

Université du Québec
INRS-Institut Armand-Frappier

La conservation de l'ensilage par un bioenrobage

Par
Patrick Denoncourt

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M. Sc.)
en Microbiologie Appliquée

Jury d'évaluation

Examineur externe	Dr Blaise Ouattara, CRDA
Examineur interne	Dr Serge Belloncik, INRS-IAF
Directeur de recherche	Dre Monique Lacroix, INRS-IAF

Table des matières

TABLE DES MATIÈRES	ii
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xii
RÉSUMÉ	xiii
1. INTRODUCTION	1
2. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
2.1. LA PRODUCTION DU FOURRAGE AU CANADA	4
2.2. LE FOURRAGE, LE FOIN ET LE FOURRAGE ENSILÉ	5
2.3. PRINCIPALES CULTURES ENSILÉES	5
2.4. MÉTHODES DE CONSERVATION DU FOURRAGE	7
2.4.1. Les silos verticaux	7
2.4.2. Les silos horizontaux	8
2.4.3. Les balles rondes	9
2.5. RÉCOLTE ET MISE EN SILO	9
2.6. PROCESSUS BIOCHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES AU SEIN DE L'ENSILAGE	10
2.6.1. Flore microbienne du fourrage frais (flore épiphytique)	10
2.6.2. Agents microbiens responsables de la conservation de l'ensilage	11
2.6.3. Phase stationnaire	15
2.6.4. Agents microbiens responsables de la détérioration de l'ensilage	15
2.7. CRITÈRES D'ÉVALUATION D'UN ENSILAGE DE BONNE QUALITÉ	20
2.8. PROBLÉMATIQUE DE LA CONSERVATION DE L'ENSILAGE	22
2.9. LA DISPOSITION DES PLASTIQUES NON BIODÉGRADABLES	24
2.10. LES BIOPOLYMÈRES: UNE ALTERNATIVE AU PLASTIQUE	25
2.11. LES POLYMÈRES	27

2.12. LES POLYMÈRES NATURELS	28
2.12.1. Les protéines	28
2.12.2. Les polysaccharides	32
2.12.3. Les lipides	35
2.12.4. Les plastifiants	36
2.13. LES PROCESSUS DE RÉTICULATION	37
2.13.1. La réticulation chimique	37
2.13.2. La réticulation enzymatique	38
2.13.3. La réticulation physique	39
2.14. HYPOTHÈSE DE RECHERCHE	41
2.15. OBJECTIFS DE RECHERCHE	42
2.16. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES	42
2.17. MOYENS POUR ATTEINDRE LES OBJECTIFS	43
3. MATÉRIEL ET MÉTHODE	44
3.1. PRÉPARATION DU FOURRAGE	45
3.2. PRÉPARATION DES BIOENROBAGES	45
3.3. ANALYSES BIOCHIMIQUES	46
3.2.1. Matière sèche	46
3.2.2. Sucres solubles dans l'eau	47
3.2.3. Mesure du pH	47
3.2.4. Azote total	48
3.2.5. Azote ammoniacal	48
3.2.6. Acides organiques	49
3.4. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES	50
3.5. SCHÉMAS EXPÉRIMENTAUX	51
3.6. ANALYSES STATISTIQUES	55
4. RÉSULTATS	56
4.1. TRANSFORMATION ET OPTIMISATION DES FORMULATIONS	57
4.1.1. Composés plastifiants	57
4.1.2. Agents lipidiques	63
4.1.3. Composés épaississants	68
4.2. IMPORTANCE DU RECOUVREMENT	73
4.3. BIOENROBAGE 1	78
4.3.1. Analyses biochimiques	78
4.3.2. Analyses microbiologiques	92

4.4. ESSAI SEMI-PILOTE AVEC LE BIOENROBAGE 1	101
4.4.1. Analyses biochimiques	101
4.4.2. Analyses microbiologiques	107
4.5. BIOENROBAGE 2	110
4.5.1. Analyses biochimiques	110
4.5.2. Analyses microbiologiques	124
4.6. ESSAI EXTÉRIEUR AVEC LE BIOENROBAGE 2	133
4.6.1. Analyses biochimiques	133
4.6.2. Analyses microbiologiques	151
4.7. ESSAI SEMI-PILOTE AVEC LE BIOENROBAGE 2	164
5. DISCUSSION	172
5.1. TRANSFORMATION ET OPTIMISATION DES FORMULATIONS	173
5.1.1 Agents plastifiants	173
5.1.2. Agents épaississants	175
5.1.3. Agents lipidiques	176
5.2. IMPORTANCE DU REVÊTEMENT	177
5.3. BIOENROBAGE 1 ET 2: ESSAIS EN LABORATOIRE	179
5.4. ESSAIS EXTÉRIEURS	187
5.4.1. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1	187
5.4.2. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 2	190
5.4.3. Bioenrobage 2: Essai extérieur avec les modèles utilisés en laboratoire VS essai semi-pilote avec des mini-silos.	191
6. CONCLUSION	197
7. REMERCIEMENTS	201
8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	203

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Principales espèces de BAL retrouvées dans l'ensilage	12
Tableau 2.	Principales bactéries responsables de la seconde fermentation	17
Tableau 3.	Valeurs récapitulatives de certains paramètres standards de la fermentation de l'ensilage	22
Tableau 4.	Conditions d'incubation des milieux de culture	51
Tableau 5.	Valeur du pH et contenu en matière sèche de l'ensilage selon le type de plastifiant	60
Tableau 6.	Valeur du pH et contenu en matière sèche de l'ensilage selon le type de lipide	65
Tableau 7.	Valeur du pH et contenu en matière sèche de l'ensilage selon le type d'épaississant	70
Tableau 8.	Valeur du pH et contenu en matière sèche de l'ensilage selon le traitement	75
Tableau 9a.	Paramètres biochimiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 1.	82
Tableau 9b.	Acides organiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 1.	83
Tableau 10.	Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 1.	95
Tableau 11.	Influence des traitements et des précipitations sur le pH de l'ensilage. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1.	103
Tableau 12.	Influence des précipitations sur la teneur en matière sèche de l'ensilage. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1.	104

Tableau 13. Influence des traitements et des précipitations sur la présence des moisissures dans l'ensilage. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1.	108
Tableau 14a. Paramètres biochimiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2.	114
Tableau 14b. Acides organiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2.	115
Tableau 15. Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2.	127
Tableau 16a. Paramètres biochimiques au sein de l'ensilage selon le recouvrement et l'emplacement. Bioenrobage 2 extérieur.	141
Tableau 16b. Acides organiques au sein de l'ensilage selon le recouvrement et l'emplacement. Bioenrobage 2 extérieur	142
Tableau 17a. Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage protégé de la pluie. Bioenrobage 2 extérieur.	157
Tableau 17b. Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage exposé à la pluie. Bioenrobage 2 extérieur.	158
Tableau 18. Valeur du pH et du niveau de perte de matière sèche selon le recouvrement et le niveau de protection contre la pluie	167

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Effet du plastifiant sur le pH de l'ensilage	61
Figure 2.	Effet du plastifiant sur le contenu en matière sèche de l'ensilage	62
Figure 3.	Effet de l'agent lipidique sur le pH de l'ensilage	66
Figure 4.	Effet de l'agent lipidique sur le contenu en matière sèche de l'ensilage	67
Figure 5.	Effet de l'épaississant sur le pH de l'ensilage	71
Figure 6.	Effet de l'épaississant sur le contenu en matière sèche de l'ensilage	72
Figure 7.	Valeur du pH de l'ensilage selon le traitement	76
Figure 8.	Contenu en matière sèche de l'ensilage selon le traitement	77
Figure 9.	Effet du bioenrobage 1 sur le pH de l'ensilage	84
Figure 10.	Effet du bioenrobage 1 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage	85
Figure 11.	Variation du contenu en sucres solubles dans l'eau dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	86
Figure 12.	Variation du niveau d'azote ammoniacal dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	87
Figure 13.	Concentration en acide lactique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	88
Figure 14.	Concentration en acide acétique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	89
Figure 15.	Concentration en acide propionique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	90
Figure 16.	Concentration en acide butyrique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	91
Figure 17.	Niveau de micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	96

Figure 18.	Niveau de micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	97
Figure 19.	Niveau de lactobacillus dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	98
Figure 20.	Niveau de moisissures et de levures dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	99
Figure 21.	Niveau de coliformes dans l'ensilage avec le bioenrobage 1	100
Figure 22a.	Influence des traitements sur le pH de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1	105
Figure 22b.	Influence des traitements sur le pH de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1	105
Figure 23a.	Influence des traitements sur la teneur en matière sèche de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1	106
Figure 23b.	Influence des traitements sur la teneur en matière sèche de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1	106
Figure 24a.	Influence des traitements sur le niveau de moisissures dans l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1	109
Figure 24b.	Influence des traitements sur le niveau de moisissures dans l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1	109
Figure 25.	Effet du bioenrobage 2 sur le pH de l'ensilage	116
Figure 26.	Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage	117
Figure 27.	Effet du bioenrobage 2 sur le niveau de sucres solubles dans l'eau dans l'ensilage	118
Figure 28.	Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en azote ammoniacal dans l'ensilage	119

Figure 29.	Concentration en acide lactique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	120
Figure 30.	Concentration en acide acétique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	121
Figure 31.	Concentration en acide propionique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	122
Figure 32.	Concentration en acide butyrique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	123
Figure 33.	Niveau de micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	128
Figure 34.	Niveau de micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	129
Figure 35.	Niveau de bactéries acido-lactiques dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	130
Figure 36.	Niveau de moisissures et levures dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	131
Figure 37.	Niveau de coliformes dans l'ensilage avec le bioenrobage 2	132
Figure 38a.	Effet du bioenrobage 2 sur le pH de l'ensilage protégé de la pluie	143
Figure 38b.	Effet du bioenrobage 2 sur le pH de l'ensilage exposé à la pluie	143
Figure 39a.	Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage protégé de la pluie	144
Figure 39b.	Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage exposé à la pluie	144
Figure 40a.	Effet du bioenrobage 2 sur le niveau de sucres dans l'ensilage protégé de la pluie	145
Figure 40b.	Effet du bioenrobage 2 sur le niveau de sucres dans l'ensilage exposé à la pluie	145

Figure 41a.	Effet du bioenrobage 2 sur le niveau d'azote ammoniacal dans l'ensilage protégé de la pluie	146
Figure 41b.	Effet du bioenrobage 2 sur le niveau d'azote ammoniacal dans l'ensilage exposé à la pluie	146
Figure 42a.	Concentration en acide lactique dans l'ensilage dans l'ensilage protégé de la pluie	147
Figure 42b.	Concentration en acide lactique dans l'ensilage dans l'ensilage exposé à la pluie	147
Figure 43a.	Concentration en acide acétique dans l'ensilage protégé de la pluie	148
Figure 43b.	Concentration en acide acétique dans l'ensilage exposé à la pluie	148
Figure 44a.	Concentration en acide propionique dans l'ensilage protégé de la pluie	149
Figure 44b.	Concentration en acide propionique dans l'ensilage exposé à la pluie	149
Figure 45a.	Concentration en acide butyrique dans l'ensilage protégé de la pluie	150
Figure 45b.	Concentration en acide butyrique dans l'ensilage exposé à la pluie	150
Figure 46a.	Contenu en micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage protégé de la pluie	159
Figure 46b.	Contenu en micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage exposé à la pluie	159
Figure 47a.	Contenu en micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage protégé de la pluie	160
Figure 47b.	Contenu en micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage exposé à la pluie	160
Figure 48a.	Contenu en bactéries acido-lactiques dans l'ensilage protégé de la pluie	161

Figure 48b.	Contenu en bactéries acido-lactiques dans l'ensilage exposé à la pluie	161
Figure 49a.	Contenu en moisissures et en levures dans l'ensilage protégé de la pluie	162
Figure 49b.	Contenu en moisissures et en levures dans l'ensilage exposé à la pluie	162
Figure 50a.	Contenu en coliformes dans l'ensilage protégé de la pluie	163
Figure 50b.	Contenu en coliformes dans l'ensilage exposé à la pluie	163
Figure 51a.	Influence du bioenrobage 2 protégé de la pluie après 4 semaine sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote	168
Figure 51b.	Influence du bioenrobage 2 protégé de la pluie après 8 semaine sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote	168
Figure 52a.	Influence du bioenrobage 2 exposé après 4 semaine à la pluie sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote	169
Figure 52b.	Influence du bioenrobage 2 exposé après 8 semaine à la pluie sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote	169
Figure 53a.	Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage protégé de la pluie après 4 semaine en essai semi-pilote	170
Figure 53b.	Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage protégé de la pluie après 8 semaine en essai semi-pilote	170
Figure 54a.	Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage exposé à la pluie après 4 semaines en essai semi-pilote	171
Figure 54b.	Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage exposé à la pluie après 8 semaines en essai semi-pilote	171

LISTE DES ABRÉVIATIONS

BAL = bactéries acido-lactique

MS = matière sèche

Ntot = azote total

Te = ensilage non recouvert exposé aux précipitations

Pe = ensilage recouvert du plastique et exposé aux précipitations

Be = ensilage recouvert du bioenrobage et exposé aux précipitations

Ti = ensilage non recouvert et protégé des précipitations

Pi = ensilage recouvert du plastique et protégé des précipitations

Bi = ensilage recouvert du bioenrobage et protégé des précipitations

Résumé

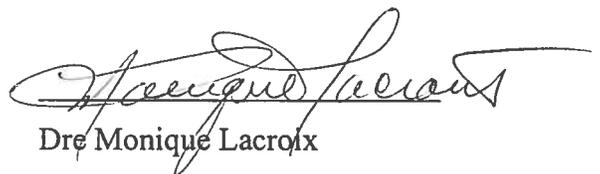
Les ensilages jouent un rôle majeur dans la production agricole au Québec. Les plantes conservées sous forme d'ensilage représentent environ 30% des surfaces cultivées (plus de 500 000 ha) et environ 3 millions de tonnes (sur une basse sèche) d'aliment pour le bétail. L'exploitant agricole qui désire bien valoriser les fourrages par le biais d'un ensilage doit tirer profit de deux activités biologiques très importantes. L'activité enzymatique crée rapidement des conditions anaérobies lorsque le remplissage des silos est rapide et l'étanchéité du silo est très bonne. De plus, l'activité fermentaire des bactéries lactiques doit être favorisée. Ces paramètres requièrent des sucres fermentescibles en quantité suffisante inhibant ainsi les fermentations nuisibles. Pour arriver à ce résultat, les plastiques ont toujours été préconisés. Mais vu la problématique entourant la disposition des plastiques conventionnels utilisés dans l'industrie fourragère, il est important d'envisager d'autres solutions de conservation de l'ensilage. L'enrobage biodégradable œuvre dans le respect de notre environnement et il est bon d'explorer cette voie afin d'en arriver à un enrobage offrant une conservation de l'ensilage équivalente à celle qu'offre présentement le plastique non biodégradable. Ce projet de maîtrise propose des solutions environnementales tout en tenant compte du souci de maintenir les coûts de production à un niveau acceptable. Elle permet d'ouvrir de nouvelles avenues d'expansion des productions animales tout en respectant l'environnement.

Les enrobages biodégradables sont souvent développés pour être utilisés sous des conditions contrôlées visant surtout l'industrie alimentaire. Les enrobages biodégradables destinés au domaine agricole doivent faire face à des agents physiques et de dégradations différents de ceux retrouvés dans l'emballage des produits alimentaires. La plupart des enrobages biodégradables comestibles sont de nature hydrophile, limitant leur capacité à accomplir les fonctions désirées. Nous avons donc dirigé nos recherches vers le développement de formulations de revêtement hydrophobes qui seraient appliquées sur l'enrobage. L'efficacité de conservation de l'ensilage par les enrobages biodégradables est évaluée par différents paramètres biochimiques tels que le pH de l'ensilage, la matière sèche, le niveau de sucres solubles dans l'eau, le niveau d'azote ammoniacal ainsi que la présence d'acide lactique, acétique, propionique et butyrique. Les comptes microbiens des populations des aérobies, anaérobies, des *Lactobacillus*, des moisissures, des levures ainsi que des coliformes sont également pris en considération.

Les ensilages enrobés par un bioenrobage avait nettement amélioré la qualité de l'ensilage par rapport aux ensilage exposés à l'air. Le scellement de l'ensilage par le bioenrobage permettait de stabiliser le pH à 4.39 durant 120 jours d'entreposage. Une valeur de pH comparable à celle retrouvée dans l'ensilage scellé par les films de plastique (4.72). L'application du bioenrobage sur l'ensilage permettait également de stabiliser le contenu en matière sèche à une valeur de 36.25% pendant 120 jours. Un recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage présentait une valeur en sucres solubles dans l'eau qui est comparable au plastique durant 70 jours avec respectivement une moyenne en sucre de 2.69% ms et de 2.45% ms. Après 135 jours, une plus faible valeur en azote ammoniacal était observée dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage (42.82 %Ntot) comparativement à l'ensilage scellé par le plastique (64.56 %Ntot). Un ensilage enrobé montrait un niveau de production d'acide lactique supérieur après 135 jours de fermentation de 0.56% ms alors que l'ensilage protégé par le plastique présentait un contenu de 0.17% ms d'acide lactique. Le bioenrobage permettait de retarder la production d'acide butyrique jusqu'à 70 jours d'entreposage comparativement à la détection de cet acide au 3^e et au 42^e jour d'entreposage pour l'ensilage exposé à l'air et à l'ensilage scellé avec le plastique respectivement. Cet essai avait aussi montré que les ensilages scellés avec les bioenrobages permettaient de maintenir une population d'aérobies inférieure au plastique pendant l'entreposage. Le bioenrobage présentait une croissance en BAL comparable au plastique. L'enrobage s'était avéré plus efficace que le plastique pour le contrôle du développement des coliformes retardant durant 70 jours le développement de coliformes.



Patrick Denoncourt



Dré Monique Lacroix

1. INTRODUCTION

L'industrie fourragère canadienne consacre 80 % de sa production fourragère pour l'ensilage destiné aux bétails. Seulement au Québec, huit millions de tonnes de fourrages humides provenant de plus de 500 000 hectares de culture sont conservés en ensilage. Cet ensilage représente 50 à 60% des besoins nutritifs des ruminants durant la période hivernale. Pour conserver tout cet ensilage, diverses méthodes de conservation existent. Parmi celles-ci, les silos horizontaux nous intéressent tout particulièrement de par le fait qu'ils deviennent de plus en plus la norme, particulièrement aux États-Unis, pour la conservation de l'ensilage. Ce type de silos est principalement utilisé au niveau des grands élevages de bétail. La méthode courante de conservation de l'ensilage en silos horizontaux se fait via le recouvrement de plastique. Ce système, de par son coût faible, est privilégié mais la disposition du plastique est problématique pour les producteurs. L'organisme gouvernemental (Recyc-Québec) s'occupant du recyclage au Québec ne dispose d'aucune méthode de recyclage des films de plastique d'ensilage. Vu l'intensification des élevages, d'autres solutions aux plastiques pour la conservation du fourrage ensilé doivent être offertes aux producteurs. Une alternative intéressante serait l'application d'un bioenrobage offrant sensiblement les mêmes caractéristiques de barrière à l'oxygène que le plastique. Ces bioenrobages sont constitués de biopolymères qui ont l'avantage d'être dégradés par l'action naturelle des micro-organismes. Par conséquent, ce problème de recyclage ne se pose pas comme dans le cas des films de plastiques.

Nous croyons que l'application d'un bioenrobage sur différentes sortes de fourrage est possible et pourra créer des conditions favorables au processus de fermentation et à la conservation de ces derniers. Ce projet de maîtrise avait pour objectif principal de conserver la valeur nutritive d'un ensilage destiné au bétail grâce à l'application d'un enrobage biodégradable, résistant aux intempéries et aux conditions climatiques du Québec, capable de maintenir des conditions acides et anaérobiques au niveau de l'ensilage, afin d'éliminer ou de retarder la croissance des microorganismes de détérioration de l'ensilage. De plus, la relation entre les coûts (conception de l'enrobage, quantité et temps d'application) et l'efficacité de la conservation a été prise en considération dans ce travail. Ce projet de maîtrise sera donc divisé en trois thèmes généraux: conception du bioenrobage, évaluation de son efficacité à conserver l'ensilage en laboratoire et dans les conditions réelles face aux intempéries climatiques.

2. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

La conservation de l'ensilage par un bioenrobage

2.1. La production de fourrage au Canada

Le secteur le plus important de l'industrie fourragère canadienne est l'ensilage, destiné aux ruminants et il représente 80% de la production fourragère totale. Le fourrage représente la plante, ou une de ses parties, qui est servie aux animaux ou broutée par eux. Les fourrages cultivés ont une adaptation très large aux différentes régions canadiennes. Les fourrages sont fréquemment cultivés en rotation avec d'autres grandes cultures mais une production importante est réalisée sur des terrains pauvres, impropres aux grandes cultures. La plus grande partie des fourrages est consommée à la ferme et moins de 15% sont effectivement commercialisés. Le Québec possède plusieurs avantages pour l'élevage des ruminants à partir de fourrages pérennes ou annuels. Le climat et les sols permettent à la plupart des régions agricoles de produire de 5 à 8 tonnes de fourrage pérenne sur une base sèche par année par hectare. Une espèce est dite pérenne lorsqu'elle est semée pour quelques années et durant ce temps, elle est entretenue et récoltée. Les principaux fourrages pérennes cultivés au Québec sont la fléole des près et la luzerne. Les régions plus chaudes, au sud du fleuve Saint-Laurent et à l'ouest du Québec, sont propices à la culture de fourrages annuels comme le maïs fourragé dont le rendement est de l'ordre de 15 tonnes de matière sèche par hectare par année.

Selon des analyses récentes (Filion, 1995; Savoie et Pellerin, 1998), l'ensemble des productions végétales agricoles au Québec couvre 1,7 millions d'hectares. Près de 60% des superficies cultivées sont en fourrage pérennes (environ 900 000 ha) ou annuels (70 000 ha de maïs fourrager et d'autres céréales conservés en plantes entières). Ces fourrages constituent la base de l'alimentation des élevages de ruminants au Québec (470 000 vaches laitières sur 10 500 fermes, 230 000 vaches bovines sur 6000 fermes et 152 000 moutons sur 1000 fermes). L'ensilage est une partie importante de la nourriture des bovins durant l'hiver pour plusieurs pays où la saison de culture est restreinte. L'ensilage représente 50 à 60% de la nutrition des ruminants durant la période hivernale

(Johnson *et al.*, 1941). Il est donc le constituant le plus important de la diète de ceux-ci durant cette période (Seale, 1986). Puisque dans plusieurs régions de l'Est du Canada, il faut emmagasiner de l'ensilage pour une durée de huit mois, la méthode de conservation utilisée doit permettre de préserver tous les éléments nutritifs et garantir une ingestibilité et une digestibilité du fourrage conservé aussi élevées que possible afin de permettre un gain moyen quotidien de près d'un kilogramme par tête (Proulx *et al.*, 1981).

2.2. Le fourrage, le foin et le fourrage ensilé

Le fourrage représente la plante ou une de ses parties qui est servie aux animaux ou broutée par ces derniers. Le fourrage est utilisé frais (fourrage), sec (foin) ou ensilé (ensilage) pour nourrir le bétail (McBride *et al.*, 1992). Le foin est un fourrage vert fauché et séché afin de conserver un produit stable (teneur en eau < 20%) pendant la période de conservation. Le fourrage ensilé est obtenu par un processus de fermentation des fourrages humides en conditions anaérobiques. La teneur en eau des ensilages est d'environ de 60 à 65% d'humidité. Environ trois millions de tonnes en poids sec (environ huit millions de tonnes humides) de fourrage sont conservés en ensilage au Québec et proviennent de plus de 500 000 hectares de culture.

2.3. Principales cultures ensilées

L'ensilage est une méthode de conservation par fermentation des aliments humides pour le bétail. Ces aliments ensilés sont principalement de l'herbe fraîche ou partiellement séchée au champ (luzerne, fléole des prés), du maïs fourrager et certaines céréales (orge, avoine). L'ensilage de plants de maïs entiers est une culture fourragère à haut rendement énergétique. Le maïs à ensilage convient bien à la mécanisation, depuis l'ensemencement jusqu'à la récolte, et fournit un excellent complément à l'ensilage de foin. La composition d'un ensilage de maïs est habituellement de 27.6% de matière sèche, 2.3% de protéines brutes, 1.2% de protéines digestibles, 0.8% de matière grasse,

6.7% de fibres, 0.1 % de calcium et de 0.07% de phosphore (Gouvernement de l'Ontario). L'amidon constitue la principale source d'hydrates de carbone. L'ensilage de la luzerne modifie peu sa valeur énergétique mais induit une baisse légère de la teneur en azote total et une augmentation notable de la teneur en azote non protéique (Boillon et Roux, 1996). Malgré la teneur élevée en protéine totale de l'ensilage de luzerne (environ 20% pour 35% de matière sèche), ces protéines sont mal utilisées par les vaches. Elles subissent de fortes dégradations microbiennes dans le rumen. Ainsi, une faible partie des protéines de l'ensilage reste disponible pour l'animal.

L'ensilage de luzerne est riche en calcium et en phosphore mais a une faible valeur énergétique. L'hémicellulose constitue la principale forme d'hydrate de carbone. La luzerne contient une quantité importante de lignine rendant sa digestibilité un peu plus difficile. Dû à son contenu plus faible en hydrate de carbone que d'autres types de fourrage, l'ensilage de luzerne requière une plus grande quantité d'hydrate de carbone pour que la fermentation soit complète afin de permettre une conservation stable de l'ensilage. De plus, les légumineuses ont un pouvoir tampon plus élevé que les graminées, demandant plus de temps pour atteindre un pH acide.

Le fléole des près, appartient à la famille des graminées. L'ensilage issu de cette graminée a une valeur énergétique moindre que celle du maïs. Par contre, sa digestibilité est plus importante que les légumineuses dû à la faible quantité de lignine. Les graminées sont plus faciles à fermenter que la luzerne parce qu'elles contiennent près de deux fois plus de sucres que les légumineuses (Sullivan et McKinlay, 1998).

2.4. Méthodes de conservation du fourrage

Les principales infrastructures impliquées dans la conservation du fourrage par un processus d'ensilage sont les silos (verticaux et horizontaux) et les balles.

2.4.1. Les silos verticaux (silos-tours)

Les silos verticaux sont les plus utilisés dans la conservation du fourrage. Ils sont représentés par les grands cylindres adjacents aux ferme (Pelletier *et al.*, 2000). Ces cylindres sont construits soit en métal ou en béton armé et possèdent des capacités de 10 à 200 tonnes par cellule. La hauteur est généralement 3 à 4 fois plus grande que le diamètre. La construction doit satisfaire aux normes définies afin de pouvoir supporter les énormes pressions exercées contre les parois, en particulier lors du remplissage et de la vidange. Lorsque la vidange se fait par le haut, les silos sont munis d'une série de portes qu'on ouvre du sommet jusqu'à la base au fur et à mesure que le niveau d'ensilage baisse. Dans le cas d'une vidange par le bas, les silos ne sont munis que d'une seule ouverture à la base du silo pour récupérer l'ensilage. Ces derniers sont généralement plus étanches à l'oxygène que ceux avec une vidange par le haut dû au nombre d'ouverture moindre où l'oxygène pourrait s'infiltrer.

Les silos verticaux possèdent certains inconvénients: coût relativement élevé et nécessité d'une bonne fondation particulièrement pour les sols argileux; quantité importante de lixiviat; gel des ensilages trop humide; accumulation de gaz toxique dans le haut du silo. Par contre, ce type d'entreposage ne nécessite pas l'utilisation de polyéthylène éliminant ainsi la gestion de déchets issus des emballages de plastique. De nombreux gaz sont formés durant la fermentation de l'ensilage. Le gaz carbonique (CO_2) est le plus abondant. Cependant, celui-ci n'est pas toxique en faible concentration. Toutefois, l'intérieur des silos est un environnement fermé et le gaz carbonique formé peut remplacer l'oxygène présent et être responsable de problème d'asphyxie. Les oxydes d'azote (N_2 et NO_2) peuvent être formés durant les trois semaines qui suivent la mise en silo. Le bioxyde d'azote (NO_2) est particulièrement dangereux et peut causé la mort en

quelques minutes s'il est respiré. Étant plus denses que l'air, le N_2 et NO_2 descendent et se retrouvent dans l'ouverture des silos lors de la récupération de matériel ensilé. Ces gaz (N_2 et NO_2) ont peu d'impact sur l'environnement à cause des faibles quantités produites. Toutefois, leur présence en concentration élevée dans les aires fermées attenantes aux silos et lors de la montée dans les silos requiert des précautions importantes pour le personnel.

2.4.2. Les silos horizontaux (silos couloirs)

Utilisés depuis plusieurs décennies, les silos horizontaux ont été principalement développés avec la popularité croissante des grands élevages (≥ 500 têtes de bétail / an) (Pelletier *et al.*, 2000). La construction des silos horizontaux est simple et consiste en deux murs verticaux de 2 à 4 mètres de hauteur, parfois un mur de fond et un plancher de béton. Le fourrage haché (0.71 à 1.42 cm) par des fourragères conventionnelles est entassé entre les deux murs en s'assurant de réduire au maximum le volume d'air résiduel. La masse de fourrage est habituellement recouverte d'un film de polyéthylène retenu par des pneus. Le silo horizontal présente divers avantages: une reprise plus rapide de l'ensilage, une plus grande sécurité (hauteur du silo, pas d'accumulation de gaz toxiques de fermentation dans des espaces restreints) et une économie appréciable dans le coût de construction par rapport au silo vertical pour un même volume d'ensilage entreposé. Il permet également une expansion économique pour la construction d'un troisième mur parallèle aux deux premiers. Par contre, il présente quelques inconvénients: des pertes accrues s'il y a un manque d'étanchéité, des pertes par écoulement de lixiviats si l'ensilage est très humide ou si l'eau de pluie entre en contact avec l'ensilage et le besoin de gérer les résidus plastiques. Les silos horizontaux deviennent de plus en plus la norme, en particulier aux États-Unis, pour la conservation d'ensilage en grande quantité (NRAES, 1997).

2.4.3. Les balles rondes

Les balles rondes peuvent être enveloppées sous plusieurs formes. Elles peuvent être enveloppées individuellement, à l'aide d'une pellicule plus ou moins étirable ou bien dans un sac sous vide. Elles peuvent également être mises en rangée avec une pellicule élastique ou dans un sac. Le film synthétique d'enrubannage est étiré à 40% (Gaillard, 1992). Cet étirement permet au plastique de coller à la balle même si elle se déforme. Ce contact permanent exerce une pression sur l'ensilage, évitant toute circulation d'air entre le film et l'ensilage. Une balle de fourrage est habituellement recouverte de quatre couches de plastique pour atteindre une épaisseur de 100 μm . L'effouissement ou l'incinération des enrobages de plastique des balles d'ensilage posent d'importants problèmes environnementaux.

2.5. Récolte et mise en silo

Il est très important de remplir les silos horizontaux et verticaux le plus rapidement possible afin de réduire au minimum la durée pendant laquelle il y a oxydation des glucides hydrosolubles du fourrage à ensiler. Plus la phase d'activité aérobie est longue, plus il y a production de chaleur due à l'oxydation des sucres de l'ensilage et donc risque de détérioration de l'ensilage. Cette détérioration est caractérisée par une diminution de la concentration en sucre et en protéine ainsi qu'une augmentation du taux de matière sèche. De plus, l'aération augmente la capacité tampon de l'ensilage dû à la dégradation des protéines. Le pouvoir neutralisant des cations relâchés par la décarboxylation et le pouvoir tampon de quelques produits de la rupture des acides organiques particulièrement l'acide lactique et l'acide acétique augmentent ce pouvoir tampon de l'ensilage. Dans ce cas, la quantité d'acides organiques doit être plus importante pour maintenir les conditions acides.

La compaction du fourrage est très importante et demande une hauteur de matière considérable pour obtenir le poids nécessaire à l'expulsion de l'air. En silo, la partie

supérieure est toujours moins dense et contient plus d'air, et par conséquent favorise la croissance de moisissures. On peut obtenir un meilleur tassement du tiers supérieur de l'ensilage en utilisant un produit ayant une teneur en humidité de 65 à 70%. Le hachage fin (0.71 à 1.42 cm) facilite l'expulsion de l'air car le tassement est plus important. La longueur des coupes est plus importante pour les silos horizontaux. En principe, il est souhaitable de hacher le maïs en morceaux de 6 à 10 mm de long, pour un ensilage à 65% d'humidité. Pour un ensilage de moins de 65% d'humidité, le hachage du maïs est une nécessité afin d'augmenter la disponibilité des sucres de l'ensilage. Un hachage plus fin que 6 mm n'est pas conseillé pour le maïs car cela entraîne une augmentation de lixiviat. Si le maïs est trop sec suite à un préfanage trop long, le tassement de l'ensilage peut être difficile à faire, ce qui accroît les risques de dégradation causés par les moisissures et les échauffements de l'ensilage qu'elles occasionnent. Le maïs est particulièrement difficile à conserver sous forme d'ensilage dû au problème de l'exclusion de l'air. L'ensilage de maïs est composé de la plante entière et contient des épis qui, même hachés, rendent difficile une bonne compaction du fourrage. Une herméticité du silo est primordiale car un silo fonctionne comme une cheminée. L'air qui entre à la base est aspiré vers le haut à travers l'ensilage; ce qui entraîne un excès de chaleur et de détérioration de l'ensilage. Même dans un silo hermétique, l'air pénètre dans l'ensilage lorsque la porte de remplissage est laissée ouverte pour le prélèvement du produit ensilé pour alimenter le bétail. Une répartition uniforme de l'ensilage est nécessaire lors du remplissage pour éviter la séparation entre les éléments légers et les éléments plus lourds. Les éléments légers ont tendance à s'accumuler près des parois, empêchant un bon tassement.

2.6. Processus biochimiques et microbiologiques au sein de l'ensilage

2.6.1. Flore microbienne du fourrage frais (flore épiphytique)

Un grand nombre de microorganismes se retrouve dans le fourrage frais des plantes vertes. Le nombre de bactéries varie selon le genre, la partie et la maturité de la plante ainsi que la saison (Kroulik *et al.*, 1955). Peu de microorganismes isolés de la

plante verte fraîche sont similaires aux bactéries présentes dans l'ensilage. Les organismes prédominants sur les plantes vertes fraîches consistent en grandes majorités en des bactéries aérobies strictes mais certaines espèces anaérobies facultatives peuvent également être retrouvées en faible nombre telles que *Escherichia*, *Kliebsella*, *Streptocoques*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* (micro-aérophiles) et les *Pediococcus* (McCullough, 1978, Whittenbury, 1968). Le niveau de croissance et la concentration de ces organismes sont déterminés par les propriétés de l'herbage. Les *Clostridium* peuvent être aussi retrouvés, mais sous forme dormantes (endospores) (Whittenbury, 1968). Les coliformes sont trouvés sur les plantes vertes fraîches en grand nombre et augmentent durant le processus de la récolte (Kroulik *et al.*, 1955).

2.6.2. Agents microbiens responsables de la conservation de l'ensilage.

Quand le fourrage est ensilé, les cellules des plantes continuent à respirer pour un certain temps utilisant l'oxygène résiduel enfermé dans les silos. Cette respiration entraîne une production excessive de chaleur (42-44°C) qui résulte en la réaction de Maillard, avec diminution de la digestibilité des constituants fibrillaires et protéiques. Après la fermeture du silo, les protéases de la plante vont dégrader les protéines en acides aminés et en ammoniac. Les microorganismes aérobiques contribuent de façon peu significative à la création des conditions anaérobiques dans l'ensilage mais meurent rapidement avec l'épuisement de la réserve d'oxygène (Langston *et al.*, 1961; Whittenbury, 1968). À cette étape, les organismes capables de croître en condition anaérobique commencent à se multiplier et compétitionner pour les nutriments disponibles. Les changements dans les premiers jours sont critiques pour le succès ou l'échec des fermentations subséquentes (McDonald *et al.*, 1991). Langston *et al.* (1961) ont démontré que ce sont les coliformes et les *Streptocoques* qui dominent la microflore de l'ensilage durant les 8-10 premières heures après le scellage du silo. Ils sont aussitôt remplacés dans les 12 à 48 premières heures par *Leuconostocs* et *Pediococcus*.

Après trois jours *Lactobacillus* et *Pediococcus* apparaissent et deviennent rapidement la flore microbienne dominante de l'ensilage. Il est intéressant de mentionner que *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Leuconostocs* sont rares sur les tissus non-endommagés des plantes vivantes, donc ne font pas partie de la microflore normale de la plante (Stirling et Whittenbury, 1963). Toutefois leur nombre augmente lors des opérations d'ensilage. Les possibles sources de ces bactéries sont les équipements de fermes (tracteurs, fourragère, silos) entrant en contact avec les cultures (Stirling et Whittenbury, 1963). Les bactéries acidolactiques (BAL) (*Streptococcus*, *Leuconostokes*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*) sont les principaux agents de préservation de l'ensilage. Le Tableau 1 énumère les principales souches de BAL retrouvées dans l'ensilage. Il y a les homofermentaires qui produisent principalement de l'acide lactique à partir du glucose et les hétérofermentaires qui produisent à partir du glucose et du fructose de l'acide lactique et de l'acide acétique (McDonald *et al.*, 1991).

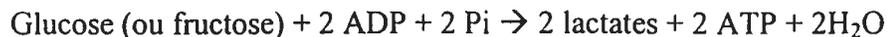
Tableau 1. Principales espèces de BAL retrouvées dans l'ensilage

Homofermentaires	Hétérofermentaires
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
<i>Pediococcus acidilactic</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus fermentarum</i>
<i>Streptococcus faecium</i>	<i>Lactobacillus uridescens</i>
<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroïdes</i>

(McDonald *et al.*, 1991)

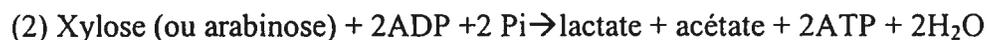
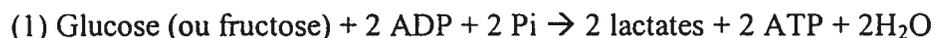
Sous conditions anaérobiques, les BAL fermentent une grande variété de substrats. Les BAL sont divisés en trois groupes physiologiques distincts (McDonald *et al.*, 1991):

1. Les homofermentaires obligatoires qui fermentent les hexoses exclusivement en acides lactiques. Les pentoses tels que le xylose et l'arabinose ne sont pas fermentés. Ces BAL possèdent l'enzyme fructose bisphosphate aldolase (FBP), mais pas de phosphocétolase. Deux moles d'acides lactiques sont produites par mole de glucose fermenté.



où ADP : adénosine diphosphate, Pi : phosphate inorganique et ATP : adénosine triphosphate

2. Les hétérofermentaires facultatifs possèdent la fructose bisphosphate aldolase et fermentent aussi les hexoses exclusivement en acide lactique. Toutefois ces bactéries peuvent également fermenter les pentoses en acide lactique et acétique par l'utilisation d'une phosphocétolase inductible.



où ADP : adénosine diphosphate, Pi : phosphate inorganique et ATP : adénosine triphosphate

3. Les hétérofermentaires obligatoires qui fermentent les hexoses en acides lactiques, en dioxyde de carbone et en éthanol (ou en acide acétique s'il y a présence d'accepteurs d'électrons alternatifs). Les pentoses sont convertis en acide lactique et acétique.



où ADP : adénosine diphosphate, Pi : phosphate inorganique et ATP : adénosine triphosphate

La plupart de l'énergie contenue dans l'ATP est utilisé pour la synthèse microbienne, mais un peu d'énergie de l'ATP s'échappe du système microbien sous

forme de chaleur. Toute la chaleur produite dans l'ensilage n'est pas rapidement dissipée et cela résulte en une augmentation de la température de la masse d'ensilage (McDonald *et al.*, 1991). La production limitée de l'ATP dans un système anaérobique par rapport au système aérobique engendre une petite production de chaleur et une augmentation subséquente de température. Toutefois, cette augmentation de température peut dépasser 50°C dans un silo.

Les bactéries du genre *Lactobacillus* restent viables plus longtemps que les autres groupes de microorganismes dans l'ensilage. Comme mentionné précédemment, ce sont les BAL qui sont responsables de la conservation de l'ensilage. Les BAL utilisent les sucres solubles dans l'eau pour produire des acides réduisant le pH à une valeur d'environ 4.2, avec une faible perte de matière sèche et d'énergie. Les principaux sucres impliqués dans ce mécanisme sont le glucose, le fructose, le sucrose et le fructosane (Whittenbury, 1968). Ce dernier est la réserve principale de polysaccharides. Le sucrose et le fructosane sont rapidement hydrolysés en monomères lorsque l'ensilage est en contact avec les enzymes des herbes. Le fructose et le sucrose sont donc les sources majeures de carbonhydrates solubles. La concentration de glucose et de fructose varient beaucoup dans les cultures selon l'espèce à ensiler, le stade de croissance, le temps et l'application de fertilisant. Les levures contribuent également à la réduction du pH (Woolford, 1976) en produisant de l'acide lactique et acétique. Toutefois la compétition des levures pour les sucres contre les BAL dans les silos est réduite due au manque de substrat engendré par la croissance rapide de ces BAL. Il est possible que les levures ne jouent pas un rôle substantiel dans l'ensilage à cause de leur préférence pour les conditions sèches (McDonald *et al.*, 1968). Les observations de Henderson *et al.* (1972) selon laquelle le pré-fanage favorise la croissance des levures tendent à supporter cette hypothèse. Cependant, les levures sont capables de se développer dans des environnements humides tels que les vins et les bières.

Lorsque le pH de l'ensilage atteint une valeur de 3.8-5.0 (selon le contenu en matière sèche) ou que les sucres disponibles disparaissent, la plupart des bactéries acidolactiques cessent de croître et l'ensilage se trouve alors en phase stationnaire.

2.6.3. Phase stationnaire

Après la croissance active des BAL, survient une phase de stabilité au sein du matériel ensilé. Si le silo est adéquatement scellé et que la valeur du pH a été suffisamment réduite, seulement une très faible activité biologique aura lieu durant cette phase. Cependant, on retrouve une légère dégradation chimique de l'hémicellulose, avec production d'une certaine quantité de sucres. Lorsque la fermentation active cesse au bout de 2 à 4 semaines, par manque de sucres solubles, les BAL peuvent fermenter les sucres issus de la dégradation de l'hémicellulose causant une légère diminution supplémentaire du pH. Quand il n'y a plus d'hydrates de carbone de disponibles dans l'ensilage, les LAB peuvent, en plus d'utiliser les sucres provenant de l'hémicellulose, utiliser l'acide lactique comme substrat avec la production d'acide acétique.

2.6.4. Agents microbiens responsables de la détérioration de l'ensilage

Les organismes responsables de l'initiation du processus de détérioration de l'ensilage sont principalement les *Clostridium* (McDonald *et al.*, 1991). La croissance de ceux-ci est affectée par la pression osmotique requérant des conditions d'humidité élevées de 70%. La croissance des *Clostridium* est également affectée par la présence d'acides lactiques et acétiques, par la concentration d'ions hydrogènes et par la toxicité des acides non-dissociés (Whittenbury, 1968; Whittenbury *et al.*, 1967). Il existe deux sortes de *Clostridium* : les saccharolytiques (*C. butyricum*) et les protéolytiques (*C. sporogenes*). Les *Clostridium* saccharolytiques fermentent les sucres principalement et les acides organiques. Ils possèdent également une petite activité vis-à-vis des protéines et des acides aminés (McDonald *et al.*, 1991). La décarboxylation de deux moles de lactate (acide fort) par les *Clostridium* saccharolytiques résulte en la production d'une seule mole de butyrate (acide faible), le pH augmente alors vers la neutralité.



La présence d'acide butyrique et d'acide propionique est une caractéristique d'un ensilage de mauvaise qualité. La conversion du lactate en butyrate par les *Clostridium* saccharolytiques permet l'établissement des conditions favorables au développement des *Clostridium* protéolytiques qui entraîne la détérioration de l'ensilage et une réduction de sa valeur nutritive. Ces organismes sont également capables de rompre sélectivement des acides aminés selon trois réactions métaboliques: la déamination, la décarboxylation, la réaction de Stickland. La réaction de Stickland est un couplage oxidation-réduction entre paire d'acides aminés produisant des acides gras, du dioxyde de carbone et de l'ammoniaque (McDonald *et al.*, 1991; Whittenbury, 1968). La décarboxylation des acides aminés présents dans l'ensilage conduit à la production d'ammoniaque (masquant l'acidification produite par les acides organiques) et la formation d'amines non-volatiles, telles que la cadavérine (décarboxylation de la lysine), la putrescine (décarboxylation de l'arginine), l'histamine (décarboxylation de l'histidine), l'acide α -amino butyrique, la β -alanine, la tyramine et la tryptamine. Ces substances ont un intérêt parce qu'ils affectent la santé animale. L'histamine, par exemple, arrête la motilité du rumen chez les bovins et, à concentration élevée, peut être létale (McDonald *et al.*, 1991). Les conditions de l'ensilage affectent la formation de quelques amines particulièrement la cadavérine et la putrescine. Certains *Clostridium* (*C. perfringens (welchii)*) ont les deux types d'activités (saccharolytique et protéolytique). *C. tyrobutyricum* est l'espèce de clostridium la plus fréquemment isolée de l'ensilage (McDonald *et al.*, 1991). Sa présence dans l'ensilage est probablement le résultat d'une contamination par le sol.

La valeur de pH inhibant les *Clostridium* dépend de plusieurs facteurs dont particulièrement le contenu en humidité. Les *Clostridium* peuvent tolérer de hautes concentrations d'acides organiques et d'ions hydrogènes sous des conditions très humides (Whittenbury *et al.*, 1967). Conséquemment, plus le matériel sera humide, plus le pH devra être bas pour permettre une préservation de l'ensilage. Les circonstances affectant l'activité des *Clostridium* est la vitesse à laquelle le pH diminue plutôt que le pH final atteint. Les acides aminés sont mieux préservés quand la baisse de pH est rapide. Certains ensilages montrent une rapide baisse de pH alors que d'autres rendements sont seulement limités par la quantité d'acides à ce jour, aucune explication scientifique à ce phénomène

n'a été donnée. Plusieurs facteurs peuvent influencer la production d'acides: la variabilité dans la séquence de changements de microorganismes, l'antagonisme entre certains groupes de bactéries au début du processus fermentaire, la déficience de certains nutriments dans le matériel végétal pour la croissance bactérienne, l'accessibilité aux sucres par les micro-organismes (Langston et Bouma, 1960).

La croissance des *Clostridium* est indésirable car ils agissent contre la préservation de l'ensilage en détruisant l'acide lactique et réduisent la valeur nutritive de l'ensilage en catabolisant les acides aminés (McDonald *et al.*, 1991). L'activité des *Clostridium* est stimulée par une température élevée de l'ensilage, un contenu bas en matière sèche (< 30%) et par un scellage défaillant du silo (McDonald *et al.*, 1991). Si le pH de l'ensilage n'atteint pas une valeur de pH bas et stable rapidement ($\text{pH} \leq 4.5$), la croissance des *Clostridium* sera encouragée et la fermentation secondaire aura lieu. Par chance, les spores de *Clostridium* doivent germer avant que les bactéries puissent se reproduire; leur activité accuse un retard sur les bactéries lactiques d'où l'importance d'une acidification rapide par les BAL en début de processus d'ensilage.

Tableaux 2. Principales bactéries responsables de la seconde fermentation

Fermentation du lactate	Fermentation des acides aminés	Autres ¹
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Clostridium sphenoides</i>
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>		

¹*Clostridium* fermentant le glucose et ne produisant pas de butyrate.

(McDonald *et al.*, 1991)

Les entérobactéries sont responsables de la production de l'ammoniaque et des endotoxines au cours de l'entreposage (McDonald *et al.*, 1991) lorsque le pH de l'ensilage est situé entre 6 et 7, mais plusieurs d'entre elles sont inactives en dessous d'un pH 5. Ces organismes ne sont donc actifs que durant les 12-36 premières heures après le scellage du silo; après cette période, leur nombre décline rapidement. *Hafnia alvei* et

Escherichia coli sont les entérobactéries dominants sur l'ensilage. Il existe deux types majeurs de fermentation chez les *Entérobactéries*. Une fermentation d'acides mixtes à partir du glucose impliquant *E. coli* et conduisant à la production de lactate, d'acétate, de succinate, de formate et d'une faible quantité d'éthanol. Le formate s'accumule mais sous des conditions acides, il peut être converti en dioxyde de carbone. Chez d'autres organismes (*Erwinia*, *Hafnia*) une fermentation butanediol a lieu dans laquelle le pyruvate est catabolisé en acétoïne, lequel sera réduit en 2.3-butanediol (McDonald *et al.*, 1991). Les *Entérobactéries* produisent cinq fois plus de CO₂ par la fermentation butanediol que par la fermentation mixte.

Les nouvelles conditions engendrées par les *Clostridium* au sein de l'ensilage conjointement avec la présence d'oxygène, dû à des déchirures du plastique ou d'une mauvaise étanchéité de ce dernier, vont permettre la croissance de moisissures et de levures. Ils obtiennent leurs nutriments en sécrétant des enzymes extracellulaires (protéase, lipase, amylase, cellulase) qui réduisent les molécules complexes en simples monomères, qu'ils pourront absorber à travers leurs membranes (McDonald *et al.*, 1991). La majorité des champignons sont des aérobies stricts, donc requièrent de l'oxygène pour leur croissance. Les levures retrouvées dans l'ensilage sont du genre *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Torulopsis* et *Saccharomyces* (Kroulik *et al.*, 1955) et sont responsables de la dégradation des sucres et du lactate.



Le premier groupe diminue sous des conditions anaérobiques dans le silo. Les espèces assimilatrices de lactate se multiplient immédiatement dans l'ensilage sous l'infiltration d'air parce que la présence d'oxygène est à la base de l'assimilation des acides organiques comme mécanisme de détoxification. Sous conditions anaérobiques, les levures obtiennent leur énergie par la fermentation des sucres. L'inhibition des levures par des acides organiques à courtes chaînes comme l'acide lactique et acétique est possible car ces molécules passent à travers la cellule par diffusion simple et leur dissociation relâche des ions H⁺ réduisant le pH cellulaire à un niveau qui peut les tuer

rapidement. Les levures peuvent, par transport actif, expulser ces ions mais ce phénomène requiert de l'énergie. Toutefois, sous des conditions anaérobiques, l'énergie vient d'une variété de substrats comme les acides organiques d'où la montée du pH par les levures en aérobie (McDonald *et al.*, 1991). La croissance des moisissures suit celle des levures. Ce sont des organismes aérobiques. On les rencontre sur les surfaces exposées à l'air. Les genres de moisissures retrouvées dans l'ensilage sont *Aspergillus*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Byssochlamys*, *Monascus* (McDonald *et al.*, 1991). La présence des moisissures est indésirable car non seulement ils utilisent les sucres et l'acide lactique via leur voie respiratoire normale mais ils hydrolysent et métabolisent également la cellulose et d'autres composantes des parois cellulaires de l'ensilage (McDonald *et al.*, 1991). Une présence de plus de 10^5 UFC moisissures/gramme d'ensilage est dangereux pour la santé animale car ces organismes peuvent être responsable de la production de mycotoxines comme l'aflatoxine, le patulis et la zearalenone, lesquels sont néfastes pour les animaux et aussi pour les humains (Farmer's lung, asthme) (Kroulik *et al.*, 1955; Woolford, 1990; McDonald *et al.*, 1991). Des moisissures de couleur grises-bleues de type *Aspergillus* peuvent aggraver les allergies ou les avortements chez les bovins. La présence de *Fusarium*, une moisissure rouge ou rose, peut produire de la vomitoxine, de la toxine T2 et d'autres toxines qui entraînent le refus de prise de nourriture, des vomissements et la production d'oestrogènes chez le bétail (Sullivan et McKinlay, 1998). La croissance des bactéries aérobiques résulte en une production d'acides et de bases volatiles et non-volatiles venant de la fermentation des carbonhydrates résiduels et de la déamination des acides aminés.

Des indicateurs physiques et visuels du dommage des protéines dans l'ensilage sont l'odeur caramélisée et la couleur brunâtre de l'ensilage (réaction de Maillard) causant la réduction de la digestibilité des protéines (McDonald *et al.*, 1991). Les produits de dégradation des hydrates de carbones et l'hémicellulose condensent avec les protéines et sont responsables de l'odeur et la couleur caractéristiques de cette réaction au niveau de l'ensilage.

2.7. Critères d'évaluation d'un ensilage de bonne qualité

La production d'un bon ensilage dépend largement de la conversion rapide des hydrates de carbones disponibles en acide lactique pour que dans les étapes ultérieures, les microorganismes anaérobiques obligatoires soient restreints par les réserves en hydrates de carbone et un pH non favorable à leur développement. Un ensilage de mauvaise qualité est donc caractérisé par un pH élevé, un contenu élevé en acide butyrique et en ammoniac, un contenu faible en acide lactique et acétique (Woolford, 1990). Un ensilage de bonne qualité possède un pH d'environ 4.2, un haut taux d'acides lactiques (1.5% à 2.5%) et un taux bas des autres acides comme l'acide butyrique (<0.1%). Une diminution rapide de pH en début de période de fermentation résultent en un recouvrement de plus de 90% de la matière sèche (McDonald *et al.*, 1991) et un contenu en azote total de 2.4% sur une base de matière sèche (Woolford et Wilkins, 1974) permettent le maintien d'une valeur de pH acide. Le terme qualité de l'ensilage est généralement utilisé pour indiquer le succès de la fermentation et non la valeur nutritive de l'ensilage. Il est également bon de préciser que la fermentation de l'ensilage est en quelque sorte un processus destructif (diminution des sucres); l'ensilage ne peut pas être de valeur nutritive supérieure au produit d'origine. Un ensilage normal, avec un contenu élevé en acide lactique et un pH bas est plus susceptible à la détérioration aérobie puisque les levures assimilent l'acide lactique et peuvent tolérer des conditions acides.

La faible teneur en matière sèche est associée avec une diminution ultérieure de la prise de nourriture par le bétail (McDonald *et al.*, 1991). Une diminution rapide du pH dans les trois premiers jours après le scellement du silo est un indicateur d'une bonne préservation de l'ensilage. Un pH supérieur à 4.8 est considéré comme un mauvais ensilage, un pH à 4.5 est un ensilage de moyenne qualité alors qu'un pH inférieur à 4.2 est un bon ensilage (Gouvernement de l'Alberta). Un pH d'environ 4.2 indique qu'une fermentation lactique prédomine dans l'ensilage. Un pH trop acide diminue l'ingestion de l'ensilage par le bétail puisqu'un niveau si élevé en acide organique devient un dépressif de l'appétit. Mais le pH n'est pas le seul indice d'une bonne qualité à la consommation de l'ensilage. Une teneur élevée en acides acétiques est un indice que des bactéries

anaérobiques strictes ou facultatives ont prédominé durant la fermentation de l'ensilage. Ceci est attribué à une entrée d'air dans la masse causée par une mauvaise étanchéité et/ou un contenu en matière sèche trop élevé. Une haute teneur en acide lactique et peu d'acide acétique signifient que des bactéries lactiques homofermentaires prédominaient; c'est en fait la fermentation recherchée. Un bon ensilage ne contiendra pas ou seulement une trace d'acide butyrique et d'acide propionique, le contraire nous indique que les processus de détérioration de l'ensilage sont présents. Donc, un ensilage plus ou moins bien conservé contient de grandes quantités d'acides butyriques, acétiques et propioniques provenant de la fermentation secondaire. Une concentration en acide lactique (% en fonction de la matière sèche ou % MS) de l'ordre de 8 à 12% (Rankin, 1996) est considéré comme un ensilage de bonne qualité qui a bien fermenté. Un contenu en acide lactique de 6% MS est un ensilage de qualité moyenne et une valeur inférieure à 5% d'acide lactique en fonction de la matière sèche correspondrait à un ensilage où les processus de fermentation n'ont pu être bien établis.

Une teneur élevée en ammoniacque indique qu'une fermentation par des organismes anaérobiques facultatifs tels que des coliformes ou par des anaérobiques stricts tels que les *Clostridium* a lieu et est une preuve de la rupture des acides aminés en produit plus soluble comme l'ammoniacque (Garcia, 1989). Une fermentation des acides aminés engendre une baisse de la valeur nutritionnelle de l'ensilage. Le niveau d'azote ammoniacal (% N total) est donc un bon indice du succès du déroulement de la fermentation. Une valeur inférieure à 10% de l'azote total à l'intérieur de l'ensilage est considéré comme un indice d'une bonne fermentation (Rankin, 1996). Une valeur de 10-15% est considéré comme moyen, 15-20% comme une fermentation médiocre et une valeur supérieure à 20% de l'azote total est associé à un processus de fermentation qui n'est pas très performant pour préserver l'ensilage. Voici un tableau récapitulatif des valeurs trouvées en littérature pour évaluer qu'un ensilage est de bonne ou mauvaise qualité.

Tableau 3. Valeurs récapitulatives de certains paramètres standards de la fermentation de l'ensilage

Valeurs standards			
Qualité de l'ensilage			
Paramètre	Bonne	Intermédiaire	Mauvaise
pH ¹	< 4.2	4.5	> 4.8
Matières sèche (% ms) ¹	30-40	< 35	< 28
Azote ammoniacal (% N tot) ²	<10	10-15	15-20
Acide lactique (% ms) ²	8-12	6.6	< 5
Moisissures ³	< 5	ND	ND
Levures ³ (log/g. ensilage)	< 5	ND	ND

¹ Gouvernement de l'Alberta

² Rankin, 1996

³ CPVQ, 1998

2.8. Problématique de la conservation de l'ensilage

L'exposition de l'ensilage à l'air contribue à une détérioration causée par la prolifération d'une microflore (levures, moisissures, bactéries aérobiques), laquelle reste dormante sous des conditions anaérobiques. Ces moisissures, levures et bactéries aérobiques peuvent assimiler du lactate, de l'acétate et des hydrates de carbones solubles sous ces conditions aérobiques, augmentant le pH et diminuant en même temps la valeur nutritive de l'ensilage. Cette détérioration, initiée par la fermentation secondaire des *Clostridium*, est caractérisée par l'oxydation de produits finaux de fermentation. Ces moisissures, levures et bactéries aérobiques catabolysent l'acide lactique et acétique résultant en une augmentation du pH et de la température attribuable à la respiration de ces moisissures, levures et bactéries aérobiques. La détérioration causée par la croissance

des moisissures, des levures et des bactéries aérobiques engendre une perte de nutriments, une prise restreinte de la nourriture ou du rejet de celle-ci par les bovins, et à l'apparition d'un désordre digestif chez les bovins. Dans les cas extrêmes, la présence de mycotoxines produit par les moisissures peut causer la mort des animaux (Henderson, 1979). Il semble donc qu'un ensilage de mauvaise qualité peut affecter les conditions physiologiques des vaches et causer une anomalie dans la composition de leur lait (Weimar, 1923). Il a été clairement démontré que la performance des vaches est particulièrement mauvaise suite à la prise d'ensilage provenant de silos non scellés (Hagenmaier et Baker, 1997). Les animaux peuvent consommer de l'ensilage moisi sauf si la concentration en spore est telle qu'elle peut causer une irritation des poumons. Les données disponibles nous indiquent qu'une aération peut facilement doubler les pertes dans la préservation de l'ensilage (McDonald *et al.*, 1991).

En milieu agricole, l'ensilage est conservé et préservé de l'air en silo vertical, en silo horizontal et en balle. La détérioration de l'ensilage résulte en une diminution de la valeur nutritive du fourrage à cause de la perte de matière sèche engendrée par la dégradation microbienne aérobique. Ces pertes peuvent être sous forme liquide (lixiviat), sous forme d'ensilage souillé par des microorganismes, donc non consommable par le bétail, ou bien sous forme gazeuse (CO_2 , NH_4 , CH_4) (Gordon *et al.*, 1961). Malheureusement, un scellage parfait n'existe pas sur le terrain et il est fréquent d'observer des pertes de matière sèche de l'ordre de 20 à 30% (Gordon *et al.*, 1961). En silo horizontal, les pertes de liquide semblent être moins importantes dues aux pressions verticales qui sont moindres que celles observées en silo vertical. La teneur en matière organique des écoulements en fait un substrat idéal pour les algues pouvant ainsi polluer les cours d'eau. Selon leur contenu en matière sèche, ces jus sont aussi polluants que le lisier (fumier liquide). La conservation de l'ensilage en silo horizontal est le système qui nous intéresse dans ce projet. Lors du remplissage des silos, nous avons vu précédemment qu'il est important de suivre les procédés qui minimisent le degré d'aération naturel aussi tôt que possible. Un rapide remplissage est un moyen de minimiser la durée de contact avec l'air lors du processus de remplissage. Plusieurs moyens sont recommandés pour atteindre une densité élevée et uniforme (Conseil des

Productions Anuelles du Québec, 1981; Gordon *et al.*, 1961): un fourrage immature, coupé finement et distribué de façon uniforme en sont des exemples. L'ensilage d'un silo rempli rapidement contient considérablement plus d'acides lactique lors du processus de fermentation et moins d'acide acétique, butyrique et propionique qu'un ensilage provenant d'un silo rempli lentement (Molina et Giannuzzi, 1999).

Pour prévenir le dépérissement des couches supérieures ayant la possibilité d'être exposées à l'air, nous avons vu que la pratique commune au niveau des silos horizontaux est d'utiliser du polyéthylène, communément appelé plastique, tenu en place par des pneus usés de voitures (Brusewitz *et al.*, 1991a). Ce système est souvent utilisé car le coût est bas et le matériel est facilement disponible. Les propriétés du plastique sont notamment l'inhibition des rayons ultra-violets, l'élasticité, la résistance au percement selon l'épaisseur et sa propriété adhésive. La plupart des fabricants recommandent au moins quatre couches de plastique, et même six couches pour un entreposage allant jusqu'à un an (Gouvernement de l'Ontario). L'utilisation de ce matériel est cependant d'une labour intensive et de plus, la disposition du polyéthylène non-biodégradable devient un problème environnemental car une fois souillé il ne peut être réutilisé car cela deviendrait une source d'inoculum de moisissures et souvent ce plastique est perforé à cause des manipulations. Le plastique attire les rongeurs, et pratiquement n'importe quel animal est capable de percer des trous dans le plastique. Le lieu d'entreposage de l'ensilage doit autant que possible être exempt de végétation pour empêcher les rongeurs d'y trouver refuge.

2.9. La disposition des plastiques non biodégradables

Dû à leur incapacité d'être réutilisé, les plastiques recouvrant l'ensilage peuvent être soit incinérés ou enfouis. L'incinération est un processus non rentable économiquement à long terme. D'un autre côté, l'enfouissement ne peut être considéré comme une alternative viable et logique puisque 18% des sites d'enfouissement sont déjà occupés par le plastique (Parent, 1998). L'enfouissement des matières plastiques est un

débat important dans nos sociétés industrialisées. Dans quelques années, la consommation mondiale en plastique devrait atteindre 100 millions de tonnes par année. L'organisme gouvernemental (Recyc-Québec) s'occupant du recyclage au Québec ne dispose d'aucune méthode de recyclage des films de plastique d'ensilage. Ces films sont jugés trop contaminés par des particules de sol, de matières organiques et de moisissures. Sur 100 kg de paillis usagés, 70% sont des impuretés (Parent, 1998). Il est possible de nettoyer ces plastiques souillés mais cela demanderait de doter le site de recyclage d'une installations de nettoyage, entraînant d'importants coûts et un traitement des eaux usées qui ont servies au lavage. De plus, les polymères recyclés n'ont pas la qualité des polymères vierges dû à la diminution de la longueur des chaînes de polymères (Parent, 1998). Selon Parent (1998), il est nécessaire d'ajouter au moins 85% de plastique vierge à celui recyclé pour obtenir un produit de qualité. La diminution du niveau de plastique n'est donc pas assez substantielle. L'importance de maintenir un environnement sain oblige les industries à se tourner vers de nouvelles alternatives qui soient moins dommageables pour l'environnement que le plastique.

2.10. Les biopolymères: une alternative au plastique

Selon NRAES (1997), les silos horizontaux sont de plus en plus la norme pour la conservation de l'ensilage en grande quantité. En effet, ceux-ci ont l'avantage d'une reprise plus rapide de l'ensilage, d'une plus grande sécurité pour les utilisateurs et d'une économie appréciable dans le coût de construction et d'entretien. Toutefois, ce type de silos demande une grande utilisation de plastique. Il est donc important de mettre au point d'autres solutions aux polyéthylènes pour la conservation du fourrage. Une alternative au polyéthylène serait l'application d'une solution d'enrobage biodégradable (biopolymère), résistante à l'eau, offrant les mêmes caractéristiques de barrière aux transferts d'oxygène et d'humidité que le polyéthylène. Un biopolymère est défini comme un polymère dégradé (Proterra, International Center for Agro-Basal Materials) résultant de l'action naturelle des microorganismes comme les bactéries, les champignons et les algues. Ces biopolymères doivent provenir de matériel brut naturel comme l'amidon, le sucre et la

cellulose. Les propriétés d'un biopolymère dépendent du matériel brut, des additifs utilisés et des modifications chimiques durant la production. Quelques-unes des nombreuses propriétés des biopolymères reposent en outre sur la résistance à l'humidité ou à l'eau, l'opacité et la résistance aux températures élevées. Ces propriétés déterminent le type d'applications possibles des biopolymères.

En théorie, les plastiques conventionnels peuvent être substitués par des biopolymères dans plusieurs applications. En pratique, la substitution n'est pas toujours faisable selon l'investissement demandé pour le matériel et le développement du produit. Le prix des biopolymères s'avère souvent plus élevé que ceux des plastiques conventionnels. En 1996, la demande totale pour des polymères biodégradables aux États-Unis, en Europe et au Japon approchait les 14 000 tonnes, une valeur de plus de 70\$ million. Selon Proterra, International Center for Agro-Basal Materials, la consommation des polymères biodégradables dans ces pays augmentera à environ 70 000 tonnes en 2001 représentant une augmentation annuelle moyenne de 35% en 5 ans. La croissance de ce marché est le fruit de la politique menée par les pouvoirs publics et par les associations de consommateurs et les mouvements pour la protection de l'environnement. Face à cette situation, certaines entreprises et chercheurs à travers le monde se sont empressées de mettre au point de nouvelles technologies impliquant les polymères biodégradables. L'usage de polymères de longue durée de vie pour une application de courte durée n'est nullement justifié en raison notamment du souci sans cesse croissant de préserver nos écosystèmes.

Divers biofilms à base de protéines de lait ont d'ailleurs été développés pour la protection des aliments (Brault *et al.*, 1997; Lacroix *et al.*, 1998; Mezgheni *et al.*, 1998a; Ressouany *et al.*, 1998; Mezgheni *et al.*, 1998b; Ressouany *et al.*, 2000; Le Tien *et al.*, 2000). Ces films se sont révélés peu solubles dans l'eau et relativement résistants aux attaques bactériennes. D'autres substrats (lipides, polysaccharides, polyols) peuvent être ajoutés pour former des biopolymères aux propriétés physico-chimiques modifiées afin d'accroître leur résistance à l'attaque bactérienne. Au niveau des recouvrements d'ensilage par des biofilms, une formulation, le Nutri-Shield, a déjà été évaluée dans le

passé (Brusewitz *et al.*, 1991a). Cette étude ne s'est pas avérée concluante puisque le produit, étant liquide, avait tendance à s'infiltrer à l'intérieur de la masse de fourrage plutôt que de rester en surface. Le biofilm Nutri-Shield était inefficace dans l'établissement d'un processus de fermentation qu'est l'ensilage. Ce biofilm ne pouvait pas remplacer le plastique dans la conservation du fourrage.

La principale contrainte de l'utilisation des bioenrobages dans le recouvrement d'ensilage est d'ordre économique. Les films de polyéthylène de basse densité utilisés sur les ensilages ont comme caractéristiques des épaisseurs de 150 μm , une masse volumique de 0.92 g/cc et un coût d'environ de 3.00 \$/kg soit environ 0.40 à 0.50 \$/m². Le coût d'installation et de disposition du produit est au moins équivalent au coût du produit, ce qui fait une charge totale d'environ 1.00 \$/m² (Pelletier, 2000). Pour être économique, un bioenrobage biodégradable destiné au domaine agricole doit avoir un coût se situant entre 1 et 5 \$/m², offrant à la fois une solution favorable à l'environnement et à l'économie de conservation des fourrages. En contrepartie, les pertes d'ensilage dans les silos non-couverts sont estimées à 55% dans les premiers 50 cm de profondeur contre 5% dans les silos couverts d'un film (Brusewitz *et al.*, 1991a). Au-delà de 50 cm de profondeur, il n'y a pas de différence au niveau des pertes. Considérant une densité de 200 kg de matière sèche/m³ et une valeur du fourrage à 100 \$/tonnes de matière sèche, les pertes représentent 5 \$/m² (Pelletier, 2000). Plusieurs producteurs préfèrent ne pas mettre de film de plastique pour éviter les problèmes de pose et de disposition. Cette solution peut amener à l'occasion un autre problème lié à la santé des animaux, à cause de la possibilité d'apparition de toxines dans les ensilages exposés à l'air.

2.11. Les polymères

Il existe trois grandes classes de polymères: les polymères naturels, synthétiques et d'origine bactérienne (Gontard, 1994). Parmi les polymères naturels certains viennent de rejets industriels agricoles et bioalimentaires (ex.: amidon, lactosérum). Ces polymères sont peu dispendieux et biodégradables. Les polymères synthétiques peuvent provenir de

la pétrochimie (ex.: polyéthylènes, polystyrènes). Le polycaprolactone, une résine de polyester thermoplastique, est un bon exemple de polymère synthétique biodégradable. Les matières plastiques traditionnelles basées sur les produits pétrochimiques ne peuvent être facilement détruites par la nature en raison de leur caractère hydrophobe et de leur masse moléculaire élevée. La dernière catégorie de polymère est d'origine bactérienne. Ils sont à base de polyesters synthétisés par des microorganismes (polyhydroxybutyrate, polyhydroxyvalérate) lors de processus de fermentation de substrats agricoles. Ces composés, par contre, demandent des coûts d'extraction et de purification élevés résultant en un produit de deux à quatre fois plus dispendieux que les polymères traditionnels (Demicheli, Institut for Prospective Technological Studies).

2.12. Les polymères naturels

2.12.1. Les protéines

Il existe un lien étroit entre la perméabilité à l'oxygène et à la vapeur d'eau d'un enrobage et le degré d'humidité dans l'ensilage. Le mécanisme dominant par lequel les moisissures pénètrent dans l'ensilage se fait via la diffusion de vapeur d'eau causée par un gradient de pression de vapeur (ou gradient de concentration) existant entre l'ensilage et son environnement et/ou entre les composés internes de l'ensilage. Des enrobages à base de protéines hydrophiles (caséinate de calcium, soya, WPC, WPI) s'avèrent de faibles barrières contre l'humidité à cause de leur interaction avec l'eau (Gennadios *et al.*, 1996; Ghorpade *et al.*, 1995). Par contre, des enrobages composés de protéines hydrophobes (gluten, zéine) sont d'excellentes barrières contre l'humidité et l'oxygène (Cherian *et al.*, 1995) car elles contiennent beaucoup d'acides aminés non-polaires (Langston et Bouma, 1960).

2.12.1.1. Les protéines laitières

Les protéines du lait sont une excellente valeur nutritive et possèdent plusieurs propriétés importantes pour la formation de biofilm. Le lait contient environ 3.3% de protéines dont 80% sont des caséines. Ce sont des phosphoprotéines à caractère amphiphile qui s'associent fortement aux ions Ca^{2-} et Zn^{2+} (Schmidt et Morris, 1984) et qui précipitent à pH 4.6 à 20 °C. Quatre fractions composent les caséines : $\alpha\text{S1-}$, αS2 , β - et κ - caséine. Le mécanisme primaire dans la formation de films à base de caséine semble être les ponts hydrogènes et les interactions électrostatiques (McHugh et Krochta, 1994a). Les caséines ont la propriété de former des micelles composés de submicelles liées par des forces de surface dans laquelle la distribution de la caséine est inégale. Les principales forces d'interactions entre les micelles de caséine sont les forces électrostatiques et les interactions hydrophobes. D'autres forces peuvent également agir, tels les ponts hydrogènes, les interactions stériques ou spécifiques entre les groupes de protéines le long des chaînes macromoléculaires.

Les caséinates commerciales sont obtenues par une précipitation du lait à un pH de 4.6 à une température de 20°C (McHugh et Krochta, 1994a). Les caséinates ont une meilleure solubilité que les caséines natives, une facilité de faire des ponts hydrogènes ou électrostatiques, ce qui les rend intéressantes comme substrat pour la fabrication de biofilm. Ces protéines sont accessibles et à prix compétitif. Les films de caséine ne présentent pas une barrière efficace à l'humidité à cause de leur caractère hydrophile mais cette propriété peut être améliorée par une réticulation des caséinates en présence de calcium et en ajustant le pH du milieu au point isoélectrique des protéines. Cet ajustement du pH au point isoélectrique optimise les interactions entre les protéines, modifiant la configuration moléculaire et influençant les propriétés de transfert de masse (Avena-Bustillos et Krochta, 1993).

Les protéines du lactosérum représente 20% des protéines totales du lait. Selon les méthodes de purification utilisées, deux formes de protéines du lactosérum sont obtenues: concentrées et isolées. Le lactosérum est constitué de cinq unités protéiques: l' α -

lactalbumine, la β -lactoglobuline, l'albumine de sérum bovin (BSA), des immunoglobulines et des protéoses peptones. Ces protéines sont caractérisées par leur solubilité à un pH de 4.6 (Brunner, 1977). La β -lactoglobuline est la fraction protéique majeure du lactosérum (60% des protéines). La température de dénaturation de cette protéine est environ 65°C entraînant l'exposition de groupements hautement réactifs : thiol et ϵ -amine (Brunner, 1977). Chacun des monomères de la β -lactoglobuline contient un groupement sulfhydryle libre et deux groupements disulfides. L' α -lactalbumine représente 25% des protéines du lactosérum. Elle contient tant qu'à elle, quatre ponts disulfures. Elle peut également lier le calcium et ainsi mieux se stabiliser. Pour le sérum albumine bovine, on retrouve 14 ponts disulfures. Le lactosérum produit des films transparents, comestibles, flexibles et insolubles dans l'eau. Un chauffage entre 75 et 100°C permet la formation de ponts disulfures intermoléculaires requis pour la formation de films (McHugh et Krochta, 1994a). Ces derniers sont moins perméables à l'eau due à la présence de ponts disulfures covalents mais sont cassants d'où la nécessité d'ajouter un agent plastifiant.

2.12.1.2. Les protéines de soja

Les protéines de soja sont un mélange complexe de quatre sous unités: 2 S, 7 S, 11 S et 15 S de poids moléculaires élevés (300 000 à 600 000). Ces protéines sont aisément obtenues par un traitement thermique (Hettiarachchy et Kalapathy, 1998). Les protéines de soja ont une structure quaternaire pouvant être dispersée par le chauffage dénaturant la structure secondaire et tertiaire ainsi que les ponts disulfures des molécules (Kinsella et Whitehead, 1989). Les films de protéines de soja sont moins adhésifs et cohésifs. Les protéines de soja forment aisément un hydrogel. La gélification est un phénomène induit thermiquement par la préparation d'une solution contenant une concentration d'au moins 7% de protéines à des températures d'au moins 100°C (Schmidt et Morris, 1984).

2.12.1.3. Les protéines de maïs

Le maïs contient 7 à 11% de protéines dont la fraction principale est la zéine. Les protéines de zéine sont divisées en trois classes: α , β et γ (Esen, 1987). Les protéines de zéine possèdent la propriété d'être insoluble en présence d'eau dû à sa haute teneur élevée en acides aminés non polaires (Shewry et Miflin, 1985; Gennedios et Weller, 1990; Augustine et Baianu, 1987) tels que la leucine, l'alanine, la proline, la phenylalanine, la valine et l'isoleucine. En général, un solvant pour la zéine est un mélange d'eau avec un composé organique comme l'alcool, l'acétone et l'acétonyl acétone ou bien un mélange de deux composés organiques anhydres.

2.12.1.4. Les protéines de blé

Le blé contient de 8 à 15% de protéines (Kasarda *et al.*, 1976). On distingue deux types de protéines: les gliadines qui ont un faible poids moléculaire (20 000-40 000) et les gluténines qui ont un poids moléculaire un peu plus élevé (50 000-1 000 000) (Gennadios et Weller, 1990). La gliadine fournit la cohésivité et la viscosité alors que la gluténine est responsable de l'élasticité de la pâte à pain. Ces caractères du gluten sont dus principalement à la présence de ponts disulfides (Gennadios et Weller, 1990). La solubilité du gluten est inhabituelle. Il est peu soluble dans l'eau et les tampons aqueux. Il ne se dissout que dans les solvants organiques, les solutions acides ou alcalines, ou par l'addition de détergents, d'agents dénaturant ou de composés qui hydrolysent les ponts disulfure (Bushuk, 1997). Le gluten de blé présente des propriétés filmogènes intéressantes. Okamoto (1978) a élaboré des films à base de gliadine et de gluténine. Les films de gliadine s'avéraient plus extensibles et adhésifs que ceux à base de gluténine, qui étaient friables et cassants. L'ajout de protéines de gluten dans une solution d'enrobage pourrait lui conférer des propriétés adhésives (Bushuk, 1997).

2.12.2. Les polysaccharides

Ils sont très utilisés dans l'industrie agro-alimentaire en raison de leur pouvoir épaississant, compactant, durcissant et stabilisant, ainsi que leur capacité à former des gels. Divers polysaccharides ont déjà été testé pour leur potentiel à former des films ou enrobages comestibles (Kester et Fennema, 1986). L'alginate, la pectine, l'amidon, la cellulose et le chitosan en sont des exemples. Leur nature hydrophile confère à ces polymères une faible barrière à l'humidité. Cependant, certains polysaccharides sous la forme de gel retardent la perte d'humidité de certains aliments comme la viande (Kester et Fennema, 1986). Le principal inconvénient des polymères à base de polysaccharides consiste en une faible barrière aux microorganismes (Kester et Fennema, 1986; Peyron, 1991; Torres et Karel, 1985).

2.12.2.1. La cellulose et ses dérivés

La cellulose est un polysaccharide composé de chaînes linéaires de β -D-glucopyranosyl contenant environ 3000 unités monomères et présentant une masse molaire de près de 500 000. L'état natif est insoluble dans l'eau à cause du taux élevé de liaisons hydrogènes intramoléculaires dans le polymère de cellulose. Le fait que tant de liaisons hydrogènes puissent se former rend compte de la structure extrêmement rigide de la cellulose. On distingue la cellulose non ionique telle que le méthyle cellulose (MC), l'hydroxy-propyl-méthyle cellulose (HPMC) et l'hydroxy-propyl-cellulose (HPC). Ces composés donnent de bons films flexibles et transparents (Krumel et Lindsay, 1976) mais sont toutefois solubles dans l'eau. L'insolubilité des films à base de MC et de HPMC dans l'eau peut être obtenue par des liaisons intermoléculaires avec la résine formaldéhyde mélanine. Il est possible d'incorporer de la zéine ou l'éthyle cellulose dans des films à base de HPC afin de résoudre le problème de solubilité. Ces films ont été utilisés pour créer une barrière d'absorption des huiles et retardent la perte d'humidité (Dziezak, 1991).

2.12.2.2. L'amidon et ses dérivés

Au contraire de la cellulose, l'amidon est un polyglucose de haut poids moléculaire dont les connexions sont dues à des liaisons acétaliques α . Les principales sources d'amidon sont le maïs, la pomme de terre, le blé et le riz. On distingue deux polymères dans les granules d'amidon: l'amylose (20%) et l'amylopectine (80%). L'amylose contient de 100 à 1000 unités de glucose par molécule dont la masse molaire varie entre 150 000 et 600 000 (Kester et Fennema, 1986). Il présente une structure différente de celle de la cellulose, bien que, ces polymères soient tous deux non ramifiés. La différence est située au niveau des carbones anomériques. Un carbone anomère est le carbone le plus oxydé d'un monosaccharide cyclique, c'est-à-dire le carbone carbonyle d'un aldéhyde ou d'une cétone, carbone qui partage un groupe de quatre électrons avec l'oxygène. Ces carbones anomériques poussent la molécule d'amylose à adopter, de préférence, un arrangement polymérique hélicoïdal. Les films à base d'amylose sont isotropiques, inodores, incolores et non toxiques. Ils offrent des similitudes avec les films en plastique quant à leurs caractéristiques physiques, leurs résistances chimiques ainsi que leurs propriétés mécaniques (Wolff *et al.*, 1951). Cependant, le potentiel d'utilisation de l'amylose pour la préparation des films dépend du développement de méthodes de fractionnement de l'amidon et de la découverte de variétés de plantes avec un taux élevé d'amylose. La présence d'amidon contribue à faciliter l'attaque microbienne via les systèmes enzymatiques. L'amylopectine est une variété ramifiée d'amylose. Outre ses liaisons α -(1→4), l'amylopectine contient des points de branchements mettant en jeu des liaisons α -(1→6). Ces ramifications se trouvent à tous les 25 résidus et les branches, ou les chaînes latérales, contiennent quelques 15 à 25 résidus de glucose. L'amylopectine contient de 300 à 6000 unités de glucose par molécule dont la masse molaire varie entre 450 000 et 36 000 000 (Kester et Fennema, 1986).

2.12.2.3. L'alginate

Ce polysaccharide, produit par les algues de la classe *Phaeophyceae*, est composé d'une séquence d'acides β -D-mannuronique et d'une séquence d'acides α -L-galuronique. L'alginate est extrait des *Laminaires* par une solution de carbonate de sodium en formant un sel soluble et précipitable par l'alcool. Les masses moléculaires indiquées pour ce gel soluble sont situées entre 50 000 et 400 000. Il possède des groupements carboxyliques capables de former des liaisons ioniques avec un cation bivalent, et peut ainsi former un gel compact. L'agent chélateur de l'alginate peut donc être le calcium, l'aluminium, le fer, le cuivre et le zinc. L'addition de ces agents permet d'obtenir des biofilms insolubles ayant de meilleures propriétés mécaniques, en particulier ceux traités avec une solution d'ions calcium (Kester et Fennema, 1986).

2.12.2.4. La pectine

La pectine est un polysaccharide dont l'unité répétitive est l'acide D-galacturonique lié entre eux par des liens α (1 \rightarrow 4). Elle se trouve principalement dans les membranes cellulaires et les matières intercellulaires des plantes. La pectine est constitué principalement de polymère d'acide D-galacturonique avec différents degrés d'estérification des groupements méthyles. La désestérification de la pectine permet d'obtenir une faible teneur en groupement méthoxyl et la formation de gels stables et rigides par l'addition de Ca^{2+} . Cette propriété est très intéressante au point de vue de la fabrication de biofilms. Malgré leur sensibilité à l'humidité, les films à base de pectine jouent un rôle important dans l'empêchement de la perte d'eau des aliments et la migration des matières grasses comestibles (Krochta et DeMulder-Johnston, 1997).

2.12.2.5. Le chitosane

Le chitosane est un polysaccharide d'origine animale qui dérive de la chitine, le poly- β -(1-4)-N-acétyl-D-glucosamine. Avec le carbonate de calcium, la chitine forme les matériaux des carapaces de certains crustacés comme les homards et les crabes. La désacétylation partielle de la chitine dans la soude à chaude (40 %) permet l'obtention du chitosane. L'utilisation du chitosane dans la conception de biofilms a été décrite par plusieurs auteurs (Conca et Yang, 1993; Park *et al.* 1993; Donhowe et Fennema, 1994; Chen, 1995). Les films à base de chitosane sont généralement préparés dans des solutions acides comme l'acide acétique, l'acide lactique, l'acide propionique, etc. Ils sont généralement transparents, rigides et présentent particulièrement une excellente barrière aux gaz (O_2 et CO_2). Les films de chitosane ont une excellente barrière contre l'oxygène (Caner *et al.*, 1998) mais son utilisation est limitée puisque les films à bases de chitosane sont très perméables aux moisissures.

2.12.3. Les lipides

Les produits alimentaires sont souvent enrobés avec des films à base de lipides afin de prolonger leur durée de conservation et d'améliorer l'apparence des aliments. L'ajout de lipides lors de la fabrication d'emballages améliore la flexibilité et l'imperméabilisation à l'eau. L'utilisation des lipides réduit la surface d'abrasion durant les manipulations. Ils agissent ainsi comme fongicides, antioxydants et antimicrobiens. L'enrobage avec des composés polaires tend à réduire la perméabilité à l'oxygène (Hagenmaier et Shaw, 1991). Une grande diversité de lipides a été utilisée pour la confection des films comprenant des cires naturelles, des monoglycérides et des polyglycérides. Le type de lipides est donc également important puisqu'il diminue la perméabilité aux vapeurs d'eau des enrobages. Dû à leur propriété hydrophobe, les lipides confèrent une barrière à l'humidité (Cherian, 1995). Par contre, ces lipides doivent contenir une teneur en acides gras saturés pas trop élevée car sinon, l'enrobage final sera plus cassant (Harrigan et McCance, 1966). Les cires peuvent avoir une certaine activité

antimicrobienne car les solvants (éthanol ou isopropanol) utilisés pour dissoudre les cires afin de les incorporer aux solutions d'enrobage vont avoir ces effets antimicrobiens avant leur évaporation durant la période de séchage des enrobages (Park *et al.*, 1993). La cire d'abeille possède de bonnes propriétés pour diminuer la perméabilité aux vapeurs d'eau (Avena-Bustillos et Krochta, 1993; Krochta et DeMulder-Johnston, 1997; Redl *et al.*, 1996). La cire candellila possède une perméabilité à l'oxygène six fois moindre que la cire d'abeille dû à son plus faible contenu en hydrocarbures non-saturés. Ces hydrocarbures facilitent la diffusion de l'oxygène à travers les enrobages (Donhowe et Fennema, 1993). Le prix de revient de la cire candellila est par contre un peu plus élevé que la cire d'abeille.

2.12.4. Les plastifiants

Le choix du plastifiant dans la solution d'enrobage est un facteur primordial pour un enrobage flexible. Le sorbitol s'avère très bon pour diminuer la perméabilité à l'oxygène et au vapeur d'eau (McHugh et Krochta, 1994b). Le glycérol est une molécule hydrophile relativement petite qui s'insère facilement entre les chaînes protéiques et entraînent la rupture des liaisons hydrogènes présentes entre les chaînes de protéines avoisinantes diminuant ainsi la cohésion interactive et augmentant l'espace moléculaire. Sous un stress quelconque, les mouvements des chaînes protéiques sont facilités avec un plastifiant tel que le glycérol. Le sorbitol par contre est une molécule plus grosse qui ne peut pas se loger aussi bien entre les chaînes protéiques. (Cuq *et al.*, 1997; Santosa *et al.*, 1999). La concentration de glycérol ne peut être augmentée indéfiniment puisqu'à un certain niveau, la perméabilité aux vapeurs d'eau augmente également (Pomerang et McLoan, 1978).

2.13. Les processus de réticulation

Les processus de réticulation visent à l'optimisation des interactions entre les différentes composantes d'un film et mènent à la formation d'un film plus résistant, plus adhérent et souvent insoluble dans l'eau. Les enrobages ayant subi des liens intermoléculaires au niveau des protéines (via les acides tanniques (Salawu *et al.*, 1999), CaCl_2) réduisent les segments mobiles des protéines donc la solubilité de ces protéines dans l'eau, réduisant la perméabilité aux vapeurs d'eau et d'oxygène à travers la matrice protéique. Les traitements de réticulation peuvent être de nature chimique, enzymatique ou physique.

2.13.1. La réticulation chimique

Parmi les produits chimiques pouvant être utilisés, on retrouve le triallylcyanurate (TCA), le triméthylpropanetriméthacrylate (TRIM), l'éthylène glycoldiméthacrylate (EDMA), le 1,4-butanadiol-diméthacrylate (BDMA), le triméthylolpropanetriacrylate (TMPTA) et les aldéhydes (glutaraldéhyde, formaldéhyde, glycéraldéhyde) (Gennadios *et al.*, 1993). Ces agents peuvent être classés dans deux catégories, soient ceux qui ont une saturation terminale et ceux qui ont un groupe terminal actif. Le glutaraldéhyde est un aldéhyde homobifonctionnel qui, à un pH neutre ou faiblement alcalin, forme des polymères d'aldéhydes insaturés. C'est au niveau de ces sites que les groupements aminés des protéines vont attaquer pour former une base de Schiff, et ainsi conduire à la réticulation (Guilbert et Gontard, 1995) mais le produit formé est irréversible.

Les acides phénoliques sont pourvus de cette capacité de créer des liens entre les protéines (Gennadios *et al.*, 1996; Keller, 1994). Les liens entre les tannins et les protéines sont principalement de multiples liens hydrogènes entre les groupes hydroxyles des tannins et les groupes carboxyles des peptides des protéines ainsi que des interactions hydrophobiques (Oh et Hoff, 1987). Tandis que l'ajout de CaCl_2 fait des liens

électrostatiques entre les protéines (Avena-Bustillos *et al*, 1993) augmentant les interactions entre protéines et diminuant donc leur perméabilité à la vapeur d'eau.

2.13.2. La réticulation enzymatique

La réticulation enzymatique consiste à utiliser une enzyme pour catalyser des liens covalents entre les protéines. La création de ces liens par les enzymes permettent d'améliorer les fonctionnalités physiques des protéines comme la gélation, la viscosité ou l'émulsification. Parmi les enzymes utilisées, on peut citer la transglutaminase, la lipoxigénase, le lysyl-oxidase, le polyphenol-oxidase et la peroxydase (Stuchell et Krochta, 1994). La transglutaminase catalyse la formation d'un lien entre un groupement gamma-carboxyamide de l'acide glutamique et un groupement d'amine primaire de la lysine (Folk, 1980). La lipoxigénase agit sur les acides gras insaturés produisant des radicaux libres de peroxides d'acides gras. Cette réaction se fait en présence d'oxygène. Les radicaux libre de peroxides accaparent un atome d'hydrogène d'une autre molécule d'acide gras insaturé pour produire de l'hydroperoxide. Ces hydroperoxides seront décomposés en acides, cétones et en aldéhydes (malondialdéhyde). Plusieurs acides aminés sont affectés par l'exposition d'hydroperoxides lipidiques tels que l'histidine, la méthionine, la tyrosine et le tryptophane. Les interactions entre les lipides peroxidés et les protéines sont complexes : complexe non covalent, liens entre protéines, liens entre protéines et lipides, et liens entre protéines via la formation d'une base de Schiff impliquant par exemple le malondialdéhyde. Le mécanisme suggéré de l'action des lipoxigénases serait que les composés résultant de l'oxidation des lipides subtilisent un atome d'hydrogène des résidus de cystéine des protéines et des radicaux thiols des protéines formant un lien intermoléculaire disulfide. Le malondialdéhyde, composé de dégradation des hydroperoxides, peut également former des liens intra et inter moléculaires entre les groupes aminés des protéines dû à sa bifonctionnalité (Matheis et Whitaker, 1987). La lysyl oxidase quant à elle, permet la déamination oxidative des résidus lysine et δ -hydroxylysine du collagène et de l'élastine en résidus d'acide α -amino adipique δ -semialdéhyde (allysine) et en résidus d'acide δ -hydroxy α -amino adipique δ -

semialdéhyde (hydroxyallysine) respectivement. Ces aldéhydes réagissent spontanément avec d'autres résidus d'aldéhydes ou avec des résidus lysines, δ -hydroxylysine et histidines pour former des liaisons intra et inter moléculaires (Matheis et Whitaker, 1987). Les enzymes polyphenol-oxidases forment des liens entre les protéines via addition de groupes SH et NH₂ aux benzoquinones formés par les enzymes. Les peroxydases permet la formation de liens di et trityrosine au niveau des protéines moléculaires (Matheis et Whitaker, 1987). Le coût élevé des enzymes s'avère souvent un facteur limitant de leur utilisation.

2.13.3. La réticulation physique

Les traitements physiques améliorent les propriétés des films mais peuvent également augmenter la force cohésive des protéines par la formation de ponts de réticulation. Parmi ce genre de réticulation, on dénote le traitement par la chaleur et par l'irradiation. Le chauffage modifie la structure des protéines, favorisant la formation de liaisons intra et intermoléculaires via les ponts disulfures. C'est donc un phénomène d'oxydation des groupements sulfhydryl (groupement thiol des résidus cystéines). L'irradiation en absence d'oxygène favorise la formation de liens bityrosine (Brault *et al.*, 1997, Ressouany *et al.*, 1998, Mezgheni *et al.*, 1998a). L'irradiation permet d'insolubiliser les films. Selon Vachon *et al.* (2000), 85% de la matière sèche est récupéré après immersion de films irradiés dans l'eau pendant 30 minutes à 100°C et 24h à 24°C. Le Tien *et al.* (2000), a permis de récupérer 100% de la matière sèche après chauffage et irradiation des protéines de lactosérum et piégeage dans une matrice cellulosique. L'irradiation permet aussi la formation de liens covalents plus résistants alors que les méthodes conventionnelles vont favoriser la formation de liens hydrophobes, électrostatiques et hydrogènes (McHugh et Krochta, 1994a). L'irradiation permet d'obtenir de nouveaux produits possédant de bonnes propriétés tout en étant un procédé simple et relativement peu coûteux. Le Tien *et al.* (2000) ont démontré que des protéines de lactosérum, réticulées par γ -irradiation combiné à la chaleur et piégées dans une matrice cellulosique, généraient des biofilms insolubles avec de remarquables

propriétés mécaniques et une augmentation de la résistance à l'attaque d'enzymes protéolytiques. Lacroix *et al.* (1998) et Le Tien *et al.* (2000) ont démontré que les protéines irradiées subissent des modifications structurales adoptant des conformations plus ordonnées et plus stables, et entraînant une augmentation de la masse moléculaire.

La réticulation d'une solution protéique en utilisant l'irradiation au Cobalt⁶⁰ est possible. Cette source de rayonnement ionisante gamma est la plus utilisée au Canada. Le Co⁶⁰ est un isotope radioactif obtenu par bombardement du Co⁵⁹ stable par des neutrons dans un réacteur nucléaire. La réticulation d'une solution protéique par le Co⁶⁰ sous une atmosphère inerte produit majoritairement plus de radicaux $\cdot\text{OH}$ grâce à l'interaction de l'électron solvaté. L'irradiation en présence d'oxygène (O_2) produit des ions radicalaires superoxydes ($\cdot\text{O}_2$), soit par l'interaction directe de e_{aq}^- avec une molécule d'oxygène, soit par l'interaction indirecte d'un radical ($\cdot\text{H}$) et d'une molécule O_2 . À pH neutre, le radical hydrodioxyle ($\cdot\text{HO}_2$) est rapidement déprotoné (pKa 4.8) pour former encore plus de radicaux superoxydes (Ferradini et Pucheaut, 1983). L'irradiation sous atmosphère inerte produit environ 8 % de radicaux hydrogènes ($\cdot\text{H}$). Or, l'irradiation d'une solution d'albumine sérique bovine (BSA) sous une atmosphère inerte et en présence d'absorbant radicalaire (par exemple: alcool t-butylique, mannitol, acide urique) a démontré que le radical ($\cdot\text{H}$) n'est pas impliqué dans la formation de liaisons covalentes ou dans le processus de réticulation (Davies *et al.*, 1987).

Dans une solution aqueuse et en absence d'oxygène, les acides aminés simples subissent les réactions radiolytiques suivantes (exemples: abstraction de l'hydrogène, déamination réductive et décarboxylation). L'oxygène bloque la déamination réductive en déplaçant l'électron et le radical $\cdot\text{H}$. Les acides aminés aromatiques et sulfuriques réagissent plus rapidement avec les radicaux libres que les acides aminés aliphatiques (Stockhausen *et al.*, 1977). En particulier, les radicaux $\cdot\text{OH}$ réagissent avec les résidus aromatiques.

Certains acides aminés tels que la cystéine, l'histidine, le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine, sont plus susceptibles que d'autres à interagir avec les radicaux $\cdot\text{OH}$. L'exposition de protéines aux radicaux $\cdot\text{OH}$ sous atmosphère inerte produit, à la fois la formation de nouvelles liaisons entre deux résidus de tyrosines, et une perte significative ($p \leq 0.05$) des résidus de tryptophane (Davies *et al.* 1987). Le radical tyrosyl est formé par l'abstraction d'un atome d'hydrogène sur la fonction hydroxyle du résidu tyrosine par le radical $\cdot\text{OH}$. Le radical tyrosyl ainsi formé peut réagir avec un autre radical tyrosyl ou avec une molécule de tyrosine, pour former un composé biphénolique stable principalement sous la forme 2.2'-biphénol due à l'effet ortho-orienteur impliqué (Prütz, *et al.*, 1983).

La formation de bityrosine est davantage une liaison intermoléculaire qu'intramoléculaire. Elle représente un facteur important dans le processus de réticulation des protéines traitées aux radicaux $\cdot\text{OH}$ (Davies, 1987). Près de 90% de la réticulation protéique induite par le radical $\cdot\text{OH}$ est attribuable à la formation de nouvelles liaisons covalentes intermoléculaires autres que les ponts disulfures. Les 10% restants, représentent l'agrégation générée par les interactions non covalentes et les ponts disulfures (Davies, 1987). Le radical $\cdot\text{OH}$ est le principal agent responsable de la destruction du tryptophane (Davies *et al.*, 1987).

2.14. Hypothèse de recherche

Nous posons comme hypothèse qu'il est possible de réticuler une solution d'enrobage à base de protéines et de mettre au point des formulations permettant 1) l'instauration de conditions anaérobiques nécessaires à la conservation de l'ensilage, 2) la production d'un enrobage résistant à toutes conditions climatiques.

2.15. Objectifs de recherche

Ce projet de maîtrise a donc comme objectif principal de conserver la valeur nutritive d'un ensilage destiné au bétail grâce à l'application d'un enrobage biodégradable, résistant aux intempéries et aux conditions climatiques du Québec et permettant le maintien des conditions acides et anaérobiques au niveau de l'ensilage, afin d'éliminer ou de retarder la croissance des microorganismes détériorateurs de l'ensilage. De plus, la relation entre les coûts (conception de l'enrobage, quantité et temps d'application) et l'efficacité (succès de la conservation) a été prise en considération dans ce projet.

2.16. Objectifs spécifiques

Ce projet de maîtrise a aussi comme objectifs particuliers de:

- 1) Mettre au point un enrobage permettant de favoriser les conditions anaérobiques au sein de l'ensilage.
- 2) Mettre au point un processus de réticulation permettant de réduire la perméabilité et améliorer la résistance des enrobages.
- 3) Évaluer l'effet de l'enrobage sur la qualité microbiologique et les rendements de fermentation.
- 4) Évaluer le transfert de technologie à une plus grande échelle.

2.17. Moyens pour atteindre les objectifs

Nous allons en premier optimiser des formulations déjà utilisées dans nos laboratoires pour des applications sur l'ensilage. Les moyens pour atteindre les objectifs sont :

- 1) Les conditions anaérobiques sont favorisées par l'ajout de composés hydrophobes dans l'enrobage tels que des lipides et l'utilisation de protéines hydrophobes telles que la zéine.
- 2) Les réticulations étudiées consistent à évaluer l'effet de la chaleur et des agents de réticulations chimiques tel que le glutaraldéhyde sur les protéines du revêtement.
- 3) La qualité microbiologique est évaluée par le compte totaux de bactéries aérobiques sur le milieu Plate Count Agar à 30°C/2 jours, des bactéries anaérobiques sur le milieu Reinforced Clostridium Agar à 30°C/2 jours, des bactéries acido-lactiques sur le milieu Rogosa à 30°C/2 jours, des moisissures et levures sur Potato Dextrose Agar à 30°C/2 jours et des coliformes sur le milieu MacConkey à 30°C/2 jours. Les rendements de fermentation sont évalués par la prise de pH (Hattori *et al.*, 1994), de la matière sèche (Kempton et Clemente, 1959; Harrigan et McCance, 1966), du contenu en sucres solubles dans l'eau (Dubois *et al.*, 1956; Moon *et al.*, 1980) et en azote ammoniacal (Nkonge et Balance, 1982) mesurés par spectrophotométrie ainsi que par la production d'acides organiques (acide lactique, acétique, propionique et butyrique) mesurée par HPLC (AOAC 986.13, 1990). Une colonne HPLC Supelcogel 610H de 30.0 cm X 4.6 mm ID est utilisé avec une phase mobile constituée de 0.1% H₃PO₄ à un débit de 0.5 ml/minute et à une longueur d'onde de 210 nm.
- 4) La possibilité d'un transfert de technologies s'est faite par des études semi-pilotes sur une ferme expérimentale utilisant de plus grande quantité d'ensilage.

3. MATÉRIEL ET MÉTHODE

3.1 Préparation du fourrage

L'ensilage est fourni par l'Institut de Recherche et de Développement en Agroalimentaire (IRDA), situé à Deschambault. Les cultures sont coupées et préfanées au champs pour obtenir un fourrage de 65% d'humidité. Le fourrage est par la suite haché en morceau de 1 cm de longueur environ par une fourragère conventionnelle (New Holland, USA). Quatre cents grammes de fourrage est ensuite compressé dans des contenants (12 cm X 16 cm X 6.8 cm) par une presse hydraulique (IRDA, Deschambault) (200 kg matière sèche/m³) pour exclure l'air résiduel. Ces contenant sont entreposés à -20°C pour les besoins des expériences en laboratoire (Woolford et Wilkins, 1974). Les expériences seront faites sur des ensilages de maïs, de luzerne et de mil.

3.2 Préparation des bioenrobages

Les solutions d'enrobages de base sont préparées selon la méthode décrite par Letendre *et al.* (2002). Cette solution de base contient de la caséine, de la pectine et du carboxyméthylcellulose dans une proportion de 1:1:0.1. La caséine provient de New Zealand Milk Product Inc (Santa Rosa, CA, USA). La pectine provient d'Hercules Canada (Mississauga, ON, Canada) alors que le carboxyméthylcellulose provient de Sigma-Aldrich (Montréal, QC, Canada). Du glycérol (32% (w/w)) (99.5% Reagent, American Chemicals Ltd, Montréal, QC, Canada), de la graisse de bœuf (8.5% (w/w)) (IGA, Montréal, QC, Canada) ainsi que de la poudre d'ensilage (1.72% (w/w)) (IAF, Montréal, QC, Canada) ont été incorporés à cette solution afin de former une pâte qui soit adaptée pour un recouvrement d'ensilage. Cette pâte a été étalée manuellement sur l'ensilage à l'aide d'une cuillère. La poudre d'ensilage a été broyé dans un mélangeur (Braun KSM 2B modèle 4041, force du moteur 150W, capacité de 70 g) durant 3 minutes. Différents agents plastifiants, lipidiques et épaississants ont également été évalués dans la transformation et l'optimisation de la formulation tel que décrite par Letendre *et al.* (2002) et dans la section 4.1. Les agents plastifiant à l'étude sont le glycérol et le sorbitol (Sigma-Aldrich, Montréal, QC, Canada). Les composés lipidiques

évalués dans la conception de l'enrobage sont l'huile de canola (IGA, Montréal, QC, Canada), le lard (Crisco, IGA, Montréal, QC, Canada), la cire d'abeille (Laboratoire Mat, Montréal, QC, Canada), la cire candellila (Sigma-Aldrich, Montréal, QC, Canada) ainsi que la graisse de bœuf (IGA, Montréal, QC, Canada). Comme agents épaississants, nous avons utilisé de la fécule de maïs, de la poudre de foin et d'ensilage (fine et grossière) préparé dans nos laboratoires tel que décrit précédemment.

Les bioenrobages sont constitués d'un enrobage ainsi que d'un revêtement hydrophobe. Le revêtement du bioenrobage 1 (section 4.3 et 4.4) est composé de 40% (w/v) de zéine (Sigma-Aldrich, Ontario, Canada) solubilisé dans l'éthanol 95% et réticulé selon une méthode élaboré par Le Tien *et al.* (2002). Ce revêtement est appliqué directement sur la formulation d'enrobage par étalement avec une cuillère. L'enrobage avec son recouvrement de zéine 40% forme le bioenrobage 1 discuté dans la section 4.3 et 4.4.

Le bioenrobage 2 est composé d'un double revêtement. Le premier revêtement est celui rapporté dans le précédent paragraphe. Le deuxième revêtement est une solution de zéine : acide palmitique (1:2) (Sigma-Aldrich, ON, Canada) chauffée à 70°C durant 60 minutes. Une fois le premier revêtement séché, la solution de zéine et d'acide palmitique est appliquée sur le premier revêtement. L'enrobage avec son premier revêtement de zéine 40% et son deuxième revêtement de zéine et d'acide palmitique forme le bioenrobage 2 discuté dans les sections 4.5, 4.6 et 4.7.

3.3 Analyses biochimiques

3.3.1. Matière sèche

La matière sèche est obtenue en évaporant l'eau présente dans l'ensilage selon la méthode de Kempton et Clemente (1959) et, de Harrigan et McCance (1966). Pour ce faire, des tubes vide en verre de 30 ml sont pesés correspondant au poids vide (Po). Les

tubes sont remplis à pleine capacité et repesés pour obtenir le poids initial (P_i). Les tubes sont mis dans un four à vide (Precision Scientific, Chicago, Illinois, USA). L'eau de l'ensilage est évaporée à 100°C pendant 24 h à 48h. Les tubes sont par la suite repesés pour obtenir le poids final (P_f). Le pourcentage de matière sèche (% MS) est calculé en retranchant le poids vide (P_o) des poids initiaux et finaux selon la formule suivante : $((P_f - P_i) / P_f) \times 100$.

3.3.2. Sucres solubles dans l'eau

Le jus d'ensilage ayant servi à déterminer le pH de l'ensilage (voir section 3.3.3), après filtration, sert également à doser les sucres solubles dans l'eau. La concentration en sucres solubles dans l'eau est évaluée en utilisant une méthode de dosage par spectrophotométrie au phénol-acide sulfurique (Dubois *et al.*, 1956; Moon *et al.*, 1980). Une solution de phénol (ACS Reagent 99.0%, Sigma-Aldrich, ON, Canada) 89% P/V est préparée en dissolvant 80 g phénol dans 20 ml H₂O à 50°C. Deux ml de la solution à analyser sont distribués dans des tubes à essai, auxquels est ajouté 0.1 ml de phénol 89%. Six ml de H₂SO₄ (ACS Reagent, 95-98%, Aldrich, ON, Canada) sont ajoutés lentement en laissant couler l'acide sur la paroi des tubes. Le mélange est bien agité à l'aide d'un vortex (Vortex-Genie, Fisher Scientific, Montréal, QC, Canada) et laissé reposer pendant 10 minutes. Les sucres en présence du phénol et l'acide sulfurique forment un complexe orange dont l'intensité est mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre DMS 200 UV visible (Varian Montréal, QC, Canada). La couleur reste stable durant 1h. La courbe standard pour la détermination des concentrations de sucres se fait à partir d'une solution standard de glucose monohydrate (10 à 80 µg / ml) (96%, Aldrich, ON, Canada). Les résultats sont alors exprimés en µg / ml pour être par la suite convertis en % ms.

3.3.3. Mesure du pH

La mesure du pH se fait selon la méthode de Hattori *et al.* (1994). Trente grammes d'ensilage provenant des contenants sont prélevés et immergés dans 270 ml

d'eau distillée. Le tout est agité et laissé au repos pendant 30 minutes. Le jus d'ensilage résultant est agité de nouveau et son pH est mesuré avec une électrode de verre d'un pH mètre model 420A Orion (Orion Research Inc., Boston, USA).

3.3.4. Azote total

L'azote total sera évalué avec un appareil nommé FP-428 Nitrogen Determinator Systems (LECO Corporation, MI, USA). L'ensilage sec ayant servi au calcul de la matière sèche sera moulu et conservé à -20°C . Lorsque le nombre d'échantillon est jugé satisfaisant, la poudre d'ensilage entreposée au congélateur sera à nouveau séchée sous vide pour s'assurer que les échantillons ne comportent aucune trace d'eau pouvant interférer avec les résultats. La poudre d'ensilage des divers échantillons est pesée en raison de 0.1g dans des cupules d'étain. Avant de commencer l'analyse, l'appareil est calibré en passant des blancs (l'air) et un standard de calibration EDTA (LECO Corporation, MI, USA) contenant un pourcentage d'azote connu ($9.56\% \pm 0.03\%$). Les résultats sont alors exprimés en pourcentage d'azote total (%Ntot).

3.3.5. Azote ammoniacal

L'azote ammoniacal est dosé par spectrophotométrie par la méthode de Nkonge et Ballance (1982). Trois solutions sont nécessaires pour la détection de l'azote ammoniacal. Une solution tampon (solution 1) est préparée en dissolvant 28.392 g de phosphate de sodium (dibasique 99%, Sigma-Aldrich, ON, Canada), 106.6 g de potassium sodium tartrate (tetrahydrate 99%, Sigma-Aldrich, ON, Canada) et 8.0 g de NaOH (ACS Reagent $\geq 97\%$, Sigma-Aldrich, ON, Canada) dans 1L d'eau. Une autre solution consiste en 100 g de NaOH dans 1L d'eau. Ces deux solutions sont mélangées ensemble (1:1) pour un volume final de 2L. Une solution de nitroprusside-salicylate (solution 2) doit être préparée en dissolvant 50.0 g d'acide salicylique (sel de sodium 99.5%, Sigma-Aldrich, ON, Canada) et 0.75 g de nitroprusside (sel de sodium dihydrate, Sigma-Aldrich, ON, Canada) dans 250 ml d'eau. Cette solution doit être conservée dans une bouteille ambre à

4°C. La dernière solution (solution 3) à préparer fraîchement à chaque jour d'analyse est une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) (4% à 6%, IGA, QC, Canada) constituée de 7 ml d'eau de Javel concentré dans 100ml d'eau.

Pour extraire l'azote ammoniacal, tout l'ensilage présent dans les contenants est récupéré et mélangé de façon uniforme afin d'obtenir un mélange homogène. De ce mélange, 2.5 g d'ensilage sont prélevés et incorporés à 20 ml KCl 1M (99%, Sigma-Aldrich, ON, Canada) avec une agitation de 30 minutes. La solution est par la suite filtrée afin de recueillir l'extrait de KCl. Dans une éprouvette de 30 ml, 2 ml de la solution 1, 0.5 ml de la solution 2 et 1 ml de la solution 3 sont ajoutés à 1 ml d'extrait de KCl. Le contenu des éprouvettes est mélangé et mis dans un bain-marie (1024 Shaking Water Bath, Tecator, Suède) 30 minutes à 40°C. Après le temps d'incubation, 10 ml d'eau distillé est ajouté dans les éprouvettes et le tout est mélangé de nouveau. Les tubes sont refroidis à la température de la pièce et l'absorbance est mesurée à 645 nm avec le spectrophotomètre. La courbe standard se fait à partir d'une solution standard de nitrate d'ammonium (99.5%, Sigma-Aldrich, ON, Canada) à des étalons de 0, 1, 2, 5 et 20 ppm de N-NH₄ dans une solution KCl 1M. Ces solutions sont conservées à 4°C. Le contenu en azote ammoniacal est présenté en fonction du pourcentage d'azote total.

3.3.6. Acides organiques

Le jus d'ensilage ayant servi pour la détermination de la valeur du pH de l'ensilage sert à doser les acides organiques relâchés dans le milieu ambiant. Ces acides organiques sont l'acide lactique, acétique, propionique et butyrique et sont dosés par chromatographie liquide de haute performance, HPLC Vista 5500 (Varian, Montréal, QC, Canada). Une étape d'extraction (AOAC 986.13, 1990) est requise. Le jus d'ensilage est d'abord filtré à 0.45µm une première fois. Le filtrat obtenu est acidifié avec de l'acide chlorhydrique (37%, Aldrich, ON, Canada) pour protoner les acides organiques. Six ml du filtrat acidifié est appliqué sur une colonne Sep-Pak Cartridge Vac C18 6 cc (Waters, Mississauga, ON, Canada). Les acides organiques sont récupérés avec une phase mobile

constituée de 50:50 eau:acétonirile (99.93+% HPLC grade, Aldrich, ON, Canada). La phase recueillie est à nouveau filtrée à 0.2 µm avant d'être analysée par HPLC. L'acide formique est ajouté lors des extractions avec la colonne Sep-Pak comme standard interne.

Dix µl de l'échantillon sont injectés par un échantillonneur automatique, Autosampler 9090 (Varian, Montréal, QC, Canada), dans une colonne HPLC Supelcogel 610H de 30.0 cm X 4.6 mm ID (Supelco, Oakville, ON, Canada). La phase mobile est de 0.1% H₃PO₄, (ACS Reagent 85 wt %, Aldrich, ON, Canada) à un débit de 0.5 ml/minute et à une longueur d'onde de 210 nm avec un détecteur UV-200 Detector (Varian, Montréal, QC, Canada). À partir de ces paramètres, une courbe standard de la concentration de ces acides en fonction de l'aire sous les pics est établie. Le logiciel Star Chromatography (Varian, version 4.01) fait l'intégration de l'aire sous les pics. Le contenu en acides organiques est présenté en % et sera ultérieurement convertie en % ms.

3.4. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques permettent de déterminer l'influence de notre solution d'enrobage sur la flore microbienne impliquée dans la conservation et la détérioration de l'ensilage. De plus, les résultats de ces analyses permettent de les inter relier avec ceux des analyses biochimiques. Les comptes microbiens suivent la méthode utilisée par Hattori *et al.*, (1994).

Tout l'ensilage présent dans les contenants est récupéré et mélangé stérilement de façon uniforme afin d'obtenir un mélange homogène tel que décrit par Allen *et al.*, (1937); Britt *et al.*, (1975) et Moon (1981). De ce mélange, 20 g d'ensilage sont prélevés et homogénéisés pendant 5 minutes dans de l'eau peptonée 0.1% stérile (180 ml) à l'aide d'un stomacheur (Stomacheur Lab-Blender 400, London, England). Un ml du mélange du sac est prélevé pour les dilutions subséquentes dans des tubes de 9 ml d'eau peptonée 0.1% stérile. Les pétris (Fischer Scientific, Montréal, QC, Canada) reçoivent 100 µl de chacune des dilutions auxquels sont ajouté les milieux de cultures : Plate count agar Difco,

RCA Oxoid, Rogosa Difco, Potato Dextrose Agar Difco, MacConkey Agar Difco. Chaque dilution est en duplicata. Les divers pétris sont incubés en position inversée dans les conditions indiquées ci-dessous. Les résultats de ces études quantitatives sont exprimés en log d'unité formatrice de colonie par gramme d'ensilage.

Tableau 4. Conditions d'incubation des milieux de culture

Groupes microbiens	Milieux	Conditions d'incubation
Aérobies totaux	Plate count agar Difco ¹	aérobie 30°C/ 2 jours
Anaérobies totaux	RCA Oxoid ²	jar anaérobique, 30°C/ 2 jours
<i>Lactobacillus</i>	Rogosa Difco	jar anaérobique, 30°C/ 2 jours
Levures et moisissures	Potato Dextrose Agar Difco	aérobie, 30°C/ 3 jours.
Coliformes	MacConkey Agar Difco	aérobie, 30°C/ 2jours

¹ Fischer Siencitifc, Montréal, QC, Canada

² VWR Canlab, Mississauga, ON, Canada

3.5 Schémas expérimentaux

Transformation et optimisation d'une formulation

L'influence de sept composés plastifiants, cinq agents lipidiques et quatre agents épaississants ont été évalués sur une formulation de base (Ressouany *et al.*, 1998) pour leur efficacité à maintenir un pH acide et sur la conservation de la matière sèche de l'ensilage. Chaque essai comprenait des ensilages non recouverts de bioenrobage. Trois pots par semaine ont été analysés par traitement pour la mesure du pH et de la détermination du pourcentage de matière sèche et ce, au jour 0, 3, 10, 17, 24 et 31 d'entreposage. La formule de base à laquelle sera ajoutée les différents composés est une formulation élaborée pour la production d'un film et mise au point dans nos laboratoires (Ressouany *et al.*, 1998). Celle-ci était constituée de caséinate de calcium comme

protéine, de glycérol comme agent plastifiant, et de carboxyméthylcellulose (CMC) comme agent de structure.

Cette expérience comportait 243 unités réparties aléatoirement comme suit : l'ensilage non recouvert, l'ensilage recouvert d'enrobage contenant soit 1.6% de glycérol, 8% de glycérol, 16% de glycérol, 32% de glycérol, 6.4% de glycérol et 1.6% de sorbitol, 4.8% de glycérol et 3.2% de sorbitol ou 8% de sorbitol, l'ensilage recouvert d'enrobage sans plastifiant, l'ensilage recouvert d'enrobage contenant soit de l'huile de canola, du lard, de la cire d'abeille, de la cire candellila, ou de la graisse de bœuf et l'ensilage recouvert d'enrobage sans lipide, l'ensilage recouvert d'enrobage contenant soit de la poudre fine d'ensilage, de la poudre grossière d'ensilage, de la fécule de maïs ou de la poudre de foin ainsi que l'ensilage recouvert d'enrobage sans agent épaississant.

Importance du recouvrement

La combinaison des composants plastifiants, épaississants, et lipidiques retenus dans la section précédente pour leur efficacité à maintenir un pH acide et sur la conservation stable de la matière sèche au sein de l'ensilage a été évaluée. Les agents retenus sont le glycérol 32%, la graisse de bœuf 8.5% et la poudre grossière d'ensilage 1.72%. La mise au point d'une couche hydrophobe semblait nécessaire pour le maintien d'un pH acide et sur la conservation stable de la matière sèche au sein de l'ensilage. La formulation du revêtement 1 est présentée dans la section 3.2. Cette expérience est divisée en quatre traitements contenant 46 unités réparties aléatoirement comme suit: i) ensilage non enrobé, ii) ensilage enrobé, iii) ensilage enrobé et recouvert du revêtement, et iv) ensilage recouvert du revêtement uniquement. Trois pots par semaine ont été analysés pour chaque traitement pour la mesure du pH et de la détermination du pourcentage de matière sèche et ce, au jour 0, 7, 14, 21 et 28.

Bioenrobage 1

La formulation du bioenrobage 1 est présentée dans la section 3.2. Cette expérience sur la fléole des prés a été divisée en trois traitements comportant 93 unités réparties aléatoirement comme suit: i) ensilage non enrobé, ii) ensilage recouvert de film de plastique, iii) ensilage recouvert du bioenrobage. L'ensilage compris dans le deuxième traitement est scellé avec quatre couches de plastique de 0.22 mm d'épaisseur. Cette section évalue l'effet du bioenrobage 1 sur différents paramètres biochimiques et microbiologiques en laboratoire. Les analyses biochimiques effectuées ont consisté à l'évaluation du pH, du pourcentage de matière sèche, du contenu en sucres solubles dans l'eau, en azote ammoniacal et en acides organiques (lactiques, acétiques, propioniques et butyriques). Les analyses microbiologiques ont été axées sur les comptes totaux des micro-organismes aérobiques et anaérobiques, des bactéries acido-lactiques, des moisissures, des levures et des coliformes. Trois pots par semaine ont été analysés pour chaque traitement pour la détermination des paramètres biochimiques et microbiologiques et ce, au jour 0, 3, à chaque semaine et aux jours 66 et 80.

Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1

Ces premières expériences ont été réalisées dans le but de vérifier l'efficacité du bioenrobage 1 face aux conditions externes. Un fourrage constitué de graminées au stade végétatif a été récolté à environ 45% de matière sèche et ensilé en chaudière de 29,5 litres (33,6 cm de diamètre supérieur et 38 cm de hauteur). L'ensilage a été compressé à une densité moyenne de 195 kg ms/ m³ (12,8 kg d'ensilage à 45% MS par chaudière). De plus, des moustiquaires de plastique ont été placés à 10 cm et 20 cm de profondeur dans chaque chaudière de façon à distinguer les trois couches d'ensilage suivantes: couche 0-10 cm, couche 10-20 cm et couche 20-38 cm.

L'expérience comportait 18 unités réparties comme suit: deux niveaux de protection contre les précipitations, trois traitements pour protéger les ensilages, trois répétitions. Les deux niveaux de protection contre les précipitations étaient soit exposé

aux pluies, soit protégé des pluies. Les trois traitements comprenaient i) de l'ensilage non enrobé, ii) de l'ensilage recouvert de plastique et iii) l'ensilage enrobé de bioenrobage 1. Les chaudières ont été ouvertes après quatre semaines d'entreposage. Les données recueillies ont portées sur la teneur en matière sèche, le pH de l'ensilage et la présence de moisissures (observation visuelle, échelle de 1 à 6).

Bioenrobage 2

Cette section évalue en laboratoire l'effet de la nouvelle formulation du bioenrobage ayant une hydrophobicité supérieure au bioenrobage 1 et ce, sur différents paramètres biochimiques et microbiologiques. Le pH, le pourcentage de matière sèche, le contenu en sucres solubles, le niveau d'azote ammoniacal et total ont été évalués pendant 135 jours d'entreposage. Les analyses microbiologiques sont axées sur les comptes totaux des micro-organismes aérobiques et anaérobiques, des lactobacillus, des moisissures, des levures et des coliformes. Cet essai a été effectué sur du fléole des prés et divisé en trois traitements comportant 101 unités réparties aléatoirement comme suit : i) des ensilages non enrobés, ii) des ensilages recouverts de plastique et iii) des ensilages enrobés de bioenrobage. Trois pots par semaine ont été analysés à chaque semaine et aux jours 57, 70, 85, 100, 120 et 135.

Essai extérieur avec le bioenrobage 2

Le bioenrobage 2 a été évalué pour sa capacité à conserver l'ensilage sous des conditions extérieures. La qualité de l'ensilage a été mesurée par des analyses biochimiques soit le pH, le pourcentage en matière sèche, le contenu en sucres solubles dans l'eau, le pourcentage en azote ammoniacal et les concentrations en acides organiques (lactique, acétique, propionique et butyrique). Les analyses microbiologiques sont axées sur les comptes totaux des micro-organismes aérobiques et anaérobiques, des bactéries acido-lactiques, des moisissures, des levures et des coliformes. Cet essai a été effectué sur de la fléole des prés. L'expérience a été divisée en trois traitements avec deux niveaux de

protection contre les précipitations contenant 165 unités réparties aléatoirement comme suit : i) des ensilages non enrobés, ii) des ensilages recouverts de plastique et iii) des ensilages enrobés de bioenrobage. Les deux niveaux de protection contre les précipitations étaient soit exposé aux pluies, soit protégé des pluies. Trois pots par semaine ont été analysés et ce, durant 70 jours.

Essai semi-pilote avec le bioenrobage 2

Un fourrage constitué de graminées au stade végétatif a été récolté à environ 45% de matière sèche et ensilé en chaudière de 29,5 litres (33,6 cm de diamètre supérieur et 38 cm de hauteur). L'ensilage a été compressé à une densité moyenne de 195 kg ms/m³ (12,8 kg d'ensilage à 45% ms par chaudière). De plus, des moustiquaires de plastique ont été placées à 10 cm et 20 cm de profondeur dans chaque chaudière de façon à distinguer les trois couches d'ensilage suivantes: couche 0-10 cm, couche 10-20 cm et couche 20-38 cm. L'expérience comportait 18 unités réparties comme suit: deux niveaux de protection contre les précipitations, trois traitements pour protéger les ensilages et trois répétitions. Les deux niveaux de protection contre les précipitations étaient soit exposé aux pluies soit protégé des pluies. Les trois traitements comprenaient i) des ensilages non enrobés, ii) des ensilages recouverts de plastique et iii) des ensilage enrobés par le bioenrobage. Les chaudières ont été ouvertes après quatre et huit semaines d'entreposage. Les données recueillies ont portées sur la perte en matière sèche et le pH de l'ensilage.

3.6. Analyses statistiques

Les résultats obtenus des différentes expériences seront traités en utilisant une analyse de variance suivie par le test d'analyse de comparaison multiple de Duncan avec le logiciel SPSS (version 6.1, SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Toutes les comparaisons seront faites avec un niveau de différence significative de 5%. Trois contenants d'ensilage de chaque traitement à chaque jour d'analyse seront utilisées pour effectuer les tests biochimiques et microbiologiques.

4. RÉSULTATS

La démarche de cette expérience portait sur la mise au point d'une formulation à partir d'une formule de base disponible dans nos laboratoires tel que défini par Ressouany *et al.* (1998). Le but de ce projet était de mettre au point un enrobage adapté pour la conservation de l'ensilage et plus hydrophobe que celle rapporté par Ressouany *et al.* (1998). Deux formulations ont été sélectionnées et utilisées pour enrober l'ensilage. Les qualités microbiologiques et biochimiques de ces ensilages ont été évaluées en laboratoire. Ces deux formulations ont été étudiées au niveau semi-pilote sur une ferme expérimentale sur la base de leur efficacité de conservation de l'ensilage. Ce projet a pour but d'évaluer le comportement du bioenrobage avec de l'ensilage entreposé dans des contenants de plus grandes capacités. Cette étude a nécessité la mise au point d'un recouvrement biodégradable permettant une meilleure résistance aux conditions climatiques.

4.1. Transformation et optimisation d'une formulation

L'influence de sept composés plastifiants, cinq agents lipidiques et quatre agents épaississants ont été évalués sur une formulation de base pour leur efficacité à maintenir un pH acide et sur la conservation de la matière sèche de l'ensilage.

4.1.1. Composés plastifiants

Les figures 1 et 2 ainsi que le tableau 5 présentent respectivement l'effet des sept composés plastifiants ajoutés à la formule de base sur le pH et le contenu en matière sèche d'un mélange de fourrage de fléole des prés et de luzerne. Le pH initial du fourrage était de 5.79 et un contenu en matière sèche de 31.62 %.

Les valeurs de pH de l'ensilage sont présentées dans le tableau 5 et à la figure 1. Au cours de l'entreposage, le pH de l'ensilage diminue pour tous les traitements durant les 10 premiers jours. Le pH reste acide et stable pendant 10 jours pour les ensilages non enrobés et pendant plus de 24 jours pour les ensilages enrobés. Au jour 10 au niveau de tous les traitements, les valeurs de pH des ensilages sont comprises entre 4.75 pour les ensilages enrobés avec un enrobage contenant 4.8% de glycérol et de 3.2% de sorbitol et 5.23 pour les ensilages enrobés avec enrobage contenant 16% de glycérol dans l'enrobage. À partir du 10^e jour d'entreposage, une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du pH est observée dans

l'ensilage non enrobé; le pH passant de 5.12 à 9.08 entre le jour 10 et le jour 17 d'entreposage. Les ensilages enrobés avec la formule contenant 6.4% de glycérol et 1.6% de sorbitol présente une augmentation plus prononcée du pH à partir du jour 17. Le pH de l'ensilage enrobé par cette formulation passe de 4.75 au jour 17 à 7.40 au jour 24. Au jour 17, la valeur de pH la plus basse (4.56) a été observée avec la formulation contenant 4.8% de glycérol et 3.2% de sorbitol. Cette valeur de pH est significativement plus basse que tous les autres traitements. Au 24^e jour de conservation, les formulations renfermant 32% de glycérol et celle contenant 8% de sorbitol présentent les valeurs de pH les plus basses avec respectivement un pH de 5.56 et 5.47. Aucune différence ($p > 0.05$) n'a été observée à ce jour entre ces deux formulations, et ces valeurs sont significativement plus basses que tous les autres traitements ($p \leq 0.05$). Au terme de l'expérience au jour 31, le pH des ensilages enrobés atteint une valeur non propice à la conservation de l'ensilage donnant des valeurs de pH variant entre 5.09 et 8.70. Aucune différence significative ($p > 0.05$) n'a été observée au jour 31 entre le pH de l'ensilage enrobé par la formulation ne contenant pas de plastifiant et l'ensilage non enrobé avec un pH de 8.70 et 8.64 respectivement.

Les résultats de la figure 2 et du tableau 5 montrent que le contenu en matière sèche des ensilages non enrobés augmente à partir du 3^e jour d'entreposage passant de 31.62 à 46.72% en 31 jours. Les ensilages enrobés présentent un niveau stable du contenu en matière sèche durant 24 jours d'entreposage sauf pour les ensilages enrobés par les formulations contenant 16% de glycérol et 8% de sorbitol. Le contenu stable en matière sèche observé dans les ensilages enrobés de bioenrobage contenant 1.6%, 8%, 32% de glycérol, ainsi que les formulations renfermant 6.4% de glycérol/ 1.6% de sorbitol et 4.8% de glycérol/ 3.2% de sorbitol. Ces ensilages présentent des valeurs de matière sèche se situant entre 30.17% et 38.37% durant les 24 premiers jours d'entreposage. Au jour 31, les contenus en matière sèche de l'ensilage enrobé avec les formulations contenant 16 et 32% de glycérol sont respectivement de 39.65% et 38.37% et significativement plus élevées ($p \leq 0.05$) que ceux des formulations d'enrobage contenant du sorbitol ou des quantités moindres en glycérol. Au jour 31, toutes les formulations d'enrobage continuent à avoir un pourcentage de matière sèche stable à des valeurs variant entre 30.08% et 33.08% sauf celles recouvertes des enrobages contenant 16 et 32% de glycérol. Au jour 31, les solutions renfermant 8% de glycérol et celles contenant 8% de sorbitol présentent un niveau significativement inférieur ($p \leq 0.05$) de matière sèche par rapport aux autres formulations d'enrobage avec respectivement 30.17% et

30.08%. Un contenu de 46.72% en matières sèche est trouvé dans l'ensilage non enrobé au jour 31.

Tableau 5. Valeur du pH et contenu en MS de l'ensilage selon le type de plastifiant

Jours	Traitement	pH	MS (%)
0	Non enrobé	5.79 ± 0.08 ^{a2}	31.62 ± 0.25 ^{a2}
	Glycérol 1.6%	5.79 ± 0.08 ^{a3}	31.62 ± 0.25 ^{a1}
	Glycérol 8%	5.79 ± 0.08 ^{a4}	31.62 ± 0.25 ^{a1}
	Glycérol 16%	5.79 ± 0.08 ^{a4}	31.62 ± 0.25 ^{a2}
	Glycérol 32%	5.79 ± 0.08 ^{a6}	31.62 ± 0.25 ^{a2}
	Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6%	5.79 ± 0.08 ^{a3}	31.62 ± 0.25 ^{a2}
	Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2%	5.79 ± 0.08 ^{a4}	31.62 ± 0.25 ^{a2}
	Sorbitol 8%	5.79 ± 0.08 ^{a6}	31.62 ± 0.25 ^{a3,4}
	sans plastifiant	5.79 ± 0.08 ^{a3}	31.62 ± 0.25 ^{a1}
3	Non enrobé	5.17 ± 0.33 ^{a1}	30.00 ± 1.34 ^{a1}
	Glycérol 1.6%	5.41 ± 0.10 ^{e2}	32.07 ± 0.18 ^{cd2}
	Glycérol 8%	5.29 ± 0.07 ^{bc2}	31.13 ± 0.56 ^{bc1}
	Glycérol 16%	5.33 ± 0.02 ^{cd2}	29.87 ± 0.83 ^{a1}
	Glycérol 32%	5.26 ± 0.20 ^{b4}	30.38 ± 0.92 ^{ab1}
	Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6%	5.36 ± 0.04 ^{de2}	30.11 ± 0.69 ^{a1}
	Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2%	5.36 ± 0.03 ^{de3}	31.90 ± 0.41 ^{cd2,3}
	Sorbitol 8%	5.31 ± 0.01 ^{bc4}	32.41 ± 0.85 ^{d4}
	sans plastifiant	5.43 ± 0.06 ^{f2}	32.92 ± 0.54 ^{d2}
10	Non enrobé	5.12 ± 0.03 ^{d1}	35.33 ± 0.72 ^{c3}
	Glycérol 1.6%	5.09 ± 0.04 ^{cd1}	32.59 ± 0.74 ^{b2,3}
	Glycérol 8%	5.23 ± 0.04 ^{f2}	32.92 ± 0.29 ^{b2}
	Glycérol 16%	5.19 ± 0.04 ^{e2}	32.54 ± 0.95 ^{b3}
	Glycérol 32%	5.12 ± 0.03 ^{d2}	32.92 ± 0.53 ^{b1}
	Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6%	5.02 ± 0.03 ^{b1}	31.92 ± 0.49 ^{b2}
	Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2%	4.75 ± 0.03 ^{a1}	32.74 ± 0.86 ^{b3}
	Sorbitol 8%	5.04 ± 0.02 ^{b2}	30.22 ± 0.43 ^{a1,2}
	sans plastifiant	5.05 ± 0.02 ^{bc1}	30.97 ± 1.08 ^{a1}
17	Non enrobé	9.08 ± 0.02 ^{g4}	39.37 ± 1.25 ^{c4}
	Glycérol 1.6%	5.09 ± 0.02 ^{e1}	32.44 ± 0.81 ^{b2,3}
	Glycérol 8%	5.24 ± 0.03 ^{f2}	33.57 ± 0.73 ^{c2}
	Glycérol 16%	5.01 ± 0.03 ^{d1}	33.84 ± 0.26 ^{c4}
	Glycérol 32%	4.56 ± 0.02 ^{a1}	35.75 ± 1.43 ^{d4}
	Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6%	4.90 ± 0.03 ^{c1}	34.9 ± 0.46 ^{d3}
	Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2%	4.86 ± 0.03 ^{bc2}	33.70 ± 0.03 ^{c4}
	Sorbitol 8%	4.81 ± 0.04 ^{b1}	31.09 ± 0.04 ^{a2,3}
	sans plastifiant	5.03 ± 0.08 ^{d1}	33.43 ± 0.08 ^{bc2}
24	Non enrobé	9.04 ± 0.04 ^{g4}	41.72 ± 0.99 ^{f5}
	Glycérol 1.6%	6.02 ± 0.07 ^{d4}	32.35 ± 0.21 ^{e2,3}
	Glycérol 8%	5.71 ± 0.11 ^{c3}	34.44 ± 0.46 ^{d3}
	Glycérol 16%	5.61 ± 0.07 ^{bc3}	34.93 ± 0.59 ^{de5}
	Glycérol 32%	5.56 ± 0.03 ^{ab5}	35.54 ± 0.67 ^{e4}
	Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6%	7.40 ± 0.27 ^{f4}	34.55 ± 0.31 ^{d3}
	Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2%	6.04 ± 0.07 ^{d5}	29.59 ± 0.9 ^{a1}
	Sorbitol 8%	5.47 ± 0.04 ^{a5}	30.79 ± 0.69 ^{b1,2,3}
	sans plastifiant	6.22 ± 0.10 ^{e4}	30.8 ± 0.76 ^{b1}
31	Non enrobé	8.64 ± 0.06 ^{e3}	46.72 ± 2.07 ^{f6}
	Glycérol 1.6%	7.22 ± 0.13 ^{d5}	33.08 ± 0.47 ^{c3}
	Glycérol 8%	5.09 ± 0.02 ^{a1}	32.84 ± 1.24 ^{c2}
	Glycérol 16%	6.25 ± 0.31 ^{c5}	39.65 ± 0.81 ^{e6}
	Glycérol 32%	5.17 ± 0.03 ^{a3}	38.37 ± 0.64 ^{d5}
	Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6%	8.61 ± 0.05 ^{e5}	30.17 ± 0.81 ^{a1}
	Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2%	6.06 ± 0.05 ^{b5}	32.13 ± 0.58 ^{bc2,3}
	Sorbitol 8%	5.21 ± 0.01 ^{a3}	30.08 ± 0.78 ^{a1}
	sans plastifiant	8.70 ± 0.08 ^{e5}	31.14 ± 0.62 ^{ab1}

^{a1} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différentes recettes au même jour d'analyse suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

¹⁻⁶ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

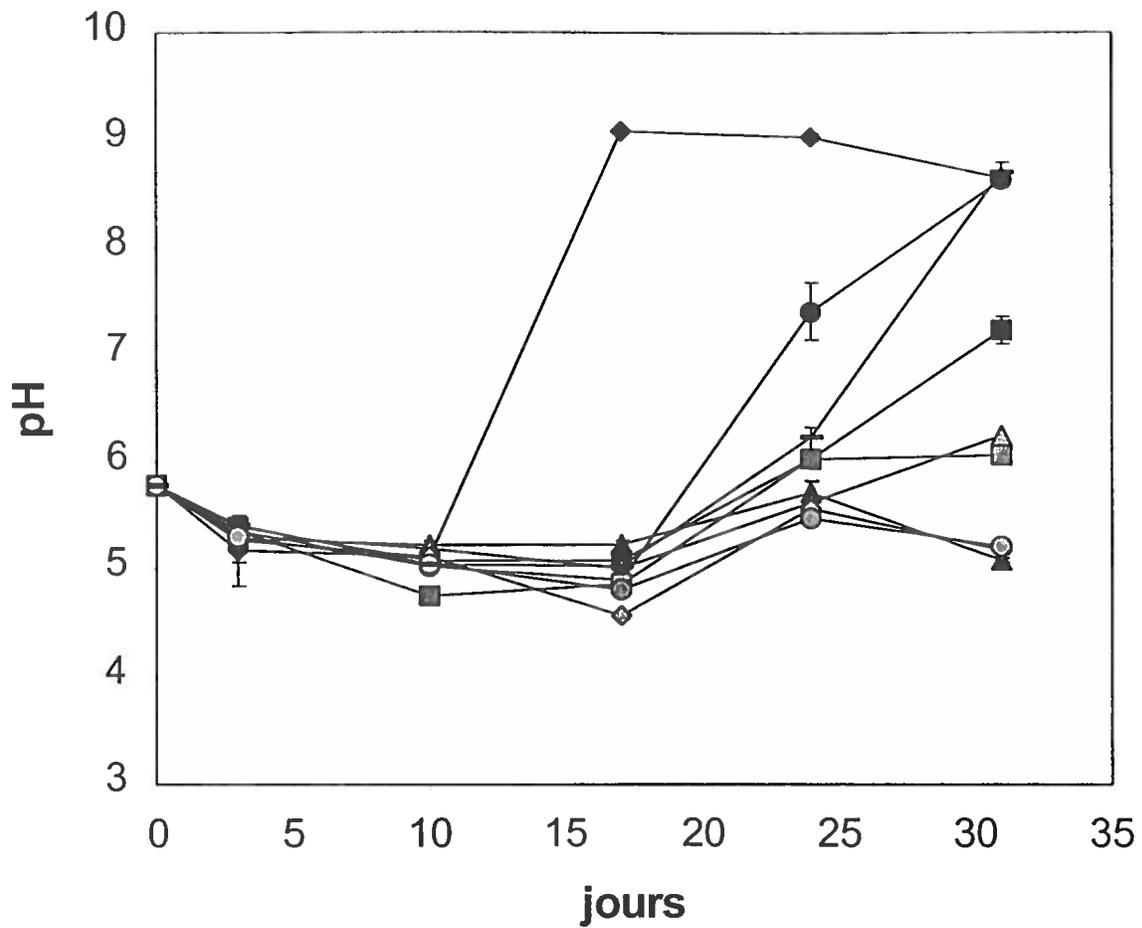


Figure 1. Effet du plastifiant sur le pH de l'ensilage

Non enrobé (◆), Glycérol 1.6% (■), Glycérol 8% (▲), Glycérol 16% (▲), Glycérol 32% (◆), Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6% (●), Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2% (■), Sorbitol 8% (●), Sans plastifiant (-)

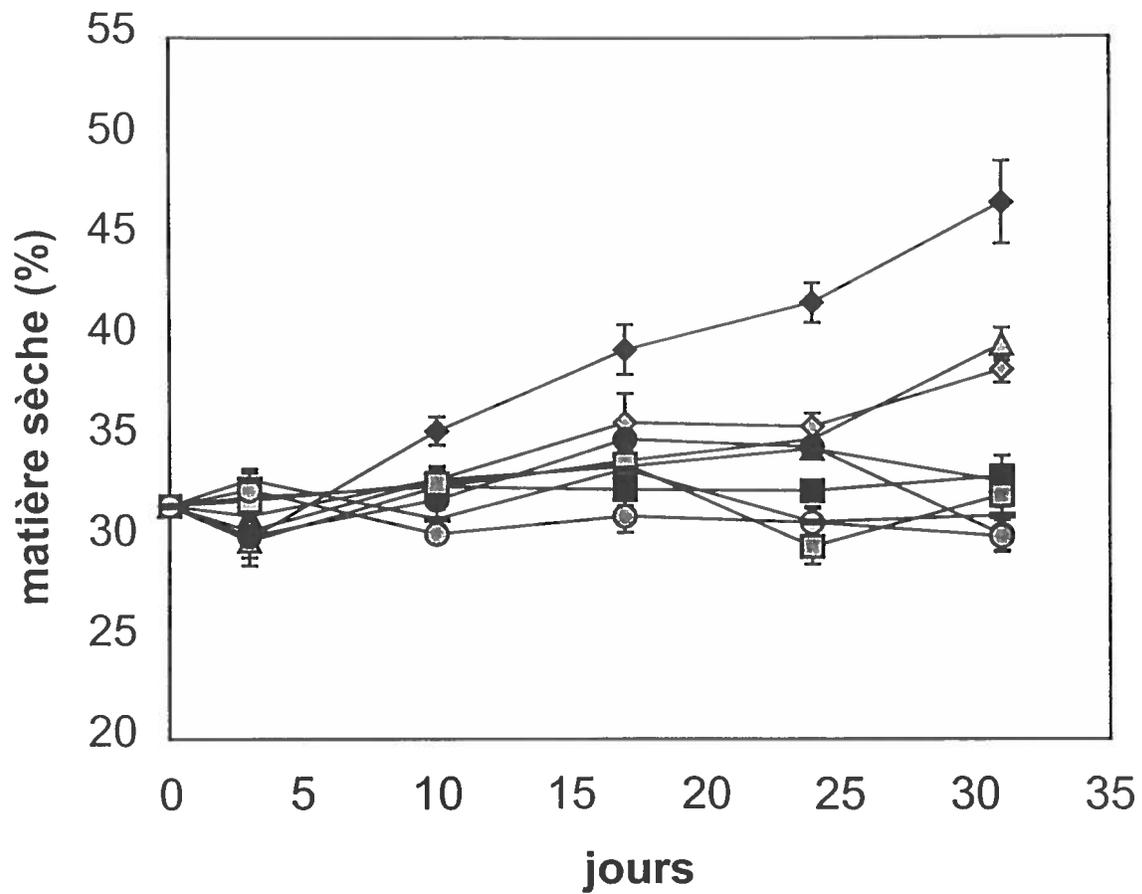


Figure 2. Effet du plastifiant sur le contenu en matière sèche de l'ensilage
 Non enrobé (◆), Glycérol 1.6% (■), Glycérol 8% (▲), Glycérol 16% (▲), Glycérol 32% (◆),
 Glycérol 6.4%/Sorbitol 1.6% (●), Glycérol 4.8%/Sorbitol 3.2% (■), Sorbitol 8% (●), Sans
 plastifiant (-)

4.1.2. Agents lipidiques

Les figures 3 et 4 ainsi que le tableau 6 montrent l'effet de l'ajout à la formule de base de cinq différents composés lipidiques sur le pH et le contenu en matière sèche de l'ensilage de fléole des prés. La composition initiale du fourrage avait un pH de 6 avec un contenu en matière sèche de 32.04%.

Le pH de l'ensilage pour tous les traitements est contenu dans le tableau 6 et à la figure 3. Le pH de l'ensilage diminue pour tous les traitements au cours des trois premiers jours d'entreposage. Une augmentation du pH dans l'ensilage non enrobé est observée à partir du 10^e jour alors que le pH de l'ensilage enrobé par les formulations d'enrobage contenant l'huile de canola et la cire candellila n'augmente qu'à partir du jour 24. Les autres formulations d'enrobage renfermant des agents lipidiques donnent des valeurs stables de pH tout le long de l'essai. Indépendamment du traitement, l'ensilage présente donc une diminution du pH de 6 à des valeurs variant entre 4.87 et 5.10 durant les trois premiers jours d'entreposage. Les formulations renfermant la cire candellila et la graisse de bœuf ont des valeurs de pH de l'ensilage significativement plus basses que les autres traitements ($p \leq 0.05$) au jour 3 avec un pH de 4.92 pour la cire candellila et de 4.87 pour la graisse de bœuf. Le jour 10 est caractérisé par l'augmentation du pH de l'ensilage non enrobé passant de 5.12 à 9.00 entre le 10^e et 17^e jours d'entreposage alors que les ensilages recouverts des différentes formulations d'enrobage présentent un pH stable durant 17 jours avec des valeurs de pH se situant entre 4.68 et 5.28 au jour 17. Entre le 24^e et 31^e jour d'entreposage, une augmentation du pH de l'ensilage de 5.09 à 7.51 est observée pour la formule d'enrobage contenant l'huile de canola ainsi qu'un changement du pH de 5.36 à 9.10 pour la formule renfermant la cire d'abeille. Les autres formulations contenant des agents lipidiques ont des valeurs de pH variant entre 4.61 et 5.11. Le pH de l'ensilage scellé par l'enrobage avec la graisse de bœuf devient significativement plus acide ($p \leq 0.05$) que les autres traitements dès le 24^e jour pour atteindre une valeur de pH au sein de l'ensilage de 4.61 au jour 31.

Le contenu en matière sèche est montré au tableau 6 et à la figure 4. Le niveau de matière sèche est stable pour tous les traitements durant les 17 premiers jours de conservation. Plus le taux de matière sèche tend à augmenter de façon importante à partir du 17^e jour d'entreposage dans l'ensilage non enrobé alors que les ensilages enrobés montrent une

augmentation significativement ($p \leq 0.05$) plus lente. Une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du pourcentage de matière sèche de l'ensilage non enrobé est donc observée entre le jour 17 et 24 passant de 30.50% à 49.55%. Indépendamment de la formulation de l'enrobage, l'ensilage enrobé montre une augmentation de la matière sèche entre le jour 17 et 24 significativement plus lent ($p \leq 0.05$) que l'ensilage non enrobé. Au jour 31, l'ensilage non enrobé présente un contenu significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que tous les ensilages enrobés avec un contenu final de 47.41%. Au jour 31, l'ensilage recouvert par l'enrobage contenant la cire candellila possède un niveau significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) en matière sèche avec 36.39% que les autres formulations contenant un composé lipidique. Les ensilages recouverts avec les enrobages contenant soit l'huile de canola, la cire d'abeille, le lard Crisco ou la graisse animale présentent des valeurs de matière sèche se situant entre 33.41% et 34.16% au jour 31.

Tableau 6. Valeur du pH et contenu en matière sèche de l'ensilage selon le type de lipide

Jours	Traitement	pH	MS (%)
0	Non enrobé	6.00 ± 0.07 ^{a3}	32.04 ± 1.84 ^{a1}
	Huile de canola	6.00 ± 0.07 ^{a3}	32.04 ± 1.84 ^{a2}
	Lard Crisco	6.00 ± 0.07 ^{a4}	32.04 ± 1.84 ^{a2}
	Cire d'abeille	6.00 ± 0.07 ^{a3}	32.04 ± 1.84 ^{a2,3}
	Cire candellila	6.00 ± 0.07 ^{a6}	32.04 ± 1.84 ^{a3}
	Graisse de bœuf	6.00 ± 0.07 ^{a4}	32.04 ± 1.84 ^{a1}
	sans lipide	6.00 ± 0.07 ^{a4}	32.04 ± 1.84 ^{a2}
3	Non enrobé	4.96 ± 0.06 ^{bc11}	31.71 ± 0.31 ^{bc1}
	Huile de canola	5.10 ± 0.03 ^{d2}	27.23 ± 0.53 ^{a2}
	Lard Crisco	5.10 ± 0.02 ^{d3}	30.49 ± 0.28 ^{bc3}
	Cire d'abeille	4.98 ± 0.07 ^{bc1}	30.76 ± 1.66 ^{bc1}
	Cire candellila	4.92 ± 0.08 ^{ab2}	29.33 ± 1.86 ^{ab2}
	Graisse de bœuf	4.87 ± 0.02 ^{a3}	32.03 ± 0.79 ^{c1}
	sans lipide	5.02 ± 0.04 ^{c2}	31.50 ± 0.06 ^{bc2}
10	Non enrobé	5.12 ± 0.05 ^{e2}	30.26 ± 0.19 ^{b1}
	Huile de canola	4.64 ± 0.08 ^{a1}	32.96 ± 0.39 ^{d2}
	Lard Crisco	4.97 ± 0.10 ^{c1}	34.13 ± 1.45 ^{e1,2}
	Cire d'abeille	5.06 ± 0.04 ^{de1}	28.39 ± 1.35 ^{a2}
	Cire candellila	5.00 ± 0.01 ^{cd3}	29.62 ± 0.63 ^{b1}
	Graisse de bœuf	4.66 ± 0.07 ^{a1,2}	31.60 ± 0.12 ^{e2,3}
	sans lipide	4.87 ± 0.11 ^{b1}	31.74 ± 0.61 ^{c1}
17	Non enrobé	9.00 ± 0.08 ^{e4}	30.5 ± 1.07 ^{bc1}
	Huile de canola	4.68 ± 0.18 ^{a1}	31.25 ± 0.10 ^{e2}
	Lard Crisco	5.03 ± 0.02 ^{c1,2,3}	31.21 ± 0.52 ^{e1,2}
	Cire d'abeille	5.03 ± 0.01 ^{c1}	30.40 ± 0.23 ^{bc2}
	Cire candellila	4.69 ± 0.02 ^{a1}	22.50 ± 1.61 ^{a1}
	Graisse de bœuf	4.82 ± 0.06 ^{b3}	32.57 ± 0.81 ^{d2,3}
	sans lipide	5.28 ± 0.08 ^{d3}	29.74 ± 1.10 ^{b1}
24	Non enrobé	9.30 ± 0.04 ^{f5}	44.95 ± 2.74 ^{e2}
	Huile de canola	5.09 ± 0.01 ^{c2}	32.88 ± 0.50 ^{a2}
	Lard Crisco	5.02 ± 0.02 ^{b1,2}	35.40 ± 1.33 ^{b4}
	Cire d'abeille	5.36 ± 0.11 ^{e2}	32.96 ± 1.70 ^{a3,4}
	Cire candellila	5.25 ± 0.08 ^{d5}	31.54 ± 0.29 ^{a3}
	Graisse de bœuf	4.72 ± 0.04 ^{a2}	33.01 ± 0.69 ^{a3}
	sans lipide	4.95 ± 0.02 ^{b1,2}	35.18 ± 0.49 ^{b3}
31	Non enrobé	9.30 ± 0.03 ^{f5}	47.41 ± 0.35 ^{e3}
	Huile de canola	7.51 ± 0.33 ^{d4}	33.50 ± 1.20 ^{a2}
	Lard Crisco	5.06 ± 0.04 ^{b2,3}	34.16 ± 0.45 ^{ab3}
	Cire d'abeille	9.10 ± 0.05 ^{e4}	33.41 ± 0.52 ^{a4}
	Cire candellila	5.11 ± 0.03 ^{b4}	36.39 ± 0.32 ^{c4}
	Graisse de bœuf	4.61 ± 0.02 ^{a1}	34.53 ± 0.71 ^{b4}
	sans lipide	5.31 ± 0.02 ^{c3}	37.34 ± 0.56 ^{d4}

^{a1} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différentes recettes au même jour d'analyse suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

¹⁻⁶ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes des différentes recettes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

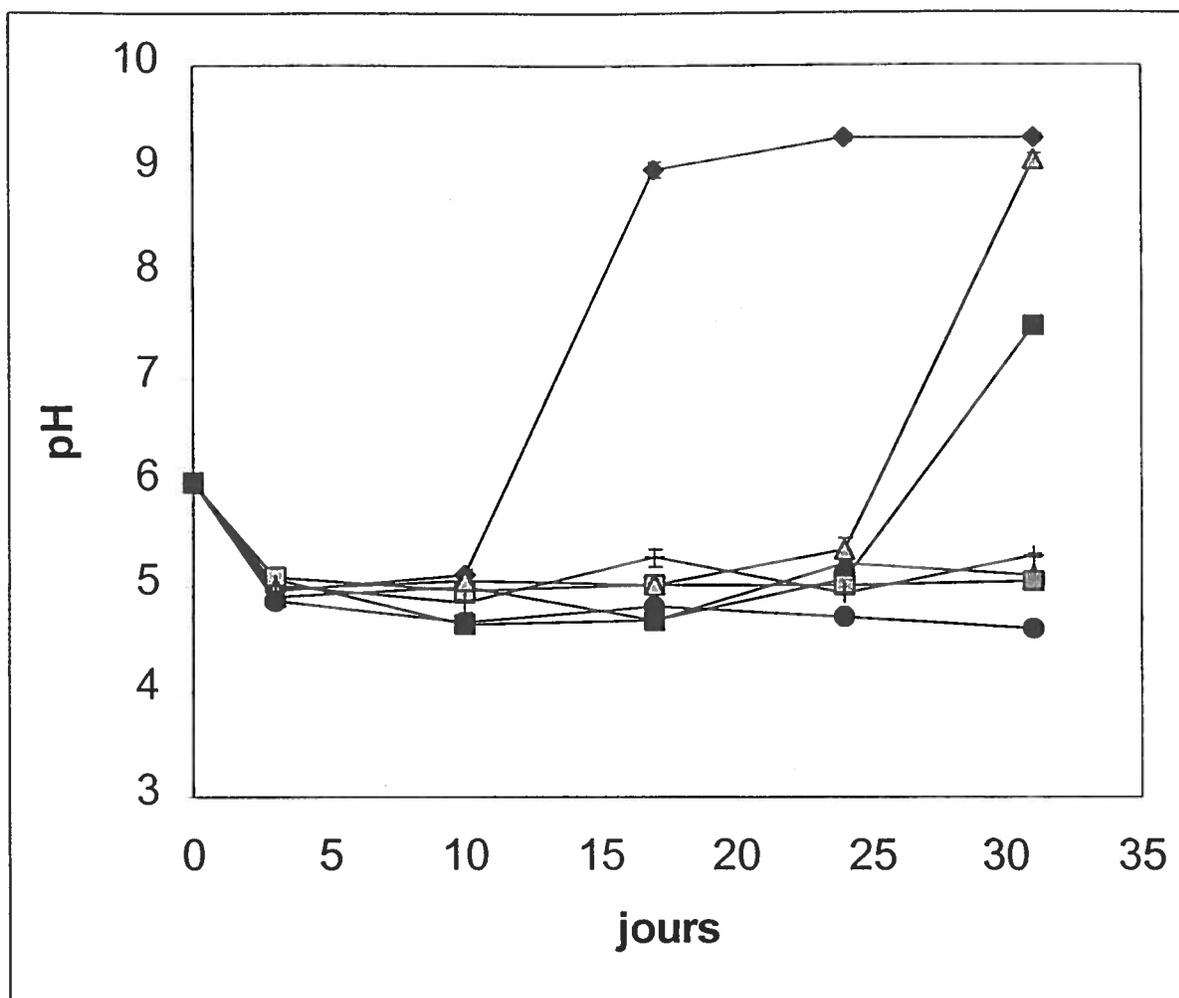


Figure 3. Effet de l'agent lipidique sur le pH de l'ensilage
 Non enrobé (◆), huile de canola (■), lard crisco (▲), cire d'abeille (▣), cire candellila (▴),
 graisse de bœuf (●), Sans lipide (+)

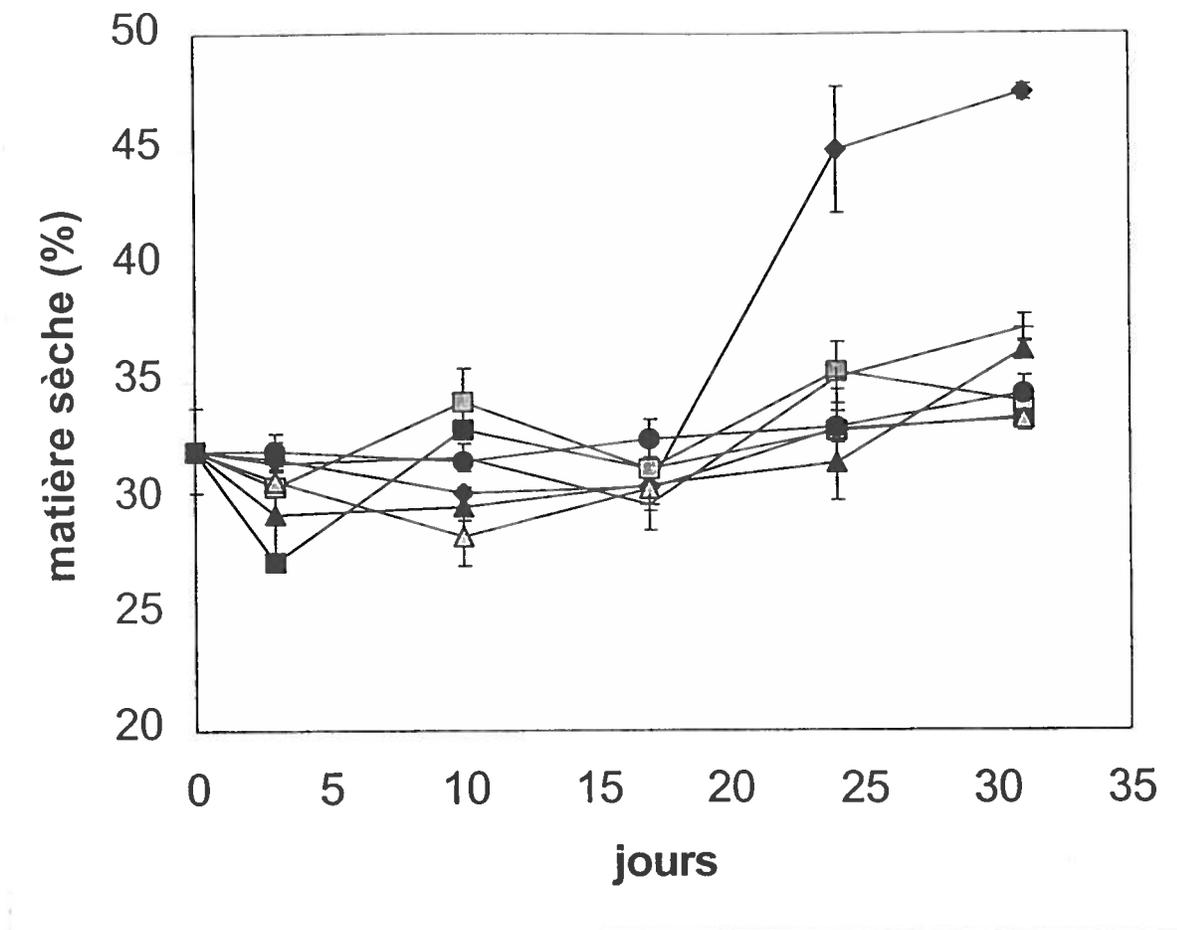


Figure 4. Effet de l'agent lipidique sur le contenu en matière sèche de l'ensilage
 Non enrobé (◆), huile de canola (■), lard crisco (▲), cire d'abeille (◼), cire candellila (△),
 graisse de bœuf (●), Sans lipide (+)

4.1.3. Composés épaississants

Les figures 5 et 6 ainsi que le tableau 7 présentent l'effet de l'ajout de quatre différents composés épaississants à la formule de base sur le pH et le contenu en matière sèche de l'ensilage de fléole des prés. La composition initiale du fourrage avait un pH de 5.79 avec un contenu en matière sèche de 31.63%.

Les résultats de pH des ensilages sont présentés dans le tableau 7 ainsi qu'à la figure 5. Les résultats montrent que pour tous les traitements le pH de l'ensilage diminue dans les trois premiers jours. Par la suite, le pH de l'ensilage non enrobé augmente dès le 3^e jour alors que celui de l'ensilage traité avec des enrobages contenant la fécule de maïs, la poudre de foin et celle sans agent épaississant augmente à partir du jour 10. Toutefois, le pH de l'ensilage enrobé par les formules renfermant la poudre d'ensilage fine et celle contenant la poudre d'ensilage grossière reste stable pendant 17 jours de conservation. Les trois premiers jours d'entreposage sont donc caractérisés par une diminution du pH de 5.79 à des valeurs se situant entre 4.99 et 5.58 dans l'ensilage et ce, pour tous les traitements. Une augmentation du pH de l'ensilage non enrobé est observée entre le 3^e et 10^e jour d'entreposage passant de 5.58 à 8.68. Cette valeur de pH est significativement ($p \leq 0.05$) plus élevée que les ensilages enrobés tout le long de l'expérience. Au niveau des ensilages enrobés, le pH reste stable jusqu'au jour 10 à des valeurs variant de 4.81 à 5.08. À partir du jour 10, une augmentation du pH de 4.93, 5.08 et 4.81 est observée respectivement dans l'ensilage recouvert par les formules d'enrobage contenant la fécule de maïs, la poudre de foin et celle sans agent épaississant pour atteindre au jour 17 des pH respectifs de 6.54, 7.46 et 5.42. Les formules contenant la poudre d'ensilage fine et grossière permettent une stabilité du pH à des valeurs respectives de 4.74 et 4.85 jusqu'au jour 17. Ces dernières valeurs sont significativement plus acides ($p \leq 0.05$) que les autres formulations d'enrobages. L'ensilage recouvert par la formulation renfermant la poudre d'ensilage fine présente au terme de l'expérience au jour 31 un pH significativement plus bas ($p \leq 0.05$) atteignant une valeur de 6.08 au jour 31. L'ensilage non enrobé montre un pH de 9.34 et est significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que le pH des ensilages enrobés.

Le contenu en matière sèche est présenté au tableau 7 et à la figure 6. L'ensilage enrobé par les formules contenant la fécule de maïs et la poudre de foin présente un contenu en matière sèche relativement constant alors que les autres traitements montrent une augmentation graduelle de leur contenu en matière sèche dès le début de la période d'entreposage. En effet dès les trois premiers jours d'entreposage, le taux de matière sèche est significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) au niveau de l'ensilage non enrobé atteignant une valeur de 35.26% au jour 3 par rapport à l'ensilage enrobé dont les valeurs se situent entre 29.84 et 33.27%. Ce pourcentage de matière sèche dans l'ensilage non enrobé reste relativement constant à 36.39% jusqu'au jour 31. À partir du jour 3, le contenu en matière sèche de l'ensilage recouvert de l'enrobage ne contenant pas d'agent épaississant augmente avec le temps et est significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que les autres formulations d'enrobages avec un contenu final de 37.98% de matière sèche au jour 31. Seule la poudre de foin présente une stabilité du pourcentage de matière sèche avec un niveau final de 31.42% au jour 31. Les autres formulations sont significativement semblables ($p > 0.05$) avec un contenu en matière sèche variant de 34.83% à 35.17% au jour 31.

Tableau 7. Valeur du pH et contenu en matière sèche de l'ensilage selon le type d'épaississant

Jours	Traitement	pH	MS (%)
0	Non enrobé	5.79 ± 0.10 ^{a2}	31.63 ± 0.19 ^{b1}
	Poudre fine d'ensilage	5.79 ± 0.10 ^{a5}	31.63 ± 0.19 ^{b2}
	Poudre grossière d'ensilage	5.79 ± 0.10 ^{a4}	31.63 ± 0.19 ^{b2}
	Fécule de maïs	5.79 ± 0.10 ^{a3}	31.63 ± 0.19 ^{b2,3}
	Poudre de foin	5.79 ± 0.10 ^{a2}	31.63 ± 0.19 ^{b3}
	sans épaississant	5.79 ± 0.10 ^{a4}	31.63 ± 0.19 ^{b1}
3	Non enrobé	5.58 ± 0.07 ^{c1}	35.26 ± 1.67 ^{c1}
	Poudre fine d'ensilage	5.03 ± 0.06 ^{a3}	31.99 ± 0.04 ^{b1}
	Poudre grossière d'ensilage	4.99 ± 0.08 ^{a2}	31.55 ± 0.69 ^{b1}
	Fécule de maïs	5.06 ± 0.03 ^{a2}	29.84 ± 1.64 ^{a2}
	Poudre de foin	5.04 ± 0.06 ^{a1}	31.94 ± 0.27 ^{b2}
	sans épaississant	5.18 ± 0.04 ^{b2}	33.27 ± 1.98 ^{b1,2}
10	Non enrobé	8.68 ± 0.19 ^{d3}	31.58 ± 0.86 ^{b1}
	Poudre fine d'ensilage	4.94 ± 0.09 ^{b2}	33.46 ± 0.99 ^{d3}
	Poudre grossière d'ensilage	4.93 ± 0.06 ^{b1,2}	32.06 ± 0.23 ^{bc3}
	Fécule de maïs	4.93 ± 0.03 ^{b1}	31.56 ± 0.34 ^{b1}
	Poudre de foin	5.08 ± 0.09 ^{c1}	30.53 ± 0.09 ^{a2}
	sans épaississant	4.81 ± 0.06 ^{a1}	32.54 ± 0.55 ^{c1}
17	Non enrobé	9.04 ± 0.03 ^{c4}	36.36 ± 1.09 ^{c1}
	Poudre fine d'ensilage	4.74 ± 0.09 ^{a1}	35.56 ± 0.83 ^{bc2}
	Poudre grossière d'ensilage	4.85 ± 0.13 ^{a1}	35.92 ± 0.93 ^{d1,2}
	Fécule de maïs	6.54 ± 0.12 ^{c4}	29.19 ± 1.01 ^{a2}
	Poudre de foin	7.46 ± 0.18 ^{d3}	33.81 ± 1.55 ^{b1}
	sans épaississant	5.42 ± 0.05 ^{b3}	34.64 ± 1.34 ^{bc2,3}
24	Non enrobé	9.32 ± 0.03 ^{b5}	31.09 ± 0.82 ^{a2}
	Poudre fine d'ensilage	5.63 ± 0.02 ^{b4}	34.14 ± 0.51 ^{b3}
	Poudre grossière d'ensilage	5.33 ± 0.03 ^{a3}	33.81 ± 0.43 ^{b4}
	Fécule de maïs	7.16 ± 0.04 ^{c5}	34.49 ± 0.75 ^{b3,4}
	Poudre de foin	7.2 ± 0.07 ^{d2}	31.15 ± 0.07 ^{a3}
	sans épaississant	6.67 ± 0.07 ^{c5}	33.96 ± 0.16 ^{b3}
31	Non enrobé	9.34 ± 0.04 ^{c5}	36.39 ± 0.29 ^{c3}
	Poudre fine d'ensilage	6.08 ± 0.02 ^{a6}	35.17 ± 0.15 ^{b3}
	Poudre grossière d'ensilage	6.9 ± 0.04 ^{b5}	34.92 ± 0.07 ^{b3}
	Fécule de maïs	7.48 ± 0.04 ^{c6}	34.83 ± 0.54 ^{b4}
	Poudre de foin	7.99 ± 0.11 ^{d4}	31.42 ± 0.21 ^{a4}
	sans épaississant	6.86 ± 0.09 ^{b6}	37.98 ± 0.66 ^{d4}

^{a-1} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différentes recettes au même jour d'analyse suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

¹⁻⁶ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

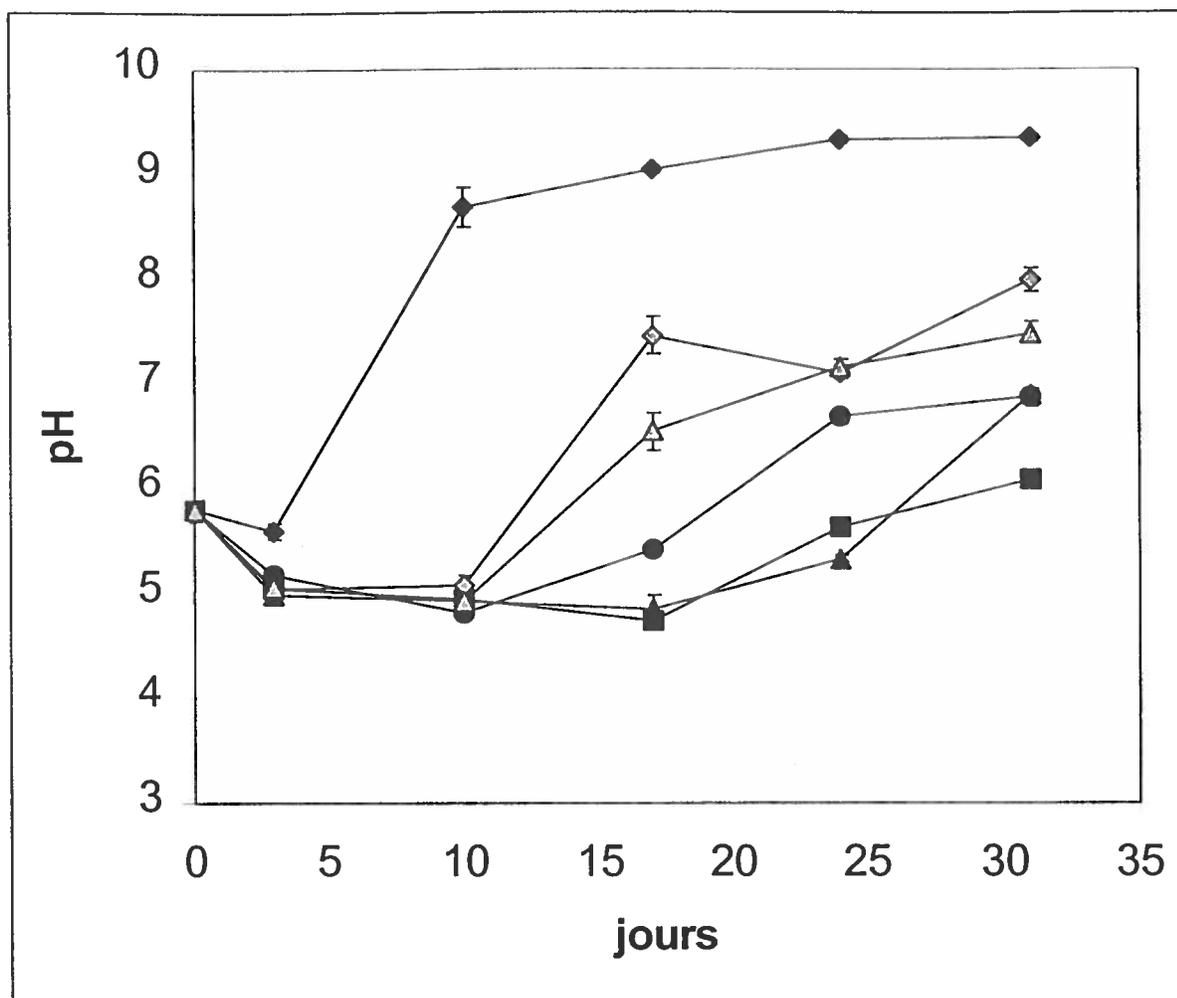


Figure 5. Effet de l'épaississant sur le pH de l'ensilage

Non enrobé (◇), poudre fine d'ensilage (■), poudre grossière d'ensilage (▲), fécula de maïs (△), poudre de foin (◆), Sans épaisissant (●)

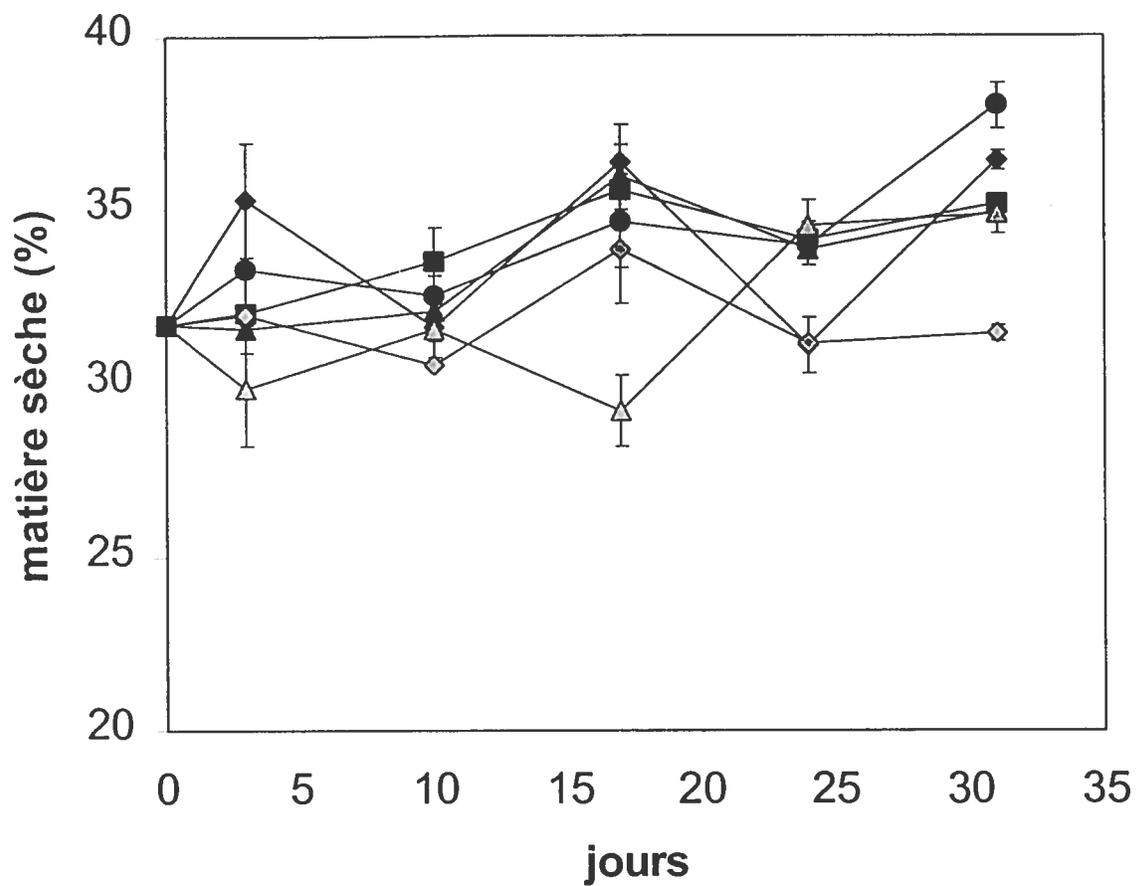


Figure 6. Effet de l'épaississant sur le contenu en matière sèche de l'ensilage
Non enrobé (◆), poudre fine d'ensilage (■), poudre grossière d'ensilage (▲), féculé de maïs (▲), poudre de foin (◆), Sans épaississant (●)

4.2. Importance du revêtement

La combinaison des composants plastifiants, épaississants, et lipidiques retenus dans la section précédente pour leur efficacité à maintenir un pH acide et sur la conservation stable de la matière sèche au sein de l'ensilage a été évaluée. Les agents retenus sont le glycérol 32%, la graisse de bœuf 8.5% et la poudre grossière d'ensilage 1.72%. La mise au point d'une couche hydrophobe semblait nécessaire pour le maintien d'un pH acide et sur la conservation stable de la matière sèche au sein de l'ensilage. La formulation du revêtement 1 est présentée dans la section 3.2.

Les résultats de pH et de pourcentage de matière sèche de l'ensilage de fléole des prés sont présentés dans les figures 7 et 8 ainsi que le tableau 8. Le pH initial du fourrage était de 7.05 avec un contenu en matière sèche de 28.64%.

Les valeurs de pH présentées au tableau 8 et à la figure 7 montrent une diminution du pH pour les ensilages enrobés dans la première semaine de conservation alors que les ensilages non enrobés montrent une augmentation de pH. Le pH de l'ensilage enrobé reste stable durant tout l'essai sauf pour l'ensilage recouvert uniquement du revêtement qui présente une augmentation du pH à partir du 21^e jour de conservation. La première semaine de conservation est donc caractérisée par l'augmentation significative ($p \leq 0.05$) du pH de l'ensilage non enrobé de 7.05 à 8.62. Durant cette première semaine d'entreposage, le pH des ensilages enrobés uniquement, enrobés et recouvert du revêtement ou recouvert seulement du revêtement diminue à des valeurs respectives de 4.81, 4.71 et 4.88. L'ensilage enrobé et recouvert du revêtement présente un pH significativement ($p \leq 0.05$) plus acide au jour 7 par rapport aux autres traitements. Ce pH basique de l'ensilage non enrobé à une valeur de 8.62 au 7^e jour d'entreposage reste stable et élevée jusqu'à la fin de l'expérience avec une valeur de pH de 8.99 au jour 28. L'ensilage recouvert seulement par le revêtement maintient un pH acide durant 21 jours (pH de 4.59 au jour 21) et atteint une valeur finale de pH de 8.78 au jour 28 alors que l'ensilage enrobé uniquement ou enrobé et recouvert du revêtement, maintiennent un pH acide jusqu'au terme de l'expérience au jour 28. Au 28^e jour d'entreposage, l'ensilage enrobé et, l'ensilage enrobé et recouvert de revêtement, présentent des valeurs de pH significativement plus acide comparativement aux quatre autres traitements avec respectivement des pH de 4.56 et de 4.47.

Le pourcentage de matière sèche est présenté dans le tableau 8 et à la figure 8. L'ensilage non enrobé montre une augmentation du contenu en matière sèche dès le début de la période d'entreposage alors que l'ensilage enrobé retarde l'augmentation du niveau de matière sèche de l'ensilage jusqu'au jour 17. Par contre, les ensilages enrobés et recouverts du revêtement ainsi que les ensilages recouverts par le revêtement uniquement présentent un contenu en matière sèche relativement stable durant tout l'essai. Une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du contenu en matière sèche est donc observée pour les ensilages non enrobés passant d'une valeur de 28.79% à 37.19% entre le 14^e et le 21^e jour d'entreposage. L'ensilage enrobé montre également une augmentation de son pourcentage de matière sèche de 31.04% à 35.18% entre le jour 7 et 14. Toutefois, ce niveau reste stable jusqu'au jour 28 avec 36.81%. L'application d'un revêtement sur l'ensilage enrobé permet de maintenir stable le contenu en matière sèche durant 21 jours passant de 28.64% à 29.14% de matière sèche entre le jour 0 et 21. Cet ensilage présente une valeur finale de 34.43% de matière sèche. Le revêtement appliqué uniquement sur l'ensilage présente une diminution du niveau de matière sèche pour atteindre une valeur significativement inférieure ($p \leq 0.05$) de 30.22% au jour 28.

Tableau 8. Valeur du pH et contenu en matière sèche de l'ensilage selon le traitement

Jours	Traitement	pH	MS (%)
0	Non enrobé	7.05 ± 0.07^{a1}	28.64 ± 1.94^{a1}
	Enrobage	7.05 ± 0.07^{a3}	28.64 ± 1.94^{a1}
	Enrobage + Revêtement	7.05 ± 0.07^{a5}	28.64 ± 1.94^{a1}
	Revêtement	7.05 ± 0.07^{a4}	$28.64 \pm 1.94^{a2,3}$
7	Non enrobé	8.62 ± 0.09^{c2}	26.49 ± 2.97^{a1}
	Enrobage	4.81 ± 0.04^{b2}	31.04 ± 0.67^{c2}
	Enrobage + Revêtement	4.71 ± 0.03^{a4}	29.67 ± 0.77^{bc1}
	Revêtement	4.88 ± 0.05^{b3}	$29.13 \pm 0.71^{b2,3}$
14	Non enrobé	8.84 ± 0.06^{c3}	28.79 ± 1.93^{abc1}
	Enrobage	4.73 ± 0.56^{b2}	35.18 ± 1.30^{d3}
	Enrobage + Revêtement	4.57 ± 0.04^{a3}	29.77 ± 0.35^{bc1}
	Revêtement	4.74 ± 0.02^{b2}	28.04 ± 0.29^{a2}
21	Non enrobé	8.87 ± 0.10^{d3}	37.45 ± 2.73^{c2}
	Enrobage	4.48 ± 0.08^{b1}	36.95 ± 1.57^{c3}
	Enrobage + Revêtement	4.40 ± 0.03^{a1}	29.14 ± 0.33^{b1}
	Revêtement	4.59 ± 0.04^{c1}	26.97 ± 0.79^{a1}
28	Non enrobé	8.99 ± 0.12^{c4}	37.19 ± 0.99^{c2}
	Enrobage	4.56 ± 0.16^{a1}	36.81 ± 1.07^{c3}
	Enrobage + Revêtement	4.47 ± 0.07^{a2}	34.43 ± 0.83^{bc2}
	Revêtement	8.78 ± 0.10^{b5}	30.22 ± 2.24^{a3}

^{a-d} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différentes recettes au même jour d'analyse suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

¹⁻⁵ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

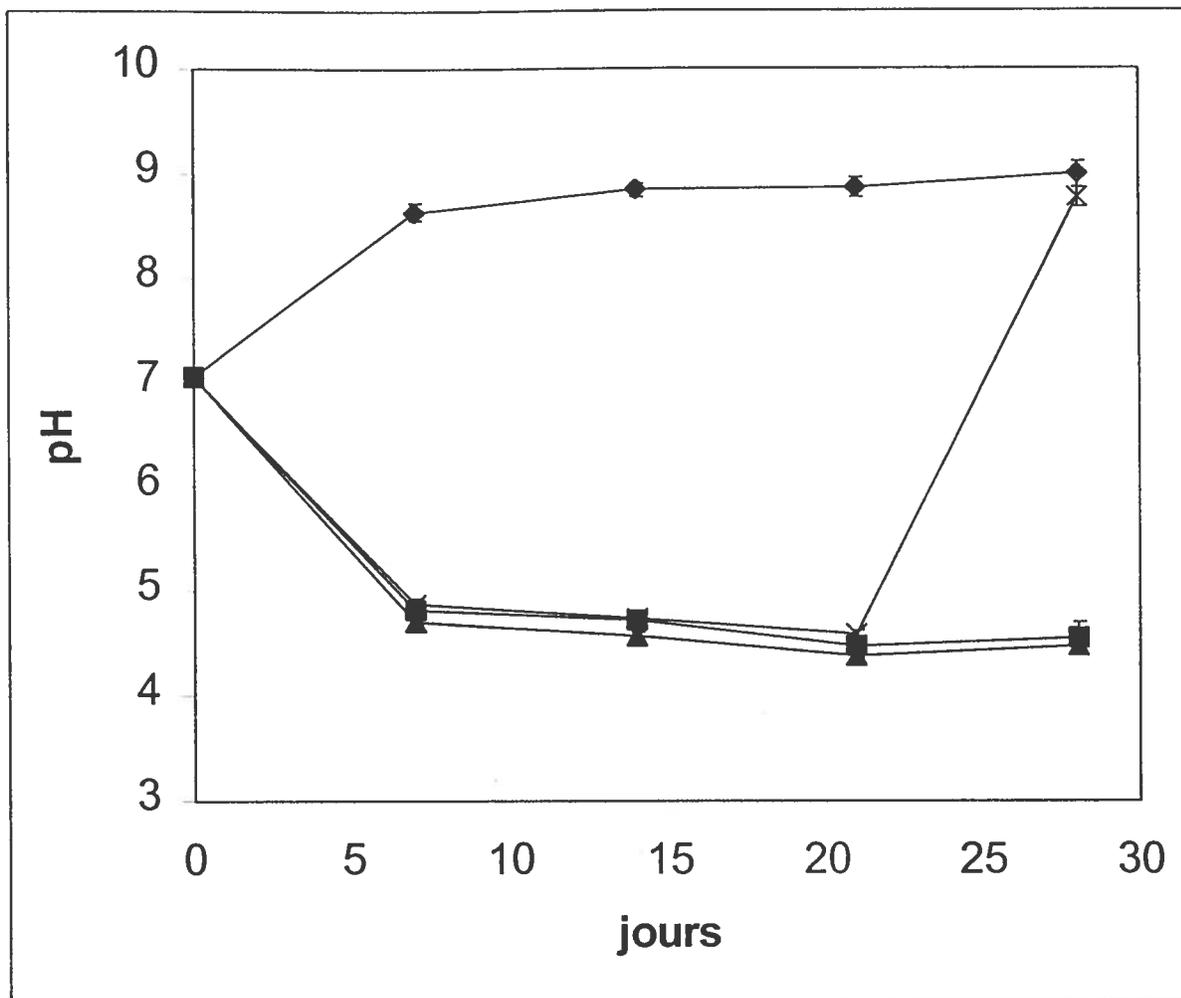


Figure 7. Valeur du pH de l'ensilage selon le traitement
Non enrobé (◆), enrobage (■), enrobage + revêtement (▲), revêtement (×)

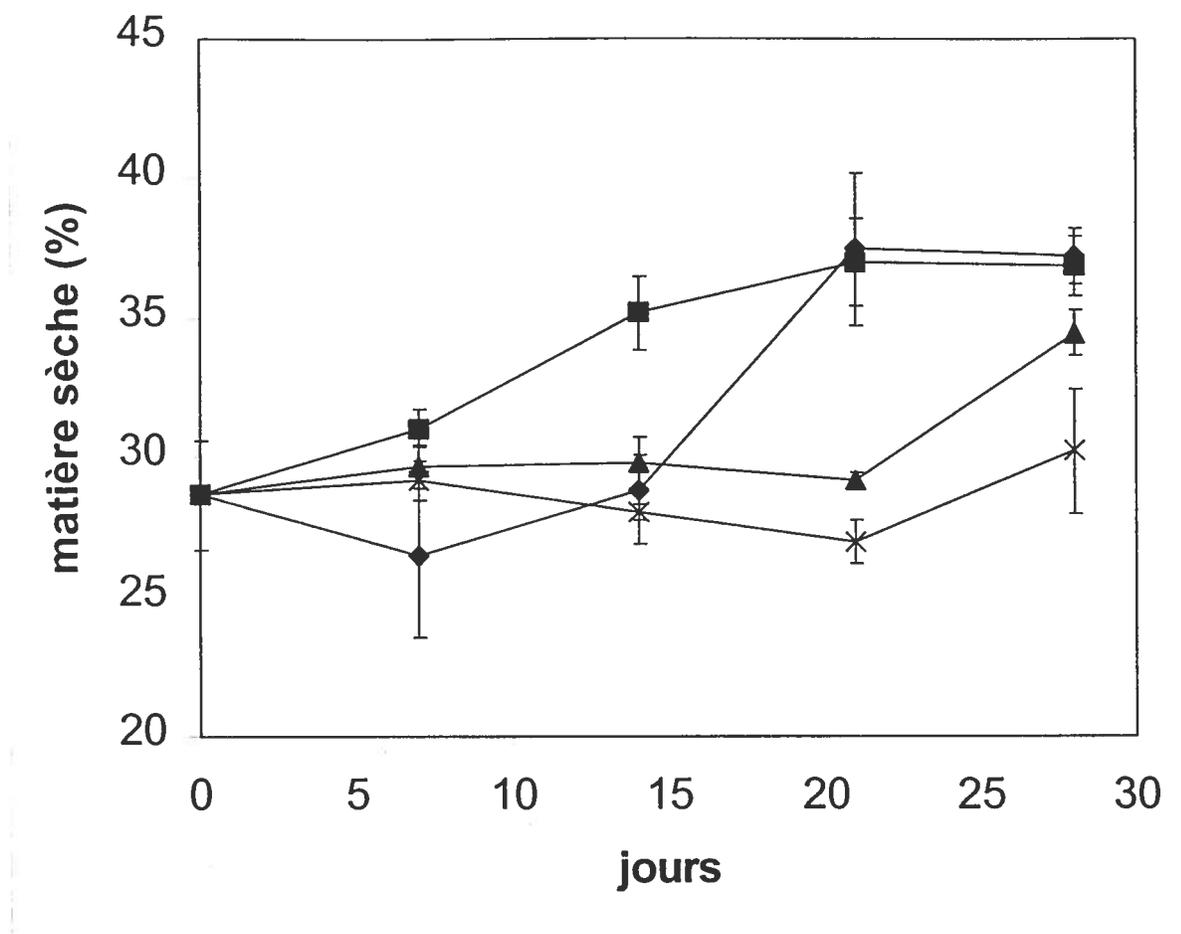


Figure 8. Contenu en matière sèche de l'ensilage selon le traitement
Non enrobé (◆), enrobage (■), enrobage + revêtement (▲), revêtement (×)

4.3. Bioenrobage 1

4.3. Bioenrobage 1

L'enrobage plus hydrophobe formulé comme couche de revêtement et appliquée sur l'enrobage dans la section 4.2 a été évalué sur une plus longue période d'entreposage. L'ensemble formé par l'enrobage et le revêtement sera désigné maintenant sous le nom de bioenrobage 1. La formulation du bioenrobage 1 est présentée dans la section 3.2.

4.3.1. Analyses biochimiques

Le fourrage avait la composition initiale suivante: un pH de 6.31, un pourcentage de matière sèche de 33.49%, un contenu en sucres solubles dans l'eau présent dans l'ensilage de 5.24% ms, un niveau d'azote ammoniacal de 0.44 % d'azote total (N tot), un contenu en acides organiques de 5.89% ms pour l'acide lactique, 4.51% ms pour l'acide acétique, 0.77% MS pour l'acide propionique. Aucun acide butyrique n'a été détecté au début de l'expérience.

Le pH de l'ensilage traité par les trois traitements est présenté dans le tableau 9a et à la figure 9. Au cours de l'entreposage, une augmentation significative du pH de l'ensilage non enrobé est observée ($p \leq 0.05$) de 6.31 à 6.76 pendant les trois premiers jours comparativement à un pH de 4.68 pour l'ensilage protégé par le bioenrobage et à un pH de 4.70 pour l'ensilage protégé par le plastique. L'ensilage non enrobé présente une valeur de pH significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) que les ensilages scellés avec le plastique et le bioenrobage tout le long de l'expérience passant de 6.31 à 7.57 entre le jour 0 et 80. Le bioenrobage et le plastique présente un pH de l'ensilage stable durant 38 jours à une valeur passant respectivement de 6.31 à 4.58 et 4.52 entre le jour 0 et 38. Une augmentation de pH de l'ensilage recouvert par le bioenrobage est observée après le jour 38 montrant un pH de 5.99 au jour 66 et un pH de 8.95 au jour 80. Le pH de l'ensilage recouvert par le plastique reste stable tout le long de l'entreposage jusqu'au terme de l'expérience au jour 80.

Les résultats du contenu en matière sèche, figurant au tableau 9a et à la figure 10, montrent que l'ensilage non enrobé présente un pourcentage de matière sèche significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que le plastique et le bioenrobage dès le début de l'expérience. De plus, le pourcentage de matière sèche dans l'ensilage non enrobé augmente

graduellement au cours de l'entreposage et se stabilise à un niveau de 88,96 % au jour 80. Le contenu en matière sèche de l'ensilage scellé par le film de plastique et le bioenrobage est stable durant 45 jours présentant des valeurs respectives de 30.15% et 33.62% au jour 45. Une augmentation est observée après le jour 45 au niveau de l'ensilage enrobé du bioenrobage alors que celui scellé par le plastique conserve son contenu stable de matière sèche pendant toute la période d'entreposage. L'ensilage enrobé du bioenrobage atteint un niveau final significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) de matière sèche avec une valeur de 60.81% au terme de l'expérience par rapport au film de plastique où le contenu en matière sèche est de 28.58% au jour 80.

Les valeurs du contenu en sucres solubles sont présentées à la figure 11 et dans le tableau 9a. Les valeurs montrent une diminution du contenu en sucres durant toute la durée d'entreposage pour tous les traitements. Aucune différence significative ($p > 0.05$) n'est observée au niveau des sucres entre le plastique et le bioenrobage durant les trois premiers jours. Au jour 0, le contenu en sucres pour le plastique et le bioenrobage est de 5.24% ms et descend à 2.9% ms pour les mêmes traitements. Toutefois en comparant ces derniers à l'ensilage non enrobé, une différence significative ($p \leq 0.05$) est observée au jour 3 alors que la valeur en sucres est de 3.42% ms dans l'ensilage non enrobé. La diminution en sucres survenant au sein des ensilages non enrobés continue après dix jours atteignant 2.86% ms au jour 10. Les ensilages scellés par le plastique ou le bioenrobage voient leur contenu en sucres augmenter respectivement à 7.17% et 4.00% ms entre le jour 0 et 10. À partir du jour 45, le contenu en sucres solubles dans l'eau dans l'ensilage recouvert par le plastique est significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que l'ensilage enrobé du bioenrobage et non enrobé avec des valeurs respectives de 0.45% MS, 0.33% ms et de 0.15% ms au terme de l'essai.

Les résultats du contenu en azote ammoniacal sont présentés à la figure 12 et dans le tableau 9a. Dans tous les traitements, une augmentation du niveau d'azote ammoniacal est observée dans l'ensilage suivie d'une stabilisation du contenu. L'ensilage non enrobé présente une augmentation significativement ($p \leq 0.05$) plus importante de l'azote ammoniacal que les autres traitements durant les 17 premiers jours avec une concentration maximale de 27.04% N tot par rapport au plastique et au bioenrobage où le contenu respectif en azote ammoniacal est de 14.01% N tot et de 13.09% N tot au jour 17. Ces contenus en azote ammoniacal augmentent graduellement dans les échantillons d'ensilage scellés par le plastique, avec une

valeur finale au terme de l'entreposage de 20.00% N tot au jour 80. Ce niveau dans l'ensilage enrobé du bioenrobage diminue à partir du jour 38 pour atteindre un niveau final significativement inférieure ($p \leq 0.05$) au plastique avec une valeur de 3.20% N tot au jour 80.

Le niveau d'acide lactique présent dans l'ensilage pour les différents traitements figurent au tableau 9b et à la figure 13. Une augmentation de l'acide lactique dans l'ensilage est observée jusqu'au 10^e jour de conservation pour l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage, suivie d'une diminution graduelle jusqu'au jour 80. L'ensilage non enrobé présente une diminution continue en acide lactique pendant tout l'entreposage. Le contenu en acide lactique de l'ensilage non enrobé passe de 5.89% ms à 1.34% ms en dix jours d'entreposage alors que les ensilages scellés par le plastique et le bioenrobage montrent une augmentation du contenu en acide. Au jour 10, le niveau d'acide lactique dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage est respectivement de 10.94% ms et de 9.71% ms. Le contenu en acide lactique dans le témoin non enrobé tend à disparaître à partir du jour 45. Les résultats montrent que l'ensilage scellé avec le plastique renferme un taux significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) d'acide lactique que l'ensilage enrobé du bioenrobage au jour 45. Le contenu en acide lactique dans l'ensilage scellé par le plastique et le bioenrobage diminue dans le temps donnant une quantité respective de 3.06% ms et de 0.50% ms au jour 80.

Le contenu en acide acétique se trouve au tableau 9b et à la figure 14. Dès les trois premiers jours, l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage montre une augmentation en acide acétique suivi d'une diminution plus marquée au niveau de l'ensilage scellé par le bioenrobage que par rapport au plastique. L'ensilage non enrobé présente une diminution constante du contenu en acide acétique. Dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage, des valeurs respectives de 10.54 et 10.42% ms d'acide acétique est observée dans les trois premiers jours de conservation comparativement à 3.58% ms pour l'ensilage non enrobé. Ce niveau d'acide acétique tend à être relativement stable pendant 66 jours pour le plastique passant de 10.54 à 9.11% ms entre le jour 3 et 66. L'ensilage enrobé du bioenrobage voit son contenu diminuer dans le temps à des valeurs de 3.03% ms et 0.10% ms au jour 24 et 59. L'ensilage enrobé du bioenrobage présente une valeur finale de 0.47% ms au jour 80. Aucun acide n'a été détecté au jour 80 dans l'ensilage non enrobé.

Le contenu en acide propionique est présenté à la figure 15 et au tableau 9b et montre que l'ensilage non enrobé présente un niveau d'acide propionique relativement constant alors que la présence de cet acide est détectée seulement à partir respectivement du 24^e et du 45^e jour d'entreposage pour l'ensilage scellé avec le bioenrobage et le plastique. Le contenu en acide propionique dans l'ensilage non enrobé est stable pendant 38 jours présentant une valeur significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) au jour 80 de 3.23% ms par rapport à l'ensilage recouvert de plastique ou de bioenrobage. L'ensilage protégé par le bioenrobage voit son contenu en acide propionique augmenter à partir du jour 24 pour atteindre un niveau significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que le plastique au jour 80 avec un contenu de 1.39% ms comparativement au plastique où la valeur est de 0.27% ms.

Le tableau 9b et la figure 16 présentent le contenu en acide butyrique de l'ensilage selon les traitements. L'ensilage non enrobé présente une augmentation du niveau d'acide butyrique durant les 17 premiers jours suivie d'une diminution graduelle du contenu en acide. La présence de l'acide butyrique est détectée à partir respectivement du 24^e et du 45^e jour d'entreposage pour l'ensilage scellé avec le bioenrobage et le plastique. La présence de l'acide butyrique est significativement plus importante ($p \leq 0.05$) dans l'ensilage non enrobé passant de 0 à 3.51% ms dans les deux premières semaines. Les ensilages scellés ne présentent pas de cet acide tant au niveau du plastique que du bioenrobage durant la même période. L'ensilage enrobé présente une augmentation d'acide butyrique à partir du jour 24. Le contenu en acide butyrique dans l'ensilage enrobé est significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) à celui retrouvé dans l'ensilage recouvert de plastique au jour 80 avec des valeurs respectives de 1.58% ms et 0.35% ms. Le témoin non enrobé présente au jour 80 un contenu en acide butyrique de 6.23% ms. Cette valeur est significativement supérieure ($p \leq 0.05$) aux valeurs retrouvées dans l'ensilage scellé avec le plastique ou avec le bioenrobage.

Tableau 9a Paramètres biochimiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 1.

Jours	Traitement	pH	MS (%)	Sucres (% ms)	N amm (% N tot)
0	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	6.31±0.02 ^{a1}	33.49±0.79 ^{a2}	5.24±0.26 ^{a1}	0.44±0.06 ^{a6}
		6.31±0.02 ^{a6}	33.49±0.79 ^{a6}	5.24±0.26 ^{a1}	0.44±0.06 ^{a6}
		6.31±0.02 ^{a6}	33.49±0.79 ^{a2}	5.24±0.26 ^{a1}	0.44±0.06 ^{a5}
3	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	6.76±0.15 ^{b2}	33.84±0.66 ^{b2}	3.42±0.23 ^{b2,3}	9.66±0.67 ^{c5}
		4.68±0.02 ^{a3}	30.75±0.75 ^{a3,4,5}	2.91±0.21 ^{a2}	0.38±0.10 ^{a4}
		4.70±0.04 ^{a3}	31.09±1.18 ^{a1}	2.93±0.10 ^{a1}	1.09±0.43 ^{b3}
10	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	8.76±0.11 ^{b7}	44.05±0.89 ^{c4}	2.86±0.04 ^{a4}	20.38±1.67 ^{c4}
		4.52±0.03 ^{a1,2}	30.00±0.67 ^{a3}	7.14±0.05 ^{c1}	3.32±0.39 ^{b7}
		4.53±0.03 ^{a1}	31.25±1.02 ^{b1}	4.00±0.06 ^{b1}	1.17±0.15 ^{a4}
17	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	8.89±0.07 ^{c8}	30.83±1.71 ^{a1}	3.25±0.13 ^{a5}	27.04±3.93 ^{b5}
		4.52±0.05 ^{a1,2}	31.14±0.32 ^{a5}	3.65±0.05 ^{b3}	14.01±0.85 ^{a5}
		4.59±0.03 ^{b1,2}	32.15±0.71 ^{b1}	3.77±0.12 ^{b2}	13.09±0.70 ^{a4}
24	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	8.87±0.08 ^{c8}	38.74±2.00 ^{c3}	1.85±0.23 ^{a4}	21.46±0.84 ^{c3}
		4.51±0.02 ^{a1}	29.28±0.42 ^{a2}	1.96±0.25 ^{a4,5}	18.45±2.77 ^{b3}
		4.74±0.09 ^{b3}	34.32±1.28 ^{b2,3}	3.03±0.57 ^{b2}	13.68±0.31 ^{a3}
31	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	8.72±0.10 ^{b7}	45.60±2.44 ^{c4}	1.83±0.43 ^{a5}	26.19±2.08 ^{b4}
		4.54±0.08 ^{a1,2}	30.85±0.63 ^{a4,5}	2.19±0.23 ^{b3,4}	16.39±0.82 ^{a3}
		4.63±0.08 ^{a2}	35.40±0.73 ^{b3}	2.85±0.24 ^{c4}	17.81±0.72 ^{c2}
38	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	8.50±0.16 ^{b6}	56.25±3.03 ^{c5}	1.19±0.18 ^{a3}	11.09±0.75 ^{a2}
		4.58±0.05 ^{a2}	30.35±1.68 ^{a3,4}	2.08±0.27 ^{b3}	13.64±0.86 ^{b3}
		4.52±0.04 ^{a1}	34.38±0.84 ^{b2,3}	2.22±0.82 ^{b2}	10.65±1.36 ^{a2}
45	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	7.81±0.06 ^{c4}	84.21±1.30 ^{c7}	0.99±0.04 ^{a2,3}	8.45±0.52 ^{a2}
		4.50±0.04 ^{a1}	30.15±0.28 ^{a3,4}	2.74±0.07 ^{b5}	21.54±1.92 ^{c4}
		4.74±0.08 ^{b3}	33.62±1.35 ^{b2}	2.22±0.24 ^{c3}	19.00±1.51 ^{b2}
59	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	7.97±0.07 ^{c5}	71.56±0.64 ^{c6}	0.09±0.01 ^{a2}	7.99±0.11 ^{a1}
		4.83±0.05 ^{a4}	30.24±0.64 ^{a3,4}	0.18±0.01 ^{c4,5}	19.37±0.37 ^{c1}
		5.23±0.04 ^{b4}	50.64±1.30 ^{b5}	0.10±0.01 ^{b2}	14.07±0.85 ^{b1}
66	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	7.91±0.11 ^{c5}	82.81±1.26 ^{c7}	0.06±0.006 ^{a2,3}	9.12±3.98 ^{a1}
		4.94±0.15 ^{a5}	30.67±1.40 ^{a3,4,5}	0.63±0.02 ^{c4,5}	19.48±1.82 ^{b2}
		5.99±0.19 ^{b5}	65.74±1.81 ^{b6}	0.27±0.06 ^{b2}	10.89±1.46 ^{a1}
80	Non enrobé Plastique Bioenrobage 1	7.57±0.12 ^{b3}	88.96±1.07 ^{c8}	0.15±0.002 ^{a2}	8.06±0.09 ^{b1}
		4.77±0.06 ^{a4}	28.58±0.48 ^{a1}	0.45±0.003 ^{c5}	20.00±0.49 ^{c2}
		8.95±0.04 ^{c7}	60.81±0.85 ^{b4}	0.33±0.02 ^{b1}	3.20±0.07 ^{a1}

^{a-c} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différentes recettes au même jour d'analyse suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

¹⁻⁸ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

Tableau 9b Acides organiques présents au sein de l'ensilage. Bioenrobage 1. (suite)

Jours	Traitement	Ac. Lactique (% ms)	Ac. Acétique (% ms)	Ac. Propionique (% ms)	Ac. Butyrique (% ms)
0	Non enrobé	5.89±0.10 ^{a6}	4.51±0.13 ^{a7}	0.77±0.01 ^{a4}	0 ^{a1}
	Plastique	5.89±0.10 ^{a4}	4.51±0.13 ^{a1}	0.77±0.01 ^{a5}	0 ^{a5}
	Bioenrobage 1	5.89±0.10 ^{a5}	4.51±0.13 ^{a4}	0.77±0.01 ^{a5}	0 ^{a1}
3	Non enrobé	4.56±0.02 ^{a5}	3.58±0.18 ^{c6}	0.15±0.01 ^{b1}	1.85±0.01 ^{b4}
	Plastique	9.61±0.09 ^{b8}	10.54±0.10 ^{b6}	0.08±0.01 ^{a2}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 1	10.39±0.10 ^{c10}	10.42±0.07 ^{b8}	0.06±0.01 ^{a2}	0 ^{a1}
10	Non enrobé	1.34±0.01 ^{a4}	1.67±0.01 ^{a5}	0.50±0.01 ^{b3}	2.27±0.01 ^{b6}
	Plastique	10.94±0.19 ^{c9}	11.85±0.09 ^{c8}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 1	9.71±0.14 ^{b9}	10.97±0.12 ^{b9}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
17	Non enrobé	1.29±0.03 ^{a4}	0.68±0.01 ^{a4}	1.01±0.02 ^{b7}	3.51±0.01 ^{b8}
	Plastique	8.43±0.01 ^{c6}	9.80±0.02 ^{c5}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 1	8.38±0.01 ^{b8}	8.68±0.01 ^{b7}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
24	Non enrobé	0.44±0.01 ^{a3}	0.12±0.009 ^{a3}	0.86±0.01 ^{b6}	3.08±0.01 ^{b7}
	Plastique	9.39±0.04 ^{c7}	9.27±0.012 ^{c4}	0.01±0.002 ^{a1}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 1	7.74±0.01 ^{b7}	8.30±0.01 ^{b6}	0.01±0.001 ^{a1}	0 ^{a1}
31	Non enrobé	0.07±0.006 ^{a2}	0.04±0.004 ^{a7}	0.82±0.01 ^{c5}	2.24±0.01 ^{c6}
	Plastique	8.14±0.09 ^{c5}	9.28±0.02 ^{c4}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 1	5.51±0.01 ^{b4}	4.70±0.12 ^{b5}	0.26±0.01 ^{b3}	0.59±0.01 ^{b2}
38	Non enrobé	0.02±0.001 ^{a1,2}	0 ^{a1}	1.06±0.01 ^{c8}	1.91±0.01 ^{c5}
	Plastique	8.28±0.008 ^{c5,6}	11.15±0.12 ^{c7}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 1	4.47±0.01 ^{b3}	3.14±0.01 ^{b3}	0.59±0.01 ^{b4}	1.23±0.01 ^{b3}
45	Non enrobé	0 ^{a1}	0 ^{a1}	0.49±0.01 ^{b3}	0.92±0.01 ^{b3}
	Plastique	5.29±0.20 ^{c3}	8.96±0.35 ^{c3}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 1	2.55±0.17 ^{b2}	2.52±0.01 ^{b2}	1.14±0.02 ^{c6}	1.99±0.02 ^{c5}
66	Non enrobé	0 ^{a1}	0 ^{a1}	0.36±0.01 ^{b2}	0.82±0.004 ^{b2}
	Plastique	3.39±0.02 ^{b2}	9.11±0.08 ^{c3,4}	0.91±0.01 ^{a3}	0.33±0.01 ^{a2}
	Bioenrobage 1	ND	4.69±0.07 ^{b5}	ND	ND
80	Non enrobé	0 ^{a1}	0 ^{a1}	3.23±0.04 ^{c9}	6.23±0.06 ^{c9}
	Plastique	3.06±0.02 ^{c1}	7.22±0.01 ^{c2}	0.27±0.02 ^{a4}	0.35±0.01 ^{a3}
	Bioenrobage 1	0.50±0.01 ^{b1}	0.47±0.01 ^{b1}	1.39±0.01 ^{b7}	1.58±0.01 ^{b4}

^{a-c} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différentes recettes au même jour d'analyse suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

¹⁻¹⁰ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

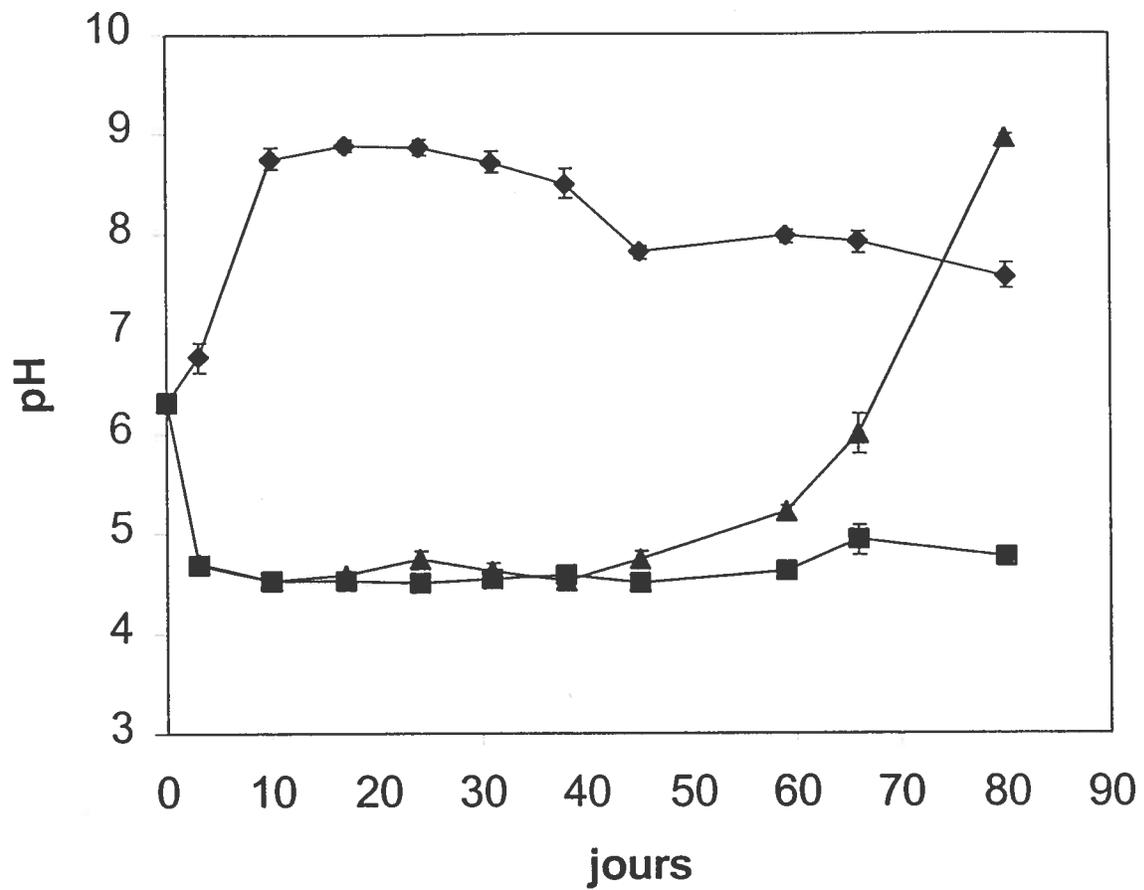


Figure 9. Effet du bioenrobage 1 sur le pH de l'ensilage
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

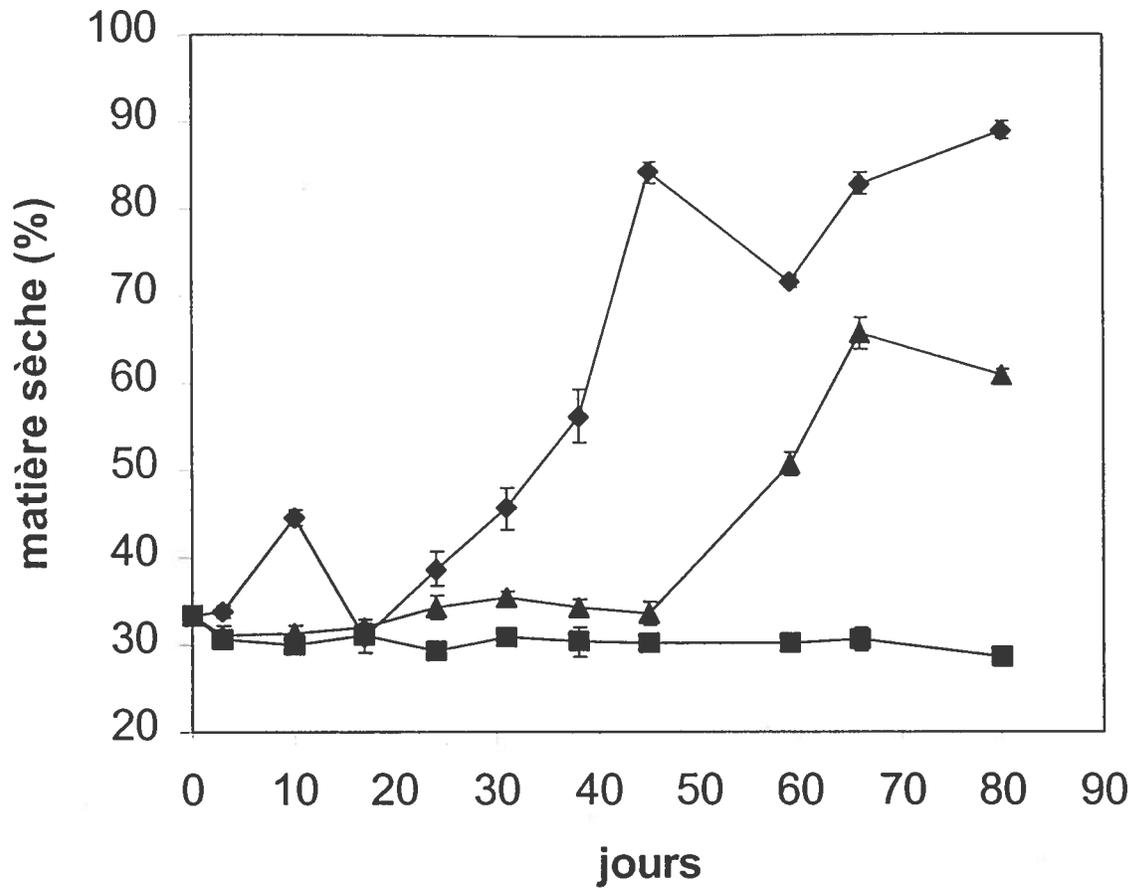


Figure 10. Effet du bioenrobage 1 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

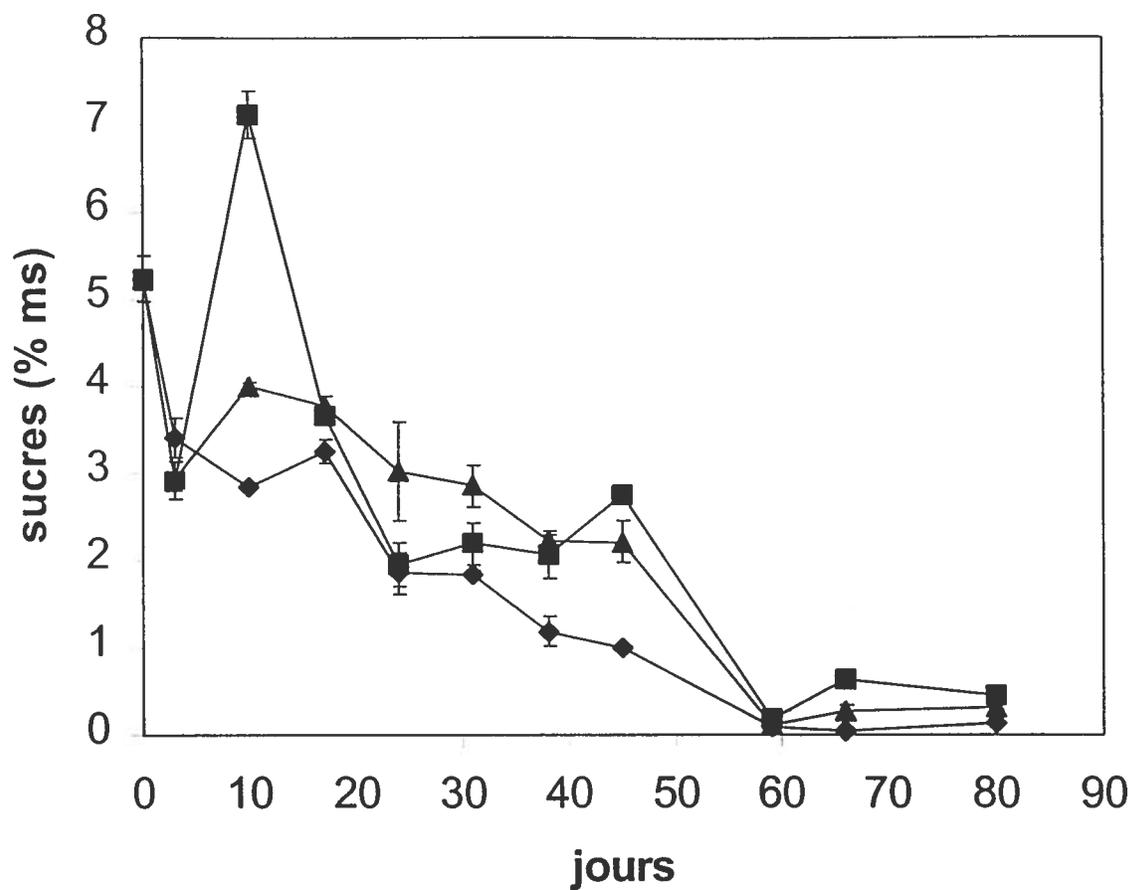


Figure 11. Variation du contenu en sucres de l'ensilage avec le bioenrobage 1.

Non enrôbé (◆), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

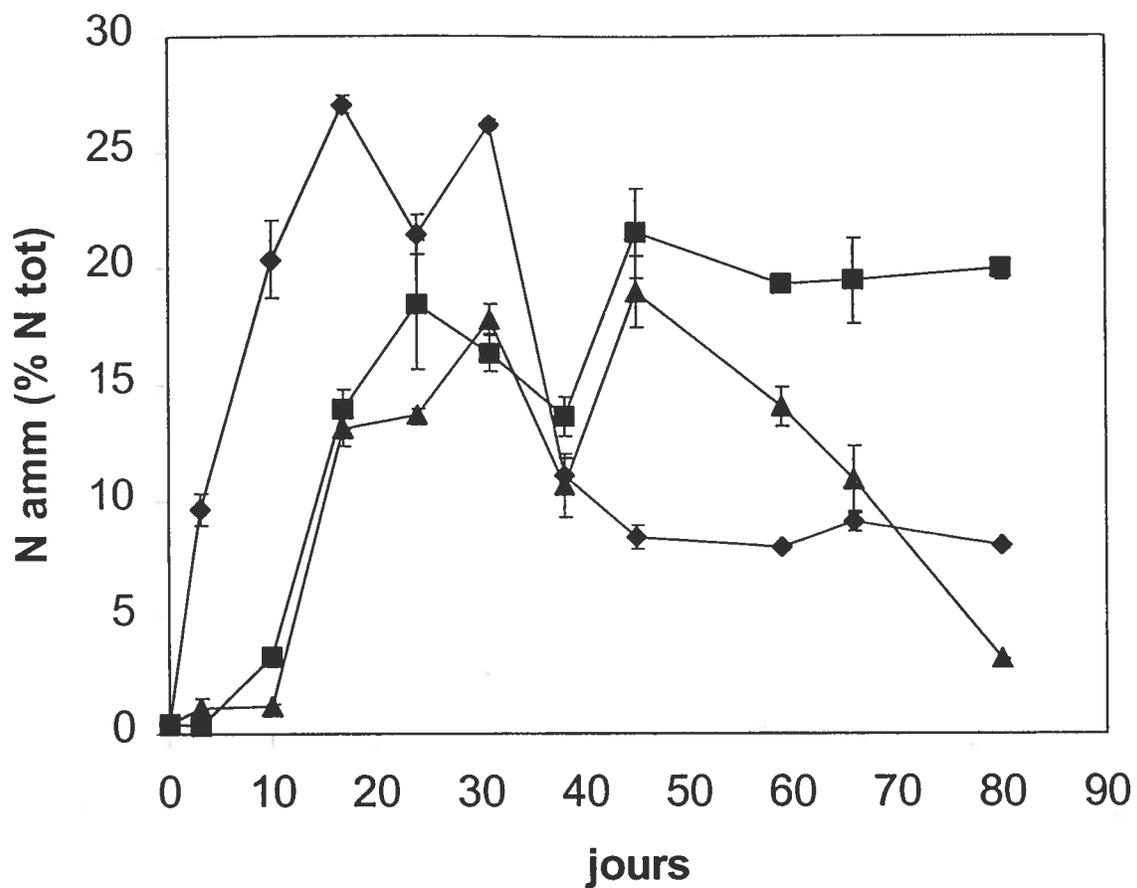


Figure 12. Variation du niveau d'azote ammoniacal avec le bioaération 1.

Non enrobé (♦), plastique (■), bioaération 1 (▲)

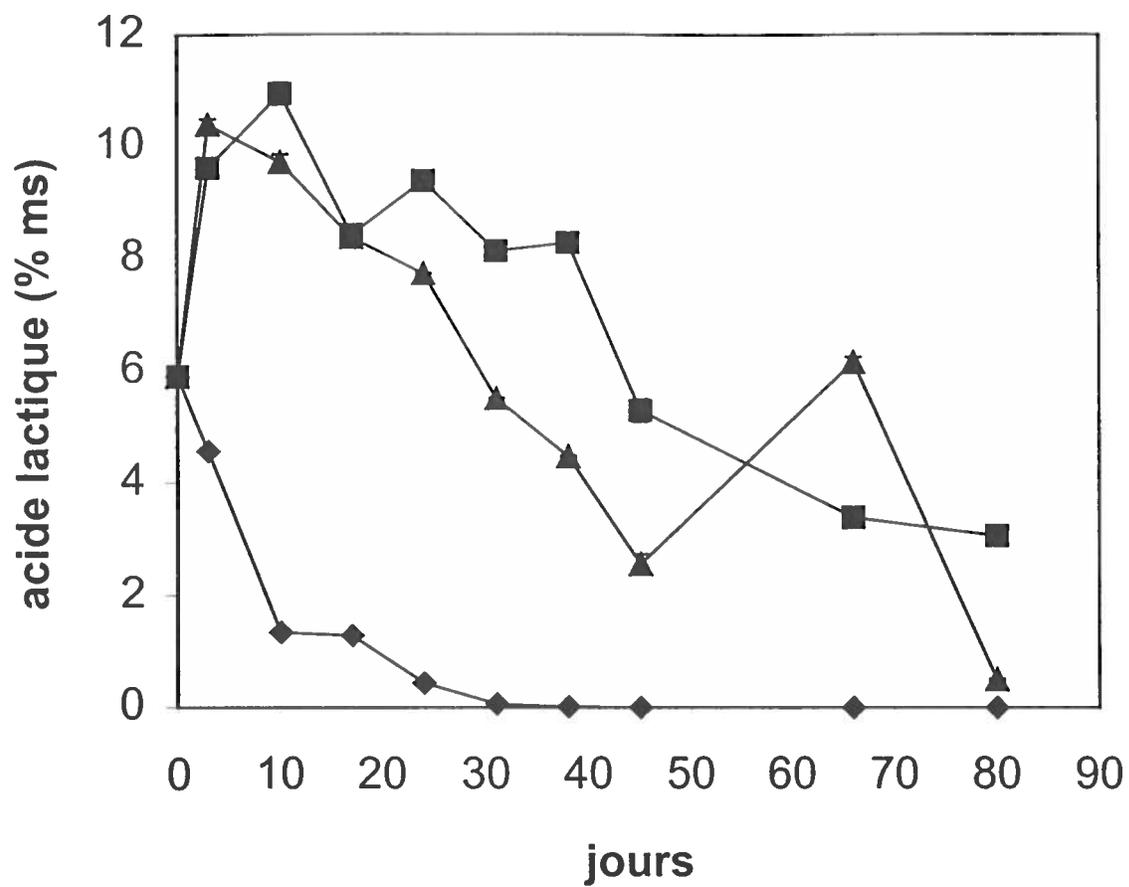


Figure 13. Concentration en acide lactique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1
Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

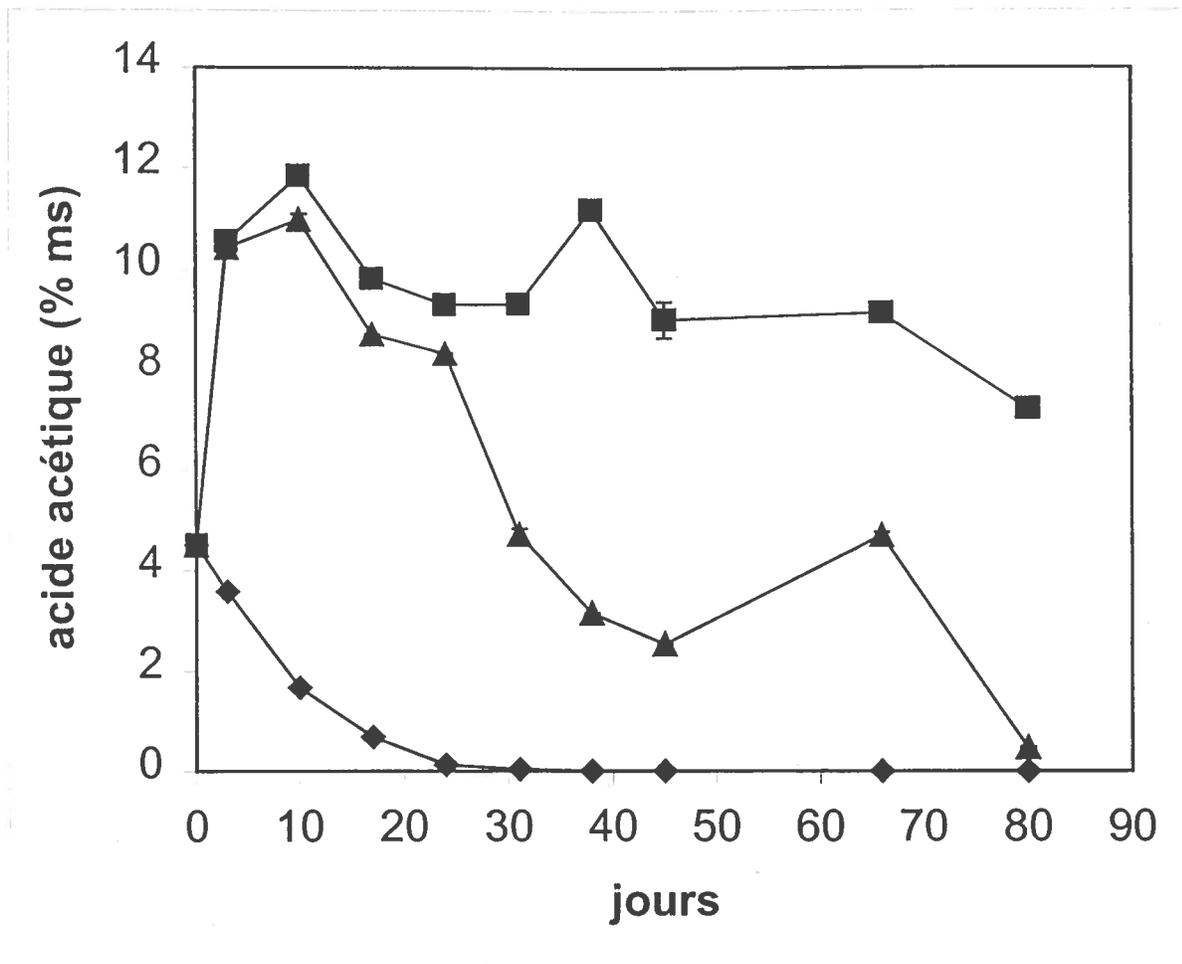


Figure 14. Concentration en acide acétique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1
Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

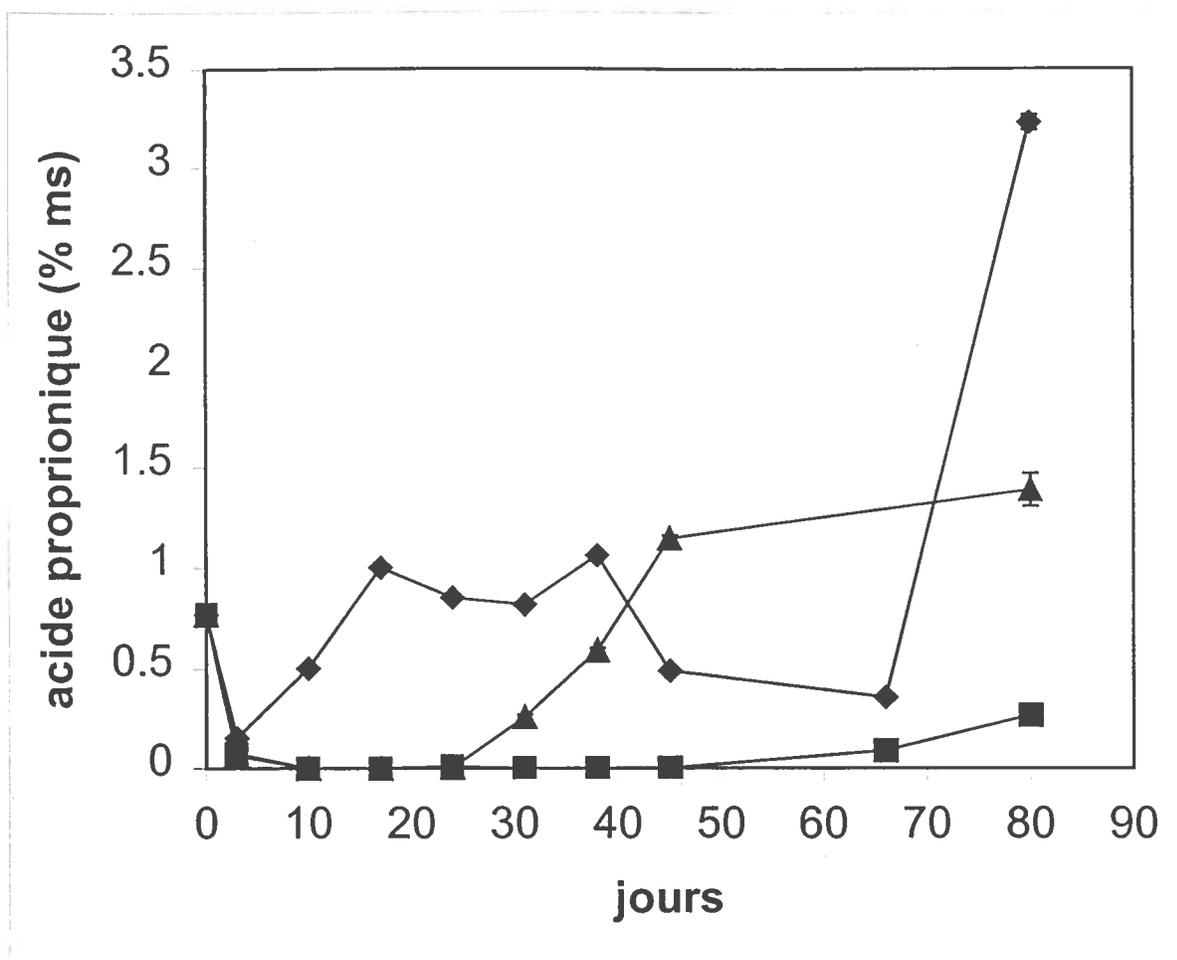


Figure 15. Concentration en acide propionique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1
Non enrôlé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

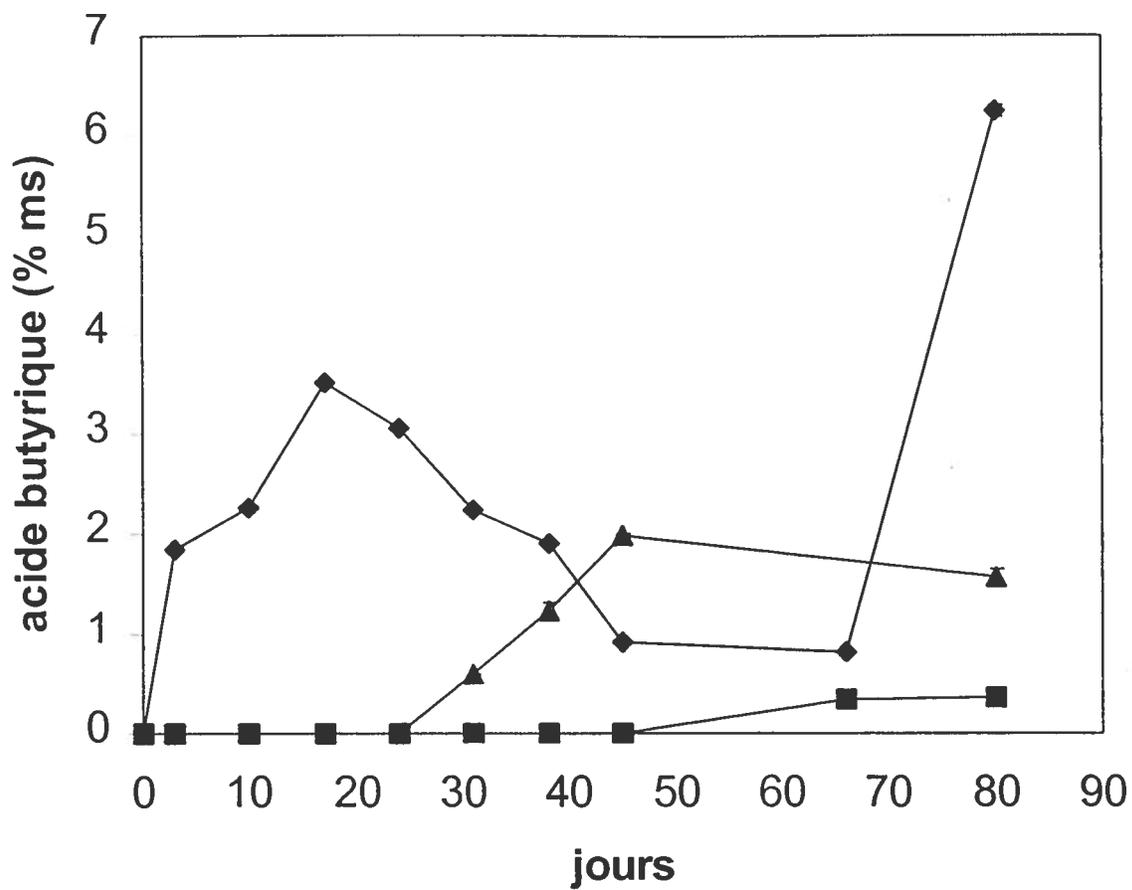


Figure 16. Concentration en acide butyrique dans l'ensilage avec le bioenrobage 1
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

4.3.2. Analyses microbiologiques

Les populations microbiennes initiales dans le fourrage étaient de 6.20 log UFC/g ensilage pour les micro-organismes aérobiques et de 5.23 log UFC/g d'ensilage pour les coliformes. Aucune unité formatrice de colonie anaérobe ou du genre de *Lactobacillus* n'a été décelé dans l'ensilage après analyse sur les milieux RCA et Rogosa respectivement. Le niveau de contamination par les moisissures et les levures était inférieur à 2.50 log UFC/g d'ensilage.

La figure 17 et le tableau 10 représentent l'évolution des micro-organismes aérobiques. Indépendamment du traitement, la population d'aérobiques augmente graduellement pendant l'entreposage mais de façon plus importante dans l'ensilage non enrobé comparativement aux ensilages scellés par le bioenrobage ou le plastique. L'ensilage non enrobé présente une augmentation significative ($p \leq 0.05$) des micro-organismes aérobiques totaux passant de 5.23 à 13.63 log UFC/g d'ensilage durant les 17 premiers jours d'entreposage. La flore aérobie retrouvée dans l'ensilage recouvert par le plastique est de 7.09 log UFC/g d'ensilage et de 7.00 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage. La population d'aérobiques dans l'ensilage non enrobé reste significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) que celle retrouvée dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage pendant toute la durée de l'entreposage. Les résultats montrent que pour les échantillons d'ensilage, les micro-organismes aérobiques augmentent graduellement pour atteindre une valeur finale significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) pour l'ensilage non enrobé avec une valeur de 16.19 log UFC/g d'ensilage par rapport au plastique et au bioenrobage où le contenu en aérobe est de 11.52 et de 12.85 log UFC/g d'ensilage respectivement au jour 80.

Les résultats figurant au tableau 10 et à la figure 18 montrent une augmentation rapide des anaérobiques dans l'ensilage pour tous les traitements dès la première semaine d'entreposage et ce, pendant toute la période d'entreposage. Une augmentation rapide au cours des trois premiers jours est observée pour tous les traitements avec des valeurs de 7.01, 5.83 et 6.68 log UFC/g d'ensilage respectivement dans l'ensilage non enrobé, le plastique et le bioenrobage. Une seconde augmentation du nombre de micro-organismes anaérobiques est observée entre le 18^e et 24^e jour d'entreposage pour les trois traitements. Au jour 24, l'ensilage scellé avec le film de plastique présente un compte d'anaérobiques significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que l'ensilage enrobé du bioenrobage où les valeurs sont respectivement de 10.16 et 8.99 log

UFC/g d'ensilage. Au jour 24 également, l'ensilage non enrobé présente un nombre d'anaérobies significativement inférieur ($p \leq 0.05$) par rapport aux populations retrouvées dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage avec une charge microbienne respective de 8.74, 10.16 et 8.99 log UFC/g d'ensilage. Ces niveaux d'anaérobies resteront relativement stables pour tous les traitements avec des valeurs finales de 8.92 log UFC/g d'ensilage pour l'ensilage scellé avec le plastique, de 8.25 log UFC/g d'ensilage pour l'ensilage enrobé et de 8.02 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé au terme de l'expérience au jour 80.

L'évolution des BAL dans l'ensilage selon les différents traitements est présentée dans le tableau 10 et à la figure 19. Une augmentation du nombre de BAL est observée dans tous les ensilages durant les trois premiers jours de conservation. Ces populations sont stables au niveau des ensilages scellés par le plastique et le bioenrobage alors que l'ensilage non enrobé présente une diminution graduelle de la population de BAL à partir du 3^e jour d'entreposage. Les trois traitements voient leur contenu en bactéries acido-lactiques (BAL) augmenter durant les trois premiers jours de conservation avec respectivement 7.56, 7.30 et 7.48 log CFU/g d'ensilage pour l'ensilage non enrobé, l'ensilage scellé par le plastique et l'ensilage recouvert de bioenrobage. Le niveau de BAL présent dans l'ensilage non enrobé diminue progressivement après le jour 3 et atteint un niveau de 1.49 log CFU/g d'ensilage au jour 80. L'ensilage protégé par le plastique et le bioenrobage présente un contenu significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) de BAL que l'ensilage non enrobé après le 3^e jour d'entreposage et ce, durant toute la période d'expérimentation. Le contenu final de BAL est également significativement supérieur ($p \leq 0.05$) et stable dans l'ensilage scellé par le plastique et le bioenrobage par rapport à l'ensilage non recouvert avec respectivement 8.08, 6.30 et 1.49 log CFU/g d'ensilage au jour 80.

La présence de moisissures et de levures dans l'ensilage figure au tableau 10 et à la figure 20. Une augmentation de ces micro-organismes est observée dans les trois premiers jours dans l'ensilage non enrobé alors que les ensilages recouverts par le plastique et le bioenrobage montrent une augmentation seulement à partir du 7^e jour d'entreposage. Le nombre de moisissures et de levures augmente graduellement durant toute la durée d'entreposage. Une augmentation importante du nombre de moisissures et de levures est observée durant les trois premiers jours dans l'ensilage non enrobé de 0 à 6.71 log UFC/g d'ensilage. Dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage, le nombre de

moisissures et de levures passe de 0 à respectivement 4.77 et 4.44 log UFC/g d'ensilage au cours des dix premiers jours. Une stabilisation du contenu en moisissures et en levures dans l'ensilage s'effectue par la suite et ce, pendant 38 jours dans tous les traitements. Au 38^e jour d'entreposage, un compte de 6.08, 6.71 et 5.52 log CFU/g d'ensilage est retrouvé respectivement dans l'ensilage non enrobé, recouvert du plastique et recouvert du bioenrobage. Une légère augmentation est aussi observée après le jour 38 pour atteindre des comptes respectifs de moisissures et de levures de 7.52, 7.00 et 7.30 log CFU/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé, recouvert du plastique et recouvert du bioenrobage au jour 80.

Le tableau 10 et la figure 21 représentent le nombre de coliformes retrouvés dans l'ensilage selon les traitements. Une augmentation du nombre de coliformes dans l'ensilage non enrobé est observée dès le début de l'essai et ce nombre reste relativement constant durant tout l'essai. L'ensilage scellé par le plastique montre une diminution constante de la population de coliformes durant toute la période d'entreposage alors qu'une application du bioenrobage sur l'ensilage permet d'éliminer le nombre initial de coliformes de l'ensilage. Les coliformes augmentent rapidement au cours des trois premiers jours pour atteindre 7.74 log CFU/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé alors que l'ensilage scellé par le plastique et par le bioenrobage présente une diminution respective de 5.23 à 3.48 log CFU/g d'ensilage et de 5.23 à 0 log CFU/g d'ensilage. La population de coliformes dans l'ensilage recouvert par le plastique est de 5.87 log CFU/g d'ensilage au jour 31 après quoi, une diminution à une valeur 2.44 log CFU/g d'ensilage est observée dans l'ensilage recouvert par le plastique à la fin de la durée d'entreposage. Au niveau de l'ensilage enrobé du bioenrobage, aucun coliforme n'est détecté entre le jour 3 et 80 alors que l'ensilage non enrobé présente une valeur de 6.84 log CFU de coliformes/g d'ensilage au jour 80.

Tableau 10. Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 1.

Jours	Traitement	Aérobie Log UFC/g. Ensilage	Anaérobie Log UFC/g. ensilage	BAL Log UFC/g. ensilage	Mois / Levures Log UFC/g. ensilage	Coliforme Log UFC/g. ensilage
0	Non enrobé	6.20±0.02 ^{a1}	0 ^{a1}	0 ^{a1}	< 2.50 ^{a1}	5.23±0.29 ^{a1}
	Plastique	6.20±0.02 ^{a1}	0 ^{a1}	0 ^{a1}	< 2.50 ^{a1}	5.23±0.29 ^{a5}
	Bioenrobage 1	6.20±0.02 ^{a1}	0 ^{a1}	0 ^{a1}	< 2.50 ^{a1}	5.23±0.29 ^{a2}
3	Non enrobé	7.70±0.02 ^{c2}	7.01±0.09 ^{c3}	7.56±0.20 ^{b10}	6.71±0.26 ^{b4}	7.74±0.06 ^{c5}
	Plastique	6.74±0.08 ^{a2}	5.83±0.24 ^{a2}	7.30±0.24 ^{a2}	< 2.50 ^{a1}	3.48±0.13 ^{b4}
	Bioenrobage 1	7.45±0.24 ^{b3}	6.68±0.11 ^{b2}	7.48±0.08 ^{ab8}	< 2.50 ^{a1}	0 ^{a1}
10	Non enrobé	12.90±0.07 ^{b4}	7.00±0.04 ^{a3}	5.76±0.03 ^{a6,7}	8.02±0.12 ^{c7}	6.46±0.04 ^{b3}
	Plastique	7.66±0.24 ^{a4}	7.20±0.10 ^{a3}	7.48±0.25 ^{c3}	4.77±0.13 ^{b3}	ND
	Bioenrobage 1	7.52±0.09 ^{a3}	7.10±0.34 ^{a4}	6.53±0.23 ^{b3}	4.44±0.29 ^{a2}	0 ^{a1}
17	Non enrobé	13.64±0.22 ^{b5}	7.88±0.33 ^{b6}	6.62±0.02 ^{a9}	6.89±0.19 ^{b4}	8.44±0.29 ^{b7}
	Plastique	7.09±0.20 ^{a3}	7.06±0.33 ^{a3}	7.27±0.11 ^{b2}	5.15±0.12 ^{a3,4}	ND
	Bioenrobage 1	7.00±0.38 ^{a2}	6.89±0.03 ^{a3}	6.63±0.48 ^{a3,4}	5.13±0.02 ^{a4}	0 ^{a1}
24	Non enrobé	12.69±0.08 ^{c3}	8.74±0.07 ^{a7}	5.90±0.16 ^{a7}	6.35±0.30 ^{b3}	8.05±0.17 ^{c6}
	Plastique	8.65±0.03 ^{b6}	10.16±0.06 ^{c8}	7.29±0.15 ^{b2}	ND	5.83±0.07 ^{b6}
	Bioenrobage 1	8.50±0.02 ^{a5}	8.99±0.17 ^{b8}	7.26±0.22 ^{b7}	5.66±0.12 ^{b5}	0 ^{a1}
31	Non enrobé	14.60±0.07 ^{c6}	7.60±0.06 ^{b5}	6.12±0.22 ^{a8}	6.88±0.24 ^{c4}	7.48±0.12 ^{c4}
	Plastique	8.04±0.04 ^{b5}	7.67±0.06 ^{c4}	7.37±0.02 ^{a2,3}	5.73±0.15 ^{b4}	5.87±0.07 ^{b6}
	Bioenrobage 1	7.81±0.09 ^{a4}	7.21±0.06 ^{a4,5}	6.72±0.09 ^{b4}	4.86±0.06 ^{a3}	0 ^{a1}
38	Non enrobé	16.01±0.08 ^{c5}	7.06±0.07 ^{a2}	5.69±0.05 ^{a6}	6.08±0.2 ^{b2}	7.37±0.06 ^{b4}
	Plastique	8.77±0.02 ^{a6}	7.99±0.04 ^{b5}	7.29±0.07 ^{b2}	6.71±0.18 ^{c5}	ND
	Bioenrobage 1	11.60±0.02 ^{b8}	8.30±0.05 ^{c7}	7.33±0.10 ^{b7}	5.52±0.12 ^{a5}	0 ^{a1}
45	Non enrobé	15.55±0.16 ^{c7}	6.41±0.04 ^{a2}	4.99±0.04 ^{a5}	7.84±0.10 ^{c6,7}	6.83±0.05 ^{b3}
	Plastique	8.74±0.07 ^{a6}	7.88±0.04 ^{c5}	7.68±0.09 ^{c4}	6.90±0.06 ^{b5}	ND
	Bioenrobage 1	10.82±0.05 ^{b6}	7.20±0.04 ^{b4,5}	6.93±0.05 ^{b5}	6.48±0.09 ^{a6}	0 ^{a1}
59	Non enrobé	15.92±0.03 ^{c8}	7.23±0.13 ^{a4}	4.74±0.04 ^{a4}	7.71±0.03 ^{c5,6}	6.73±0.02 ^{c3}
	Plastique	10.80±0.05 ^{a7}	8.62±0.05 ^{b6}	7.79±0.03 ^{c4,5}	7.07±0.02 ^{b5}	2.39±0.03 ^{b2}
	Bioenrobage 1	11.32±0.05 ^{b7}	7.32±0.08 ^{a5}	7.10±0.01 ^{b6}	6.92±0.01 ^{a7}	0 ^{a1}
66	Non enrobé	16.27±0.02 ^{b9}	7.94±0.09 ^{b6}	3.97±0.07 ^{a3}	7.71±0.03 ^{c5,6}	6.66±0.05 ^{c3}
	Plastique	11.94±0.04 ^{a9}	8.96±0.08 ^{c7}	7.88±0.06 ^{c5}	7.50±0.04 ^{b5}	3.17±0.03 ^{b3}
	Bioenrobage 1	11.89±0.06 ^{a9}	7.61±0.10 ^{a6}	7.25±0.12 ^{b7}	7.22±0.02 ^{a8}	0 ^{a1}
80	Non enrobé	16.19±0.02 ^{c9}	8.02±0.06 ^{a6}	1.49±0.12 ^{a2}	7.52±0.17 ^{c5}	6.84±0.07 ^{c3}
	Plastique	11.52±0.08 ^{a8}	8.92±0.20 ^{c7}	8.08±0.06 ^{c6}	7.00±0.10 ^{a5}	2.44±0.04 ^{b2}
	Bioenrobage 1	12.85±0.02 ^{b10}	8.25±0.02 ^{b7}	6.30±0.02 ^{b2}	7.30±0.20 ^{b5}	0 ^{a1}

^{a-c} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse

¹⁻¹⁰ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

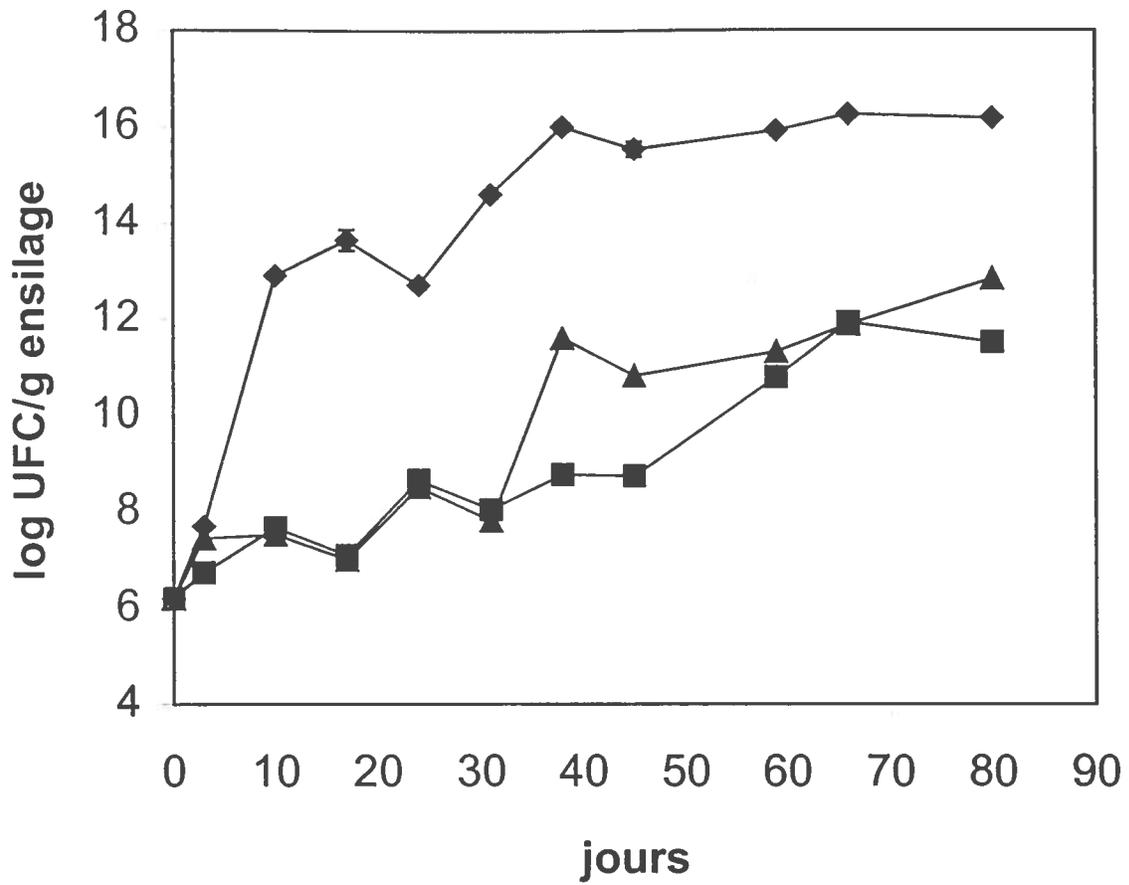


Figure 17. Niveau de micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 1. Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

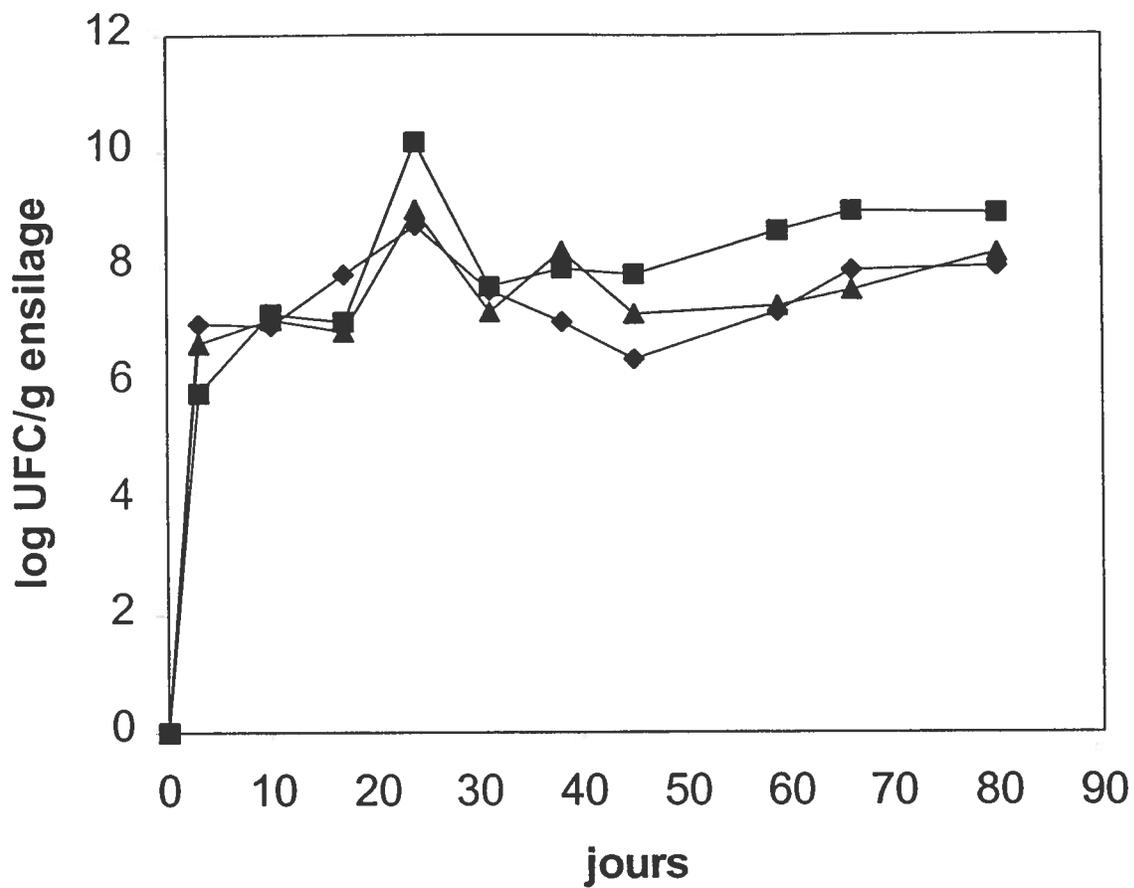


Figure 18. Niveau de micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 1. Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

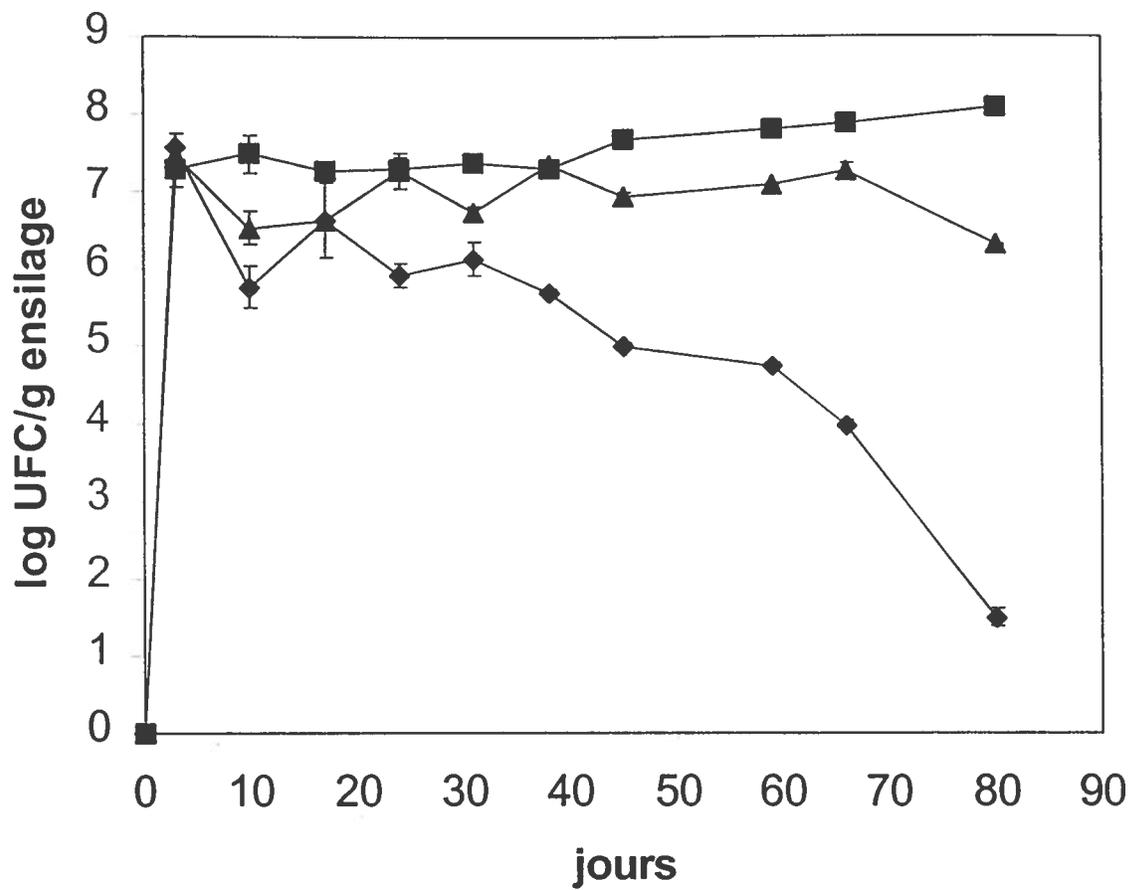


Figure 19. Niveau de BAL dans l'ensilage avec le bioenrobage 1
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

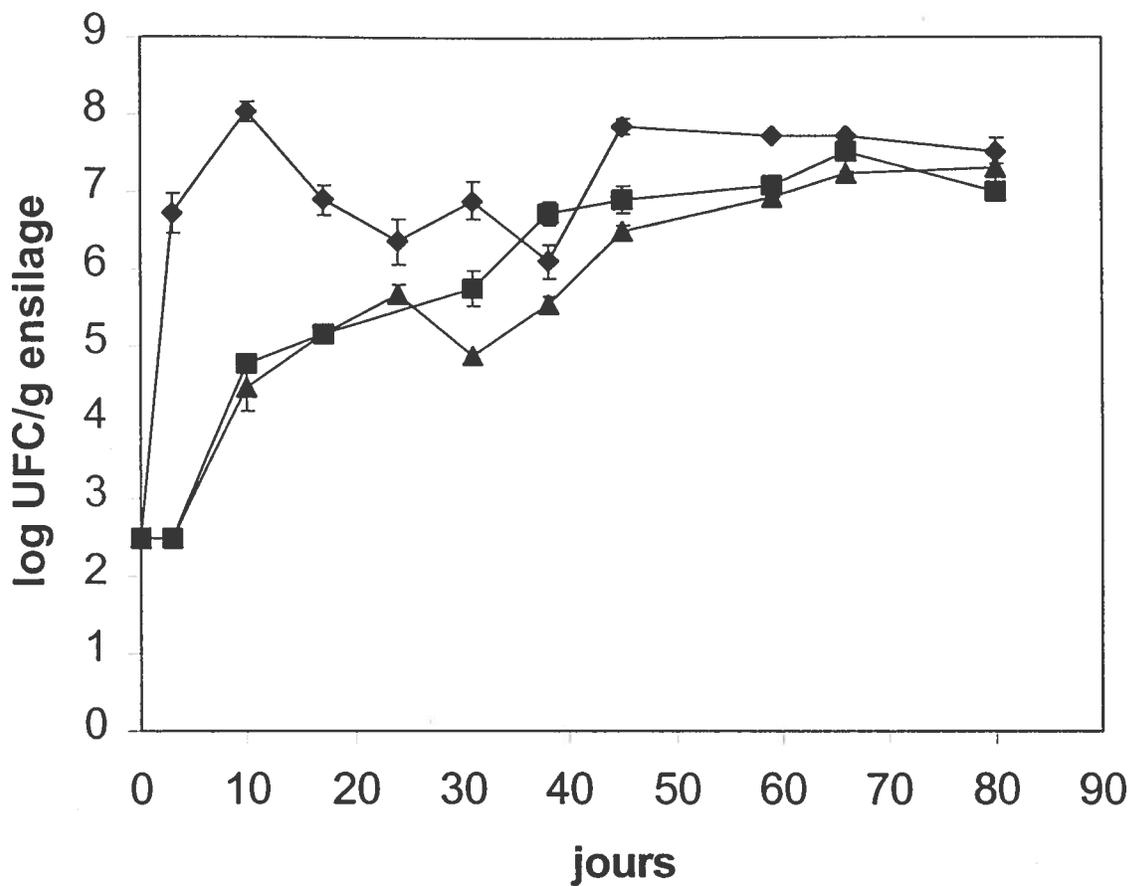


Figure 20. Niveau de moisissures et de levures dans l'ensilage avec le bioenrobage 1
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

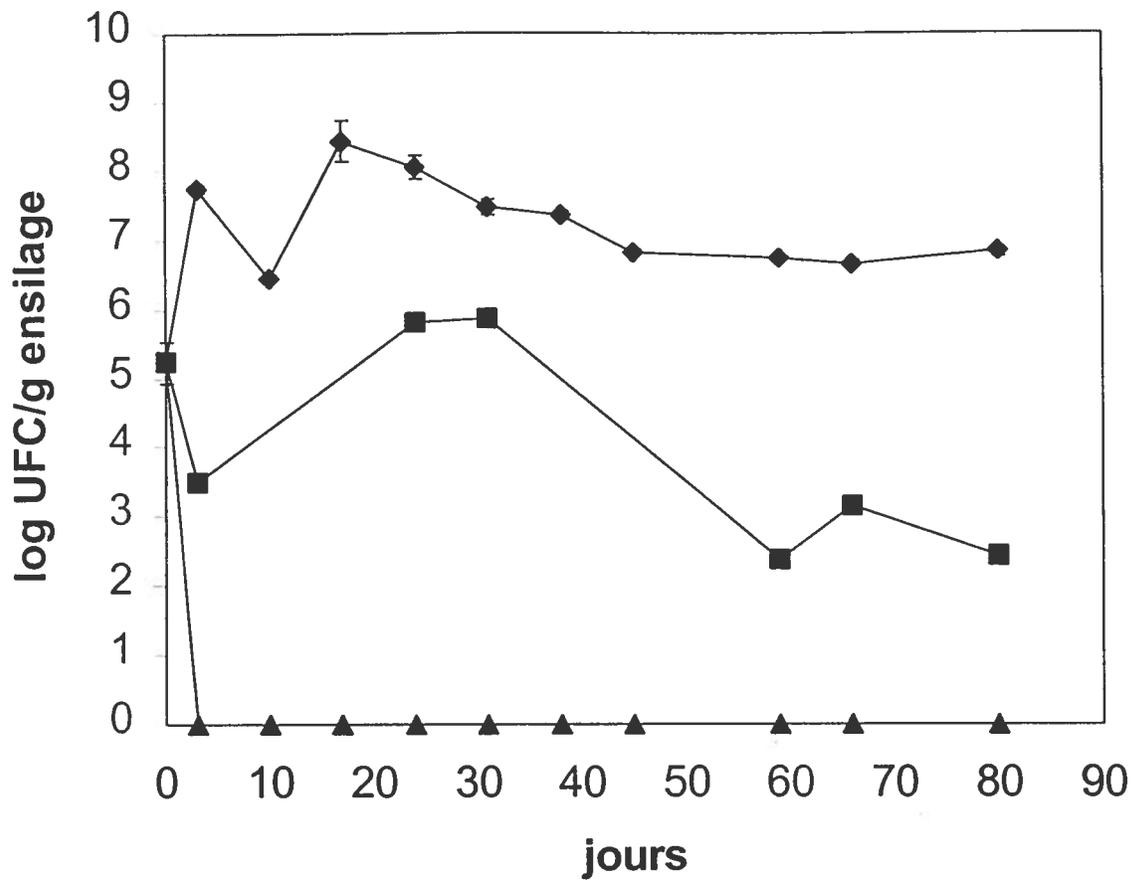


Figure 21. Niveau de coliformes dans l'ensilage avec le bioenrobage 1
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage 1 (▲)

4.4. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1

Ces premières expériences ont été réalisées dans le but de vérifier l'efficacité du bioenrobage 1 face aux conditions externes.

4.4.1. Analyses biochimiques

Traitements protégés de la pluie

L'influence des traitements sur le pH de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur figure au tableau 11 ainsi qu'à la figure 22a. Au niveau de la couche la plus profonde (20-38 cm), aucune différence significative ($p > 0.05$) pH de l'ensilage n'est observée entre les traitements montrant des valeurs de pH variant de 4.26 à 4.38 après un mois d'entreposage. Dans la couche du milieu (10-20 cm), le pH de l'ensilage scellé avec le plastique demeure stable alors que celui de l'ensilage non enrobé et enrobé du bioenrobage augmente pour atteindre des valeurs respectives de 8.13 et 5.96. Dans les 10 premiers centimètres du silo, l'ensilage recouvert par le plastique montre le pH le plus bas à 4.87 comparativement aux pH de l'ensilage non enrobé ou enrobé du bioenrobage qui sont respectivement de 8.21 et 7.98.

L'influence des traitements sur le contenu en matière sèche de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur est présenté au tableau 12 ainsi qu'à la figure 23a. Indépendamment du traitement, le contenu en matière sèche est stable à des valeurs se situant entre 43.50% et 44.47%, à une profondeur de 20-38 cm et ce, après un mois d'entreposage. Toutefois, dans la couche du milieu (10-20 cm), une diminution du pourcentage de matière sèche de l'ensilage est observée pour celui non enrobé et enrobé du bioenrobage, présentant respectivement un contenu de 30.80% et 37.00%. Le taux de matière sèche de l'ensilage scellé avec le film de plastique demeure stable avec 44.20%. Le plastique permet également le maintien du contenu en matière sèche dans la couche de surface (0-10 cm) avec 44.53% alors que le contenu en matière sèche dans l'ensilage non enrobé ou enrobé du bioenrobage augmente. Un pourcentage de 50.33% de matière sèche est trouvé dans l'ensilage non enrobé alors que l'ensilage enrobé du bioenrobage contient 45.60% de matière sèche après un mois d'entreposage.

Traitements exposés à la pluie

L'influence des traitements et des précipitations sur le pH de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur est présenté au tableau 11 ainsi qu'à la figure 22b. Aucune différence significative du pH de l'ensilage n'est trouvée ($p > 0.05$) entre les trois traitements à une profondeur de 20-38 cm dans les chaudières. Le pH de l'ensilage à cette profondeur varie de 4.23 à 4.33 après un mois d'entreposage à l'extérieur. À une profondeur de 10-20 cm, l'ensilage recouvert par le plastique conserve une valeur stable du pH de 4.29 alors qu'une augmentation est observée à 7.15 et 6.11 respectivement pour l'ensilage non enrobé et enrobé. En surface (0-10 cm), l'ensilage non enrobé maintient une valeur stable du pH montrant une valeur de 7.75. L'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage présente une augmentation du pH au sein de l'ensilage avec des valeurs respectives de pH de 4.50 et de 7.66.

L'influence des traitements et des précipitations sur le contenu en matière sèche de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur est présenté au tableau 12 ainsi qu'à la figure 23b. L'ensilage présente le contenu en matière sèche le plus bas de 39.33% à une profondeur de 20-38 cm après un mois d'entreposage. Des valeurs de 45.20% et de 44.80% sont trouvées respectivement dans les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage à une profondeur de 20-38 cm. Dans la couche du milieu (10-20 cm), une diminution du pourcentage de matière sèche de l'ensilage est observée pour celui non enrobé et recouvert du bioenrobage, présentant respectivement un contenu de 22.60% et 33.10%. Le taux de matière sèche de l'ensilage scellé avec le film de plastique demeure stable avec 44.73%. Le plastique permet également le maintien du contenu en matière sèche dans la couche de surface (0-10 cm) avec 45.80%. L'ensilage non enrobé ou enrobé du bioenrobage augmente dans la couche de surface (0-10 cm) montrant une valeur de 42.27% de matière sèche dans l'ensilage non enrobé alors que l'ensilage enrobé du bioenrobage contient 38.60% de matière sèche après un mois d'entreposage.

Tableau 11 Influence des traitements et des précipitations sur le pH de l'ensilage. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1.

Profondeur (cm)	Traitement	pH	
		Précipitation	
		Intérieur	Extérieur
0-10	Non enrobé	8.21±0.20 ^{b1*}	7.75 ± 0.37 ^{b2}
	Plastique	4.87±0.28 ^{a2**}	4.50±0.09 ^{a2}
	Bioenrobage 1	7.98±0.21 ^{b3}	7.66.± 0.36 ^{b3}
10-20	Non enrobé	8.13±0.30 ^{d1}	7.15 ± 0.68 ^{c2}
	Plastique	4.30±0.04 ^{a1}	4.29 ± 0.04 ^{a1}
	Bioenrobage 1	5.96 ± 0.30 ^{b2}	6.11 ± 0.22 ^{b2}
20-38	Non enrobé	4.38±0.19 ^{a2}	4.23±0.03 ^{a1}
	Plastique	4.26±0.04 ^{a1}	4.26 ± 0.05 ^{a1}
	Bioenrobage 1	4.29 ± 0.07 ^{a1}	4.33 ± 0.07 ^{a1}

^{a-d} Au niveau des précipitations pour une même profondeur, les valeurs moyennes suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

¹⁻³ Pour un même échantillon, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

Tableau 12. Influence des précipitations sur la teneur en matière sèche de l'ensilage. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1.

Profondeur (cm)	Traitement	MS (%)	
		Précipitation	
		Intérieur	Extérieur
0-10	Non enrobé	50.33±0.41 ^{c2}	42.27±0.77 ^{ab2}
	Plastique	44.53±0.81 ^{ab3}	45.80±1.91 ^{ab1}
	Bioenrobage 1	45.60±1.13 ^{ab2}	38.60±0.10 ^{a2}
10-20	Non enrobé	30.80±2.71 ^{b1}	22.60±0.53 ^{a1}
	Plastique	44.20±1.64 ^{d3}	44.73±1.27 ^{b1}
	Bioenrobage 1	37.00±0.10 ^{c1}	33.10±1.56 ^{c1}
20-38	Non enrobé	44.47±1.42 ^{b2}	39.33±2.90 ^{a2}
	Plastique	44.40±1.44 ^{b3}	45.20±0.92 ^{b1}
	Bioenrobage 1	43.50±1.84 ^{b2}	44.80±0.10 ^{b3}

^{a-c} Au niveau des précipitations pour une même profondeur, les valeurs moyennes suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

¹⁻³ Pour un même échantillon, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

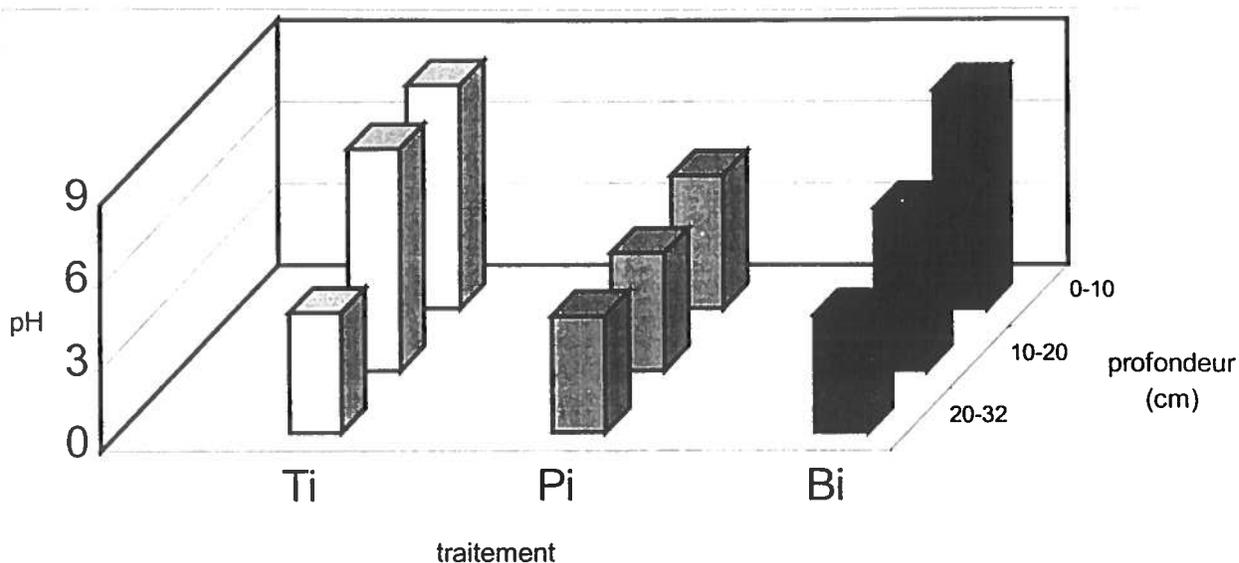


Figure 22a. Influence des traitements sur le pH de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1. Ti=Témoin non enrobé intérieur □, Pi=Plastique intérieur ■, Bi=Bioenrobage 1 intérieur ■

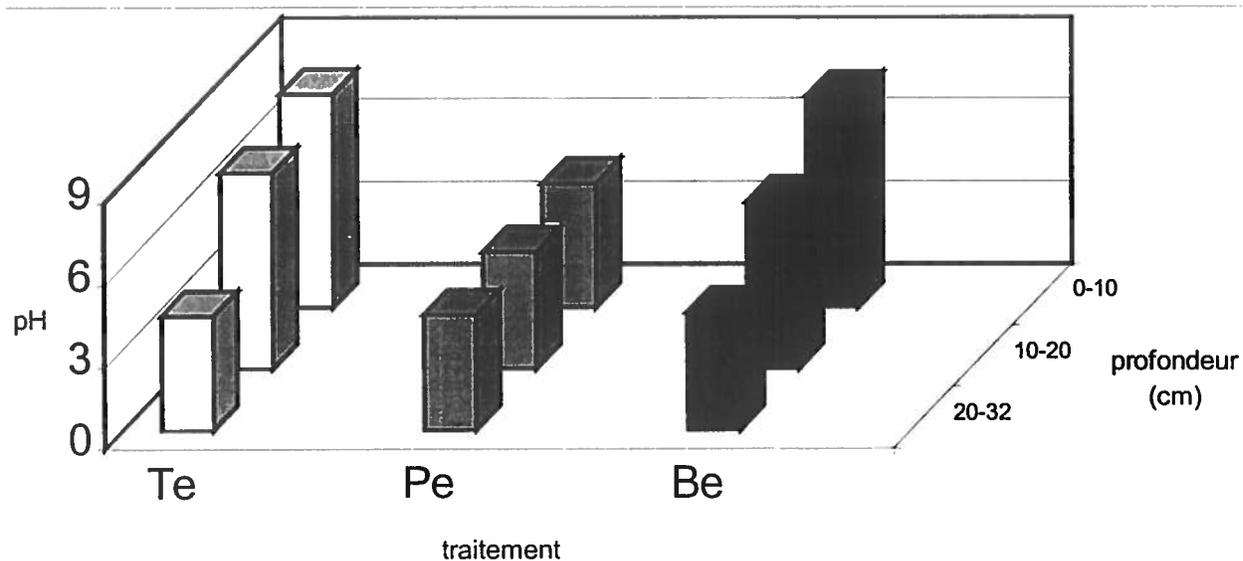


Figure 22b. Influence des traitements sur le pH de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1. Te=Témoin non enrobé extérieur □, Pe=Plastique extérieur ■, Be=Bioenrobage 1 extérieur ■

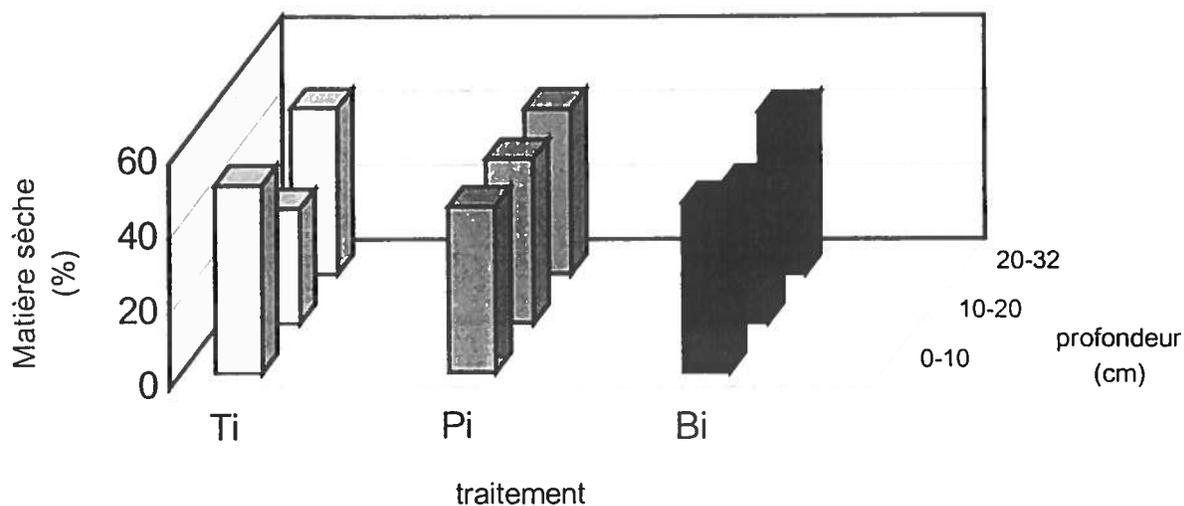


Figure 23a. Influence des traitements sur la teneur en matière sèche de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1. Ti=Témoin non enrobé intérieur □, Pi=Plastique intérieur ■, Bi=Bioenrobage 1 intérieur ■

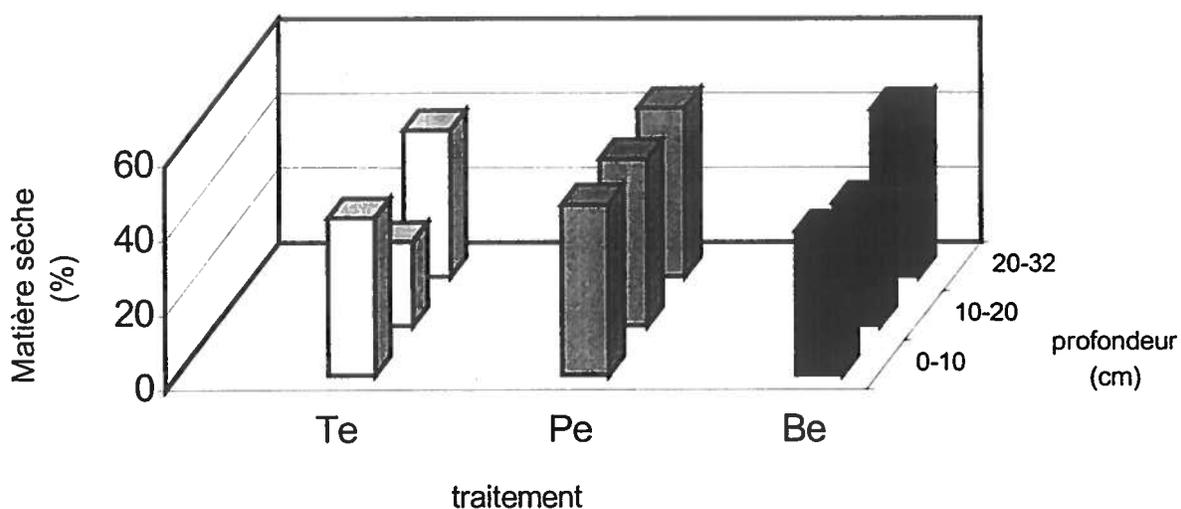


Figure 23b. Influence des traitements sur la teneur en matière sèche de l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1. Te=Témoin non enrobé extérieur □, Pe=Plastique extérieur ■, Be=Bioenrobage 1 extérieur ■

4.4.2. Analyses microbiologiques

La figure 24 et le tableau 13 présentent l'influence des traitements et des précipitations sur le contenu en moisissure. Le contenu en moisissures dans l'ensilage est évalué selon une échelle visuelle de 1 à 6, où 1 étant l'absence de moisissures et 6 correspondant à un ensilage complètement moisie.

Traitements protégés de la pluie

En surface de l'ensilage (0-10 cm), un recouvrement par un film de plastique réduit significativement ($p \leq 0.05$) le contenu en moisissures par rapport à l'ensilage non enrobé ou recouvert du bioenrobage. Toutefois, aucune différence significative ($p > 0.05$) du contenu en moisissures n'est trouvée entre l'ensilage enrobé et celui non enrobé montrant une inspection visuelle de 6. Au niveau de la couche de milieu (10-20 cm), le contenu en moisissures dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage passe d'une valeur sur l'échelle visuelle de 6 dans les premiers 10 cm à 5 dans la couche de 10-20 cm lorsque les chaudières sont protégées de la pluie. Le scellement de l'ensilage par le plastique reste cependant le plus efficace dans la prévention de la croissance des moisissures. À une profondeur de plus de 20 cm dans l'ensilage, aucune moisissure n'est trouvée entre les trois traitements.

Traitements exposés à la pluie

En surface de l'ensilage (0-10 cm), un recouvrement par un film de plastique réduit significativement ($p \leq 0.05$) le contenu en moisissures par rapport à l'ensilage non enrobé ou recouvert du bioenrobage. Aucune différence significative ($p > 0.05$) du contenu en moisissures n'est trouvée entre l'ensilage enrobé et celui non enrobé montrant respectivement des valeurs de 6 et 5.67 sur l'échelle d'inspection visuelle. Par contre, au niveau de la couche de milieu (10-20 cm) l'ensilage enrobé présente, sur l'échelle visuelle, une valeur passant de 6 à 4 entre la couche de surface et celle du milieu alors que l'ensilage non enrobé présente toujours un ensilage complètement moisie (6 sur l'échelle visuelle). À une profondeur de plus de 20 cm dans l'ensilage, aucune moisissure n'est trouvée entre les trois traitements.

Tableau 13 Influence des traitements et des précipitations sur la présence des moisissures dans l'ensilage. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1.

Profondeur (cm)	Traitement	Présence de moisissures (échelle de 1-6)	
		Intérieur	Extérieur
0-10	Non enrobé	$6 \pm 0.1^{b2*}$	5.67 ± 0.58^{b2}
	Plastique	2 ± 0.58^{a1}	1 ± 0.1^{a1}
	Bioenrobage 1	6 ± 0.1^{b3}	6 ± 0.1^{b3}
10-20	Non enrobé	$6 \pm 0.1^{c2**}$	6 ± 0.1^{c2}
	Plastique	1 ± 0.1^{a1}	1 ± 0.1^{a1}
	Bioenrobage 1	5 ± 0.1^{b2}	4 ± 0.1^{b2}
20-38	Non enrobé	1 ± 0.1^{a1}	1 ± 0.1^{a1}
	Plastique	1 ± 0.1^{a1}	1 ± 0.1^{a1}
	Bioenrobage 1	1 ± 0.1^{a1}	1 ± 0.1^{a1}

^{a-c} Au niveau des précipitations pour une même profondeur, les valeurs moyennes suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

¹⁻³ Pour un même échantillon, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

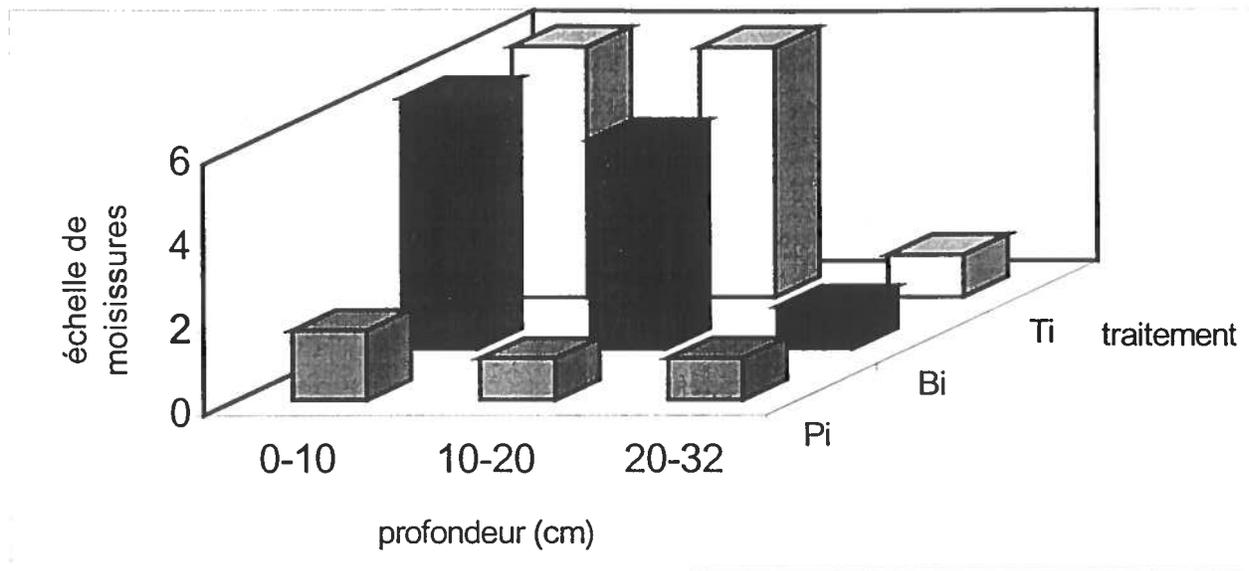


Figure 24a. Influence des traitements sur le niveau de moisissures dans l'ensilage après un mois d'entreposage à l'intérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1. Ti=Témoin non enrobé intérieur □, Pi=Plastique intérieur ■, Bi=Bioenrobage 1 intérieur ■

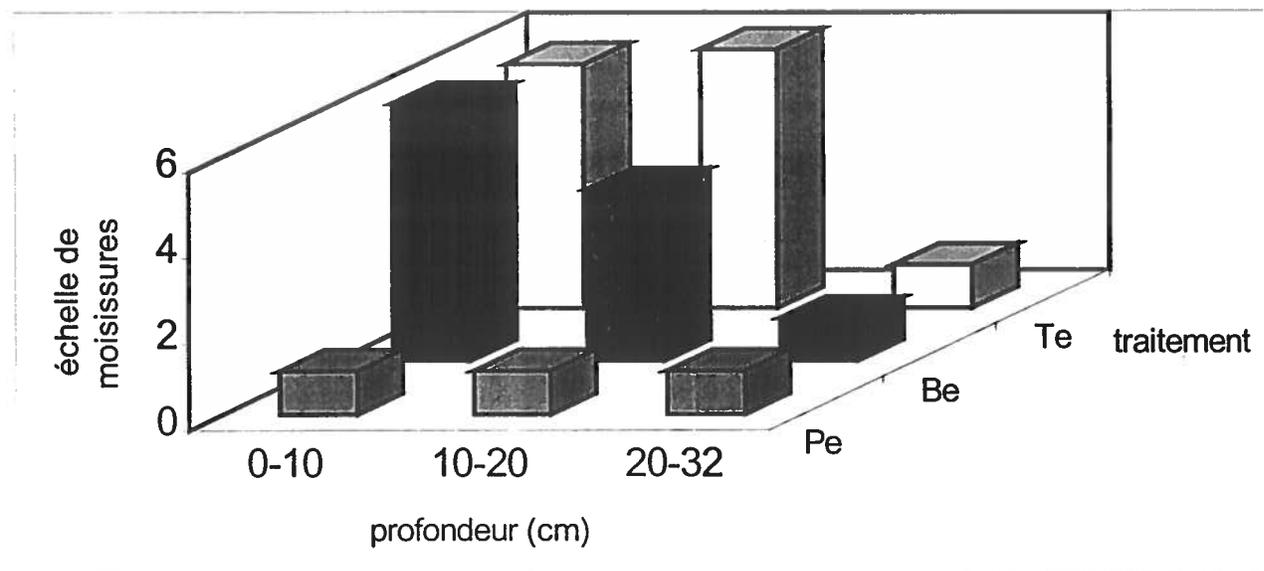


Figure 24a. Influence des traitements sur le niveau de moisissures dans l'ensilage après un mois d'entreposage à l'extérieur. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1. Te=Témoin non enrobé extérieur □, Pe=Plastique extérieur ■, Be=Bioenrobage 1 extérieur ■

4.5. Bioenrobage 2

Cette section évalue en laboratoire l'effet de la nouvelle formulation du bioenrobage ayant une hydrophobicité supérieure au bioenrobage 1.

4.5.1. Analyses biochimiques

Le pH initiale du fourrage était de 6.55 avec un pourcentage de matière sèche de 34.38 %, un niveau de sucres solubles de 5.30% MS, un contenu en azote ammoniacal de 4.88 % N tot. Le contenu en acides organiques était 3.80% MS d'acide lactique, 5.67% ms d'acide acétique, 0.31% ms d'acide propionique et l'acide butyrique n'avait pas été décelé.

Le pH de l'ensilage selon les traitements figure au tableau 14a et à la figure 25. Le pH de l'ensilage non enrobé présente une augmentation dans la première semaine alors que celui des ensilages scellés avec le plastique ou le bioenrobage diminue. Ce pH acide dans les ensilages scellés reste stable jusqu'au 85^e jour d'entreposage. Le pH de l'ensilage recouvert par le plastique commence à monter à partir du 85^e jour alors que celui recouvert par le bioenrobage n'augmente qu'à partir du 120^e jour. Une augmentation du pH de 6.55 à 8.22 est observée au niveau de l'ensilage non enrobé dans les six premiers jours d'entreposage alors que l'ensilage recouvert par le bioenrobage et le plastique présente une diminution significative du pH à 4.42 et à 4.90 respectivement au cours de cette même période. Les résultats montrent un maintien d'un pH acide de l'ensilage durant 85 jours pour le plastique et durant 120 jours pour le bioenrobage à des valeurs respectives de 4.36 et 4.79. Au jour 135, le pH de l'ensilage est respectivement de 8.89 et de 9.09 pour le plastique et le bioenrobage.

Le contenu en matière sèche de l'ensilage est présenté à la figure 26 et dans le tableau 14a. L'ensilage non enrobé présente dans les premières semaines une augmentation du contenu en matière sèche. À partir du 57^e jour d'entreposage, l'ensilage non enrobé présente une importante augmentation du contenu en matière sèche. Le contenu en matière sèche de l'ensilage recouvert de plastique ou de bioenrobage reste stable jusqu'au 120^e jour d'entreposage. Le pourcentage de matière sèche de l'ensilage non enrobé tend à augmenter graduellement dans les premier jours d'entreposage pour atteindre 40.16% au jour 35. Les ensilages couverts de bioenrobage et de plastique montrent un pourcentage de matière sèche stable pendant plus de 70 jours. À partir du 70^e jour de conservation, l'ensilage non enrobé

atteint un taux de matière sèche significativement ($p \leq 0.05$) plus élevé (79.65%) que ceux des ensilages couverts de plastique et du bioenrobage (respectivement 31.67% et 36.76%). Au terme de la durée d'entreposage au jour 135, le contenu en matière sèche est respectivement de 90.14%, 38.69% et 53.14% pour l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage.

Le niveau de sucres solubles dans l'ensilage, contenu dans le tableau 14a ainsi que dans la figure 27, présentent une diminution constante pour tous les traitements pendant l'entreposage. Une diminution significativement plus importante du niveau de sucres solubles est observée dans l'ensilage non enrobé atteignant une valeur de 1.12% ms dans les 13 premiers jours de conservation comparativement à l'ensilage protégé par le plastique et le bioenrobage où les valeurs sont respectivement de 3.49% ms et 3.95% ms. Le niveau de sucre est plus faible dans les ensilages recouverts de bioenrobage entre le jour 13 et 42 que l'ensilage scellé par le plastique. Au jour 13 et 42, les contenus en sucres sont respectivement de 3.49 et 2.09% ms dans l'ensilage recouvert de plastique, et de 3.95 et 2.21% ms dans les ensilages recouverts de bioenrobage. Aucune différence significative ($p > 0.05$) n'est observée entre le jour 57 et 70, et au jour 135 entre l'ensilage scellé par le plastique ou par le bioenrobage. Le contenu en sucres dans l'ensilage scellé par le plastique et le bioenrobage diminue progressivement dans le temps pour atteindre une valeur finale au jour 135 de 0.52 % ms pour le plastique et de 0.50 % ms pour le bioenrobage. L'ensilage non enrobé présente un contenu significativement inférieur ($p \leq 0.05$) au plastique et au bioenrobage tout le long de l'essai avec une valeur finale au jour 135 de 0.25% ms.

La concentration en azote ammoniacal présente dans l'ensilage est présentée à la figure 28 et au tableau 14a. Tous les traitements présentent une augmentation du contenu en azote ammoniacal durant les 28 premiers jours d'entreposage. Le contenu en azote ammoniacal est relativement stable jusqu'au jour 85 et 120 respectivement pour les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage. Au 28^e jour d'entreposage, les contenus en azote ammoniacal pour l'ensilage non enrobé, pour l'ensilage scellé par le plastique et par le bioenrobage sont respectivement de 27.21, 27.35 et 33.94% N tot. À partir du jour 42 jusqu'au jour 120, le niveau d'azote ammoniacal dans l'ensilage enrobé est stable et significativement plus bas ($p \leq 0.05$) que celui de l'ensilage recouvert de plastique. Les valeurs obtenues pour les ensilages enrobés du bioenrobage passent de 15.76 à 18.21% N tot entre le jour 42 et 120. À partir du

jour 85, les résultats montrent que l'ensilage scellé par le plastique présente une augmentation à 15.92% N tot. Au terme de l'expérience au jour 135, le contenu en azote ammoniacal est de 4.55% N tot, de 64.56% N tot et de 42.82% N tot respectivement pour l'ensilage non enrobé, recouvert du plastique et recouvert du bioenrobage.

La figure 29 et le tableau 14b présentent le contenu en acide lactique dans l'ensilage selon les différents traitements. Une augmentation du contenu en acide lactique est observée dans les 13 premiers jours d'entreposage au niveau de l'ensilage scellé par le plastique. Une diminution de l'acide lactique est observée au niveau des ensilages non enrobés et enrobé par le bioenrobage durant cette même période. À partir du jour 21, tous les traitements présentent une stabilité du contenu en acide lactique. Le plastique recouvrant l'ensilage montre une augmentation de l'acide lactique au jour 13 avec un contenu significativement plus élevé ($p \leq 0,05$) de 5.20% ms que le bioenrobage et l'ensilage non enrobé où une concentration de 1.28% ms et de 0.42% ms est retrouvé respectivement. Les trois traitements voient leur contenu en acide lactique diminuer avec le temps pour une valeur finale significativement supérieure dans l'ensilage enrobé de 0.56 % ms par rapport au plastique et à l'ensilage non enrobé où un contenu de 0.17% ms et de 0.03% ms est trouvé au jour 70 dans ces ensilages respectifs.

La concentration en acide acétique dans l'ensilage se trouve au tableau 14b ainsi qu'à la figure 30. Durant les premiers jours de l'entreposage, l'ensilage scellé par le film de plastique présente une augmentation du niveau d'acide acétique alors que l'ensilage enrobé et non enrobé montre une diminution du contenu en acide acétique. Les six premiers jours sont caractérisés par une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du niveau d'acide acétique dans le plastique de 5.67% ms à 8.92% ms alors que l'ensilage non enrobé et enrobé présentent des niveaux décroissants avec des valeurs de 2.00% ms et de 3.19% ms respectivement. À partir du 13^e jour d'entreposage, tous les traitements montrent une diminution graduelle du contenu en acide acétique dans l'ensilage à 3.50% ms. L'ensilage non enrobé ne contient plus d'acide acétique à partir du jour 21 d'entreposage. L'ensilage enrobé par le bioenrobage présente un niveau d'acide acétique significativement plus élevé ($p \leq 0,05$) que dans l'ensilage recouvert du plastique à partir du jour 35 et ce, jusqu'au jour 135. Au terme de l'entreposage au jour 135, un contenu en acide acétique de 0.34% ms est observé dans l'ensilage enrobé alors que le plastique contient une quantité significativement plus basse de 0.26% ms.

Les résultats du contenu en acide propionique dans l'ensilage sont présentés au tableau 14b ainsi qu'à la figure 31. Les résultats montrent une augmentation en acide propionique dans l'ensilage non enrobé dès le début de l'entreposage. Ce niveau en acide propionique tend à augmenter dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage à partir du jour 35. L'ensilage non enrobé voit son contenu en acide propionique augmenter dans la première semaine d'entreposage passant de 0.31% ms à 0.53% ms comparativement à l'ensilage scellé par le plastique et le bioenrobage où le contenu en acide propionique au jour 7 est respectivement de 0.04% ms et de 0.01% ms. À partir du jour 7, une augmentation graduelle du contenu en acide propionique dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage est observée donnant une valeur respective de 1.79% ms et de 1.42% ms au jour 135 de l'essai. L'ensilage non enrobé ne présente plus d'acide propionique à partir du 70^e jour d'entreposage.

La concentration en acide butyrique dans l'ensilage pour les trois traitements est présentée dans le tableau 14b et à la figure 32. L'ensilage non enrobé montre une augmentation de son contenu en acide butyrique dès le début de la période d'entreposage et ce, jusqu'au jour 28. Le niveau d'acide butyrique tend à augmenter dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage seulement à partir du jour 55. Une importante augmentation de 0 à 2.72% ms d'acide butyrique est observée dans les 21 premiers jours. Le contenu en butyrate passe de 0.25 à 2.41% ms dans l'ensilage recouvert par le plastique et de 0 à 1.67% MS dans l'ensilage enrobé du bioenrobage et ce, entre le jour 55 et 120.

Tableau 14a Paramètres biochimiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2.

Jours	Traitement	pH	MS (%)	Sucres (% ms)	N amm (% N tot)
0	Non enrobé	6.55 ± 0.03 ^{a1}	34.38±0.39 ^{a2}	5.30±0.26 ^{a9}	4.88±0.40 ^{a2}
	Plastique	6.55 ± 0.03 ^{a7}	34.38±0.39 ^{a9}	5.30±0.26 ^{a9}	4.88±0.40 ^{a1}
	Bioenrobage 2	6.55 ± 0.03 ^{a7}	34.38±0.39 ^{a2}	5.30±0.26 ^{a9}	4.88±0.40 ^{a1}
6	Non enrobé	8.22±0.27 ^{c6}	40.57±1.53 ^{b4}	1.79±0.075 ^{a8}	13.59±0.30 ^{c4}
	Plastique	4.90±0.10 ^{b4}	33.40±0.150 ^{a5,6}	3.85±0.21 ^{b9}	9.84±0.56 ^{a2}
	Bioenrobage 2	4.42±0.03 ^{a4}	34.53±0.34 ^{a2}	3.78±0.14 ^{b8}	11.06±0.12 ^{b2}
13	Non enrobé	8.68±0.24 ^{b7}	43.31±0.70 ^{c5}	1.12±0.06 ^{a6}	18.03±0.25 ^{b5}
	Plastique	4.48±0.04 ^{a1,2,3}	33.95±0.21 ^{b7}	3.49±0.05 ^{b8}	14.59±0.26 ^{a3}
	Bioenrobage 2	4.57±0.01 ^{a5}	33.23±0.50 ^{a2}	3.95±0.17 ^{c9}	18.24±0.30 ^{b5}
21	Non enrobé	9.32±0.18 ^{b9}	38.03±1.76 ^{b3}	1.31±0.04 ^{a7}	25.30±0.28 ^{b7}
	Plastique	4.53±0.01 ^{a2,3}	37.20±0.24 ^{b8,9}	2.48±0.10 ^{b7}	15.93±0.37 ^{a3,4}
	Bioenrobage 2	4.45±0.02 ^{a4}	34.05±0.34 ^{a3}	2.93±0.12 ^{c7}	16.38±0.57 ^{a4}
28	Non enrobé	8.63±0.12 ^{b7}	41.04±1.49 ^{c4}	1.11±0.07 ^{a6}	27.21±2.11 ^{a8}
	Plastique	4.36±0.04 ^{a1,2}	33.60±0.26 ^{a6,7}	2.29±0.20 ^{b6}	27.35±1.54 ^{a7}
	Bioenrobage 2	4.33±0.02 ^{a3}	36.03±0.50 ^{b3}	2.99±0.13 ^{c7}	33.94±0.66 ^{b7}
35	Non enrobé	8.94±0.06 ^{c8}	40.16±2.04 ^{c4}	0.64±0.01 ^{a4}	22.98±0.57 ^{a6}
	Plastique	4.43±0.08 ^{b1,2,3}	33.30±0.17 ^{a5,6}	2.05±0.08 ^{b5}	24.64±0.52 ^{b6}
	Bioenrobage 2	4.27±0.01 ^{a2,3}	37.54±0.98 ^{b3}	2.21±0.16 ^{c6}	26.36±1.30 ^{c6}
42	Non enrobé	8.26±0.23 ^{b6}	30.14±0.89 ^{a1}	0.91±0.01 ^{a5}	6.17±0.19 ^{a3}
	Plastique	4.29±0.02 ^{a1}	30.28±0.46 ^{a1}	2.09±0.05 ^{b5}	17.63±0.39 ^{c4,5}
	Bioenrobage 2	4.32±0.02 ^{a3}	30.62±0.92 ^{a1}	2.21±0.06 ^{c6}	15.76±0.71 ^{b3,4}
57	Non enrobé	8.00±0.35 ^{b5}	29.17±0.47 ^{a1}	0.47±0.02 ^{a3}	6.36±0.22 ^{a3}
	Plastique	4.45±0.04 ^{a1,2,3}	32.32±0.24 ^{b4}	1.62±0.03 ^{b4}	18.70±0.18 ^{c5}
	Bioenrobage 2	4.40±0.02 ^{a4}	37.27±0.76 ^{c3}	1.64±0.08 ^{b4}	16.04±0.28 ^{b3,4}
70	Non enrobé	7.72±0.24 ^{c3,4}	79.65±2.91 ^{c6}	0.41±0.01 ^{a2,3}	1.44±0.14 ^{a1}
	Plastique	4.61±0.09 ^{b3}	31.67±0.18 ^{a3}	1.74±0.09 ^{b4}	27.88±1.59 ^{c7}
	Bioenrobage 2	4.23±0.04 ^{a1,2}	36.76±0.65 ^{b3}	1.81±0.15 ^{b5}	15.26±0.83 ^{b3}
85	Non enrobé	7.55±0.11 ^{c2,3}	93.91±1.39 ^{b8}	0.33±0.01 ^{a1,2}	2.17±0.16 ^{a1}
	Plastique	4.18±0.08 ^{a1,2}	42.05±0.88 ^{a1}	0.70±0.03 ^{b3}	15.30±0.59 ^{c5}
	Bioenrobage 2	4.36±0.04 ^{b1}	40.07±3.27 ^{a4}	1.44±0.03 ^{c3}	15.92±0.32 ^{b3,4}
100	Non enrobé	8.26±0.19 ^{c6}	94.52±1.11 ^{c8}	ND	1.57±0.10 ^{a1}
	Plastique	5.57±0.24 ^{b5}	33.12±0.13 ^{a5}	0.45±0.02 ^{a1}	39.02±1.16 ^{c8}
	Bioenrobage 2	4.20±0.01 ^{a1}	39.37±0.60 ^{b4}	0.87±0.02 ^{b2}	18.00±0.18 ^{b5}
120	Non enrobé	7.82±0.18 ^{c4,5}	90.48±0.28 ^{c7}	0.30±0.01 ^{a1}	5.70± 0.32 ^{a3}
	Plastique	6.21±0.69 ^{b6}	30.67±0.24 ^{a2}	0.61±0.02 ^{b2,3}	67.62 ± 4.96 ^{c10}
	Bioenrobage 2	4.79±0.25 ^{a6}	39.23±0.84 ^{b4}	0.88±0.01 ^{c2}	18.21 ± 0.75 ^{b5}
135	Non enrobé	7.36±0.31 ^{a2}	90.14±1.88 ^{c7}	0.25±0.003 ^{a1}	4.55 ± 0.09 ^{a2}
	Plastique	8.89±0.07 ^{b8}	38.70±0.18 ^{a10}	0.50±0.02 ^{b1,2}	64.56 ± 1.03 ^{c9}
	Bioenrobage 2	9.09± 0.06 ^{b8}	53.14±1.44 ^{b5}	0.52±0.02 ^{b1}	42.82 ± 0.58 ^{b8}

^{a-c} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse

¹⁻¹⁰ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

Tableau 14b Acides organiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2.

Jours	Traitement	Ac. Lactique (% ms)	Ac. Acétique (% ms)	Ac. propionique (% ms)	Ac. Butyrique (% ms)
0	Non enrobé	3.80±0.06 ^{a4}	5.67±0.42 ^{a4}	0.31±0.03 ^{a6}	0 ^{a1}
	Plastique	3.80±0.06 ^{a6}	5.67±0.42 ^{a6}	0.31±0.03 ^{a3}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 2	3.80±0.06 ^{a1}	5.67±0.42 ^{a8}	0.31±0.03 ^{a2}	0 ^{a1}
6	Non enrobé	4.03±0.38 ^{c4}	2.00±0.13 ^{a2}	0.53±0.04 ^{b7}	1.37±0.13 ^{b4}
	Plastique	3.54±0.12 ^{b5}	8.92±0.34 ^{c7}	0.04±0.01 ^{a2}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 2	2.97±0.77 ^{a8}	3.19±0.13 ^{b5}	0.01±0.01 ^{a1}	0 ^{a1}
13	Non enrobé	0.42±0.002 ^{a2}	3.51±0.12 ^{a3}	0.24±0.04 ^{a4,5}	1.63±0.06 ^{b5}
	Plastique	5.20±0.16 ^{c7}	3.43±0.02 ^{a5}	0.33±0.01 ^{b4}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 2	1.28±0.02 ^{b7}	3.52±0.05 ^{a6}	0.39±0.01 ^{c3}	0 ^{a1}
21	Non enrobé	0.24±0.01 ^{b1,2}	0 ^{a1}	0.27±0.01 ^{b5,6}	2.72±0.04 ^{c7}
	Plastique	0.06±0.01 ^{a1}	3.14±0.09 ^{b4}	0.05±0.01 ^{a2}	0.38±0.01 ^{b4}
	Bioenrobage 2	0.29±0.01 ^{c3}	4.96±0.20 ^{c7}	0.29±0.01 ^{c2}	0 ^{a1}
28	Non enrobé	0.85±0.01 ^{c3}	0 ^{a1}	0.30±0.01 ^{b6}	1.92±0.04 ^{b6}
	Plastique	0.15±0.01 ^{a1,2}	3.24±0.06 ^{c4,5}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 2	0.22±0.01 ^{b2}	2.91±0.01 ^{b4}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
35	Non enrobé	0.44±0.01 ^{b2}	0 ^{a1}	0.18±0.01 ^{a3}	1.41±0.01 ^{b4}
	Plastique	0.39±0.01 ^{a3}	2.14±0.16 ^{b3}	0.35±0.02 ^{b4}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 2	0.55±0.01 ^{c4}	3.25±0.01 ^{c5}	0.45±0.01 ^{c4}	0 ^{a1}
42	Non enrobé	0.66±0.01 ^{a3}	0 ^{a1}	0.23±0.01 ^{a4}	0.35±0.01 ^{c3}
	Plastique	0.76±0.01 ^{b4}	2.13±0.01 ^{b3}	0.46±0.01 ^{b5}	0.15±0.01 ^{b2}
	Bioenrobage 2	0.78±0.01 ^{c6}	3.54±0.01 ^{c6}	0.51±0.01 ^{c5}	0 ^{a1}
55	Non enrobé	0.02±0.01 ^{a1}	0 ^{a1}	0.10±0.01 ^{b2}	0.14±0.01 ^{b2}
	Plastique	0.16±0.001 ^{c1,2}	1.60±0.01 ^{b2}	0.63±0.01 ^{c6}	0.25±0.01 ^{c3}
	Bioenrobage 2	0.12±0.01 ^{b1}	2.68±0.01 ^{c3}	0.49±0.02 ^{b5}	0 ^{a1}
70	Non enrobé	0.04±0.01 ^{a1}	0.06±0.01 ^{a1}	0 ^{a1}	0.07±0.01 ^{a1,2}
	Plastique	0.21±0.01 ^{b2}	1.59±0.03 ^{b2}	0.98±0.01 ^{c7}	0.73±0.01 ^{b5}
	Bioenrobage 2	0.71±0.01 ^{c5}	2.42±0.05 ^{c2}	0.02±0.01 ^{b1}	0.09±0.01 ^{a2}
135	Non enrobé	0.028±0.01 ^{a1}	0.04±0.01 ^{a1}	0 ^{a1}	0 ^{a1}
	Plastique	0.17±0.01 ^{b1,2}	0.26±0.01 ^{b1}	1.79±0.01 ^{c8}	2.41±0.01 ^{c6}
	Bioenrobage 2	0.56±0.01 ^{c4}	0.34±0.01 ^{c1}	1.42±0.01 ^{b6}	1.67±0.01 ^{b3}

^{a-c} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différentes sont significativement différent ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse

¹⁻⁸ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

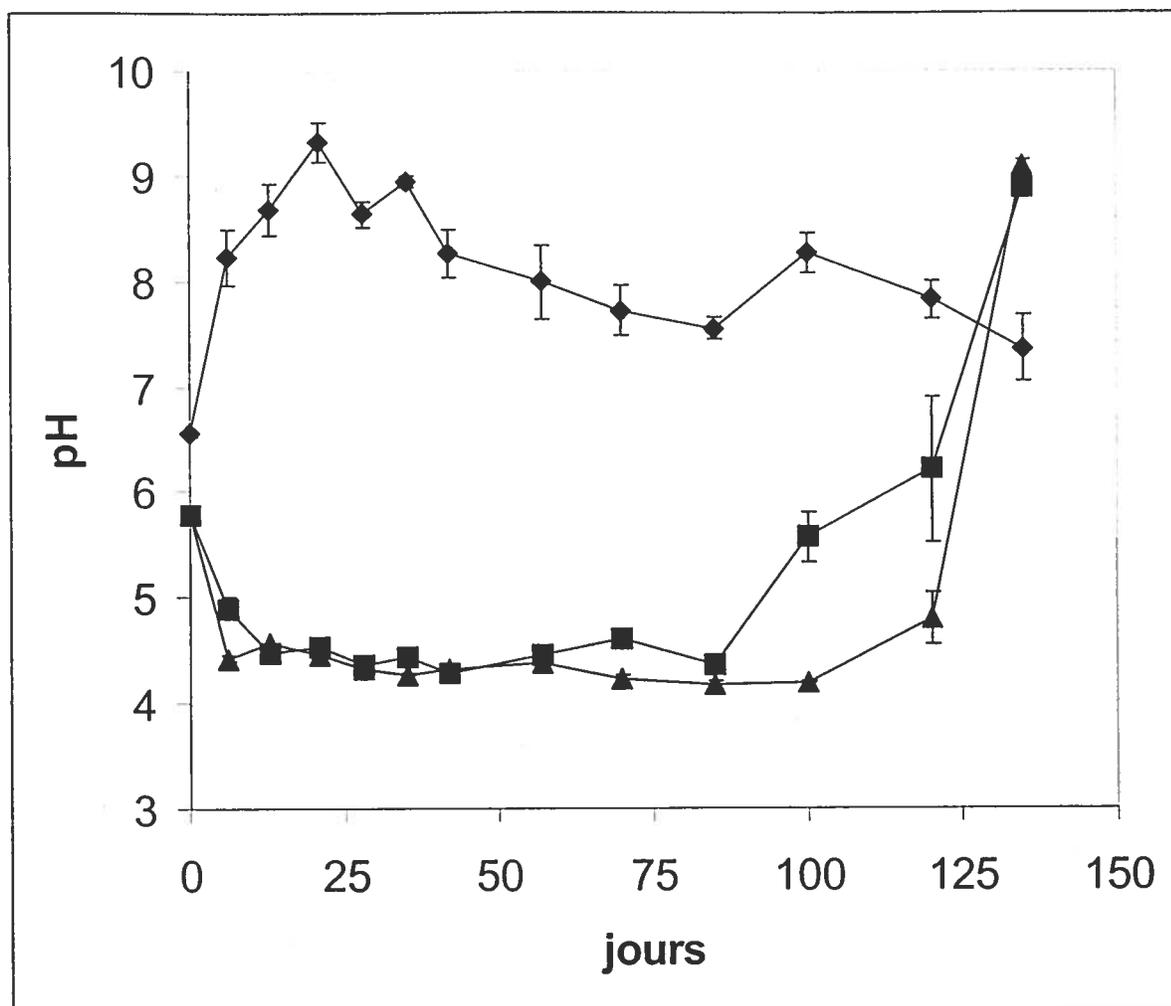


Figure 25. Effet du bioenrobage 2 sur le pH de l'ensilage
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage (▲)

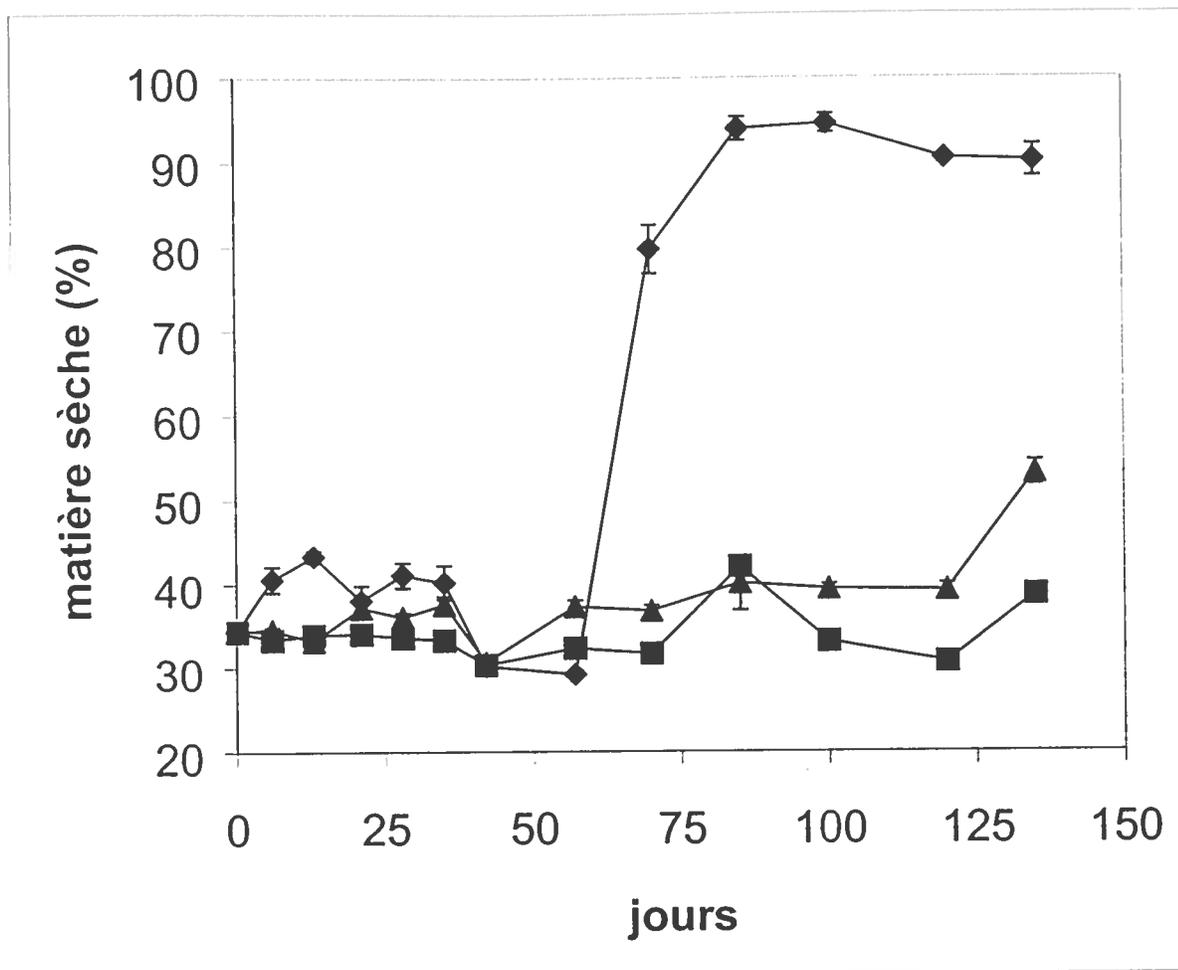


Figure 26. Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage
Non enrôbé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

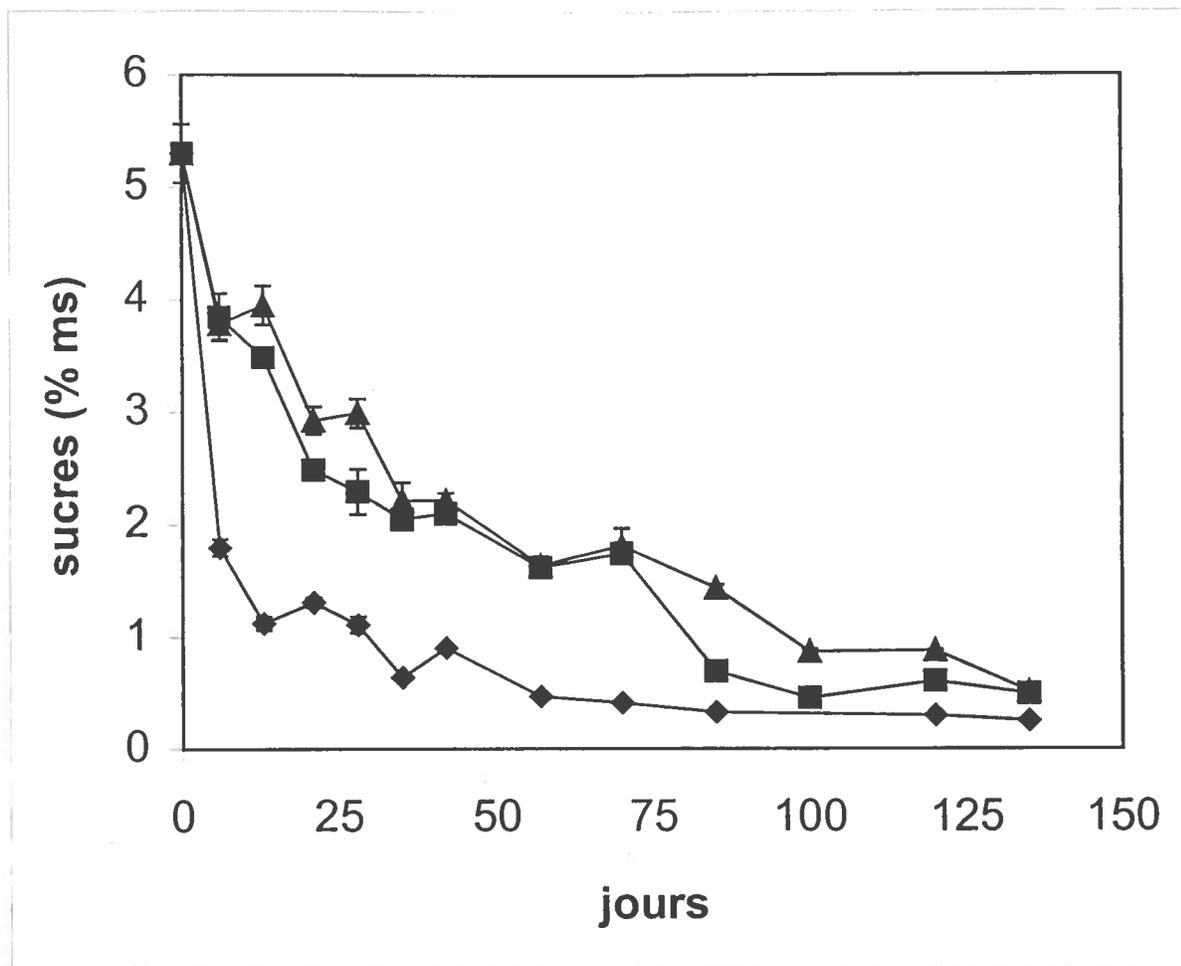


Figure 27. Effet du bioenrobage 2 sur le niveau de sucres dans l'ensilage
Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

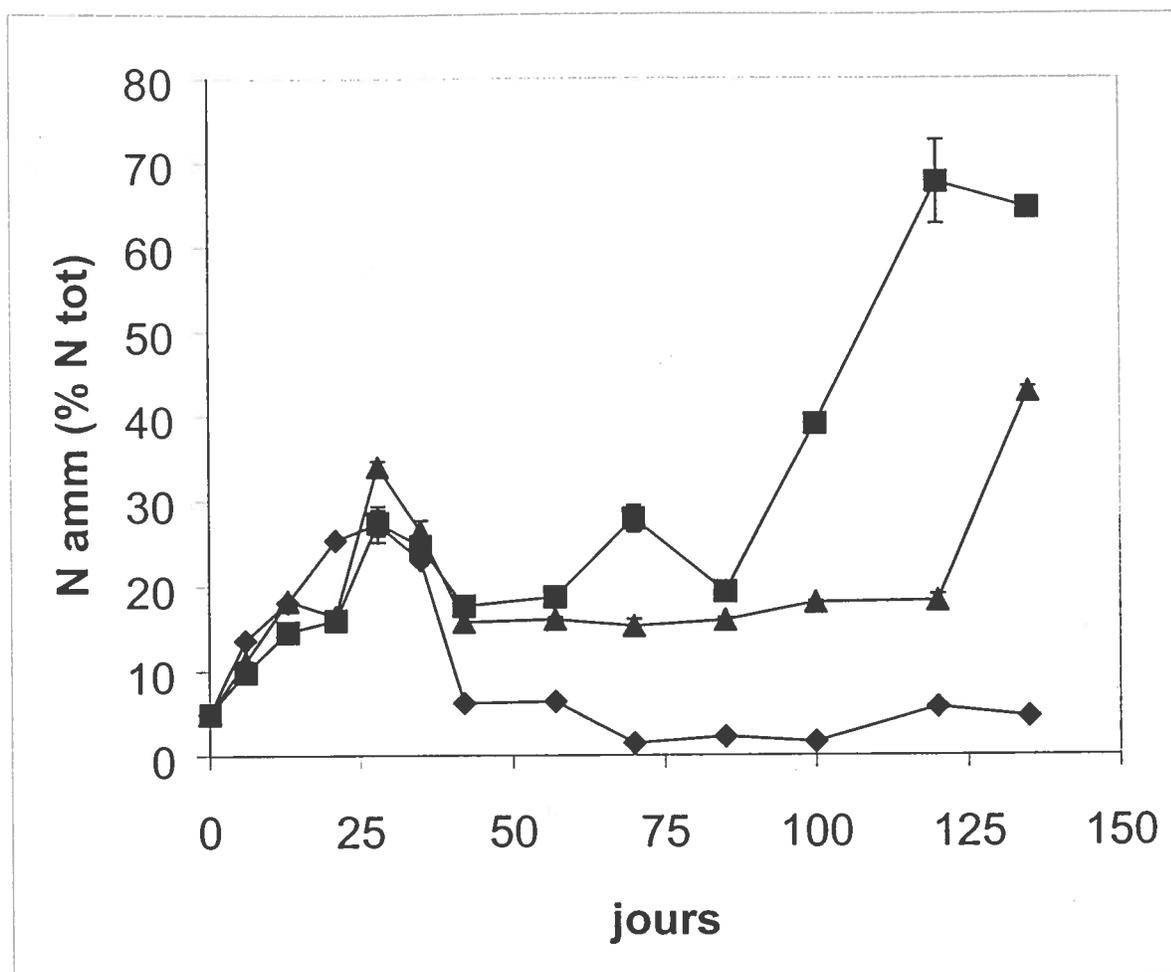


Figure 28. Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en azote ammoniacal dans l'ensilage Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

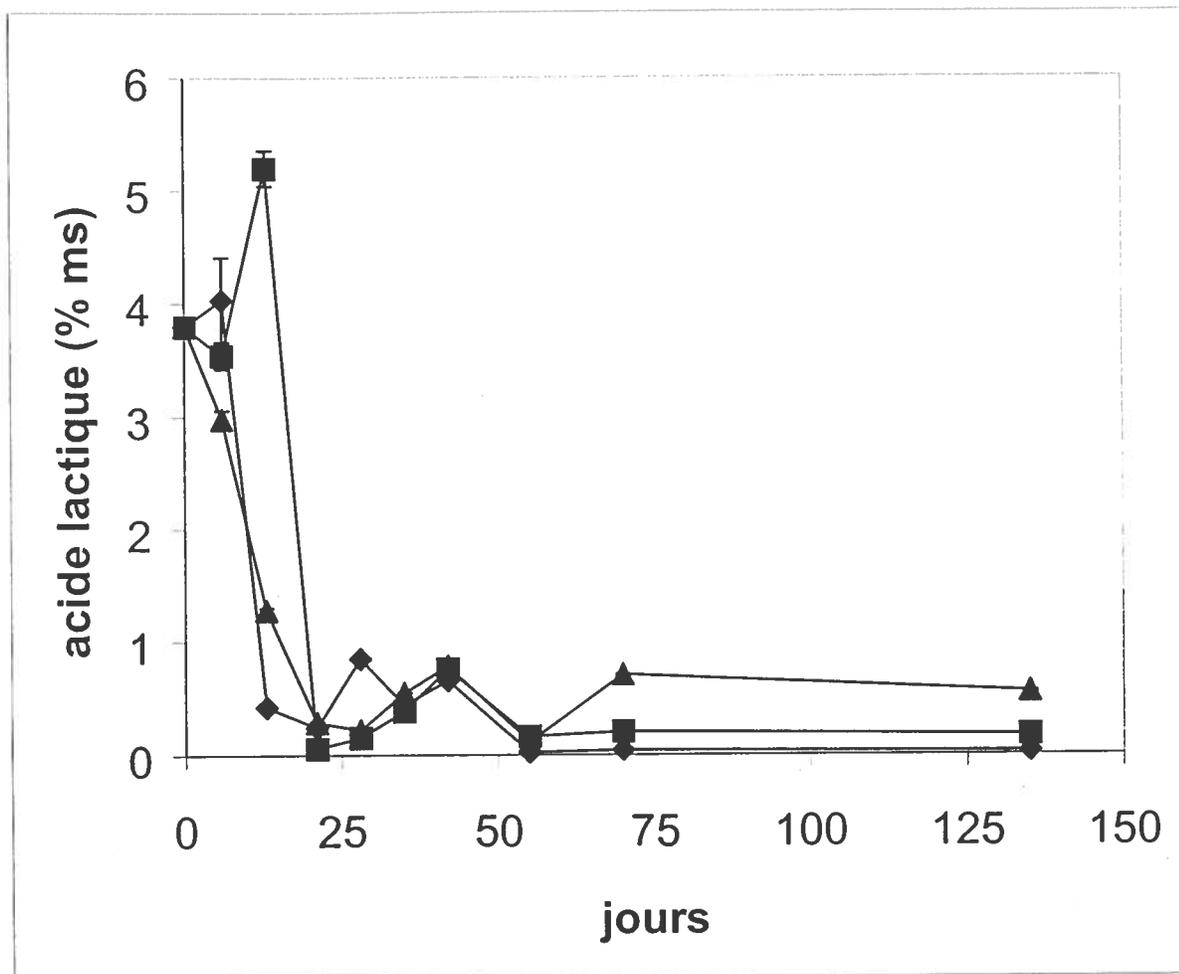


Figure 29. Concentration en acide lactique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2
Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

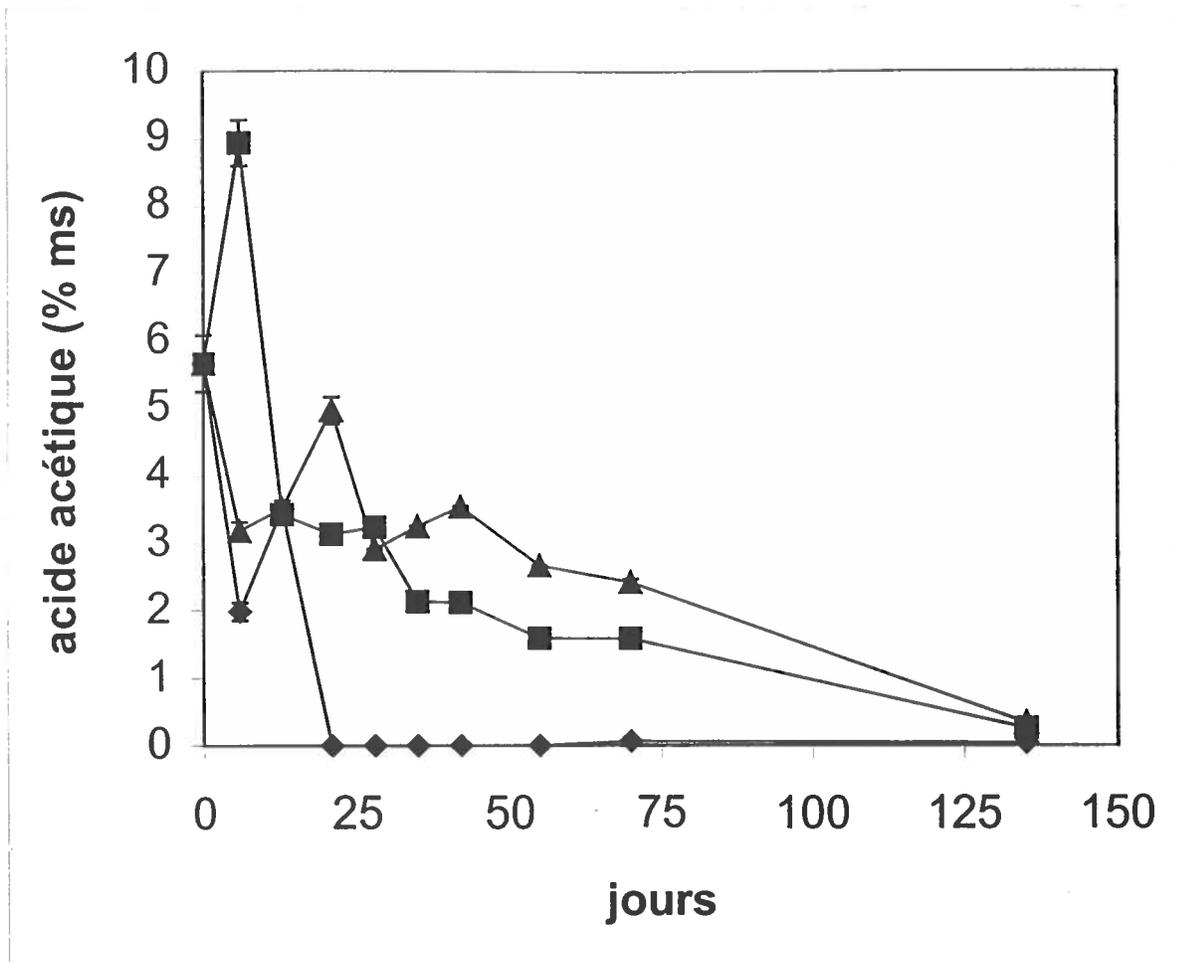


Figure 30. Concentration en acide acétique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2
Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

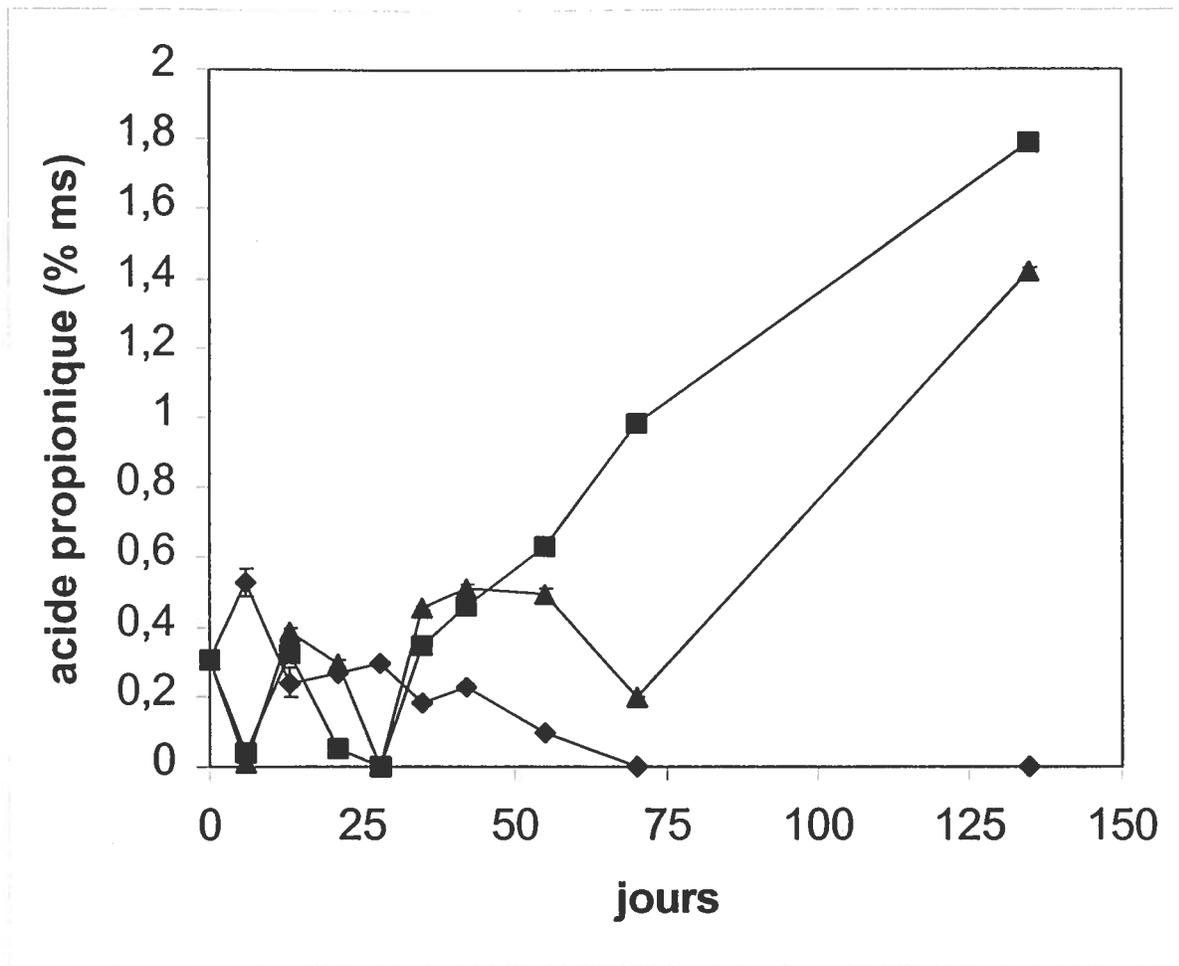


Figure 31. Concentration en acide propionique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage (▲)

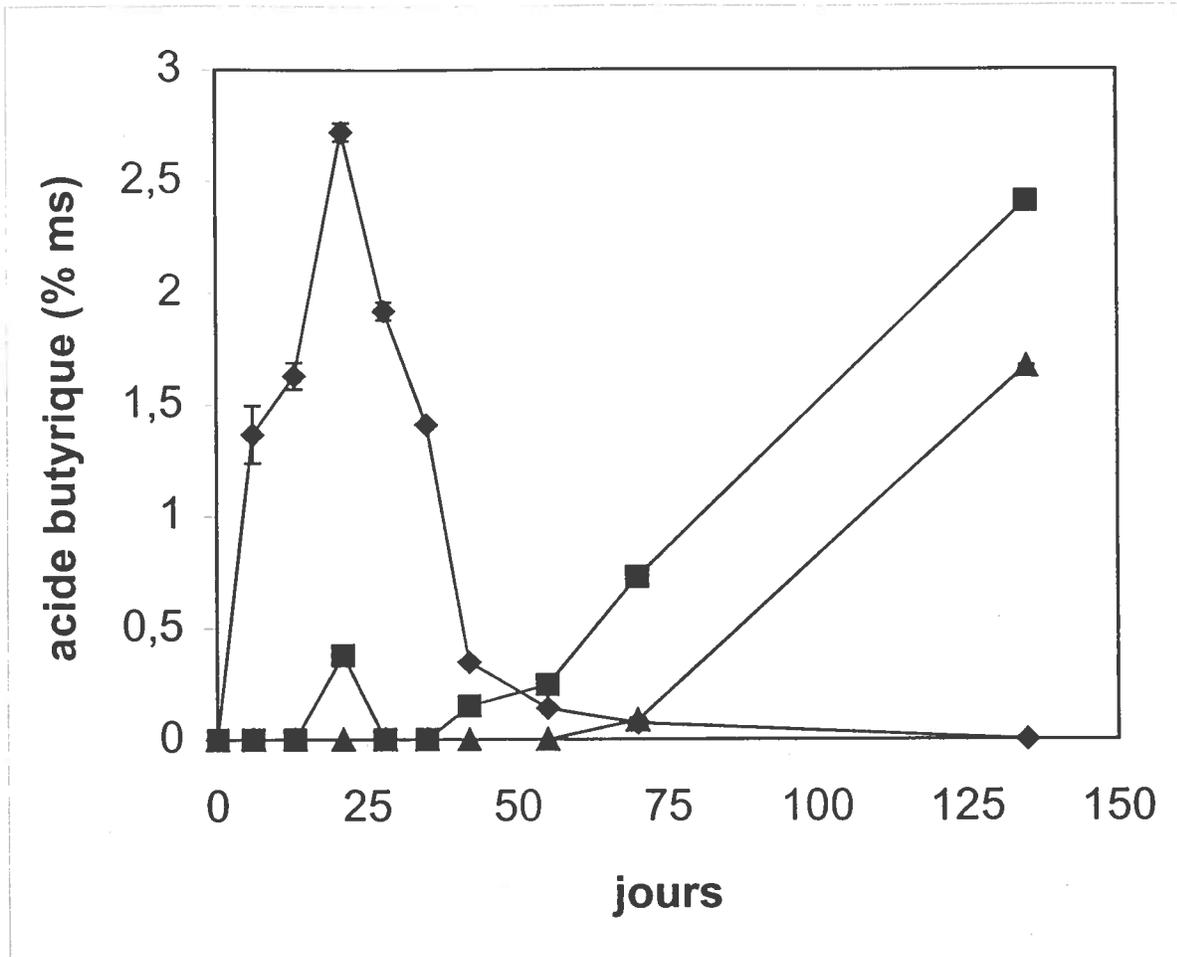


Figure 32. Concentration en acide butyrique dans l'ensilage avec le bioenrobage 2
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage (▲)

4.4.2. Analyses microbiologiques

Les populations microbiennes initiales du fourrage étaient 5.77 log UFC/g d'ensilage pour les aérobies totaux, de 2.99 log UFC/g d'ensilage pour les anaérobies totaux, de 3,33 log UFC/g d'ensilage pour les bactéries acido-lactiques. Le niveau de moisissures et levures étaient de 2.66 log UFC/g d'ensilage et celui des coliformes de 4.37 log UFC/g d'ensilage.

La figure 33 et le tableau 15 présentent les résultats de micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage selon les traitements. L'ensilage non enrobé présente une augmentation des aérobies totaux dès la première semaine d'entreposage pour se stabiliser à partir du jour 7 et ce durant le reste de la période d'entreposage. Les ensilages recouverts de bioenrobage et de plastique montrent des niveaux stables de micro-organismes aérobiques totaux durant tout l'essai. Une importante augmentation des populations d'aérobies totaux de 5.77 à 11.37 log UFC/g d'ensilage survient dans les six premiers jours d'entreposage dans l'ensilage non enrobé. Le contenu en aérobies retrouvés dans l'ensilage recouvert par le plastique est de 6.66 log UFC/g d'ensilage au jour 6 et de 6.78 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage enrobé du bioenrobage. Les populations aérobies totaux sont relativement stables et significativement inférieures ($p \leq 0.05$) au niveau des ensilages scellés et ce, pendant tout l'entreposage, par rapport aux ensilages non recouverts. Au jour 135, le contenu en aérobies totaux est de 7.22 log UFC/g d'ensilage pour l'ensilage recouvert de plastique et de 7.01 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage enrobé du bioenrobage. Le contenu en aérobies dans l'ensilage non enrobé est de 11.01 log UFC/g d'ensilage au jour 135.

Les valeurs des populations anaérobies totaux sont présentées dans le tableau 15 ainsi qu'à la figure 34. Les résultats montrent une augmentation de ces micro-organismes dans l'ensilage pour tous les traitements et ce, dès la première semaine pour se stabiliser après le jour 6 pour le reste de la période d'entreposage. Les trois traitements présentent une augmentation de leur population de micro-organismes anaérobiques dans les six premiers jours de conservation avec respectivement 6.71, 6.69 et 6.80 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé, dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. À partir du jour 6, tous les ensilages présentent des niveaux stables d'anaérobies totaux avec respectivement 6.03, 6.04 et 6.55 log CFU/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage au jour 135.

Le contenu en bactéries lactiques trouvé dans l'ensilage figure au tableau 15 et à la figure 35. La population de BAL dans l'ensilage augmente pour tous les traitements dans la première semaine. Toutefois ce nombre diminue au sein de l'ensilage non enrobé alors que le contenu en BAL reste stable dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage jusqu'à la fin de la période d'entreposage. Le contenu en BAL augmente dans tous les traitements dans les six premiers jours d'entreposage à 5.03, 6.54 et 6.85 log CFU/g d'ensilage pour l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage respectivement. Après le jour 6, une diminution des BAL est observée dans l'ensilage non enrobé à 1.56 log CFU/g d'ensilage au jour 135. Au terme de l'entreposage au jour 135, la population finale de BAL est de 7.79 log UFC/g d'ensilage pour le plastique et de 6.36 log UFC/g d'ensilage pour le bioenrobage.

Les populations de moisissures et de levures sont présentées dans le tableau 15 ainsi qu'à la figure 36. Dans tous les traitements, la population de moisissures et de levures augmentent durant les 21 premières journées d'entreposage pour se stabiliser par la suite. Durant les 42 premiers jours, l'exposition à l'air entraîne au niveau de l'ensilage non enrobé, une augmentation significative ($p \leq 0.05$) de moisissures et de levures avec des valeurs passant de 2.66 à 8.05 log UFC/g d'ensilage. Le contenu dans les ensilages scellés avec le plastique atteint une valeur de 4.80 log UFC/g d'ensilage comparativement au bioenrobage où le contenu est de 4.82 log UFC/g d'ensilage. Au jour 70, le nombre de moisissures et de levures dans l'ensilage est de 7.5, 5.02 et 4.83 log CFU/g d'ensilage au niveau de l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage respectivement. Ces niveaux de micro-organismes diminuent au niveau du témoin par la suite pour atteindre au terme de l'expérience une valeur de 3.96 log UFC/g d'ensilage au jour 135. Toutefois, les résultats montrent que les populations de moisissures et de levures dans les ensilages protégés par le plastique ou le bioenrobage présentent une constante croissance pour atteindre une valeur respective de 7.03 et de 7.45 log UFC/g d'ensilage. Seul le recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage a permis de diminuer le contenu initial de moisissures et de levures dans les six premiers jours d'entreposage.

Le tableau 15 et la figure 37 présentent le nombre de coliformes dans l'ensilage selon les traitements et ce, durant toute la période d'entreposage. L'ensilage non enrobé présente une augmentation constante du nombre de coliformes dans les 28 premiers jour pour diminuer graduellement par la suite. L'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage montre une

diminution des coliformes dans l'ensilage durant les 42 premières journées. À partir du jour 42, l'ensilage scellé par le plastique présente une augmentation des populations de coliformes alors que cette croissance n'est observée qu'à partir du 70^e jour d'entreposage dans l'ensilage enrobé du bioenrobage. Une augmentation de 4.37 à 9.68 log UFC de coliformes/g d'ensilage est observée durant les premiers 57 jours d'entreposage dans l'ensilage non enrobé. Le scellement des ensilages par le plastique et le bioenrobage permet de diminuer le nombre initial de ces micro-organismes de 4.37 à 0 log UFC/g ensilage au jour 42. Le bioenrobage permet d'éliminer les coliformes de l'ensilage jusqu'au jour 70. La population finale de coliformes au 135^e jour d'entreposage est significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) dans l'ensilage non enrobé comparativement à l'ensilage scellé par le plastique et par le bioenrobage. Le contenu en coliformes dans l'ensilage de ces trois échantillons est respectivement de 4.77, 2.71 et 2.61 log UFC/g ensilage au jour 135.

Tableau 15 Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2.

Jours	Traitement	Aérobe	Anaérobe	BAL	Mois/Levures	Coliforme
		Log UFC/g. ensilage	Log UFC/g. ensilage	Log UFC/g. ensilage	Log UFC/g. ensilage	Log UFC/g. ensilage
0	Non enrobé	5.77±0.02 ^{a1}	2.99±0.07 ^{a1}	3.33±0.03 ^{a7}	2.66±0.02 ^{a1}	4.37±0.02 ^{a2}
	Plastique	5.77±0.02 ^{a4}	2.99±0.07 ^{a1}	3.33±0.03 ^{a1}	2.66±0.02 ^{a1}	4.37±0.02 ^{a9}
	Bioenrobage 2	5.77±0.02 ^{a7}	2.99±0.07 ^{a1}	3.33±0.03 ^{a1}	2.66±0.02 ^{a2}	4.37±0.02 ^{a6}
6	Non enrobé	11.37±0.05 ^{c4}	6.71±0.01 ^{a9}	5.03±0.02 ^{a11}	5.27±0.14 ^{c4}	5.49±0.03 ^{c3}
	Plastique	6.66±0.04 ^{a7}	6.69±0.03 ^{a5}	6.54±0.04 ^{b5}	3.13±0.06 ^{b2}	4.01±0.03 ^{b8}
	Bioenrobage 2	6.78±0.03 ^{b10}	6.80±0.03 ^{b9}	6.85±0.02 ^{c9}	0.22±0.23 ^{a1}	0 ^{a1}
13	Non enrobé	11.47±0.03 ^{c5}	6.21±0.04 ^{a5,6}	4.08±0.07 ^{a10}	5.73±0.05 ^{c5}	6.55±0.03 ^{c5}
	Plastique	7.12±0.04 ^{b11}	7.05±0.05 ^{c9}	6.96±0.05 ^{c7}	5.10±0.04 ^{b7}	0.94±0.06 ^{b2}
	Bioenrobage 2	6.15±0.03 ^{a8}	6.35±0.02 ^{b5}	6.03±0.09 ^{b5}	3.90±0.02 ^{a3}	0 ^{a1}
21	Non enrobé	11.29±0.04 ^{c3}	6.16±0.04 ^{a5}	2.63±0.06 ^{a4}	6.07±0.04 ^{c7}	7.64±0.01 ^{c7}
	Plastique	5.90±0.09 ^{b6}	6.64±0.03 ^{c4}	6.00±0.02 ^{c4}	5.65±0.03 ^{b9}	2.11±0.03 ^{a4}
	Bioenrobage 2	5.59±0.03 ^{a5}	6.41±0.03 ^{b6}	5.17±0.05 ^{b2}	4.78±0.02 ^{a6,7}	2.45±0.04 ^{b4}
28	Non enrobé	12.76±0.03 ^{c8}	6.23±0.05 ^{a6}	6.29±0.04 ^{c8}	6.29±0.03 ^{c8}	8.67±0.02 ^{b9}
	Plastique	5.70±0.01 ^{b3}	6.23±0.04 ^{a3}	4.84±0.02 ^{b3}	4.84±0.01 ^{b5}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 2	5.20±0.06 ^{a2}	6.33±0.04 ^{b5}	4.66±0.02 ^{a2}	4.67±0.02 ^{a5}	0 ^{a1}
35	Non enrobé	12.96±0.03 ^{c10}	6.04±0.07 ^{a4}	2.58±0.02 ^{a4}	5.95±0.02 ^{c6}	8.41±0.04 ^{c8}
	Plastique	5.56±0.02 ^{a2}	6.24±0.04 ^{b3}	5.30±0.02 ^{b2}	4.57±0.01 ^{a3}	1.04±0.04 ^{b3}
	Bioenrobage 2	5.66±0.02 ^{b6}	5.99±0.01 ^{a2}	5.50±0.03 ^{c3}	4.73±0.02 ^{b5,6}	0 ^{a1}
42	Non enrobé	13.35±0.05 ^{c1,2}	5.90±0.02 ^{a3}	3.03±0.06 ^{a6}	8.05±0.06 ^{b12}	8.37±0.06 ^{b8}
	Plastique	5.67±0.01 ^{b3}	7.06±0.01 ^{b9}	6.70±0.02 ^{c6}	4.80±0.02 ^{a4}	0 ^{a1}
	Bioenrobage 2	5.59±0.03 ^{a5}	7.04±0.07 ^{b10}	6.41±0.04 ^{b7}	4.82±0.01 ^{a7}	0 ^{a1}
57	Non enrobé	13.51±0.04 ^{c1,3}	6.03±0.01 ^{a4}	3.60±0.02 ^{a9}	7.40±0.04 ^{c10}	9.68±0.05 ^{c11}
	Plastique	5.36±0.04 ^{b1}	7.01±0.01 ^{c8}	7.08±0.02 ^{c8}	4.83±0.02 ^{b4,5}	2.06±0.07 ^{b4}
	Bioenrobage 2	5.25±0.05 ^{a3}	6.13±0.07 ^{b4}	5.83±0.01 ^{b4}	4.29±0.07 ^{a4}	0 ^{a1}
70	Non enrobé	12.52±0.03 ^{c7}	6.35±0.02 ^{a7}	2.61±0.04 ^{a4}	7.50±0.02 ^{c11}	9.07±0.05 ^{c10}
	Plastique	5.86±0.01 ^{b5}	6.85±0.02 ^{c7}	7.43±0.04 ^{c11}	5.02±0.02 ^{b6}	3.40±0.03 ^{b7}
	Bioenrobage 2	4.48±0.03 ^{a1}	6.49±0.03 ^{b7}	6.12±0.01 ^{b6}	4.83±0.01 ^{a7}	0 ^{a1}
85	Non enrobé	12.91±0.02 ^{c9}	6.60±0.04 ^{a8}	2.92±0.01 ^{a5}	6.89±0.04 ^{c9}	7.40±0.06 ^{c6}
	Plastique	6.75±0.02 ^{b8}	6.75±0.05 ^{b6}	7.24±0.09 ^{c9}	6.11±0.01 ^{b10}	2.46±0.05 ^{b5}
	Bioenrobage 2	5.43±0.03 ^{a4}	6.79±0.02 ^{b9}	6.55±0.03 ^{b8}	5.62±0.03 ^{a8}	1.20±0.06 ^{a2}
100	Non enrobé	13.041±0.01 ^{c11}	5.77±0.02 ^{a2}	2.40±0.04 ^{a3}	5.30±0.05 ^{a4}	6.14±0.08 ^{c4}
	Plastique	6.85±0.02 ^{b9}	ND	7.34±0.07 ^{c10}	5.33±0.05 ^{a8}	2.08±0.10 ^{b4}
	Bioenrobage 2	6.62±0.03 ^{a9}	6.07±0.05 ^{b3}	6.08±0.02 ^{b6}	5.58±0.03 ^{b8}	1.41±0.04 ^{a3}
120	Non enrobé	11.99±0.01 ^{c6}	5.99±0.03 ^{a4}	1.42±0.04 ^{a1}	4.33±0.05 ^{a3}	4.78±0.02 ^{c2}
	Plastique	7.03±0.02 ^{b10}	6.85±0.01 ^{c7}	8.27±0.05 ^{c13}	6.72±0.03 ^{b11}	2.48±0.03 ^{a5}
	Bioenrobage 2	6.15±0.01 ^{a8}	6.04±0.01 ^{b2,3}	7.74±0.02 ^{b10}	7.00±0.01 ^{c9}	2.60±0.03 ^{b5}
135	Non enrobé	11.01±0.02 ^{c2}	6.03±0.02 ^{a4}	1.56±0.03 ^{a2}	3.96±0.01 ^{a2}	4.08±0.01 ^{c1}
	Plastique	7.22±0.04 ^{b12}	6.04±0.01 ^{a2}	7.80±0.02 ^{c12}	7.03±0.01 ^{b12}	2.71±0.03 ^{b6}
	Bioenrobage 2	7.01±0.01 ^{a11}	6.55±0.03 ^{b8}	6.37±0.05 ^{b7}	7.45±0.04 ^{c10}	2.61±0.04 ^{a5}

^{a-c} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse

¹⁻¹¹ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

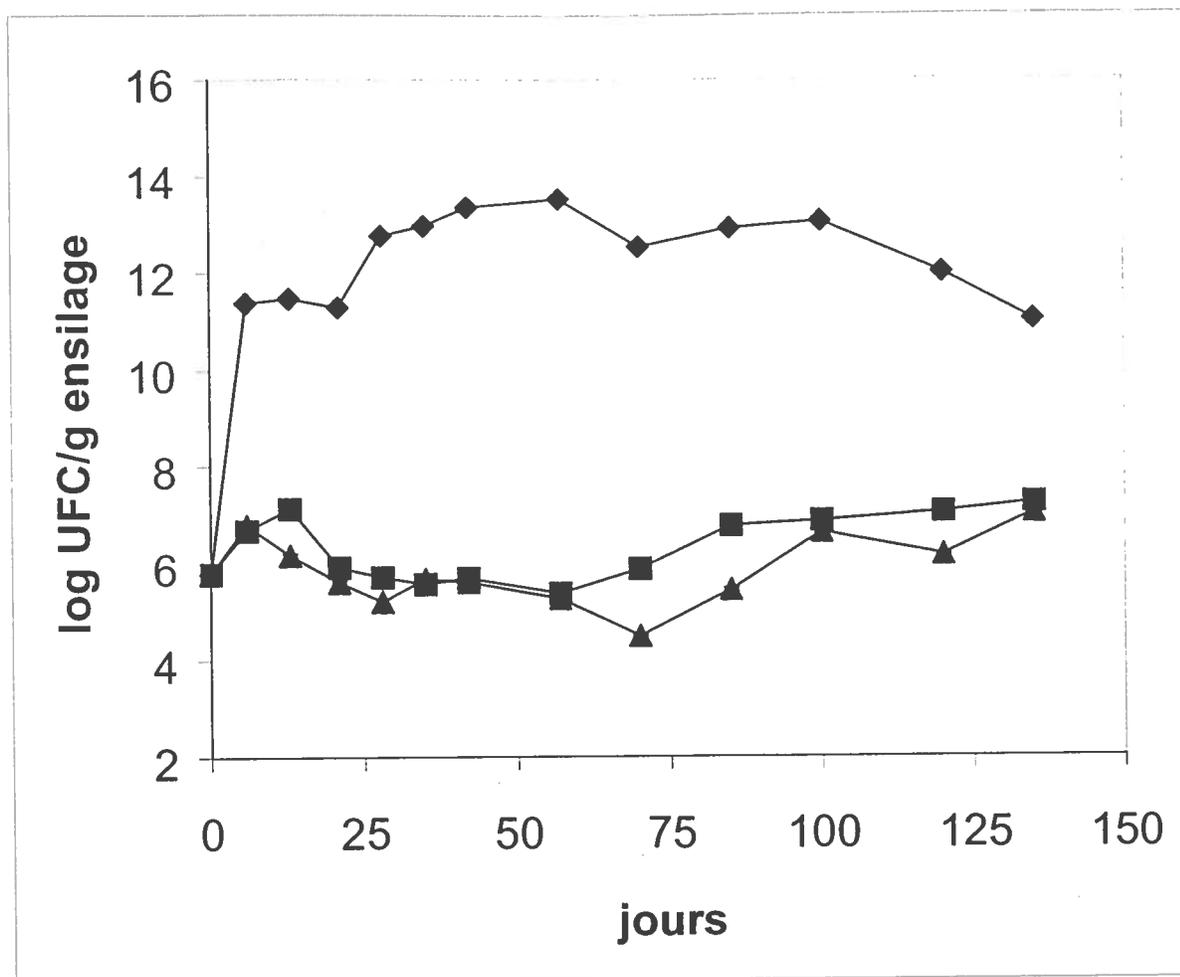


Figure 33. Niveau de micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 2. Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

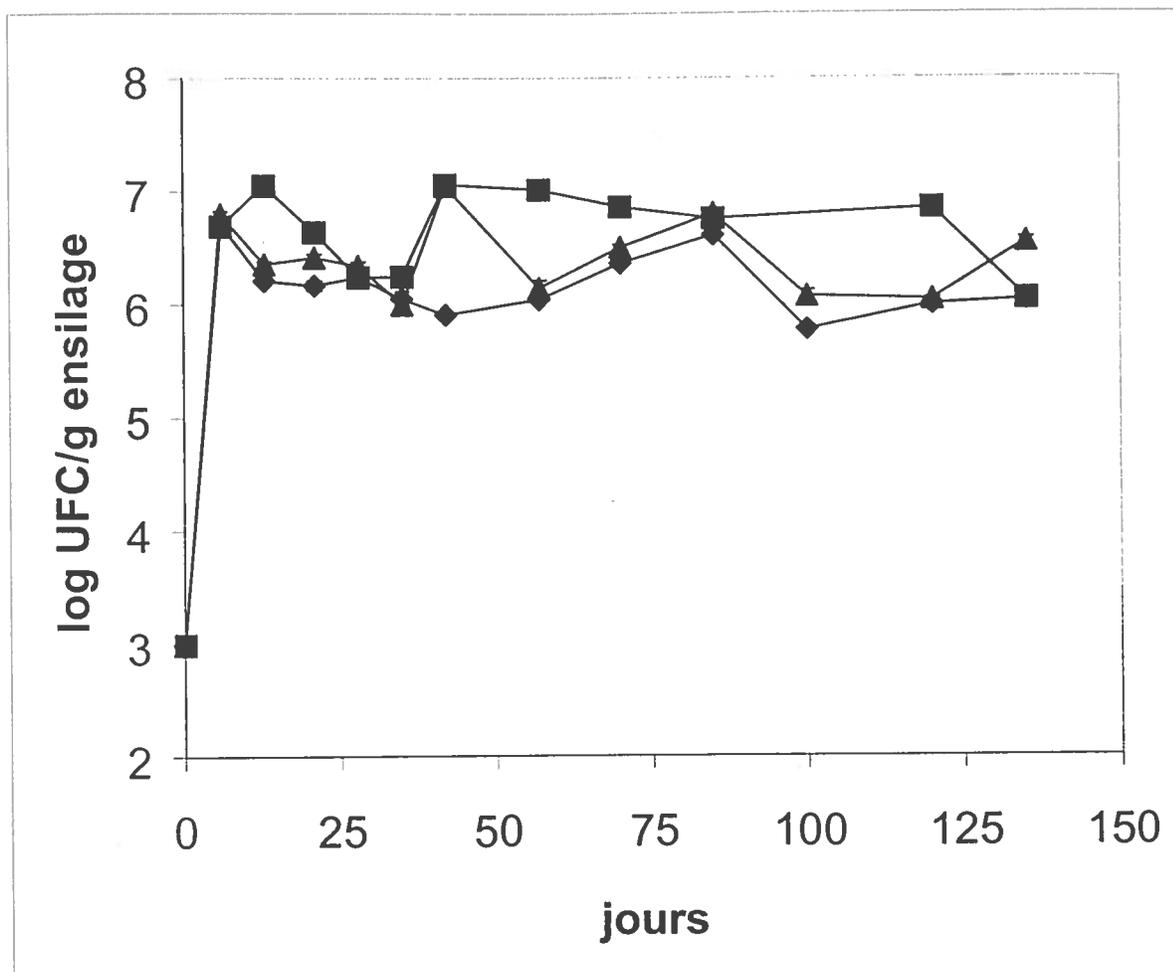


Figure 34. Niveau de micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage avec le bioenrobage 2. Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

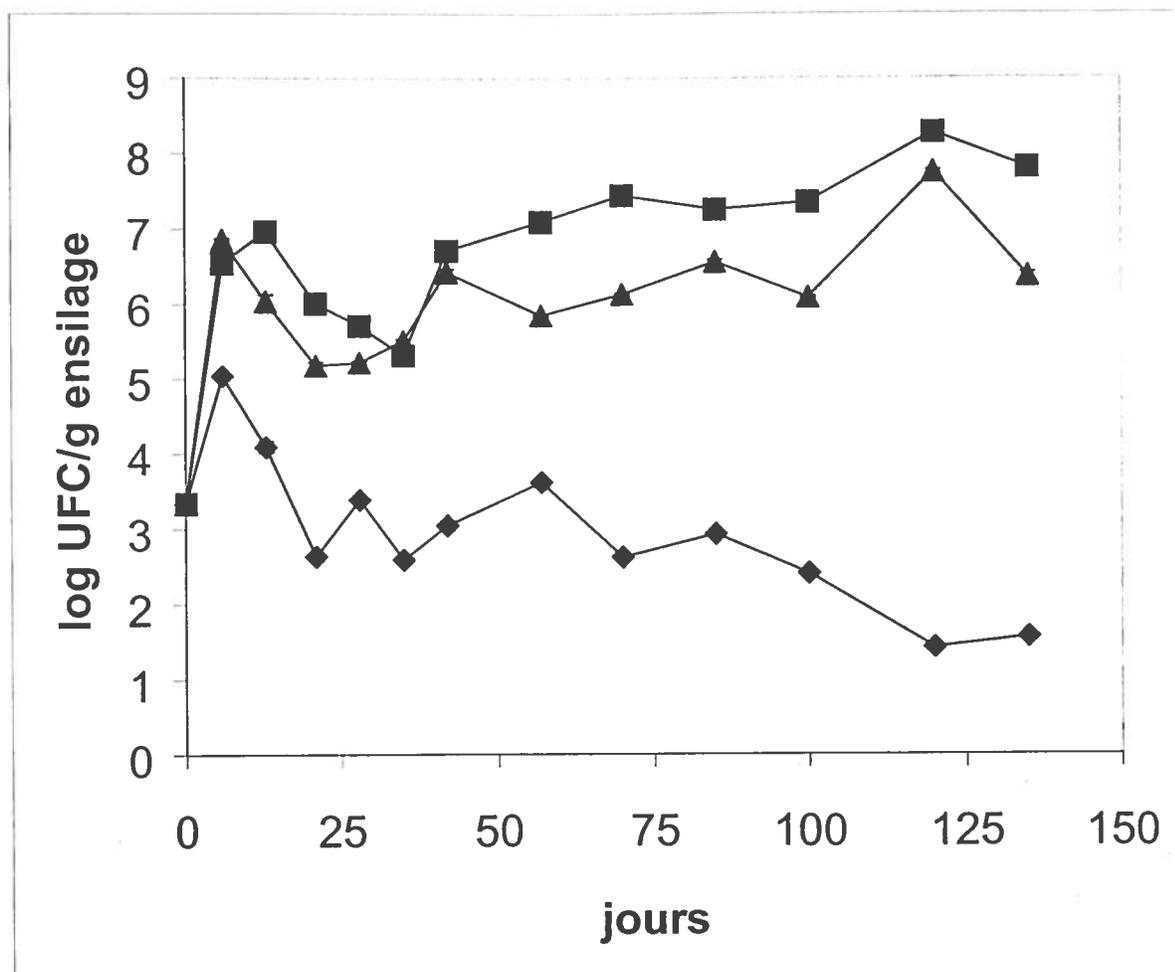


Figure 35. Niveau de BAL dans l'ensilage avec le bioenrobage 2.
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage (▲)

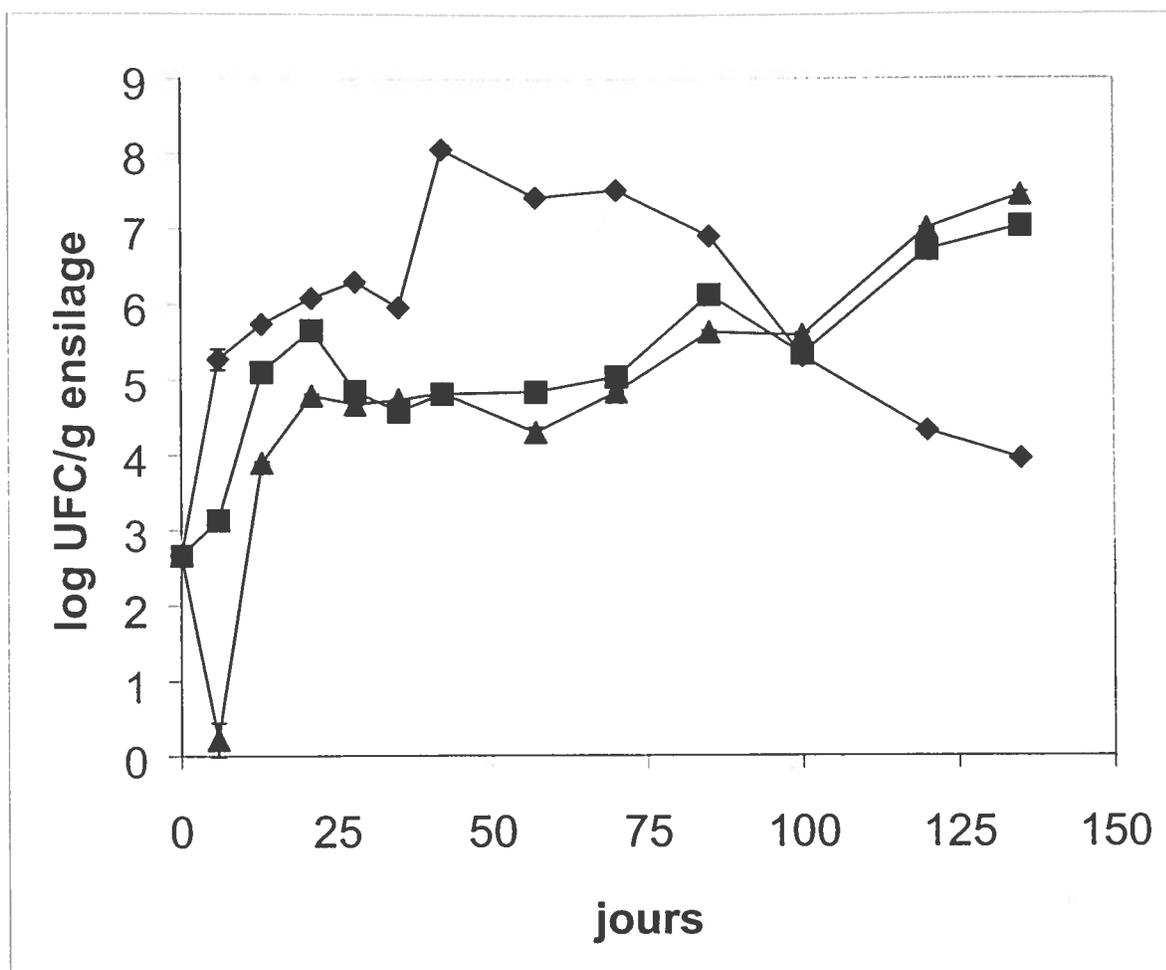


Figure 36. Niveau de moisissures et de levures dans l'ensilage avec le bioenrobage 2
Non enrobé (◆), plastique (■), bioenrobage (▲)

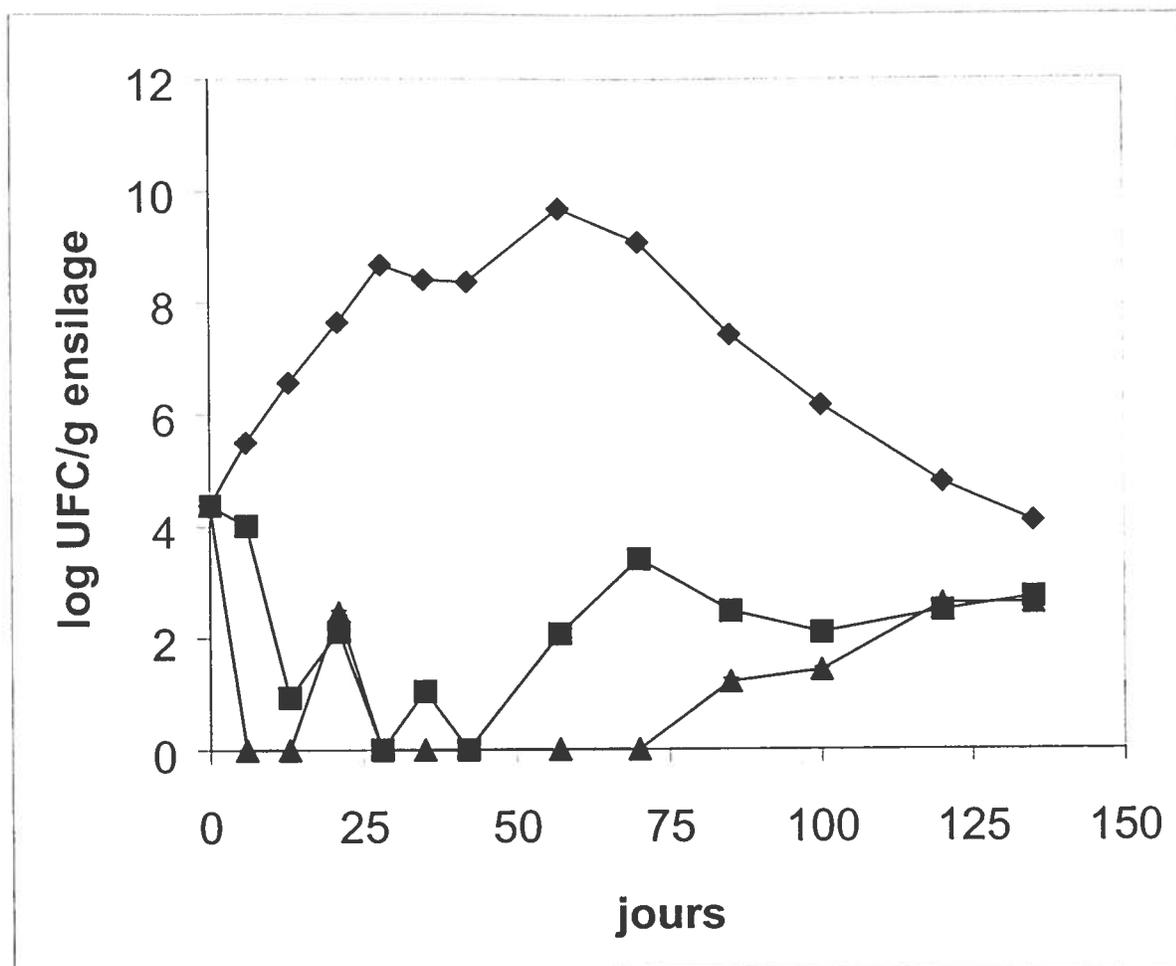


Figure 37. Niveau de coliformes dans l'ensilage avec le bioenrobage 2
Non enrobé (♦), plastique (■), bioenrobage (▲)

4.6. Essai extérieur avec le bioenrobage 2

Le bioenrobage 2 a été évalué pour sa capacité à conserver l'ensilage sous des conditions extérieures.

4.6.1. Analyses biochimiques

Le fourrage avait un pH initial de 6.04 avec un pourcentage de matière sèche de 32.39%. Le niveau de sucres solubles dans l'eau était de 8.25% ms et le contenu en azote ammoniacal de 6.65 % N tot. Le contenu en acides organiques était de 0.54% ms d'acide lactique, 1.50% ms d'acide acétique, 0.66% ms d'acide propionique. Aucun acide butyrique n'a été détecté.

Traitements protégés de la pluie

Les valeurs de pH de l'ensilage protégé de la pluie figurent au tableau 16a et à la figure 38a. Le pH de l'ensilage non enrobé augmente dans les 10 premières journées d'entreposage puis reste stable durant tout l'essai. Une diminution du pH est observée dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage dès le début de l'essai. Le scellement par le bioenrobage permet le maintien d'un pH stable durant toute la durée d'entreposage de 70 jours alors que le pH de l'ensilage recouvert de film de plastique augmente à partir du 35^e jours. Une augmentation du pH de 6.04 à 8.08 est observée dans l'ensilage non enrobé dans les deux premières semaines d'entreposage. Durant ces deux premières semaines, le plastique et le bioenrobage montrent une diminution respective de pH à 5.05 et 4.34. Le bioenrobage permet un maintien stable du pH de l'ensilage tout le long de l'essai et présente une valeur de pH de 4.35 au jour 70. À partir du 35^e jour d'entreposage et ce, jusqu'à la fin de la durée d'entreposage, l'ensilage scellé par le plastique montre une augmentation de pH de 4.94 à 8.34. Au terme de l'entreposage au jour 70, le pH de l'ensilage non enrobé et enrobé est respectivement de 7.17 et de 4.34.

Le contenu en matière sèche de l'ensilage des traitements protégés de la pluie est présenté au tableau 16a et à la figure 39a. L'ensilage non enrobé présente une augmentation constante du pourcentage de matière sèche. Le scellement de l'ensilage par le plastique permet de conserver un niveau stable de matière sèche durant tout l'entreposage alors que le

recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage permet une conservation stable de la matière sèche jusqu'au 35^e jour. Le contenu en matière sèche de l'ensilage non enrobé atteint 77.35% au jour 70. Le contenu en matière sèche est stable pour les ensilages enrobés du bioenrobage jusqu'au jour 35. Le contenu en matière sèche est respectivement de 65.86%, 35.16% et 34.14% au jour 35 pour l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert du bioenrobage. À partir du 35^e jour de conservation, l'ensilage enrobé montre une augmentation de son contenu en matière sèche qui atteint 42.16% au jour 70. Le plastique permet un maintien du contenu en matière sèche de l'ordre de 34.80% pendant les 70 jours d'entreposage alors que celui de l'ensilage non enrobé atteint une valeur de 77.35% au jour 70.

Le contenu en sucres solubles dans l'ensilage protégé de la pluie est présenté au tableau 16a et à la figure 40a. Tous les traitements montrent une diminution du niveau de sucres de l'ensilage avec une diminution plus importante au niveau des ensilages non enrobés. La diminution dans la première semaine d'entreposage du contenu initial en sucres dans l'ensilage est plus marquée pour l'ensilage non enrobé. Dans les sept premiers jours, une diminution de 8.25 à 1.98% ms est observée dans l'ensilage non enrobé alors que l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage montrent une diminution respective de 8.25 à 4.84% ms et de 8.25 à 2.67% ms. Cette diminution de la quantité de sucres dans l'ensilage présent dans tous les traitements continue jusqu'à la fin de la durée d'entreposage au jour 70. Des valeurs respectives de 0.37% ms, de 1.16% ms et de 1.34% ms de sucres solubles sont retrouvées dans l'ensilage non enrobé, l'ensilage recouvert par le plastique et par le bioenrobage au jour 70 .

Le tableau 16a et la figure 41a présentent le niveau d'azote ammoniacal contenu dans l'ensilage des traitements protégés de la pluie. Tous les traitements présentent une augmentation du contenu en azote ammoniacal dans la première semaine d'entreposage. L'ensilage non enrobé et enrobé de bioenrobage présente une augmentation continue jusqu'au 28^e jour d'entreposage. À partir du jour 28, l'ensilage non enrobé voit son contenu en azote ammoniacal diminuer durant le reste de la durée d'entreposage alors que le recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage permet une certaine stabilisation du contenu en azote ammoniacal. L'ensilage recouvert du plastique présente une augmentation de l'azote ammoniacal durant tout l'entreposage. L'ensilage non enrobé présente un contenu maximale en azote ammoniacal au jour 28 et ce contenu s'avère significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. Ces valeurs sont respectivement

de 26.84% N tot, 20.04% N tot et de 21.61% N tot au jour 28. Toutefois à partir du jour 42, une importante augmentation de l'azote ammoniacal est observée dans l'ensilage recouvert par le plastique. À la fin de l'entreposage au jour 70, une concentration en azote ammoniacal de 29.03% N tot est atteinte dans l'ensilage scellé par le plastique alors que cette valeur est de 20.78% N tot dans l'ensilage non enrobé. Du jour 42 au jour 70, le niveau d'azote ammoniacal est relativement stable dans l'ensilage enrobé présentant une valeur de 20.78% N tot au jour 70.

Le contenu en acide lactique dans les ensilages protégés de la pluie figure au tableau 16b et à la figure 42a. Dans les premiers 14 jours d'entreposage, la concentration en acide lactique présente dans l'ensilage non enrobé diminue alors qu'une augmentation est observée au niveau des ensilages recouverts par le plastique et par le bioenrobage. À partir du jour 14, une diminution graduelle du contenu en acide lactique est observée dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage jusqu'à la fin de la durée d'entreposage. L'ensilage non enrobé et protégé de la pluie présente une diminution de l'acide lactique de 0.54 à 0.02% ms dans les deux premières semaines. Une production maximale d'acide lactique est observée au jour 14 dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage pour un contenu respectif en acide de 4.83% ms et de 4.29% ms. À partir du jour 14, pratiquement aucun acide lactique n'est observé dans l'ensilage non enrobé. Au niveau des ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage, une diminution graduelle en acide lactique est observée après le jour 14 pour atteindre des valeurs respectives de 1.88% ms et de 2.53% ms au jour 42. Au terme de l'entreposage au jour 70, une augmentation significative ($p \leq 0.05$) atteignant 2.09% ms est observée dans l'ensilage enrobé du bioenrobage alors que l'ensilage recouvert par le plastique ne renferme que 1.03% ms d'acide lactique.

La concentration en acide acétique dans l'ensilage protégé de la pluie est présentée au tableau 16b ainsi qu'à la figure 43a. Dans tous les traitements, une augmentation du contenu en acide acétique est observée dans les dix premiers jours d'entreposage. Ce contenu en acide tend à diminuer dans l'ensilage non enrobé à partir du jour 14 et ce, pour le reste de la durée d'entreposage. L'ensilage recouvert par le bioenrobage et par le plastique présente une concentration maximale en acide acétique au jour 28 et au jour 14 respectivement. Après quoi, une diminution graduelle de cet acide est observée pour tous les traitements. Au jour 14, le contenu en acide acétique des ensilages non enrobés est de 3.16% ms alors que ceux des ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage sont respectivement de 3.18% ms et de

3.53% ms. Au jour 28, le contenu en acide acétique est de 0.25%, 2.33% et de 4.74% ms respectivement pour l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage. L'ensilage enrobé présente des niveaux significativement plus élevés ($p \leq 0.05$) que le plastique tout le long de l'essai avec une valeur finale au jour 70 de 3.24% ms comparativement au plastique à l'ensilage non enrobé où les valeurs sont respectivement de 2.89% ms et de 0.11% ms.

La concentration d'acide propionique trouvée dans l'ensilage protégé de la pluie est présentée au tableau 16b ainsi qu'à la figure 44a. Durant les premiers 28 jours d'entreposage, le contenu en acide propionique augmente de façon significative ($p \leq 0.05$) au niveau des ensilages non enrobés. Durant cette même période, le niveau de propionate tend à diminuer dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. À partir du jour 28, la concentration en acide propionique augmente dans l'ensilage recouvert de plastique alors que l'ensilage enrobé permet un maintien stable du niveau d'acide. À partir du jour 28, l'ensilage non enrobé montre une diminution du niveau d'acide propionique durant le reste de la durée d'entreposage. Le contenu en propionate de l'ensilage non enrobé passe de 0.66 à 2.95% ms au jour 28 comparativement au plastique et au bioenrobage où l'ensilage contient respectivement 0.34% ms et 0.62% ms au jour 28. L'ensilage enrobé maintient un contenu stable en acide propionique durant tout l'essai avec une valeur de 0.70% ms au jour 70. Au terme de la durée d'entreposage au jour 70, l'ensilage non enrobé, l'ensilage recouvert de plastique ou recouvert de bioenrobage présente respectivement un contenu en acide propionique de 1.23% ms, 1.13% ms et de 0.70% ms.

Le niveau d'acide butyrique contenu dans l'ensilage protégé de la pluie se trouve au tableau 16b et à la figure 45a. Durant les premiers 28 jours d'entreposage, le contenu en acide butyrique augmente dans les ensilages non enrobés. Durant cette même période, l'acide butyrique n'est pas détecté dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. À partir du jour 28, la concentration en acide butyrique augmente dans l'ensilage recouvert de plastique alors que l'ensilage enrobé permet un maintien stable du niveau d'acide. À partir du jour 28, l'ensilage non enrobé montre une diminution du niveau d'acide butyrique durant le reste de la durée d'entreposage. Le contenu en butyrate dans l'ensilage non enrobé est de 3.42% ms au jour 28 comparativement à 0% ms pour l'ensilage recouvert de plastique et à 0.01% ms dans l'ensilage enrobé du bioenrobage au jour 28. L'acide butyrique est décelé dans l'ensilage scellé par le bioenrobage ou par le plastique aux jours 28 et 42 respectivement.

Les valeurs aux jours 28 et 42 sont respectivement de 0% ms et de 0.80% ms pour le plastique et de 0.01% ms et de 0.03% ms pour le bioenrobage. Au niveau de l'ensilage enrobé du bioenrobage, une augmentation de 0.01 à 0.12% ms est observée entre le 28^e et 70^e jour d'entreposage. Une augmentation du contenu en acide butyrique de 0 à 1.31% ms est observée dans l'ensilage recouvert de plastique entre le jour 28 et 70. L'ensilage non enrobé présente un contenu final 1.60% ms d'acide butyrique et cette valeur est significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) que celle de l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage. Les valeurs de ces échantillons sont respectivement de 1.31% ms et de 0.12% ms au jour 70.

Traitements exposés à la pluie

Les valeurs de pH de l'ensilage exposé à la pluie figure au tableau 16a et à la figure 38b. Les valeurs de pH indiquent que les ensilages non enrobés présentent une augmentation du pH dès le début de l'entreposage. Les ensilages scellés par le plastique et le bioenrobage montrent une diminution du pH suivi d'une stabilité de ce pH. Sans protection contre les averses, l'ensilage non enrobé présente une augmentation du pH de 6.04 à 8.08 dans les 14 premiers jours de conservation. Durant cette même période, le plastique et le bioenrobage montre un pH respectif de 5.05 et 4.34. Le bioenrobage permet une stabilité du pH de l'ensilage jusqu'au 42^e jours d'entreposage présentant une valeur de 4.98 au jour 42. À la fin de l'entreposage au jour 70, l'exposition aux averses amène un pH significativement inférieur ($p \leq 0.05$) dans l'ensilage recouvert par le plastique comparativement à l'ensilage enrobé du bioenrobage et non enrobé atteignant une valeur de pH respective de 5.22, 8.97 et 8.87.

Le contenu en matière sèche de l'ensilage est présenté au tableau 16a et à la figure 39b. Sous la pluie, une diminution du contenu en matière sèche est observée dans l'ensilage non enrobé. Le scellement de l'ensilage par le plastique permet de conserver un niveau stable de matière sèche durant toute la durée d'entreposage. Le recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage permet une conservation stable de la matière sèche jusqu'au 42^e jour. L'augmentation du contenu en matière sèche dans l'ensilage non enrobé est significativement supérieure ($p \leq 0.05$) aux ensilages enrobés du bioenrobage à partir du jour 14. Un contenu respectif de 26.26% et de 40.08% dans l'ensilage non enrobé et enrobé du bioenrobage est observé au jour 14. Le contenu en matière sèche de l'ensilage non enrobé atteint 20.16% au

jour 70. Le contenu en matière sèche est stable pour les ensilages enrobés du bioenrobage jusqu'au jour 42 à un niveau de 35.91%. À partir du 42^e jour de conservation, l'ensilage enrobé du bioenrobage montre une augmentation de son contenu en matière sèche qui atteint 29.19% au jour 70. Le plastique permet un maintien du contenu en matière sèche de l'ordre de 34.79% pendant les 70 jours d'entreposage.

Le contenu en sucres solubles dans l'ensilage exposé à la pluie est présenté au tableau 16a et à la figure 40b. Tous les traitements montrent une diminution du niveau de sucres de l'ensilage avec une diminution plus importante au niveau des ensilages non enrobés. Les résultats montrent que sous la pluie, l'ensilage non enrobé présente dans la première semaine un contenu plus faible de sucres que les ensilages recouverts par le plastique et le bioenrobage. Ces contenus sont respectivement de 0.49% ms, de 8.42% ms et de 2.84% ms au jour 7. La diminution du niveaux de sucres solubles dans l'ensilage se poursuit pour tous les traitements durant l'entreposage. Au jour 70, le contenu en sucres est de 1.52% ms, de 0.37% ms et de 0.56% ms respectivement pour l'ensilage recouvert par le plastique, pour l'ensilage non enrobé et enrobé par le bioenrobage.

Le tableau 16a et la figure 41b présentent le niveau d'azote ammoniacal contenu dans l'ensilage des traitements exposés à la pluie. Tous les traitements présentent une augmentation du contenu en azote ammoniacal dans la première semaine d'entreposage. L'ensilage non enrobé présente une augmentation continue jusqu'au 35^e jour d'entreposage. À partir du jour 35, l'ensilage non enrobé voit son contenu en azote ammoniacal diminuer durant le reste de la période d'entreposage. L'ensilage recouvert du plastique et du bioenrobage présente une augmentation de l'azote ammoniacal durant tout l'entreposage. L'ensilage non enrobé présente un contenu maximal en azote ammoniacal au jour 21 et ce contenu s'avère significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. Ces valeurs sont respectivement de 25.86% N tot, 12.56% N tot et 11.42% N tot au jour 28. Toutefois à partir du jour 28, une importante augmentation de l'azote ammoniacal est observée dans l'ensilage enrobé du bioenrobage. À la fin de l'entreposage au jour 70, une concentration en azote ammoniacal de 31.69% N tot est atteinte dans l'ensilage enrobé du bioenrobage alors que cette valeur est de 8.59% N tot dans l'ensilage non enrobé. Du jour 28 au jour 70, le niveau d'azote ammoniacal est relativement stable dans l'ensilage recouvert du plastique présentant une valeur de 19.92% N tot au 70^e jour d'entreposage.

Le contenu en acide lactique dans les ensilages exposés à la pluie figure au tableau 16b et à la figure 42b. Dans les 14 premiers jours d'entreposage, la concentration en acide lactique présent dans l'ensilage non enrobé diminue alors qu'une augmentation est observée au niveau des ensilages recouverts par le plastique et par le bioenrobage. À partir du jour 14, une diminution graduelle du contenu en acide lactique est observée dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage jusqu'à la fin de la durée d'entreposage. L'exposition à la pluie entraîne une diminution du contenu initial en acide lactique dans l'ensilage non enrobé de 0.54 à 0.12% ms après 14 jours. L'ensilage scellé avec le plastique et le bioenrobage montre une augmentation de leur contenu en acide dans les deux premières semaines à 3.41% ms et à 3.04% ms respectivement. À partir du jour 14, pratiquement aucun lactate n'est observé dans l'ensilage non enrobé. Les résultats montrent également une diminution de la concentration en acide lactique dans l'ensilage scellé par le plastique et le bioenrobage à partir du jour 28. À ce moment de l'entreposage, la concentration en acide lactique est de 3.41% ms et 3.04% ms respectivement pour l'ensilage enrobé du bioenrobage et recouvert par le plastique. Le contenu final en acide lactique au jour 70 est significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) dans l'ensilage recouvert par le plastique que par l'ensilage recouvert du bioenrobage. À la fin de l'entreposage au jour 70, 2.21% ms et 1.00% ms d'acide lactique est trouvé dans l'ensilage recouvert par le plastique et par le bioenrobage respectivement.

La concentration en acide acétique dans l'ensilage exposé à la pluie est présentée au tableau 16b ainsi qu'à la figure 43b. Dans tous les traitements, une augmentation du contenu en acide acétique est observée dans les dix premiers jours d'entreposage. Ce contenu en acide tend à diminuer dans l'ensilage non enrobé à partir du jour 28 et ce, pour le reste de la durée d'entreposage. L'ensilage recouvert par le bioenrobage et par le plastique présente une concentration maximale en acide acétique au jour 28. Ce contenu maximal d'acide acétique diminue par la suite graduellement pour tous les traitements. Une exposition à la pluie entraîne des concentrations plus élevées d'acide acétique dans l'ensilage enrobé du bioenrobage durant les 28 premiers jours. À ce jour, les concentrations en acide sont respectivement de 4.55% ms, 1.50% ms et de 3.67% ms pour l'ensilage recouvert de bioenrobage, de plastique et pour l'ensilage non enrobé. Toutefois, les quantités d'acides acétiques dans l'ensilage scellé par le plastique sont significativement supérieures ($p \leq 0.05$) au jour 70 avec 2.87% ms par rapport au plastique et au bioenrobage. L'ensilage non enrobé présente une concentration de 0.95% ms au jour 70. Le contenu en acide acétique dans

l'ensilage enrobé du bioenrobage est significativement inférieur ($p \leq 0.05$) au plastique avec un contenu respectif de 1.92% ms et de 2.87% ms d'acétate au jour 70.

La concentration d'acide propionique trouvé dans l'ensilage exposé à la pluie est présentée au tableau 16b ainsi qu'à la figure 44b. Durant les premiers 28 jours d'entreposage, le contenu en acide propionique augmente au niveau des ensilages non enrobés. Durant cette même période, le niveau de propionate tend à diminuer dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. À partir du jour 28, la concentration en acide propionique augmente dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. À partir du jour 28, l'ensilage non enrobé montre une diminution du niveau d'acide propionique durant le reste de la durée d'entreposage. Au cours des 28 premiers jours, la quantité d'acide propionique retrouvée dans l'ensilage non enrobé est significativement supérieure ($p \leq 0.05$) à celle observée dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. Au 28^e jour d'entreposage, un contenu en propionate de 5.28%, 0.76% et de 0.18% ms est trouvé respectivement dans l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et enrobé de bioenrobage. Au terme de l'expérience au jour 70, l'ensilage enrobé du bioenrobage présente un contenu en propionate significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que l'ensilage scellé par le plastique et l'ensilage non enrobé. Les valeurs sont respectivement de 2.69% ms, 2.27% ms et de 1.45% ms.

Le niveau d'acide butyrique contenu dans l'ensilage exposé à la pluie est présenté au tableau 16b et à la figure 45b. Durant les premiers 28 jours d'entreposage, le contenu en acide butyrique augmente dans les ensilages non enrobés. Une augmentation du contenu en acide butyrique est observée dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage à partir du jour 17 et 28 respectivement. À partir du jour 28, l'ensilage non recouvert montre une diminution du niveau d'acide butyrique durant le reste de la période d'entreposage. Au jour 28, la quantité d'acide butyrique trouvée dans l'ensilage non enrobé est significativement supérieure ($p \leq 0.05$) au plastique et au bioenrobage. Les valeurs au 28^e jour d'entreposage à la pluie sont respectivement de 5.49% ms, 0.63% ms et 0.01% ms. Les niveaux d'acides butyriques augmentent au cours de l'entreposage dans les ensilages scellés par le plastique et par le bioenrobage. Un contenu plus important de butyrate est observé dans l'ensilage enrobé que dans l'ensilage scellé par le plastique et l'ensilage non enrobé au jour 70. Les valeurs au terme de l'entreposage au jour 70 sont respectivement de 2.09% ms, 1.09% ms et de 0.23% ms.

Tableau 16a Paramètres biochimiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2 extérieur.

Jours	Traitement	pH	MS (%)	Sucres (% ms)	N amm (%N tot)
0	Ti	6.04±0.02 ^{a2}	32.39±1.48 ^{a2}	8.25±0.17 ^{a6}	6.65±0.42 ^{a1}
	Pi	6.04±0.02 ^{ab}	32.39±1.48 ^{a1,2}	8.25±0.17 ^{a8}	6.65±0.42 ^{a2}
	Ei	6.04±0.02 ^{a4}	32.39±1.48 ^{a1}	8.25±0.17 ^{a5}	6.65±0.42 ^{a1}
	Te	6.04±0.02 ^{a1}	32.39±1.48 ^{a7}	8.25±0.17 ^{a6}	6.65±0.42 ^{a2}
	Pe	6.04±0.02 ^{ab}	32.39±1.48 ^{a1}	8.25±0.17 ^{a6}	6.65±0.42 ^{a1}
	Ec	6.04±0.02 ^{ab}	32.39±1.48 ^{a2}	8.25±0.17 ^{a7}	6.65±0.42 ^{a1}
7	Ti	5.39 ± 0.13 ^{d1}	38.36 ± 0.27 ^{d3}	1.98±0.10 ^{b4}	15.38 ± 0.62 ^{a2}
	Pi	4.78 ± 0.10 ^{c1}	35.69 ± 0.18 ^{b3}	4.84±0.26 ^{d7}	17.40 ± 0.79 ^{ab1}
	Ei	4.61 ± 0.03 ^{b3}	38.03 ± 0.20 ^{d4}	2.67±0.16 ^{c3}	16.03 ± 0.39 ^{a4}
	Te	7.08 ± 0.10 ^{c2}	22.30 ± 0.15 ^{a4}	0.49±0.023 ^{a2}	14.95 ± 0.79 ^{a1}
	Pe	5.4 ± 0.02 ^{d5}	35.86 ± 0.61 ^{b4}	8.42±0.31 ^{e6}	16.33 ± 0.48 ^{a2}
	Ec	4.55 ± 0.04 ^{ab4}	36.92 ± 0.32 ^{5,6}	2.84±0.07 ^{e6}	20.26 ± 0.78 ^{b3}
14	Ti	8.08 ± 0.26 ^{c6}	47.10 ± 0.27 ^{d5}	1.03±0.07 ^{b3}	15.90 ± 0.27 ^{b5}
	Pi	5.05 ± 0.33 ^{b3}	34.13 ± 3.78 ^{b1,2,3}	3.85±0.17 ^{e6}	12.07 ± 0.90 ^{c3}
	Ei	4.34 ± 0.03 ^{a2}	40.09 ± 0.70 ^{c5}	1.41±0.12 ^{c2}	9.43 ± 0.68 ^{a2}
	Te	8.34 ± 0.17 ^{d3}	26.26 ± 1.85 ^{a6}	0.34±0.02 ^{a1}	10.01 ± 0.48 ^{a3}
	Pe	5.05 ± 0.11 ^{b3}	34.57 ± 0.58 ^{b2,3}	5.34±0.46 ^{f5}	12.23 ± 0.69 ^{c3}
	Ec	4.34 ± 0.03 ^{a3}	40.08 ± 0.13 ^{c7}	1.92±0.06 ^{d4}	14.89 ± 0.83 ^{c4}
21	Ti	7.54 ± 0.16 ^{c3}	46.55 ± 2.55 ^{d5}	2.22±0.047 ^{b5}	16.40 ± 0.54 ^{c5}
	Pi	4.74 ± 0.11 ^{d1}	36.24 ± 1.53 ^{bc3}	3.51±0.07 ^{d5}	14.71 ± 0.41 ^{b4}
	Ei	4.35 ± 0.01 ^{a2}	36.07 ± 0.45 ^{bc3}	3.74±0.05 ^{c4}	12.55 ± 0.83 ^{ab3}
	Te	8.63 ± 0.12 ^{f5}	23.41 ± 1.11 ^{a4,5}	1.30±0.06 ^{d5}	25.86 ± 0.95 ^{d7}
	Pe	4.47 ± 0.06 ^{b1}	35.42 ± 0.33 ^{b3,4}	ND	12.56 ± 2.05 ^{ab3}
	Ec	4.59 ± 0.02 ^{c4}	37.28 ± 0.16 ^{e6}	2.66±0.06 ^{c5}	11.42 ± 1.48 ^{a2}
28	Ti	7.95 ± 0.17 ^{c5,6}	42.60 ± 0.22 ^{d4}	0.98±0.06 ^{b3}	26.84 ± 1.52 ^{f7}
	Pi	5.21 ± 0.03 ^{d4}	34.67 ± 1.48 ^{bc2,3}	3.01±0.08 ^{d4}	20.04 ± 0.26 ^{cd6}
	Ei	4.29 ± 0.02 ^{b1}	34.92 ± 0.61 ^{bc2}	1.35±0.04 ^{b2}	21.61 ± 0.37 ^{c7}
	Te	8.42 ± 0.11 ^{f9}	13.11 ± 0.41 ^{a1}	1.19±0.06 ^{d4}	19.86 ± 2.21 ^{cd6}
	Pe	4.98 ± 0.07 ^{c3}	35.21 ± 0.85 ^{c2,3,4}	1.58±0.07 ^{e1}	18.96 ± 1.35 ^{b4}
	Ec	4.18 ± 0.02 ^{a2}	34.11 ± 0.23 ^{b3}	1.33±0.04 ^{b3}	17.17 ± 0.65 ^{a5}
35	Ti	8.35 ± 0.10 ^{c7}	65.86 ± 1.74 ^{e7}	ND	23.19 ± 0.56 ^{d6}
	Pi	4.94 ± 0.07 ^{d2}	35.16 ± 0.58 ^{c3}	ND	20.69 ± 0.64 ^{e6}
	Ei	4.63 ± 0.12 ^{b3}	34.14 ± 0.34 ^{b2}	ND	17.58 ± 0.86 ^{ae,6}
	Te	8.79 ± 0.03 ^{fb}	14.46 ± 0.96 ^{a1}	ND	24.86 ± 0.95 ^{e7}
	Pe	4.79 ± 0.04 ^{c2}	36.12 ± 0.62 ^{d4}	ND	19.16 ± 0.26 ^{b4}
	Ec	4.05 ± 0.03 ^{a1}	35.72 ± 0.34 ^{cd4,5}	ND	29.02 ± 0.69 ^{fb}
42	Ti	7.87 ± 0.13 ^{c5}	52.84 ± 1.57 ^{e6}	0.67±0.02 ^{b2}	15.50 ± 0.43 ^{ab5}
	Pi	5.27 ± 0.04 ^{c4}	35.72 ± 0.20 ^{c3}	1.68±0.05 ^{c3}	18.88 ± 0.37 ^{d5}
	Ei	4.34 ± 0.01 ^{a2}	38.91 ± 1.08 ^{d4}	1.34±0.11 ^{d2}	14.88 ± 0.62 ^{ab4}
	Te	8.53 ± 0.11 ^{f4}	13.79 ± 0.33 ^{a1}	0.59±0.02 ^{a3}	16.04 ± 0.38 ^{ab5}
	Pe	5.68 ± 0.15 ^{d7}	34.39 ± 0.12 ^{b2,2}	3.02±0.08 ^{f4}	22.08 ± 1.00 ^{e5}
	Ec	4.98 ± 0.15 ^{b5}	34.89 ± 0.14 ^{b3,4}	1.15±0.05 ^{c2}	ND
56	Ti	8.48 ± 0.11 ^{c7}	ND	0.66±0.01 ^{a2}	13.48 ± 0.25 ^{a4}
	Pi	5.94 ± 0.10 ^{d5}	32.28 ± 0.75 ^{b1}	1.48±0.08 ^{d2}	26.06 ± 0.46 ^{d7}
	Ei	4.38 ± 0.03 ^{a2}	42.36 ± 0.11 ^{e6}	1.05±0.02 ^{b1}	18.75 ± 0.31 ^{b6}
	Te	9.00 ± 0.04 ^{fb}	17.32 ± 0.22 ^{a2}	0.67±0.02 ^{a3}	13.52 ± 0.39 ^{a4}
	Pe	5.23 ± 0.94 ^{b4}	34.27 ± 0.44 ^{c2}	2.08±0.08 ^{c2}	19.73 ± 0.49 ^{c4}
	Ec	6.10 ± 0.06 ^{d6}	37.12 ± 0.22 ^{d6}	1.22±0.03 ^{c2}	21.56 ± 0.63 ^{c7}
63	Ti	7.94 ± 0.99 ^{d5,6}	65.27 ± 0.31 ^{f7}	0.33±0.01 ^{a1}	14.00 ± 0.15 ^{b4}
	Pi	8.79 ± 0.05 ^{e8}	34.56 ± 0.41 ^{c1,2,3}	1.28±0.09 ^{c1}	27.09 ± 0.47 ^{e8}
	Ei	4.37 ± 0.03 ^{a2}	45.67 ± 0.83 ^{e7}	1.08±0.03 ^{b1}	16.72 ± 0.21 ^{c5}
	Te	8.95 ± 0.06 ^{f7,8}	23.89 ± 0.19 ^{a5}	0.34±0.01 ^{a1}	9.35 ± 0.18 ^{a3}
	Pe	5.05 ± 0.02 ^{b3}	32.20 ± 0.57 ^{b1}	2.48±0.05 ^{c3}	22.81 ± 0.80 ^{d5}
	Ec	7.68 ± 0.12 ^{c7}	40.55 ± 0.71 ^{d7}	1.38±0.01 ^{d3}	28.18 ± 0.11 ^{e6}
70	Ti	7.17 ± 0.11 ^{c3}	77.35 ± 0.96 ^{e8}	0.33±0.01 ^{a1}	11.17 ± 0.37 ^{b3}
	Pi	8.34 ± 0.12 ^{d7}	34.78 ± 0.35 ^{c3}	1.16±0.02 ^{d1}	29.03 ± 1.03 ^{d9}
	Ei	4.35 ± 0.06 ^{a2}	42.17 ± 0.53 ^{d6}	1.34±0.03 ^{c2}	20.78 ± 0.39 ^{c7}
	Te	8.87 ± 0.08 ^{efb,7}	20.16 ± 1.23 ^a	0.367±0.01 ^{b1}	8.59 ± 0.70 ^{a3}
	Pe	5.52 ± 0.10 ^{bc6}	34.55 ± 1.05 ^{c2,3}	1.52±0.01 ^{f1}	19.92 ± 0.63 ^{c4}
	Ec	8.97 ± 0.11 ^{fb}	29.19 ± 1.71 ^{b1}	0.56±0.02 ^{c1}	31.69 ± 1.04 ^{c7}

^{a1} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents (p ≤ 0.05) au même jour d'analyse.

¹⁻⁹ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents (p ≤ 0.05). Ti=témoin non enrobé et protégé de la pluie, Pi=plastique protégé de la pluie, Ei=bioenrobage protégé de la pluie, Te=témoin non enrobé et exposé à la pluie, Pe=plastique exposé à la pluie, Ec=bioenrobage exposé à la pluie.

Tableau 16b Acides organiques au sein de l'ensilage. Bioenrobage 2 extérieur .

Jours	Traitement	Ac. Lactique (% ms)	Ac. Acétique (% ms)	Ac. Propionique (% ms)	Ac. Butyrique (% ms)
0	Ti	0.54±0.07 ^{a3}	1.50±0.16 ^{a3}	0.661±0.053 ^{a1}	0 ^{a1}
	Pi	0.54±0.07 ^{a1}	1.50±0.16 ^{a1}	0.661±0.053 ^{a4}	0 ^{a1}
	Ei	0.54±0.07 ^{a1}	1.50±0.16 ^{a1}	0.661±0.053 ^{a3}	0 ^{a1}
	Te	0.54±0.07 ^{a3}	1.50±0.16 ^{a2}	0.661±0.053 ^{a1}	0 ^{a1}
	Pe	0.54±0.07 ^{a1}	1.50±0.16 ^{a1}	0.661±0.053 ^{a2}	0 ^{a1}
	Ee	0.54±0.07 ^{a1}	1.50±0.16 ^{a1}	0.661±0.053 ^{a3}	0 ^{a1}
14	Ti	0.02±0.002 ^{a1,2}	3.16±0.02 ^{b4}	1.84±0.01 ^{d3}	2.31±0.01 ^{b3}
	Pi	4.83±0.64 ^{f5}	3.18±0.04 ^{b3}	0.27±0.02 ^{a1}	0 ^{a1}
	Ei	4.29±0.01 ^{e5}	3.53±0.07 ^{c3}	0.53±0.04 ^{c1}	0 ^{a1}
	Te	0.09±0.01 ^{b1}	3.61±0.05 ^{d4}	3.12±0.05 ^{c3}	3.93±0.01 ^{c3}
	Pe	3.41±0.02 ^{d5}	4.17±0.02 ^{e4}	0.32±0.01 ^{b1}	0 ^{a1}
	Ee	3.04±0.01 ^{c4}	2.68±0.01 ^{a4}	0.34±0.01 ^{b2}	0 ^{a1}
28	Ti	0.05±0.001 ^{a2}	0.25±0.005 ^{a2}	2.95±0.05 ^{e5}	3.42±0.01 ^{e5}
	Pi	2.27±0.01 ^{d4}	2.33±0.01 ^{c2}	0.34±0.01 ^{b2}	0 ^{a1}
	Ei	2.80±0.01 ^{e4}	4.74±0.01 ^{f5}	0.62±0.01 ^c	0.01±0.0001 ^{a2}
	Te	0.19±0.002 ^{b2}	3.67±0.01 ^{d4}	5.28±0.01 ^{f4}	5.49±0.02 ^{d5}
	Pe	1.14±0.01 ^{c2}	1.50±0.01 ^{b1}	0.76±0.02 ^{d3}	0.63±0.01 ^{b2}
	Ee	3.18±0.01 ^{f5}	4.55±0.11 ^{e5}	0.18±0.004 ^{a1}	0.01±0.0001 ^{a1}
42	Ti	0.06±0.01 ^{a1}	0.18±0.01 ^{a1}	2.04±0.01 ^{d4}	2.57±0.06 ^{c4}
	Pi	1.88±0.04 ^{c3}	2.52±0.07 ^{c2}	0.58±0.01 ^{a3}	0.80±0.02 ^{b2}
	Ei	2.53±0.02 ^{c3}	4.02±0.02 ^{e4}	0.75±0.01 ^{b4}	0.03±0.001 ^{a3}
	Te	0.22±0.01 ^{b2}	2.46±0.43 ^{b3}	5.15±0.24 ^{f4}	4.19±0.03 ^{f4}
	Pe	2.59±0.02 ^{f4}	3.45±0.01 ^{d3}	2.55±0.02 ^{e5}	1.37±0.01 ^{d4}
	Ee	1.65±0.02 ^{c3}	2.49±0.01 ^{bc3}	1.21±0.01 ^{c4}	0.89±0.02 ^{c2}
70	Ti	0.02±0.01 ^{a1,2}	0.11±0.01 ^{a1}	1.23±0.01 ^{c2}	1.60±0.01 ^{e2}
	Pi	1.03±0.01 ^{d2}	2.89±0.04 ^{b2}	1.13±0.01 ^{b5}	1.31±0.01 ^{d3}
	Ei	2.09±0.01 ^{e2}	3.24±0.01 ^{b2}	0.70±0.02 ^{a3}	0.12±0.01 ^{e5}
	Te	0.12±0.01 ^{b1}	0.95±0.01 ^{ab1}	1.45±0.01 ^{d2}	0.24±0.01 ^{b2}
	Pe	2.21±0.11 ^{f3}	2.87±0.01 ^{b2}	2.27±0.01 ^{e4}	1.09±0.01 ^{c3}
	Ee	1.00±0.01 ^{c2}	1.92±0.01 ^{ab2}	2.69±0.02 ^{f5}	2.09±0.02 ^{f3}

^{a-1} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse.

¹⁻⁵ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$).

Ti = témoin non enrobé et protégé de la pluie, Pi = plastique protégé de la pluie, Ei = bioenrobage protégé de la pluie, Te = témoin non enrobé et exposé à la pluie, Pe = plastique exposé à la pluie, Ee = bioenrobage exposé à la pluie.

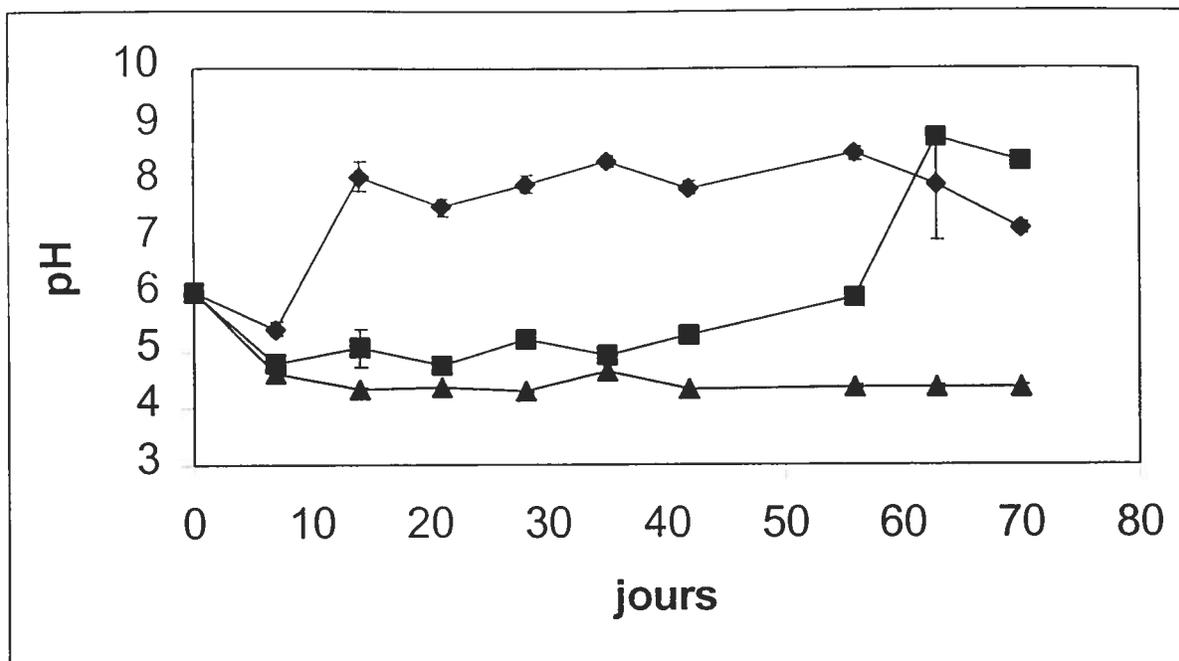


Figure 38a. Effet du bioenrobage 2 sur le pH de l'ensilage protégé de la pluie
 Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (♦), Pi = plastique protégé des pluies (■),
 Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲)

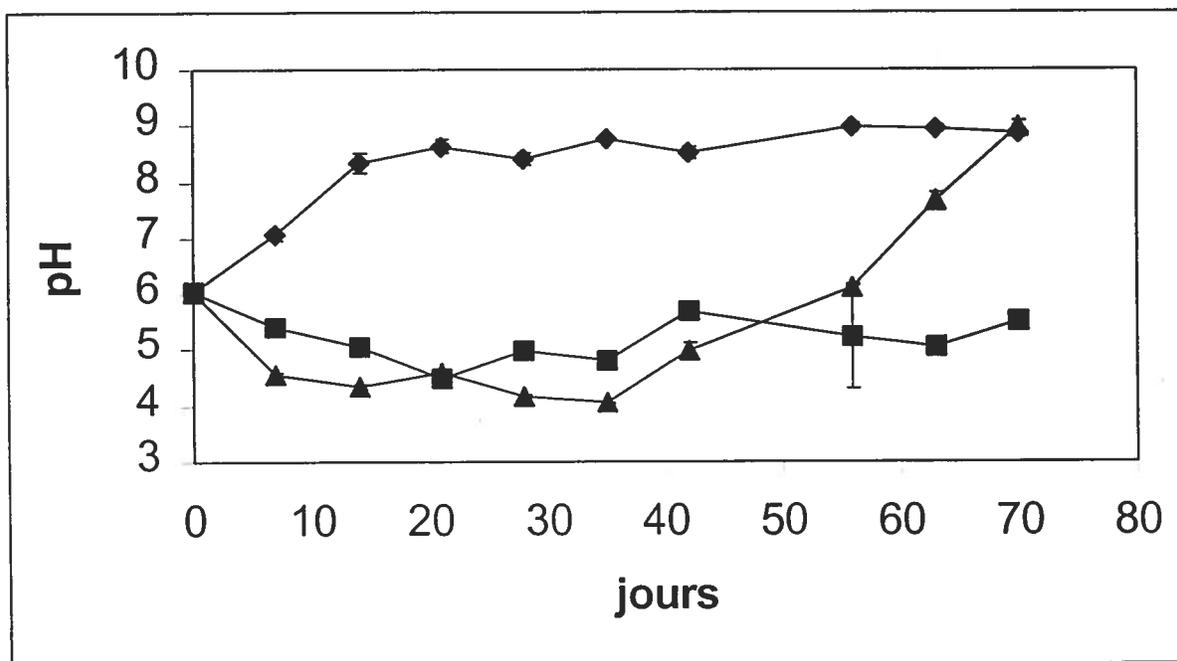


Figure 38b. Effet du bioenrobage 2 sur le pH de l'ensilage exposé à la pluie
 Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (♦), Pe = plastique exposé aux pluies (■),
 Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

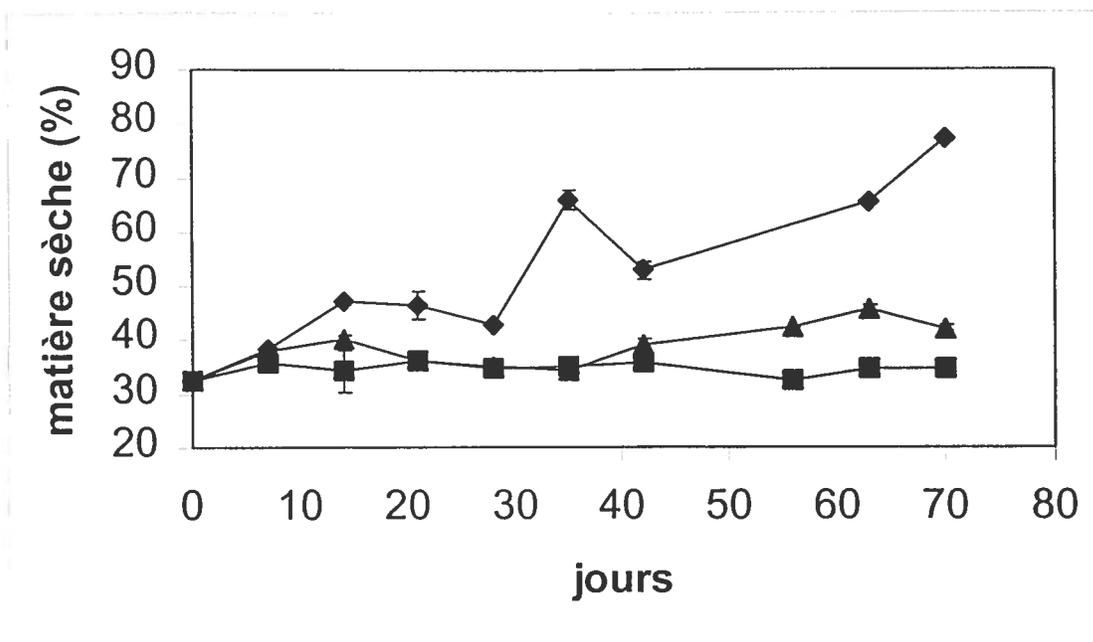


Figure 39a. Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage protégé de la pluie. Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲)

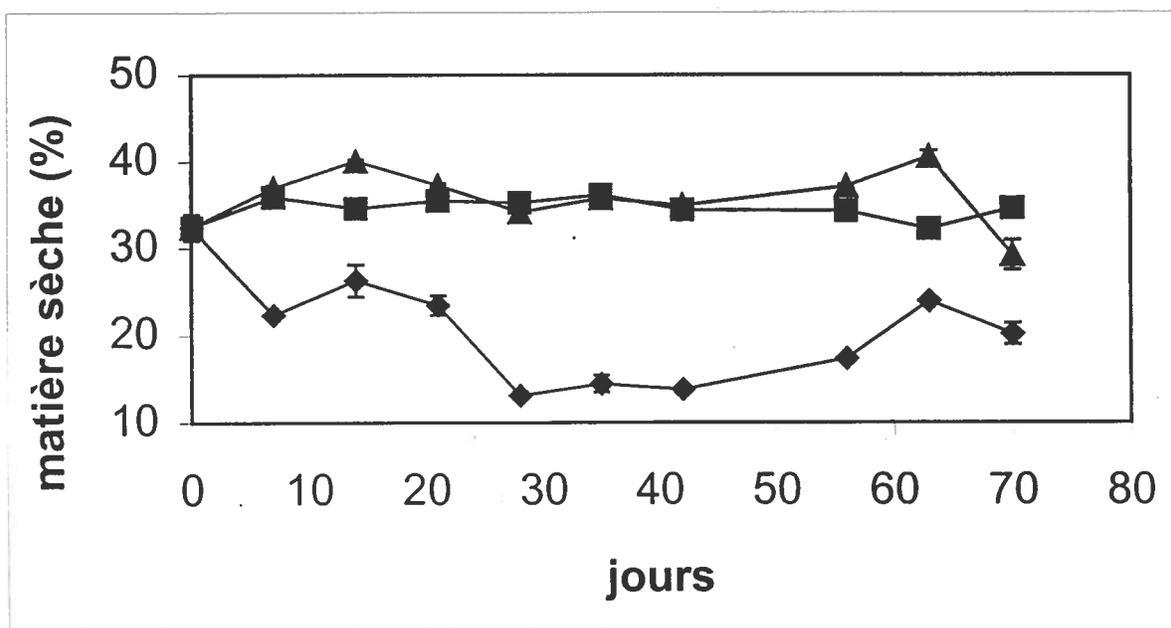


Figure 39b. Effet du bioenrobage 2 sur le contenu en matière sèche de l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

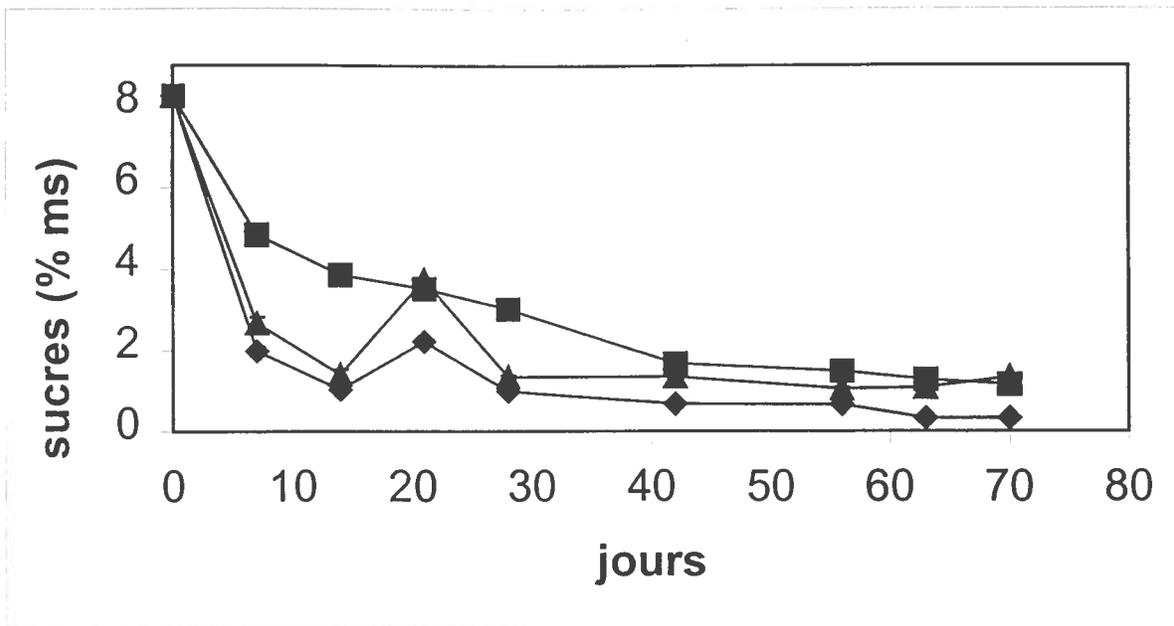


Figure 40a. Effet du bioenrobage 2 sur le niveau de sucres dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲).

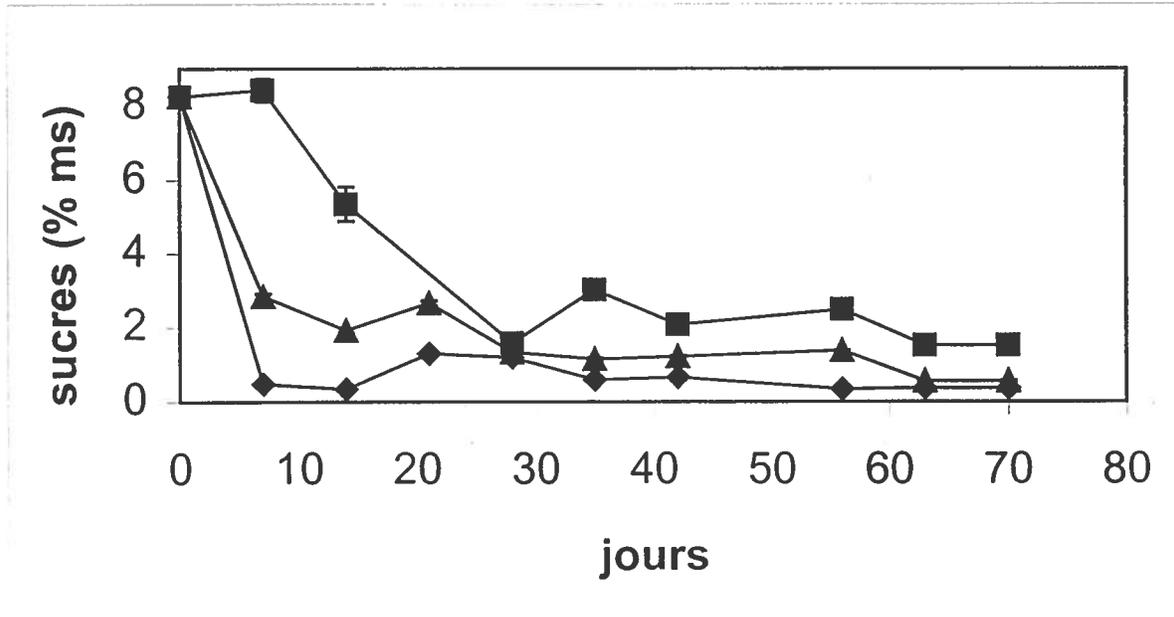


Figure 40b. Effet du bioenrobage 2 sur le niveau de sucres dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

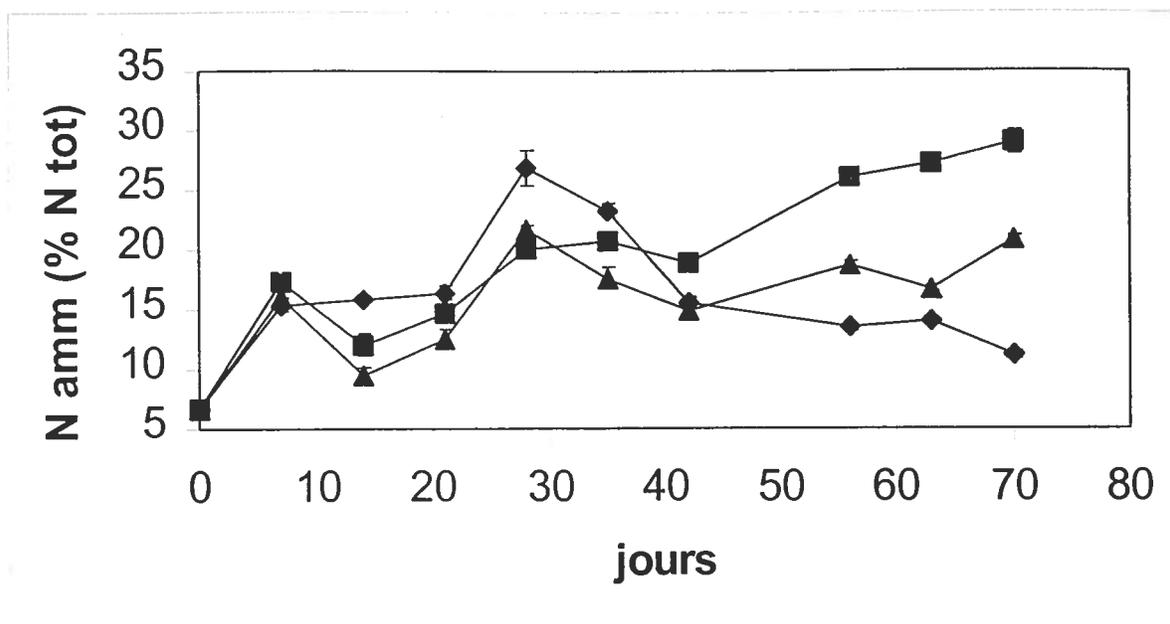


Figure 41a. Effet du bioenrobage 2 sur le niveau d'azote ammoniacal dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (◇), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲).

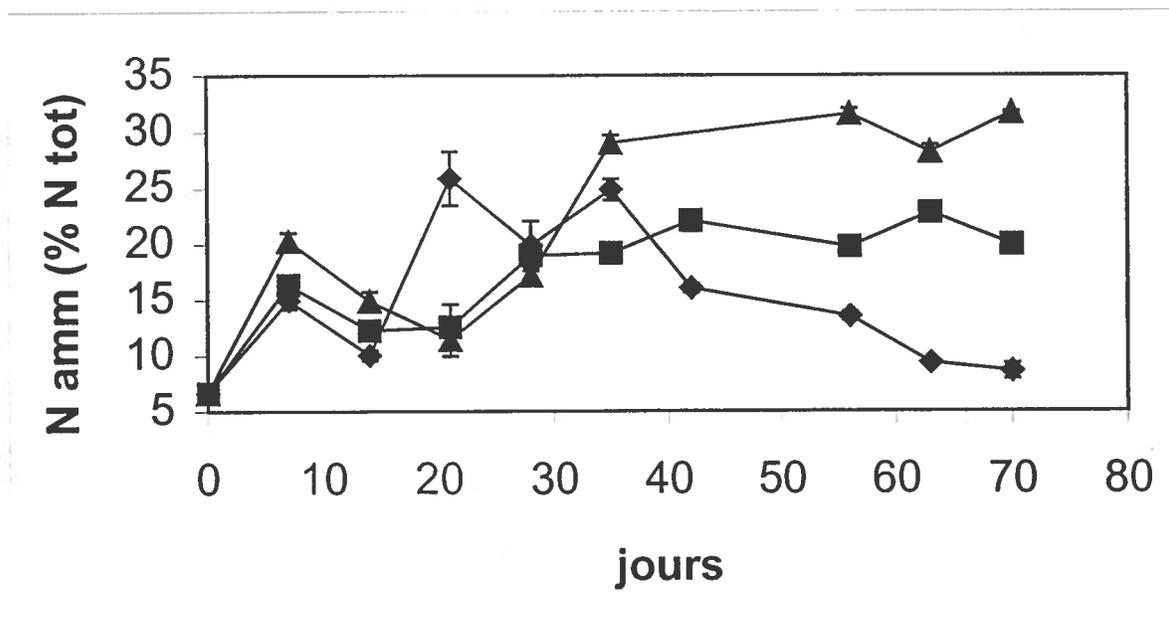


Figure 41b. Effet du bioenrobage 2 sur le niveau d'azote ammoniacal dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◇), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

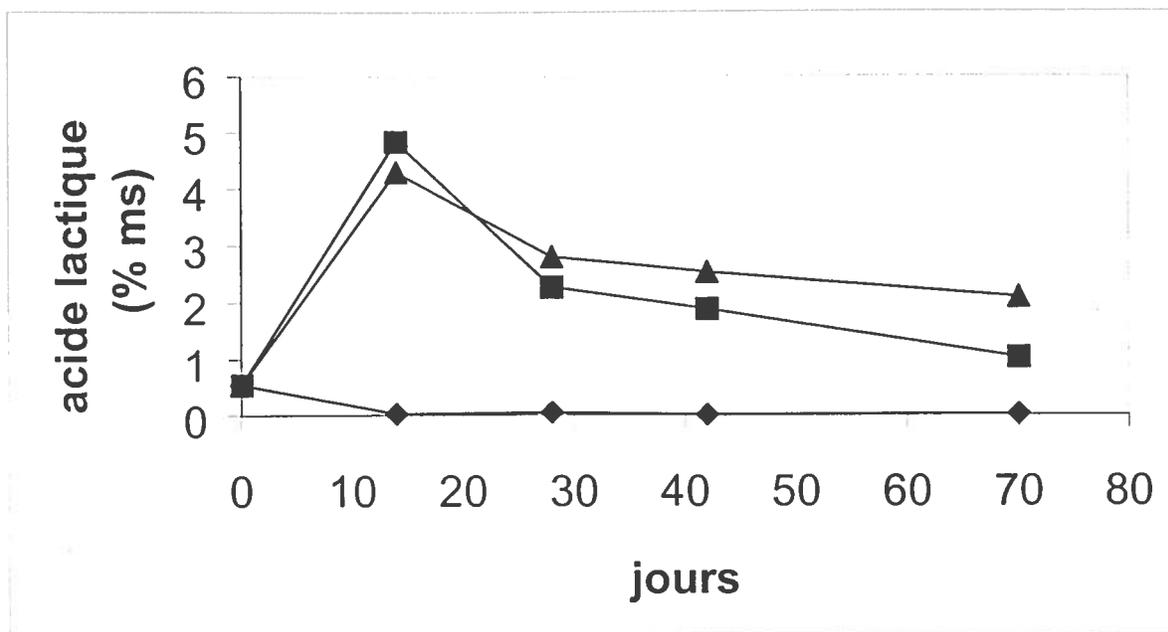


Figure 42a. Concentration en acide lactique dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲).

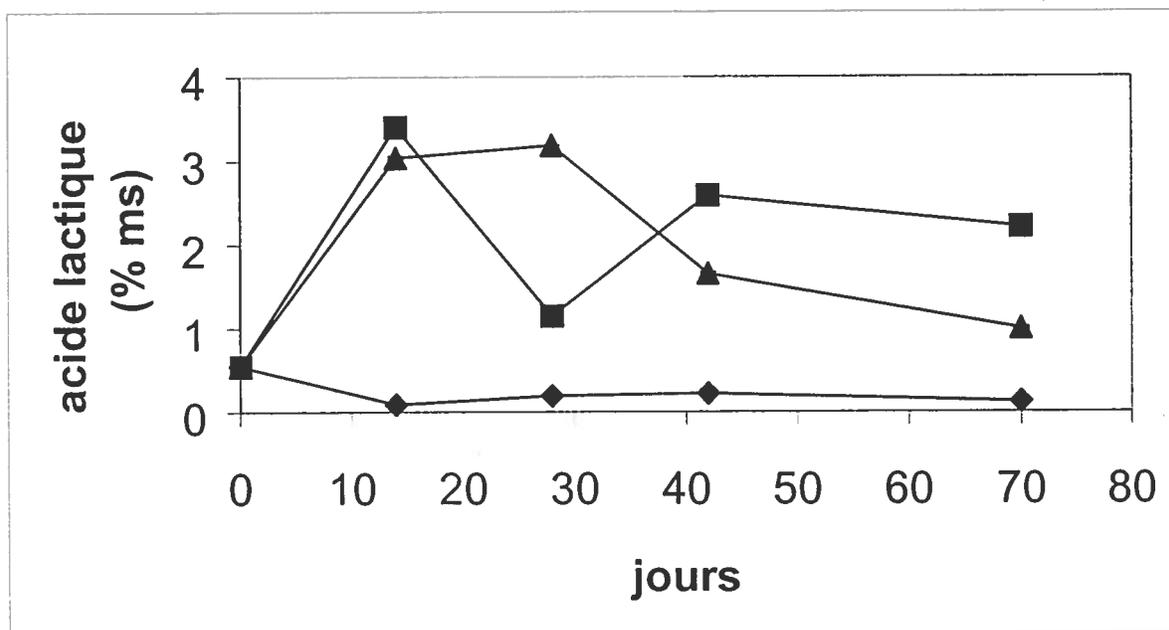


Figure 42b. Concentration en acide lactique dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲).

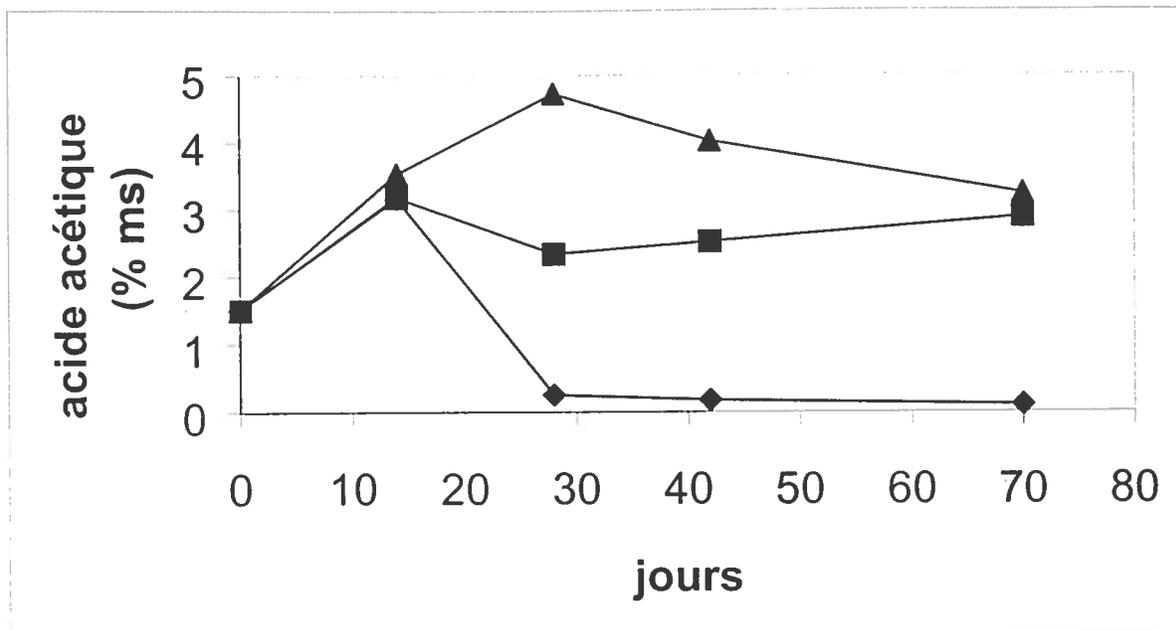


Figure 43a. Concentration en acide acétique dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲).

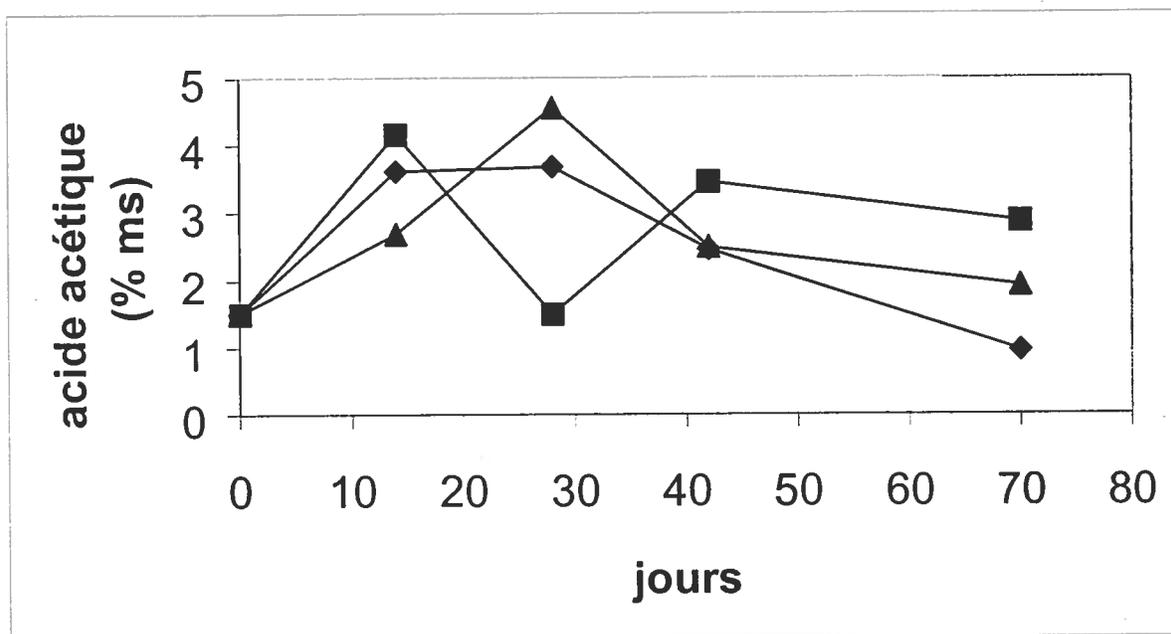


Figure 43b. Concentration en acide acétique dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

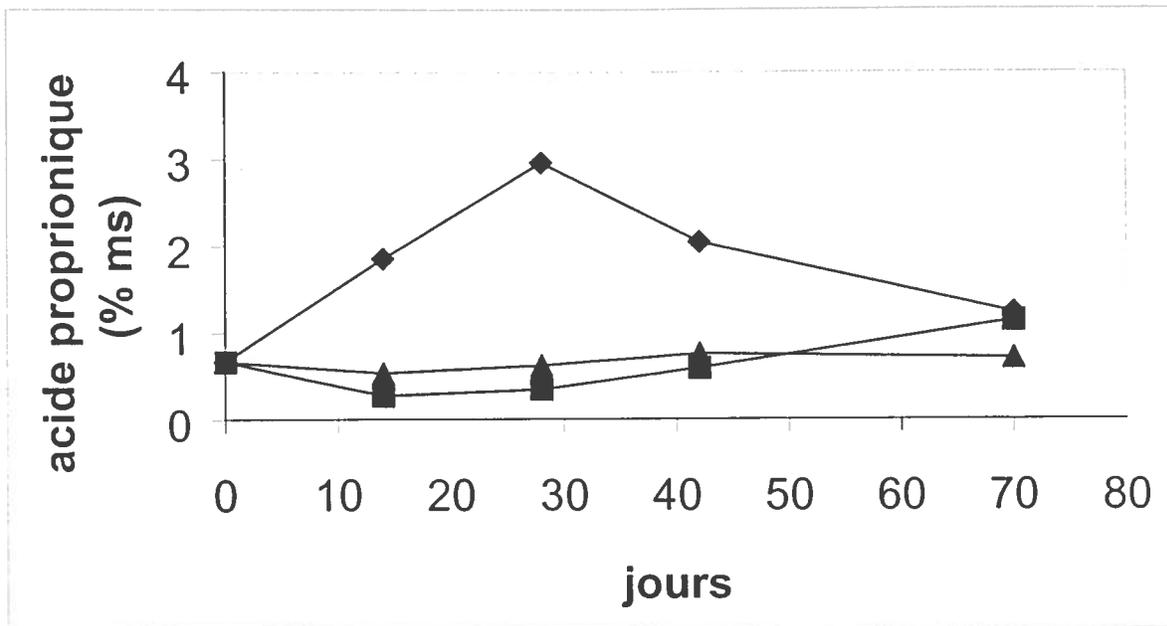


Figure 44a Concentration en acide propionique dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲).

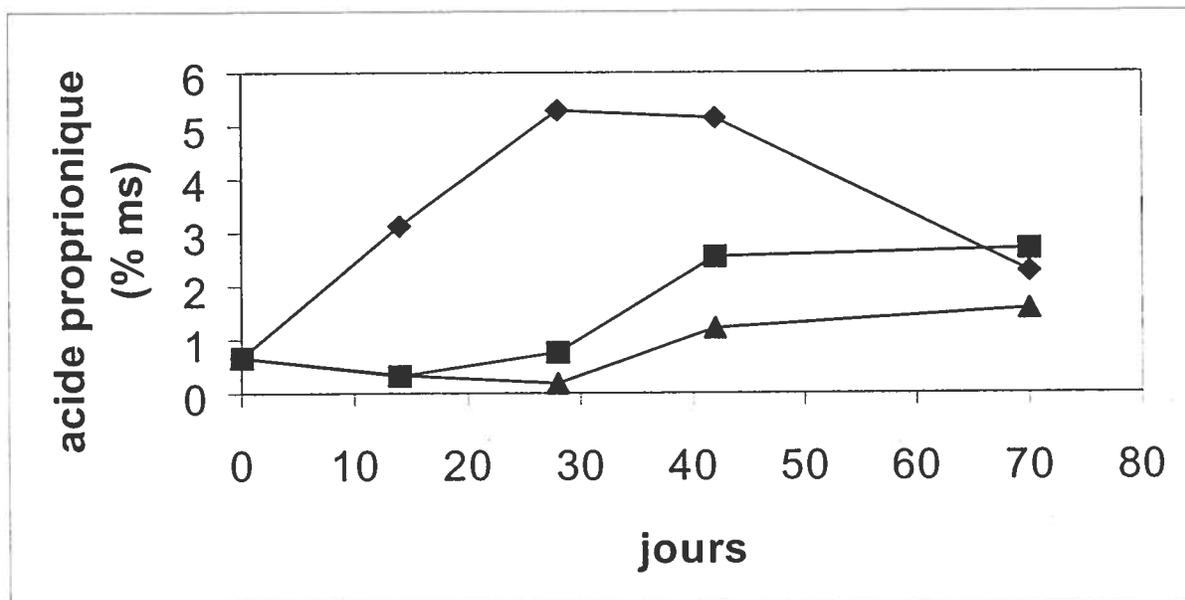


Figure 44b. Concentration en acide propionique dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ec = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

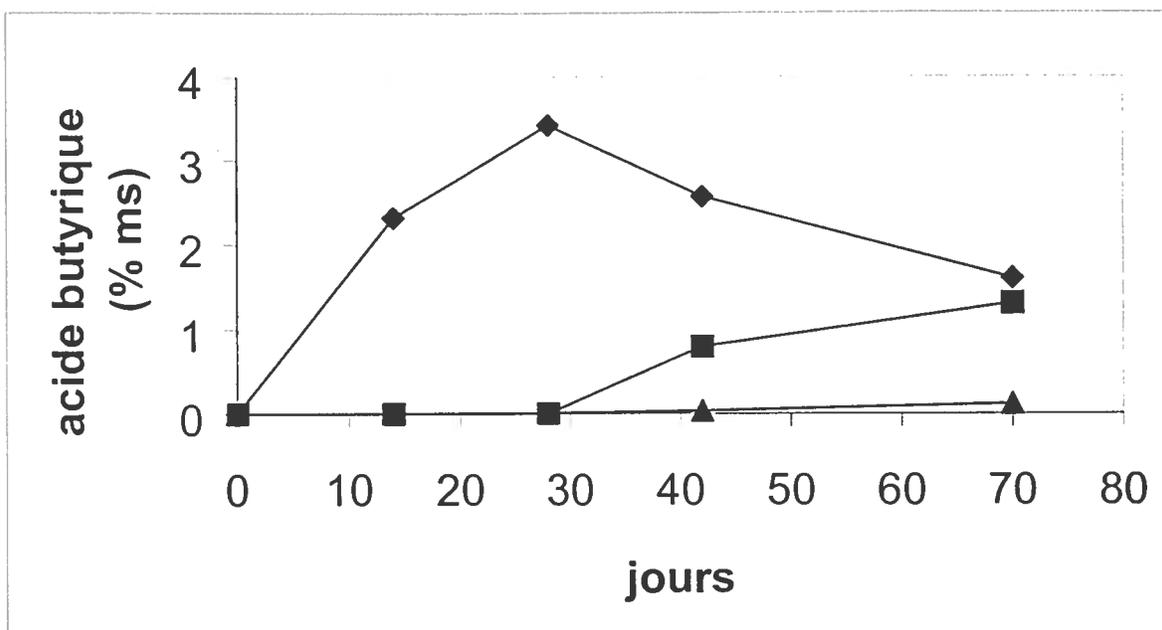


Figure 45a. Concentration en acide butyrique dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = Témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé des pluies (▲)

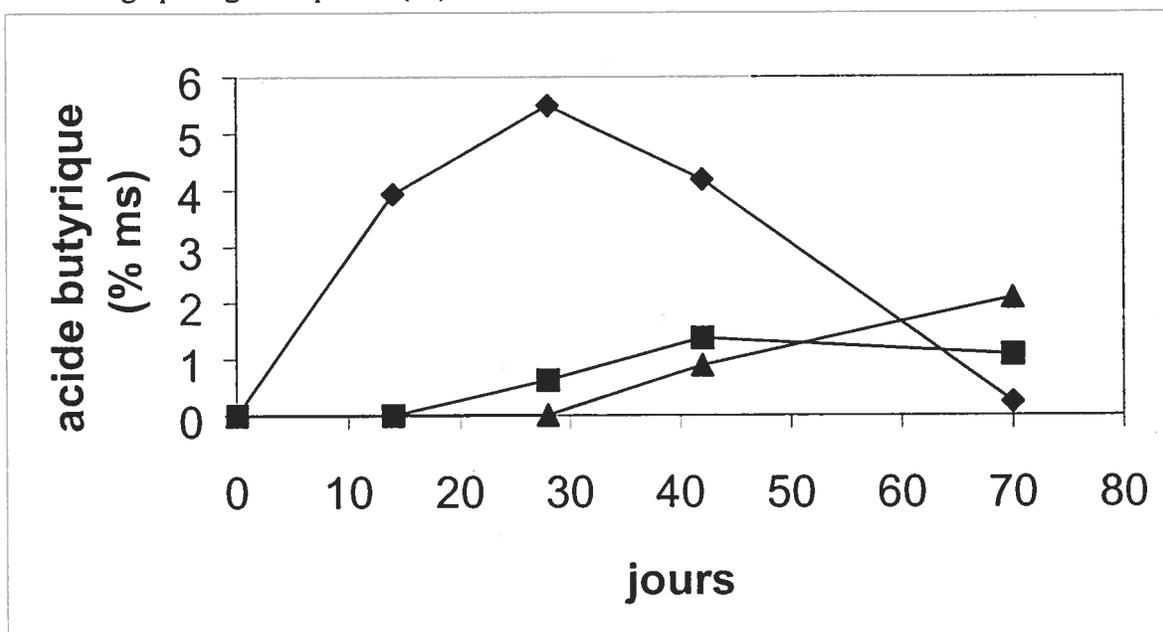


Figure 45b. Concentration en acide butyrique dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

4.6.2. Analyses microbiologiques

Les populations initiales des micro-organismes dans l'ensilage étaient de 5.84 log UFC/g d'ensilage pour les micro-organismes aérobiques, de 3.86 log UFC/g d'ensilage pour les micro-organismes anaérobiques, de 3.11 log UFC/g d'ensilage pour les bactéries acido-lactiques, de 0.98 log UFC/g d'ensilage pour les moisissures et levures, et de 3.45 log UFC/g d'ensilage pour les coliformes.

Traitements protégés de la pluie

Les résultats du contenu en micro-organismes aérobiques dans l'ensilage protégés de la pluie sont présentés au tableau 17a et à la figure 46a. L'ensilage non enrobé présente une augmentation du nombre d'aérobés totaux durant la première semaine de conservation suivie d'une stabilisation pour le reste de la durée d'entreposage de 70 jours. Les populations de micro-organismes aérobés sont relativement constantes dans l'ensilage recouvert de bioenrobage et de plastique. L'ensilage non enrobé présente donc une augmentation significative ($p \leq 0.05$) des micro-organismes aérobiques totaux dans la première semaine avec 10.36 log UFC/g d'ensilage par rapport au plastique et au bioenrobage où les contenus sont respectivement de 7.40 et 7.31 log UFC/g d'ensilage. Durant cette période, un contenu de 7.40 et 7.31 log UFC/g d'ensilage est retrouvé respectivement dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage. Dans l'ensilage non enrobé, ces niveaux élevés se maintiennent jusqu'au terme de l'essai au jour 70 avec une valeur de 9.23 log UFC/g d'ensilage. Au niveau des ensilages scellés par le plastique, le contenu stable d'aérobés s'avère de 7.42 log UFC/g d'ensilage au jour 70. L'ensilage enrobé de bioenrobage montre une diminution graduelle durant l'entreposage pour présenter un contenu final de 5.76 log UFC/g d'ensilage au jour 70.

Le niveau de micro-organismes anaérobiques dans l'ensilage figurent au tableau 17a ainsi qu'à la figure 47a. Une augmentation constante est observée dans tous les traitements jusqu'au jour 14. Durant les deux premières semaines d'entreposage, tous les traitements montrent une augmentation des populations de micro-organismes anaérobés totaux dans l'ensilage. Le contenu d'anaérobés totaux dans l'ensilage non enrobé passe de 3.86 à 7.24 log UFC/g d'ensilage. L'ensilage scellé par le film de plastique présente une augmentation de 3.86 à 7.11 log UFC/g d'ensilage. Dans l'ensilage enrobé de bioenrobage, les valeurs passent

de 3.86 à 7.32 log UFC/g d'ensilage dans les deux premières semaines d'entreposage. Les résultats montrent également une diminution de ces niveaux d'anaérobies totaux après le jour 14. À la fin de l'entreposage au jour 70, les comptes de micro-organismes anaérobies totaux sont de 5.32, 6.39 et 6.32 log UFC/g d'ensilage respectivement dans l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage.

Le contenu en bactéries acido-lactiques dans l'ensilage protégé de la pluie est présenté au tableau 17a et à la figure 48a. Tous les traitements présentent une augmentation du nombre de bactéries acido-lactiques (BAL) dans l'ensilage durant les dix premiers jours d'entreposage. À partir du jour 7, le nombre de BAL diminue dans l'ensilage non enrobé. Au niveau des ensilages scellés par le plastique et le bioenrobage, le nombre de BAL est relativement constant à partir du jour 7 et ce, jusqu'à la fin de l'entreposage au jour 70. Durant la première semaine d'entreposage, le contenu en BAL dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage est donc respectivement de 7.21 et de 7.17 log UFC/g au jour 7. Ces valeurs sont significativement plus élevées ($p \leq 0.05$) que celles retrouvées dans l'ensilage non enrobé qui présente une valeur de 4.67 log UFC/g d'ensilage dans la première semaine d'entreposage. Dans l'ensilage non enrobé, les BAL diminuent durant l'entreposage pour atteindre au jour 70, une population de 2.93 log UFC/g d'ensilage. Au jour 70, l'ensilage scellé par le plastique contient une population de BAL significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) que l'ensilage non enrobé et enrobé par le bioenrobage. Les valeurs de ces derniers échantillons sont respectivement de 6.56, 2.93 et de 6.5 log UFC/g d'ensilage.

Les résultats des niveaux de moisissures et de levures dans l'ensilage protégé de la pluie figurent au tableau 17a et à la figure 49a. Dans les trois premières semaines d'entreposage, tous les traitements montrent une augmentation de leur niveau de moisissures et de levures dans l'ensilage. Après le jour 21, l'ensilage non enrobé présente une diminution graduelle de son contenu en moisissures et en levures. Après le jour 21, au niveau de l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage, le contenu en moisissures et en levures continue à augmenter graduellement. Le niveau de moisissures et de levures dans l'ensilage non enrobé tend donc à augmenter durant les trois premières semaines d'entreposage. Au jour 21, le contenu est de 5.55 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé. À ce jour, il y a 3.19 et 3.38 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage respectivement. Toutefois, une diminution est observée après le 21^e jour d'entreposage dans l'ensilage non enrobé et ce pour le reste de la durée de l'expérience. Durant cette même

période entre le jour 21 et 70, les populations de ces micro-organismes augmentent dans les ensilages scellés avec le plastique et le bioenrobage. Au jour 70, un contenu de moisissures et de levures de 3.62, 5.92 et 5.98 log UFC/g d'ensilage est trouvé respectivement dans l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et enrobé de bioenrobage.

Le nombre de coliformes dans l'ensilage est montré dans le tableau 17a ainsi qu'à la figure 50a. L'ensilage non recouvert présente une augmentation du nombre de coliformes dans la première semaine d'entreposage. Durant cette même période, l'ensilage recouvert par le plastique montre un contenu stable de coliformes suivi d'une augmentation graduelle à partir du jour 14. Durant la première semaine d'entreposage, le nombre de coliformes dans l'ensilage enrobé de bioenrobage diminue suivi d'une augmentation à partir du 35^e jour de conservation. L'ensilage non enrobé montre une augmentation significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) du nombre de coliformes dans les 21 premiers jours. À ce jour, le contenu en coliformes est de 5.33 log UFC/g d'ensilage. Dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage, le contenu est respectivement de 4.36 et 0 log UFC/g d'ensilage au 21^e jour d'entreposage. L'ensilage enrobé de bioenrobage voit une augmentation de coliformes qu'à partir du jour 35. L'ensilage non enrobé possède une population finale de coliformes au jour 70 significativement supérieure à celle retrouvée dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage. Au jour 70, le contenu en coliformes dans l'ensilage est de 6.34, 4.63 et 4.12 log UFC/g d'ensilage respectivement pour l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et enrobé de bioenrobage.

Traitements exposés à la pluie

Les résultats du contenu en micro-organismes aérobiques dans l'ensilage exposé à la pluie sont présentés au tableau 17b et à la figure 46b. L'ensilage non enrobé présente une augmentation du nombre d'aérobies totaux durant la première semaine de conservation suivie d'une stabilisation de la croissance des aérobies pour le reste de la durée d'entreposage de 70 jours. Les populations de micro-organismes aérobies sont relativement constants dans l'ensilage recouvert de bioenrobage et de plastique. L'ensilage non enrobé mis en contact avec la pluie montre un niveau de micro-organismes aérobiques totaux qui augmente significativement ($p \leq 0.05$) dans le temps. Dans la première semaine, le contenu en aérobies atteint 10.31 log UFC/g d'ensilage. Au même moment, les ensilages recouverts par le

plastique et le bioenrobage montrent respectivement des contenus de 7.28 et de 6.61 log UFC/g d'ensilage. À partir du jour 42, l'ensilage enrobé de bioenrobage montre un niveau d'aérobies totaux significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) que le plastique où les valeurs respectives sont de 6.25 et 7.34 log UFC/g d'ensilage. Du jour 42 au jour 70, le contenu en aérobies totaux dans l'ensilage recouvert de plastique passe de 7.34 à 7.27 log UFC/g d'ensilage. Durant la même période, le contenu de ces micro-organismes dans l'ensilage enrobé de bioenrobage passe de 6.25 à 8.80 log UFC/g d'ensilage.

Le niveau de micro-organismes anaérobies dans l'ensilage exposé à la pluie figure au tableau 17b ainsi qu'à la figure 47b. Une augmentation constante est observée dans tous les traitements jusqu'au jour 14. Ces populations d'anaérobies totaux diminuent graduellement à partir du 14^e jour d'entreposage. Durant les deux premières semaines d'entreposage, tous les traitements montrent donc une augmentation des populations de micro-organismes anaérobies totaux dans l'ensilage. Le contenu d'anaérobies totaux dans l'ensilage non enrobé passe de 3.86 à 8.44 log UFC/g d'ensilage. L'ensilage scellé par le film de plastique et le bioenrobage présente respectivement une augmentation de 3.86 à 7.68 log UFC/g d'ensilage et de 3.86 à 8.11 log UFC/g d'ensilage durant les deux premières semaines d'entreposage. Les résultats montrent également une diminution de ces niveaux d'anaérobies totaux après le jour 14. À la fin de l'entreposage au jour 70, le contenu en micro-organismes anaérobies totaux est respectivement de 5.44, 6.88 et 6.68 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage.

Le contenu en bactéries acido-lactiques dans l'ensilage exposé à la pluie est présenté au tableau 17b et à la figure 48b. Tous les traitements présentent une augmentation du nombre de bactéries acido-lactiques (BAL) dans l'ensilage durant les dix premiers jours d'entreposage. À partir du jour 7, le nombre de BAL diminue donc dans l'ensilage non enrobé. Au niveau des ensilages scellés par le plastique et le bioenrobage, le nombre de BAL est relativement constant à partir du jour 7 et ce, jusqu'à la fin de l'entreposage au jour 70. Les résultats montrent donc que dans la première semaine d'entreposage, l'ensilage non enrobé sous la pluie contient une plus faible population de BAL que l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage. Les valeurs de ces échantillons au jour 7 sont respectivement de 4.63, 7.35 et de 7.48 log UFC/g d'ensilage. Ces populations se maintiennent stables dans l'ensilage scellé par le plastique et le bioenrobage jusqu'au jour 63. Au jour 70, le contenu en

BAL est respectivement de 2.58, 7.68 et 5.58 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage.

Les résultats des niveaux de moisissures et de levures dans l'ensilage exposé à la pluie figurent au tableau 17b et à la figure 49b. Dans les trois premières semaines d'entreposage, tous les traitements montrent une augmentation de leur niveau de moisissures et de levures dans l'ensilage. Après le jour 21, l'ensilage non enrobé présente une diminution graduelle de son contenu en moisissures et en levures. Après le jour 21, au niveau de l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage, le contenu en moisissures et en levures continue à augmenter graduellement. Le niveau de moisissures et de levures dans l'ensilage non enrobé tend donc à augmenter durant les trois premières semaines d'entreposage. Au jour 21, le contenu est de 6.63 log UFC/g d'ensilage. À ce jour, il y a 2.70 et 2.88 log UFC/g d'ensilage dans l'ensilage recouvert par le plastique et le bioenrobage respectivement. Toutefois, une diminution est observée après le 21^e jour d'entreposage dans l'ensilage non enrobé et ce pour le reste de la durée de l'expérience. Les résultats montrent une augmentation constante de moisissures et de levures dans l'ensilage scellé par le plastique et le bioenrobage durant toute la durée d'entreposage. Au jour 70, un contenu de 4.51, 6.05 et 7.73 log UFC/g d'ensilage est trouvé respectivement dans l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et enrobé de bioenrobage.

L'évolution du nombre de coliformes dans l'ensilage exposé à la pluie est montré dans le tableau 17b ainsi qu'à la figure 50b. L'ensilage non enrobé présente une augmentation du nombre de coliformes dans la première semaine d'entreposage. Durant cette même période, l'ensilage recouvert par le plastique montre un contenu stable et ce jusqu'au jour 21. À ce jour, une diminution du contenu en coliformes est observée suivi d'une augmentation graduelle à partir du jour 42. Durant la première semaine d'entreposage, le nombre de coliformes dans l'ensilage enrobé de bioenrobage diminue suivi d'une augmentation qu'à partir du 35^e jour de conservation. L'ensilage non enrobé et exposé à la pluie montre une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du contenu en coliformes dans les 21 premiers jours. À ce jour le contenu est de 6.19 log UFC/g d'ensilage. Dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage, le contenu est respectivement de 3.63 et 0 log UFC/g d'ensilage au 21^e jour d'entreposage. L'ensilage recouvert par le bioenrobage voit une augmentation de coliformes qu'à partir du jour 35. Au jour 70, l'ensilage non enrobé possède une population finale significativement supérieure ($p \leq 0.05$) de coliformes à celle retrouvée dans l'ensilage

recouvert par le plastique et le bioenrobage. Le contenu en coliformes dans l'ensilage est de 5.23, 3.42 et 4.35 log UFC/g d'ensilage respectivement pour l'ensilage non enrobé, recouvert de plastique et recouvert de bioenrobage.

Tableau 17a Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage, protégé de la pluie.

Jours	Traitement	Aérobie	Anaérobie	BAL	Mois/Levures	Coliforme
		Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage
0	Ti	5.84±0.01 ^{a1}	3.86±0.02 ^{a1}	3.11±0.06 ^{a1}	0.98±0.07 ^{a1}	3.45±0.05 ^{a1}
	Pi	5.84±0.01 ^{a1}	3.86±0.02 ^{a1}	3.11±0.06 ^{a1}	0.98±0.07 ^{a1}	3.45±0.05 ^{a3}
	Ei	5.84±0.01 ^{a2}	3.86±0.02 ^{a1}	3.11±0.06 ^{a1}	0.98±0.07 ^{a1}	3.45±0.05 ^{a3}
7	Ti	10.36±0.04 ^{d5}	7.56±0.03 ^{c9}	4.68±0.07 ^{b7}	4.93±0.04 ¹⁶	6.18±0.02 ^{c5}
	Pi	7.40±0.04 ^{c4}	6.36±0.05 ^{b2}	7.21±0.05 ^{de5}	2.88±0.07 ^{c2}	3.24±0.04 ^{c2}
	Ei	7.31±0.02 ^{bc8}	7.40±0.06 ^{d7}	7.17±0.03 ^{cd6}	3.30±0.03 ^{c2}	0.24±0.03 ^{b1}
14	Ti	11.17±0.01 ^{g6}	7.24±0.06 ^{b8}	4.18±0.01 ^{a6}	5.31±0.03 ^{d7}	6.19±0.04 ^{d5}
	Pi	7.71±0.03 ^{d6}	7.11±0.01 ^{a5}	7.48±0.03 ^{c7}	3.19±0.02 ^{b3}	3.16±0.07 ^{b1}
	Ei	6.833±0.03 ^{c5}	7.32±0.05 ^{c6}	7.80±0.01 ^{f7}	3.38±0.03 ^{c5}	0 ^{a1}
21	Ti	11.59±0.03 ^{f7}	6.74±0.01 ^{a5}	4.16±0.06 ^{b6}	5.55±0.03 ^{e8}	5.33±0.02 ^{d5}
	Pi	7.85±0.03 ^{d7}	7.83±0.03 ^{d8}	7.71±0.04 ^{d8}	3.22±0.04 ^{c3}	4.36±0.05 ^{ce5,6}
	Ei	6.96±0.03 ^{b7}	7.57±0.04 ^{b8}	9.03±0.01 ^{f9}	3.39±0.07 ^{d3}	0 ^{a1}
28	Ti	11.96±0.01 ¹⁵	7.14±0.02 ^{c7}	3.39±0.06 ^{b5}	4.35±0.02 ^{e5}	5.27±0.03 ^{d2}
	Pi	7.89±0.02 ^{d5}	7.88±0.03 ^{f9}	7.51±0.04 ^{c7}	3.92±0.03 ^{c4}	4.57±0.04 ^{c7}
	Ei	6.90±0.02 ^{a6}	6.53±0.03 ^{a3}	8.2±0.06 ^{e8}	4.11±0.02 ^{d4}	0 ^{a1}
35	Ti	12.02±0.01 ^{f9}	7.59±0.21 ^{e9}	2.95±0.02 ^{b3}	5.59±0.01 ^{d8}	5.52±0.02 ^{c4}
	Pi	7.31±0.05 ^{c3}	7.40±0.06 ^{e7}	7.42±0.04 ^{d6}	4.45±0.01 ^{b5}	4.42±0.05 ^{d6}
	Ei	6.88±0.01 ^{a6}	7.61±0.02 ^{e8}	7.11±0.01 ^{c5}	5.35±0.01 ^{c8}	0 ^{a1}
42	Ti	12.47±0.04 ¹¹⁰	7.00±0.01 ^{c6}	2.79±0.01 ^{b2}	4.90±0.02 ^{d6}	6.49±0.02 ^{e7}
	Pi	7.34±0.01 ^{c3}	6.45±0.03 ^{a3}	7.47±0.03 ^{c7}	3.18±0.03 ^{a3}	4.34±0.07 ^{d5}
	Ei	6.25±0.05 ^{a4}	6.71±0.02 ^{b4}	6.36±0.03 ^{c3,4}	4.35±0.04 ^{c5}	3.02±0.01 ^{c2}
56	Ti	9.93±0.01 ¹⁴	6.27±0.04 ^{b4}	2.56±0.02 ^{a1}	4.21±0.06 ^{a4}	7.22±0.06 ^{f9}
	Pi	7.14±0.02 ^{b2}	7.22±0.01 ^{d6}	5.89±0.01 ^{c2}	5.71±0.07 ^{e8}	5.03±0.01 ^{d9}
	Ei	5.95±0.01 ^{a3}	6.88±0.02 ^{c5}	6.33±0.04 ^{d3}	4.72±0.03 ^{b6}	2.90±0.02 ^{b2}
63	Ti	9.79±0.03 ¹⁵	5.85±0.02 ^{b3}	2.81±0.02 ^{b2}	4.01±0.02 ^{a3}	6.87±0.02 ^{e8}
	Pi	7.51±0.03 ^{b5}	6.87±0.18 ^{d4}	6.67±0.03 ^{d4}	5.34±0.05 ^{d6}	3.85±0.02 ^{c4}
	Ei	5.82±0.03 ^{a2}	6.67±0.03 ^{c4}	6.40±0.03 ^{c4}	5.01±0.01 ^{c7}	3.39±0.03 ^{a3}
70	Ti	9.23±0.05 ¹²	5.32±0.06 ^{a2}	2.93±0.01 ^{b3}	3.62±0.03 ^{a2}	6.34±0.05 ¹⁶
	Pi	7.42±0.05 ^{c4}	6.39±0.04 ^{d2}	6.56±0.03 ^{e3}	5.92±0.03 ^{cd7}	4.63±0.03 ^{d8}
	Ei	5.76±0.02 ^{a1}	6.32±0.05 ^{c2}	6.5±0.05 ^{f2}	5.98±0.02 ^{d9}	4.12±0.01 ^{b4}

^{a-g} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse

¹⁻¹⁰ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

Ti = témoin non enrobé protégé de la pluie, Pi = plastique protégé de la pluie, Ei = bioenrobage protégé de la pluie

Tableau 17b Paramètres microbiologiques au sein de l'ensilage exposé à la pluie.

Jours	Traitement	Aérobe	Anaérobe	BAL	Mois/Levures	Coliforme
		Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage	Log UFC/g ensilage
0	Te	5.84±0.01 ^{a1}	3.86±0.02 ^{a1}	3.11±0.06 ^{a6}	0.98±0.07 ^{a1}	3.45±0.05 ^{a1}
	Pe	5.84±0.01 ^{a1}	3.86±0.02 ^{a1}	3.11±0.06 ^{a1}	0.98±0.07 ^{a1}	3.45±0.05 ^{a5}
	Ee	5.84±0.01 ^{a1}	3.86±0.02 ^{a1}	3.11±0.06 ^{a1}	0.98±0.07 ^{a2}	3.45±0.05 ^{a5}
7	Te	10.31 ±0.17 ^{d5}	7.37 ±0.04 ^{e8}	4.62 ±0.03 ^{a8}	5.18 ±0.03 ^{b4}	6.61 ±0.03 ^{f4}
	Pe	7.28± 0.01 ^{bc3}	7.22 ±0.02 ^{e5}	7.35 ±0.02 ^{f3}	2.99 ±0.03 ^{d4}	3.54 ±0.01 ^{de}
	Ee	6.61 ±0.49 ^{ab2}	6.28 ±0.07 ^{a2}	7.48 ±0.03 ^{b4,5}	ND	0 ^{a1}
14	Te	11.05±0.01 ^{f9}	8.44 ±0.05 ^{f10}	4.28 ±0.04 ^{b7}	5.47 ±0.03 ^{e5}	7.16 ±0.01 ^{e7}
	Pe	7.84 ± 0.02 ^{e8}	7.68 ±0.02 ^{d10}	7.61 ±0.05 ^{de5}	3.15 ±0.03 ^{b5}	3.77 ±0.07 ^{cx}
	Ee	6.48 ±0.03 ^{a2}	8.11 ±0.01 ^{e8}	7.78 ±0.01 ^{ef6}	2.06 ±0.02 ^{a3}	0 ^{a1}
21	Te	10.55± 0.07 ^{cb}	7.84 ±0.01 ^{d9}	2.42 ±0.05 ^{a2}	6.63 ±0.05 ^{f9}	6.19 ±0.07 ^{ex}
	Pe	7.77 ± 0.02 ^{cb}	7.62 ±0.03 ^{c9}	7.55 ±0.04 ^{ca}	2.70 ±0.05 ^{a3}	3.63 ±0.03 ^{b7}
	Ee	5.81 ±0.03 ^{a1}	8.51 ±0.06 ^{e9}	8.81 ±0.03 ^{cb}	2.88 ±0.02 ^{b4}	0 ^{a1}
28	Te	10.78± 0.01 ^{e7}	7.08 ±0.01 ^{b7}	2.22 ±0.04 ^{a1}	6.44 ±0.03 ^{f8}	8.03 ±0.01 ^{e9}
	Pe	7.59 ±0.41 ^{e5}	7.56 ±0.02 ^{d8}	7.54 ±0.02 ^{ca}	2.43 ±0.03 ^{a2}	2.31 ±0.02 ^{b3}
	Ee	7.78 ±0.01 ^{b2}	7.78 ±0.03 ^{e7}	7.91 ±0.01 ^{d7}	3.77 ±0.02 ^{b5}	0 ^{a1}
35	Te	10.85 ±0.01 ^{e7,8}	6.65 ±0.03 ^{b6}	2.57 ±0.04 ^{a3}	6.35 ±0.06 ^{e7}	7.32 ±0.05 ^{cx}
	Pe	7.44 ± 0.04 ^{d4}	7.51 ±0.02 ^{d7}	7.54 ±0.03 ^{ca}	3.49 ±0.03 ^{a6}	1.36 ±0.02 ^{b2}
	Ee	7.10 ±0.02 ^{b2}	6.33 ±0.02 ^{a3}	7.92 ±0.01 ^{f7}	4.55 ±0.03 ^{cb}	0 ^{a1}
42	Te	10.91±0.01 ^{e8}	6.46 ±0.03 ^{a5}	2.66 ±0.02 ^{a4}	5.95 ±0.01 ^{f6}	7.01 ±0.01 ^{f6}
	Pe	6.87 ±0.02 ^{b2}	6.99 ±0.01 ^{c3}	7.01 ±0.01 ^{d2}	3.99 ±0.01 ^{b7}	0.02 ±0.01 ^{a1}
	Ee	7.77 ±0.02 ^{d3}	7.37 ±0.04 ^{d6}	7.51 ±0.02 ^{f5}	5.23 ±0.04 ^{ce7}	2.14 ±0.01 ^{b2}
56	Te	9.86 ±0.01 ^{e4}	5.86 ±0.01 ^{a4}	2.90 ±0.01 ^{b5}	5.12 ±0.06 ^{ca}	6.82 ±0.02 ^{e5}
	Pe	7.77 ±0.02 ^{e7}	7.47 ±0.03 ^{f6}	7.00 ±0.01 ^{e2}	5.50 ±0.03 ^{d9}	2.76 ±0.02 ^{a4}
	Ee	7.89 ±0.01 ^{d3}	7.40 ±0.05 ^{e6}	7.45 ±0.03 ^{fa}	6.47 ±0.03 ^{f8}	3.60 ±0.02 ^{ca}
63	Te	9.23 ±0.05 ^{e3}	5.72 ±0.03 ^{a3}	2.67 ±0.03 ^{a4}	4.99 ±0.01 ^{c3}	6.62 ±0.02 ^{d4}
	Pe	7.60 ±0.04 ^{e5}	7.05 ±0.01 ^{f4}	7.37 ±0.05 ^{f3}	4.41 ±0.05 ^{b8}	3.46 ±0.04 ^{b5}
	Ee	7.99 ±0.02 ^{d3}	6.97 ±0.01 ^{e5}	6.74 ±0.02 ^{e3}	7.02 ±0.01 ^{e9}	3.86 ±0.01 ^{c5}
70	Te	8.99 ±0.03 ^{e2}	5.44 ±0.05 ^{b2}	2.58 ±0.04 ^{a3}	4.52 ±0.04 ^{b2}	5.23 ±0.06 ^{e2}
	Pe	7.27 ±0.04 ^{b3}	6.88 ±0.02 ^{f2}	7.68 ±0.02 ^{d6}	6.05 ±0.01 ^{d10}	3.42 ±0.06 ^{a5}
	Ee	8.80 ±0.02 ^{d4}	6.68 ±0.03 ^{e4}	5.58 ±0.04 ^{e2}	7.73 ±0.03 ^{e10}	4.35 ±0.06 ^{cb}

^{a-b} Pour une même colonne, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse

¹⁻¹⁰ Pour un même traitement au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

Te = témoin non enrobé exposé à la pluie, Pe = plastique exposé à la pluie, Ee = bioenrobage exposé à la pluie

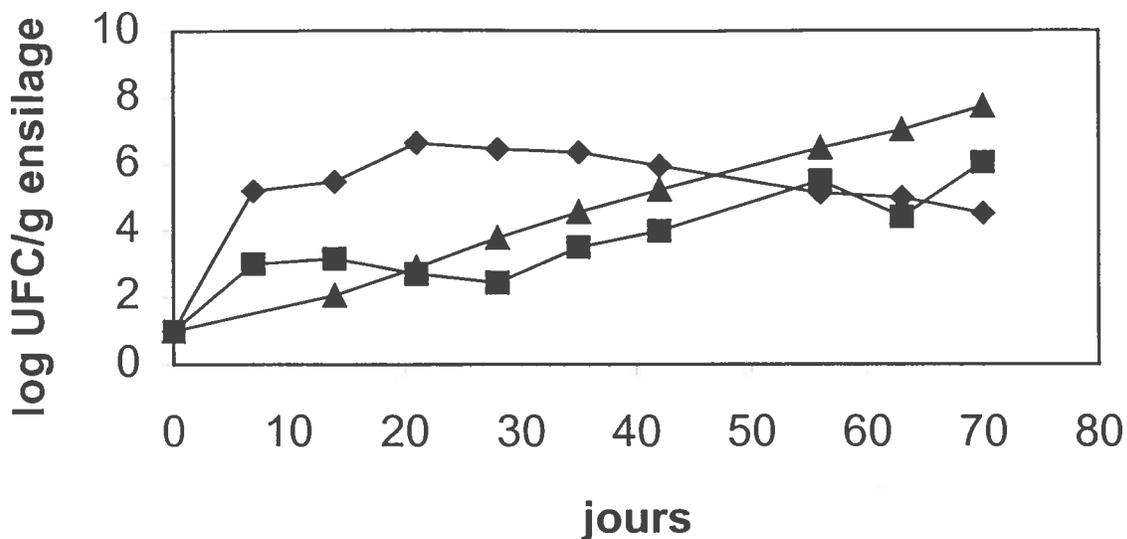


Figure 46a. Contenu en micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies(■), Ei = bioenrobage protégé de la pluie (▲)

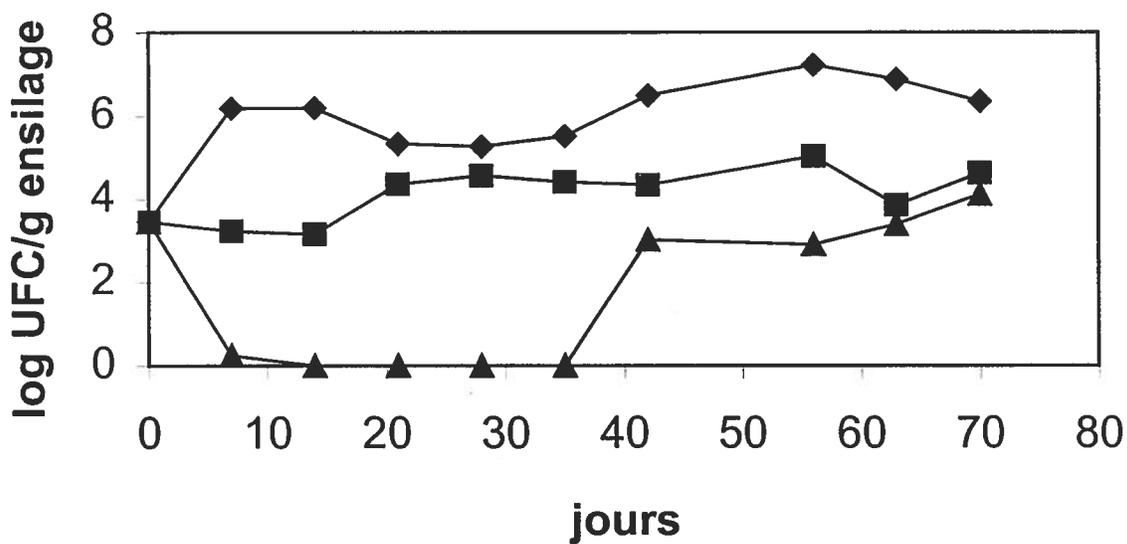


Figure 46b. Contenu en micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

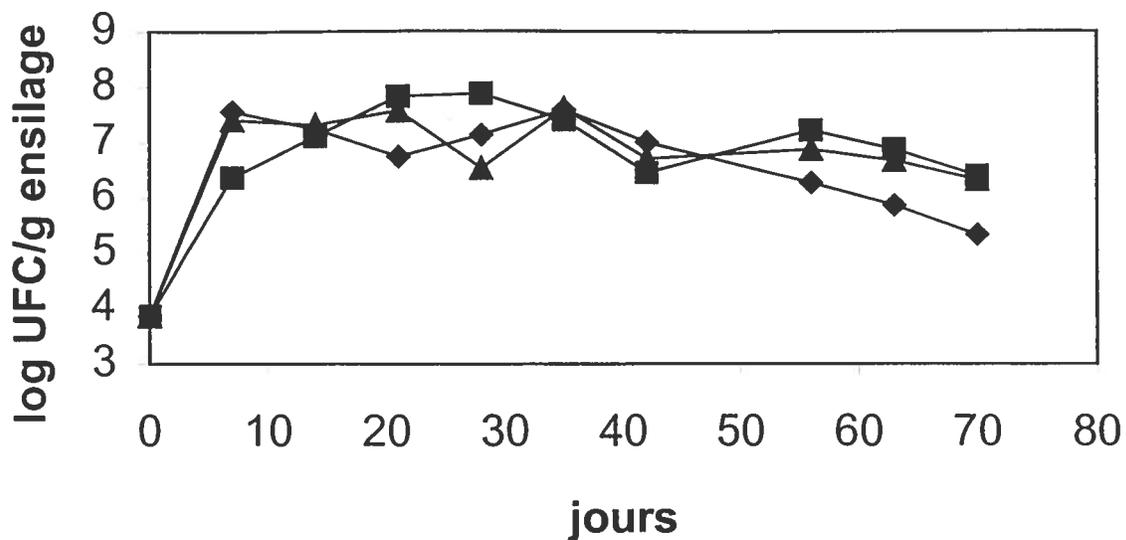


Figure 47a. Contenu en micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé de la pluie (▲)

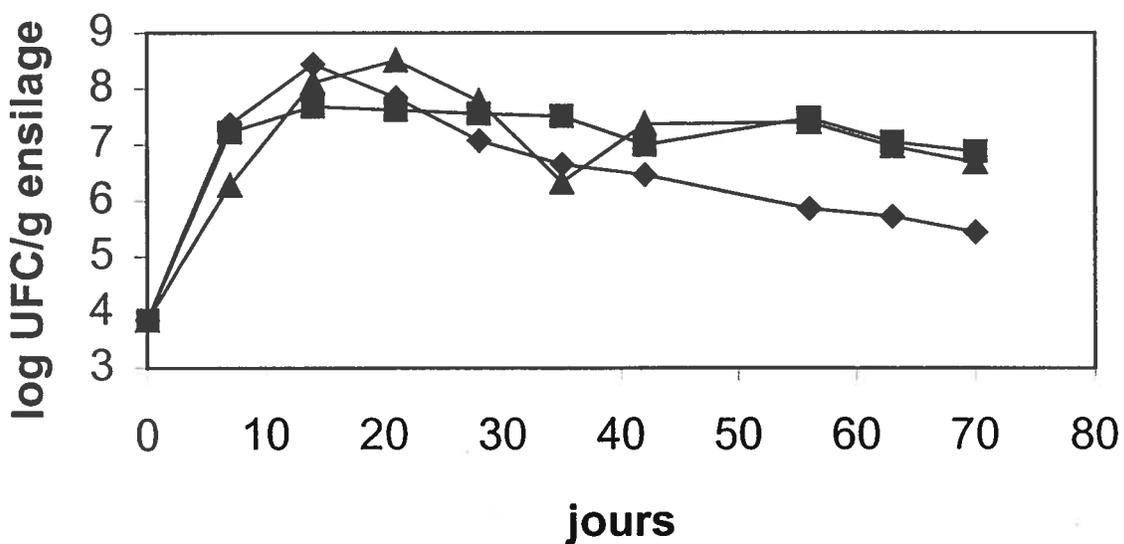


Figure 47b. Contenu en micro-organismes anaérobiques totaux dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

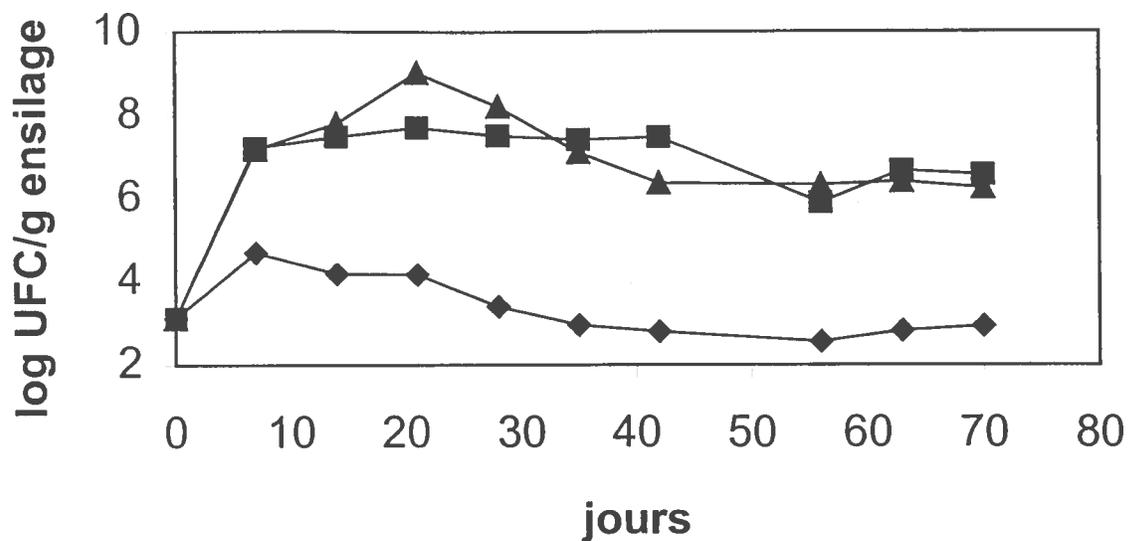


Figure 48a. Contenu en bactéries acido-lactiques dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies(■), Ei = bioenrobage protégé de la pluie (▲)

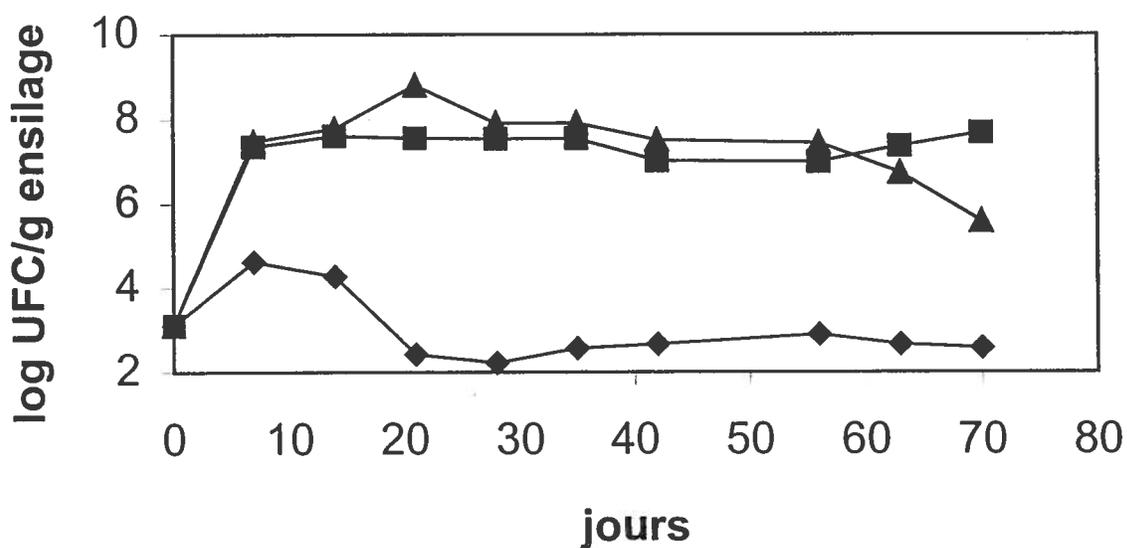


Figure 48b. Contenu en bactéries acido-lactiques dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

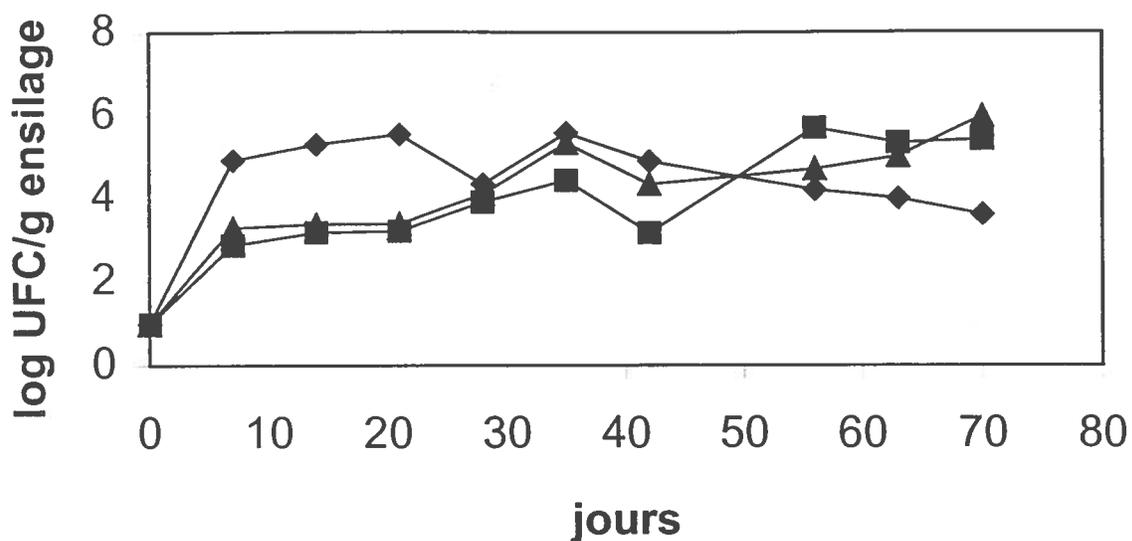


Figure 49a. Contenu en moisissures et en levures dans l'ensilage protégé de la pluie. Ti = témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies (■), Ei = bioenrobage protégé de la pluie (▲)

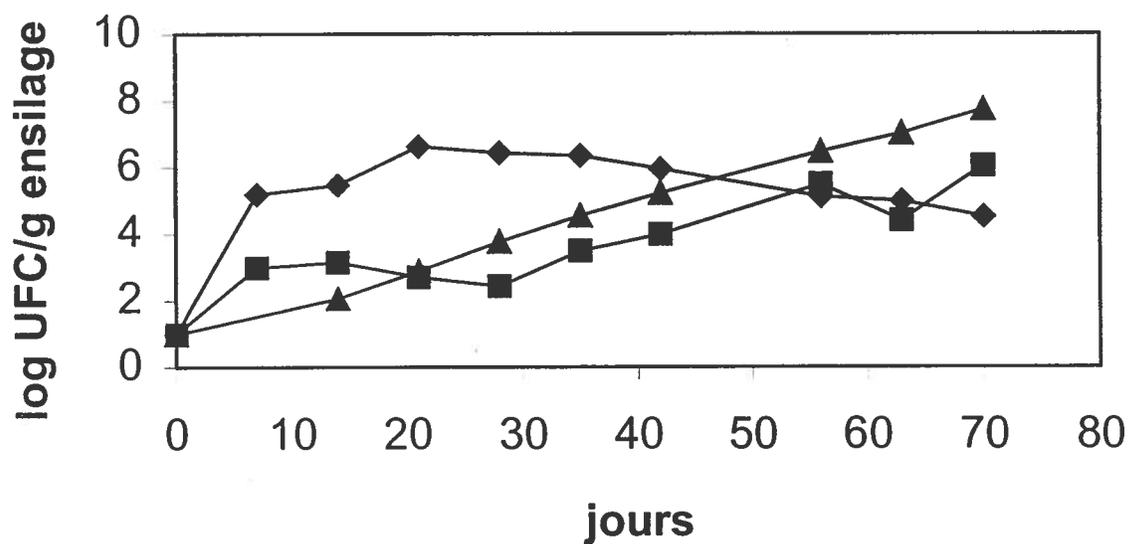


Figure 49b. Contenu en moisissures et en levures dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

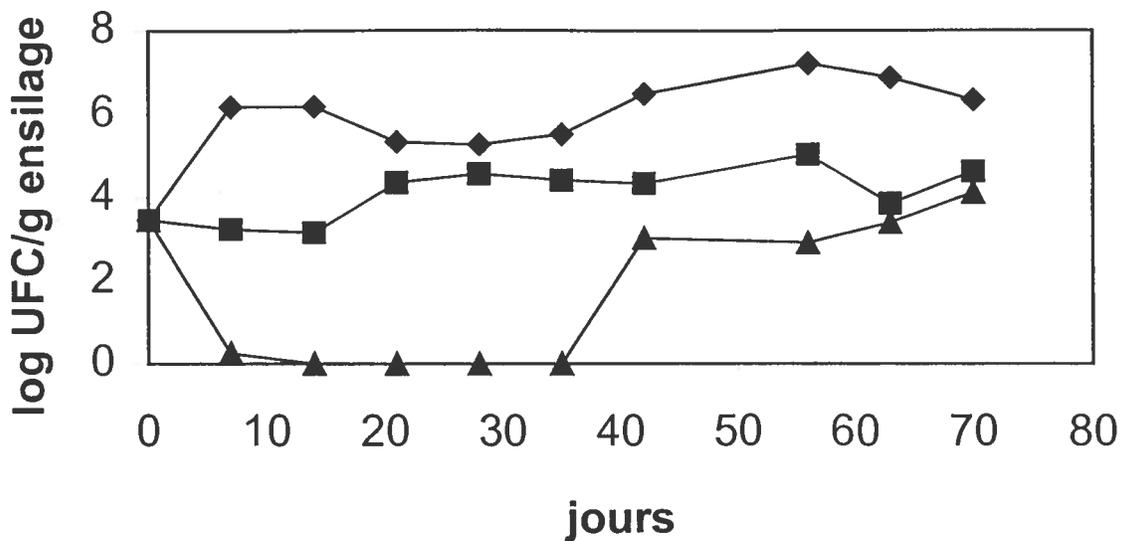


Figure 50a. Contenu en coliformes dans l'ensilage protégé de la pluie

Ti = témoin non enrobé et protégé des pluies (◆), Pi = plastique protégé des pluies(■), Ei = bioenrobage protégé de la pluie (▲)

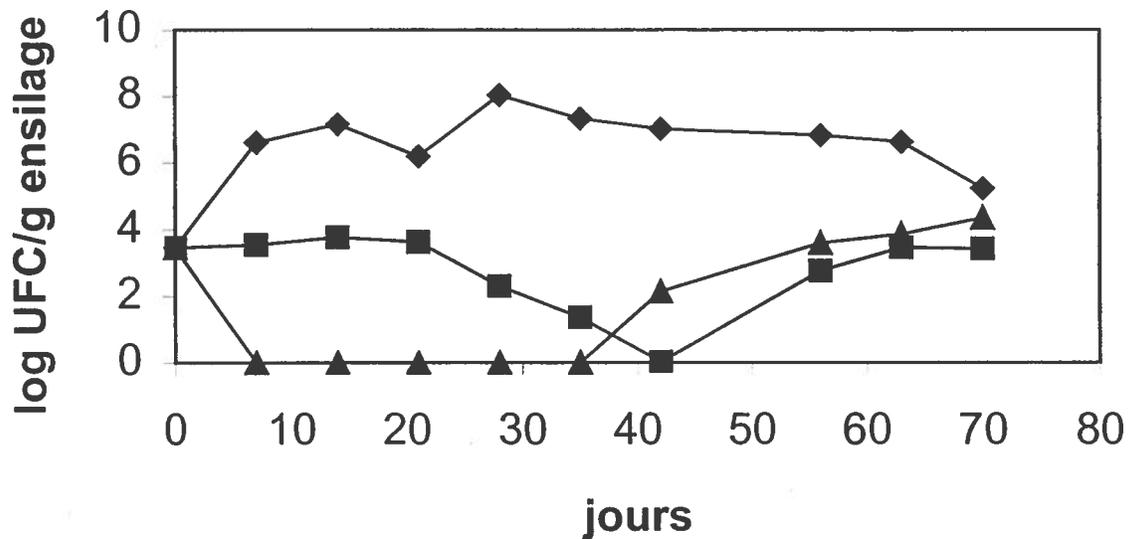


Figure 50b. Contenu en coliformes dans l'ensilage exposé à la pluie. Te = témoin non enrobé et exposé aux pluies (◆), Pe = plastique exposé aux pluies (■), Ee = bioenrobage exposé aux pluies (▲)

4.7. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 2

Les valeurs de pH de l'ensilage des différents traitements exposés et protégés de la pluie sont présentées au tableau 18 ainsi qu'aux figurent 52 et 53. Ces figurent montrent que le pH de l'ensilage diminuent avec la profondeur dans les chaudières.

4.7.1. Mesure du pH

Couche 0-10 cm

Une importante augmentation du pH de l'ensilage est visible à la 4^e et 8^e semaine dans la couche de surface (0-10 cm) pour les témoins non enrobés qu'ils soient à l'abri de la pluie ou non. À la 8^e semaine, le pH est respectivement de 7.95 et 6.27. Le scellement de l'ensilage par les films de plastique ne conduit pas à une augmentation du pH entre la 4^e et la 8^e semaine d'entreposage quelque soit le niveau de protection contre la pluie. À la 8^e semaine d'entreposage, des valeurs de pH de 3.74 et de 3.93 sont trouvées respectivement dans les ensilages recouverts de plastique protégés et exposés à la pluie. Au terme de l'entreposage à la 8^e semaine, l'ensilage recouvert par le bioenrobage a un pH acide et stable lorsque ce qu'il est à l'abri de la pluie par rapport aux ensilages exposés à la pluie avec des valeurs respectives de pH de 3.74 et 6.38. L'effet de la pluie sur le bioenrobage ne se fait sentir qu'à la 8^e semaine d'entreposage avec une augmentation du pH à 6.38 dans la couche de surface uniquement.

Couche 10-20 cm

Au niveau de la couche du milieu (10-20 cm), l'ensilage non enrobé présente un pH plus élevé lorsque les chaudières sont protégées de la pluie par rapport à celles exposées de la pluie. À la 8^e semaine d'entreposage, les valeurs sont respectivement de 7.14 et de 5.34. L'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage conserve un pH stable et comparable. À la 8^e semaine d'entreposage, les valeurs pour l'ensilage recouvert de plastique est respectivement de 3.66 et 3.98 pour les traitements protégés et non protégés de la pluie. Pour les ensilages enrobés avec un bioenrobage protégés et non protégés de la pluie, les valeurs sont respectivement de 3.67 et de 4.40.

Couche 20-32 cm

Une stabilité du pH à des valeurs se situant entre 3.65 et 4.05 est observée dans les trois traitements et ce, jusqu'à la 4^e et 8^e semaines de conservation dans la couche la plus profonde (20-32 cm) indépendamment si les chaudières sont exposées ou non à la pluie. Tous les traitements présentent des valeurs de pH significativement plus basses ($p \leq 0.05$) lorsque les chaudières sont protégées de la pluie que lorsqu'elles sont exposées à la pluie.

4.7.2. Évaluation de la perte de matière sèche

Les valeurs de pertes de matière sèche dans l'ensilage des différents traitements exposés et protégés de la pluie sont présentées au tableau 18 ainsi qu'aux figures 54 et 55. Ces figures montrent que la perte de matière sèche de l'ensilage diminue avec la profondeur dans les chaudières.

Couche 0-10 cm

La couche de surface (0-10 cm) dans les ensilages non enrobés présente les plus grandes pertes de matière sèche dans la 8^e semaine avec 51.08% dans les ensilages protégés et de 34.27% dans les ensilages exposés à la pluie. Ces augmentations de perte de matière sèche dans la couche de 0-10 cm sont également visibles mais de façon moindre dans les ensilages scellés avec le plastique et le bioenrobage. L'ensilage enrobé de bioenrobage montre plus de perte de matière sèche que l'ensilage recouvert par le plastique après 8 semaines d'entreposage sous la pluie. Les valeurs sont respectivement de 6.39% et 5.60%. Par contre, à l'abri des précipitations, l'ensilage enrobé de bioenrobage présente moins de perte de matière sèche dans la couche de surface que le plastique à la fin de l'essai semi-pilote. Les valeurs sont respectivement de 2.59% et de 8.08%.

Couche 10-20 cm

Une perte plus importante de matière sèche dans les ensilages non enrobés a été observée dans la couche de 10 à 20 cm lorsque ceux-ci sont protégés de la pluie à la 4^e et 8^e semaine d'entreposage par rapport aux ensilages scellés par le plastique et le bioenrobage. Des

pertes de 22.99% et de 17.99% de matière sèche sont trouvées dans les ensilages non enrobés lorsqu'ils sont protégés de la pluie à la 4^e et 8^e semaine respectivement. Lorsque les ensilages non enrobés sont exposés à la pluie, des valeurs de pertes de matière sèche significativement plus élevées ($p \leq 0.05$) sont trouvées avec respectivement 44.99% et 19.33% pour les ensilages non enrobés protégés de la pluie et exposés à la pluie. À la 8^e semaine, l'ensilage recouvert de plastique ne présente pas de différence ($p > 0.05$) au niveau des pertes de matière sèche lorsque les chaudières sont exposé ou non à la pluie. À la 8^e semaine, des pertes de matière sèche de 5.31% et 5.48% sont observées dans les ensilages recouvert de plastiques protégés de la pluie et exposés à la pluie. À la 8^e semaine d'entreposage, les ensilages enrobés de bioenrobage présentent moins de pertes de matière sèche lorsqu'ils sont exposés à la pluie que lorsqu'ils en sont protégés. Des valeurs respectives de 5.10% et 7.35% sont trouvées dans les ensilages enrobés protégés et exposés à la pluie.

Couche 20-32 cm

Très peu de perte de matière sèche est observée dans la couche de 20 à 32 cm pour les trois traitements durant tout l'essai pour tous les niveaux de protection contre les averses. Des pertes de matières sèche de 6.40%, 2.33% et 4.23% sont trouvées respectivement dans les ensilages non enrobés, recouverts de plastique et de bioenrobage et ce, pour la 8^e semaine d'entreposage. L'ensilage enrobé de bioenrobage montre plus de perte de matière sèche que l'ensilage recouvert par le plastique après 8 semaines d'entreposage sous la pluie. Les pertes de matière sèche sont respectivement de 4.23% et 2.33%. Par contre, à l'abri des précipitations, les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage ne présentent pas de différence ($p > 0.05$) de perte de matière sèche dans la couche de surface. À la fin de l'essai semi-pilote, les valeurs sont respectivement de 2.26% et de 2.92%.

Tableau 18. Valeurs du pH et du niveau de perte de matière sèche selon le traitement et le niveau de protection contre la pluie.

Traitement	Semaines	Profondeur (cm)	pH	Perte de MS (%)
Ti Pi Ei Te Pe Ee	4	0 à 10	7.82±0.11 ^{d1} 3.80±0.04 ^{a1} 3.82±0.02 ^{a1} 6.70±0.18 ^{c1} 4.00±0.06 ^{a1} 4.23±0.34 ^{b1}	44.76±2.50 ^{d1} 4.75±0.80 ^{b1} 1.84±0.33 ^{a1} 33.38±0.38 ^{c1} 4.59±0.43 ^{b1} 3.08±0.73 ^{ab1}
Ti Pi Ei Te Pe Ee	4	10 à 20	4.59±0.20 ^{b1} 3.70±0.03 ^{a1} 3.77±0.04 ^{a1} 6.53±0.67 ^{c1} 4.03±0.07 ^{a1} 4.06±0.11 ^{a1}	22.99±1.74 ^{d1} 1.80±0.29 ^{a1} 2.80±0.76 ^{ab1} 17.39±1.02 ^{c1} 3.98±0.30 ^{b1} 3.97±0.46 ^{b1}
Ti Pi Ei Te Pe Ee	4	20 à 32	3.77±0.04 ^{a1} 3.77±0.03 ^{a1} 3.78±0.04 ^{a1} 4.01±0.07 ^{b1} 4.01±0.05 ^{b1} 4.02±0.08 ^{b1}	2.76±0.73 ^{ab1} 2.26±0.14 ^{a1} 3.54±0.24 ^{bc1} 5.36±0.93 ^{d1} 2.97±0.54 ^{ab1} 4.31±0.41 ^{cd1}
Ti Pi Ei Te Pe Ee	8	0 à 10	7.95±0.19 ^{d2} 3.67±0.04 ^{a2} 3.74±0.11 ^{ab1} 6.27±0.33 ^{c1} 3.93±0.03 ^{b1} 6.38±0.23 ^{c1}	51.08±1.86 ^{c2} 8.08±0.12 ^{c2} 2.59±0.56 ^{a1} 34.27±3.33 ^{d2} 5.60±0.83 ^{b2} 6.39±0.46 ^{b1}
Ti Pi Ei Te Pe Ee	8	10 à 20	7.14±0.20 ^{d1} 3.66±0.04 ^{a1} 3.67±0.04 ^{a1} 5.34±0.55 ^{c2} 3.98±0.06 ^{ab2} 4.40±0.53 ^{b2}	44.99±3.51 ^{d1} 5.31±0.46 ^{a1} 5.10±0.1 ^{a1} 19.33±0.59 ^{c2} 5.48±0.11 ^{a1} 7.35±0.66 ^{b1}
Ti Pi Ei Te Pe Ee	8	20 à 32	3.65±0.02 ^{a1} 3.65±0.04 ^{a1} 3.66±0.05 ^{a1} 3.96±0.06 ^{b2} 3.96±0.03 ^{b2} 4.05±0.19 ^{b1}	2.08±0.73 ^{a1} 2.26±0.50 ^{a1} 2.92±0.66 ^{a1} 6.40±0.10 ^{c2} 2.33±0.46 ^{a2} 4.23±0.69 ^{b1}

^{a-d1} Pour une même colonne, ainsi que pour un même temps et une même profondeur, les valeurs moyennes des différents traitements suivies d'une lettre différente sont significativement différents ($p \leq 0.05$) au même jour d'analyse

¹⁻² Pour un même traitement et à une même profondeur au cours de l'entreposage, les valeurs moyennes suivies d'un chiffre différent sont significativement différents ($p \leq 0.05$)

Ti = témoin non enrobé protégé de la pluie, Pi = plastique protégé de la pluie, Ei = bioenrobage protégé de la pluie, Te = témoin non enrobé exposé à la pluie, Pe = plastique exposé à la pluie, Ee = bioenrobage exposé à la pluie.

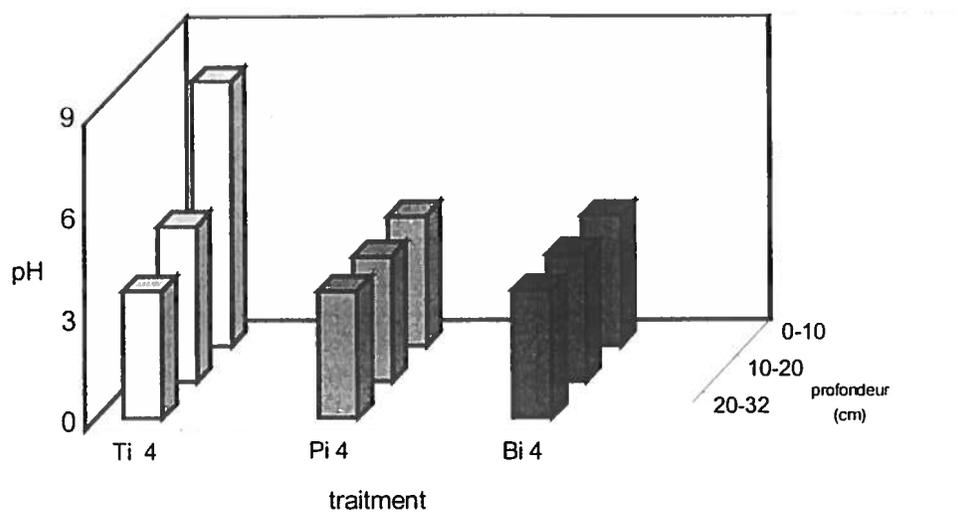


Figure 51a. Influence du bioenrobage 2 protégé de la pluie après 4 semaines sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote Te 4=Témoin non enrobé extérieur □, Pe 4=Plastique extérieur ■, Be 4=Bioenrobage extérieur ■

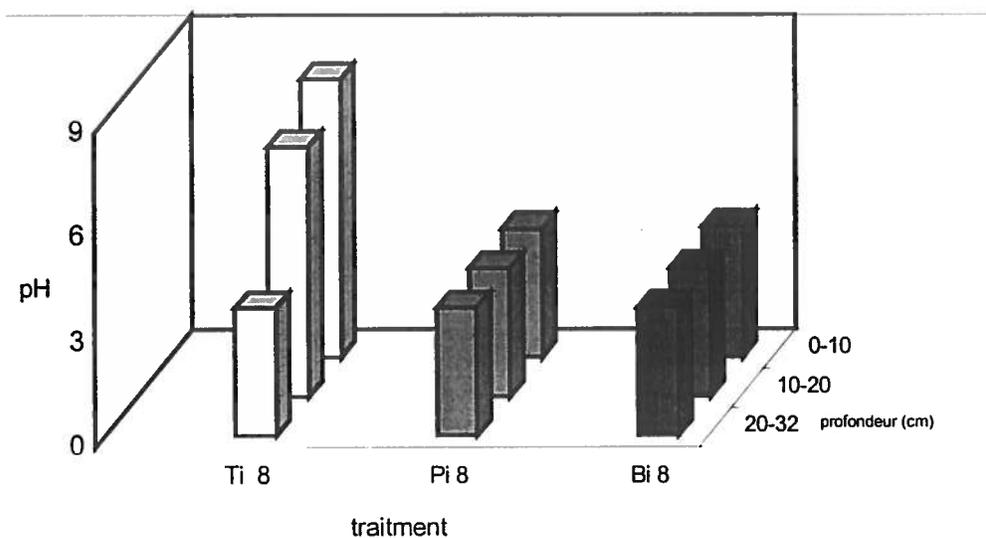


Figure 51b. Influence du bioenrobage 2 protégé de la pluie après 8 semaines sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote. Te 8=témoin non enrobé extérieur □, Pe 8=Plastique extérieur ■, Be 8=Bioenrobage extérieur ■

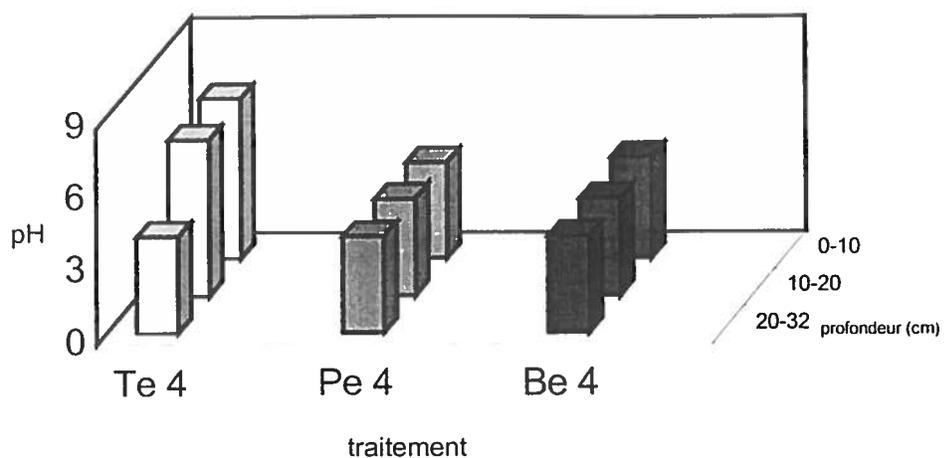


Figure 52a. Influence du bioenrobage 2 exposé après 4 semaines à la pluie sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote. Te 4=Témoïn non enrobé extérieur □, Pe 4=Plastique extérieur ■, Be 4=Bioenrobage extérieur ■

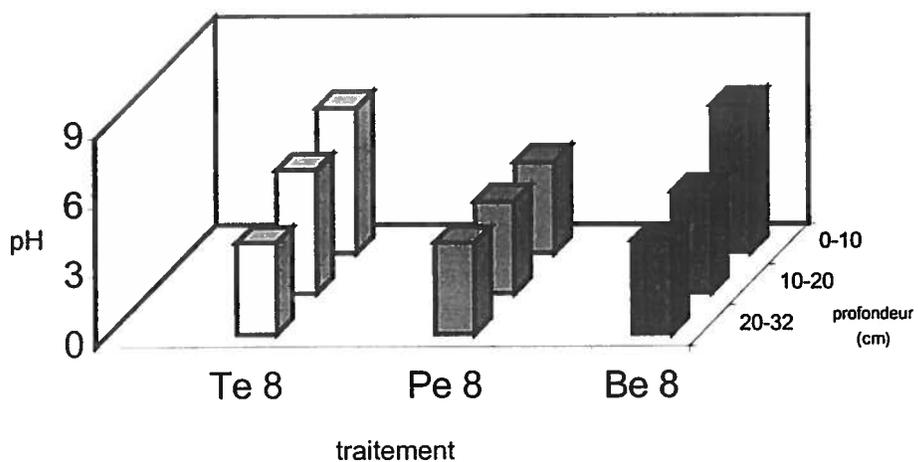


Figure 52b. Influence du bioenrobage 2 exposé après 8 semaines à la pluie sur le pH de l'ensilage en essai semi-pilote. Te 8=témoïn non enrobé extérieur □, Pe 8=Plastique extérieur ■, Be 8=Bioenrobage extérieur ■

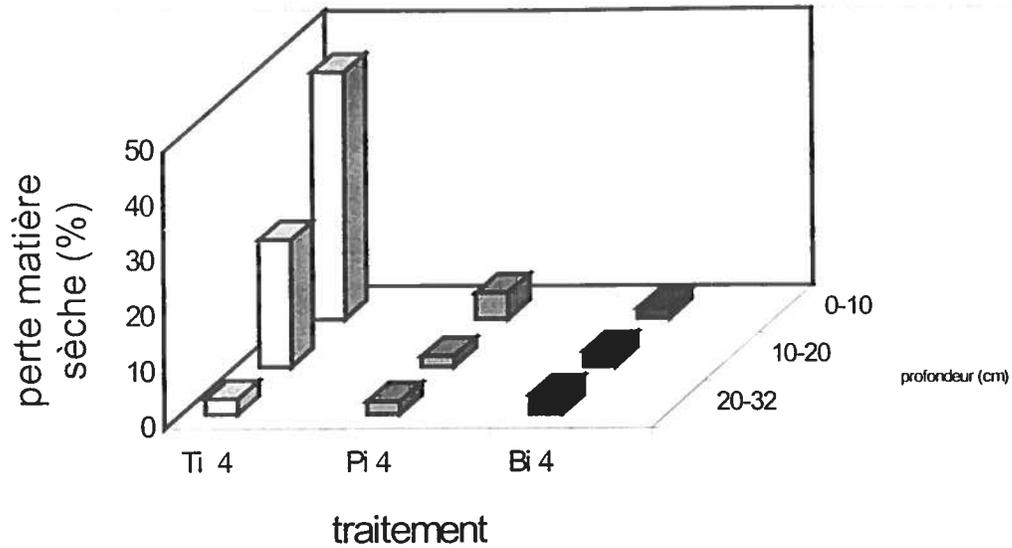


Figure 53a. Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage protégé de la pluie après 4 semaine en essai semi-pilote. Te 4=Témoin non enrobé extérieur □, Pe 4=Plastique extérieur ■, Be 4=Bioenrobage extérieur ■

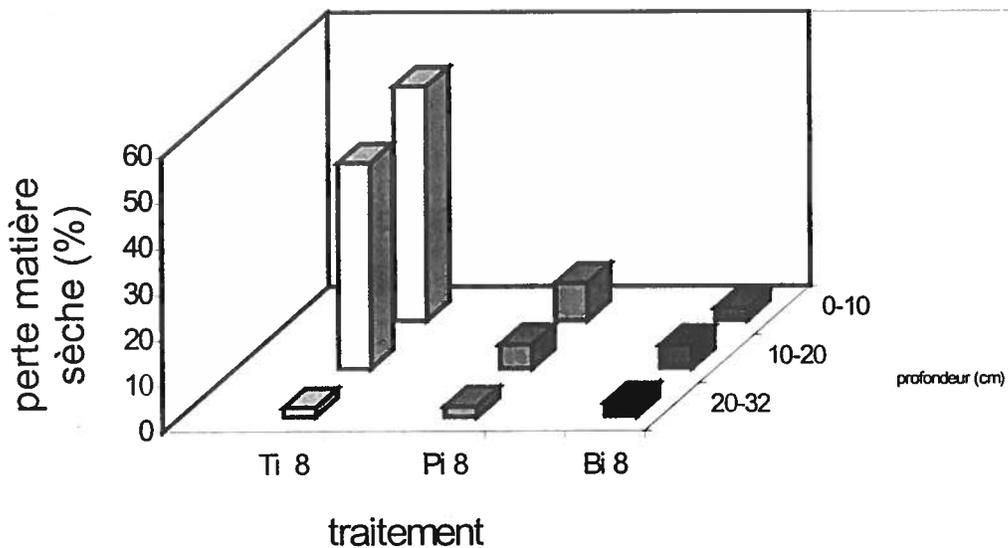


Figure 53b. Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage protégé de la pluie après 8 semaine en essai semi-pilote Te 8=témoin non enrobé extérieur □, Pe 8=Plastique extérieur ■, Be 8=Bioenrobage extérieur ■

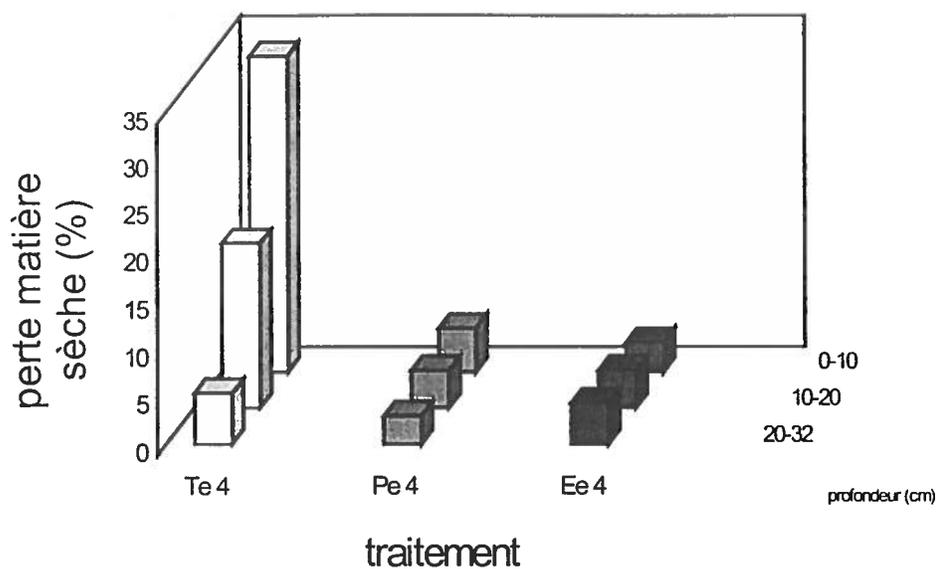


Figure 54a. Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage exposé à la pluie après 4 semaines en essai semi-pilote. Te 4=Témoin non enrobé extérieur □, Pe 4=Plastique extérieur ■, Be 4=Bioenrobage extérieur ■

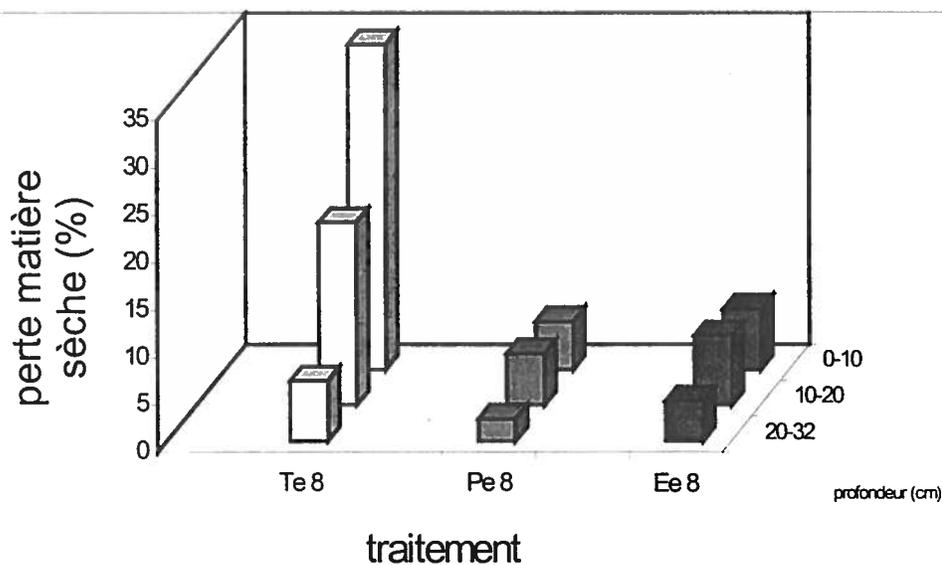


Figure 54b. Influence du bioenrobage 2 sur la perte de matière sèche de l'ensilage exposé à la pluie après 8 semaines en essai semi-pilote Te 8=témoin non enrobé extérieur □, Pe 8=Plastique extérieur ■, Be 8=Bioenrobage extérieur ■

5. DISCUSSION

Cette section présente la discussion des résultats obtenus lors des expérimentations. Dans la première des cinq parties que compte cette section, l'effet séparé et combiné des différents agents à l'étude contenu dans la formulation sur la qualité de l'ensilage sera discuté. La seconde partie porte sur le bien fondé du revêtement sur l'enrobage. Dans la troisième partie, les résultats obtenus en laboratoire sur le bioenrobage 1 et 2 sont expliqués. La dernière partie traite des essais semi-pilotes avec les bioenrobages 1 et 2. L'essai semi-pilote avec le bioenrobage 2 sera également comparé à l'essai extérieur avec les modèles utilisés en laboratoire.

5.1. Transformation et optimisation des formulations

La conservation de l'ensilage est caractérisée par une atteinte rapide et le maintien des conditions anaérobiques et d'un pH acide. Cet environnement prévient le développement des *Clostridium*s, moisissures et levures reliés à la dégradation de l'ensilage (McDonald *et al*, 1991).

5.1.1. Agents plastifiants

Les résultats présentés dans la section 4.1.1. démontrent une différence entre la nature de différents agents plastifiant dans les formulations recouvrant l'ensilage sur le pH et la matière sèche de ce dernier. La formulation d'enrobage contenant 4.8% de glycérol et 3.2% de sorbitol a permis de maintenir le pH acide à 4.56 pendant plus de 17 jours. Toutefois, la formule contenant 32% de glycérol a permis de maintenir un pH de 5.17 au terme de l'entreposage au jour 31 alors que les ensilages enrobés par les autres formulations présentaient des valeurs de pH plus élevées. L'ensilage non enrobé n'a permis la conservation d'un pH acide et un contenu stable en matière sèche que durant les trois premiers jours d'entreposage. Les ensilages enrobés présentent un niveau stable du contenu en matière sèche durant 24 jours d'entreposage sauf pour les ensilages enrobés par les formulations contenant 16% de glycérol et 8% de sorbitol. Au terme de l'entreposage au jour 31, les formules contenant 16 et 32% de glycérol montrent les contenus en matière sèche les plus élevés parmi les ensilages enrobés.

L'addition d'agents plastifiants à des films comestibles est requise afin de diminuer la fragilité des films causée par des forces intermoléculaires extensives. Des polyols, comme le glycérol et le sorbitol, ont un pouvoir plastifiant efficace dues à leur habilité à réduire les liens hydrogènes internes (Lieberman et Guilbert, 1973).

L'ensilage exposé à l'air est sujet à une dégradation rapide caractérisée par la métabolisation des acides organiques, des sucres et des protéines par la flore aérobique. Cette dégradation engendre une augmentation du pH et une perte de matière sèche (McDonald *et al.*, 1991). Ces phénomènes de dégradation sont observés au jour 10 d'entreposage pour l'ensilage non enrobé et l'ensilage résultant de cette dégradation est considéré de mauvaise qualité (pH > 4.8 et MS > 40% ou < 28%) Gouvernement de l'Alberta (<http://www.agric.gov.ab.ca/crops/forage/silage>). Le 10^e jour d'entreposage est aussi caractérisé par une diminution plus importante du pH des ensilages scellés avec les enrobages contenant les plus grandes quantités de sorbitol. McHugh et Krochta (1994b) ont démontré que les films comestibles ont une plus faible perméabilité à l'oxygène lorsque le plastifiant utilisé est le sorbitol par rapport au glycérol. La conservation de l'ensilage est directement reliée avec le niveau d'anaérobie présent dans cet ensilage (McDonald *et al.*, 1991). La formulation sans plastifiant n'est pas assez efficace pour diminuer le pH pour une bonne préservation de l'ensilage. Greener et Fennema (1989) rapportent que des films sans plastifiant tendent à être fragiles et lorsque appliqués sur la surface de l'aliment, ils sont susceptibles à des craquelures durant la conservation. Sans plastifiant, l'enrobage recouvrant l'ensilage avait tendance à craquer laissant passer l'oxygène dans la masse ensilée; le processus de dégradation aérobique s'ensuivait.

L'ensilage présentant la meilleure qualité était protégé par la formulation contenant 32% de glycérol au 17^e jour d'entreposage. Selon le Gouvernement de l'Alberta (<http://www.agric.gov.ab.ca/crops/forage/silage>), cet ensilage était de qualité intermédiaire (pH < 4.5 avec MS de 35%). Cuq *et al.* (1997) ont démontré que le glycérol avait un meilleur effet plastifiant sur des protéines myofibrillaires que le sorbitol ou le sucrose à des teneurs élevés en plastifiant. La petite taille du glycérol facilite son insertion et son positionnement dans le patron tridimensionnel des protéines. Lorsque de grande quantité de plastifiant est introduit dans une formulation de film, des changements significatifs des propriétés du film sont observés tels qu'une augmentation de l'extensibilité, de la distensibilité et de la flexibilité

(Cuq *et al.* 1997). La formulation contenant 32% de glycérol contenait de grande quantité de glycérol afin d'anticiper la formation de déchirement dans les premiers instants du processus de conservation. Lorsque les contenants étaient scellés avec l'enrobage, un gonflement de celui-ci s'observait; phénomène également remarquée par McGechan et Williams (1994) au niveau des recouvrements par un plastique. Ce phénomène était produit par l'expansion des gaz due à l'augmentation de la température de l'ensilage dans les premiers instant de conservation. Cette augmentation de température était reliée à l'oxydation des sucres par la flore aérobie résiduelle et l'activité respiratoire des cellules des plantes (McDonald, 1976).

5.1.2. Agents lipidiques

Les résultats présentés dans la section 4.1.2. démontrent une différence entre la nature de différents agents lipidiques dans les formulations recouvrant l'ensilage sur le pH et la matière sèche de ce dernier. L'ensilage non enrobé ne permettait de maintenir un pH acide et stable durant seulement 10 jours alors que ceux enrobés permettaient de maintenir ces conditions pendant au moins 24 jours. Toutefois, les ensilages scellés avec les enrobages contenant la graisse animale permettaient de stabiliser le pH pendant 31 jours d'entreposage à une valeur de 4.61. L'augmentation du contenu en matière sèche dans les ensilages enrobés par différentes formulations est significativement plus lente ($p \leq 0.05$) comparativement avec les ensilages non enrobés. À l'exception des formulations contenant la cire candellila, les formulations d'enrobages contenant des agents lipidiques présentent les valeurs de matière sèche les plus stables avec des contenus variant entre 33.41% et 36.39% au terme de l'expérience au jour 31. L'ensilage non enrobé montre un contenu significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) de 47.41% de matière sèche au jour 31.

L'ensilage non enrobé présente une augmentation constante du contenu en matière sèche associée avec la dégradation de l'ensilage. Cette dégradation produit des composés comme l'ammoniaque qui engendre une augmentation du pH de l'ensilage tel qu'observée au jour 10. Selon le Gouvernement de l'Alberta (<http://www.agric.gov.ab.ca/crops/forage/silage>), l'ensilage non enrobé est mal préservé car le pH est supérieur à 4.8 et le contenu en matière est supérieur à 40%. La valeur finale en matière sèche est plus stable dans les ensilages scellés avec un enrobage contenant un agent lipidique que les ensilages non enrobés. Donhowe et Fennema (1993) rapportent que la cire d'abeille possède une plus faible perméabilité à

l'oxygène que la cire candellia due à la quantité moindre d'hydrocarbones non saturés. Ces derniers sont responsables de la flexibilité des films contenant ces types de lipides et facilitent la diffusion de l'oxygène à travers le film. De plus, une homogénéité de ces composés lipidiques dans les films est difficile à obtenir due à leur haut point d'ébullition. Dues à leurs caractéristiques de perméabilité à l'oxygène et de haut point d'ébullition, les deux types de cires n'ont pu maintenir un pH acide que durant 17 jours. La graisse de bœuf contient également une faible quantité d'hydrocarbones non saturés (46%) comparativement à l'huile de canola (93%) (Lehninger *et al.* 1993). Le contenu plus bas d'hydrocarbones non saturés dans la graisse de bœuf a permis une meilleure résistance à la diffusion de l'oxygène à travers l'enrobage puisque le pH de l'ensilage recouvert par la formulation contenant la graisse de bœuf reste acide tout le long de l'entreposage. Cela explique l'augmentation du pH due à la perte des conditions anaérobiques pour les ensilages recouverts par l'enrobage contenant l'huile de canola entre le jour 17 et 24 par rapport à la graisse de bœuf.

5.1.3. Agents épaississants

L'addition d'agents épaississants dans la section 4.1.3 permettait de diminuer l'eau libre présent dans l'enrobage afin d'assurer un produit final sous la forme de pâte. Cet essai avait démontré que l'ensilage non enrobé ne permet de conserver un pH acide et stable que durant les trois premiers jours d'entreposage. Les ensilages enrobés permettaient de stabiliser le pH pendant 17 jours. Les formulations contenant la poudre fine et grossière d'ensilage présentent une valeur de pH significativement plus basse ($p \leq 0.05$) avec respectivement 4.74 et 4.85 au jour 17. Le contenu en matière sèche de l'ensilage non enrobé augmente dès le 3^e jour de conservation tandis que les ensilages enrobés permettaient une certaine stabilité du contenu en matière sèche durant les 31 jours d'entreposages. La formulation contenant la poudre de foin présente la valeur la plus stable avec 31.42% de matière sèche au terme de l'expérience au jour 31.

La pâte que constituait notre enrobage est mieux adapté pour le recouvrement de l'ensilage que la forme liquide comme le Nutri-Shield (Huhnke et Brusewitz, 1990; Brusewitz *et al.*, 1991b). Le Nutri-Shield est une solution commerciale liquide à base de caséine ou de soya qui, une fois vaporisée en surface de l'ensilage, permet de conserver cet ensilage. Toutefois ces études ont démontrées que la solution liquide de Nutri-Shield ne formait pas un

film étanche à l'oxygène en surface et se désagrègeait avec le temps. Les polymères hydrophiles utilisés dans la formulation de l'enrobage contiennent des groupements polaires permettant de lier, via les liaisons hydrogènes, les molécules d'eau soit de l'air, de l'ensilage ou bien du bioenrobage. Conséquemment, la présence d'eau dans les polymères change la perméabilité aux gaz et à la vapeur d'eau à travers le polymère (Kim et Ustumul, 2001). Les agents épaississant utilisés dans cette étude peuvent lier une partie de l'eau libre dans le bioenrobage. Les résultats ont montré qu'un ensilage exposé à l'air entraîne une augmentation du pH et en matière sèche de l'ensilage due à la dégradation des acides organiques et de l'augmentation du pouvoir tampon relié à la dégradation protéiques (McCullough, 1978). Les formulations contenant la poudre fine et grossière d'ensilage ont montrée la meilleur qualité d'ensilage au 17^e jour d'entreposage basée sur la valeur de pH et le contenu en matière sèche alors que les ensilage non recouverts ou recouvert d'enrobage sans agent épaississant ont été associé à des ensilages de mauvaises qualités (Gouvernement de l'Alberta, <http://www.agric.gov.ab.ca/crops/forage/silage>).

5.2. Importance du revêtement

Cette partie traitera de l'effet de la combinaison des agents plastifiants, lipidiques et épaississants pour la création de notre enrobage sur l'atteinte d'un pH acide et sur la stabilisation de la matière sèche au sein de l'ensilage. L'effet bénéfique d'un revêtement sur l'enrobage est mis en évidence sur la qualité de l'ensilage et l'action conjointe entre l'enrobage et le revêtement dans l'atteinte d'un pH acide et sur la conservation stable de la matière sèche au sein de l'ensilage. Tel que vu dans la section 4.2., cet essai a démontré que le pH des ensilages non enrobés augmente dans la première semaine d'entreposage. Toutefois, les ensilages enrobés et recouverts d'un revêtement ont un pH stable pendant 28 jours. L'ensilage enrobé et recouvert d'un revêtement présente le pH le plus acide avec une valeur de 4.47 au jour 28. L'ensilage non enrobé permet de conserver un contenu stable en matière sèche que durant 14 jours d'entreposage. Les enrobages avec un revêtement permettent un maintien du contenu en matière sèche durant 28 jours. Le revêtement appliqué uniquement sur l'enrobage permet une meilleure stabilité avec 30.22% de matière sèche au terme de l'expérience au jour 28.

La grande quantité de plastifiant dans l'enrobage augmente la perméabilité à la vapeur d'eau (Cuq *et al.*, 1997) reliée à l'hydrophobicité des molécules de glycérol, favorisant l'adsorption et la désorption de molécules d'eau (Gontard *et al.*, 1993). Toutefois, l'incorporation de composés lipidiques aux films de protéines limitent la migration des vapeurs d'eau à travers le film (Kester et Fennema, 1986). L'insertion de graisse de bœuf, de poudre d'ensilage et de glycérol dans une formulation de base disponible dans nos laboratoires a permis l'élaboration d'un enrobage permettant l'établissement d'un environnement anaérobie au sein de l'ensilage favorisant la croissance des bactéries acidolactiques durant les premiers jours d'entreposage. Ces bactéries produisent des acides organiques (acide lactique et acétique) à partir des sucres contenus dans l'ensilage pour diminuer le pH (McDonald *et al.*, 1991) tel qu'observé durant les premiers jours de l'essai. Le pH atteint des valeurs acides pour les traitements enrobés de bioenrobage et non pour les ensilages non enrobés donc exposés à l'air ambiant. Les conditions acides et anaérobiques inhibent le développement de moisissures et de levures qui sont responsables de la dégradation de l'ensilage (McDonald *et al.*, 1991), permettant ainsi une conservation stable de l'ensilage durant tout l'essai (28 jours). Cet enrobage est principalement composé de protéines hydrophiles. En général, ce type de film ont une faible barrière à l'humidité due à la nature hydrophile de leurs acides aminés (Ghorpade *et al.*, 1995). Toutefois, ces films de protéines sont reconnus comme d'excellentes barrières à l'oxygène reliées aux liens hydrogènes qui forment une structure plus compacte entre les protéines (McHugh et Krochta, 1994a). Cette propriété de barrière à l'oxygène confère à notre enrobage une protection efficace de l'ensilage contre l'oxygène durant les 28 jours de l'expérience en conservant un pH acide et stable et en inhibant la croissance des moisissures et des levures.

Le caractère hydrophobe du revêtement est relié principalement aux protéines hydrophobes de maïs qui le compose soit la zéine. Ce revêtement hydrophobe appliqué sur l'enrobage a permis d'obtenir une valeur de pH de l'ensilage semblable à l'enrobage seul mais avec une meilleure conservation du contenu en matière sèche de l'ensilage. Les conditions anaérobiques et acides caractérisant un processus de fermentation du fourrage a été maintenu durant tout l'essai (28 jours). Ce revêtement de zéine permet donc d'obtenir un pH acide et un contenu plus stable de matière sèche qu'un ensilage simplement recouvert d'un enrobage. Cette amélioration de la qualité de l'ensilage due au recouvrement de l'enrobage par un revêtement de zéine est liée à la nature hydrophobe de la zéine. Cette hydrophobicité est reliée avec son contenu élevé d'acides aminés non polaires (Augustine et Baianu, 1987). Un

revêtement de zéine a été préconisé car la perméabilité à l'oxygène et au dioxyde de carbone des films de zéine est plus bas que celle de certains films de plastique comme le polyéthylène de basse et de haute densité, le polypropylène et le polystyrène (Park et Chinnan. 1995, Ayds *et al.* 1991, Gennedios *et al.* 1993). De plus, une réticulation intermoléculaire par le glutaraldéhyde de la zéine diminue l'hydrophobicité du substrat réticulé (Chui et Wan, 1997). Les groupements aldéhydes de la molécule de glutaraldéhyde réagissent avec les groupement amines des résidus d'acides aminés pour former des liaisons covalentes (Chui et Wan, 1997; Parris et Coffin, 1997). Cet agent de liaison est souvent utilisé pour améliorer la force de tension et la résistance à l'eau des films de zéine (Yamada *et al.* 1995). En utilisant un revêtement constitué de protéine de zéine réticulée par le glutaraldéhyde sur l'enrobage, cela constituait une protection contre l'eau pour l'enrobage constitué principalement de protéines hydrophiles. L'effet de l'ajout de zéine sur la résistance de l'enrobage à l'eau permettra de prolonger le temps de conservation de l'ensilage tel qu'observé dans les section sur les essais semi-pilotes. Le revêtement hydrophobe de zéine procure donc une protection contre l'eau alors que l'enrobage constitue une barrière contre la pénétration de l'oxygène.

5.3. Bioenrobages 1 et 2: essais en laboratoire

Cette section discutera de l'effet des meilleures formulations des bioenrobages 1 et 2 sur l'ensilage par différents paramètres biochimiques et microbiologiques en lien avec ceux obtenus dans l'ensilage non protégé et recouvert de plastique. Les résultats présentés dans la section 4.3. et 4.5. démontrent que les ensilages enrobés par le bioenrobage 1 et 2 avaient une qualité nettement améliorée par rapport aux ensilages non enrobés. Le scellage de l'ensilage par le bioenrobage permet de stabiliser le pH à une valeur de 4.52 au 38^e jour d'entreposage pour le bioenrobage 1 et de 4.79 après 120 jours d'entreposage pour le bioenrobage 2. L'application de bioenrobage sur l'ensilage permet également de stabiliser le contenu en matière sèche à des valeurs respectives de 33.62% après 45 jours et 39.23% après 120 jours pour le bioenrobage 1 et 2. Un recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage 1 présente une valeur en sucres qui est comparable au plastique, et ce, durant 45 jours avec respectivement des valeurs de 2.74% ms et de 2.22% ms au jour 45. Un recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage 2 présente une valeur en sucres solubles dans l'eau qui est également comparable au plastique après 70 jours avec respectivement un contenu en sucres de 1.81 % ms et de 1.74% ms. Au terme de la période d'entreposage, une plus faible valeur en azote ammoniacal

est observée dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage 1 et 2 par rapport au plastique. Une valeur de 3.20 %N tot est observée dans l'ensilage enrobé du bioenrobage 1 comparativement à l'ensilage scellé par le plastique où la valeur est de 20.00 %N tot au jour 80. Au niveau de l'ensilage enrobé par le bioenrobage 2, une valeur de 42.82 % N tot au jour 135 est observée comparativement à l'ensilage scellé par le plastique où la valeur est de 64.56% N tot.

Un ensilage enrobé du bioenrobage 1 montre un niveau de production d'acide lactique durant les 17 premiers jours de fermentation de 8.38% ms comparable au niveau retrouvé dans l'ensilage protégé par le plastique à 8.43% ms au jour 17. Durant cette même période d'entreposage, la quantité d'acide acétique retrouvée dans l'ensilage enrobé par le bioenrobage 1 se trouve à un niveau également comparable à celle présente dans l'ensilage scellé avec le film de plastique donnant respectivement des valeurs de 8.68% MS et de 9.80% ms. Le bioenrobage 1 permet de retarder la production d'acide propionique et butyrique jusqu'au 24^e et 31^e jour d'entreposage respectivement. Une stabilisation de la production de butyrate est observée pendant seulement trois jours dans l'ensilage non enrobé. Toutefois, la quantité finale de propionate est significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage 1 donnant une valeur de 1.39% ms comparativement au plastique où la valeur est de 0.27% ms. La concentration finale en butyrate est également plus élevée dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage 1 montrant une valeur de 1.58% ms par rapport au plastique où la valeur est seulement de 0.35% ms.

Un ensilage enrobé du bioenrobage 2 montre un niveau de production d'acide lactique supérieur à la fin de la période d'entreposage de 135 jours. Un contenu de 0.56% ms est retrouvé dans l'ensilage protégé par le bioenrobage 2 alors que celui protégé par le plastique présente un contenu de 0.17% ms d'acide lactique. À partir du 35^e jours d'entreposage, la quantité d'acide acétique retrouvée dans l'ensilage enrobé par le bioenrobage 2 se trouve à un niveau également supérieur à celui présent dans l'ensilage scellé avec le film de plastique donnant respectivement des valeurs de 0.26% ms et 0.34% ms au jour 135. Le bioenrobage 2 permet de retarder la production d'acide butyrique jusqu'au 70^e jour d'entreposage alors que cet acide est détecté au 3^e et 42^e jour d'entreposage pour l'ensilage non enrobé et à l'ensilage scellé avec le plastique respectivement.

Les ensilages enrobés avec le bioenrobage 1 permettaient de maintenir une population d'aérobies de 9.68 log CFU/g d'ensilage, de 7.56 log CFU d'anaérobies /g d'ensilage et de 6.95

log CFU de BAL /g d'ensilage avec des valeurs comparables au plastique pendant toute la durée d'entreposage. Le bioenrobage 1 permet de réduire significativement ($p \leq 0.05$) le contenu en moisissures et en levures pendant les 31 premiers jours d'entreposage. Les valeurs retrouvées au jour 31 étaient de 4.86 log CFU/g d'ensilage par rapport à 6.88 log CFU/g d'ensilage retrouvé dans l'ensilage non enrobé. Le contenu en coliformes dans l'ensilage protégé par le bioenrobage 1 est de 7.26 log CFU/g d'ensilage et est significativement inférieur ($p \leq 0.05$) à celui retrouvé dans l'ensilage non enrobé pendant tout l'entreposage. Aucun organisme de type coliforme n'est retrouvé dans l'ensilage enrobé du bioenrobage 1 et ce, à partir du 3^e jour de conservation.

Les ensilages scellés avec les bioenrobage 2 permettaient de maintenir une population d'aérobies inférieure au plastique pendant l'entreposage. De plus, le bioenrobage 2 permet de conserver un contenu stable en micro-organismes anaérobiques durant l'essai avec respectivement 6.04 log CFU/g d'ensilage au jour 120. Les anaérobies s'avèrent par contre plus élevés au terme de l'expérience dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage 2. Celui-ci atteint une valeur de 6.55 log CFU/g d'ensilage au jour 135 alors que le plastique présente une valeur de 6.04 log CFU/g d'ensilage au jour 135. L'ensilage enrobé présente une croissance en BAL comparable au plastique. Seul le bioenrobage 2 a permis une diminution du nombre initial de moisissures et de levures dans l'ensilage. Le bioenrobage 2 s'est avéré plus efficace que le plastique pour le contrôle du développement des coliformes retardant jusqu'au jour 70, le développement de coliformes.

Voici un résumé des principales étapes se déroulant dans les processus de conservation et de détérioration de l'ensilage (McDonald *et al.*, 1991; McCullough, 1978). Lors du scellement de l'ensilage, l'oxygène résiduel est rapidement éliminé par les micro-organismes initialement présents dans le fourrage et par l'activité enzymatique des cellules végétales du fourrage. Les bactéries acido-lactiques (BAL) vont par la suite rapidement croître, produisant principalement de l'acide lactique à partir des sucres du fourrage diminuant ainsi le pH. La fermentation du fourrage est donc caractérisée par une augmentation des BAL et de l'acide lactique et par une diminution des sucres et du pH. Toutefois, un pH insuffisamment acide permet le développement de *Clostridium* protéolytique et saccharolytiques. Ces micro-organismes sont responsables en partie de la production d'azote ammoniacal à partir des protéines et de l'acide butyrique à partir de l'acide lactique (McDonald *et al.*, 1991). Avec un scellement inapproprié de l'ensilage, l'oxygène pénétrant la masse ensilée permet la croissance

de moisissures, de levures et de coliformes qui vont également dégrader l'ensilage. Une dégradation de l'ensilage est donc caractérisée par une augmentation du pH, de l'azote ammoniacal, du contenu en matière sèche, du niveau des acides propioniques et butyriques ainsi qu'une prolifération des moisissures, des levures et des coliformes. De plus, ces dégradations de l'ensilage amènent une diminution des sucres, de l'acide lactique et acétique. Le scellement de l'ensilage par les films de plastique et les bioenrobages 1 et 2 permet l'initiation des processus de fermentation de l'ensilage. Selon le Gouvernement de l'Ontario (www.gov.on.ca), la fermentation de l'ensilage ne dure en fait que de deux à quatre semaines après le scellement. Si le scellement du silo est efficace et étanche à l'oxygène, la conservation du pH acide sera maintenue. Dans nos expériences en laboratoire, le plastique permet une conservation de l'ensilage n'excédant pas 85 jours d'entreposage alors que le bioenrobage 1 permet un pH acide de 38 jours comparativement au bioenrobage 2 où cette conservation est prolongée jusqu'au jour 120. Ces diminutions de pH de l'ensilage sont reliées à la croissance de BAL produisant des quantités d'acides lactiques et acétiques permettant de prévenir la croissance de moisissures et de levures.

L'ensilage recouvert de plastique subit une dégradation après le 85^e jour d'entreposage. Cette détérioration prématurée de l'ensilage sous plastique peut-être liée à l'épaisseur du film de plastique utilisé (4 X 22 microns). Savoie (1988) a observé que les pertes d'ensilage dues à la respiration diminuaient avec l'épaisseur des films de plastique. Ces pertes étaient estimées à 0.65, 0.43 et 0.32% par mois sous des polyéthylènes de 100, 150 et 200 microns respectivement. Savoie (1988) conclut, en tenant compte du coût des pertes et du coût du polyéthylène, qu'un film de 100 microns conviendrait pour une durée d'entreposage entre 0 et 3 mois. Dans toutes nos expériences, 4 couches de plastique de 22 microns ont été utilisées pour faciliter l'application du film sur les contenants utilisés et amener un niveau d'étanchéité acceptable au niveau de la paroi. Des films de 150 microns et plus, sont plus rigides et auraient été plus difficiles à manipuler et à étendre sur des contenant de 12 X 16 cm. Avec 4 couches de plastique de 22 microns, l'ensilage s'est bien conservé durant 85 jours (environ 3 mois) soit la durée d'entreposage maximale recommandée pour l'ensilage en silo meule avec un plastique de 100 microns d'épaisseur alors que le bioenrobage 2 a permis une conservation de l'ensilage de 4 mois.

Le bioenrobage 1 a permis un pH acide de 38 jours comparativement au bioenrobage 2 où cette conservation a été prolongée jusqu'au jour 120. Au niveau des bioenrobages 1 et 2,

plusieurs facteurs peuvent entrer en jeu dans l'initiation de la détérioration de l'ensilage comme l'infiltration permanente de l'oxygène dans la masse ensilée. Tout comme le plastique, les bioenrobages 1 et 2 présentent des populations stables de micro-organismes aérobiques totaux, suggérant une infiltration constante de l'oxygène dans l'ensilage. Une partie de ces populations peut-être constituée de BAL car ces dernières sont des micro-organismes anaérobiques facultatifs (McCullough, 1978). Toutefois, l'augmentation constante des moisissures et des levures permet de mettre en évidence une infiltration d'air dans l'ensilage. Selon Ruxton et McDonald (1973), un ratio d'O₂/masse de fourrage de 0.3 à 0.4 est retrouvé dans un silo rapidement rempli et bien scellé. En augmentant de 15 fois ce ratio, donc plus d'oxygène dans la masse ensilée, ces auteurs ont observé qu'après 10 jours d'entreposage, la population de moisissures et de levures triplait passant de 1 à 3 log. Dans l'ensilage scellé avec le bioenrobage 1 et 2, environ 4 log de moisissures et de levures est retrouvé dans l'ensilage durant les dix premiers jours de conservation, laissant présager une présence d'oxygène plus importante dès le début de l'entreposage de l'ensilage recouvert par les bioenrobages que dans un ensilage bien scellé. Avec un ratio d'O₂/masse de fourrage de 6.59, McDonald (1981) a trouvé un pH de l'ensilage de 5.27, avec un contenu en sucres solubles de 1.25% ms et un niveau de moisissures et de levures de 4.48 log CFU/g d'ensilage après 154 jours d'entreposage de l'ensilage sous plastique. Notre expérience sur l'ensilage recouvert par le bioenrobage 2 et le plastique montre un pH de 9.09 et de 8.89 respectivement au jour 135. De plus, notre essai présente deux fois moins de sucres dans l'ensilage montrant une valeur de 0.51% ms et 3 log de plus en terme de moisissures et de levures pour une valeur de 7.24 log CFU/g d'ensilage dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage et le plastique comparativement à l'essai de McDonald (1981). Cela laisse également présager une plus grande détérioration de l'ensilage due à un ratio d'O₂/masse de fourrage plus grand que 6.59 dans nos essais sur les pots de 6.8 cm de haut.

Le contenu plus élevé en oxygène dans les ensilages recouvert des bioenrobages 1 et 2 n'empêche pas aux populations de bactéries lactiques de produire suffisamment d'acide lactique et acétique pour diminuer le pH de l'ensilage. Un ensilage acide sous un scellement étanche à l'oxygène contient majoritairement plus d'acide lactique. Les résultats sur le bioenrobage 1 et 2 indiquent des niveaux équivalents d'acides lactique et acétique durant la période de fermentation suggérant une fermentation hétérofermentaire (Salawu *et al.*, 2001). Beck (1978) a aussi observé que 85% des souches dominantes des populations de BAL s'avéraient de type hétérofermentaire après 4 jours d'entreposage. De plus, Davis *et al.* (1998)

ont constaté que lorsque le fourrage contient des niveaux plus bas de sucres, la voie hétérofermentaire semblait être préconisée à la voie homofermentaire résultant en une plus grande production d'acide acétique que d'acide lactique. McDonald (1981) a remarqué qu'un silo aéré avec un maximum de 2.51 kg^{-1} fourrage par jour d'air présente un contenu croissant d'acide acétique et un contenu décroissant en acide lactique. Comme vu précédemment, le ratio d' O_2 /masse de fourrage présent dans les ensilages recouverts de bioenrobage 2 semblent plus élevé que 6.59 (McDonald, 1981). La fermentation de type hétérofermentaire serait alors influencée par la présence d'oxygène dans les contenants de 6.8 cm de haut utilisé dans nos expériences. L'augmentation du pH, reliée avec l'augmentation de l'azote ammoniacal, est également liée avec le catabolisme de l'acide lactique. Kearney et Kennedy (1961) montrent que lorsque le contenu en acide lactique diminuait, celui de l'acide butyrique tend à augmenter. Ces observations de Kearney et Kennedy (1961) sont également présentes dans nos expériences. À partir du 50^e jour d'entreposage, la concentration en acide propionique et butyrique commencent à augmenter dans les ensilage enrobés de bioenrobage 2 alors que le contenu en acide acétique et lactique avait déjà commencée à diminuer. La présence d'acide butyrique est en lien avec la présence de *Clostridium* saccharolytiques. Lorsque le pH n'est pas suffisamment acide, ces organismes utilisent l'acide lactique comme source d'énergie. Kearney et Kennedy (1961) ont également remarqué que l'augmentation de l'acide butyrique est souvent accompagné par une augmentation de l'acide propionique et acétiques également observée dans les expériences avec le bioenrobage 1 et 2.

La perte de conservation de l'ensilage scellé par les bioenrobages 1 et 2 semblent être également reliée directement avec la présence continue et croissante des moisissures et des levures. En présence d'oxygène, ces organismes sont les principaux responsables de la détérioration aérobie de l'ensilage. Les levures catabolisent le lactate, l'acétate et les sucres résiduels alors que les moisissures dégradent les protéines de l'ensilage produisant différents composés volatils (CO_2 , NH_3) (Watson et Nash, 1960). L'azote ammoniacal (NH_3) est un bon indicateur de la protéolyse. Un ensilage de bonne qualité ne présente qu'environ 12% (Nilsson *et al.*, 1956) d'azote ammoniacal par rapport à l'azote total. Les jours précédents l'augmentation du pH de l'ensilage recouvert par le bioenrobage 1 et 2, une augmentation du niveau d'azote ammoniacal était observée à plus de 15% selon le jour d'analyse et le bioenrobage en question. L'azote ammoniacal contribue également à l'augmentation du pH de l'ensilage (McDonald *et al.*, 1991). En présence de plastique, une certaine activité protéolytique est remarquée malgré un pH acide retrouvé dans nos essais en laboratoire.

Macpherson (1952) a démontré que la protéolyse dans les petits silos en laboratoire diminuait lorsque le pH est réduit à 5 mais ne cesse qu'à partir d'un pH de 4.30. Dans l'expérience sur le bioenrobage 1, le pourcentage d'azote ammoniacal est relativement stable durant l'entreposage, présentant une valeur finale au jour 80 de 20%. La protéolyse de l'ensilage recouvert par le plastique ne diminue car le pH final au jour 80 est de 4.77. Dans l'expérience sur le bioenrobage 2, l'augmentation du pH à des valeurs plus élevées que 4.30 est observée à partir du jour 100. Cette augmentation est reliée avec l'augmentation du contenu en azote ammoniacal.

La perte des conditions de conservation de l'ensilage recouvert par le bioenrobage pourrait être relié à la quantité de fourrage dans les contenants (environ 400 g de matière humide). Cette quantité pourrait être un facteur limitant dans une conservation des conditions acides et anaérobiques par rapport aux silos horizontaux où des tonnes d'ensilage sont entreposés et conservés. Garcia *et al* (1989) ont utilisé 160 g et 200 g de fourrage à deux températures d'entreposage. Ils ont obtenu un pH maximal de 4.95 à 38°C et de 5 à 65°C après 21 jours d'entreposage en laboratoire.

D'après les différents résultats obtenus, le type de contenant utilisé dans nos expériences pourrait en fait représenter ce qui se passe dans les 7 premiers centimètres d'un silo scellé. Il est raisonnable d'avancer que la stabilité de l'ensilage est plus précaire en surface du silo car l'ensilage à la surface est plus à risque de subir une détérioration aérobie due à la moindre grande densité (Williams, 1994). McGechan (1989) a élaboré un modèle mathématique mimant l'infiltration d'air dans les silos horizontaux durant la période d'entreposage. Ce modèle est basée sur l'échanges des gaz due à la pression différente se développant entre l'intérieur et l'extérieur du silo. Selon McGechan (1989), la différence de pression amène une infiltration plus rapide d'air qu'une diffusion vers l'extérieur du silo. Ce phénomène entraînent une plus grande concentration d'oxygène à la surface des silos. Cette présence plus importante d'oxygène à la surface des silos entraînent un ensilage plus contaminé par les moisissures et les levures en surface de l'ensilage qu'en profondeur. Lindgren *et al.* (1985) ont constaté un contenu en micro-organismes aérobiques considérablement plus élevé en surface du silo (0-5 cm) qu'en profondeur (30 cm). Ces résultats semblent démontrer que la détérioration aérobie est principalement concentrée dans la couche de surface de l'ensilage et qu'une réduction des micro-organismes contaminants indésirables diminuaient avec la profondeur. Dans nos expériences avec des

contenants de 6.8 cm de haut, les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobages présentent des niveaux constants d'aérobies et des niveaux croissants de moisissures et de levures. Cette détérioration aérobique en surface des silos amènent des pertes de matière sèche de l'ordre de 60% dans les 25 premiers centimètres (McLaughlin *et al.*, 1978). Muck et Hunke (1995) ont démontré également qu'en silo horizontaux, le niveau d'oxygène est plus élevé dans les couches de surface (0-12.5 cm) qu'en profondeur (25, 50 et 100 cm). Cette plus grande quantité d'oxygène en surface amenait une plus grande activité des micro-organismes détériorateurs de l'ensilage. En laboratoire, des contenants de 6.8 cm de haut pourraient donc représenter ce qui se déroule sur le terrain dans la couche de surface des silos scellés avec des plastiques. Vu qu'un scellement complètement étanche à l'air est rarement possible, la couche de surface des silos présente toujours un niveau plus détérioré de l'ensilage due à la présence constante d'air. Cette présence constante d'air permet donc une croissance de moisissures et de levures plus facilement que dans les couches plus profondes d'un silo. Sur des contenants de 6.8 cm de haut, il est raisonnable de d'avancer que la stabilité de la conservation de l'ensilage est plus précaire suite à une plus grande concentration d'oxygène en surface tel que mentionne par McGechan (1989). Cette précarité de la stabilité de conservation de l'ensilage est en lien avec le nombre constant d'aérobies et le nombre croissant de moisissures et de levures observé dans les ensilages recouverts de plastique et des bioenrobages 1 et 2. Cette précarité de la conservation de l'ensilage dans nos contenants de 6.8 cm de haut est également en lien avec la plus grande détérioration observée dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage due à un ratio d'O₂/masse de fourrage plus grand que 6.59 (McDonald, 1981) dans nos essais sur les pots de 6.8 cm de haut.

Le bioenrobage 2 a permis de prolonger de 82 jours le temps de conservation de l'ensilage par rapport au bioenrobage 1 passant de 38 à 120 jours de conservation. Le bioenrobage 2 est composé du revêtement présent dans le bioenrobage 1, plus un autre revêtement composé de zéine et d'acide palmitique. Lai *et al.* (1997) ont montré par microscopie électronique la présence de craquelure et de trous dans la structure de film de zéine sans acide gras. Le niveau d'absorption de l'eau est proportionnel à ces espacements dans la structure du film. Par contre, l'addition d'acides gras rend la structure des films plus hydrophobe et compacte, absorbant moins d'eau (Lai *et al.*, 1997). De plus, Park *et al.* (1996) ont démontré que l'acide palmitique comme acide gras diminuait la perméabilité à l'oxygène de films laminés par rapport à l'acide stéarique. En diminuant la perméabilité à l'oxygène des couches de revêtements, la conservation de l'ensilage est ainsi prolongée. L'hydrophobicité du

bioenrobage 2 est plus importante que celle du bioenrobage 1, expliquant l'augmentation du temps de conservation de 38 à 120 jours entre le bioenrobage 1 et 2. De plus, Lai *et al.* (1997) ont remarqué que les films contenant de l'acide palmitique possédaient une plus grande résistance à l'eau que ceux avec de l'acide stéarique due à une distribution plus uniforme des acides gras. L'acide stéarique possède un point d'ébullition plus élevé entraînant une solidification plus rapide durant la formation des films. Lai *et al.* (1997) suggèrent que la cinétique d'adsorption de l'eau est influencée également par la microstructure des films de zéine. Les structures observées par microscopie électronique montrent que les protéines sont contenues entre des couches de lipides réduisant l'exposition des protéines à l'eau. Une propriété du bioenrobage 2 qui s'avéra intéressante pour les essais extérieurs.

5.4. Essais extérieurs

Ces essais ont été réalisés dans le but de voir si la masse de fourrage ensilé aurait un effet sur la prolongation de l'efficacité de conservation du bioenrobage, de voir physiquement le comportement du bioenrobage face aux intempéries et de mettre au point une méthode d'évaluation des bioenrobages à l'extérieur.

5.4.1. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 1

Tel que vu dans la section 4.4, tous les traitements protégés ou non des précipitations, permettent d'atteindre une valeur de pH se situant entre 4.23 et 4.38, à une profondeur de 20-38 cm dans les chaudières et ce, après un mois d'entreposage. Le plastique présente des valeurs de pH relativement stables dans les trois couches d'ensilage à la fois dans les chaudières exposées ou non exposées aux précipitations après un mois d'entreposage. Le pH de l'ensilage dans les trois couches de surface d'ensilage scellé par le bioenrobage ne montre pas de différence ($p > 0.05$) lorsque les chaudières sont placées à l'extérieur que lorsqu'elles sont protégées des averses.

Aucune différence significative ($p > 0.05$) n'est observée entre le taux de matière sèche présent dans l'ensilage entre les trois traitements et ce, à une profondeur de plus de 20 cm dans la chaudière. Indépendamment d'une exposition des chaudières à la pluie ou non, le contenu en matière sèche trouvé à une profondeur de plus de 20 cm se situe entre 39.33% et

45.20%. Un recouvrement de l'ensilage par un film de plastique permet de conserver la stabilité du contenu en matière sèche dans les trois couches des chaudières exposées et protégées des précipitations. Dans les 10 premiers centimètres de profondeur, le pourcentage en matière sèche de l'ensilage tend à être plus élevé pour l'ensilage non enrobé et enrobé du bioenrobage lorsque l'ensilage est protégé des précipitations. Lorsque l'ensilage non enrobé est protégé des averses, un contenu de matière sèche de l'ordre de 50.33% est trouvé à une profondeur de 0-10 cm et de 30.80% à 10-20 cm. Lorsque le même ensilage est exposé aux averses, le contenu de matière sèche diminue à 42.27% à une profondeur de 0-10 cm et à 22.60% à une profondeur de 10-20 cm. Cet essai démontre qu'après un mois d'entreposage, le plastique s'avère le traitement le plus efficace dans la prévention de la croissance des moisissures dans l'ensilage au niveau des trois couches. Le bioenrobage permet de diminuer le développement de moisissures dans la couche de 10-20 cm par rapport aux ensilages non enrobés. Le contenu en moisissures dans l'ensilage tend à diminuer avec la profondeur. À une profondeur de plus de 10 cm, l'ensilage enrobé ne montre pas de différence significative ($p > 0.05$) dans le nombre de moisissures lorsque les ensilages sont exposés ou non aux précipitations.

L'ensilage non recouvert présentait une teneur en matière sèche plus élevée que l'ensilage sous plastique dans la couche 0-10 cm suite au dessèchement prononcé des premiers centimètres. Une plus grande détérioration de l'ensilage non recouvert dans la couche de 10-20 cm amène une teneur plus faible en matière sèche. La dégradation de l'ensilage non recouvert amène également un pH beaucoup plus élevé, une présence accrue de moisissures et une perte de matière sèche beaucoup plus marquée dans la couche de surface (0-10 cm) et dans la couche de milieu (10-20 cm) comparativement aux ensilages protégés par le plastique et le bioenrobage. L'ensilage recouvert avec le bioenrobage présentait une teneur en matière sèche plus faible que le témoin dans la couche de 0-10 cm suite à un dessèchement moindre, mais plus élevée dans la couche de 10-20 cm suite à une dégradation moindre. Cela nous indique que l'air ambiant pouvait s'infiltrer dans l'ensilage enrobé de bioenrobage et assécher l'ensilage en surface mais l'air ne pouvait pas pénétrer suffisamment les couches les plus profondes pour permettre une dégradation de l'ensilage par les moisissures. Le bioenrobage permettait donc une stabilité d'un pH acide, de la présence de moisissures ainsi qu'une stabilité de la perte de matière sèche dans la couche de 10-20 cm. Le bioenrobage avait amélioré légèrement la qualité de conservation par rapport au témoin alors que dans l'étude de Brusewitz *et al.* (1991b) sur le biofilm commercial Nutri-Shield (NSII) destiné à la

conservation de l'ensilage, aucune différence dans les paramètres de qualité étudiés n'était décelé entre le biofilm et l'ensilage non enrobé.

L'ensilage compris dans la couche 0-10 cm de profondeur contenait beaucoup de moisissures avec un pH élevé et une perte de matière sèche aussi importante qu'au niveau de l'ensilage non enrobé. La présence de moisissures a été observée jusqu'à 20 cm de profondeur dans l'ensilage non recouvert alors que les moisissures n'étaient pratiquement pas présentes dans les ensilages recouverts du plastique. Dans l'ensilage recouvert du bioenrobage, les moisissures s'étaient développées un peu moins dans la couche de 10-20 cm due à l'exclusion de l'oxygène par rapport à l'ensilage non enrobé. Cette étude va dans le même sens que Brusewitz *et al.* (1991b), qui n'ont pas observé de différence significative ($p > 0.05$) du contenu en moisissure entre le biofilm commercial Nutri-Shield (NSII) et le témoin non recouvert dans les 11 premiers centimètres après deux mois d'entreposage. L'exposition aux précipitations a aussi influencée la qualité de l'ensilage. Globalement, l'ensilage exposé aux précipitations présente un pH plus acide. Cet ensilage était mieux protégé contre les moisissures dans la couche 0-10 cm que celui qui est protégé contre les pluies. Ces résultats résultent en une diminution de la perte de matière sèche dans l'ensilage non recouvert et celui recouvert du bioenrobage. L'exposition aux précipitations donne aussi un ensilage avec un pH plus élevé chez le témoin non recouvert dans la couche 10-20 cm. À l'inverse, l'ensilage recouvert avec le film de plastique et le bioenrobage avait un pH plus acide. Les différences observées semblent la conséquence d'une activité accrue des bactéries responsables de la fermentation lorsque la teneur en matière sèche de l'ensilage diminue. Garcia *et al.* (1989) ont démontré qu'un ensilage avec un contenu bas en matière sèche contient plus de lactate et d'acétate qu'un ensilage ayant un contenu élevé en matière sèche. Les acides lactique et acétique sont responsables de la diminution du pH dans la conservation de l'ensilage.

De même, l'effet variable des précipitations sur la qualité de l'ensilage en fonction du recouvrement protecteur semble être la conséquence de la teneur en matière sèche de l'ensilage. En effet, cette dernière est moins élevée dans les ensilages exposés aux précipitations sauf dans celui protégé par le plastique et ce, dans les couche de 0-10 cm et de 10-20 cm. Par contre, seul l'ensilage non recouvert et exposé aux précipitations présente une teneur en matière sèche moins élevée dans la couche de 20-38 cm. Cette étude a permis d'observer que le bioenrobage n'empêchait pas l'infiltration des précipitations dans l'ensilage mais la réduisait. Après quatre semaines de conservation, les précipitations ont moins diminué

la teneur en matière sèche de l'ensilage par rapport à l'ensilage non enrobé indiquant une pénétration moins en profondeur des précipitations. Hunhke *et al.* (1992) n'avaient pas remarqué de différence significative ($p > 0.05$) dans l'humidité de l'ensilage après 5 mois entre le Nutri-Shield et l'ensilage non protégé de la pluie indépendamment du niveau de précipitations et de la profondeur dans l'ensilage.

5.4.2. Essai semi-pilote avec le bioenrobage 2

L'essai figurant dans la section 4.7. avait démontré que le recouvrement des ensilages par le bioenrobage permettait de conserver le pH acide et stable dans les trois couches comme le plastique et ce, après 8 semaines à l'abri de la pluie. Dans la couche de 0 à 10 cm, des valeurs de pH de 3.67 et 3.74 ont respectivement été observées dans les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage après 8 semaines d'entreposage à l'abri de la pluie. Lorsque les chaudières sont exposées à la pluie, le pH reste acide dans les couches de 10-20 cm et de 20-32 cm où des valeurs respectives de 4.40 et de 4.05 sont trouvées.

Après 8 semaine d'entreposage à l'abri de la pluie, l'ensilage enrobé de bioenrobage présente des pertes de matières sèche comparables ($p > 0.05$) au plastique dans les couches de 10-20 cm et de 20-32 cm. Dans la couche de surface de 0-10 cm, le bioenrobage montre moins de perte de matière sèche que le plastique. Des valeurs respectives de 2.59% et de 8.08% sont trouvées dans la couche de 0-10 cm dans les ensilages recouverts de bioenrobages et de plastique après 8 semaines d'entreposage à l'abri de la pluie. Après 8 semaines sous la pluie, l'ensilage recouvert par le bioenrobage présente des pertes plus importantes en matière sèche et ce dans les trois couches. Dans la couche de surface de 0-10 cm, 5.60% et 6.39% de pertes de matière sèche sont trouvées respectivement dans l'ensilage recouvert par le plastique et par le bioenrobage.

Le bioenrobage 2 s'avère aussi efficace que le plastique dans le maintien d'un pH acide lorsque le bioenrobage est protégé de la pluie. De plus le bioenrobage s'avère meilleur dans la préservation du contenu en matière sèche que le plastique lorsqu'il est protégé des averses. La pluie affecte l'intégrité du bioenrobage après 2 mois d'entreposage à l'extérieur dans la couche de surface seulement (0-10 cm). La couche la plus profonde (20-38 cm) montre un pH d'environ 4 pour le plastique, le bioenrobage et le témoin non recouvert et ces

résultats sont comparables à l'expérience faite sur le Nutri-Shield (Brusewitz *et al.*, 1991b). Le Nutri-Shield est un biofilm disponible commercialement sous deux formulations: NSI (caséine) et NSII (soya). Brusewitz *et al.* (1991b), en considérant un ensilage de bonne qualité à un pH de 4.5, ont montré que le Nutri-Shield n'atteignaient pas cette valeur de pH dans les 18.1 premier centimètres de la surface par rapport au plastique et à l'ensilage non enrobé où des valeurs respectives de 9.5 et 19.5 cm étaient trouvées après deux mois d'entreposage. Le bioenrobage 2 exposé aux averses permet d'obtenir une valeur de pH de 4.4 à 10 cm de la surface après deux mois d'entreposage.

Huhnke *et al.* (1992) n'ont pas observé de différence dans la perte de matière sèche des balles d'ensilage entre les deux formulations disponibles de Nutri-Shield (NSI et NSII) et le contrôle exposé à l'air et aux précipitations après cinq mois d'entreposage. Ceux-ci avaient toutefois des pertes de matière sèche significativement plus élevées ($p \leq 0.05$) que le plastique. Le bioenrobage 2 exposé à la pluie présentent significativement moins de perte de matière sèche ($p \leq 0.05$) que l'ensilage non enrobé après deux mois dans la couche de surface (0-10 cm). Des valeurs respectives de 22.48% et de 57.28% sont trouvées dans les ensilages enrobés de bioenrobage et dans les ensilages non enrobés alors que le plastique présente 6.59% de pertes de matière sèche. Dans les couches plus profondes (10-20 cm et 20-38 cm), la perte de matière sèche au niveau du bioenrobage est quelque peu plus élevée que le plastique.

5.4.3. Bioenrobage 2: Essais extérieurs avec les modèles utilisés en laboratoire VS essai semi-pilote avec des mini-silos.

Cette section présentera en première partie l'effet des précipitations sur le bioenrobage 2 ainsi que sur la qualité de l'ensilage préservé par le bioenrobage et en second partie, cette section discutera des modèles utilisés en laboratoire et en essai semi-pilote.

Les résultats présentés dans la section 4.6. démontrent que les ensilages enrobés par le bioenrobage 2 avaient une qualité nettement améliorée par rapport aux ensilages non enrobés, qu'ils soient exposés ou non aux précipitations. Tel que présenté dans la sections 4.6., cet essai a permis de démontrer que le bioenrobage exposé à la pluie permet la stabilité du pH jusqu'au 42^e jours d'entreposage à une valeur de 4.98 comparativement au bioenrobage

protégé de la pluie où un pH de 4.35 est observé au 70^e jour. À l'abri de la pluie, le pH de l'ensilage recouvert par le plastique présente une augmentation à partir du jour 42 pour atteindre une valeur de pH de 8.34 au jour 70 alors que le bioenrobage à l'abri de la pluie permet de garder le pH à 4.35 au 70^e jour. Exposé à la pluie, le bioenrobage permet de conserver le pH stable de l'ensilage pendant 42 jours alors que le plastique présente des valeurs relativement stables durant tout l'entreposage. Des valeurs finales de pH de 5.52 et 8.97 sont trouvées dans les ensilages recouverts respectivement de plastique et de bioenrobage au jour 70.

L'ensilage enrobé du bioenrobage et protégé de la pluie présente un contenu plus important de matière sèche que celui qui est exposé aux pluies et ce, à partir du jour 35. Le contenu en matière sèche augmente de 34.14 à 42.17% entre le 35^e et 70^e jour d'entreposage dans l'ensilage enrobé du bioenrobage et protégé de la pluie. Ce contenu en matière sèche diminue dans l'ensilage enrobé du bioenrobage sous la pluie entre le jour 35 et 70 passant de 35.72% à 29.19%. À l'abri de la pluie, le plastique recouvrant l'ensilage permet de conserver une valeur stable du pourcentage de matière sèche durant 70 jours alors que le bioenrobage montre une augmentation du contenu en matière sèche et ce, dès le jour 35. Les valeurs sont respectivement de 34.78% et 42.17% de matière sèche au jour 70 pour le plastique et le bioenrobage. Exposé à la pluie, l'ensilage recouvert de plastique montre un contenu plus stable en matière sèche que le bioenrobage durant l'entreposage pour atteindre respectivement des valeurs finales de 34.55% et 29.19% au jour 70

Le bioenrobage protégé de la pluie montre un contenu final plus important de sucres solubles dans l'ensilage que celui exposé à la pluie avec contenu respectif de 1.34% ms et de 0.56% ms au jour 70. L'exposition du bioenrobage à la pluie entraîne un niveau plus élevé d'azote ammoniacal dans l'ensilage que lorsque l'ensilage enrobé et à l'abri de la pluie. Protégé de la pluie, le niveau de sucres solubles dans l'eau est plus important dans l'ensilage recouvert de plastique durant l'entreposage que le recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage. Toutefois, au terme de l'expérience au jour 70, un contenu plus élevé en sucres est observé dans l'ensilage enrobé de bioenrobage par rapport au plastique avec des valeurs respectives de 1.34% ms et 1.16% ms. Exposé à la pluie, le niveau de sucres solubles dans l'eau est plus important dans l'ensilage recouvert de plastique durant l'entreposage que le recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage. Au jour 70, des contenus de sucres de 1.52% ms et de 0.56% ms sont trouvés dans l'ensilage recouvert de plastique et de bioenrobage.

Au jour 70, le contenu final en azote ammoniacal atteint 31.69% et 20.78% N tot dans l'ensilage enrobé du bioenrobage et exposé à la pluie par rapport à celui protégé de la pluie. À l'abri de la pluie, l'ensilage enrobé du bioenrobage montre un contenu en azote ammoniacal moins important que l'ensilage scellé avec le plastique où des valeurs respectives de 20.78% N tot et 29.03% N tot sont observées au jour 70. Exposé à la pluie, l'ensilage enrobé du bioenrobage montre un contenu en azote ammoniacal plus important que l'ensilage scellé avec le plastique où des valeurs respectives de 31.69% N tot et 19.92% N tot sont observées au jour 70.

L'exposition du bioenrobage aux averses amène une diminution plus importante du contenu en acide lactique et acétique dans l'ensilage que s'il en est protégé. Entre le jour 14 et 70, la concentration en acide lactique passe de 4.29% ms à 2.09% ms dans l'ensilage enrobé avec le bioenrobage et protégé de la pluie. Lorsque exposé à la pluie, l'ensilage enrobé du bioenrobage présente une diminution de lactate de 3.04% à 1.00% ms entre le jour 14 et 70 d'entreposage. Le contenu en acide acétique entre le jour 14 et 70 passe respectivement de 3.53% ms à 3.24% ms et de 2.68% ms à 1.92% ms dans les ensilages enrobés avec le bioenrobage protégé de la pluie et exposé à la pluie. À l'abri de la pluie, les concentrations finales en acide lactique et acétique sont plus élevées dans l'ensilage enrobé de bioenrobage que les ensilages recouverts de plastique. Des valeurs de 2.09% ms d'acide lactique et de 3.24% ms d'acide acétique sont trouvées dans l'ensilage enrobé de bioenrobage au jour 70. Au niveau des ensilages recouverts par le plastique, 1.03% ms d'acide lactique et 2.89% ms d'acide acétique sont observés au jour 70. Exposé à la pluie, les concentrations finales en acide lactique et acétique sont moins élevées dans l'ensilage enrobé de bioenrobage que les ensilages recouverts de plastique. Des valeurs de 1.00% ms d'acide lactique et de 1.92% ms d'acide acétique sont trouvées dans l'ensilage enrobé de bioenrobage au jour 70. Au niveau des ensilages recouverts par le plastique, 2.21% ms d'acide lactique et 2.87% ms d'acide acétique sont observés au jour 70.

L'exposition du bioenrobage à la pluie entraîne une quantité plus importante d'acide propionique et butyrique dans l'ensilage que s'il est protégé de la pluie. À titre d'exemple, des concentrations en acide propionique de 1.21% ms et 0.58% ms sont trouvées respectivement au jour 42 dans les ensilages recouverts de bioenrobage exposés à la pluie et protégés de la pluie. Durant cette même période au jour 42, les ensilage enrobés des bioenrobages exposés à

la pluie présentent un contenu en acide butyrique de 0.89% ms alors que ceux protégés de la pluie montrent un contenu de 0.03% ms. À l'abri de la pluie, moins d'acide propionique et butyrique sont observés dans les ensilages enrobés de bioenrobages par rapport à ceux scellés par le plastique. Des concentrations d'acide propionique de 1.13% ms et de 0.70% ms sont trouvées respectivement dans les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage au jour 70. Les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage présentent respectivement des contenus de 1.31% ms et de 0.12% ms au jour 70. Exposé à la pluie, moins d'acide propionique et butyrique sont observés dans les ensilages enrobés de bioenrobages par rapport à ceux scellés par le plastique. Des concentrations d'acide propionique de 2.27% ms et de 2.69% ms sont trouvées respectivement dans les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage au jour 70. Les ensilages recouverts de plastique et de bioenrobage présentent respectivement des contenus de 1.09% ms et de 2.09% ms au jour 70.

Cet essai a permis de constater qu'une exposition du bioenrobage à la pluie entraîne une plus grande augmentation de micro-organismes aérobiques totaux dans l'ensilage que s'il en était protégé. Au jour 70, 5.76 log UFC d'aérobés totaux/g d'ensilage est trouvé dans l'ensilage recouvert du bioenrobage protégé de la pluie alors que celui exposé à la pluie montre un contenu de 8.80 log UFC/g. d'ensilage. L'exposition du bioenrobage à la pluie permet une croissance plus importante de micro-organismes anaérobiques dans l'ensilage par rapport au bioenrobage protégé de la pluie. Au jour 70, 6.32 log UFC d'anaérobés totaux/g d'ensilage est trouvé dans l'ensilage recouvert du bioenrobage protégé de la pluie alors que celui exposé à la pluie montre un contenu de 6.68 log UFC/g. d'ensilage. Sous la pluie, l'ensilage enrobé présente des contenus de BAL plus bas que celui protégé de la pluie. Au jour 70, 6.25 log UFC de BAL/g d'ensilage est trouvé dans l'ensilage recouvert du bioenrobage protégé de la pluie alors que celui exposé à la pluie montre un contenu de 5.58 log UFC/g d'ensilage. Toutefois à partir du jour 42, la population de moisissures et de levures est plus élevée lorsque les bioenrobages sont sous la pluie par rapport aux bioenrobages protégés de la pluie. Les valeurs sont respectivement de 5.23 et 4.35 log UFC/g d'ensilage au jour 42. Au jour 70, 5.98 log UFC /g d'ensilage de moisissures et de levures est trouvé dans l'ensilage recouvert du bioenrobage protégé de la pluie alors que celui exposé à la pluie montre un contenu de 7.73 log UFC/g d'ensilage. Le bioenrobage permet de diminuer le nombre de coliformes dans l'ensilage qu'il soit à l'abri ou sous la pluie durant 35 jours. Au jour 70, 4.12 log UFC de coliformes/g d'ensilage est trouvé dans l'ensilage recouvert du bioenrobage

protégé de la pluie alors que celui exposé à la pluie montre un contenu de 4.35 log UFC/g d'ensilage.

Les mini-silos ont une hauteur de 38 cm comprenant 12.8 kg de fourrage alors que les modèles en laboratoire ont une hauteur de 6.8 cm comprenant 0.4 kg de fourrage. Les résultats indiquent que les contenants de 6.8 cm de haut utilisés en laboratoire et dans un essai à l'extérieur reflètent ce qui se passe dans la couche de surface (0-10 cm) pour les mini-silos en essai semi-pilote comme l'indique les résultats suivants. Après 8 semaines (56 jours), les valeurs de pH sont comparables entre la couche de surface (0-10cm) dans l'essai semi-pilote par rapport à la valeur de pH obtenue durant l'essai extérieur avec les modèles utilisés en laboratoire de 6.8 cm de haut. Le bioenrobage 2 protégé de la pluie permet un pH de 4.21 dans la couche de surface (0-10 cm) après 8 semaines d'entreposage dans l'essai semi-pilote. En comparaison avec cette valeur de pH de l'essai semi-pilote avec les chaudières de 38 cm de haut, un pH de 4.38 est observé dans l'essai extérieur sur les pots de 6.8 cm de haut après 8 semaines d'entreposage également. Pour les bioenrobages 2 exposés aux averses, les résultats obtenus dans l'essai semi-pilote avec les chaudières de 38 cm de haut et l'essai extérieur sur les pots de 6.8 cm de haut sont également comparables entre eux avec un pH respectif de 6.22 et de 6.10 dans la couche de surface (0-10 cm). Dans des silos contenant de plus grande quantité d'ensilages, les couches les plus profondes ne sont pas affectées par l'infiltration d'oxygène. L'effet néfaste de l'air sur la conservation de l'ensilage se limite à la surface immédiatement en contact avec le point d'infiltration de l'oxygène (Ruxton et McDonald, 1973). Les contenants de 6.7 cm de haut reflètent donc ce qui se passe dans les premiers centimètres d'un silo et sont en conséquence plus susceptibles à la dégradation si le plastique ou le bioenrobage qui les recouvrent sont abîmés ou mal scellés. Le bioenrobage 2, dans l'essai semi-pilote avec les chaudières de 38 cm de haut et dans l'essai extérieur sur les pots de 6.8 cm de haut, commence à être désagrégé par la pluie après un mois laissant l'air pénétrer dans l'ensilage. Le processus de dégradation de l'ensilage occurrent dès que l'ensilage est en contact avec l'air caractérisée par une diminution du pH, de l'acide lactique et acétique, l'augmentation de l'azote ammoniacal, de l'acide butyrique et de l'acide propionique.

Comme vu précédemment dans les essais en laboratoire, l'épaisseur du plastique utilisé pour sceller l'ensilage joue un rôle dans la durée de conservation de cet ensilage. Le plastique utilisé dans les essais extérieurs avec les modèles de 6.8 cm de haut était de 22 microns d'épaisseur comme ceux utilisés en laboratoire. Ces plastiques laissent passer plus d'oxygène

que les films de plastiques de 150 microns utilisés dans les essais semi-pilotes ayant pour conséquence un pH moyen plus élevé de 5.6 pour les plastiques exposés ou non à la pluie par rapport à ceux en essai semi-pilote (pH de 4.28).

6. CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons développé différentes formulations d'enrobage à partir de différents biopolymères. La formulation du bioenrobage 2 démontre un certain potentiel dans la conservation de l'ensilage et s'adapte bien à une application sur de l'ensilage.

L'optimisation d'une formulation déjà disponible dans nos laboratoires a permis la conception de l'enrobage. Sept composés plastifiants, cinq agents lipidiques et quatre agents épaississants avaient été évalués sur cette formulation de base pour leur efficacité à maintenir un pH acide et sur la conservation de la matière sèche de l'ensilage. Ces essais avaient montrés que les ensilages scellés avec les enrobages contenant 32% de glycérol comme agent plastifiant permettait d'empêcher la formation de fissurations dans les premiers instants de la fermentation de l'ensilage. Cette formulation permettaient de stabiliser le pH pendant 17 jours à une valeur de 4.56 au jour 17. Les ensilages recouverts par l'enrobage contenant 32% de glycérol permettait de stabiliser le contenu en matière sèche durant 24 jours. Des ensilages scellés avec les enrobages contenant de la graisse de bœuf comme agent lipidique permettaient de stabiliser le pH pendant 24 jours. La formulation d'enrobage contenant la graisse de bœuf présentait une valeur significativement plus basse ($p \leq 0.05$) que les autres formulations d'enrobages de pH avec 4.61 au jour 31. Cet enrobage permettait de stabiliser le contenu en matière sèche durant 31 jours à une valeur de 34.53% de matière sèche au jour 31. Les ensilages scellés avec les enrobages contenant la poudre d'ensilage grossière comme agent épaississant permettaient de stabiliser le pH pendant 17 jours. Cet enrobage présentait une valeur significativement plus basse ($p \leq 0.05$) que les autres formulations d'enrobage de pH avec 4.85 au jour 17. Cet enrobage permettait une certaine stabilité du contenu en matière sèche durant 31 jours. Cet enrobage contenant la poudre d'ensilage présentait la valeur la plus stable avec 34.92% de matière sèche au terme de l'expérience au jour 31.

Les bioenrobages sont souvent développés pour être utilisés sous des conditions contrôlées visant surtout l'industrie alimentaire. Les bioenrobages destinées au domaine agricole doivent faire face à des agents physiques et de dégradations différents de ceux retrouvés dans l'emballage des produits alimentaires. La plupart des bioenrobages comestibles sont de nature hydrophile, limitant leur capacité à accomplir les fonctions désirées. Nous avons donc dirigé nos recherches vers le développement de formulations de revêtement hydrophobes qui serait appliquées sur l'enrobage. Ces essais avaient démontré que les ensilages enrobés et recouverts d'un revêtement permettaient de stabiliser le pH pendant 28 jours. L'ensilage enrobé et recouvert d'un revêtement présente un pH acide avec 4.47 au jour

28. Les enrobages avec un revêtement permettaient un maintien du contenu en matière sèche durant 28 jours. L'ensilage enrobé et recouvert d'un revêtement présente une valeur stable avec 34.43% de matière sèche au terme de l'expérience au jour 28.

En condition contrôlée, l'utilisation de bioenrobage 2 par rapport au bioenrobage 1 a permis d'augmenter la durée de conservation de l'ensilage de 45 à 120 jours soit une prolongation de 2.66 fois le temps de conservation. Cet essai a démontré que les ensilages enrobés par le bioenrobage 2 avaient nettement amélioré la qualité de l'ensilage par rapport aux ensilage non enrobés. Le scellement de l'ensilage par le bioenrobage 2 permettait de stabiliser le pH à 4.79 après 120 jours d'entreposage. Une valeur de pH qui est comparable à celle retrouvée dans l'ensilage scellé par les films de plastique. L'application du bioenrobage 2 sur l'ensilage permettait également de stabiliser le contenu en matière sèche à une valeur de 39.23% après 120 jours. Un recouvrement de l'ensilage par le bioenrobage 2 présentait une valeur en sucres solubles dans l'eau comparable au plastique durant 70. Au terme de la période d'entreposage de 135 jours, une plus faible valeur en azote ammoniacal était observée dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage 2 comparativement à l'ensilage scellé par le plastique. Un ensilage enrobé montrait un niveau de production d'acide lactique supérieur à la fin de la période d'entreposage de 135 jours de fermentation que l'ensilage protégé par le plastique. Le bioenrobage 2 permettait de retarder la production d'acide butyrique jusqu'au 70^e jour d'entreposage comparativement à la détection de cet acide au 3^e et au 42^e jour d'entreposage respectivement pour l'ensilage non enrobé et à l'ensilage scellé avec le plastique. Cet essai avait aussi montré que les ensilages enrobés permettaient de maintenir une population d'aérobies inférieure au plastique pendant l'entreposage. De plus, l'enrobage permettait de conserver un contenu stable en micro-organismes anaérobiques durant l'essai. L'ensilage enrobé présentait une croissance en BAL comparable au plastique. Seul le bioenrobage avait permis une diminution du nombre initial de moisissures et de levures se développant dans l'ensilage. De plus, l'enrobage s'était avéré plus efficace que le plastique pour le contrôle du développement des coliformes retardant jusqu'au jour 70 le développement de coliformes.

Les essais semi-pilotes nous avaient révélé que le bioenrobage 2 permettait de maintenir un pH acide tout comme le plastique durant huit semaines lorsqu'il était protégé de la pluie et durant quatre semaines sous la pluie dans les couches plus profondes de 10-20 cm et de 20-32 cm. Dans les couches les plus profondes après 8 semaines d'entreposage, les

pertes de matière sèche étaient équivalentes dans l'ensilage recouvert par le bioenrobage 2 et par le plastique à l'abri et exposés aux averses. Toutefois dans la couche de surface de 0-10 cm, l'ensilage recouvert par le bioenrobage 2 présentait moins de perte de matière sèche que l'ensilage scellé par le plastique lorsque les chaudières étaient protégées de la pluie.

Le bioenrobage a été conçu dans la perspective de simplifier les manipulations au niveau de la conservation de l'ensilage en silos horizontaux et de permettre l'élimination des plastiques pour ce domaine précis. Il a été également conçu pour qu'au moment de la prise de l'ensilage dans le silo horizontal, le bioenrobage soit coupé par le tracteur et mélangé avec l'ensilage avant la distribution. À l'heure actuelle, il manque des informations sur les effets de la consommation de bioenrobages par les ruminants, en particulier chez les bovins. Il est certain que la contrainte majeure dans l'utilisation et la commercialisation future de bioenrobage est le coût de production qui s'avère plus élevé que le plastique. Mais le coût de production peut se justifier en considérant l'augmentation de la teneur énergétique du fourrage entreposé et l'importance de l'entreposage lui-même. La diminution des pertes durant la conservation doit entrer en ligne de compte pour déterminer le rapport avantages/coût du système. Mais il faut également compter les coûts pour la disposition des plastiques conventionnelles, ce que nous n'avons pas au niveau des plastiques biodégradables. Nous avons évalué le coût de revient de notre bioenrobage avec les quantités et les matériaux utilisés dans toutes les expériences effectuées. Nous avons ciblé les matériaux les plus dispendieux et nous croyons qu'il est possible de remplacer certains de ces matériaux par des rejets alimentaires et ce, sans trop modifier les propriétés initiales du bioenrobages. Une demande en bioenrobage est réaliste si nous pouvions offrir un produit démontrant les mêmes performances de conservation que le plastique et à des coûts abordables. Nous croyons qu'il est possible d'arriver à un tel produit. Les bioenrobages sont des outils potentiels que l'agriculture peut développer afin d'atteindre des objectifs de développement durable. Les enrobages biodégradables sont respectueux de notre environnement. Les résultats que nous avons présentés dans ce mémoire démontrent clairement qu'ils ont un potentiel certain et qu'il est possible de concevoir un bioenrobage qui offre une qualité de conservation équivalente à celle qu'offre le plastique non biodégradable actuellement.

7. REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier tout d'abord ma directrice Dre Monique Lacroix, pour son aide technique dans l'accomplissement de ce projet ainsi que son aide financière.

Je remercie également les quatre stagiaires qui ont permis au projet de faire de grands pas. Également, les gens de l'IRDA qui nous ont fournis le fourrage et qui nous ont permis d'effectuer les expériences semis pilotes.

J'aimerais finalement remercier toute l'équipe du Dre Lacroix, pour leur support tant technique, que moral.

8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALLEN, L.A., J. Harrison, S. J. Watson et W.S. Ferguson. 1937. A Study of the Chemical and Bacteriological Changes Occuring in Grass Silage. *J. Agric. Sci.* **27** : 271-291.

AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists, méthode 986.13. 15th edition, vol 2

AUGUSTINE, M.E. et I.C. Baianu. 1987. Basic Studies of Corn Proteins for Improved Solubility and Future Utilization: A Physicochemical Approach. *J. Food Sci.* **52** (3): 649-652.

AVENA-BUSTILLOS, R.J. et J.M. Krochta. 1993. Water Vapor Permeability of Caseinate Based Edible Films as Affected by pH, Calcium Crosslinking and Lipid Content. *J. of Food Sci.* **58** (4) : 904-907.

AYDT T.P. C.L. Weller et R.F. Testin. 1991. Methanical and Barrier Properties of Edible Corn and Wheat Protein Films. *Trans ASAE* **34** : 207-211.

BECK, T. 1978. The Microbiology of Silage Fermentation. In *Fermentation of Silage-A Review* ed. McCullough. Iowa : National Feed Ingredient Association. M.E. p. 61-115.

BOILLON, N. et N. Rioux. 1996. Utilisation de la Luzerne par la Vache Laitière Haute Productrice. *Cahiers Agriculture*, **5** (3) : 137-148.

BRAULT, D., G. D'Aprano et M. Lacroix. 1997. Formation of a Free Standing Sterilized Edible Films from Irradiated Caseinates. *J. Agric. Food Chem.* **45** : 2964-2969.

BRITT, D.G., J.T. Huber et A.L. Rogers. 1975. Fungal Growth and Acid Production During Fermentation of Organic Acid Treated Corn Silages. *J. of Dairy Sci* **58** (4) : 532-539.

BRUNNER, J.R. 1977. Milk Proteins in Food Proteins. Whitaker, J.R. et S.R. Tannenbaum (ed.), Avi Publishing Co. Westport, CT. 175p.

BRUSEWITZ, G.H., R.L. Huhnke et E.M. Barnes. 1991a. Bunker-Stored Silage Covered with Nutri-Shield. American Society of Agricultural engineers, ASAE meeting presentation, paper no. 911584.

BRUSEWITZ, G.H., R.L. Huhnke et E.M. Barnes. 1991b. Performance of Nutri-Shield in Protecting Bunker-Sotred Silage. *Applied Engineering in Agriculture*, 7 (5) : 515.

BUSHUK, W. 1997. Centre National de Recherches du Canada CNRC-NRC, Institut de Biotechnologie des plantes. Le Gluten du Blé-c'est plus que du pain! *Bulletin IBP*, septembre : 1-3.

CANER, C., P.J. Vergano et J.L. Wiles. 1998. Chitosan Film Mechanical and Permeation Properties as Affected by Acid, Plasticizer, and Storage.

CHEN, H. 1995. Fonctionnal Properties and Applications of Edible Films Made of Milk Proteins. *J. Dairy Sci.* 78 : 2563-2583.

CHERIAN, G., A. Gennadios, C. Weller et P. Chinachoti. 1995. Thermomechanical Behavior of Wheat Gluten Films : Effect of Sucrose, Glycerin and Sorbitol. *Cereal Chem.* 72(1):1-6.

CHUI, W.K. et L.S.C. Wan. 1997. Prolonged Retention of Cross-linked Trypsin in Calcium Alginate Microspheres. *J. Microencapsulation* 14 (1): 51-61.

CONCA, K.R. et T. Yang. 1993. Edible Food Barrier Coatings. *Biodegradable Olymers and Packaging*. Ching, C., D. Koylan et E. Thomas (ed.). Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster. P.357-369.

CONSEIL des Productions Annuelles du Québec. 1981. Guide sur l'Échantillonnage et l'Analyse des Aliments du Bétail. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec.

CPVQ. 1998. Conseil des Productions Végétales du Québec. Colloque sur les Plantes Fourragères. *L'Ensilage: du Champ à l'Animal*.

CUQ, B., N. Gontard, J.-L. Cuq et S. Guilbert. 1997. Selected Functional Properties of Fish Myofibrillar Protein-Based Films as Affected by Hydrophilic Plasticizers. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 622-626.

DAVIES, J.A. 1987. Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals. I. Genral Aspects. J. Biol. Chem. **262** : 9895-9901.

DAVIES, J.A., M.E. Delsignore et S.W. Lin. 1987. Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals. II. Modification of Amino Avids. J. Biol Chem. **262** : 9902-9907.

DAVIES, D.R., R.J. Merry, A.P. Williams, E.L. Bakewell, D.K. Leemans et J.K.S. Tweed. 1998. Proteolysis During Ensilage of Forages Varying in Soluble Sugar Content. J. Dairy Sci. **81** : 444-453.

DEMICHEL. Mario, Institut for Prospective Technological Studies, Des Plastiques Biodégradable Issus de Ressources Renouvelables, file:///c:/Samy/Matières plastique/Plastiques biodégradables.htm

DONHOWE, I. G. et O. Fennama. 1993. Water Vapor and Oxygen Permeability of Wax Films. JAOCS, **70** (9) september : 867-873.

DONHOWE, I.G. et O. Fennama. 1994. Edible Films and Coatings : Characteristics, Formations, Definitions and Testing Methods. Ch. 1 Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. Krochta, J.M., E.A. Baldwin et M.O. Nisperos-caniedo (ed.) Publishing Company Inc. Lancaster. PA. p 1-24.

DUBOIS, M. K. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers et F. Smith. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal. Chem. **28** : 350-356.

DZIEZAK, J.D. 1991. A Focus on Gums. Food Technol. **45** (3) : 116.

ESEN, A. 1987. Proposed Nomenclature for the Alcohol-Soluble Proteins (Zeins) of Maize (*Zea mays L.*). J. of Cereal Science, March **5** (2) : 117-128.

FERRADINI, C. et J. Pucheault. 1983. Biologie de l'Action des Rayonnements Ionisants. Ed. Paris Masson, Fr. 213p.

FILION, P. 1995. Portrait de la Production Québécoise de Maïs. Colloque sur le maïs-grain. C.P.V.Q. inc, Qc, 27-30 novembre : 9-15.

FOLK, J.E. 1980. Transglutaminase. *Am. Rev. Biochem.* **49** : 517-531.

GAILLARD, F. 1992. Stockage et Conservation de l'Alimentation Animale. Les plastiques en Agriculture. Comité des Plastiques en Agriculture, 65 rue de Prony, 75854, Paris. 479-492

GARCIA, A. D., W. G. Olson, D.E. Otterly, J. G. Linn et W. P. Harrsen. 1989. Effects of Temperature, Moisture and Aeration on Fermentation of Alfalfa Silage. *J. of Dairy Sci.* **72** : 93-103.

GENNADIOS, A. et C.L. Weller. 1990. Edible Films and coatings from Wheat and Corn Proteins. *Food Technology*, **44** : 63-69.

GENNADIOS, A., C.L. Weller et R.F. Testin. 1993. Temperature Effect on Oxygen Permeability of Edible Protein-based Films. *J of Food Sci.* **58** (1) : 212-215.

GENNADIOS, A., C.L. Weller et R.F. Testin. 1994. Modification of Physical and Barrier Properties if Edible Wheat Gluten- Based Films. *Cereal Chem.* **70** (4) : 426-429.

GENNADIOS, A., C.L. Weller, M.A. Hanna et G.W. Froning. 1996. Mechanical And Barrier Properties of Egg Albumen Films. *J of Food Sci.* **61** (3) : 585-589.

GHORPADE, V.M., A. Gennadios, M.A. Hanna et C.L. Weller. 1995. Soy Protein Isolate/ Poly (ethylene oxide) Films. *Cereal Chem.* **72** (6) : 559-563.

GONTARD, N. 1994. Films Comestibles et Biodégradables : Études des Propriétés Filmogènes du Gluten de Blé. *C.R. Acad. Agric. Fr.* **80** : 109-117.

GONTARD, N., S. Guilbert et J.-L. Cuq. 1993. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. *J. Food Sci.* **58** (1) : 206-211.

GORDON, C.H., J.C. Derbyshire, W.C. Jacobson, E.A. Kane et C.G. Melin. 1961. Comparaisons of Unsealed and Plastic Sealed Silages for Preservation Efficiency and Feeding Value. *J. of Dairy Sci.* **44** (6) : 1113-1121.

GOUVERNEMENT de l'Alberta, <http://www.agric.gov.ab.ca/crops/forage/silage.html>

GOUVERNEMENT de l'Ontario, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales. [wysiwyg://121/http://www.gov.on.ca...RA/French/crops/facts/cornsilf.html](http://www.gov.on.ca...RA/French/crops/facts/cornsilf.html)

GREENER, I.K. et O. Fennema. 1989. Barrier Properties and Surface Characteristics of Edible bilayer films. *J. of Food Sci.* **54** (6): 1393-1399.

GUILBERT, S et N. Gontard. 1995. Edible and Biodegradable Food Packaging. Special Publication of the Royal Society of Chemistry **162** : 159-169.

HAGENMAIER, R.D. et R.A. Baker. 1997. Edible Coatings from Morpholine-Free Wax Emulsions. *J. Agric. Food Chem.* **45** :349-352.

HAGENMAIER, R.D. et P.E. Shaw. 1991. Permeability of Coating Mods with Emulsified Polyethylene Wax. *J. Agric. Food Chem.* **39** : 1705-1708.

HARRIGAN W.F. et M.E. McCance. 1966. *Laboratory Methods in Microbiology*. Academic Press. London and New York.

HATTORI I., S. Kumai, R. Fukumi et T.B. Bayorbor. 1994. The Effect of Some Additives on Aerobic Deterioration of Corn Silage. *Anim. Sci. Tech. (Jpn)* **65** (6) : 547-550.

HENDERSON, A.R., J. M. Ewart et G. M. Robertson. 1979. Studies on the Aerobic Stability of Commercial Silages. *J. Sci. Fd. Agric.* **30** : 223-228.

HENDERSON, A.R., D. McDonald et M. K. Woolford. 1972. Chemical Changes and Losses during the Ensilage of Wilted Grass Treated with Formic Acid. *J. of the Science of Food and Agriculture*, **23**: 1079-1084.

HETTIARACHCHY, N.S. et U. Kalapathy. 1998. Plant Protein Functionalities-6-Functional Properties of Soy Proteins. ACS Symposium Series 708 : 80-96.

HUNHKE, R.L. et G.H. Brusewiltz. 1990. Nutri-Shield Treated Alfalfa Hay Cubes. American Society of Agricultural Engineers, 6 (1): 9-11.

HUNHKE, R.L., G.H. Brusewiltz et E.M. Barnes. 1992. Large Round Alfalfa Hay Bales Covered with Nutri-Shield. American Society of Agricultural Engineers, 8 (2): 171-174.

JOHNSON, C.B., W.H. Peterson, D. M. Hegsted et G. Bohstedt. 1941. A Study of Various Methods of Preserving Legumes and Other Forages by Ensiling. J. of Agric. Research 62 (6) : 337-348.

KASARDA, D.D., S.E. Bernardin et C.C. Nimmo. 1976. Whey Proteins. Advances in Cereal Science and Tehcnology. Pomerang, Y. (ed.). American Association of Cereal Chemist. p. 158.

KEARNEY, P.C. et W.K. Kennedy. 1961. Relationship Between Losses of Fermentable Sugars and Changes in Organic Acids of Silage. Department of Agronomy, Cornell University, 114-115.

KELLER, TH., H. Nonn et H. Jeroch. 1994. Comparative Studies on the Efficiency of Variuos Biological Silage Additives for the Ensiling of Lucerne. Arch. Anim. Nutr. 47 :75-87.

KEMPTON, A.G. et C.L. Clemente. 1959. Chemistry and Microbiology of Forage-Crop Silage, Journal article 2446, Michigan Agricultural Experiment Station, 7: 362-367.

KESTER, J.J. et O. Fennema. 1986. Edible Films and Coating : A Review. December : 47-59.

KIM, S.J. et Z. Ustumol. 2001. Solubility and Moisture Sorption Isotherm of Whey-Protein-Based Edible Films as Influence by Lipid and Plasticizer Incorporation. J. Agric. Food Chem. 49: 4388-4391.

KINSELLA, J.E. et D.M. Whitehead. 1989. Proteins in Whey : Chemical, Physical and Functional Properties. *Adv. Food and Nutri. Res.* **33** : 343-439.

KROCHTA, J.M. et C. De Mulder-Johnston. 1997. Edible and Biodegradable Polymer Film : Challenges and Opportunies. Institute of Food Technology. Expert Panel on Food Safety and Nutrition. http://www.bbpages.psu.edu/penpages_reference/12101

KROULIK, J.T., L.A. Burkey, et H.G. Wiseman. 1955. The Microbial Populations of the Green Plant and of the Cut Forage Prior to Ensiling. *J. of Dairy Sci.* **38** : 256-262.

KRUMEL, K.L. et T.A. Lindsay. 1976. Nonionic Cellulose Ethers. *Food Technol.* **30** (4) : 36.

LACROIX, M., M. Jobin, E. Mezghenie, M. Srour et S. Boileau. 1998. Polymerisation of Calcium Caseinate Solutions Induced by Gamma-Irradiation. *Radial. Phys. Chem.* **52** : 223-227.

LAI, H-M, G.W. Padua et L.S. Wei. 1997. Properties and Microstructure of Zein Sheets Plasticized with Palmitic and Stearic Acids. *Cereal Chem.* **74** (1) :83-90.

LANGSTON, C.W., et C. Bouma. 1960. A Study of the Microorganisms from Grass Silage.I. The Cocci. *Applied Microbiol.* **8** : 212-222.

LANGSTON, C.W., C. Bouma et R.M. Conner. 1961. Chemical and Bacteriological Changes in Grass Silage During the Early Stages of Fermentation.II. Bacteriological Changes. *J. Dairy Sci.* **44** : 618-624.

LEHNINGER, A.L., D.L. Nelson et M.M. Cox. 1993. *Principale of Biochemistry*. Second Ed. Worth Publishers, NY 10003.

LETENDRE, M., G. D'Aprano, M. Lacroix, S. Salmieri, D. St-Gelais. 2002. Physicochemical Properties and Bacterial Resistance of Biodegradable Milk Protein Films Containing Agar and Pectin. *J Agric Food Chem* **50** (21) : 6017-6022.

LE TIEN, C., M. Letendre, P. Ispas-Szabo, M.A. Mateescu, G. Delmas-Patterson, H-L Yu et M. Lacroix. 2000. Biodegradable Films from Cross-Linked Whey Proteins. *J. of Agriculture and Food Chem.* **48** : 5566-5575.

LIEBERMAN, E.R. et S.G. Guilbert. 1973. Gas Permeation of Collagen Films as Affected by Cross-Linkage, Moisture and Plasticizer Content. *J. Polym. Sci.* **41**: 33-43.

LINDGREN S, K. Pettersson, A. Kaspersson, A. Jonsson et P. Lingrall. 1985. Microbial Dynamics During Aerobic Deterioration of Silages. *J. Sci. Food Agric.* **36**: 765-774.

MacPHERSON, H.T. 1952. Changes in Nitrogen Distribution in Crop Preservation. I. The Rate and Extent of Protein Breakdown in Ensilage. *J. Sci. Food Agr.* **3** : 362.

MATHEIS, G. et J.R. Whitaker. 1987. A review: Enzymatic Cross-linking of Proteins Applicable to Foods. *J. of Food Biochemistry* **11**: 309-327.

McBRIDE, G., S. Pynenburg et J. Carroll. 1992. Terminologie de la Nutrition du Bétail. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires Rurales. Gouvernement de l'Ontario, ISSN 1198-7138, 8p.

McCULLOUGH, M.E. 1978. Fermentation of Silage-A Review. National Feed Ingredient Association. p. 1-321.

McDONALD, P., A.R. Henderson et A.W. MacGregor. 1968. Chemical Changes and Losses During the Ensilage of Wilted Grass. *J. of the Science of Food and Agriculture*, **19**: 125-132.

McDONALD, P. 1976. Trends in Silage Making. The Society for Applied Bacteriology Symposium Series no.4. Academic Press, 109-123.

McDONALD, P. 1981. The Biochemistry of Silage. John Wiley and Sons, A Wiley-Interscience Publication, Chichester, New York, Brisbane, Toronto. Chap. 7, p103.

McDONALD, P., A.R. Henderson et S. J. E. Heron. 1991. The Biochemistry of Silage. second Ed., Chalcombe Publication, Marlow, Buckinghamshire, SL7 3PU, 340 pages.

McGECHAN, M.B. 1989. A Review of Losses Arising During Conservation of Grass Forage : Part 1, Field Losses. *Journal of Agricultural Engineering Research* **44** :1-21.

McGECHAN, M.B. et A.G. William. 1994. A Model of Air Infiltration Losses During Silage Storage. *J. Agric. Engng Res.* **57** : 237-249.

McHUGH T.H. et J.M. Krochta. 1994a. Milk-Protein-Based Edible Films and Coating. *Food Technology*, January : 97-103.

McHUGH H.T. et J. M. Krochta. 1994b. Sorbitol-vs Glycerol- Plasticized Whey Protein Edible Films : Integrated Oxygen Permeability and Tensile Property Evaluation. *J. Agric. Food Chem.* **42** (4) April : 841-845.

McLAUGHLIN, N.B., D.B. Wilson et D.M. Bowden. 1978. Effect of a Plastic Cover on Dry Matter Loss from a Horizontal Silo. *Can. Agric. Eng.* **20**: 1-7

MEZGHENI, E., G. D'Aprano et M.Lacroix. 1998a. Formation of Sterilized Edible-Films Based on Caseinates. *J. Agric. Food Chem.* **46** : 318-324.

MEZGHENI, E., C. Vachon et M. Lacroix. 1998b. Biodegradability of Behavior of Cross-linked Calcium Caseinate Films. *Biotechnology Progress* **14** : 534-536.

MOLINA, M. et L. Giannuzzi. 1999. Combined Effect of Temperature and Propionic Acid Concentration on the Growth of *Aspergillus parasiticus*. *Food Research International* **32** :677-682.

MOON N.J., E.O. Lane et E.M. Sudweeks. 1980. Aerobic Deterioration of Wheat, Lucerne and Maize Silages Prepared with *Lactobacillus acidophilus* and a *Candida spp.* *J. of Applied Bact.* **49** : 75-87.

MOON N.J. 1981. Effect of Inoculation of Vegetable Processing Wastes with *Lactobacillus plantarum* on Silage Fermentation. *J. Sci. Food Agric.* **32** : 675-683.

MUCK R.E. et R.L. Huhnke. 1995. Oxygen Infiltration from Horizontal Silo Unloading Practices. *ASAE* **38** (1) : 23-31.

NILSSON, R. et C. Rydin. 1956. The effect of malt enzymes on the biochemical changes occurring during silage. *Proc. Eighth International Grassland Congress*. 493p.

NKONGE, C. et G. Murry Balance. 1982. A Sensitive Colorimetric Procedure for Nitrogen Determination in Micro-Kjeldahl Digest. *J. Agric. Food Chem.* **30** : 416-420.

NRAES. 1997. Silage : Field to Feedbunk. Proceeding from the North American Silage Conference. Publication 99. Northeast Regined Agricultural Engineering Services, Ithaca, NY 14853-5701.

OH, Hoon-Il et J.E. Hoff. 1987. pH Dependence of Complex Formation Between Condensed Tannins and Proteins. *J. of Food Sci.* **52** (5) : 1267-1272.

OKAMOTO, S. 1978. Factors Affecting Protein Film Formation. *Cereal Food World* **23** : 256-262.

PARENT, P. 1998. Essais de paillis à base de fibres cellulosiques comme alternatives aux paillis de plastique. Thèse de Maîtrise. Département de phytologie, Université Laval.

PARK, H.J. et M.S. Chinnan. 1995. Gas and Water vapor Barrier Properties of Edible Films from Protein and Cellulosic Materials. *Journal of Food Engineering* **25** : 497-507.

PARK, H.J., C.L. Weller, P.J. Vergano et R.F. Testin. 1993. Permeability and Mechanical Properties of Cellulose-Based Edible Films. *J. of Food Sci.* **58** (6) : 1361-1364.

PARK, J.W., R.F. Testin, P.J. Vergano, H.J. Park et C.L. Weller. 1996. Fatty Acid Distribution and its effect on oxygen permeability in laminated edible films. *J. of Food Sci.* **61** (2): 401-406.

- PARRIS, N et D.R. Coffin. 1997. Composition Factors Affecting the Water Vapor Permeability and Tensile Properties of Hydrophilic Zein Films. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1596-1599.
- PELLETIER, F., J.-B. Proulx, N. Roy et P. Savoie. 2000. Silos Horizontaux pour les Petites et Moyennes Fermes d'Élevage. Conseil des Productions Végétales du Québec. Publication VU 045.
- PEYRON, A. 1991. L'Enrobage et les Produits Filmogènes : Un Nouveau Mode d'Emballage. *Viandes Prod. Carnés.* 12 : 41-46.
- POMERANG, Y. et C.E. McLOan. 1978. *Food Analysis : Theory and Practice.* The AVI Publishing Co, Inc, Westport, CT.
- PROTERRA: International Center for Agro-Basal Materials,
<http://www.agriholland.nl/proterra/biopolymers.html>.
- PROULX, J. D., M. Veira. A. Fortin et E. Larmand. 1981. Production et conservation de graminées pour produire du bœuf dans la grande ceinture d'argile. *Comptes rendus du Symposium national sur les cultures fourragères.* Ottawa. Ontario.
- PRÜTZ, W.A., J. Butter et E.J. Land. 1983. Phenol Coupling Initiated by One –Electron Oxidation of Thyrosine Units in Peptides and Histine. *Int. J. Radiat. Biol.* 44 : 183-196.
- RANKIN, J. 1996. <http://www.loughries.demon.co.uk/silage.html>.
- REDL, A., N. Gontard et S. Guilbert. 1996. Determination of Sorbic Acid Diffusivity in Edible Wheat Gluten and Lipid Based Films. *J. Food Sci.* 61 (1) : 116-120.
- RESSOUANY, M., C. Vachon et M. Lacroix. 1998. Irradiation Dose and Calcium Effect on the Mechanical Properties of Cross-Linked Caseinate Films. *J. Agric. Food Chem.* 46 : 1618-1623.

RESSOUANY, M., C. Vachon et M. Lacroix. 2000. Microbial Resistance of Caseinate Films Crosslinked by Gamma Irradiation. *J. Dairy Research* **67**: 119-124.

RUXTON, I.B. et P. McDonald. 1973. The Influence of oxygen on Ensilage. 1. Laboratory Studies. Department of Agricultural Biochemistry, Edinburgh School of Agriculture. 107-115.

SALAWU, M.B., E.H. Warren et A.T. Adesogan. 2001. Fermentation Characteristics, Aerobic Stability and Ruminant Degradation of Ensiled Pea/Wheat Bi-Crop Forages Treated with Two Microbial Inoculant, Formic Acid or Quebracho Tannins. *J. of the Sci of Food and Agriculture* **81** (13): 1263-1268.

SALAWU, M.B., T. Acamovic, C.S. Stewart, T. Hvelplund et M.R. Weisbjerg. 1999. The Use of Tannins as Silage Additives : Effects on Silage Composition And Mobile Bag Disappearance of Dry Matter and Protein. *Animal Feed Sci. And Tech.* **82** : 243-259.

SANTOSA, F.X. Budi, Padua et Graciela Wild. 1999. Tensile Properties and Water Absorption of Zein Sheets Plasticized with Oleic and Linoleic Acids. *J. Agric. Food Chem.* **47** (5) : 2070-2074.

SAVOIE, P. 1988. Optimization of Plastic Covers for Stack Silos. *J. Agric. Eng. Res.* **41**: 65.

SAVOIE, P. et P. Pellerin. 1998. La Récolte des Fourrages au Québec et au Canada. Compte-rendu du 18^e Colloque de Génie Agroalimentaire. Montréal. Département des sols et de Génie Agromalimentaire, Université Laval, Sainte-Foy, Québec, 27 mars, 79-91.

SCHMIDT, R.M. et H.A., Morris. 1984. Packaging Effect of Processing on Whey Proteins Functionality. *J. of Dairy Sci.* **67** : 2723-2731.

SEALE, D.R. 1986. Bacterial Inoculants as Silage Additives. *J. of Applied Bact. Symposium supplement*, 9s-26s.

SHEWRY, P.R. et B.J. 1985. Mifflin. Seed Storage Proteins of Economically Important cereals. *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomerang, Y. (ed.) Am. Associ. Cereal Chem., St-Paul, MN, 7 : 1-83.

STIRLING, A.C. et R. Whittenbury. 1963. Sources of the Lactic Acid Bacteria Occuring in Silage, *J. of Applied Bact.* 26 (1) : 86-90.

STOCKHAUSEN, K. 1977. The Level of Sulfhydryl Groups as an Indicator of Radiation Treatment of Meat. *Food Preservation by Irradiation : Proceedings of an International Symposium on Food Preservation by Irradiation*. Wageningen. 21-25 nov. 1 : 421-433.

STUCHELL, Y.M. et J.M., Krochta. 1994. Enzymatic Treatments and Thermal Effects on Edible Soy Protein Films. *J. Food Sci.* 54 : 1332-1337.

SULLIVAN, P. et J. McKinlay. 1998. Maintenir la qualité de l'ensilage en grosses balles. Gouvernement de l'Ontario, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales, ISSN 1198-7138.

TORRES, J.A. et M. Karel. 1985. Microbial Stabilization of Intermediate Moisture Food Surfaces. III. Effects of Surface Preservative Concentration and surfaces pH Control on Microbial Stability of an Intermediate Moisture Cheese Analog. *J. Food Proc. Preserv.* 9 : 107-117.

VACHON, C., H.-L. Yu, R. Yefsah, D. St-Gelais et M. Lacroix. 2000. Mechanical and structural properties of milk protein edible films cross-linked by heating and γ -irradiation. *J. Agric. Food Chem.* **48** : 3202-3209.

WATSON, S.J. et M.J. Nash. 1960. *The Conservation of Grass and Forage Crops*. Oliver and Boyd, Edinburgh.

WEIMAR, A.C. 1923. The Alcohol Test as a Means of Detecting Abnormal Milk. *J. of Dairy Sci.* **6** (1) : 95-101.

WHITTENBURY, R. 1968. Microbiology of Grass Silage. *Process Biochemistry*, february **3**(27) : 27-31.

WHITTENBURY, R., P. McDonald, et D.G. Bryan-Jones. 1967. A Short Review of Some Biochemical and Microbiological Aspects of Ensilage. *J. Sci. Fd. Agric.* **18** (october) : 441-444.

WILLIAM, A.G. 1994. The Permeability and Porosity of Grass Silage as Affected by Dry Matter. *J. Agric. Engng. Res.* **59** : 133-140.

WOLFF, I-A, H.A. Davis, J.E. Clusky, L.J. Gundrum et C.E. Rist. 1951. Preparation of Films from Amylose. *Industries Eng. Chem.* **43** : 915-919.

WOOLFORD, M.K. 1976. A Preliminary Investigation into the Role of Yeast in the Ensiling Process. *J. of Applied Bact.* **41** : 29-36.

WOOLFORD, M.K. 1990. The Detrimental Effects of Air on Silage- A Review. *J. of Applied Bact.* **68** : 101-116.

WOOLFORD, M. K. et R. J. Wilkins. 1974. Preliminary Experiments with Simulated Silage. *J. Sci Fd. Agric.* **26** :141-148.

YAMADA K, H. Hidekazu et A. Noguchi. 1995. Improved Water Resistance in Edible Zein Films and Composites for Biodegradable Food Packaging. *International Journal of Food Science and Technology.* **30** : 599-608.