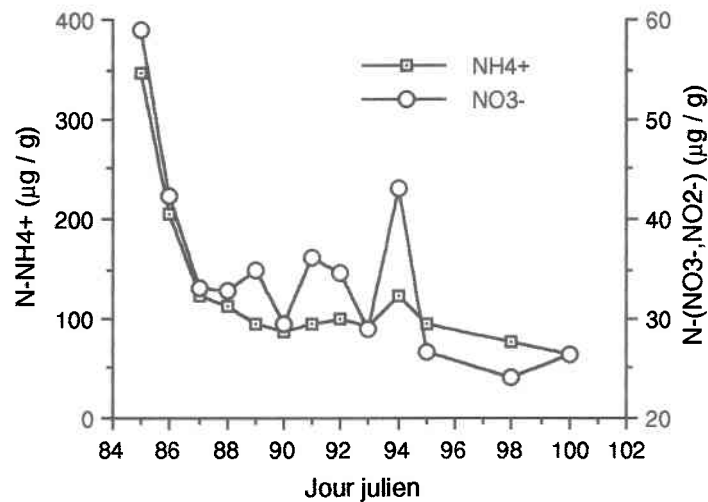


Fig. 4.17 : Dynamique des formes d'azote minéral ( $N-NH_4^+$  et  $N-(NO_3^-, NO_2^-)$ ) dans le composteur C4.

L'hypothèse de situer la fin de la phase thermophile après six à neuf jours de compostage, est consolidée par l'évolution de la concentration d'azote total hydrolysable dans le temps (figure 4.18). En effet, la teneur en azote total hydrolysable atteint un maximum au neuvième jour de compostage (J-92). Cette

concentration plus élevée en azote total hydrolysable peut être mise en relation avec une plus grande population de micro-organismes, principalement les bactéries thermophiles. L'azote acide aminé, qui intervient lors de la synthèse des protéines des membranes cellulaires des bactéries, est la forme identifiable la plus abondante de l'azote total hydrolysable.

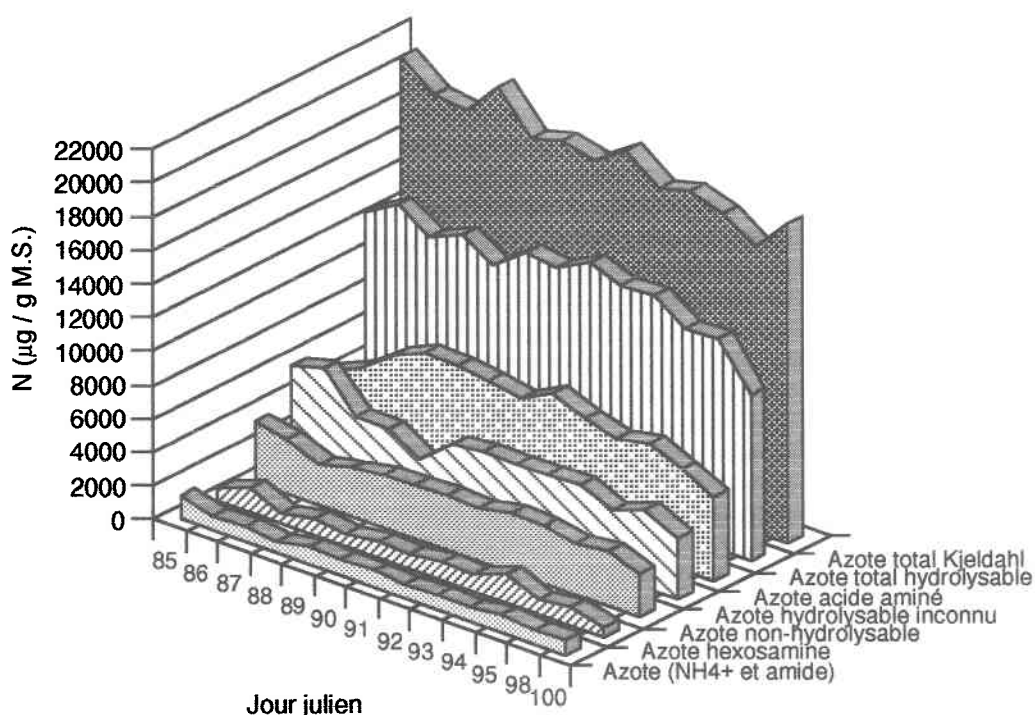


Fig. 4.18 : Dynamique des formes d'azote total Kjeldahl, d'azote total hydrolysable, d'azote non-hydrolysable (N total des résidus), et des différentes formes d'azote hydrolysable : acide aminé, hexosamine, ammonium et amide, et inconnu (HUN) dans le composteur C4.

La figure 4.19 illustre bien le phénomène de "libération" de l'azote, immobilisé dans les corps microbiens, à la fin de la phase thermophile. Il y a donc, après un pic au neuvième jour (J-92), une décroissance en azote acide aminé (J93 et 94), suivie par une augmentation de l'azote minéral (J-94). Vers la

fin de l'expérience de compostage, la teneur en azote total hydrolysable diminue assez fortement, jusqu'à 80% de sa valeur initiale, alors que la teneur en azote acide aminé demeure plus élevée qu'au jour initial (J-85). On interprète la teneur plus élevée en azote acide aminé, à la fin de l'expérience, par une abondance de micro-organismes, tels des champignons et des actinomycètes, qui se sont multipliés dans le substrat composté. L'explication de la diminution de la teneur en azote total hydrolysable, vers la fin, repose sur une réorganisation globale de l'azote organique en des formes plus complexes et plus stables mais non-hydrolysables. On pose l'hypothèse que cet azote organique, plus complexe, se trouve dans les résidus d'hydrolyse. Cependant, la structure chimique de ces molécules complexes d'azote organique n'est pas encore connue, à part une faible proportion de molécules identifiées sous forme de purines et de pyrimidines (Ivarson et Schnitzer, 1979).

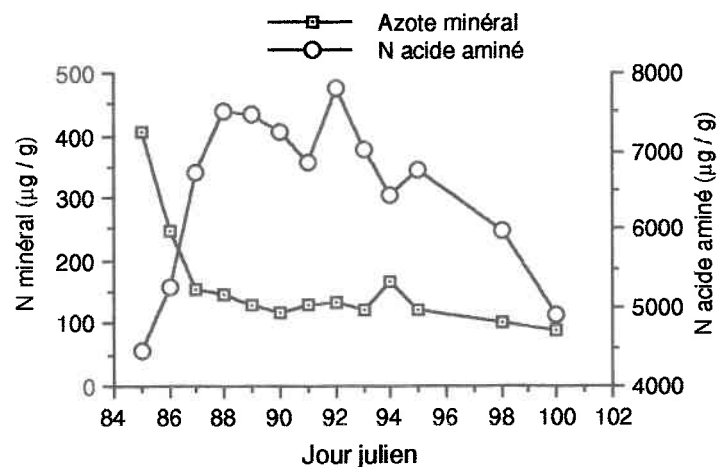


Fig. 4.19 : Dynamique de l'azote minéral et de l'azote acide aminé dans le composteur C4.

Une technique spectroscopique récente, la spectroscopie de masse à champ ionisé, ou PyFIMS pour Pyrolysis Field Ionization Mass Spectrometry

(Schnitzer *et al.*, 1991 et ; Schulten *et al.*, 1987), permet cependant d'identifier de nouvelles formes d'azote organique complexe. Cette technique ainsi que des résultats d'analyse feront l'objet du chapitre 5.

Lorsque la teneur en azote acide aminé diminue (figure 4.18), la teneur en HUN (azote hydrolysable inconnu) augmente. Ceci s'explique par une réorganisation de l'azote acide aminé et son incorporation dans des formes organiques plus complexes non-identifiables, qui ne sont pas de nature protéique (Schnitzer et Hindle, 1981).

Après la fin de la phase thermophile, on note une augmentation marquée de l'azote hexosamine, avec un maximum au jour 94 (figure 4.20). L'azote hexosamine est une constituante de la synthèse du matériel pariétal des champignons (Jocteur Monrozier et Andreux, 1981), qui colonisent le compost au moment de la phase de refroidissement (Biddlestone *et al.*, 1987). L'azote hexosamine est également une structure biologiquement plus stable que l'azote acide aminé.

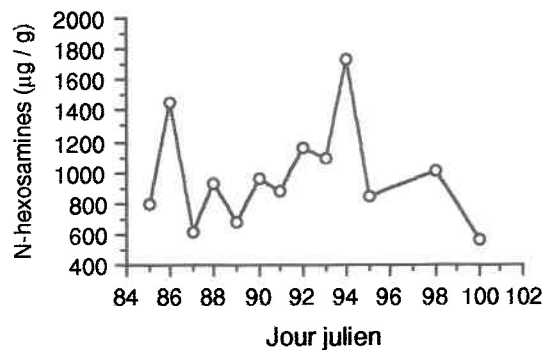


Fig. 4.20 : Dynamique de l'azote hexosamine dans le composteur C4.

#### 4.2.2.3 Caractérisation multivariée des phases du processus de compostage

La caractérisation des phases du processus de compostage est effectuée par une analyse en composantes principales, superposée à un groupement à liens simples, à partir d'une matrice multidimensionnelle de 19 descripteurs physico-chimiques (Tableau 3.2) qui ont été mesurés par la prise de 13 échantillons dans les composteurs C2 et C4, au cours de l'expérience de compostage.

Le but de l'analyse en composantes principales (ACP) est de représenter dans un espace de dimensions réduites, de façon optimale, le processus complexe de compostage décrit en 19 dimensions spatiales. Ces dimensions issues de l'ACP sont des composantes, à divers degrés, des 19 descripteurs initiaux, donc de l'ensemble de la variabilité de la matrice multidimensionnelle de données.

On choisit de retenir, pour l'interprétation des résultats de l'analyse multidimensionnelle, les trois premières composantes principales qui expliquent ensemble 71,5% de la variance totale. Les 19 descripteurs sont représentés sous forme de vecteurs dans l'espace des composantes principales à la figure 4.21. Ensuite, les corrélations des 19 descripteurs avec les composantes principales (Tableau 4.3) permettent d'interpréter ces dernières sous forme de gradients écologiques. Cette interprétation est commune aux deux composteurs de laboratoire échantillonnés, puisqu'il s'agit de caractériser de façon globale le processus de compostage en ses différentes phases. Cependant, comme pour les résultats précédents, et dans le but d'alléger la présentation, seule la synthèse



des résultats de l'ACP et du groupement à liens simples (dendrogramme en annexe C) pour le composteur C4 sont présentés aux figures 4.22 et 4.23.

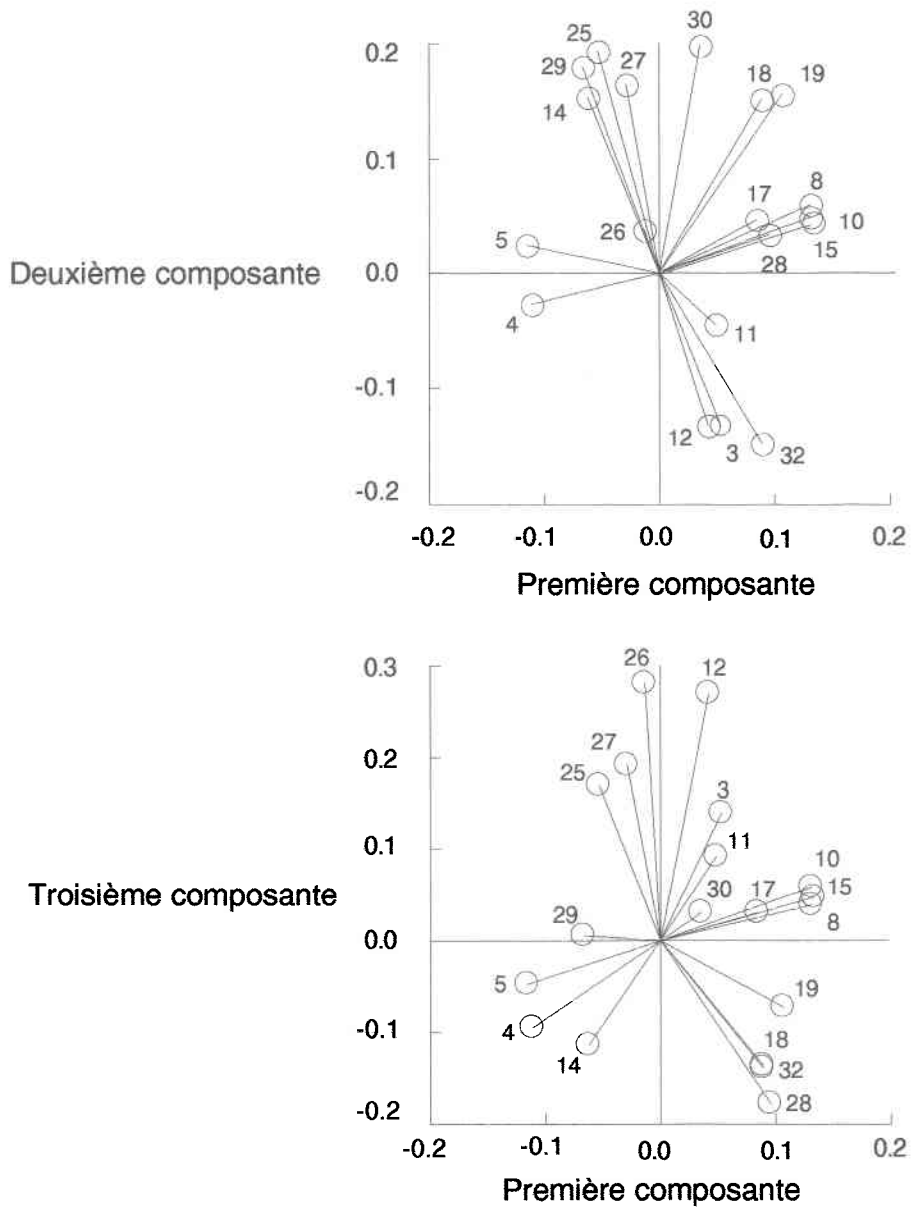


Fig. 4.21 : Analyse en composantes principales des 26 échantillons des composteurs C2 et C4, projection vectorielle des 19 descripteurs (voir tableau 3.2) dans l'espace des trois premières composantes principales.

Tableau 4.3  
Corrélations de Pearson  
entre les 19 descripteurs physico-chimiques  
et les trois premières composantes principales

Numéro	Descripteur Nom	Composante principale		
		1	2	3
3	pH	0.375	-0.474	0.392
4	Pertes en eau	*-0.785	-0.096	-0.272
5	Pertes en solides secs	*-0.825	0.087	-0.133
8	Taux de dégradation	* 0.930	0.218	0.107
10	diminution solides volatiles	* 0.922	0.176	0.167
11	NH <sub>3</sub> dégagé par 24 H	0.344	-0.153	0.259
12	CO <sub>2</sub> dégagé par 24 H	0.292	-0.470	* 0.761
14	Azote total CNS	-0.445	0.545	-0.323
15	Carbone total CNS	* 0.944	0.163	0.130
17	Azote total Kjeldahl	0.599	0.165	0.087
18	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> échangeable	0.631	0.540	-0.389
19	N-(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ,NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	0.748	0.559	-0.205
25	N total hydrolysable	-0.382	* 0.688	0.484
26	N acides aminés	-0.095	0.133	* 0.799
27	N hexosamines	-0.207	* 0.589	0.546
28	N (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et Amide)	0.678	0.120	-0.508
29	HUN	-0.467	* 0.645	0.018
30	N non-hydrolysable (NHN)	0.250	* 0.705	0.083
32	pertes N durant l'hydrolyse	0.623	-0.527	-0.399

\* Test de Bartlett très hautement significatif.

La figure 4.22 montre les résultats de l'analyse en composantes principales selon la première composante principale (axe x) et la deuxième composante principale (axe y). En médaillon, on illustre les gradients établis à partir de l'interprétation écologique que l'on donne aux corrélations fortes et très hautement significatives de certains descripteurs physico-chimiques avec les axes principaux. Il s'agit du gradient temporel de dégradation de la matière organique, de la droite vers la gauche selon la première composante, et du gradient temporel d'une augmentation des formes d'azote organique plus difficilement

hydrolysables, selon la deuxième composante. À droite sur la figure 4.22, on retrouve les jours d'échantillonnage disposés dans l'espace des deux premières composantes principales, et superposés à ces jours les résultats du groupement à liens simples. Le groupement montre clairement qu'après les deux jours initiaux de compostage, il y a formation de deux groupes distincts et disposés selon les gradients retrouvés. Le premier groupe de trois jours est interprété comme étant la phase thermophile et le deuxième groupe de six jours comme étant la phase de refroidissement. On peut poser l'hypothèse que si l'expérience avait été prolongée, il y aurait eu la formation d'un troisième groupe de jours correspondant à la phase de maturation.

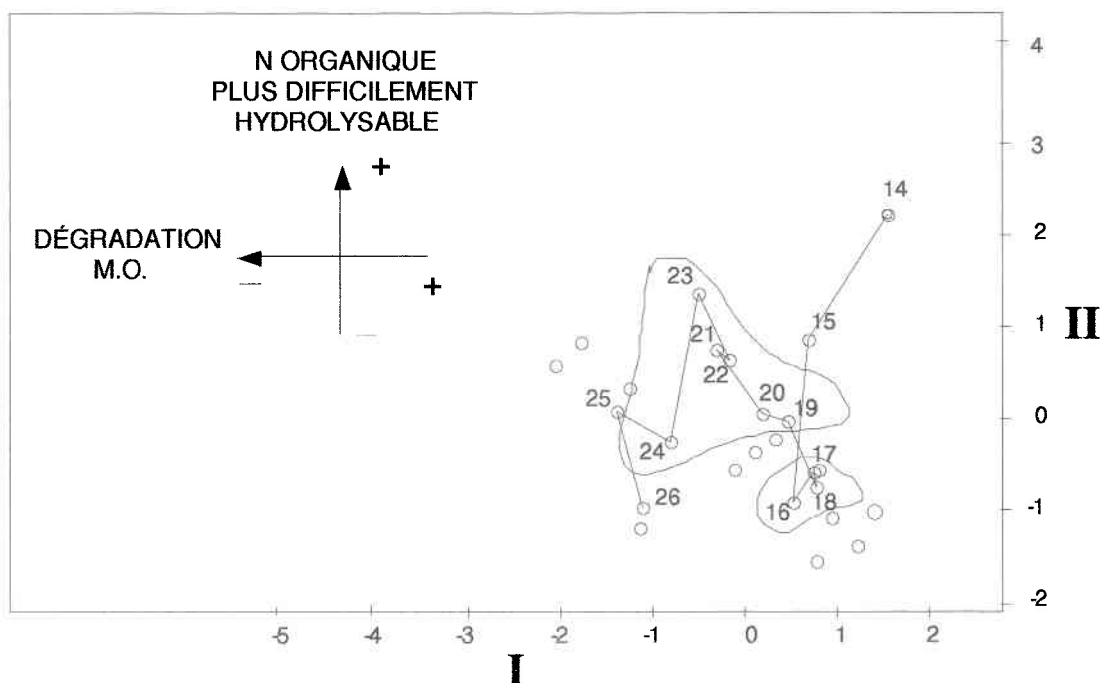


Fig. 4.22 : Superposition de l'analyse en composantes principales et du groupement à liens simples, projection des jours d'échantillonnage dans l'espace des deux premières composantes principales (37,3% et 18,8% de la variance totale). M.O. = matière organique.

La figure 4.23 représente la première composante principale (axe x) en fonction de la troisième composante principale (axe y). Suivant la troisième composante principale, on retrouve un autre gradient temporel qui est celui de l'augmentation de l'activité microbienne et de l'assimilation de l'azote sous forme acide aminé. Les groupes de jours représentés sont issus du même groupement à liens simples qu'à la figure 4.22, et sont orientés selon les différents gradients écologiques.

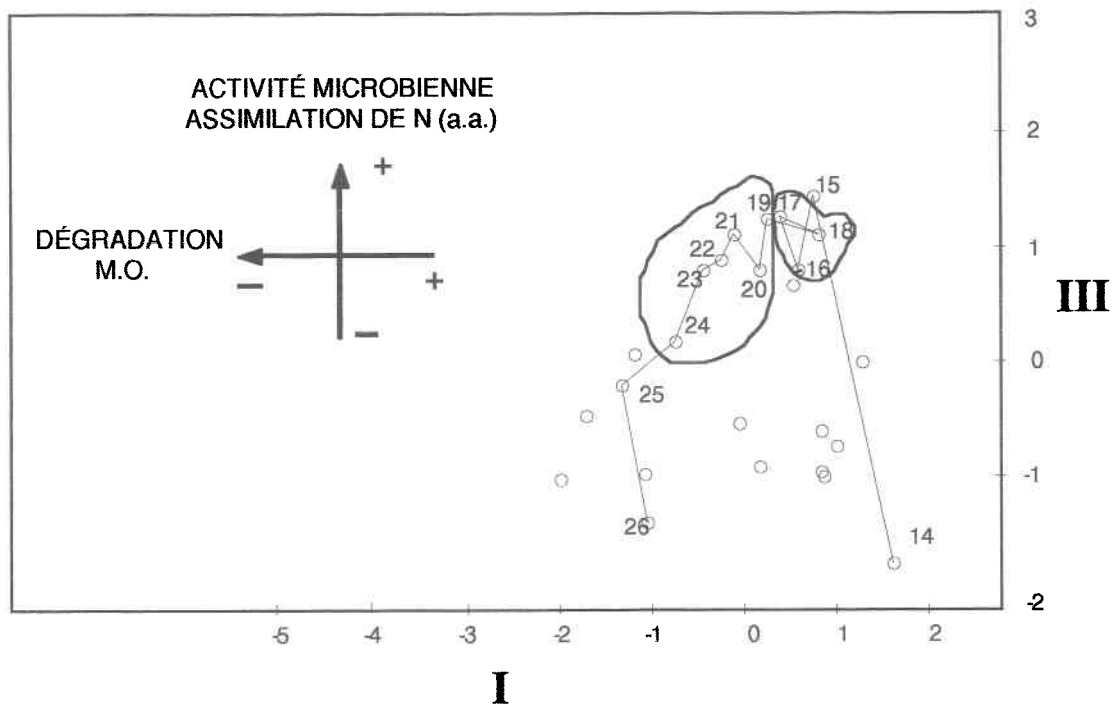


Fig. 4.23 : Superposition de l'analyse en composantes principales et du groupement à liens simples, projection des jours d'échantillonnage dans l'espace des premières et troisièmes composantes principales (37,3% et 15% de la variance totale). N (a.a.) = azote acide aminé.

#### 4.2.2.4 Dynamique de l'azote en fonction des phases du processus de compostage

Les résultats de la dynamique de réorganisation de l'azote organique en fonction des différentes phases caractéristiques du processus de compostage, issues de l'analyse multidimensionnelle, sont représentés à la figure 4.24.

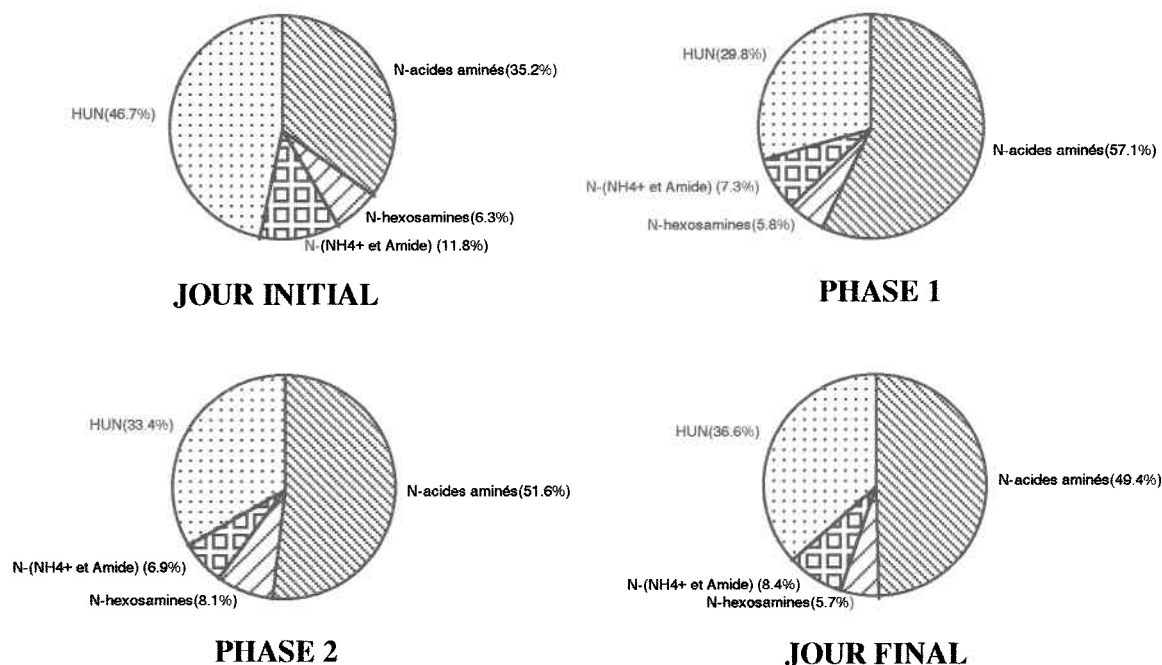


Fig. 4.24 : Distribution des formes d'azote organique (% N total hydrolysable) en fonction des phases caractéristiques du processus de compostage, composteur C4.

Lors de la première phase, la phase thermophile, on observe une augmentation importante de l'azote acide aminé. Il y a donc synthèse de peptides et de protéines, i.e. de membranes cellulaires, principalement par les bactéries. Durant la deuxième phase, la phase de refroidissement, on note une

augmentation marquée de l'azote hexosamine. L'augmentation de cette forme d'azote montre qu'il y a synthèse de matériel pariétal des champignons, puisque ceux-ci colonisent le compost lors de la phase de refroidissement. Vers la fin du processus, au dernier jour de l'expérience, on note une augmentation des formes d'azote hydrolysable inconnues.

#### 4.3 Conclusions

En conclusion, les conditions expérimentales et statistiques réunies au cours des expériences de compostage au laboratoire ont permis d'étudier, de manière très satisfaisante, la dynamique de réorganisation de l'azote sur l'ensemble de la durée du processus.

La dynamique de réorganisation de l'azote a été interprétée par une approche écologique, reposant sur une caractérisation multivariée des phases "microbiennes" du processus de compostage. Cette approche est nouvelle dans l'étude de la dynamique d'un processus au cours du compostage. Elle permet de visualiser avec plus de certitude et de précision les phénomènes complexes de dégradation de la matière organique, en les mettant en relation avec l'écologie microbienne, plutôt que de baser l'analyse d'un processus sur certaines variables indirectes, et dépendantes d'autres facteurs complexes comme la température par exemple.

On assiste globalement, au cours du processus de compostage à l'étude, à une transformation assez rapide des formes d'azote facilement hydrolysables, principalement protéiques, en des formes d'azote organique plus difficile à hydrolyser. Ces formes d'azote organique sont de plus en plus complexes et plus

stables vers la fin du processus. Ce sont des formes d'azote beaucoup moins biodisponibles, telles que les formes d'azote hexosamine caractéristiques du matériel pariétal des champignons, mais également plus tard dans le processus, des formes d'azote hydrolysable inconnu (HUN) et d'azote non-hydrolysable liées à la constitution de la matière humique.

Les structures chimiques des molécules complexes d'azote inconnu (HUN et non-hydrolysable) ne sont pas encore identifiées, et demeurent un défi important pour l'approfondissement des connaissances du cycle de l'azote organique, tant au cours du processus de compostage que dans les sols. Il existe cependant des hypothèses de pouvoir retrouver une certaine proportion de ces molécules d'azote inconnu sous forme de purines, de pyrimidines, et d'indole, entre autres. Le chapitre suivant fait l'objet des résultats d'analyse d'échantillons de compost par une technique spectroscopique, toute récente et très prometteuse, qui permettra probablement d'identifier de nouvelles structures d'azote organique complexe.

# CHAPITRE 5

## ANALYSES DE SPECTROSCOPIE À CHAMP IONISÉ (Py-FIMS) : L'AZOTE INCONNU ET LES STÉROLS

### 5.1 Introduction

Il n'y a pas encore aujourd'hui beaucoup d'études concernant les processus de décomposition de la matière organique au cours du compostage, et encore moins sur les aspects du cycle de l'azote dans les composts de fumier. En conséquence, il est nécessaire de se servir des modèles de décomposition de la matière organique élaborés dans l'étude des sols, pour faire avancer nos connaissances au sujet des composts. Le compost peut être considéré, de façon pratique, comme un sol très riche en matière organique et pauvre en éléments minéraux, en évolution de décomposition rapide (Mustin, 1987).



### L'azote et les composés humiques

La finalité du compostage est de produire de la matière humique par l'intermédiaire des micro-organismes, il s'agit donc d'une technologie procédant à l'humification. Il y a eu, depuis la fin du siècle dernier, de très nombreuses études sur la formation et la structure des substances humiques dans les sols, un ouvrage récent en donne un bon aperçu (Aiken et al., 1985). Mais longtemps, le rôle de l'azote dans la constitution des substances humiques a été, et demeure en grande partie inconnu. L'azote fait-il partie intégrante de la structure des acides humiques, des acides fulviques, ou de l'humine, ou bien est-il une sorte de "contaminant" adsorbé ou faiblement lié aux substances humiques? Les deux points de vue existent dans la littérature (Schnitzer, 1985). À partir de 1975, Flaig et al. avancent qu'une partie de l'azote est intégrée dans la structure humique, en raison du rôle primordial joué par les micro-organismes dans le cycle de l'azote : leur production d'acides aminés, de sucres aminés, de purines, de pyrimidines, et d'autres composés azotés, et probablement également leur participation à la synthèse des substances humiques. Il est possible de différencier les composés azotés, isolés des substances humiques, par leur nature chimique (Flaig et al., 1975); il y a un premier groupe de composés ayant une identité chimique distincte, comme les protéines, les peptides, les acides aminés, les sucres aminés, les purines, et les pyrimidines entre autres, et un deuxième groupe de composés qui, étant intégrés à la structure humique, n'ont plus de caractéristiques chimiques distinctes. Schnitzer (1985) pose l'hypothèse que les molécules du premier groupe sont faiblement liées ou adsorbées sur les substances humiques par des liaisons hydrogènes ou des forces de van der Waals, en raison de la facilité avec laquelle elles sont isolées au laboratoire sans être altérées. Les

molécules du premier groupe peuvent contenir jusqu'à 75% de l'azote total, alors que les 25% restant, qui appartiennent au deuxième groupe, n'ont pas pu être identifiés à l'époque.

Toujours selon Schnitzer (1985), dans le passé, la plupart des recherches au sujet de l'azote des substances humiques ont porté sur les composés protéiques, les sucres aminés, et l'ammoniac. Cependant, entre un tiers et la moitié de l'azote total demeure non-identifié, alors qu'il y a de sérieux indices que l'azote non-identifié puisse être transformé soit par les micro-organismes (Ivarson et Schnitzer, 1979), soit chimiquement en ammoniac (Schnitzer et Hindle, 1980). Malgré plusieurs hypothèses au sujet de la nature chimique de cette importante fraction de l'azote total, aucune tentative de mettre en évidence ces composés azotés dans les substances humiques n'a abouti jusqu'alors (Schnitzer, 1985).

D'après Bremner (1967), l'azote inclus dans les bases nucléiques, les purines et les pyrimidines, représente moins d'un pour cent de l'azote total des sols. Mais Cortez et Schnitzer (1979b) ont pu mesurer, par la technique de chromatographie d'exclusion d'ions, que l'azote composant les purines et les pyrimidines forme jusqu'à 7,4% de l'azote total du sol et jusqu'à 18,6% de l'azote des acides fulviques, ce qui représente environ 16% de l'azote non-identifié du sol et jusqu'à 40% de l'azote non-identifié d'un acide fulvique. Par conséquent, l'azote des purines et des pyrimidines constitue une proportion assez importante de l'azote inconnu des substances humiques. Hormis les formes de purines et de pyrimidines, d'autres formes d'azote hétérocyclique, dont les formes pyrrole et indole, devraient constituer une portion de l'azote inconnu (Schnitzer, 1985), mais il reste à les identifier.

### Les méthodes d'identification de l'azote inconnu

L'approche classique utilisée pour identifier les formes d'azote dans la matière organique, et dans les substances humiques en particulier, est l'hydrolyse acide à l'HCl 6N (voir chapitre 6). Selon Flaig et al. (1975), les recherches les plus détaillées ont été effectuées par une hydrolyse acide de plusieurs heures à l'HCl 6N. Il en ressort qu'environ 50% de l'azote des acides humiques se retrouve dans l'hydrolysate, et le reste dans les résidus d'hydrolyse. Finalement, selon ces auteurs, les expériences d'hydrolyse n'ont pas permis de tirer de conclusions concernant les mécanismes de synthèse des substances humiques azotées.

Schnitzer et al. (1983) ont développé une nouvelle procédure qui a permis l'identification de certains composés azotés hétérocycliques. Cette nouvelle procédure consiste à isoler, à partir des acides humiques et fulviques, des fractions riches en azote non-identifié, et pauvres en composés azotés déjà connus. Le but de cette procédure est d'éliminer les interférences dues aux composés azotés connus, et de pouvoir ainsi isoler et identifier certains composés azotés majeurs dans les fractions obtenues. Les résultats ont montré que 97,5% à 98,6% de l'azote des nouvelles fractions isolées était de forme inconnue. Les fractions subissent ensuite une hydrolyse à l'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M, suivie d'une réduction au NaBH<sub>4</sub>, et d'une acétylation. Les dérivés acétates sont analysés par chromatographie gazeuse capillaire et spectrométrie de masse (GC-MS). Ces composés sont identifiés par comparaison des spectres de masse obtenus, avec ceux de molécules de structure chimique connue. Il s'agit notamment des *hydroxy-* et *ketoindoles*, des *benzylamines*, des *nitriles*, des *hydroxy-* et *oxy-quinolines* et *-isoquinolines*, des *aminobenzofuranes*, des *hydroxy-piperidines*, des *hydroxy-pyrrolines*, et des *hydroxy-pyrrolidines* (Schnitzer et Spitteller, 1986).

D'autres études ont utilisé la pyrolyse au point-curie (curie-point pyrolysis, Bühler et Simon, 1970) combinée à la chromatographie gazeuse (Py-GC), à la spectrométrie de masse (Py-MS), ou à la chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse (Py-GC-MS) pour caractériser la matière organique des sols (Schnitzer, 1990). La pyrolyse au point-curie permet aux produits de la pyrolyse d'échapper rapidement à la zone de réaction, et de minimiser ainsi les réactions secondaires, grâce à un taux de chauffage dépassant  $1^{\circ}\text{C ms}^{-1}$ , et à l'utilisation de micro-échantillons. Les produits de ce type de pyrolyse peuvent apporter de précieux indices sur la structure chimique du matériel original.

#### La méthode Py-FIMS

Le plus récent progrès, et probablement le plus important (Schnitzer et Schulten, 1989) dans l'identification de la structure de composés organiques très complexes, a été réalisé par une modification (Schulten, 1973 ; Schulten et al., 1977) de la méthode de spectrométrie de masse (Py-MS). Cette modification consiste à pyrolyser directement l'échantillon dans le vacuum du spectromètre de masse, et à utiliser une source d'ionisation douce, le champ ionisé (field ionization, FI), pour identifier les composés. Les avantages de la méthode de spectrométrie de masse à champ ionisé, couplée à une pyrolyse (pyrolysis-field ionization mass spectrometry, Py-FIMS), sont nombreux par rapport à la méthode de spectrométrie de masse classique (Schulten et al., 1987) ;

1. la fragmentation moléculaire, durant la dégradation rapide dans la source d'ions du spectromètre de masse, aboutit à la formation de sous-unités chimiques de fort poids moléculaire;

2. le temps de réaction très court et la petite quantité d'échantillon favorisent la formation de fragments thermiques plus grands qui peuvent être identifiés et comparés à la structure chimique originale;

3. il est possible de contrôler la fragmentation thermique primaire des produits de la pyrolyse, pour diminuer significativement la fragmentation subséquente dans le spectromètre de masse.

La méthode Py-FIMS se compare avantageusement aux méthodes plus conventionnelles par chromatographie gazeuse, qui limitent cependant la séparation des molécules à des composés de poids moléculaires inférieurs à 550 unités de masse. La méthode Py-FIMS a permis la séparation jusqu'à des composés de poids moléculaires de 1500 unités de masse, ouvrant ainsi la porte à la détection de composés de type alkyle di- et tri-esters, et n-alcanes de forts poids moléculaires (Schnitzer et Schulten, 1989 ; Schulten et Schnitzer, 1990). Le spectre de masse d'un extrait d'acide humique d'un horizon de surface (Schulten, 1987), a montré des ions moléculaires contenant de l'azote, relativement abondants, à des valeurs  $m/z$  de 79 (*pyridine*), de 92 (*méthyl-pyridine*), et de 117 (*indole*). Ces résultats indiquent d'une part que les composés azotés retrouvés sont considérablement plus volatiles que ceux dérivés des lignines et des phénols végétaux, et d'autre part, qu'une forte proportion de l'azote total de l'acide humique analysé devrait être de forme hétérocyclique. Les spectres de masse "Py-FI" d'une étude, ayant pour objectif de développer une procédure d'extraction plus spécifique des composants majeurs de la matière organique des sols (Schnitzer *et al.*, 1991), ont permis d'identifier des polysaccharides, des acides gras, des alcanes, des alcools, des stérols, des mono- et di-lignines, et des composés azotés. Les composés azotés, ayant des nombres de masse assez

inégaux, ont été identifiés par l'étude de Hempfling *et al.* (1988). Ce sont les ions moléculaires *pyrrole* ( $m/z$  67), *2-formylpyrrole* ou *hydroxypyridine* ou *dimethylpyrrole* ( $m/z$  95), ( $m/z$  99), *benzonitrile* ( $m/z$  103), *hydroxyméthylpyridine* ou *acétylpyrrole* ou *formylméthylpyrrole* ou *C3-alkylpyrrole* ( $m/z$  109), *3-acétamidofurane* ou *2-formyl-5-hydroxy-méthylpyrrole* ou *3-hydroxy-6-hydroxyméthylpyridine* ( $m/z$  125), *diméthoxybenzonitrile* ( $m/z$  163), *trianhydro-2-acétamide-2-déoxyglucose* ( $m/z$  167). La plupart de ces composés seraient des substitués du pyrrole ( $C_4H_4NH$ ) et de la pyridine ( $C_5H_5N$ ), alors que les composés de poids moléculaire plus élevés ( $m/z$  209, 213, et 299) restent à être identifiés.

Finalement, Schnitzer *et al.* (1993) ont pu identifier, dans des extraits aqueux de composts de fumiers, des composés azotés de forme acétamide ( $m/z$  59), interprétés comme des produits de la biodégradation ou de la pyrolyse des protéines, des composés azotés de formes hétérocycliques comme les *pyrroles* ( $m/z$  67), *formyl-méthylpyrrole* ( $m/z$  109), *méthylindole* ( $m/z$  131), *1H-indole-3-éthamine* ( $m/z$  137), et des formes restant encore à identifier de valeur  $m/z$  111, 123, 161, 175, et 189. Schnitzer *et al.* (1993) rapportent que l'intensité des signaux de masse, liés aux composés azotés hétérocycliques, a tendance à diminuer lorsque le stade de compostage est plus avancé, i.e. lorsque de plus en plus d'humus est formé. Dans cette étude, les composés azotés hétérocycliques sont interprétés comme faisant partie de pigments biologiques (chlorophylle, hémoglobine, phytochromes, mélanine, indigo, purines, ptérines, et flavines) provenant probablement de la nourriture animale.

### Les stérols

L'étude de Schnitzer et al. (1993), effectuée simultanément à la présente étude, signale la détection de stérols en abondance dans les extraits aqueux de composts de fumier, par la technique Py-FIMS, pour la première fois dans la littérature scientifique.

Par définition, les stérols sont des lipides non saponifiables, faisant partie de la classe des stéroïdes (Lehninger, 1977). Les stéroïdes sont des composantes membranaires importantes, et les stérols en sont la forme la plus abondante. Les stérols sont présents dans le règne animal, principalement sous forme de *cholestérol*, et dans le règne végétal, particulièrement sous forme de *stigmastérol*.

Schnitzer et al. (1993) font l'hypothèse que les stérols provenant des premiers stades du compostage sont issus des animaux et de leur nourriture, et que les stérols présents plus tard dans le compost sont d'origine microbienne indigène. Il est également suggéré que les stérols, au même titre que les pigments végétaux, les vitamines, et les quinones entrent dans la formation de l'humus.

### 5.2 Objectifs de l'étude

Cette étude comprend plusieurs objectifs : (i) analyser et identifier les composés azotés complexes faisant partie de la matière organique, notamment les formes hétérocycliques, d'un compost de fumier de bovin pailleux; (ii) étudier la dynamique de transformation de ces composés azotés complexes par leurs natures et leurs abondances relatives, à quatre intervalles durant le compostage; (iii) identifier les stérols présents dans le compost et poser des hypothèses quant

à leur transformation dans le compost, notamment sous l'action des micro-organismes.

### 5.3 Résultats

Les spectres de masse "Py-FI" intégrés des échantillons de compost C4-85, C4-88, C4-94, et C4-100 sont présentés aux figures 5.1 à 5.4. Les spectres représentés sont des moyennes de trois mesures spectrométriques consécutives pour chaque échantillon. Les quatre échantillons correspondent respectivement aux jours initial, quatre, dix, et seize de l'expérience de compostage au laboratoire, dans le composteur C4.

Dans l'ensemble, les spectres de masse "Py-FI" montrent que les quatre échantillons de compost sont, du point de vue de leur composition chimique, qualitativement différents. Les composants organiques les plus abondants et les composants mineurs retrouvés dans les quatre échantillons sont résumés au Tableau 5.1.

Tableau 5.1

Composants organiques majeurs et mineurs  
identifiés dans les échantillons de compost  
C4-85, C4-88, C4-94, C4-100  
par la technique Py-FIMS

Composants majeurs	Composants mineurs
Glucides avec radicaux pentose et hexose	Phénols
Monomères et dimères de lignine	Monoesters n-alkyle n-C38 à n-C51
Acides gras n-C15 à n-C34	Acide acétique
Stérols	Indole (composé N-hétérocyclique)



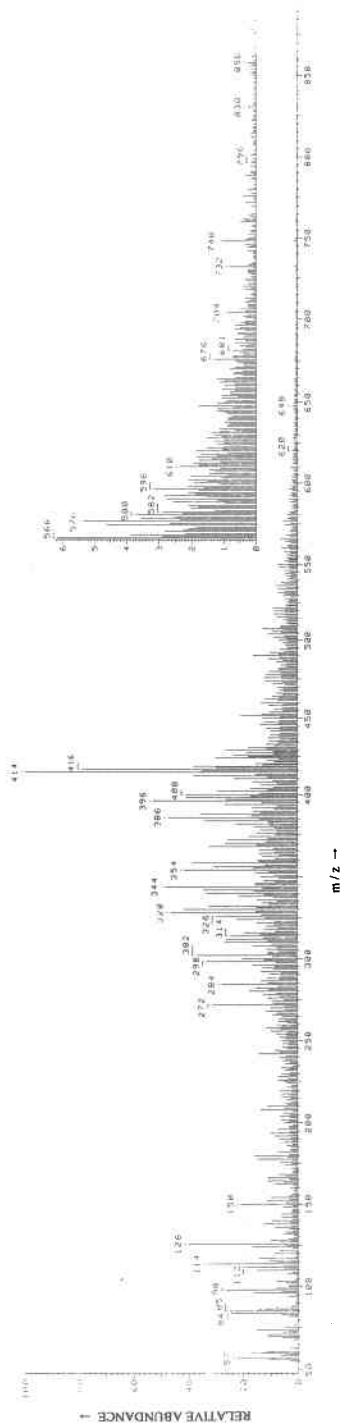


Fig. 5.1 : Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-85.

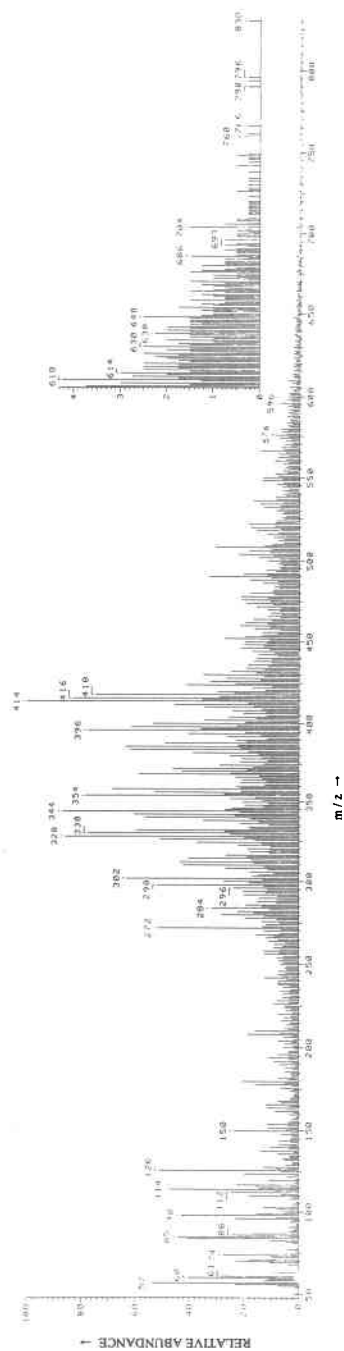


Fig. 5.2 : Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-88.

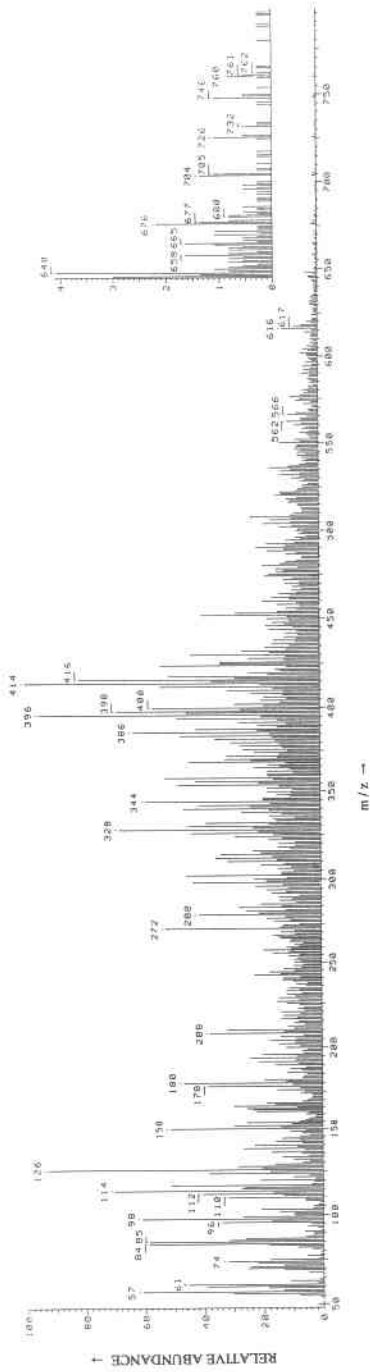


Fig. 5.3 : Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-94.

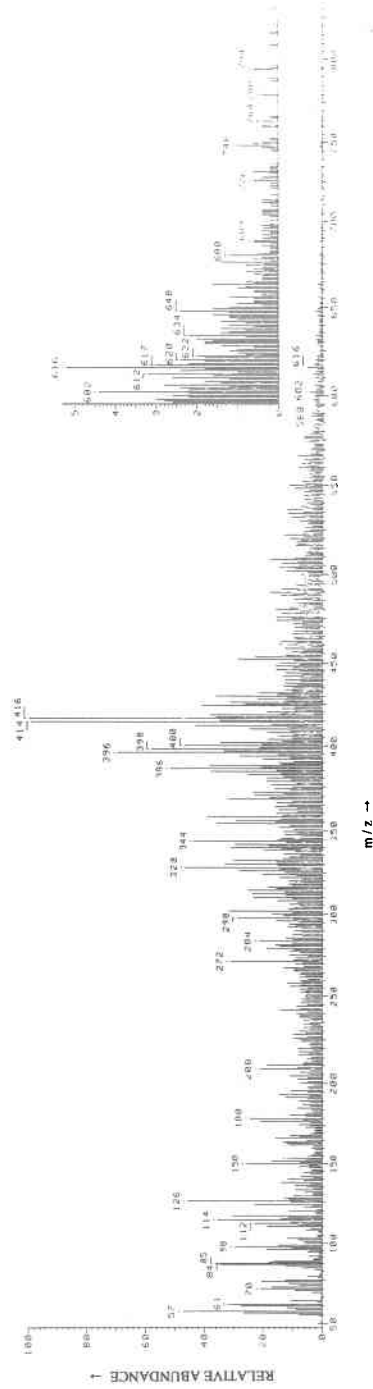


Fig. 5.4 : Spectre de masse "Py-FI" de l'échantillon de compost C4-100.

### Les mono- et polysaccharides

Les signaux de masse (figures 5.1 à 5.4) correspondant aux valeurs  $m/z$  74, 84, 96, 98, 110, 112, 114, 126, et 128 sont principalement dus aux produits de la dégradation thermique des polysaccharides (Schulten et Simmleit, 1986). Les quatre échantillons n'ont pas la même concentration relative en polysaccharides ( $C4-94 > C4-88 > C4-100 > C4-85$ ). L'échantillon C4-94, le plus riche, contient tous les polysaccharides identifiés, dont  $m/z$  126 qui est caractéristique des sous-unités *aldehydoses* de la cellulose. Le polysaccharide  $m/z$  128 n'est pas présent dans les échantillons C4-88 et C4-100, et les polysaccharides  $m/z$  74, 96, et 128 ne sont pas présents dans l'échantillon C4-85.

### Les phénols

Les phénols, ayant pour valeur  $m/z$  94 (*phénol*), 108 (*crésol*), et 110 (*dihydroxybenzène*) sont généralement présents à l'état de traces dans les quatre échantillons (figures 5.1 à 5.4). La seule exception est faite pour le *dihydroxybenzène* qui est relativement plus abondant dans l'échantillon C4-94, avant de diminuer à nouveau dans l'échantillon C4-100.

### Les monomères de lignine

Les signaux de masse dérivés des monomères de lignines, dans les spectres des quatre échantillons (figures 5.1 à 5.4), sont  $m/z$  124, 150, 152, 166, 178, 180, 208, et 210. L'identification de ces ions moléculaires a été proposée par Schulten et Simmleit (1986). L'échantillon le plus concentré en monomères de lignine est C4-94, suivi par C4-100, et ensuite par les deux premiers échantillons dans l'échelle de temps du compostage C4-85 et C4-88. Le seul

monomère de lignine retrouvé dans les échantillons C4-85 et C4-88 est le *guaiacyléthène* (m/z 150), alors que dans l'échantillon C4-94, on retrouve les monomères suivants : *guaiacol* (m/z 124), *guaiacyléthène* en plus forte concentration que précédemment, *vanilline* (m/z 152), *acétovanillone* (m/z 166), *coniféryl aldéhyde* (m/z 178), *coniféryl alcool* (m/z 180), *sinapyl aldéhyde* (m/z 208), et *sinapyl alcool* (m/z 210). Dans l'échantillon C4-100, on retrouve les monomères de lignine m/z 124, 150, 178, 180, 208, et 210, mais en concentration relativement moindre que dans l'échantillon précédent.

#### Les dimères de lignine

Les signaux de masse suivants, aux valeurs m/z supérieures à celles des monomères de lignine, semblent être produits par des dimères de lignine : m/z 272, 296, 300, 302, 310, 314, 316, 328, 330, 332, 342, 344, 356, et 358. L'échantillon C4-88 est nettement le plus concentré en dimères de lignine. Tous les dimères de lignine sont globalement présents dans les quatre échantillons (figures 5.1 à 5.4), sauf les dimères m/z 296, 300, et 316 dans l'échantillon C4-85, les dimères m/z 302, et 316 dans l'échantillon C4-94, et le dimère m/z 316 dans l'échantillon C4-100.

#### Les acides gras n-C<sub>15</sub> à n-C<sub>34</sub>

La présence d'acides gras dans les quatre échantillons (figures 5.1 à 5.4) est indiquée par des signaux de masse aux valeurs m/z 284 (*n-C<sub>18</sub>*), 298 (*n-C<sub>19</sub>*), 312 (*n-C<sub>20</sub>*), 326 (*n-C<sub>21</sub>*), 340 (*n-C<sub>22</sub>*), 354 (*n-C<sub>23</sub>*), 368 (*n-C<sub>24</sub>*), 382 (*n-C<sub>25</sub>*), 396 (*n-C<sub>26</sub>*), 410 (*n-C<sub>27</sub>*), 424 (*n-C<sub>28</sub>*), 452 (*n-C<sub>30</sub>*), et 508 (*n-C<sub>34</sub>*). Sur l'ensemble de tous les acides gras identifiés (*n-C<sub>15</sub>* à *n-C<sub>34</sub>*), les échantillons les plus concentrés en acides gras sont respectivement C4-88 > C4-94 > C4-85 et C4-100. La

tendance est inversée si l'on tient compte seulement des acides gras les plus lourds ( $n-C_{25}$  à  $n-C_{34}$ ), les échantillons plus concentrés sont alors respectivement C4-94 > C4-88 > C4-100 > C4-85. L'acide gras le plus important dans les quatre échantillons est le  $n-C_{26}$  diol ( $m/z$  396).

### Les stérols

Les stérols identifiés (Schulten et Simmleit, 1986) dans les spectres de masse des quatre échantillons (figures 5.1 à 5.4) sont résumés au Tableau 5.2 :

Tableau 5.2

Ions moléculaires de type stérols  
identifiés dans les échantillons de compost  
C4-85, C4-88, C4-94, C4-100  
par la technique Py-FIMS

$m/z$	identité
386	cholestérol
394	éthylcholestatriène
398	éthylcholestène
400	campestérol
410	éthylcholestérol
412	stigmastérol
414	$\beta$ -sitostérol
416	déhydro- $\beta$ -sitostérol
426	D : A-Friedooléanan-3-one
430	$\alpha$ -tocophérol

Dans l'ensemble, les deux échantillons les plus concentrés en stérols sont C4-88 et C4-94, suivis de C4-100, et ensuite de C4-85. Les stérols les plus importants sont le  $\beta$ -sitostérol, en concentration égale dans les quatre échantillons, et le déhydro- $\beta$ -sitostérol plus concentré dans le dernier échantillon

(C4-100). On ne trouve pas de traces d' $\alpha$ -tocophérol dans le premier échantillon (C4-85).

#### Les monoesters n-alkyles n-C<sub>38</sub> à n-C<sub>52</sub>

Les signaux de masse (figures 5.1 à 5.4), correspondant aux longues chaînes de monoesters n-alkyles, se retrouvent dans les quatre échantillons aux valeurs  $m/z$  564, 578, 592, 606, 634, 648, 662, 676, 690, 704, 718, 732, et 746.

#### Les composants azotés

Les spectres de masse "Py-FI" montrent des nombres de masse, assez inégaux, qui semblent appartenir à des composés contenant de l'azote. L'identification d'un certain nombre de produits de la pyrolyse contenant de l'azote, par la technique FIMS, est basée sur le travail de Hempfling *et al.* (1988). Les ions moléculaires suivants ont été retrouvés aux valeurs ;  $m/z$  99 (non-identifié), 103 (*benzonitrile*), 117 (*indole*), 131 (*méthylindole*), 163 (*diméthoxybenzonitrile*), et 299 (non-identifié). La plupart des composés azotés identifiés, dans les quatre spectres, ne sont présents que dans l'échantillon C4-94 (figure 5.3), et à des concentrations relativement peu importantes. Les autres échantillons (figures 5.1 et 5.4) ne contiennent que de l'*indole*, à l'exception de l'échantillon C4-88 (figure 5.2), qui contient également le composé azoté  $m/z$  299. L'*indole* est le composant azoté le plus abondant dans les échantillons, avec un maximum dans l'échantillon C4-94.

### Autres composants

D'autres composants organiques sont identifiés, en relativement grandes concentrations, dans les spectres de masse (figures 5.1 à 5.4) aux valeurs  $m/z$  57, 60, 61, 85, 86, 280, 338, 370, 372, 388, 402, 417, 425, et 490. Cependant, parmi ces composants, seul l'ion moléculaire  $m/z$  60 est actuellement identifié au point de vue de sa structure chimique, il s'agit de l'*acide acétique*. On note l'absence de l'*acide acétique* dans le premier échantillon (C4-85), et sa diminution vers la fin du compostage au laboratoire (C4-100).

### 5.4 Discussion

Les spectres de masse "Py-FI" apportent beaucoup d'information nouvelle sur la structure chimique très complexe des échantillons de compost à l'étude. Dans l'ensemble, ces échantillons de compost contiennent des mono- et polysaccharides, des phénols, des mono- et dimères de lignine, des acides gras, des stéroïdes, des monoesters n-alkyles, et des composants contenant de l'azote.

Selon l'analyse détaillée des spectres de masse, la composition chimique des quatre échantillons se modifie qualitativement et quantitativement au cours de l'expérience de compostage. L'analyse qualitative des spectres est de loin la plus intéressante, en raison du haut niveau de perfectionnement de la technique de spectrométrie de masse "Py-FIMS". Cependant, il faut être prudent lors de l'analyse quantitative des spectres de masse obtenus, car il s'agit plutôt d'une méthode semi-quantitative. Néanmoins, à partir des quatre spectres de masse (figures 5.1 à 5.4), il est possible d'analyser l'évolution de la composition chimique du compost au cours du temps, et de poser certaines hypothèses :

### Le jour initial

L'échantillon C4-85, correspondant au jour initial de l'expérience, se compose essentiellement de mono- et polysaccharides en relativement faibles concentrations, de très peu de composés azotés, de dimères de lignine, d'acides gras *n*-C<sub>15</sub> à *n*-C<sub>25</sub> et de stérols en relativement grande abondance.

### Le quatrième jour

Au quatrième jour de l'expérience de compostage au laboratoire (C4-88), qui s'intègre à la phase thermophile du processus (voir phase 1, figures 4.22 et 4.24), on note une augmentation de la concentration relative en certaines formes de glucides. Cette augmentation en mono- et polysaccharides peut être causée, indirectement, par l'augmentation de l'activité microbiologique durant la phase thermophile. En effet, comme la teneur en carbone ne peut pas augmenter au cours du compostage, mais par contre diminue consécutivement à la perte de CO<sub>2</sub>, on pose l'hypothèse que seules certaines formes de polysaccharides, intrinsèques aux micro-organismes, augmentent conséquemment à la multiplication des bactéries pendant la phase thermophile. Ces formes de polysaccharides, issus du métabolisme des bactéries, sont probablement d'un poids moléculaire inférieur aux polysaccharides présents au jour initial, et par conséquent plus facilement identifiables par la technique "Py-FI".

A ce stade du processus de compostage, le compost contient relativement plus de dimères de lignine qu'à tous les autres stades. On y retrouve qu'un seul monomère de lignine, le *guaiacyléthène*. La plus grande concentration en dimères de lignine peut provenir de la dégradation, sous l'action des micro-organismes, de molécules de structure plus complexe.



Durant le processus de compostage, l'échantillon du quatrième jour (C4-88) est le plus concentré en acides gras  $n$ -C<sub>15</sub> à  $n$ -C<sub>24</sub>. Ces acides gras sont en général d'origine animale, ils proviennent du métabolisme intestinal des graisses (Mahan et al., 1977). Ils sont d'un poids moléculaire inférieur aux acides gras  $n$ -C<sub>25</sub> à  $n$ -C<sub>34</sub> qui sont plutôt d'origine végétale, comme les cires par exemple. La concentration en acides gras d'origine végétale a également augmenté par rapport au jour initial. La mesure de l'augmentation en acides gras, au cours du processus de compostage, est attribuable à la dégradation par les micro-organismes des molécules originales complexes, en molécules de plus faibles poids moléculaires.

Finalement, on note, à ce stade-ci du compostage, la présence d'*acide acétique* en relativement forte concentration. Les raisons de l'apparition de l'*acide acétique* ne peuvent pas être précisées dans la présente expérience. Cependant, il est probable que cette forme d'acide organique soit produite par la pyrolyse des glucides (Schnitzer et al., 1993). Toutefois, Lynch (1977) rapporte que la dégradation anaérobie de la paille produit beaucoup plus d'acides organiques que la dégradation aérobie. La principale forme d'acide organique produite par la décomposition anaérobie de la paille est l'*acide acétique*.

#### Le dixième jour

Le dixième jour (C4-94) de l'expérience au laboratoire fait partie de la phase de refroidissement du processus de compostage (voir phase 2, figures 4.22 et 4.24). Pendant la phase de refroidissement, les champignons et les actinomycètes colonisent le compost en plus grand nombre. C'est pourquoi,

selon la même hypothèse que celle avancée au quatrième jour, on observe une concentration relative en polysaccharides encore plus élevée.

A ce stade-ci du compostage, il y a une diminution de la concentration relative en dimères de lignine, et une nette augmentation de celle en monomères de lignine. Il est probable que les monomères de lignine proviennent de la fragmentation des dimères sous l'action des micro-organismes.

Dans l'échantillon du dixième jour, ce sont maintenant les acides gras d'origine végétale ( $n-C_{25}$  à  $n-C_{34}$ ) qui sont relativement plus abondants que ceux d'origine animale ( $n-C_{15}$  à  $n-C_{24}$ ). Cela s'explique par le fait que les acides gras d'origine végétale sont des esters d'acide gras, et donc de plus longues molécules, plus difficiles à couper.

#### Le seizième jour

Le seizième et dernier jour de l'expérience de compostage au laboratoire (C4-100), on note la diminution, relativement marquée, des signaux de masse de l'acide acétique, des polysaccharides, des mono- et dimères de lignine, des acides gras, des stérols, et des composés azotés. L'hypothèse a été posée précédemment (chapitre 4.2.2.3) que ce stade du processus devrait être le début de la phase de maturation, durant laquelle devrait se produire la synthèse de substances humiques. À ce stade, il y a donc une réorganisation de la matière organique dans des structures chimiques beaucoup plus complexes. La méthode "Py-FIMS" ne permet pas de mesurer le degré d'humification du compost, la méthode par résonance magnétique nucléaire ( $^{13}\text{C}$ -NMR) serait plus appropriée à cet effet (Schnitzer, 1990).

#### 5.4.1 L'azote inconnu

Les quatre spectres de masse "Py-FI" n'apportent pas beaucoup d'information au sujet de la structure chimique de l'azote inconnu des échantillons de compost. La raison principale est le faible pourcentage en azote total des échantillons (2,09% M.S. au jour initial), relativement au carbone par exemple. Les signaux de masse, correspondant aux composants azotés, sont donc très faibles et ne ressortent pas dans les spectres de masse. Tel est le cas pour le signal  $m/z$  59 (*acétamide*), absent des quatre spectres (figures 5.1 à 5.4), qui est habituellement caractéristique du produit de dégradation des protéines (Schnitzer *et al.*, 1993).

Contrairement à Schnitzer *et al.* (1993) qui ont observé une baisse d'intensité des signaux de masse relatifs aux composants azotés hétérocycliques au cours du compostage, on devrait s'attendre, dans la présente étude, à une augmentation de tels signaux. En effet, à partir de la phase de refroidissement, suite à l'action des bactéries, et sous l'action des actinomycètes et des champignons, l'azote devrait se réorganiser en des formes plus complexes, notamment hétérocycliques et caractéristiques des substances humiques. On peut poser l'hypothèse qu'une de ces formes est l'*indole* ( $m/z$  117), puisqu'il est le composant azoté hétérocyclique le plus présent dans les quatre échantillons (figures 5.1 à 5.4). L'*indole* augmente en concentration au cours du processus, pour devenir important après la phase thermophile (C4-88). Une autre forme de composant azoté apparaît dans l'échantillon C4-88, il s'agit du composé non-identifié  $m/z$  299. Ensuite, lors de la phase de refroidissement (C4-94), on observe quatre nouveaux signaux de masse correspondant à autant de composants azotés hétérocycliques :  $m/z$  99 (non-identifié), *benzonitrile* ( $m/z$

103), *méthylindole* ( $m/z$  131), et *diméthoxybenzonnitrile* ( $m/z$  163). La principale inconnue demeure l'absence de tous ces composants azotés hétérocycliques dans le dernier échantillon (C4-100), à l'exception de l'*indole*. Dans l'hypothèse où, lors du processus de maturation du compost, ces formes azotées hétérocycliques sont réorganisées pour faire partie de substances humiques complexes, pourquoi l'analyse de l'échantillon C4-100, par la méthode "Py-FIMS", ne les détecte-t-elle pas? Pour étayer cette hypothèse, il faudra certainement, dans l'avenir, prolonger l'expérience de compostage au laboratoire, et procéder à l'analyse d'échantillons supplémentaires. Finalement, il faut noter que Schnitzer *et al.* (1993) ont utilisé des extraits aqueux de compost pour leurs analyses "Py-FIMS", contrairement à la présente étude, qui utilise directement des échantillons de compost lyophilisés.

#### 5.4.2 Les stérols

La présence de stérols en aussi grande quantité, dans les quatre échantillons de compost, est tout à fait nouvelle. Seuls Schnitzer *et al.* (1993) font mention d'un phénomène similaire dans d'autres types de composts. La méthode de spectrométrie de masse "Py-FI" contribue grandement à ces observations.

Les stérols sont présents dans les membranes de la plupart des organismes vivants. Certains stérols sont d'origine animale et d'autres d'origine végétale. Les deux "types" de stérols se retrouvent dans le compost à l'étude, puisqu'il s'agit de fumier de bovin dont l'alimentation est végétale.

Il est probable, lorsqu'on observe l'augmentation globale de la concentration en stérols pendant les phases thermophile (figure 5.2) et de refroidissement (figure 5.3), que les micro-organismes en soient les principaux responsables. En

effet, il est connu que de nombreux organismes des genres *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, et *Arthrobacter* sont capables d'utiliser certains stérols, comme le *cholestérol* ou le  $\beta$ -*sitostérol*, comme seule source de carbone et d'énergie. Cette réaction de dégradation complète n'a pas d'intérêt commercial, mais depuis la découverte selon laquelle la chaîne latérale des différents stérols abondants dans la nature peut être sélectivement dégradée par les micro-organismes, l'industrie pharmaceutique utilise ce moyen pour produire des stéroïdes. Il existe plusieurs revues de littérature récentes sur la transformation des stéroïdes, dont les stérols, par les micro-organismes. La voie métabolique de dégradation des stérols est complètement connue (Martin, 1984). Outre les réactions de dégradation oxydatives des stérols par les micro-organismes, d'autres sont également capables de réduire les liaisons doubles des fonctions *-keto* dans différents composés de stérol.

Le *cholestérol* (m/z 386) est d'origine animale. Le  $\beta$ -*sitostérol* (m/z 414) ainsi que l' $\alpha$ -*tocophérol* (m/z 430) peuvent provenir de composantes végétales thermiquement stables (Schnitzer *et al.*, 1991). Selon Schnitzer *et al.* (1993), il est normal de retrouver l' $\alpha$ -*tocophérol* au stade initial du compostage, car ce type d'ion moléculaire fait partie de la vitamine E, un anti-oxydant présent en abondance dans les rations alimentaires des animaux. Cependant, dans la présente étude, l' $\alpha$ -*tocophérol* est absent du premier échantillon (C4-85). Il est également probable que le *déhydro- $\beta$ -sitostérol* (m/z 416) soit un produit de la pyrolyse (Ayotte, 1993 communication personnelle). Les deux formes de stérols *éthylcholestatriène* (m/z 394) et *éthylcholestène* (m/z 398) sont moins courants dans la nature (Ayotte, 1993 communication personnelle).

### 5.5 Conclusions

En conclusion, les analyses des quatre échantillons de compost, représentatifs des différentes phases caractéristiques du processus, par la technique récente de spectrométrie de masse "Py-FI", ont démontré que :

1. La technique "Py-FIMS" est très prometteuse pour identifier la structure chimique des composants de la matière organique du compost, dont ceux contenant de l'azote, notamment sous forme hétérocyclique.

2. L'hypothèse que l'azote inconnu, provenant de la réorganisation de l'azote sous l'action des micro-organismes durant le processus de compostage, est en partie sous la forme *indole* est vérifiée.

3. La présence de stérols dans le compost est importante, et le rôle des micro-organismes dans le métabolisme de ces stérols est significatif.

Il faut cependant ajouter que la faible teneur en azote total des échantillons de compost à l'étude est un obstacle à l'identification complète des composants azotés par la technique "Py-FIMS", et que cette dernière technique n'a pas permis jusqu'à présent de véritable analyse quantitative. Toutefois dans l'avenir, il sera nécessaire et possible d'utiliser la technique "Py-FIMS" pour quantifier les principales composantes de la matière organique, par l'ajout de standards internes de polymères synthétiques aux échantillons (Schnitzer et Schulten, 1992). Finalement, l'abondance des stérols dans les échantillons de compost mériterait l'attention des chercheurs, dans l'avenir, surtout en raison de la dégradation de ceux-ci par les micro-organismes.

# CHAPITRE 6

## LE FRACTIONNEMENT DE L'AZOTE ORGANIQUE DES FUMIERS : ÉTUDE COMPARATIVE DE DEUX MÉTHODES D'HYDROLYSE ACIDE

### 6.1 Introduction

La nature et la composition chimique de l'azote organique des sols sont très complexes et environ la moitié de cet azote est de structure non déterminée. Il existe plusieurs revues de littérature, dans les sols, sur les formes d'azote organique, sur leur origine et sur leur dégradabilité (Bremner, 1965a, 1967 ; Stevenson et Wagner, 1970 ; Parsons et Tinsley, 1975 ; Kowalenko, 1978 ; Jocteur-Monrozier et Andreux, 1981 ; Stevenson, 1982). Par contre, dans les fumiers et dans les composts, une recherche bibliographique élaborée n'a pas permis de répertorier une revue de littérature semblable en ce qui concerne l'azote organique. Un certain parallèle est possible entre les formes d'azote des

fumiers et celles des sols puisqu'il y a au moins 50 % de l'azote sous forme organique dans les fumiers (Gonzales-Prieto et Carballas, 1984a ; Kirchmann, 1985 ; Godden, 1986 ; Mathur et al., 1990 ; Ott, 1990). Ceci explique que les recherches effectuées jusqu'à présent sur les fumiers ou le compostage utilisent les méthodes analytiques développées pour les sols. Seuls Gonzales-Prieto et Carballas (1984a, b) ont développé et discuté une nouvelle méthode de fractionnement de l'azote organique dans les fumiers de bovin. Cette méthode découle cependant du principe général de fractionnement par hydrolyse à l'HCl concentré à haute température (Bremner, 1965b).

#### 6.1.1 L'évolution des méthodes d'hydrolyse

La méthode de référence utilisée pour identifier et estimer les différentes formes de composés azotés organiques des sols est celle de Bremner (1965b). Elle est utilisée depuis que les chercheurs se sont rendu compte que seulement 20% à 40% de l'azote total des sols est sous forme d'acides aminés, au lieu de 60% à 80% comme le laissait croire la quantité d'azote totale dissoute par les anciennes méthodes d'hydrolyse acide des protéines; de plus, il apparaît des quantités non-négligeables d'azote hexosamines. La méthode de Bremner consiste en une hydrolyse acide à l'HCl 6N pendant 12 heures, par ébullition à reflux, suivie des dosages spécifiques des formes d'azote total, ammonium, acides aminés et hexosamines. Le dosage de l'azote acide aminé s'effectue par la méthode à la ninhydrine de Van Slyke et al. (1941), cette dernière améliore considérablement la fiabilité des résultats.

Quinn et Salomon (1966) avancent l'hypothèse qu'il est nécessaire d'effectuer des hydrolyses vigoureuses avec des acides forts pour pouvoir extraire



l'azote organique plus fortement lié aux complexes organiques du sol. Ces formes d'azote libérées progressivement dans les sols ont certainement un rôle important à jouer dans l'apport azoté aux plantes. En référence à Bremner (1965b), la durée de l'hydrolyse est ramenée par Quinn et Salomon (1966) de 12 à 4 heures et permet d'extraire la plus grande partie de l'azote acide aminé.

Greenfield (1972) présente la composition de l'azote total de certains sols comme étant de 20 à 40% sous forme acide aminée, de 4 à 12% hexosamines, de 10 à 30% ammonium et environ 20% sous forme hydrolysable inconnue (HUN). Environ un tiers de la quantité d'hexosamines mesurée provient de la chitine et de la glucosamine, et aurait été transformée en ammonium à cause des conditions de l'hydrolyse (120°C pendant 24 heures). L'ammonium identifié après l'hydrolyse vient principalement de la dégradation des fonctions amides d'acides aminés comme la glutamine, associée aux acides aminés dicarboxyliques (acide glutamique) dans la structure des protéines. L'ammonium peut également provenir en petite partie (2% de N total) de la destruction d'acides aminés comme la tyrosine et le tryptophane, ou encore de la destruction de 10% de la sérine et de la thréonine des protéines (Smith et Stockell, 1954 cités par Greenfield, 1972). Les conditions d'hydrolyse donnent naissance à des composés solubles non-identifiés (HUN) et, selon Greenfield (1972), il est raisonnable de poser l'hypothèse que les HUN proviennent en grande partie, si pas intégralement, de l'azote autre que l'azote  $\alpha$ -aminé de certains acides aminés (arginine, tryptophane, lysine, proline); ces formes d'azote ne réagissent pas à la ninhydrine. Cependant, les conclusions de Greenfield (1972) sont tirées d'échantillons provenant de plantes ou d'autres protéines naturelles, et non des sols.

Goh et Edmeades (1979) rapportent une distribution des formes d'azote organique (% d'azote total) dans des sols néo-zélandais très semblable à celle d'autres sols tempérés : azote total hydrolysable = 83-91%, azote  $\alpha$ -aminé = 38-42%, azote ammoniacal = 14-22%, azote hexosamine = 6-9,5%, azote non- $\alpha$ -aminé = 6-7,5%, azote hydrolysable non-identifié = 14-24%. Ces auteurs soulignent l'importance de considérer que 50% des HUN sont constitués d'azote non- $\alpha$ -aminé et qu'il est probable qu'avec l'amélioration des techniques d'analyse des acides aminés, on trouvera une contribution encore plus grande de l'azote non- $\alpha$ -aminé, par exemple le tryptophane, qui est détruit par l'hydrolyse acide, ou encore la proline et l'hydroxyproline.

Sowden *et al.* (1977) cités par Ivarson et Schnitzer (1979) estiment que 86 à 89% de l'azote total des sols est hydrolysable à l'HCl 6N; ils établissent la proportion des différentes fractions comme suit : l'azote acide aminé forme entre 33 et 41% de l'azote total, les hexosamines entre 5 et 7%, et l'ammonium entre 18 et 32%. En résumé 40% de l'azote total est sous forme protéique, alors que 60% est non-protéique. Une petite partie de l'azote hydrolysable non-identifié (HUN), qui constitue entre 41 et 46% de l'azote total des sols, est formée de purines et de pyrimidines mais aucune information n'est disponible ni sur la structure des composants majeurs de cette fraction, ni sur leur bio-dégradabilité (Ivarson et Schnitzer, 1979). Ces derniers ont évalué la bio-dégradabilité de l'azote inconnu en utilisant la flore microbienne en présence de sol pour dégrader des fractions purifiées de HUN. Il en ressort que la plus grande partie de l'azote non-identifié est bio-dégradable, et donc qu'il y a lieu de poursuivre les recherches chimiques et microbiologiques sur cet azote.

Janel et al. (1979) reprennent la technique classique de l'hydrolyse acide pour fractionner l'azote organique des sols. Mais en fonction de leurs résultats, ils ajoutent l'information que le contact prolongé des produits de l'hydrolyse crée des artefacts, comme la néoformation d'ion ammonium (Bremner, 1965a), la présence de HUN (Kai, 1975), ou la formation de composés insolubles en cours d'hydrolyse (James, 1972), pour proposer une modification de la technique de fractionnement. Leur nouvelle méthode par "hydrolyses successives" propose de soutirer périodiquement du milieu réactionnel les produits de l'hydrolyse (figure 6.1). Il faut remarquer que les hydrolyses sont effectuées avec de l'HCl 3N.

D'après leurs résultats, la dynamique de l'hydrolyse continue est complexe, alors que celle des hydrolyses successives est simple et a pour cinétique une loi du type :

$$\frac{N \text{ total}}{N \text{ total} - N \text{ hydrolysable}} = e^{-kt}$$

Janel et al. (1979) observent trois phases au cours de l'hydrolyse par étapes: une première phase d'une heure avec la solubilisation très rapide de la totalité de l'ammoniac et de l'azote combiné hydrolysable, et d'une fraction des amino-acides; une deuxième phase de 4 heures avec la libération plus lente des amino-acides ; et une troisième phase au-delà de 5 heures qui met en évidence une faible quantité de structures aminées résiduelles.

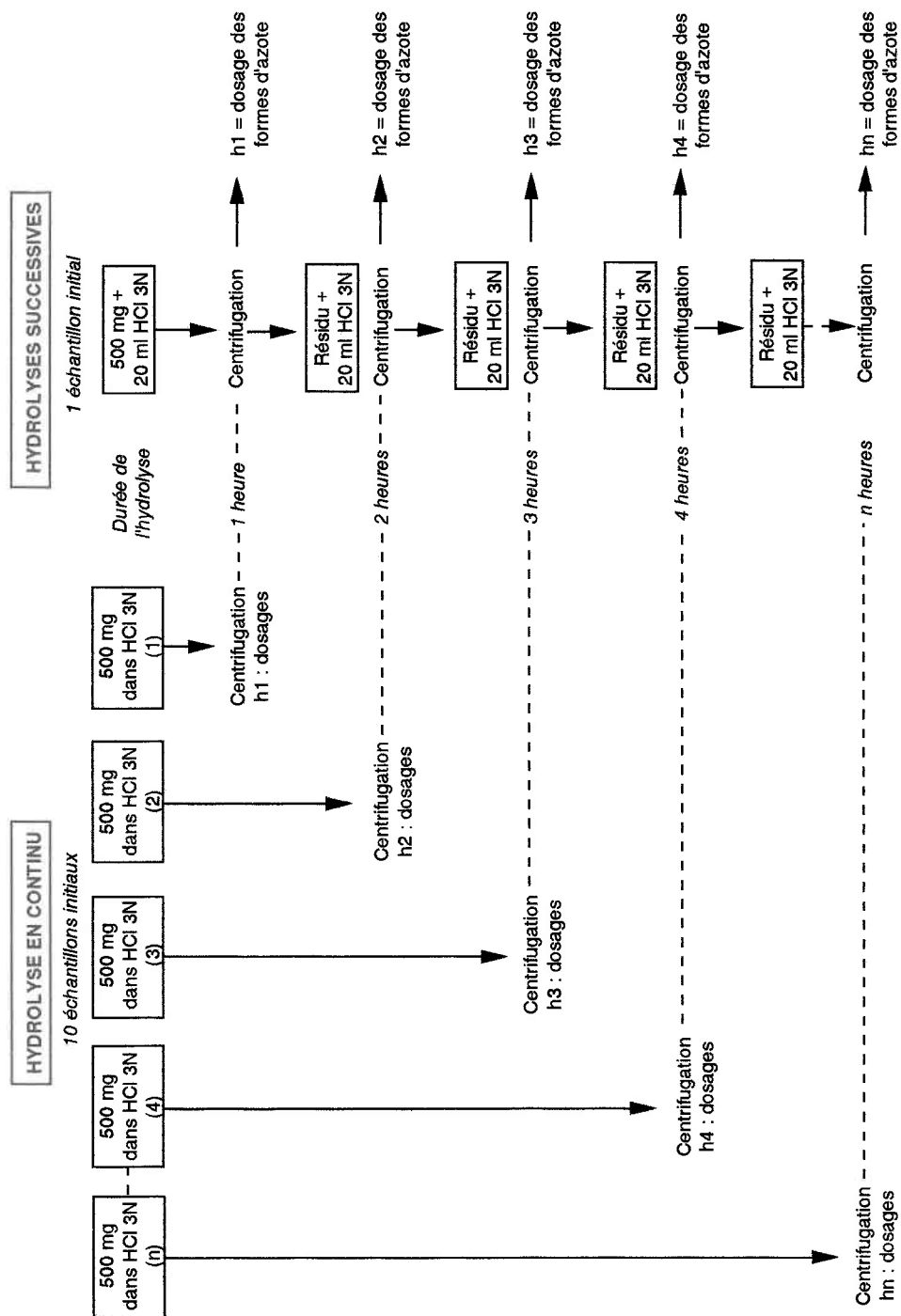


Fig. 6.1 : Organigramme des méthodes d'hydrolyse, figure adaptée de Janel et al. (1979).

Il apparaît, lors de l'étude de Janel et al. (1979), que la méthode par hydrolyses successives permet d'aller chercher sous forme d'azote acide aminé une bonne partie de l'azote inconnu mesuré par l'hydrolyse continue. Selon ces auteurs : "les variations qualitatives et quantitatives des produits hydrolysables ainsi que les résultats de l'étude critique des phénomènes constituent d'excellents indices pour situer le niveau de transformations de la matière organique au cours de l'humification".

Yonebayashi et Hattori (1980) proposent des améliorations à la méthode de Bremner (1965b) pour doser l'azote organique dans les sols tropicaux. Il est nécessaire, selon ces derniers, d'augmenter la durée totale de l'hydrolyse de 12 à 24 heures afin de pouvoir hydrolyser tous les polymères azotés des sols, comme l'azote  $\alpha$ -aminé de certaines protéines et les hexosamines. Une hydrolyse plus douce (HCl 1N pendant 3 heures) est nécessaire pour mesurer la véritable quantité d'azote sous forme amide et non les produits de dégradation des hexosamines par exemple. L'azote acide aminé est dosé par la méthode à la ninhydrine, après avoir éliminé l'azote sous formes amide et hexosamine. Les fractions azotées mesurables après distillation sont illustrées à la figure 6.2, et désignées par les lettres B à F .

Les résultats de Yonebayashi et Hattori (1980) montrent essentiellement, par rapport à ceux de Bremner (1965a), un taux d'azote hexosamine plus important puisqu'on a tenu compte de la dégradation des hexosamines durant l'hydrolyse (tableau 6.1).

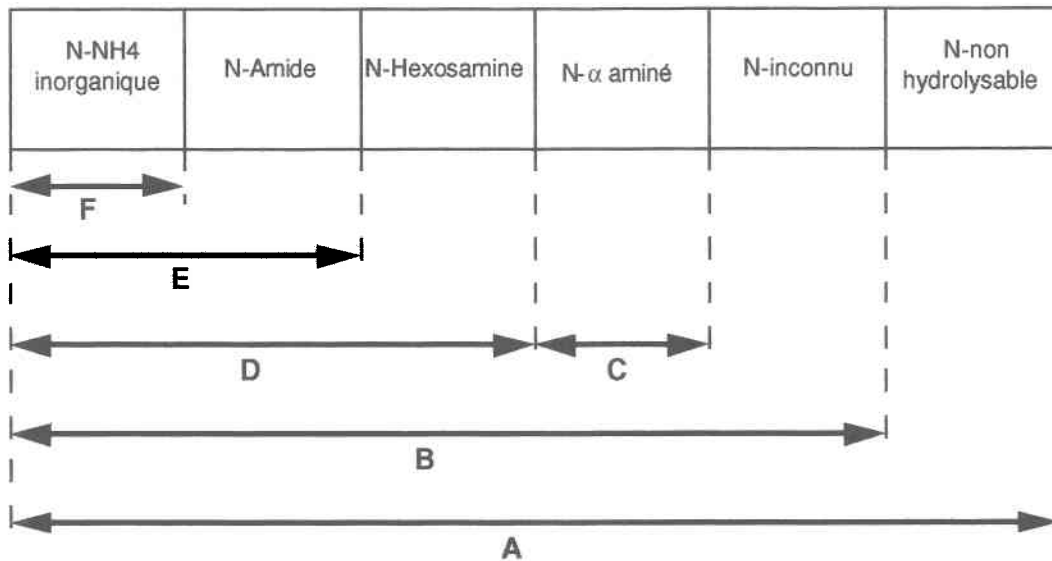


Fig. 6.2 : Schéma de l'identification des formes fractionnées d'azote organique. Figure adaptée de Yonebayashi et Hattori (1980).

Tableau 6.1

Comparaison des méthodes d'hydrolyse de Bremner et de Yonebayashi et Hattori. Distribution des formes d'azote organique dans un groupe de sols tropicaux\*

Formes d'azote	Méthode de Bremner	Méthode de Yonebayashi et Hattori
N-hydrolysable	47,0 - 90,0%**	54,1 - 90,5%
N-NH4	21,1 - 41,8%	-
N-amides	-	4,0 - 8,7%
N-hexosamines	3,8 - 8,6%	23,7 - 48,5%
N-α-aminé	32,9 - 44,4%	32,3 - 45,3%

\* Données extraites de Yonebayashi et Hattori (1980)

\*\* % d'azote organique hydrolysable

Schnitzer et Hindle (1981) reprennent les conclusions de Janel *et al.* (1979), selon lesquelles une grande partie de l'azote inconnu est constituée de matériel protéique et devait échapper à la détection par la méthode d'hydrolyse continue utilisée jusqu'ici, pour les tester sur un sol organique et sur un sol inorganique. Les conditions d'hydrolyse sont semblables, une hydrolyse continue et une hydrolyse par étapes successives à l'HCl 3N. Schnitzer et Hindle (1981) ajoutent également une hydrolyse continue à l'HCl 6N sur les mêmes échantillons. Les résultats montrent que l'hydrolyse continue apporte plus d'azote  $\alpha$ -aminé et ammoniacal, mais moins d'azote inconnu que les hydrolyses successives. Les deux méthodes ont peu d'effet sur l'azote hydrolysable ainsi que l'azote hexosamine. L'hydrolyse continue à l'HCl 6N apporte plus d'azote  $\alpha$ -aminé mais moins d'azote inconnu que celle à l'HCl 3N. En conclusion, Schnitzer et Hindle (1981) affirment qu'il n'y a pas d'avantages à utiliser les hydrolyses successives par rapport à l'hydrolyse continue. Au contraire même, les hydrolyses successives augmentent la formation de composés azotés complexes, par les cycles répétés de chauffage et de refroidissement, surtout aux dépens de l'azote acide aminé. Selon ces auteurs, même s'il apparaît qu'une bonne partie de l'azote inconnu est biodégradable, il n'est pas possible d'en apprendre plus sur ses structures chimiques en modifiant les conditions d'hydrolyse.

Pour analyser les composés azotés de quatre types de fumiers de bovin, Gonzales-Prieto et Carballas (1984a) ont développé une nouvelle méthode par hydrolyses successives utilisant progressivement de l'HCl plus concentré (figure 6.3).

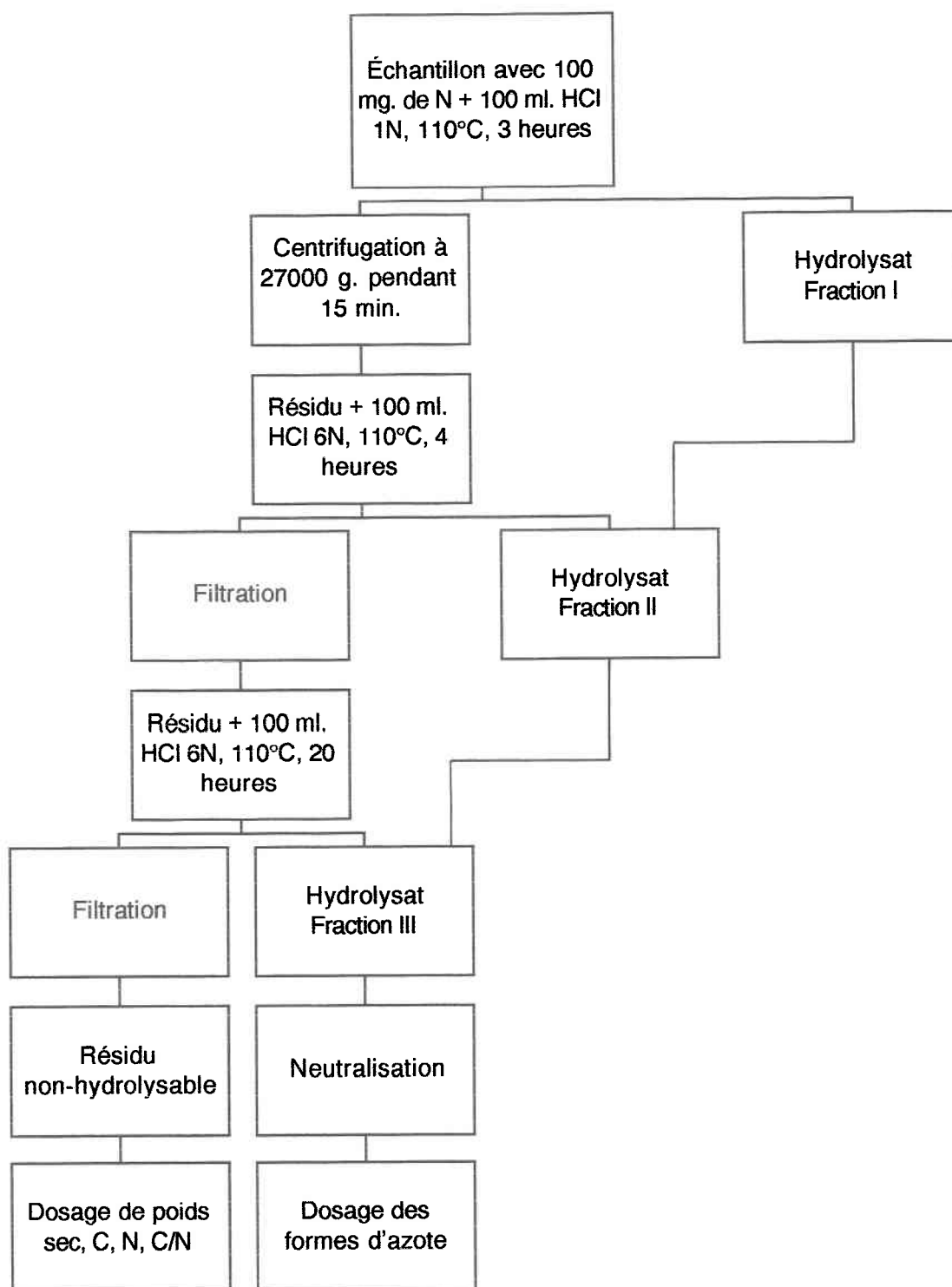


Fig. 6.3 : Diagramme de la méthode par hydrolyses successives, adapté de Gonzales-Prieto et Carballas (1984a).



Ils questionnent les conclusions de Schnitzer et Hindle (1981) au sujet de la méthode par hydrolyses successives, et en reprennent les avantages. Les résultats sont résumés au tableau 6.2 :

Tableau 6.2

Distribution des formes d'azote organique dans quatre types de fumiers \*

Formes d'azote organique	en % d'azote organique
N-NH <sub>4</sub>	8- 11%**
N-hexosamines	5 - 11%
N- $\alpha$ -aminé	27 - 29%
HUN	8 - 35%
N-non-hydrolysable	8 - 20%

\* Données extraites de Gonzales-Prieto et Carballas (1984a)

\*\* % d'azote organique hydrolysable

Il ressort également, de l'étude de Gonzales-Prieto et Carballas (1984a), que l'azote organique de fumiers à faible teneur en matière sèche est plus facilement hydrolysable que celui des fumiers à plus forte teneur en matière sèche. Dans ce dernier cas, il apparaît nécessaire d'extraire l'azote organique par une hydrolyse plus sévère. Gonzales-Prieto et Carballas (1984a) font également une tentative de rapprochement entre la dynamique de l'hydrolyse et le potentiel de minéralisation du même fumier, par la suite, dans les sols. Selon ces

derniers, l'azote mesuré durant la première phase douce de l'hydrolyse (N pré-existant et N hydrolysé) serait celui disponible pour les cultures durant les mois suivant l'application. Il s'agit de 45% de l'azote total pour les fumiers à faible teneur en matière sèche et de 75 à 90% de l'azote total pour les fumiers à forte teneur en matière sèche. Durant la deuxième phase de l'hydrolyse, l'azote mesuré est celui disponible entre un et deux ans suivant l'épandage, i.e. 5 à 15% de l'azote total pour les fumiers à faible teneur en matière sèche et de plus de 30% de l'azote total pour les fumiers à forte teneur en matière sèche. Finalement, respectivement 3 à 6% (faible teneur en M.S.) et 13 à 17% (forte teneur en M.S.) de l'azote total sont extraits durant la troisième phase prolongée de l'hydrolyse et sont disponibles, dans les sols, dans un terme de 5 à 6 ans.

Gonzales-Prieto et Carballas (1988) proposent une nouvelle modification de la méthode par hydrolyses successives qu'ils avaient proposée précédemment (Gonzales-Prieto et Carballas, 1984a,b), pour le fractionnement de l'azote organique des sols. Cette méthode comprend quatre hydrolyses successives avec de l'HCl de plus en plus concentré (figure 6.4). Les avantages de cette méthode sont selon les auteurs : l'estimation d'une forme d'azote supplémentaire, l'azote "amidique", qui diminue d'autant la quantité d'azote non-hydrolysable et l'évitement des réactions d'insolubilisation et de brunissage qui ont lieu normalement dans les premières heures de l'hydrolyse à l'HCl 6N, alors que les désavantages sont une procédure plus complexe au laboratoire, une quantité d'azote  $\alpha$ -aminé diminuée de moitié et une quantité d'azote inconnu doublée.

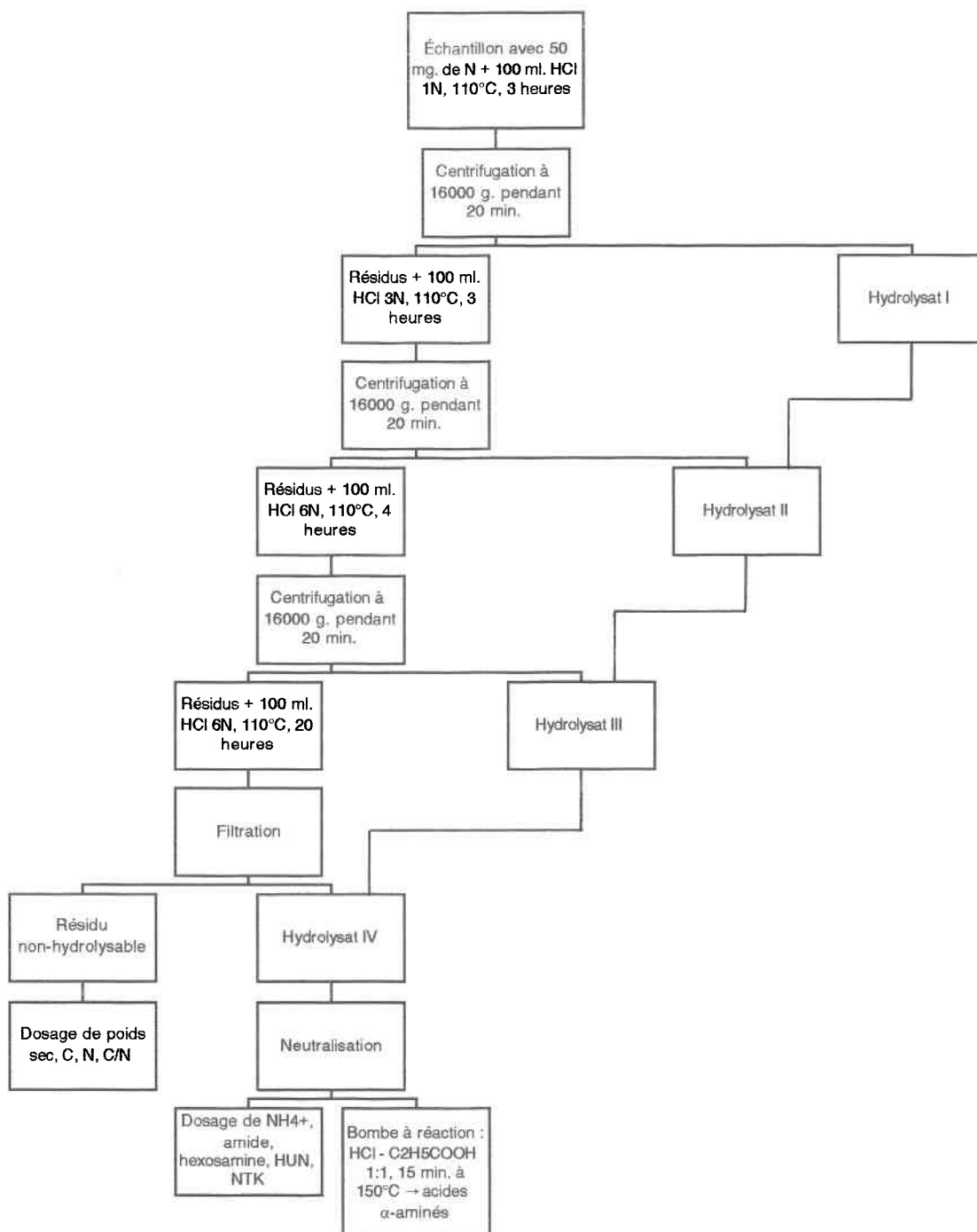


Fig. 6.4 : Diagramme de la méthode modifiée par hydrolyses successives, adapté de Gonzales-Prieto et Carballas (1988).

Gonzales-Prieto et Carballas (1988) rejoignent dans leurs conclusions Schnitzer et Hindle (1981). Cependant, ils ne sont pas d'accord avec l'hypothèse que ce sont les cycles de chauffage et de refroidissement des hydrolyses successives qui sont la cause de l'obtention d'une quantité importante d'azote inconnu. En effet, la plus grande partie de la fraction "azote inconnu" (56 - 61%) est obtenue lors de la première étape de l'hydrolyse.

### 6.2 Objectifs de l'étude

La revue de littérature concernant l'évolution des méthodes d'hydrolyse démontre d'une part, qu'en sciences des sols il n'y a pas encore de méthode standardisée pour fractionner l'azote organique, et d'autre part, que les travaux sur le sujet dans le fumier sont très peu nombreux. S'il n'y a pas encore de méthode standardisée pour fractionner l'azote organique, c'est probablement à cause de l'absence de connaissance des structures chimiques particulières des molécules composant la fraction dite "azote inconnu ou HUN". Le manque de connaissances au sujet des structures complexes des molécules d'azote pourrait être attribué à une lacune au niveau des méthodes analytiques de dosage.

Pour l'instant force est d'admettre que l'hydrolyse acide est la meilleure méthode de fractionnement de l'azote organique, mais que la question du choix entre une hydrolyse acide continue ou des hydrolyses successives ne fait pas l'unanimité dans la communauté scientifique. Cependant, il est clair que le problème réside dans les effets secondaires pouvant être générés par l'une ou l'autre des méthodes, ou encore par la complexité au laboratoire de la méthode la plus récente, celle effectuée par hydrolyses successives.

L'objectif de cette étude est de vérifier les deux méthodes d'hydrolyse pour fractionner l'azote organique d'un fumier de bovin, en les comparant à partir d'un même échantillon, ayant par ailleurs les caractéristiques du fumier utilisé pour les expériences de compostage dont les résultats ont été présentés aux chapitres 4 et 5.

### 6.3 Résultats et discussion

#### 6.3.1 Méthode par hydrolyse continue

Les résultats de l'hydrolyse continue à l'HCl 6N pour des durées d'hydrolyse allant de 1, 2, 4, 8, 15 heures, jusqu'à 24 heures sont présentés aux figures 6.5 et 6.7a. On observe (fig. 6.5) une hydrolyse très rapide, dans la première heure, de plus de 95% de l'azote total présent dans l'échantillon de fumier. La concentration d'azote de forme HUN, après une augmentation à la deuxième heure d'hydrolyse, diminue régulièrement pendant les heures suivantes de 60 à 40% de l'azote total. On remarque une augmentation du même ordre, de 20 à 40% de l'azote total sous forme acide aminé. Les pourcentages d'azote hexosamine, très faible à moins de 3% de l'azote total, et d'azote de forme  $\text{NH}_4^+$  et amide (15% de N total) ne subissent presque pas d'augmentation pendant la durée de l'hydrolyse. La représentation relative des différentes formes d'azote hydrolysables (fig. 6.7a) indique, dans l'ensemble, une cinétique d'hydrolyse régulière, avec la diminution des formes d'azote inconnues dans le temps.

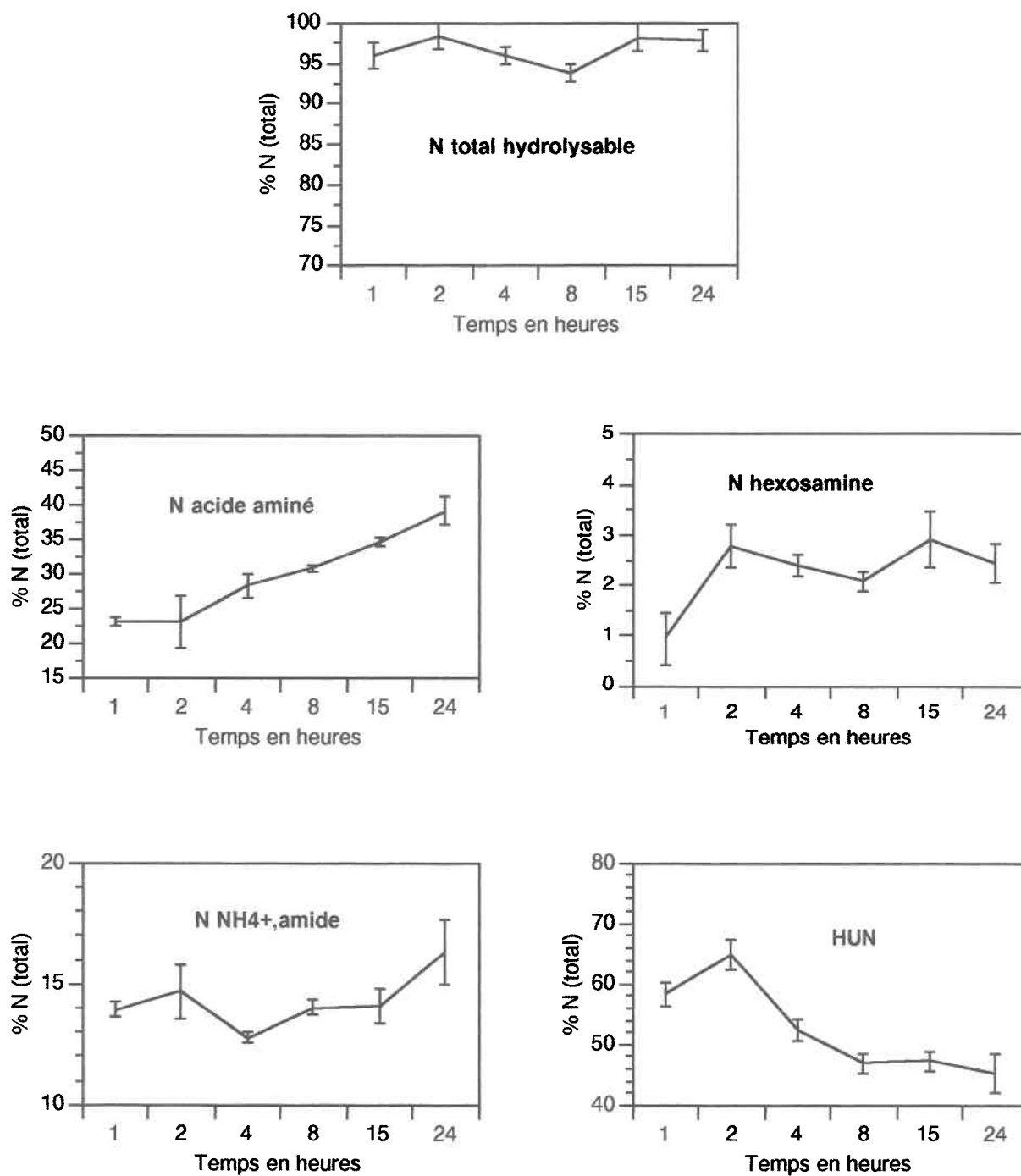


Fig. 6.5 : Formes d'azote organique hydrolysées par la méthode d'hydrolyse continue, moyennes de triplicatas par heure et erreur-types représentées par des bâtonnets.

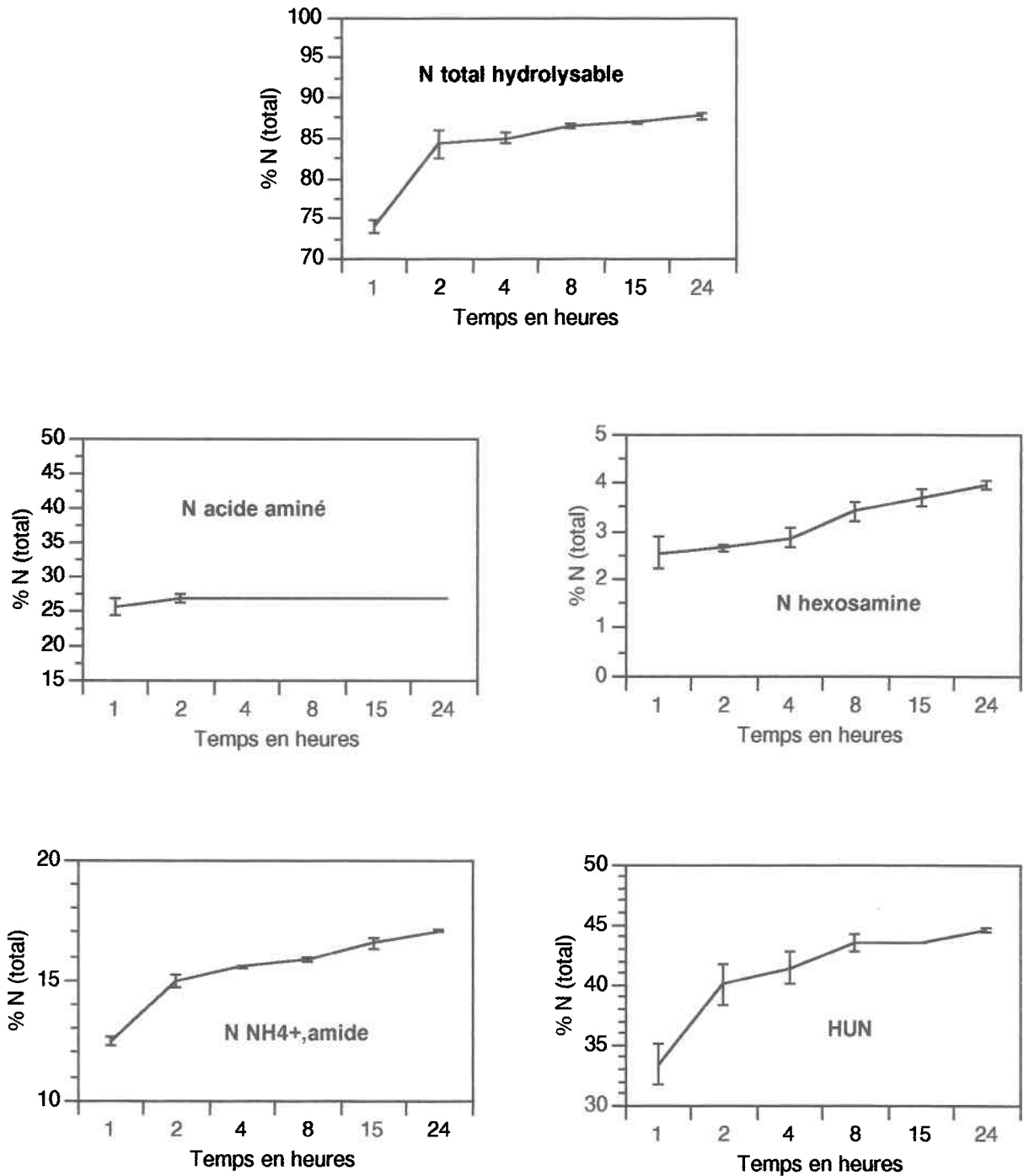
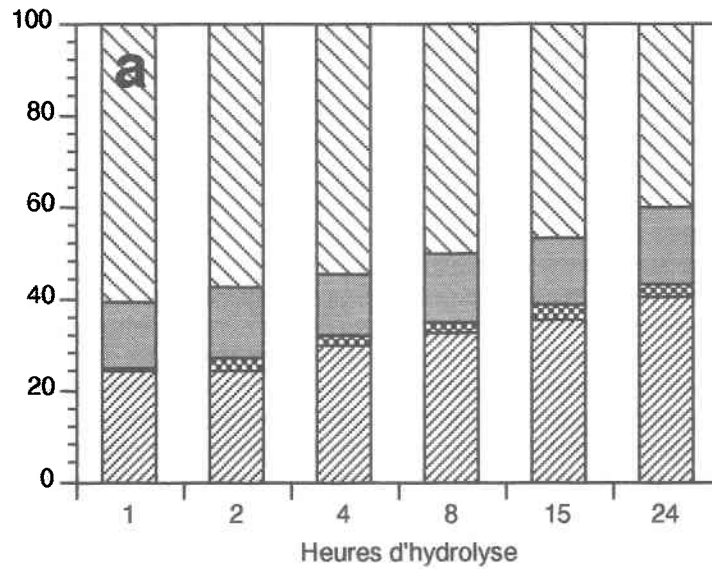


Fig. 6.6 : Formes d'azote organique hydrolysées par la méthode d'hydrolyses successives, moyennes de triplicatas par heure et erreur-types représentées par des bâtonnets.

% N total hydrolysable



% N total hydrolysable

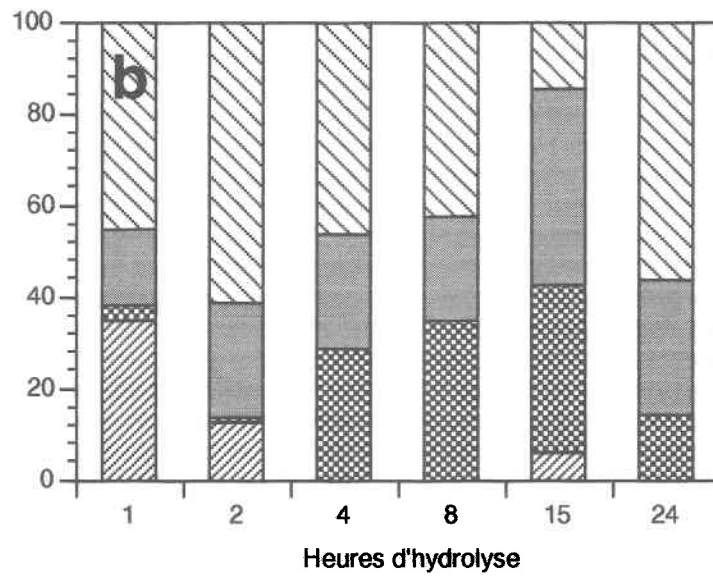


Fig. 6.7 : Formes d'azote organique sur base d'azote total hydrolysable :  
 a = hydrolyse continue, b = hydrolyses successives, □ = HUN,  
 ■ = N-(NH<sub>4</sub>, Amides), ▨ = N hexosamines, ▩ = N acides aminés.



### 6.3.2 Méthode par hydrolyses successives

Les résultats de la méthode par hydrolyses successives à l'HCl 6N, pour des étapes de 1, 2, 4, 8, 15, et 24 heures sont présentés aux figures 6.6 et 6.7b. Les quantités d'azote total hydrolysées dans le temps, et représentées de façon cumulative (fig. 6.6), indiquent une hydrolyse rapide de plus de 85% de l'azote total après deux heures d'hydrolyse. Cependant, il faut remarquer que la concentration des formes HUN augmente, dans le temps, de 35 à 45% de l'azote total. Parallèlement à l'augmentation des HUN, on n'assiste à aucune variation dans le temps de la quantité d'azote acide aminé (27% de N total). Les formes d'azote hexosamine et d'azote  $\text{NH}_4^+$  et amide augmentent régulièrement durant les différentes étapes de l'hydrolyse, jusqu'à 24 heures. La représentation des formes hydrolysées à chaque étape et sur base d'azote total hydrolysable (fig. 6.7b) indique une hydrolyse de l'azote acide aminé dans un premier temps, suivie de l'hydrolyse de l'azote hexosamine, et à la fin (entre 15 et 24 heures) l'hydrolyse des formes inconnues (HUN). La cinétique d'hydrolyse de la forme azote  $\text{NH}_4^+$  et amide est complexe.

### 6.3.3 Comparaison des deux méthodes d'hydrolyse

#### Statistiques

L'analyse statistique effectuée sur les résultats des deux méthodes d'hydrolyse, pour les moyennes des cinq variables appelées "formes d'azote organique", au cours des six étapes d'hydrolyse est présentée au tableau 6.3. L'analyse de profil montre qu'en général les concentrations des différentes formes d'azote organique varient de façon significative avec la durée de l'hydrolyse et

cela pour les deux méthodes (test d'égalité des modalités du facteur de comparaison), sauf dans le cas de l'azote hexosamine. Il apparaît également que les profils des différentes formes d'azote organique ne sont pas parallèles dans le temps entre les deux méthodes d'hydrolyse et cela de façon significative (test de parallélisme des profils). Finalement, il faut noter que la variabilité des réplicats à l'intérieur des méthodes est beaucoup plus faible que la variabilité entre les six phases d'hydrolyse ou que la variabilité entre les deux méthodes d'hydrolyse.

Tableau 6.3

Statistiques de l'analyse de profil réalisée pour comparer les méthodes d'hydrolyses continue et successives.

Variables : Formes d'azote organique	Test de comparaison de moyennes Fcalculé	Test de parallélisme Fcalculé
N total hydrolysable	418,0*	415,89*
N acide aminé	21,08*	61,88*
N hexosamine	0,34	12,62*
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et amide	46,94*	52,81*
HUN	47,18*	12,48*

$F_{\alpha} = 0,005 ; 5, 20 = 4,76$  , \* = significatif

### Hydrolyse des formes d'azote

Les deux méthodes d'hydrolyse produisent l'essentiel de l'azote hydrolysable (85 - 95%) dans les deux premières heures de l'hydrolyse.

Dans le cas de la méthode par hydrolyse continue, la quantité de HUN diminue significativement au fur et à mesure qu'on prolonge la durée de l'hydrolyse, et la quantité d'azote acide aminé augmente proportionnellement. Il est probable qu'au cours des deux premières heures, les formes acides aminés, les plus simples, sont hydrolysées, i.e. les acides aminés libres et les petits peptides. Ensuite, au cours du temps l'hydrolyse continue va chercher les formes d'acide aminé provenant des plus longs peptides et des chaînes latérales des protéines, et finalement celles liées aux protéines.

Avec la méthode par hydrolyses successives, on observe une augmentation des HUN avec la durée de l'hydrolyse. Cette augmentation des formes inconnues semble se produire aux dépens des formes d'azote acide aminé et tend à démontrer que l'essentiel des HUN n'est pas constitué de formes acides aminées, mais bien des formes d'azote plus complexes.

Les deux méthodes d'hydrolyse ont relativement peu d'effets sur les quantités totales d'azote hexosamine et d'azote  $\text{NH}_4^+$  et amide extraites au cours du temps, cependant la cinétique d'hydrolyse de ces formes diffère d'une méthode à l'autre. Dans le cas de la méthode successive, les quantités d'azote hexosamine et d'azote  $\text{NH}_4^+$  et amide hydrolysées augmentent de façon plus constante dans le temps que dans le cas de l'autre méthode (fig. 6.6). En effet, lorsqu'on retire du milieu réactionnel l'azote hexosamine déjà hydrolysé on évite probablement la

dégradation subséquente de ces molécules, ce qui contribuerait à leur diminution en valeur absolue. C'est ce phénomène qui peut être à la base de la cinétique complexe observée lors de l'hydrolyse continue (fig. 6.5).

#### 6.4 Conclusions

En conclusion, il n'y a pas d'avantages à utiliser la méthode par hydrolyses successives pour diminuer la quantité des HUN présents dans l'échantillon de fumier, et il reste à identifier la structure de ces molécules complexes par la suite. Ces résultats concordent avec l'interprétation de Schnitzer et Hindle (1981).

Par contre, il apparaît que la cinétique d'hydrolyse des formes d'azote hexosamine et d'azote  $\text{NH}_4^+$  et amide est plus irrégulière avec la méthode continue, ce qui permet de poser l'hypothèse qu'il existe des mécanismes d'hydrolyse plus complexes pour ces formes (Janel *et al.*, 1979). Ces mécanismes complexes d'hydrolyse devraient intervenir à partir de la quatrième heure d'hydrolyse, lorsque les formes d'azote hexosamine sont libérées (fig. 6.7b). En effet, dans le cas d'une hydrolyse continue, si l'azote hexosamine hydrolysé demeure dans le milieu réactionnel plus que 4 heures, il est probable que ces formes vont s'altérer et que leurs produits de dégradation vont contribuer à l'augmentation des formes d'azote  $\text{NH}_4^+$  et amide (Yonebayashi et Hattori, 1980).

En regard des avantages de la méthode par hydrolyse continue sur la méthode par hydrolyses successives, mais aussi des risques de mécanismes d'hydrolyse complexes qui pourraient fausser les résultats lors d'une hydrolyse continue prolongée, il est conseillé de modifier quelque peu la méthode par hydrolyse continue (fig. 3.14). Il est suggéré de limiter la durée de l'hydrolyse continue

---

à l'HCl 6N à 4 heures, et d'ajouter une deuxième étape d'hydrolyse de 4 heures, après centrifugation et remise des résidus dans de l'HCl 6N, pour aller doser uniquement l'azote hexosamine plus lent à se libérer. Il faut également effectuer une hydrolyse plus douce (HCl 1N de 3 heures) pour le dosage des formes  $\text{NH}_4^+$  et amides.

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES

### 1. La situation actuelle

Au moment où, au Québec, la tendance au mode de gestion liquide ou semi-liquide des fumiers de bovin est remise en question en raison de la recherche d'une plus grande efficacité agronomique, intimement associée aux questions environnementales, mais aussi au moment où toute une industrie du recyclage des déchets prend naissance, le procédé de compostage semble devoir acquérir ses lettres de noblesse, du moins celles de l'ère industrielle. Le danger dans la situation présente vient de l'engouement de l'industrie à vouloir transformer tout résidu organique en un produit organique stabilisé, désigné par un terme à la mode à cause de sa connotation verte : "le compost". En effet, un produit composté

possède des propriétés physico-chimiques et biologiques dépendantes de celles des substrats organiques originaux; or, les résidus biotransformés sont souvent constitués d'un mélange hétérogène et variable de déchets divers. Il pourrait alors être risqué d'utiliser de tels composts à des fins agricoles, dans le but de maintenir ou d'augmenter la matière organique des sols, sans en connaître leurs qualités intrinsèques. Dans ce cas précis, le terme "compost" devrait plutôt être remplacé par celui de "produits organiques stabilisés". En conséquence, l'industrie du compostage aura besoin de définir dans l'avenir les normes de qualité d'un compost, et la recherche de nouvelles normes passe par la recherche d'outils analytiques adaptés au compostage, et par la connaissance des processus de transformation et de stabilisation des différents composants du compost.

Le fumier de bovin a toutes les qualités naturelles requises pour être composté, et ensuite retourné à l'écosystème d'où il provient. Cependant, beaucoup d'inconnues demeurent encore au sujet des cycles des éléments nutritifs pendant le processus de compostage du fumier; la connaissance approfondie de ceux-ci devrait permettre non seulement de diminuer les pertes en éléments nutritifs vers l'environnement, mais aussi de comprendre comment les paramètres du procédé de compostage contrôlent la dynamique de transformation des éléments nutritifs et de la matière organique lors du processus (stabilisation) et finalement de pouvoir prédire la dynamique inverse (minéralisation) de transformation des composants du compost dans les sols, après son application.

## 2. L'approche analytique dans l'étude du processus de compostage

Le processus de compostage, contrôlé par une succession de micro-organismes responsables de la dégradation de la matière organique, est très com-

plexe du point de vue de la dynamique de transformation des éléments nutritifs et de la matière organique. Jusqu'à aujourd'hui, le manque de connaissances détaillées des processus dans le compostage vient probablement de l'approche analytique couramment utilisée. Cette approche consiste à caractériser le processus de compostage, de façon univariée, par la mesure de quelques paramètres physiques et chimiques. Ces paramètres sont souvent trop globaux et indirects, comme le rapport C/N, la température, le taux d'humidité, et l'aération entre autres.

Nous avons proposé une nouvelle méthode d'analyse du processus de compostage par une approche écologique qui consiste à caractériser de façon multivariée les phases microbiennes du processus de compostage à l'aide d'une matrice de variables physico-chimiques et biologiques mesurées à intervalles réguliers sur les échantillons de compost. Ce type d'approche permet, comme il a été démontré dans cette thèse avec le cycle de l'azote, de mettre en relation la dynamique de réorganisation d'un élément nutritif avec l'ensemble des phénomènes évolutifs du processus de compostage. Il est donc possible de mieux comprendre comment, sous quelles formes, et à quels moments du processus seront perdues ou réorganisées les formes d'azote initiales.

Un autre aspect analytique important a retenu notre attention dans cette recherche, il concerne particulièrement les méthodes de fractionnement et de dosage de l'azote organique dans le fumier et le compost. Généralement, ces aspects ont été couverts dans la littérature sur les sols et sont utilisés dans la recherche sur le compostage par analogie avec les sols organiques. Il n'existe pas encore de méthode standard pour fractionner l'azote organique des sols ou des fumiers, et la controverse au sujet du mode d'hydrolyse à utiliser, continu ou par



étapes, n'est pas réglée non plus. Toutefois, dans le cas du fumier, la présente étude a permis de conclure qu'il n'y avait pas d'avantages à utiliser la méthode par hydrolyses successives pour diminuer la proportion d'azote de forme inconnue (HUN) dans l'hydrolysate. À la fin de l'hydrolyse, cette proportion de HUN reste légèrement supérieure à 40% de l'azote total et ne peut pas être identifiée au point de vue de sa structure chimique par les méthodes analytiques actuelles. Nous avons donc proposé une méthode de fractionnement de l'azote organique du fumier par une hydrolyse continue de courte durée (quatre heures) par rapport à celle de Bremner (1965b), puisque 85-95% de l'azote hydrolysable est récupéré dans les deux premières heures d'hydrolyse et que, si celle-ci devait se prolonger au-delà de quatre heures, il y aurait apparition d'effets secondaires indésirables.

### 3. Le cycle de l'azote dans le processus de compostage

L'azote d'un fumier de bovin, qui est à plus de 90% sous forme organique et surtout protéique, est rapidement minéralisé au cours du processus de compostage au laboratoire. Au cours des phases mésophile et thermophile, lorsque l'activité métabolique est intense et qu'il y a augmentation des populations bactériennes principalement, l'azote organique est immobilisé sous forme de protéines dans les membranes cellulaires. Plus tard dans le processus, on note une augmentation des formes d'azote plus difficilement hydrolysables : les HUN et azote hexosamine. L'azote hexosamine est caractéristique du matériel pariétal des champignons, alors que l'azote inconnu entre probablement dans des structures chimiques plus complexes et plus stables, telles que les structures d'azote hétérocyclique (purine, pyrimidine, et indole) et celles des substances humiques. La tendance à l'augmentation des formes d'azote plus complexes et plus stables se

poursuit au fur et à mesure que le processus de compostage évolue de la phase de refroidissement vers la phase de maturation.

À condition d'avoir des teneurs en azote suffisantes dans les échantillons analysés, la technique récente et très sophistiquée de spectrométrie de masse à champ ionisés "Py-FIMS" permet d'identifier les structures moléculaires azotées complexes, dont celles associées à la structure des substances humiques, et ce sans extraction ni fractionnement préalables de l'échantillon. Dans le cas du compost de fumier de bovin, il a été possible d'identifier un certain nombre de composés azotés hétérocycliques, dont la forme indole.

#### 4. Autres résultats importants

La méthode de spectrométrie de masse "Py-FIMS", en plus de livrer des données qualitatives très intéressantes sur la dynamique des composants carbonés (glucides, mono- et dimères de lignine, acides gras, phénols) durant les quatre phases caractéristiques du compostage au laboratoire, a permis d'identifier, pour la première fois dans un compost, un certain nombre de stéroïdes en grandes concentrations : *cholestérol*; *éthylcholestatriène*; *éthylcholestène*; *campestérol*; *éthylcholestérol*; *stigmastérol*;  $\beta$ -*sitostérol*; *déhydro- $\beta$ -sitostérol*; *D : A-Friedooléanan-3-one*;  $\alpha$ -*tocophérol*.

#### 5. L'avenir de la recherche

Dans l'avenir, l'étude détaillée des processus dans le compostage devrait se poursuivre par l'utilisation combinée d'une approche multivariée et d'une interprétation écologique, par opposition à l'approche univariée utilisée jusqu'à présent dans la littérature. Cette nouvelle approche pourrait s'appliquer, à l'instar du cycle

de l'azote, à l'étude du cycle des composés carbonés comme celui des stérols par exemple.

L'approche multivariée, du type de celle utilisée dans cette thèse, pourrait probablement être améliorée ultérieurement par l'utilisation de variables biologiques spécifiques, plutôt que par le seul indice global de l'activité microbienne comme la production de CO<sub>2</sub> (piégeage, respiration induite, fumigation-incubation, et fumigation-extraction) ou la consommation d'O<sub>2</sub> (respirométrie). Ces variables biologiques spécifiques pourraient provenir du comptage et de l'isolement de souches microbiennes, quoique fastidieux, de la mesure d'activités enzymatiques, du dosage de l'ATP (Angers et Prévost, 1991), ou de techniques très récentes de biologie moléculaire comme la mesure du DNA de populations microbiennes complexes par électrophorèse "DGGE" (Muyzer et al., 1993).

Une fois le processus de compostage caractérisé de façon multivariée, il est possible d'en dégager des gradients écologiques significatifs de son évolution et d'interpréter la dynamique de transformation de composés organiques complexes durant celui-ci. L'identification des composants de la matière organique progresse beaucoup actuellement grâce à des techniques analytiques de pointe comme la RMN et la spectrométrie de masse "Py-FI". Il faut prévoir une évolution très rapide dans les prochaines années des connaissances au sujet de la structure de la matière organique, notamment de la structure des substances humiques et de la place de l'azote organique complexe dans l'édification de celle-ci. La prochaine et nécessaire étape sera probablement l'élaboration de protocoles permettant l'utilisation de la technique Py-FIMS dans le but de quantifier les différents ions moléculaires de la matière organique.

Pour la première fois dans la littérature sur les composts, plusieurs types de stérols ont été mesurés en abondance lors de cette étude au laboratoire. Ce fait nouveau mériterait l'attention des chercheurs, surtout en raison de l'hypothèse de la biodégradabilité des stérols pendant le processus de compostage.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADRIANO D.C., CHANG A.C. et SHARPLESS R. (1974) Nitrogen loss from manure as influenced by moisture and temperature. *J. Environ. Quality*, **3**, 258-261.
- AIKEN G.R., MCKNIGHT D.M., WERSHAW R.L. et MACCARTHY P. (1985) *Humic substances in soil sediment and water : geochemistry, isolation, and characterization*. A Wiley-interscience publication, John Wiley & Sons, New-York, U.S.A.
- ANDERSON J.P.E. (1982) Soil respiration. In *Methods of Soil Analysis, Part 2* (Edited by A.L. PAGE, MILLER R.H., KEENEY D.R.), pp. 831-872. AGRONOMY, n° 9, American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Publisher, Madison, Wisconsin, U.S.A.
- ANGERS D. et PRÉVOST D. (1991) Méthodes d'évaluation de la matière organique et de l'activité biologique des sols. In *Compte rendu du Colloque sur les amendements organiques et la productivité du sol* (Edited by Conseil des productions végétales du Québec et de l'Association Québécoise des spécialistes en sciences du sol), pp. 107-117. Drummondville, Québec, Canada.
- ANID P.J. (1983) Contribution à la caractérisation des composts de déchets urbains : évaluation de leur état de maturation et des risques éventuels de contamination métallique des cultures. Thèse de doctorat, Faculté des sciences agronomiques de l'État, Gembloux, Belgique.
- ASHBOLT N.J. et LINE M.A. (1982) A bench-scale system to study the composting of organic wastes. *J. Environ. Qual.* **11**, 405-408.
- BATES R.G. et PINCHING G.D. (1950) Dissociation constant of aqueous ammonia at 0 to 50° from E.m.f. studies of the ammonium salt of a weak acid. *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 1393-1396.

BIDDELSTONE A.J., GRAY K.R. et DAY C.A. (1987) Composting and straw decomposition. In *Environmental Biotechnology* (Edited by Forster C.F. et Wase A.J.), pp. 135-175. Ellis Horwood Ltd., Chichester, U.K.

BIRD R.B., STEWART W.E et LIGHTFOOT E.N. (1960) *Transport phenomena*. Department of Chemical Engineering, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, John Wiley & Sons, New-York, U.S.A.

BISHOP P.L. et GODFREY C. (1983) Nitrogen transformations during sludge composting. *Biocycle*. **24**, 34-39.

BRAKEL J. (1982) Quelques notions de base concernant le compostage aérobie. *Annales de Gembloux*. **88**, 71-76.

BREMNER J.M. (1967) Nitrogenous compounds. In *Soil Biochemistry, Vol.1* (Edited by A.D. McLaren and G.H. Petersen), pp. 19-66. Marcel Dekker, New-York, U.S.A.

BREMNER J.M. (1965a) Organic nitrogen in soils. In *Soil nitrogen* (Edited by W.V. Bartholomew and F.E. Clark), pp. 93-149. Agronomy n° 10, American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Publisher, Madison, Wisconsin, U.S.A.

BREMNER J.M. (1965b) Organic forms of nitrogen. In *Methods of Soil Analysis, Part 2* (Edited by C.A. BLACK, EVANS D.D., WHITE J.L., ENSMINGER L.E., and CLARK F.E.), pp. 1238-1255. Agronomy n° 9, American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Publisher, Madison, Wisconsin, U.S.A.

BROADBENT F.E. et CLARK F.G. (1965) Denitrification. In *Soil nitrogen* (Edited by Bartholomew W.V. and F.E. Clark), pp. 344-359. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, U.S.A.

BÜHLER C. et SIMON W. (1970) Curie-point pyrolysis gas chromatography. *J. chromat. Sci.* **8**, 323-329.

- 
- CARTER E.M. et SRIVASTAVA M.S. (1983) *An introduction to Applied Multivariate Statistics*. North-Holland, New-York, U.S.A.
- CHRISTENSEN T.H. (1983) Leaching from land disposed municipal composts : 2. nitrogen. *Waste Mgmt Res.* **1**, 115-125.
- CLARK C.S., BUCKINGHAM C.O., CHARBONNEAU R. et CLARK R.H. (1978) Laboratory scale composting : *Studies. J. envir. Engng Div.* **104**, 47-59.
- CLUIS D. et COUTURE P. (1987) Problématique environnementale des rejets d'élevages porcins intensifs. *Sciences et techniques de l'eau.* **20**, 311-317.
- CORTEZ J. et SCHNITZER M. (1979b) Nucleic acid bases in soils and their association with organic and inorganic soil components. *Can. J. Soil Sci.* **59**, 227-286.
- CORTEZ J. et SCHNITZER M. (1979a) Purines and pyrimidines in soils and humic substances. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **43**, 958-961.
- CRAWFORD J.H. (1983) Composting of agricultural wastes - A review. *Process Biochemistry.* **18**, 14-18.
- de BERTOLDI M., VALLINI G., PERA A. et ZUCCONI F. (1984) Comparison of three windrow composting systems. In *Managing sludge by composting* (Edited by Biocycle staff), pp. 315-322. The JG Press, inc., Box 351, Emmaus, PA 18049, U.S.A.
- DUVIGNEAUD P. (1980) *La synthèse écologique, 2ième édition*. Doin, Paris.
- ÉMOND C. (1988) Fumier et lisier, une richesse. In *Compte rendu du colloque "Vers une utilisation raisonnée des ressources"* (Édité par le Département de génie rurale, Université Laval), Université Laval, Ste-Foy, Québec, Canada.
- FILLERY I.R.P. (1983) Biological denitrification. In *Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems* (Edited by FRENEY J.R. and SIMPSON J.R.), pp. 33-64. Martinus Nijhoff, Dr W. Junk Publishers.

- FINSTEIN M.S., CIRELLO J., MACGREGOR S.T., MILLER F.C., SULLER D.J. et STROM P.F. (1980) Discussion of Haug R.T. : Engineering principles of sludge composting. *J. Water Poll. Contr. Fed.* **52**, 2037-2042.
- FINSTEIN M.S., MILLER F.C., MacGREGOR S.T. et PSARIANOS K.M. (1985) The Rutgers strategy : composting process design and control. Report EPA/600/2-85/059, U.S. EPA, Washington D.C., U.S.A.
- FINSTEIN M.S., MILLER F.C. et HOGAN J.A. (1987) Analysis of U.S. EPA guidance on composting wastewater, Part III : Oxygen, Moisture, Odor, Pathogens. *Biocycle*. **28**, 38-44.
- FINSTEIN M.S., MILLER F.C., STROM P.F., Mac GREGOR S.T. et PSARIANOS K.M. (1983) Composting ecosystem management for waste treatment. *Biotechnology*. **1**, 347-353.
- FIRESTONE M.K. (1982) Biological denitrification. In *Nitrogen in agricultural soils* (Edited by F.J. Stevenson), pp. 289-326. Agronomy Monograph n°22, Madison, Wisconsin, U.S.A.
- FLAIG W., BEUTELSPACHER H. et RIETZ E. (1975) Chemical composition and physical properties of humic substances. In *Soil components, volume 1, Organic components* (Edited by Gieseking J.E.), pp. 1-212. Springer-Verlag, New-York, U.S.A.
- FLOWERS T.H. et O'CALLAGHAN J.R. (1983) Nitrification in soils incubated with pig slurry or ammonium sulphate. *Soil Biol. Biochem.* **15**, 337-342.
- FOCHT D.D. et VERSTRAETE W. (1977) Biochemical ecology of nitrification and denitrification. In *Advances in microbial ecology, vol. 1* (Edited by ALEXANDER M.), pp. 135-214. Ann. Rev. Microbiol. Ecol., Plenum press, New-York and London.
- FRENEY J.R. et BLACK A.S. (1987) Importance of ammonia volatilization as a loss process. In *Proceedings of the symposium on advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems* (Edited by J.R. WILSON), pp. 156-173. Brisbane, Australia.



- 
- FRENEY J.R., SIMPSON J.R. et DENMEAD O.T. (1983) Volatilization of ammonia. In *Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems* (Edited by FRENEY J.R. et SIMPSON J.R.), pp. 1-32. Martinus Nijhoff, Dr W. Junk Publishers.
- GODDEN B. (1986) Etude du processus de compostage de fumier de bovin. Thèse de Doctorat, Laboratoire de Microbiologie, Groupe d'écologie microbienne et appliquée, Université Libre de Bruxelles, Belgique.
- GODDEN B., PENNINGCKX M., PIÉRARD A. et LANNOYE R. (1983) Evolution of enzyme activities and microbial populations during composting of cattle manure. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 306-310.
- GOH K.M. et EDMEADES D.C. (1979) Distribution and partial characterisation of acid hydrolysable organic nitrogen in six new zealand soils. *Soil Biol. Biochem.* **11**, 127-132.
- GONZALES-PRIETO S.J., CARBALLAS M. et CARBALLAS T. (1984a) Characterization of the organic fraction of cattle slurry, II, Fundamental carbon-bearing compounds and distribution of nitrogen. *Anal. de Edaf. y Agrobiol.* **43**, 1223-1241.
- GONZALES-PRIETO S.J., CARBALLAS M. et CARBALLAS T. (1984b) First results on the effect of the number of stages on the hydrolytic analysis of the distribution of nitrogenated organic compounds in cattle slurry. *Anal. de Edaf. y Agrobiol.* **43**, 1243-1246.
- GONZALES-PRIETO S.J. et CARBALLAS T. (1988) Modified method for the fractionation of soil organic nitrogen by successive hydrolyses. *Soil Biol. Biochem.* **20**, 1-6.
- GRAY K.R. et BIDDLESTONE A.J. (1981) The composting of agricultural wastes. In *Biological husbandry* (Edited by Stonehouse B.), pp. 99-111. A scientific approach to organic farming, Butterworths, London, U.K.
- GREENFIELD L.G. (1972) The nature of the organic nitrogen of soils. *Plant and soil.* **36**, 191-198.

- 
- GREPA (1992) *Les faits saillants laitiers québécois, 1992 (6ième édition)*, (Edited by Groupe de recherche en économie et politiques agricoles), Département d'économie rurale, université Laval, Ste-Foy, Québec, Canada.
- GUENZI W.D., BEARD W.E., WATANABE F.S., OLSEN S.R. et PORTER L.K. (1978) Nitrification and denitrification in cattle manure-amended soil. *J. envir. Qual.* **7**, 196-202.
- HAUG R.T. (1979) Engineering principles of sludge composting. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **51**, 2189-2206.
- HEMPFLING R. et SCHULTEN H.-R. (1990) Chemical characterization of the organic matter in forest soils by Curie-point pyrolysis-GC/MS and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Org. Geochem.* **15**, 131-145.
- HEMPFLING R. et SCHULTEN H.-R. (1991) Pyrolysis-gas chromatography mass spectrometry of agricultural soils and their humic fraction. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* **154**, 425-430.
- HEMPFLING R., ZECH W. et SCHULTEN H.-R. (1988) Chemical composition of the organic matter in forest soils : 2. moder profile. *Soil Sci.* **146**, 262-276.
- HOGAN J.A., MILLER F.C. et FINSTEIN M.S. (1989) Physical modeling of the composting ecosystem. *Appl. envir. Microbiol.* **55**, 1082-1092.
- HONG J.H., MATSUDA J. et IKEUCH Y. (1983) High rapid composting of dairy cattle manure with crop and forest residues. *Trans. Am. Soc. agric. Engrs.* **26**, 533-541.
- HOTTELING H. (1933) Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *J. educ. Psychol.* **24**, 498-520.
- HÜMBELIN M., MEYER M. et STICHER H. (1980) Stickstoff-fixierung bei der kompostierung von rindermist. *La recherche agronomique en Suisse.* **19**, 85-90.

- 
- IVARSON K.C. et SCHNITZER M. (1979) The biodegradability of the "unknown soil-nitrogen". *Can. J. Soil Sci.* **59**, 59-67.
- JAMES L.B. (1972) Amino acid analysis : the humin problem. *J. Chromat.* **68**, 123-130.
- JANEL P., JOCTEUR-MONROZIER L. et TOUTAIN F. (1979) Caractérisation de l'azote des litières et des sols par hydrolyse acide. *Soil Biol. Biochem.* **11**, 141-146.
- JANSSON S.L. et PERSSON J. (1982) Mineralization and immobilization of soil nitrogen. In *Nitrogen in agricultural soils* (Edited by Stevenson F.J.), pp. 229-252. Agronomy monograph n°22, Madison, Wisconsin, U.S.A.
- JERIS J.S. et REGAN R.W. (1973) Controlling environmental parameters for optimum composting, 1 : Experimental procedures and temperature. *Compost Science.* **14**, 10-15.
- JOCTEUR-MONROZIER L. et ANDREUX F. (1981) L'azote organique des sols : Exemples de quantification des formes protéiques et des combinaisons complexes. *Bull. de l'Association française pour l'étude des sols.* **3**, 219-242.
- KAI H. (1975) The immobilization and release of nitrogen in soil and the chemical characteristics of nitrogen in those processes. *JIBP Synthesis.* **12**, 95-105.
- KEENEY D.R. et NELSON D.W. (1982) Nitrogen-Inorganic Forms. In *Methods of Soil Analysis, Part 2* (Edited by A.L. PAGE, MILLER R.H., KEENEY D.R.), pp. 643-698. AGRONOMY, n° 9, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, U.S.A.
- KING F.H. (1926) *Farmers of forty centuries or permanent agriculture in China, Korea, and Japan.* London, U.K.
- KIRCHMANN H. (1985) Losses, plant uptake and utilisation of manure nitrogen during a production cycle. *Acta Agric. Scand. Suppl.* **24**, 1-77.

---

KOWALENKO C.G. (1978) Organic nitrogen, phosphorus, and sulfur in soils. In *Soil organic matter* (Edited by M. Schnitzer and S.U. Khan), pp. 95-136. Elsevier, North Holland, New-York.

KUHN T. (1972) *La structure des révolutions scientifiques*. Flammarion, Paris, France.

LAU D.C.W. et WU M.M.W. (1987) Manure composting as an option for utilization and management of animal waste. *Resources and Conservation*. **13**, 145-156.

LEGENBRE P. et LEGENBRE L. (1982) Échantillonnage et traitement des données. In *Stratégies d'échantillonnage en écologie* (Édité par S. Frontier), pp. 161-216. Collection d'écologie N°17, Masson, Paris et les Presses de l'Université du Québec, Québec.

LEGENBRE L. et LEGENBRE P. (1984) Écologie numérique. In *La structure des données écologiques, Tome 2*. pp. 165-168. Collection d'écologie N° 13, Masson, Paris et les Presses de l'Université du Québec, Québec.

LEHNINGER A.L. (1977) *Biochemistry, 2ième édition*. Worth Publishers inc., New-York, U.S.A.

LEINWEBER P., SCHULTEN H.-R. et HORTE C. (1992) Differential thermal analysis, thermogravimetry and pyrolysis-field ionization mass spectrometry of organic matter in particle-size fractions and bulk soil samples. *Thermochim Acta*. **194**, 175-187.

LIEBIG J. (1842) Brevet de fabrication du superphosphate par traitement du phosphate de roche minéral avec de l'acide sulfurique.

LÖHNIS F. (1913) *Vorlesungen über landwirtschaftliche Bacteriologia*. Borntraeger, Berlin.

LYNCH J.M. (1977) Phytotoxicity of acetic acid produced in the anaerobic decomposition of wheat straw. *J. appl. Bact.* **42**, 81-87.

- 
- MacGREGOR S.T., MILLER F.C., PSARIANOS K.M. et FINSTEIN M.S. (1981) Composting process control based on interaction between microbial heat output and temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**, 1321-1330.
- MAHAN B.H., L'ÉCUYER P. et LEFRANÇOIS M. (1977) *Chimie*. InterÉditions S.A., Paris, France.
- MARTIN G. (1979) *Le problème de l'azote dans les eaux*. Technique et documentation, Paris, France.
- MARTIN C.K.A. (1984) Sterols, chapter 3. In *Biotechnology, volume 6a : Biotransformations* (K. Kieslich ed.) (Edited by H.-J. Rehm and G. Reed), pp. 80-95. Verlag chemie, Weinheim.
- MATHUR S.P., SCHNITZER M. et SCHUPPLI P. (1990) The distribution of nitrogen in peat-based composts of manure slurries and fisheries wastes. *Biol. Agr. and Hort.* **7**, 153-163.
- MEYER M. et STICHER H. (1983) Die bedeutung des strohgehaltenes für die erhaltung des stickstoffs während der kompostierung von rindermist. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* 199-206.
- MORRISON D.F. (1976) *Multivariate Statistical Methods*. McGraw-Hill, New-York, U.S.A.
- MOTE R.C. et GRIFFIS C.L. (1979) A system for studying the composting process. *Agric. Wastes.* **1**, 191-203.
- MOUSTY P. (1984) Mise en œuvre et contrôle des performances de procédés de compostage adaptés au traitement des boues d'épuration. Thèse de doctorat, École nationale des ponts et chaussées, Paris, France.
- MUSTIN M. (1987) *Le compost, gestion de la matière organique*. Éditions François Dubusc, Paris, France.

- 
- MUYZER G., DE WAAL E.C. et UITTERLINDEN A.G. (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. envir. Microbiol.* **59**, 695-700.
- NAKASAKI K., SASAKI M., SHODA M. et KUBOTA H. (1985a) Change in microbial numbers during thermophilic composting of sewage sludge with reference to CO<sub>2</sub> evolution rate. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**, 37-41.
- NAKASAKI K., SASAKI M., SHODA M. et KUBOTA H. (1985b) Characteristics of mesophilic bacteria isolated during thermophilic composting of sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**, 42-45.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1978) The nitrogen cycle. In Nitrates an environmental assessment. A report prepared by the panel on nitrates of the coordinating committee for scientific and technical assessments of environmental pollutants. pp. 38-43. National Academy of Sciences, Washington, D.C., U.S.A.
- NOMMIK H. et VAHTRAS K. (1982) Retention and fixation of ammonium and ammonia in soils. In *Nitrogen in agricultural soils* (Edited by F.J. Stevenson), pp. 123-171. Agronomy Monograph N°22, Madison, Wisconsin, U.S.A.
- OTT P. R. (1990) The composting of farmyard manure with mineral additives and under forced aeration, and the utilization of FYM and FYM compost in crop production. Thèse de doctorat, Witzenhausen, Gesamthochschule Kassel, Universität des Landes Hessen, Allemagne.
- PARSONS L.L., MURRAY R.E. et SMITH M.S. (1991) Soil denitrification dynamics : spatial and temporal variations of enzyme activity, populations, and nitrogen gas loss. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **55**, 90-95.
- PARSONS J.W. et TINSLEY J. (1975) Nitrogenous substances. In *Soil components : Vol. 1* (Edited by J.E. Gieseking), pp. 263-304. Springer-Verlag, New-York, New-York, U.S.A.
- PAUL, E.A. et CLARK, F.E. (1989) *Soil microbiology and biochemistry*. Academic press, inc., San-Diego, California, U.S.A..

- PAUL E.A. (1987) Towards the year 2000 : directions for future nitrogen research. In *Proceedings of the symposium on Advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems* (Edited by J.R. Wilson), pp. 417-425. Brisbane, Australia.
- POINCELOT R.P. (1974) A scientific examination of the principles and practice of composting. *Compost Science*. 15, 24-31.
- QUINN J.G. et SALOMON M. (1966) Hydrolysis of soil nitrogen by strong acids. *Nature*. 211, 664-665.
- REVERET J.P., PELTIER J. et BOUDIER H. (1980) De l'agriculture conventionnelle à l'agriculture écologique vers un nouveau paradigme. *Sociologie et sociétés*. 13, 49-62.
- RICE C.W., SIERZEGA P.E., TIEDJE J.M. et JACOBS L.W. (1988) Stimulated denitrification in the microenvironment of a biodegradable organic waste injected into soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 102-108.
- SAS (1990) version 6.04. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, U.S.A.
- SASSEVILLE J.L., MARANDA Y., van BOCHOVE E. et COUILLARD D. (1991) Théorie du contrôle de la pollution agricole et efficacité des politiques de contrôle de la pollution : le cas de la politique québécoise des élevages de bovidés, Rapport scientifique n°302, appendice 2. Institut national de la recherche scientifique, INRS-EAU, Québec, Canada.
- SCHNITZER M. (1985) Nature of nitrogen in humic substances. In *Humic substances in soil, sediment, and water : geochemistry, isolation, and characterization* (Edited by AIKEN G.R., D.M. MCKNIGHT, R.L. WERSHAW and P. MACCARTHY), pp. 303-325. A Wiley-interscience publication, John Wiley & sons, New-York, U.S.A.
- SCHNITZER M. (1990) Selected methods for the characterization of soil humic substances. In *Humic substances in soil and crop sciences : Selected readings* (Edited by P. MacCarthy *et al.*), pp. 65-89. American society of agronomy and Soil science society of America, Madison, Wisconsin, U.S.A.

SCHNITZER M., DINEL H., MATHUR S.P., SCHULTEN H.-R. et OWEN G. (1993) Determination of compost biomaturity : 3. Evaluation of a colorimetric test by  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy and pyrolysis field ionization mass spectrometry. *Biol. Agr. and Hort.* In press.

SCHNITZER M. et HINDLE D.A. (1981) Effects of different methods of acid hydrolysis on the nitrogen distribution in two soils. *Plant and Soil.* **60**, 237-243.

SCHNITZER M., MARSHALL P.M. et HINDLE D.A. (1983) The isolation of soil humic and fulvic acid components rich in "unknown" N. *Can. J. Soil Sci.* **63**, 425-433.

SCHNITZER M. et SCHULTEN H.-R. (1992) The analysis of soil organic matter by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **56**, 1811-1817.

SCHNITZER M., SCHULTEN H.-R., SCHUPPLI P. et ANGERS D.A. (1991) Organic matter extraction from soils with water at high pressure and temperatures. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **55**, 102-108.

SCHNITZER M. et SCHULTEN H.-R. (1989) Pyrolysis-soft ionization mass spectrometry of aliphatics extracted from a soil clay and humic substances. *Sci. Total Envir.* **81/82**, 19-30.

SCHNITZER M. et SPITELLER M. (1986) The chemistry of the "unknown" soil nitrogen. In *Transactions du 3ième congrès de l'association internationale de la science des sols.* pp. 473-474. Hambourg, Allemagne.

SCHULTEN H.-R. (1977) Pyrolysis field ionization and field desorption mass spectrometry of biomacromolecules, microorganisms and tissue material. In *Analytical Pyrolysis* (Edited by Jones, C.E.R. and Cramers, C.A.), pp. 17-28. Elsevier, Amsterdam, Holland.

SCHULTEN H.-R. (1987) Pyrolysis and soft ionization mass spectrometry of aquatic-terrestrial humic substances and soils. *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* **12**, 149-186.



- 
- SCHULTEN H.-R., ABBT-BRAUN G. et FRIMMEL F.H. (1987) Time-resolved pyrolysis field ionization mass spectrometry of humic material isolated from freshwater. *Environ. Sci. Technol.* **21**, 349-357.
- SCHULTEN H.-R., BECKEY H.D., BOERBOOM A.J. et MEUZELAAR H.L.C. (1973) Pyrolysis field desorption mass spectrometry of desoxyribonucleic acid. *Anal. chem.* **45**, 2358-2362.
- SCHULTEN H.-R. et SCHNITZER M. (1990) Aliphatics in soil organic matter in fine-clay fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **54**, 98-105.
- SCHULTEN H.-R., SIMMLEIT N. et MUELLER R. (1987) High-temperature, high-sensitivity pyrolysis field ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* **59**, 2903-2908.
- SCHULTEN H.-R. et SIMMLEIT N. (1986) Impact of ozone on high-molecular constituents of beech leaves. *Naturwissenschaften.* **73**, 618-620.
- SIKORA L. J., RAMIREZ M. A. et TROESCHEL T. A. (1983) Laboratory composter for simulation studies. *J. Environ. Qual.* **12**, 219-224.
- SIKORA L.J. et SOWERS M.A. (1985) Effect of temperature control on the composting process. *J. Environ. Qual.* **14**, 434-439.
- SMITH, M.S., RICE, C.W. et PAUL, E.A. (1989) Metabolism of labelled organic nitrogen in soil : Regulation by inorganic nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **53**, 768-772.
- SMITH E.L. et STOCKELL A. (1954) Amino acid composition of crystalline carboxypeptidase. *J. Biol. Chem.* **207**, 501-514.
- SNEATH P.H.A. (1957) The application of computers to taxonomy. *J. gen. Microbiol.* **17**, 201-226.
- SOLTNER D. (1980) *Les bases de la production végétale, tome 1 : Le sol, 9ème édition.* Collection Sciences et Techniques Agricoles, Angers, France.

SOWDEN F.J., CHEN Y. et SCHNITZER M. (1977) The nitrogen distribution in soils formed under widely differing climatic conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **41**, 1524-1526.

STEVENSON F.J. (1982) Organic forms of soil nitrogen. In *Nitrogen in agricultural soils* (Edited by F.J. Stevenson), pp. 67-122. Agronomy Monograph n°22, Madison, Wisconsin, U.S.A.

STEVENSON F.J. et WAGNER G.H. (1970) Chemistry of nitrogen in soils. In *Agricultural practices and water quality* (Edited by T.L. Willrich and G.E. Smith), pp. 125-141. The Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, U.S.A.

STROM P.F., MILLER F.C. et FINSTEIN M.S. (1983) Problem of scale in composting research. In *Proceedings of the international conference on Composting of solid wastes and slurries* (Edited by STENTIFORD E.I.), pp. 35-41. Department of civil engineering, University of Leeds, England.

SYSTAT (1990) version 5.0. SYSTAT inc., 1800 Sherman Avenue, Evanston, IL 60201-3793, U.S.A.

TIEDJE J.M. (1988) Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In *Biology of anaerobic microorganisms* (Edited by A.J.B. ZEHNDER), pp. 179-244. John Wiley & Sons, New-York, U.S.A.

van FASSEN H.G. et van DIJK H. (1979) Nitrogen conversions during the composting of manure / straw mixtures. In *Straw decay and its effects on disposal and utilization*. (Edited by GROSSBARD E.), pp. 113-120. John Wiley & Sons, New-York, U.S.A.

van SLYKE D.D., DILLON R.T., MacFAYDEN D.A. et HAMILTON P. (1941) Gasometric determination of carboxyl groups in free amino acids. *J. Biol. Chem.* **141**, 627-669.

VOGTMANN H. et BESSON J.M. (1978) European composting methods : treatment and use of farm yard manure and slurry. *Compost science.* **19**, 15-19.

- 
- WHITE R.E. (1987) Leaching. In *Proceedings of the symposium on advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems* (Edited by J.R. WILSON), pp. 193-211. Brisbane, Australia.
- WILLSON G.B. et HUMMEL J.W. (1975) Conservation of nitrogen in dairy manure during composting. In *Proceedings of the 3rd international symposium on Managing livestock wastes* (Edited by American Society of Agricultural Engineers), pp. 490-496. Urbana-Champaign, St-Joseph, U.S.A.
- WILLSON G.B., PARR J.F., EPSTEIN E., MARSH P.B., CHANEY R.L., COLACICCO D., BURGE W.D., SIKORA L.J., TESTE C.F. et HORNICK S. (1980) Manual for composting sewage sludge by the Beltsville aerated-pile method, Report EPA-600/8-80-022. U.S. Department of agriculture, Beltsville, Maryland and Municipal Environmental Research Laboratory, E.P.A., Cincinnati, Ohio, U.S.A.
- WITTER E. (1986) The fate of nitrogen during high temperature composting of sewage sludge - Straw mixtures. Ph. D Thesis, Ashford Kent, University of London, U.K.
- WITTER E. et LOPEZ-REAL J.M. (1987) The potential of sewage sludge and composting in a nitrogen recycling strategy for agriculture. *Biol. Agr. and Hort.* 5, 1-23.
- YONEBAYASHI K. et HATTORI T. (1980) Improvements in the method for fractional determination of soil organic nitrogen. *Soil Sci. Plant Nutr.* 26, 469-481.
- ZUCCONI F. et de BERTOLDI M. (1987) Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. In *Proceedings of a symposium on Compost : production, quality and use* (Edited by M. de Bertoldi, M. P. Ferranti, P. L'Hermite, et F. Zucconi), pp. 30-50. Udine, Italy.

# ANNEXE A

## EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES :

### COMPOSTAGE À LA FERME

#### A.1 Introduction

Les expériences de compostage sur le terrain ont eu lieu chez un producteur laitier indépendant de Saint-Lambert de Lévis, Québec.

La ferme laitière compte 85 unités animales, avec une stabulation de type entravée à l'année. De la litière, sous forme de foin haché, est ajoutée aux animaux au moment de l'écurage, à raison de 1,5 kg par animal et par jour. Le fumier, constitué des déjections animales incorporées au foin, est sorti de l'étable deux fois par jour, par une chaîne et ensuite par un évacuateur hydraulique souterrain vers une plate-forme extérieure.

## 2 Méthodes expérimentales

### A.2.1 Tas de compost

Le fumier constituant les tas de compostage provient de la plate-forme extérieure. Il est prélevé directement à la sortie de l'évacuateur souterrain par un chargeur frontal, pour qu'il soit le plus frais possible. Le fumier est ensuite mis en tas sur une plate-forme de ciment de 6 m<sup>2</sup>, recouverte d'un abri en toile de 3 m de hauteur et comprenant un drain en son centre pour amener les jus de lixiviation vers une citerne enfouie dans le sol (figure A.1).



Fig. A.1 : Plate-forme de compostage, tas de compost et instruments.

Le volume du tas est conique dans le but de simuler une section d'andain de compostage conçu, en général, pour le compostage à l'échelle industrielle avec apport régulier de matériaux frais (Willson *et al.*, 1980). Le tas de fumier présente, au début de l'expérience de compostage, les dimensions d'un cône de 3,7 m de diamètre et de 1,80 m de hauteur, ce qui donne approximativement un volume de 7 m<sup>3</sup> de fumier (figure A.2).

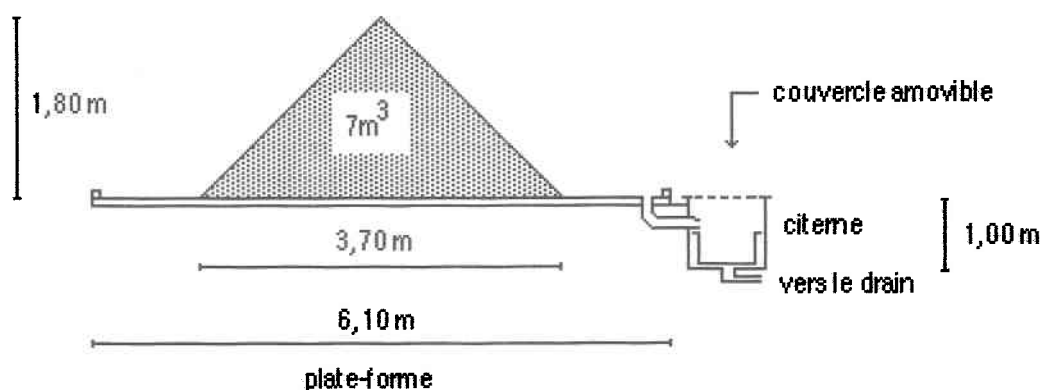


Fig. A.2 : Schéma de la plate-forme de compostage, coupe transversale.

#### A.2.2 Contrôle du processus de compostage

La technologie de compostage utilisée est issue de la méthode de compostage par aération forcée de Rutgers (Finstein *et al.*, 1983 ; Finstein *et al.*, 1985).

L'aération du tas en compostage se fait par de l'air forcé par un ventilateur axial à haute pression statique de 125 cfm ( $\text{pi}^3 / \text{min.}$ ) sous 3,5 pouces de colonne d'eau, et un moteur de 1/8 HP (modèle "Purless PW-8"). La puissance du ventilateur est déterminée par le sens de l'aération, par la géométrie des canalisations et par les pertes de charge (Mustin, 1987). L'air est acheminé au tas de compost par un tuyau de 10 cm de diamètre et de 3 m de longueur, qui se continue en tuyau de drainage perforé de même diamètre sous le tas. Le tuyau perforé est disposé en un cercle de 1,00 m de diamètre au centre du tas et est recouvert d'une épaisseur de 30 cm de foin pour éviter qu'il ne se bouche avec les jus de lixiviation et pour permettre la diffusion optimale de l'air dans le tas (figure A.3). Les tuyaux d'aération ont les proportions décrites par Willson *et al.* (1980).

L'aération forcée se fait selon un cycle horaire, variant de 20 à 5 minutes par heure, commandé par une minuterie électrique. L'aération est ajustée de manière à maintenir, dans le tas de compost, un taux d'oxygène dans l'air compris entre 5 et 18% (Mustin, 1987 ; Biddelstone *et al.*, 1987). Un taux élevé d'oxygène dans l'air semble nécessaire pour maintenir l'activité thermophile, et obtenir un taux de

décomposition rapide de la matière organique. Les besoins en aération diminuent avec le temps puisqu'il y a déshydratation du compost.

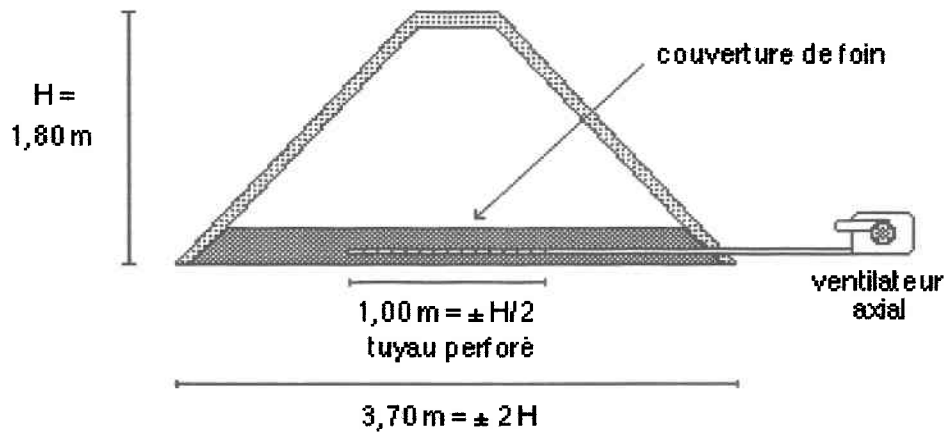


Fig. A.3 : Schéma de la ventilation par aération forcée dans le tas de compost.

Le taux d'oxygène dans l'air est mesuré une fois par jour, en cinq endroits différents dans le tas de compost, pour ajuster les cycles d'aération. L'oxygène de l'air est dosé à l'aide d'un analyseur d' $O_2$  portable de marque "Bacharach Fyrite". La procédure consiste à pomper manuellement l'air du tas de compost, après une purge du système de tuyaux, de la sonde à oxygène jusqu'à l'appareil de mesure. Les sondes à oxygène, conçues de façon artisanale, ont été fabriquées à partir de raccords de tuyau en forme de "T", de 5,08 cm de diamètre. Les raccords de tuyau, en plastique "ABS", sont enveloppés de toile moustiquaire pour les empêcher de se boucher, et se prolongent par un tuyau en "CPV" de longueur connue jusqu'à l'extérieur du tas pour être reliés à l'analyseur d' $O_2$  portable. Les sondes à oxygène sont couplées aux thermistors lors de l'installation du tas de compost.

La température est mesurée par cinq thermistors fixés à différents endroits dans le tas (figure A.4) et reliés à un système d'acquisition de données "CR-10" de marque "Campbell Scientific". Les températures sont mesurées toutes les minutes, et enregistrées sous forme de moyennes horaire et journalière.

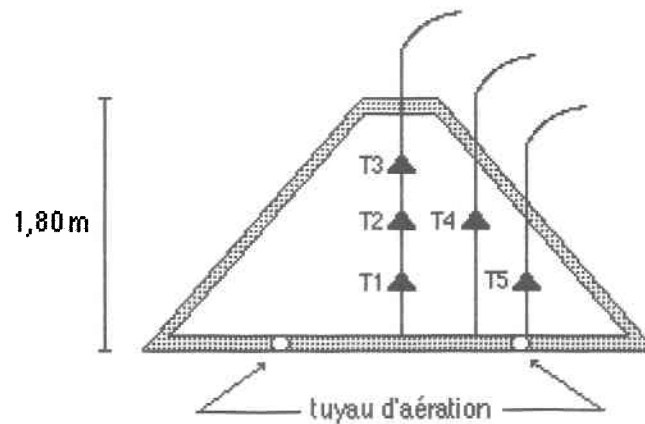


Fig. A.4 : Position des thermistors et des sondes à oxygène dans le tas de compost; T1 et T5= 0,50 m ; T2 et T4 = 1,00 m ; T3 = 1,40 m.

### A.2.3 Caractéristiques du fumier utilisé

Le fumier est utilisé directement à la sortie de l'étable pour les expériences de compostage, sans addition supplémentaire de source de carbone autre que le foin provenant de la litière. Les caractéristiques physico-chimiques moyennes du fumier frais sont (tableau A.1) :

Tableau A.1  
Caractéristiques physico-chimiques du fumier  
utilisé pour les expériences à la ferme

Matière sèche (% M.F.)	9,23
Cendres (% M.S.)	15,59
Carbone total (% M.S.)	45,55
Azote Kjeldahl (% M.S.)	3,30
pH	6,65
rapport C / N	19,44

M.F. = matière fraîche ; M.S. = matière sèche



#### A.2.4 Échantillonnage et conditionnement du compost

L'expérience de compostage s'est déroulée sur une période de 85 jours, entre les jours juliens 194 et 278 de l'année 1989. Le suivi du processus de compostage est assuré par la prise de 14 échantillons durant l'expérience, à des intervalles de plus en plus éloignés dans le temps. L'échantillonnage a eu lieu le jour initial et ensuite aux jours 2, 4, 6, 8, 10, 14, 20, 25, 31, 34, 39, 50, et 85.

Deux méthodes différentes d'échantillonnage du compost ont été employées dans cette étude. La première méthode a pour but d'estimer les pertes relatives de solides secs et d'eau durant le compostage, par la différence de poids entre l'échantillon placé dans un échantillonneur le jour initial et son poids le jour du prélèvement. L'échantillonneur est constitué d'un tube en "ABS" de 30 cm de longueur et de 4 cm de diamètre fermé aux deux extrémités, et percé d'une multitude de trous de 1 cm de diamètre pour permettre les échanges avec le reste du tas. Il est rempli de fumier prélevé à même le tas servant au compostage, sans compactage. Une corde est solidement attachée à l'échantillonneur et permet de le retirer du tas. Les 14 échantillonneurs sont numérotés et disposés aléatoirement selon les rayons horizontaux d'un cercle représenté par le cône du tas tronqué à 0,9 m du sol. Ils sont enfoncés à une profondeur de 0,5 m de la surface du tas de compost. Au moment de l'échantillonnage, les échantillonneurs sont vidés dans des sacs de plastique et transférés à 4°C pour leur transport au laboratoire.

La deuxième méthode d'échantillonnage du compost constitue en un carottage du tas, à l'aide d'une tarière destinée à l'échantillonnage des sols argileux. Cette méthode ne permet pas d'estimer directement, par différence de poids, les pertes relatives de solides secs ou d'eau, mais permet d'obtenir un duplicata d'échantillon de compost. La quantité d'échantillon prélevée à 0,5 m de la surface du tas de compost est d'environ 2 kg. L'échantillon est homogénéisé manuellement avant le sous-échantillonnage au laboratoire.

Dans tous les cas, les échantillons sont divisés en deux fractions. La première fraction est directement congelée à -40°C, lyophilisée, moulue, et ensuite conservée à la température de la pièce pour analyses subséquentes. La deuxième fraction est utilisée fraîche pour d'autres analyses (figure A.5).

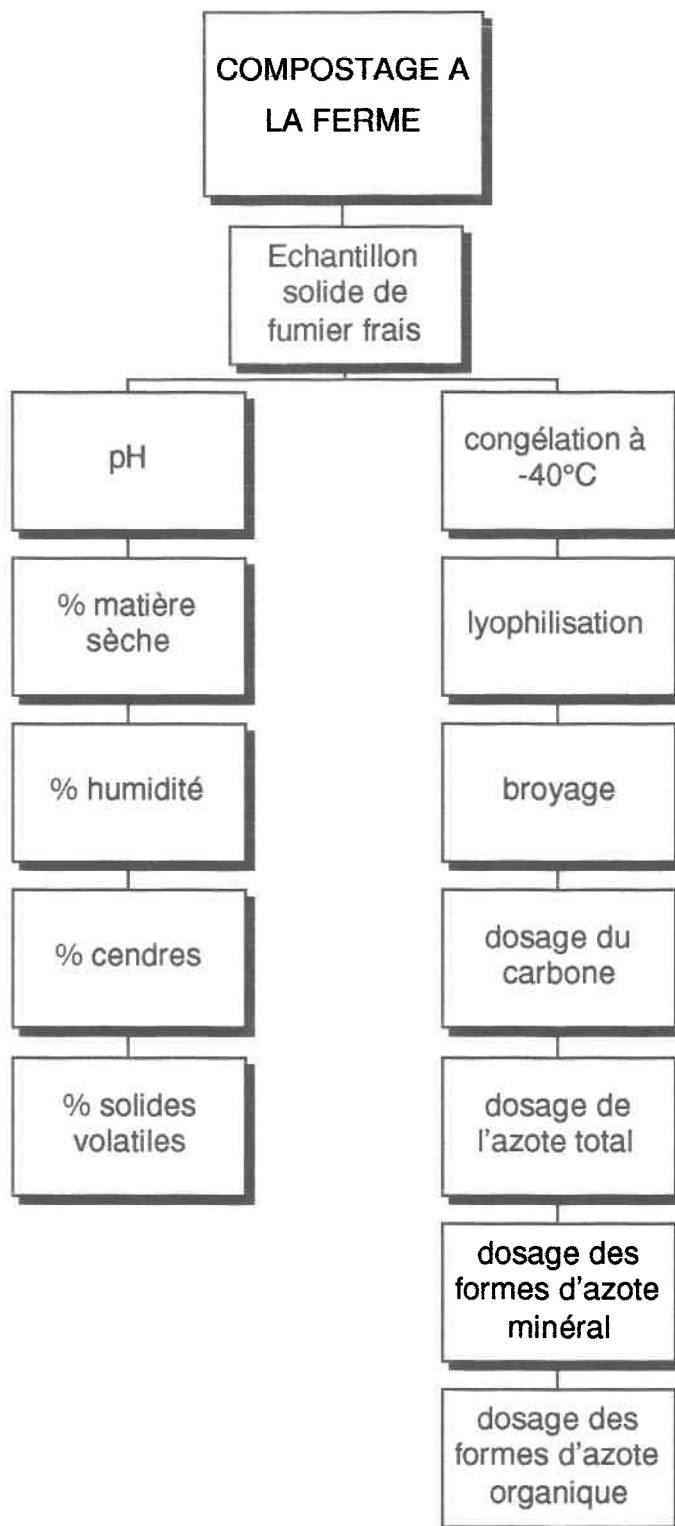


Fig. A.5 : Expérience de compostage à la ferme, séquences de dosage sur les échantillons de fumier.

### A.2.5 Analyses physiques et chimiques des échantillons

Les méthodes d'analyse utilisées étant rigoureusement identiques à celles des expériences en composteurs de laboratoire, nous référons le lecteur intéressé au chapitre 3 (§ 3.2.2).

### A.3 Résultats

Les températures mesurées par les cinq thermistors dans le tas de compost sont illustrées sous forme de moyennes journalières (figure A.6). On observe une montée des températures assez rapide au début du processus de compostage, surtout pour le thermistor T3 situé près de la zone la plus chaude, au sommet du tas de compost (voir figure A.4). On atteint en T3 des températures quasi thermophiles, avoisinant les 45°C, une dizaine de jours après le début de l'expérience. Cependant, on constate qu'après le dixième jour de compostage les profils de température des thermistors T3 et T4 suivent le profil de la température extérieure. Cette observation s'explique par le fait que, avec l'affaissement du tas faisant suite à la réduction de matière sèche, à l'évaporation de l'eau et à la perte de liquide par gravité, ces deux thermistors ont été à découvert ou encore trop proches de la surface du compost pour ne pas être influencés par la température extérieure. Le même phénomène qu'en T3 et T4 est observé pour le thermistor T5 à partir du quarantième jour. Les mesures effectuées par les thermistors T1 et T2 indiquent que la température interne du tas de compost, à ces endroits précis et durant toute la durée de l'expérience, s'est maintenue autour de valeurs mésophiles, alors que la température extérieure baissait graduellement.

À la figure A.7, on observe que l'évolution du pourcentage d'azote total sur base de matière sèche se fait de façon très inégale. Cette observation peut être interprétée par la grande hétérogénéité du matériau de départ, un fumier de bovin peu pailleux, et également par une dynamique de dégradation de la matière organique différente en plusieurs endroits du tas de compost. Ces facteurs contribuent à créer une variabilité à l'échantillonnage trop forte pour pouvoir analyser la variation du pourcentage en azote durant le processus de compostage.

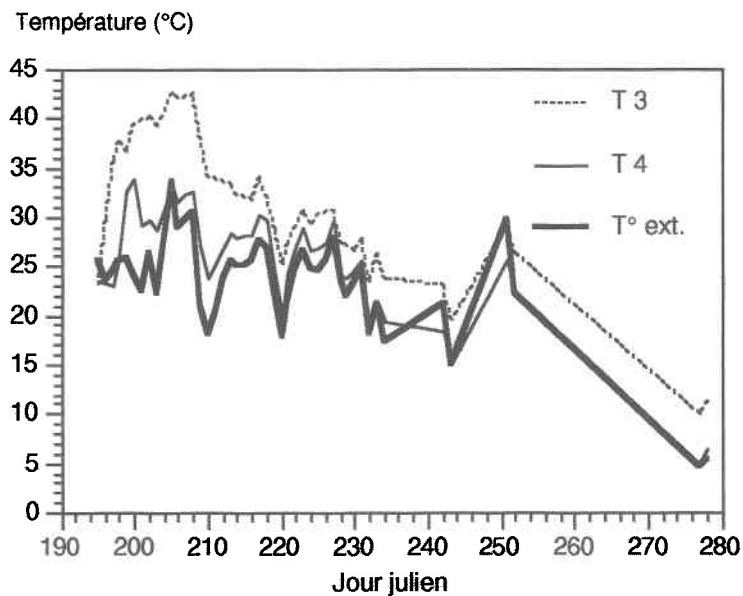
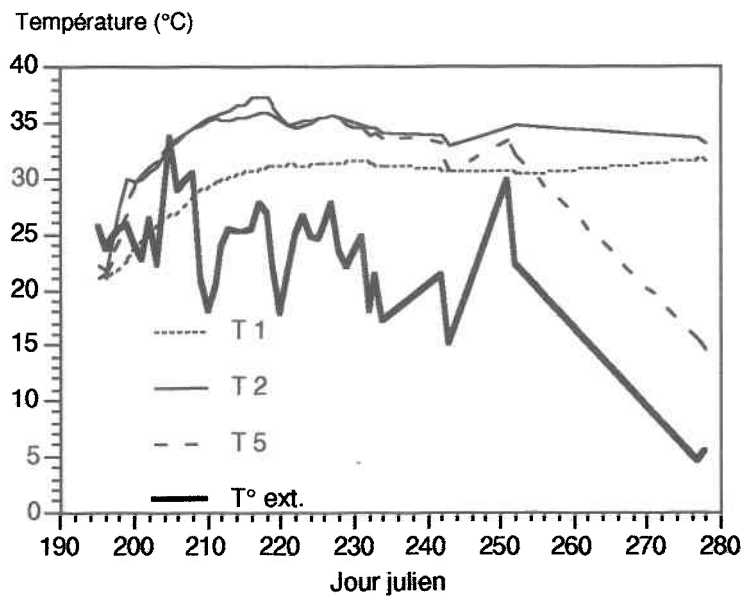


Fig. A.6 : Températures journalières moyennes internes (T1 à T5) et extérieure (T ext.) du tas de compost à la ferme, du 14 juillet (J= 195) au 5 octobre 1989 (J= 278).

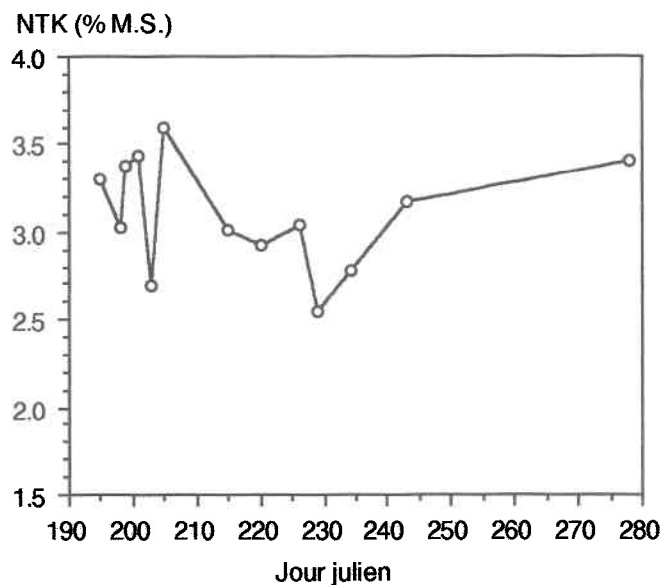


Fig. A.7 : Évolution de l'azote total Kjeldahl (NTK), en pourcentage de matière sèche, du tas de compost à la ferme, du 14 juillet (J= 195) au 5 octobre 1989 (J= 278).

Tous les autres paramètres analysés durant cette expérience préliminaire de compostage à la ferme comportent la même composante de variabilité, due à l'échantillonnage, que celle observée lors de l'analyse de l'azote total Kjeldahl. Les résultats complets sont présentés au Tableau A.2.

CODE D'ECHANTILLON	10	12	14	16	18	110	114	120	125	131	134	139	150	185
Date de récolte (jour, juillet)	195	198	199	201	203	205	209	215	220	226	229	234	243	278
<b>PARAMETRES</b>														
% Humidité	90.77	93.74	88.42	74.83	86.96	66.03	87.34	82.92	84.87	93.49	76.41	87.29	83.07	62.88
% Matière Sèche	9.23	6.26	11.58	25.17	13.04	33.97	12.66	17.08	15.13	6.51	23.59	12.71	16.93	37.12
% Cendres	15.59	15.67	14.46	12.96	9.81	13.98	14.86	12.64	11.97	12.35	12.70	12.31	14.40	12.03
% Solides volatiles	83.04	82.85	84.20	85.80	89.37	84.75	83.60	86.19	87.06	86.11	86.03	86.47	84.41	86.76
<b>en % de matière sèche</b>														
Azote total (NCS)	2.34	2.43	2.57	2.11	2.02	2.77	3.08	2.41	2.52	2.29	2.36	2.83	3.05	2.71
Carbone total (NCS)	45.55	43.71	43.59	44.93	47.87	38.11	42.69	47.15	47.08	46.91	45.73	47.75	44.73	43.90
C/N (C tot./N tot.) (NCS)	19.44	18.02	16.96	21.34	23.67	13.76	13.85	19.53	18.70	20.46	19.38	16.89	14.67	16.21
Azote total Kjeldahl	3.30	3.03	3.37	3.44	2.69	3.59	0.89	3.01	2.93	3.04	2.55	2.77	3.17	3.40
NH4+ échangeable	0.14	0.29	0.21	0.11	0.48	0.14	0.13	0.20	0.16	1.12	0.66	0.68	0.11	0.12
NO3-, NO2-	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.08	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.05
NH4+ / NO3-	16.22	33.52	23.83	9.15	39.46	1.73	19.28	38.74	18.62	164.48	96.39	98.14	21.04	2.62
<b>HYDROLYSE CONTINUE</b>														
<b>en % de matière sèche</b>														
N total hydrolysable	2.42	2.58	2.12	1.74	1.60	2.02	2.02	2.31	1.64	1.81	1.80	2.11	2.08	2.37
N acides aminés	1.21	1.10	1.08	1.11	0.93	1.26	1.26	1.40	0.99	0.94	1.09	1.11	1.18	1.30
N hexosamines	0.00	0.05	0.00	0.04	0.03	0.05	0.08	0.00	0.22	0.03	0.05	0.04	0.07	0.07
N-(NH4+, Amide)	0.42	0.69	0.36	0.31	0.43	0.42	0.37	0.53	0.29	0.74	0.55	0.67	0.31	0.46
N hydrolysable inconnu (HUN)	0.81	0.74	0.68	0.29	0.21	0.29	0.31	0.37	0.14	0.10	0.11	0.29	0.52	0.54
N non-hydrolysable (NHN)	0.35	0.57	0.35	0.52	0.01	0.41	0.44	0.54	0.47	0.41	0.53	0.62	1.34	0.62
N inconnu (UN = HUN+NHN)	1.16	1.31	1.02	0.80	0.23	0.70	0.75	0.92	0.61	0.51	0.64	0.92	1.86	1.16
pertes N durant l'hydrolyse	0.53	0.00	0.91	1.18	1.08	1.16	0.00	0.16	0.82	0.82	0.22	0.05	0.00	0.41
N total hyd. =100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
N total hydrolysable	49.88	42.58	50.76	63.46	58.20	62.46	62.46	60.83	60.41	51.98	60.64	52.51	56.56	54.83
N acides aminés	0.00	1.79	0.07	2.27	1.86	2.25	3.94	0.06	13.39	1.86	2.83	1.89	3.33	2.84
N-(NH4+, Amide)	17.54	26.91	17.17	17.77	26.71	20.84	18.29	22.85	17.69	40.71	30.65	31.69	15.05	19.57
HUN	33.50	28.72	32.00	16.50	13.23	14.44	15.31	16.26	8.50	5.45	5.87	13.92	25.06	22.76
<b>en % de N total</b>														
N total hydrolysable	73.33	85.04	62.83	50.66	59.39	56.36	65.60	76.54	56.15	59.67	70.57	75.91	65.57	69.67
N acides aminés	36.58	36.21	31.89	32.15	34.57	35.20	40.97	46.56	33.92	31.01	42.80	39.86	37.09	38.20
N hexosamines	0.00	1.52	0.04	1.15	1.10	1.27	2.59	0.04	7.52	1.11	2.00	1.43	2.19	1.98
N-(NH4+, Amide)	12.86	22.88	10.79	9.00	15.86	11.75	12.00	17.49	9.93	24.29	21.63	24.05	9.86	13.64
HUN	24.57	24.42	20.11	8.36	7.86	8.14	10.04	12.44	4.77	3.25	4.14	10.57	16.43	15.86
NHN	10.46	16.69	10.25	14.99	0.51	11.39	14.41	16.01	15.89	13.50	20.90	22.44	42.16	18.22
NH4+ échangeable	4.19	9.64	6.14	3.24	17.77	3.80	4.35	6.70	5.54	36.79	25.81	24.51	3.39	3.48
NO3-, NO2-	0.26	0.29	0.26	0.35	0.45	2.19	0.23	0.17	0.30	0.22	0.27	0.25	0.16	1.33

Tableau A.2 : Résultats complets de l'expérience préliminaire de compostage à la ferme.

# ANNEXE B

## DONNÉES DE TEMPÉRATURE

### B.1 Évolution du processus de compostage

#### Température

Les conditions générales de compostage durant les expériences A et B, dans les quatre composteurs, sont représentées par l'évolution des courbes de température dans le temps (figures B.1 et B.2). En raison des dispositifs expérimentaux des expériences A et B, et des conditions d'échantillonnage du fumier très semblables d'une expérience à l'autre, on devrait s'attendre à des profils de température de même niveau entre les deux expériences. Cependant, on observe différentes tendances.

Les différences dans les courbes de température peuvent s'expliquer par deux phénomènes :

- Premièrement, lors de l'expérience A, il était possible d'ajuster la hauteur des thermistors à l'intérieur des composteurs au fur et à mesure que le niveau du

compost baissait en raison des pertes d'eau et de solides secs, et également en raison du prélèvement d'échantillons dans les composteurs n°2 et n°4. L'ajustement de la hauteur des thermistors a permis de maintenir ceux-ci au cœur de la masse en compostage, où les températures sont les plus élevées. Tandis que lors de l'expérience B, les thermistors ont été soudés aux couvercles avec du silicone résistant à des hautes températures, pour les empêcher de glisser lors de l'ouverture des composteurs. Cette opération de soudure, indispensable pour étancher le système, a empêché l'ajustement de la hauteur des thermistors. La conséquence est l'enregistrement de températures plus basses près de la surface du compost.

- Deuxièmement, lors de l'expérience B, il y a eu échantillonnage du fumier dans les composteurs n°2 et n°4 par des filets de nylon. Ce type d'échantillonnage a eu pour effet d'ouvrir des trous plus grands dans le compost et de diminuer la qualité du contact entre les thermistors et le compost.

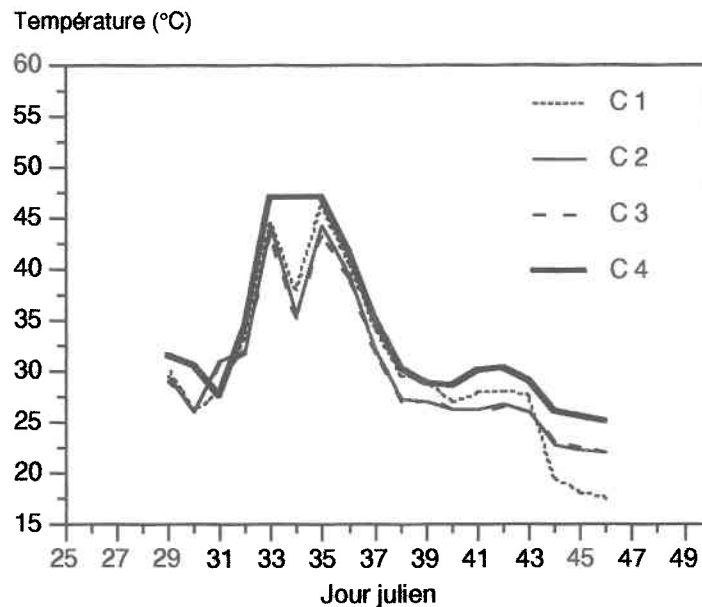


Fig. B.1 : Températures journalières moyennes dans les composteurs C1 à C4 durant l'expérience de compostage "A" au laboratoire.



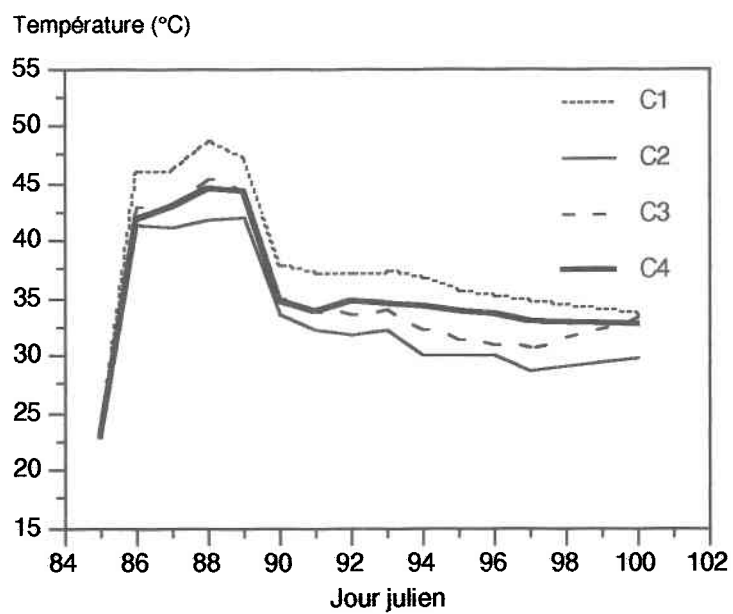


Fig. B.2 : Températures journalières moyennes dans les composteurs C1 à C4 durant l'expérience de compostage "B" au laboratoire.

# ANNEXE C

GROUPEMENT À LIENS SIMPLES :

DENDROGRAMME

Fig. C.1: Dendrogramme du groupement à liens simples effectué à partir de la matrice des distances euclidiennes des 19 descripteurs physico-chimiques et des 26 temps d'échantillonnage dans les composteurs C2 et C4, durant l'expérience "B" au laboratoire. Cinq groupes sont formés pour deux niveaux de distance arbitraires : deux groupes pour le composteur C4 et trois groupes pour le composteur C2.

